

Ciencia en la frontera

Revista de ciencia y tecnología de la UACJ

José Alberto López Díaz
(coordinador)

UACJ



Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

DIRECTORIO

Jorge M. Quintana Silveyra
Rector

David Ramírez Perea
Secretario General

Martha P. Barraza de Anda
Coordinadora General de Investigación y Posgrado

Hugo Staines Orozco
Director del ICB

Servando Pineda Jaimes
Dirección General de Difusión Cultural y Divulgación Científica

CONSEJO EDITORIAL

Emilio Álvarez Parrilla
Leonel Barraza Pacheco
Alejandro Donohue Cornejo
Esaúl Jaramillo
Alejandro Martínez
Francisco Molinar Holguín
Antonio de la Mora
Helvia Pelayo Benavides
Luis Fernando Plenge
Joaquín Rodrigo García
Laura de la Rosa
Hugo Staines Orozco
Gilberto Reyes Leal
Yolanda Loya

DIRECTOR

Luis Fernando Plenge

FORMATO

Luis Fernando Plenge
José Alberto López Díaz

CONSEJO EDITORIAL INTERNACIONAL

Álvaro Álvarez Parrilla

Fac. Ciencias, Matemáticas, UABC,
Ensenada, B. C.

Francisco Fernández Belda

Depto. de Bioquímica y
Biología Molecular (A), Universidad
de Murcia, Murcia, España.

Alex Fragoso Sierra

Fac. de Química, Universidad
de La Habana, Cuba.

Jorge Gardea Torresdey

Chemistry, UTEP, El Paso, Texas.

Armando Gómez Puyou

Investigador Emérito, Instituto de
Fisiología Celular, Depto. Bioquímica,
UNAM, México, D. F.

Gustavo González

Tecnología de Alimentos de
Origen Vegetal, CIAD
Hermosillo, Sonora, México.

Louis Irwin

Biological Science, UTEP, El Paso, Texas.

José Luis Ochoa

CIBNOR, La Paz, B.C.S.

Esther Orozco

CINVESTAV, México, D. F.
Biomedicina Molecular.

María Jesús Periago

Depto. de Bromatología e Inspección de Alimen-
tos, Universidad de Murcia, Murcia, España.

Gaspar Ros Berruezo

Depto. de Bromatología e Inspección
de Alimentos, Universidad de Murcia,
Murcia, España.

Rocío Salceda Sacanelles

Instituto de Fisiología Celular, Depto.
Neurociencias, UNAM, México, D. F.

Fernando Soler

Depto. de Bioquímica y Biología
Molecular (A), Universidad de
Murcia, Murcia, España.

Marieta Tuena de Gómez Puyou

Investigadora Emérita, Instituto de Fisiología
Celular, Depto. Bioquímica, UNAM,
México, D. F.

José Vázquez Tato

Fac. de Ciencias, Depto. de
Química Física, Universidad de
Santiago de Compostela,
España.

Ricardo Tapia Ibarquengoytia

Neurociencias
IFC-UNAM

Herminia Pasantes

Neurociencias
IFC-UNAM

Thomas Kretzschmar Steinle

Área de Geofísica
CICESE en Ensenada
Baja California, México

Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ / Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Coordinación General de Investigación y Posgrado. Vol. 6. (2008). Ciudad Juárez, Chih.: UACJ, 2008. v. ; 21 cm.

Seriada

1. Ciencias Puras – Publicaciones Periódicas
2. Ciencias Aplicadas – Publicaciones Periódicas
3. Ingeniería – Publicaciones Periódicas

Q4.R48 1999

505.R48 1999

Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ es una publicación seriada del Instituto de Ciencias Biomédicas a través de la Coordinación de Investigación y Posgrado del ICB y el Departamento de Ciencias Básicas, Vol. 6, 2008. Reserva al uso exclusivo otorgada por INDAUTOR Núm. 4-2007-030513570700-01 y el ISSN 2007-042X. Publicidad, anuncios y suscripciones, dirigirse a: *Ciencia en la frontera*: revista de ciencia y tecnología de la UACJ, Heroico Colegio Militar 3775, 32310 Ciudad Juárez, Chihuahua, México. Tel. (656) 688 18 85. Hecho en México/Printed in Mexico. Copyright © UACJ

Los manuscritos propuestos para publicación en esta revista deberán ser inéditos y no haber sido sometidos a consideración a otras revistas simultáneamente. Al enviar los manuscritos y ser aceptados para su publicación, los autores quedan que todos los derechos se transfieren a *Ciencia en la frontera*: revista de ciencia y tecnología de la UACJ, quien se reserva los de reproducción y distribución, ya sean fotográficos, en micropelícula, electrónicos o cualquier otro medio, y no podrán ser utilizados sin permiso por escrito de *Ciencia en la frontera*: revista de ciencia y tecnología de la UACJ, véase además notas para autores.

Permisos para otros usos: el propietario de los derechos no permite utilizar copias para distribución en general, promociones, la creación de nuevos trabajos o reventa. Para estos propósitos, dirigirse a *Ciencia en la frontera*: revista de ciencia y tecnología de la UACJ, correo electrónico fplenge@uacj.mx.

CONTENIDO

Resúmenes /Abstracts	5
Presentación	
José Alberto López Díaz	9
Folatos: funcionalidad y salud	
Ros Berruezo, G; Periago Castón, MJ; Iniesta López, MD	11
<i>Aeromonas hydrophila, vibrio alginolyticus y vibrio fluvialis biovariedad II en alimentos marinos de origen animal de restaurantes de la ciudad y puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México</i>	
Franco-Monsreal, J; Flores-Abuxapqui, JJ; Salas-Escajeda, RM; Concha-Valdez, FG; Puc-Franco, MA; Heredia-Navarrete, MR; Vivas-Rosel, ML; Piña-Quijano, JA	41
<i>La capacidad funcional y el estado mental como determinantes de malnutrición en adultas mayores de la frontera norte de México</i>	
Wall-Medrano, A; Peña-Saldívar, L; Rodríguez-Tadeo, A	55
<i>Licopeno y otros antioxidantes del tomate. Papel en la prevención de enfermedades cardiovasculares</i>	
Periago Castón, MJ; García-Alonso, J; Jacob, K; Jorge Vidal, V; García Valverde, V; Ros Berruezo, G.....	65
<i>Análisis cinemático de la técnica individual del lanzamiento de jabalina</i>	
Campos Granell, J; Brizuela, G; Ramón, V	75
<i>Elaboración de un producto fermentado de soya (glycine max) tipo tempeh con Rhizopus oryza</i>	
Munguía-Pérez, R; Espinosa-Texis, A; Hernández-Arroyo, MM; Reyes-Matías, M; Gonzales-Salome, F; Melgoza-Palma, N.....	85
<i>Avances en el estudio de las levaduras como activadoras de la fermentación ruminal en bovinos que consumen dietas fibrosas</i>	
Galindo, J; Torres, V; Rodríguez, Z; Álvarez, E; Aldana, AI; Rodríguez, R; García, R; Boucourt, R; Delgado, D; Martín, E; Moreira, O; Noda, A; Núñez, O; González, M; Herrera, F; Cairo, J; Rodríguez, D.....	91
<i>Análisis de la expresión in vitro de lactoferrina recombinante</i>	
González Chávez, SA; Arévalo Gallegos, S; Salazar Martínez, J; Rascón-Cruz, Q	97
<i>Calidad nutricional de avena forrajera en suelos tratados con biosólidos y agua residual en el Valle de Juárez, Chihuahua</i>	
Flores Márgez, JP; Sapién Mediano, G; Corral Díaz, B; Figueroa Viramontes, U	105

<i>Nitrógeno mineralizable de estiércol bovino lechero en suelo cultivado con algodónero</i> Flores Márgez, JP; Sotomayor Villezcas, V; Corral Díaz, B	117
<i>Efecto de la dieta en corderos de lana y pelo sobre la ganancia diaria de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y características de la canal</i> Jaramillo, LE; Molinar, HF; Leos, MJA; Hinojosa, AMC	131
<i>Diversidad de la vegetación en cuatro comunidades forestales con grado de disturbio en el municipio de Bocoyna, Chihuahua</i> Quiñónez Martínez, M; Lebgue Keleng, T; Corral Díaz, R; Lavín Murcio, P; De la Mora Covarrubias, A1; Sosa Cerecedo, M.....	141
<i>Cuestionario de hábitos de actividad física de Maurice Pierón: estudio de validación para población mexicana aparentemente activa</i> Ramos-Jiménez, A; Hernández-Torres, RP; Rivera-Sosa, JM; Wall-Medrano, A.....	149
<i>Purificación y caracterización parcial de una proteasa tipo cucumisina presente en Solanum elaeagnifolium</i> Vargas-Requena, CL; Hernández-Santoyo A; Jiménez-Vega, F, López-Díaz, JA.....	161
<i>Evaluación del efecto hipocolesterolemizante de productos de soya</i> Arellano Ortiz, AL; Rodrigo García, J; López Díaz, JA.....	165
<i>Optimización de la extracción y estandarización de un cuajo vegetal para la elaboración de queso asadero</i> Martínez-Ruiz, NR; López-Díaz, JA	173

ABSTRACTS

Presentation

José Alberto López Díaz 9

Folates: Functionality and health

Ros Berruezo, G; Periago Castón, MJ; Iniesta López, MD 11

Aeromonas hydrophila, vibrio alginolyticus and vibrio fluvialis biovariety ii in seafood of animal origin from restaurants of the city and Progreso de Castro port, Yucatán, México

Franco-Monsreal, J; Flores-Abuxapqui, JJ; Salas-Escajeda, RM; Concha-Valdez, FG;
Puc-Franco, MA; Heredia-Navarrete, MR; Vivas-Rosel, ML; Piña-Quijano, JA 41

We report the prevalences of *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio fluvialis* biovariety II in raw (30.15%), marinated without heat (4.62%), partially cooked with heat (45.54%) and completely cooked with heat (19.69 %) seafood of animal origin from restaurants of the city and port of Progreso de Castro, Yucatán, México. From January 1 to June 30, 2007 were studied 325 samples. In 16 (4.92%), 22 (6.77%) and 28 (8.62%) samples was isolated an equal number of strains whose biochemical characteristics corresponded to *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio fluvialis* biovariety II. The estimate intervals to a confidence level of 95% for the percentage in the population of seafood with *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio fluvialis* biovariety II were, respectively, $2.57\% \leq P \leq 7.28\%$, $4.04\% \leq P \leq 9.50\%$ y $5.56\% \leq P \leq 11.67\%$. We conclude, according to the results obtained, that the seafood of animal origin represent potential sources of infection.

Physical Capacity and Mental State as Malnutrition Determinants in Older Women from the Northern Mexican Border

Wall-Medrano, A; Peña-Saldívar, L; Rodríguez-Tadeo, A 55

The relationship between the functional capacity and mental state among nutritional status of 166 older women from northern México was evaluated. Methods. Participants were grouped according to their functional capacity (Katz Index) and mental states (Pfeiffer Index) into a 3 x 4 factor design. The individual nutritional state (MNA score) was then evaluated. Results. 37, 51 and 59% of all participants showed a good nutritional, physical and mental status, respectively. 42 and 32% of those participants with complete or severely impaired functional capacity but good mental state were well-nourished. Conversely, almost all of those with severe mental impairment were undernourished. Conclusion. Physical but mostly mental impairment are important malnutrition factors in older women from this region.

Lycopene and others tomato antioxidants. Role in the prevention of cardiovascular diseases

Periago Castón, MJ; García-Alonso, J; Jacob, K; Jorge Vidal, V; García Valverde, V;
Ros Berruezo, G 65

Tomatoes and tomato products are an important dietary source of lycopene, phenolic compounds, vitamin C and folates. All of them are antioxidants with beneficial effects for human health and particularly for the prevention of cardiovascular diseases (CVD). This article describes the role of lycopene and other tomato antioxidants in the prevention of CVD, through the scientific evidences which provide this hypothesis.

Kinematical analysis of the individual technique in Javelin Throwing

Campos Granell, J; Brizuela, G; Ramón, V 75

The aim of this study is to try to answer practical questions. More specifically, we try to establish the level of internal consistency of an individual model in javelin throw, and to discover the variables that determine performance. It was used 3D photogrammetry techniques with two high speed cameras (125 Hz). Different intra-individual movement pattern can be identified and correlated with performance. The results show that the greater variability occurs on technical variables at the instant of “double support”, prior to the projection of the javelin (CV: between 15% and 109%). Finally, a predictive function of performance (R²: 88%) was calculated formed by two variables related with the speed of the javelin at the instant of double support and at the instant of release; two variables related with the position of the thrower at the instant of double support (hip and trunk); and the projection angle.

Elaboration of a fermented product de soya (glycine max) type tempeh with rhizopus oryzaeMunguía-Pérez, R; Espinosa-Texis, A; Hernández-Arroyo, MM; Reyes-Matías, M;
Gonzales-Salome, F; Melgoza-Palma, N 85

The tempeh is a soybean product (Glycine max) fermented by mold of the gender Rhizopus and Aspergillus that it is elaborated in Indonesia. The objective was to elaborate a fermented product of soybean type tempeh carrying out a sensorial evaluation and proximate analyses. Soybeans (variety Esperanza) using a stump type of Rhizopus oryzae NRRL 2700 (104 esporos/mL) having as variables: the soaking (soybeans) for 12h in a solution of lactic acid (0.5, 0.75, 1.5%), the time of cooking (10, 15, 20 minutes), the temperature (26, 28, 30°C), and the time of fermentation (12, 24, 36h). A good product was obtained under the following conditions: 0.5% of lactic acid, 15 minutes of cooking, 24h of fermentation at 30°C of temperature. The sensorial evaluation demonstrated the general acceptability of the product in 70%. The proximate analyses of the product revealed the decrease in the content of proteins, fat and carbohydrates.

Advances in the study of yeasts as activators to the ruminal fermentation in cattle fed fibrous dietsGalindo, J; Torres, V; Rodríguez, Z; Álvarez, E; Aldana, AI; Rodríguez, R; García, R;
Boucourt, R; Delgado, D; Martín, E; Moreira, O; Noda, A; Núñez, O; González, M;
Herrera, F; Cairo, J; Rodríguez, D 91

The objective of the present study was obtain biological preparations from the yeast strains and evaluate yours inclusion in cattle fed fibrous diets. For this, a strain of Saccharomyces cerevisiae as activator of the rumen fermentation under in vitro conditions was evaluate, and isolated and characterized yeast strains more resistant to the rumen ecosystem and finally selected and evaluated the most promising strains for the elaboration of a microbial preparation. The inclusion of cultures of Saccharomyces cerevisiae L/25-7-13 favours the development of the populations of total viable and cellulolytic bacteria and the milk production. Others results was the establishment of a methodology for the isolation and characterization of yeasts from the rumen environment and the isolate 24 yeast strains with potential as activators to the ruminal fermentation and finally obtainment of biological products able to activate the cellulolytic populations in rumen.

In vitro recombinant lactoferrin expression analysis

González Chávez, SA; Arévalo Gallegos, S; Salazar Martínez, J; Rascón-Cruz, Q 97

The lactoferrin (Lf) is a functional protein known for its potential biological, pharmacological and nutraceuticals applications. This study tried to obtain this protein by cloning the bovine Lf (bLf) gene to produce this protein recombinant. It developed a method to produce bLf recombinant (rbLf) using an Escherichia coli expression system. Two plasmid were constructed pCRbLf53 and pCRbLf35 containing the gene bLf into cloning vector pCRTPO 2.1. Moreover was constructed the expression plasmid pET32bLf wich was introduced into E. coli BL21/DE3 expression host that were induced to express the recombinant protein. The rbLf expression levels were analyzed by Norther blot. The bLf recombinant mRNA's were present at early stages after gene induction.

Nutritional quality of forage oat in soils treated with biosolids and wastewater at the Juárez Valley, Chihuahua

Flores Márgez, JP; Sapién Mediano, G; Corral Díaz, B; Figueroa Viramontes, U 105

The impact of wastewater on the Juárez Valley agriculture and the potential use of biosolids generated in the water treatment plants are strategic factors to improve the nutritional quality of forages and the soil productivity at the region. The study was conducted at the Rancho Universitario UACJ, which is located at the municipality of Praxedis G. Guerrero, Chihuahua. The project consisted of an evaluation of lime-stabilized biosolids on the agronomic and nutritional response of forage oat (*Avena sativa* L.) in soils irrigated with wastewater. Treatments consisted of a control, 200, 400 y 600 kg of total Kjeldahl nitrogen (NTK) ha⁻¹ of biosolids, arranged in a randomized complete block design with eight replications. The highest value of crude protein in leaf (8.9%), stem (3.1%) y entire plant (6%) was obtained with the biosolids rate of 400 kg NTK ha⁻¹, and not significant differences were detected for forage yield, plant height, FDN, PC in grain, which was attributed to the high N content in irrigation water.

Mineralizable nitrogen from dairy manure in a soil cultivated with cotton

Flores Márgez, JP; Sotomayor Villezcas, V; Corral Díaz, B 117

Dairy manure has been used in agricultural soils as organic amendment from centuries. However, the lack of information regarding organic N decomposition has caused the application of inappropriate rates in field. The current study included the evaluation of the rates: 50, 100 y 150 t/ha dry basis of dairy manure, to evaluate the mineralization of organic N under field conditions. Synthetic ion exchange resins were used to trap the inorganic N released during decomposition in 178 days. Inorganic N concentration was significantly related to manure rates. The potentially mineralizable N (N_p) varied from 55 to 192 mg/kg and the rate constant (k) from 0.0097 to 0.0042 mg/day. Observed values of mineralizable N suggested that the soil studied could supply 177 kg N/ha with an application rate of 50 t/ha, from which 53.5 kg N/ha came from manure decomposition.

Effect of the Diet on Daily Weight Gain, Feed Intake, Feed Conversion and Carcass Characteristics of Lambs

Jaramillo, LE; Molinar, HF; Leos, MJA; Hinojosa, AMC 131

Eight wool lambs and seven hair lambs were used for this study, Polipay x Rambouillet (PR) and Pelibuey (P) respectively. The lambs were all approximately two months of age with an average weight of 15.92±1.050 and 14.95±1.024 kg, respectively. Two diets were used; one corn based and the other sorghum based (both flaked). During the fourteen-week study, the lambs were weighed every seven days. The data were analyzed with a factorial design. The best daily weight gain (DWG) (P<0.05) was found in the PR lambs (0.24±0.006 kg/day) compared to the P lambs (0.178±0.006 kg/day), and with the corn ration rather than sorghum (0.24±0.004 kg/day) versus 0.18±0.006 kg/day). The feed conversion (FC) was greater in the PR lambs (6.54 kg) than in the P lambs (8.07 kg). The feed intake (FI) was also greater in PR lambs, with 1.55±0.200 kg than 1.37±0.016 kg (P<0.01) with the P lambs. The PR that received a flaked corn diets also gained more weight in the legs as well as neck and thorax.

Diversity of vegetation in four forestry communities with disturbance grade in the Bocoyna municipality, Chihuahua

Quiñónez Martínez, M; Lebgue Keleng, T; Corral Díaz, R; Lavín Murcio, P;

De la Mora Covarrubias, A1; Sosa Cerecedo, M..... 141

Species richness and diversity of vegetation were studied in four plant communities under different disturbing forest conditions in the Municipality of Bocoyna from July to September of 2006 on the following zone: burned, logging, regeneration and natural forest zone. The Shannon-wiener diversity index as well as Pielou equitativity index were used. A total of 18, 652 plants were obtained, they belonged to 27 genera and 26 species. The burned zone showed the highest diversity and richness of species dominated in your abundance for *Packera candidissima* and *Quercus striatula*. Also, with frequency minor were present: *Stevia salicifolia*, *Helianthemum pringlei*, *Gilia capitata*, *Machaeranthera gracilis*, *Carpochaete pringlei*, *Psacalium decompositum* and

other 16 species. The logging zone were present total dominance of *Packera candidissima*, followed by *Quercus depressipes* in very difference. The natural forest and regeneration zone were present considerable values of frequency in *Quercus depressipes* and *Arctostaphylos pungens*, indicate one slow both sure substitution of forest of pine a chaparral.

The Maurice Pieron's Physical Activity Questionnaire: A validation study in an apparently active Mexican population

Ramos-Jiménez, A; Hernández-Torres, RP; Rivera-Sosa, JM; Wall-Medrano, A..... 149

The "Maurice Pieron's physical activity questionnaire" has been validated in Europeans but not in Mexicans. This questionnaire was applied to 31 male and 19 female young (~22 y) participants. Construct- and content- validation was performed by Cronbach internal consistency and item-to-item Pearson's cross correlation. The questionnaire showed a good internal consistency (>0.76). 74% responders the importance of being physically active but just 56% and 42% practiced sports or recreation activities, respectively. The most mentioned activities were to hear music and watch TV, while most practiced sports were soccer (competitive) and lift weighting (non competitive). 12% considered their selves healthy and 24% were not satisfied with their shape. The practice of physical activities was related to a better self stem while no-practice to lesions and having no time.

Purification and partial characterization of a cucumisin type protease from *Solanum elaeagnifolium*

Vargas-Requena, CL; Hernández-Santoyo A; Jiménez-Vega, F, López-Díaz, JA 161

In some Chihuahua's regions, México; the fruit of the plant *Solanum elaeagnifolium* is used for the production of asadero cheese in a handcrafted and empirical way. In the present research, the enzyme was isolated and partial characterized from such fruit plant, which is responsible of the coagulation of the milk. Results show two cationic proteins with a molecular weight of about 19 kDa and with an aptitude to form aggregates.

Hypocholesterolemic effect evaluation of soybean products

Arellano Ortiz, AL; Rodrigo García, J; López Díaz, JA..... 165

The consumption of soy products has been associated with improvements of the lipid metabolism, decrease of the total cholesterol and low-density lipoproteins. Some studies establish that this effect is due to the proteins and isoflavones content. In this study an investigation was realized in order to establish the factors that determine the hypocholesterolemic effect of soy protein and isoflavones consumption and to determine if in the conditions in which habitually they are consumed they exercise this benefit. The results show that in the conditions in which habitually they are consumed the effect would not be achieved.

Optimizing the extraction and standardization of vegetable rennet to make asadero cheese

Martínez-Ruiz, NR; López-Díaz, JA 173

From the yellow fruit of the *Solanum elaeagnifolium* plant it was possible to obtain a vegetable extract for optimizing and standardization as a vegetable coagulant to make asadero cheese. Optimizing the extraction of the vegetable rennet with amonium sulphate let obtains a proteic concentraded of 311 $\mu\text{g/mL}$ and its standardization as coagulant determines that also needed a 560 μg of this vegetable protein to curdle 1 liter of milk in similar conditions as the commercial rennet. At the same time, the performance of the asadero cheese improves a 1.6% more than the reported.

Presentación

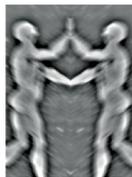
Memorias del 4° Congreso Internacional
de Ciencias Universidad Autónoma de Ciudad Juárez
27-29 de Octubre de 2008

Este número de *Ciencia en la frontera* contribuye con el propósito principal de la revista: dar a conocer a los alumnos y docentes del Instituto de Ciencias Biomédicas y a toda la Comunidad Universitaria las investigaciones que se hacen en nuestro instituto y otras asociaciones similares de México y el extranjero. En esta ocasión, el presente volumen especial recopila contribuciones de trabajos de investigación que se mostraron en el marco del 4° Congreso Internacional de Ciencias.

Dicho congreso tuvo como objetivo promover la interrelación de profesores y alumnos de los diversos programas académicos integrados en el Departamento de Ciencias Básicas: Biología, Entrenamiento Deportivo, Nutrición y Química. En él, se presentaron y discutieron trabajos de investigación, se estimuló la participación universitaria y el intercambio de ideas y se contribuyó a la adquisición de prácticas y actitudes fortalecedoras del desarrollo profesional de nuestros estudiantes.

Por ello, se recoge por primera vez en estas memorias evidencia para la difusión permanente del conocimiento presentado en el 4° Congreso Internacional de Ciencias como una ventana de oportunidad para el crecimiento académico.

José Alberto López Díaz
Coordinador del Volumen VI



■ ARTÍCULO DE REVISIÓN

Folatos: funcionalidad y salud

Ros Berruezo, G; Periago Castón,
MJ; Iniesta López, MD

*Unidad de Nutrición y Bromatología,
Facultad de Veterinaria, Universidad de
Murcia, Campus de Espinardo, 30071
Murcia, España, Tel.: +34-968228263, Fax:
+34-968364798, E-mail: gros@um.es*

NOMENCLATURA Y QUÍMICA DE LOS FOLATOS

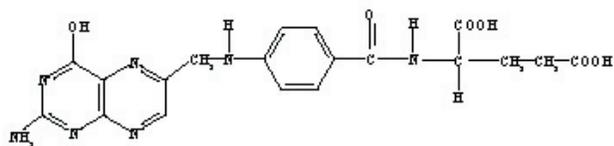
Folato es el término genérico que se da al ácido fólico (ácido pteroilmonoglutámico, PteGlu) y a compuestos relacionados que exhiben la actividad biológica del ácido fólico. Los folatos son un grupo de componentes heterocíclicos formados por un esqueleto de 4-ácido benzoico [(pteridin-6-metil) amino] conjugado con uno o más, normalmente de 5 a 8, residuos de ácido L-glutámico. Esos mono- y γ -poliglutamatos conjugados se nombran en relación al número de residuos glutamil (n) unidos, PteGlu_n (Blakley, 1988; Combs, 1992; Mullin y Duch, 1992). Estos compuestos químicamente relacionados tienen actividades metabólicas cuantitativamente comparables y forman parte de una misma familia de vitaminas (Combs, 1992). Características esenciales de la estructura química de los folatos incluye: (a) derivados de la pteridina, (b) un grado variable de

hidrogenación del anillo de pteridina, (c) la existencia de uniones posibles a unidades de carbón en las posiciones N₅- y N₁₀- y (d) uno o más (hasta 12) residuos glutamil unido vía uniones γ -péptido. Incluyen un gran número de especies relacionadas químicamente, cada una difiriendo con respecto al sustituyente que se una en los tres posibles sitios que existen en la estructura básica del ácido L-pteroilglutámico (Figura 1, A).

El compuesto reducido ácido 5, 6, 7, 8-tetrahidropterilglutámico es comúnmente llamado ácido tetrahydrofolato de acuerdo con las recomendaciones dadas por la IUPAC y abreviado como H₄-folato (Blakley, 1988). El término ácido tetrahydrofolato es también ampliamente aceptado (Anonymous, 1990), (Figura 1, B). El ácido tetrahydrofolato puede ser sustituido en la posición N₅ para dar el 5-metil (5-CH₃), 5-formil (5-HCO), y 5-forminio (5-NH=CH-) derivados; en la posición N₁₀ para dar el 10-formil derivados; o como componentes de unión para dar

el 5, 10-metilen (-CH₂-) o 5, 10-metenil (-CH+-) derivados (como se puede ver en la Tabla 1).

A) Ácido fólico (Ácido L-Pteroil-glutámico)



B) Poliglutamil-tetrahidrofolato

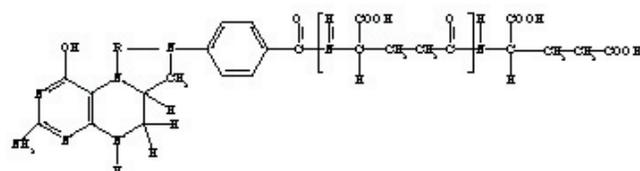


Figura 1. Estructura química del ácido fólico (A) y diferentes poliglutamil tetrahidrofolato en la presencia de sustituyentes y residuos glutamil (B).

Tabla 1. Posibles sustituyentes, en posición R, en el metil-tetrahidrofolato.

Sustituyente	Posición
-CH ₃ (metil)	5
-CHO (formil)	5 o 10
-CH=NH (formimino)	5
-CH ₂ - (mutilen)	5 y 10
-CH= (metenil)	5 y 10

El ácido fólico no está presente de forma natural en los sistemas biológicos pero se usa la forma química para uso farmacéutico y como enriquecimiento en productos alimenticios (Eitenmiller y Landen, 1995). El ácido fólico tiene una solubilidad muy limitada en agua y muy baja solubilidad en solventes orgánicos, como es característico de las pteridinas. Se estima que cerca de un 80% de los folatos existentes en los alimentos están en la forma poliglutámica.

Los folatos reducidos son muy susceptibles a la oxidación y todos los folatos son muy sensibles a la luz (Blakley, 1969). La estabilidad e interconversión entre algunas formas de folatos dependen mucho del pH. A pesar de la presencia de sustituyentes en el anillo de pteridina y, por tanto, de saturarse el doble enlace 5-6 con un solo hidrógeno, el prefijo indicando reducción (tetrahidro-) sigue manteniéndose por convenio (Blakey, 1986).

Actualmente se quiere utilizar de forma alternativa al ácido fólico, para el enriquecimiento de alimentos sólidos, semi-líquidos y líquidos la forma sintética cálcica 5-metiltetrahidrofolato. Es la sal cálcica del 5-metiltetrahidrofolato (5-MTHF), la cual tiene como fórmula química CaC₂₀H₂₃N₇O₆ (Figura 2). Es un polvo cristalino, blanquecino, casi ausente de olor, con escasa solubilidad en agua y ligeramente soluble o insoluble en casi todos los solventes orgánicos.

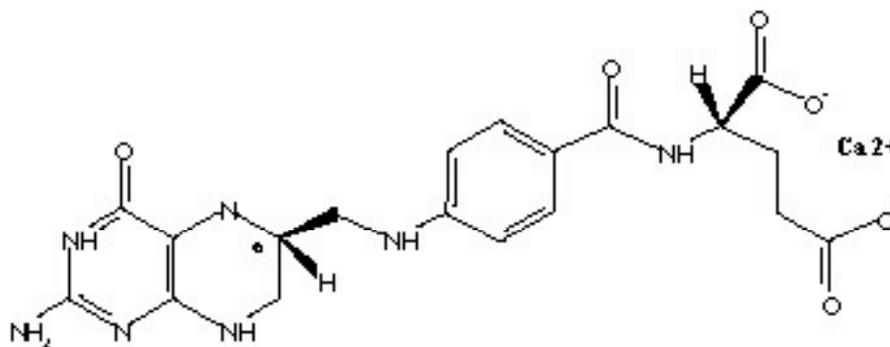


Figura 2. Estructura química de la sal cálcica del L-5-MTHF.

Tabla 2. Los folatos. Esquema de estructura y nomenclatura.

Nombre del compuesto	Característica estructural	Abreviaturas
Ácido pteroilglutámico Ácido fólico	No reducido, sin sustituciones	PteGlu
Dihidrofolato Ácido dihidrofólico	-H en 5,6	H ₂ PteGlu _n DHF
Tetrahidrofolato Ácido tetrahidrofólico	-H en 5,6,7,8	H ₄ PteGlu _n THF
5- formiltetrahidrofolato Ácido 5-formiltetrahidrofólico Ácido polínico	-CHO en 5	5-formal-H ₄ PteGlu _n 5- formal-THF
10-formiltetrahidrofolato Ácido formiltetrahidrofólico	-CHO en 10	10-formal-H ₄ PteGlu _n 10-formal-THF
5,10-meteniltetrahidrofolato ácido 5,10-Meteniltetrahidrofólico	-CH= en 5,10	5,10-metenil- H ₄ PteGlu _n 5,10-metenil-THF
5,10-metilentetrahidrofolato Ácido 5-metiléntetrahidrofólico	-CH ₂ - en 5,10 5,10-metilén-THF	5,10-metilén- H ₄ PteGlu _n
5-metiltetrahidrofolato Ácido 5-metiltetrahidrofólico.	-CH ₃ en 5	5-metil-H ₄ PteGlu _n 5-metil-THF
Monoglutamato Poliglutamato	1 glutamato n glutamatos	PteGlu PteGlu _n

(6S)-5-MTHF es un “Nuevo Ingrediente”, que ha sido descubierto para suplir a la forma natural de folatos que está de forma predominante en la naturaleza, L-Metilfolato (L-MTHF) (EFSA, 2004). La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria ha emitido y publicado una evaluación científica favorable relativa a la sustitución en el encabezamiento de la categoría de «ácido fólico», a fin de tener en cuenta la inclusión de otras formas de folato, en los anexos de la Directiva 2002/46/CE (Directiva 2006/37/CE de la Comisión de 30 Marzo de 2006). Por tal motivo, en aquellos productos enriquecidos con ácido fólico, el encabezamiento de esta vitamina deberá ser “folato” y en el caso que se adicione la forma L-metilfolato cálcica, deberá ser especificado ésta como tal.

METABOLISMO (ABSORCIÓN Y TRANSPORTE)

El hígado y las células rojas de la sangre son los principales tejidos de almacenamiento para folatos. La excreción se realiza principalmente vía renal, por medio de la orina (Gregory, 1995). Los folatos endógenos en tejidos de mamíferos son, en su mayoría, derivados folilpoliglutámicos, mientras que las formas pteroilmonoglutámicas están en plasma y orina.

Absorción

Los folatos presentes de forma natural en los alimentos se encuentran de forma poliglutámicas, las

cuales deben ser hidrolizadas hasta monoglutámicas en el intestino, previamente a su absorción (Gregory, 1996; Ball, 1998). Esta hidrólisis está catalizada por la enzima pteroilglutamato hidrolasa (conjugasa), localizada en el borde en cepillo de la mucosa intestinal (Figura 3). Reisenauer y Halsted (1987) calcularon que el contenido de pteroilglu

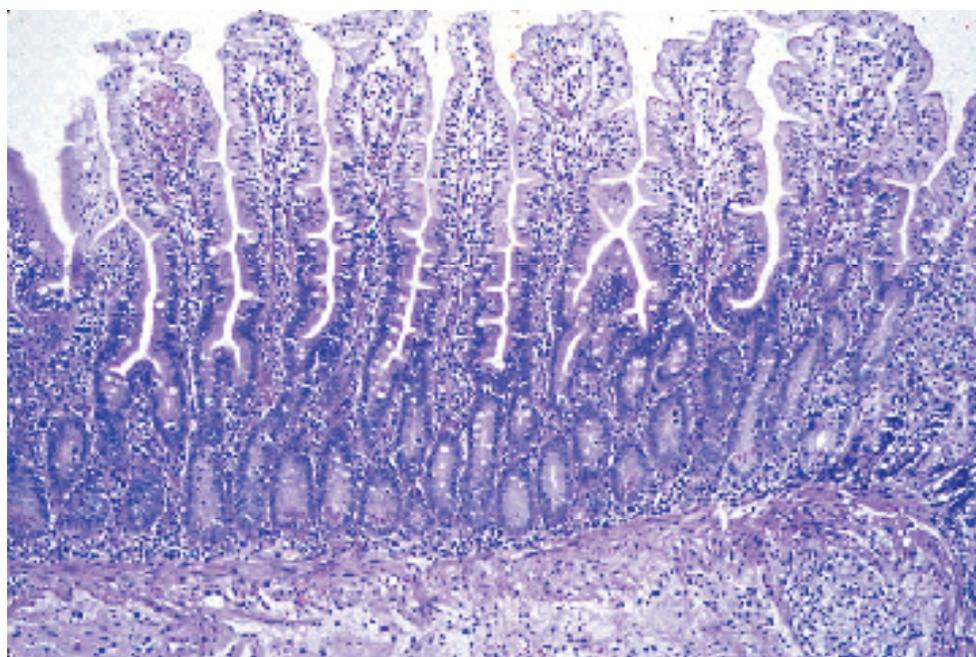


Figura 3. Mucosa yeyunal normal que muestra las vellosidades intestinales. En el extremo apical se localiza la enzima γ -glutamylhidrolasa o folato conjugasa.

tamato hidrolasa en el borde en cepillo es elevado. Ciertos factores en los alimentos, tales como la fibra dietética y algunos ácidos orgánicos, por ejemplo en el zumo de naranja y tomates, pueden inhibir la

desconjugación de poliglutamatos (Wei *et al.* 1996, Wei and Gregory 1998, Bailey *et al.* 1988, Keagy *et al.* 1988), afectando a la absorción.

Los folatos presentes como monoglutamatos no necesitan ser hidrolizados, de tal forma que su paso a través de la membrana intestinal involucra a un transportador de folatos, pH dependiente. Incluso a altas concentraciones de folatos la absorción puede tener lugar mediante un mecanismo saturable que involucra difusión pasiva (Gregory, 1995) (Figura 4). Sin embargo, el ácido fólico tiene que ser hidrolizado hacia DHF y finalmente a la forma MTHF.

Este mecanismo explica la absorción del folato libre de la dieta, sin embargo, en la leche está fundamentalmente unido a una proteína y éste complejo proteína-folato es absorbido intacto en gran parte en el ileon, por un mecanismo diferente al sistema de transporte activo de absorción del folato libre. Por ello, la

disponibilidad biológica del folato en la leche o del folato de las dietas a las cuales se les ha añadido leche es considerablemente mayor que el folato libre (Verwei *et al.*, 2003).

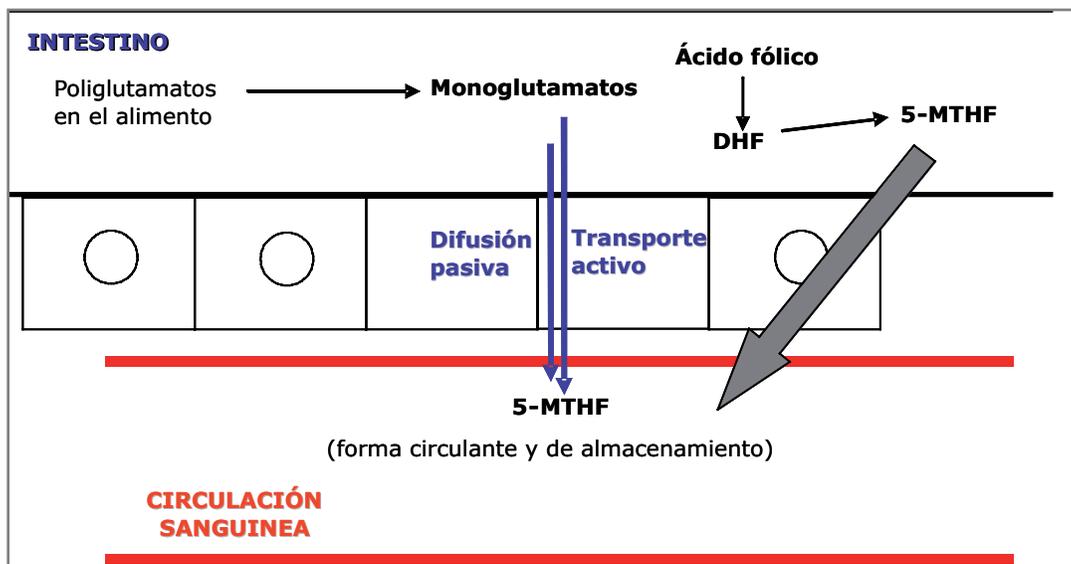


Figura 4. Hidrólisis y absorción de folatos.

Además, la transformación de ácido fólico en su forma activa, L-MTHF, es un paso crítico ya que esta conversión frecuentemente se ve interrumpida por numerosos factores intrínsecos al individuo como son: la edad, el metabolismo y la genética. Un 40% de los adultos se ve afectado por defectos genéticos que pueden limitar la cantidad de ácido fólico que se transforma a folato activo, el cual neutraliza la homocisteína (Gregory, 1995).

Si tenemos en cuenta que el ácido fólico tiene que ser primero transformado en la forma activa para poder ser absorbido y utilizado, la forma sintética (6S)-5-MTHF permite su paso directo a la circulación y al resto del organismo sin transformación previa (Pietrzik *et al.*, 2001), tal y como se muestra en las figuras 4 y 5.

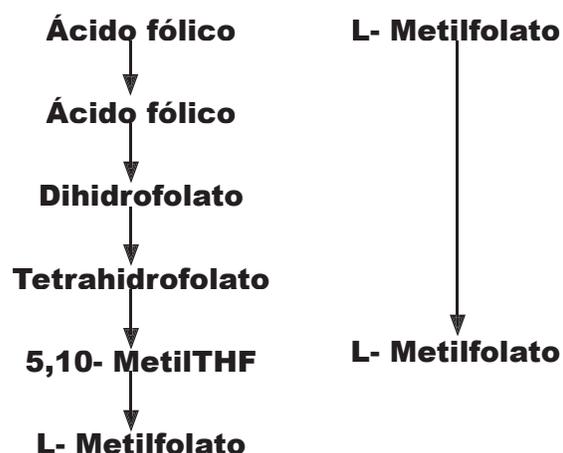


Figura 5. Transformaciones previas a la absorción.

Transporte

Una vez absorbido y dentro de la célula entérica, el ácido pteroilglutámico se transforma en THF, gracias a la dihidrofolato reductasa, metilándose posteriormente y dando el 5-MTHF que pasa al torrente sanguíneo.

El 5-MTHF alcanza la vena portal, y llega al hígado donde aproximadamente del 10-20% de los folatos absorbidos son retenidos, mientras que el resto circula a otros tejidos (Gregory, 1995).

Tal como se muestra en la Figura 6, una vez los monoglutamatos están en sangre, se dirigen al

residen en el hígado en forma de tetra-, penta-, hexa- y heptaglutamatos del 5-MTHF y 10-HCO-THF (Combs, 1992; Herbert y Das, 1994). Los tejidos extrahepáticos acumulan folato a concentraciones por encima del plasma por desmetilación y formación de poliglutamatos (Herbert and Das, 1994).

Como se ha dicho anteriormente, después de la absorción, el 5-MTHF llega a la circulación portal. Muchos de estos folatos son captados por el hígado, aunque algunos llegan a la bilis donde son recirculados por el ciclo enterohepático.

Los glóbulos rojos contienen niveles más

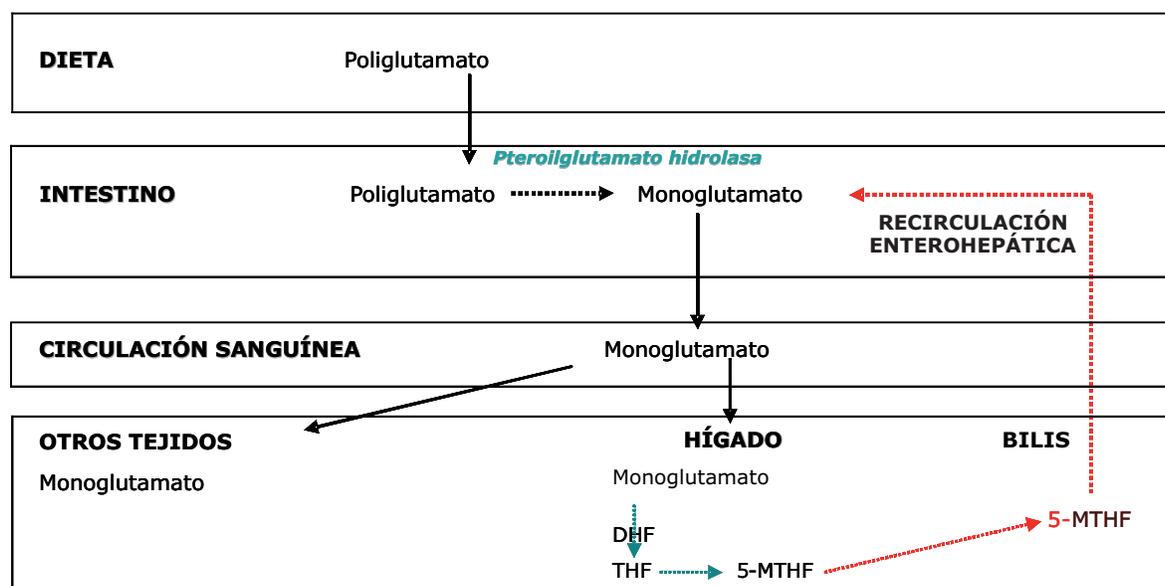


Figura 6. Transporte de los folatos y circulación enterohepática.

hígado en cuya circulación portal son de nuevo conformados en poliglutamatos, los cuales pueden ser reenviados a sangre o a bilis. El hígado y las células rojas de la sangre son los principales tejidos de almacenamiento para folatos. El hígado almacena el folato en forma reducida y conjugada o lo convierte en MTHF que es secretado en la bilis y reabsorbido en la mucosa intestinal, estando disponible para los tejidos extrahepáticos. En humanos el contenido de folatos totales en el organismo es de 5-10 mg, de los cuales la mitad

altos de folatos que en plasma, y prácticamente todos los folatos que se encuentran en los eritrocitos son las formas poliglutámicas del 5-MTHF. Por tanto, el L-MTHF es la forma predominante en plasma y en el transporte a los tejidos, siendo el único que puede atravesar la barrera cerebroencefálica. Estas características positivas de esta forma de folato, se pueden extrapolar al (6S)-5-MTHF. El nivel de folatos en eritrocitos es uno de los parámetros más usados para medir a largo plazo el estado de folatos en el organismo. La con-

centración de folatos en plasma es también un buen indicador del estado de los folatos en el organismo aunque puede estar influenciado por la ingesta diaria de folatos en la dieta (Ratnam y Freisheim, 1990).

Metabolismo

El papel de los folatos en el metabolismo es con raras excepciones, el transporte de unidades un-carbono (Figura 7). Estas unidades un-carbono presentan distintos grados de oxidación que varía desde el más reducido como sería el caso del metano, hasta el más oxidado que sería el dióxido de carbono. Con la excepción de este último, las unidades un-carbono son sintetizadas en la célula durante el metabolismo y transportadas de una reacción a otra en forma de derivados folato (Wagner, 1995). De esta manera van a intervenir en reacciones tales como (Konings, 2001; Gregory, 1997):

1. Síntesis de ADN, donde la función de coenzima folato es en la síntesis de timidilato y purinas.
2. Transferencia de un carbono mediada por folatos desde la serina, la cual provee una

importante fuente de folato en el metabolismo de un-carbono.

3. Conversión de homocisteína hasta metionina, donde interviene la vitamina B₁₂ como coenzima y el 5-MTHF como sustrato. En esta reacción el grupo metil es transferido enzimáticamente hasta la homocisteína para formar metionina. La importancia de este proceso radica en que es la mayor fuente de metionina para la síntesis de S-adenosil-metionina, que es un agente metilante esencial en el organismo.

Debido al importante papel que desempeña en el metabolismo, existen numerosas enfermedades relacionadas con el ácido fólico, es esencial poseer un adecuado nivel de folatos. Para alcanzar unos niveles recomendados en plasma se debe recurrir a niveles adecuados de ingesta. Para ello, es necesario conocer la cantidad de folatos que contienen los alimentos, con el objetivo de adecuar la dieta a los niveles que se precisan de la vitamina. Actualmente, los valores de ingesta están basados en tablas de composición alimenticia cuyos datos sobre folatos pueden ser cuestionables a menudo (Cuskelly *et al.*, 1996).

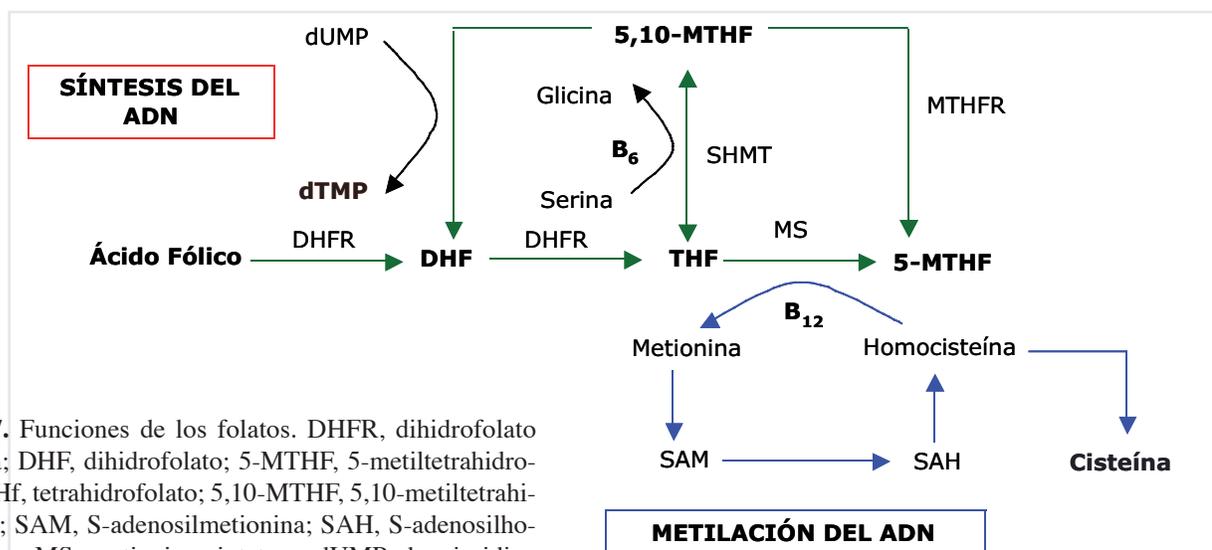


Figura 7. Funciones de los folatos. DHFR, dihidrofolato reductasa; DHF, dihidrofolato; 5-MTHF, 5-metiltetrahydrofolato; THf, tetrahydrofolato; 5,10-MTHF, 5,10-metiltetrahydrofolato; SAM, S-adenosilmetionina; SAH, S-adenosilhomocisteína; MS, metionina sintetasa; dUMP, deoxiuridina 5'-monofosfato; dTMP, deoxitimidina 5'-monofosfato.

Excreción

Los folatos se filtran en el glomérulo y son reabsorbidos en el túbulo renal proximal (Whitehead, 1986). La mayor parte de los folatos secretados son reabsorbidos. La limpieza renal de los derivados de los folatos es inversamente proporcional a sus afinidades por las proteínas específicas de unión de los folatos en los túbulos proximales del riñón (Birn *et al.*, 1993). Como se describe abajo, también la orina posee derivados de los folatos (Williams *et al.*, 1982).

La excreción biliar de los folatos se estima que es una cantidad tan alta como 100 μg por día en humanos (FAO/OMS, 2002). Muchos de éstos serían reabsorbidos a nivel del intestino delgado, existiendo una excreción fecal. Sin embargo la excreción de folatos en heces es variable y no se utiliza como una medida de disponibilidad debido a la biosíntesis de folatos por medio de la flora intestinal. En experimentos con animales, requiriendo un tratamiento con drogas sulfatadas para producir una deficiencia completa de folatos, se ha demostrado que la síntesis bacteriana de folatos contribuye a su almacenamiento hepático, aunque no se ha cuantificado el alcance de esta contribución. Las pérdidas de folatos vía biliar y fecal pueden verse incrementadas cuando hay problemas de absorción intestinal (Gregory *et al.*, 1995).

CONTENIDO DE FOLATOS EN LOS ALIMENTOS

Los folatos se encuentran en una amplia variedad de alimentos, tanto de origen vegetal como animal. Los folatos en los alimentos están casi exclusivamente en forma reducida, y los monoglutamatos están presentes en muy pequeña cantidad (Combs, 1992). Desde el año de 1972 se ha publicado bastante información acerca del contenido de folatos en los alimentos (Hoppner *et al.*, 1972; Perloff y Butrum, 1977; Thenen, 1982; Okholm-Hansen y Brogren, 1991; que quedan recogidas en algunas tablas de composición; USDA, 1993; 1996; Holland *et al.*, 1991; Livsmedelstabeller, 1993; Scherz y Senser, 1994; Olivares *et al.*, 2006).

De acuerdo con Gregory (1989) la mayoría de los folatos naturales presentes en los alimentos son metil-, formil- y tetra-hidrofolato de varias cadenas de poliglutamatos. Los folatos totalmente oxidados (por ejemplo, ácido fólico y sus poliglutamatos) existen sólo en pequeñas cantidades en plantas y alimentos de origen animal, probablemente como productos de oxidación del tetrahidrofolato.

La influencia del procesado en el contenido de folatos en el alimento debe ser considerada cuando se va a estimar la ingesta diaria o cuando se valora el potencial de algunos alimentos como una buena fuente de folatos. Variaciones en la susceptibilidad de las diferentes formas de folatos a degradarse durante el procesado, y por otra parte, la influencia sobre ellos de factores ambientales (pH, oxígeno y concentración de antioxidantes, metales, iones, etcétera) generan dificultades para poder caracterizar la estabilidad de los folatos en los alimentos (Gregory, 1989). Por ello, la bibliografía científica muestra diferencias en cuanto al contenido de los folatos en los alimentos sometidos a diferentes tratamientos térmicos o procesos de cocinado (Klein *et al.*, 1981; Aramouni, 1991; Andersson y Öste, 1992; Hoppner y Lampi, 1993; Pedersen, 1993; Bergström, 1994; Williams *et al.*, 1995; Williams, 1996; Viberg *et al.*, 1997).

En los alimentos fortificados se ha comprobado que la forma de enriquecimiento más estable es la del ácido fólico (Olivares *et al.*, 2004). El aumento de interés que se produce con los alimentos enriquecidos con ácido fólico (Ranhotra y Ranum, 1994; Keagy, 1994) lleva al mercado a producir nuevos alimentos con folatos, los cuales difieren en su contenido y estabilidad de los folatos naturales. Este es el caso del diastereoisómero (6S) del 5-MTHF, el cual presenta una estabilidad y biodisponibilidad similar a la del ácido fólico (Pentieva *et al.*, 2003).

Alimentos de origen vegetal

Basado en estudios hechos por HPLC o por diferentes análisis microbiológicos, los folatos predominantes en verduras y otros alimentos de origen vegetal es el 5-MTHF (Gregory *et al.*, 1984; Chen *et al.*, 1997).

Muchas verduras, tales como los vegetales de hoja verde, tienen un alto contenido en folatos. Productos frescos como el brócoli, espárragos, guisantes verdes tienen un alto contenido de folatos, hasta 100 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de folatos (Okholm-Hansen y Brogren, 1991). Las patatas, zanahorias, tomates, pepinos son considerados como fuente de folatos con un contenido moderado entre un 13-17 $\mu\text{g}/100\text{g}$ (USDA, 1993). La mayoría de frutas frescas contienen menos de 15 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, aunque existen excepciones como por ejemplo las naranjas (24-35 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) y otros cítricos y fresas (18-63 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) (Holland *et al.*, 1991; USDA, 1993).

El contenido de folatos en cereales se considera entre moderado y alto. La harina de trigo tiene de 18-50 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de folatos dependiendo de la extracción, ya que en el salvado y germen de trigo se encuentra un contenido en folatos de un 260 y 330 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, respectivamente. En el pan y otros cereales se ven contenidos en folatos que oscilan entre 20-50 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (Rastas *et al.*, 1993).

Alimentos de origen animal

De acuerdo con las Tablas de Alimentación finlandesas (Rastas *et al.*, 1993) la carne y productos cárnicos contienen niveles bajos de folatos (2-10 $\mu\text{g}/100\text{ g}$). La carne de pollo y la mayor parte de las especies de pescado contienen sólo una moderada cantidad de folatos (5-26 $\mu\text{g}/100\text{ g}$). El hígado, órgano de almacenamiento de los folatos, contiene un alto contenido de folatos, que va desde un 60 a un 2300 μg de folatos/100 g en hígado crudo de vacuno (Okholm-Hansen y Brogren, 1991). De acuerdo con Rastas *et al.* (1993) el riñón de vacuno tiene también un alto contenido en folatos (77 $\mu\text{g}/100\text{ g}$). En el hígado y riñón al menos un 50% de folatos están en forma de 5-metil derivados, y principalmente como pentaglutamatos (Combs, 1992). El huevo y ovoproducto son una fuente bastante buena de folatos. La concentración de folatos (5-MTHF) particularmente en el jamón york es alta (90 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) (Seyoum y Selhub, 1993). La leche pasteurizada contiene cerca de 5 μg de folatos/100 g, predominando el 5-MTHF (Wigertz, *et al.*, 1995). Los niveles de folatos en

tejidos de origen animal son muy variables ya que, diferentes prácticas de alimentación, edad y estado fisiológico del animal puede afectar al nivel de folatos (Ladjimi *et al.*, 1992; Sherwood *et al.*, 1993).

RACIONES DIARIAS RECOMENDADAS (RDA)

La ración diaria recomendada es el término general que se aplica para describir el nivel de ingesta estimado suficiente para cubrir las necesidades de la mayoría (97.5%) de la población sana. La recomendación debería proveer un margen de seguridad que permita los periodos de disminución de ingesta, aumento en su utilización, variabilidad individual y biodisponibilidad de las formas naturales de folatos presentes en el alimento (Bailey, 1995; de Bree *et al.*, 1997).

Los requerimientos de folatos se han definido históricamente como la cantidad de ingesta necesaria para prevenir una severa deficiencia con síntomas clínicos (FNB, 1989). Recientemente, el objetivo ha cambiado a identificar la ingesta asociada con el mantenimiento de las reacciones de transferencia de un carbón.

La Food and Nutrition Board (FNB), del United States Department of Agriculture (USDA), ha publicado nuevas recomendaciones (Bailey, 1998; FNB, 1998), que incluyen estimaciones de los requerimientos en folatos para un grupo de población referida a la ración media estimada de necesidades en folatos (EAR) (Tabla 3). La EAR para folatos se define como la cantidad de folatos que es necesaria para conocer el requerimiento del 50% de la población. Esta estimación en el requerimiento se basó principalmente en la habilidad de la ingesta específica de folatos para mantener la concentración normal de folatos en eritrocitos. La concentración de folatos en células rojas fue definida como el primer indicador del estado de folatos debido a la correlación con los folatos en hígado y tejidos de almacenamiento. El mantenimiento de los niveles normales de la concentración de homocisteína se evaluó también en relación con la ingesta de folatos y se consideró como un indicador auxiliar de

la funcionalidad adecuada. Las recomendaciones dietéticas adecuadas (RDA) se estimaron a partir de la EAR por la corrección de la variación popular y fueron definidos como el nivel medio de la ingesta dietética diaria suficiente para conocer el requerimiento del 98% de la población.

Las recomendaciones para folatos se expresan como Equivalentes Dietéticos de Folatos (DFE), un término adoptado por la Academia Nacional de la Ciencia (NRC, 1998) para ajustar la alta biodisponibilidad de los folatos sintéticos relacionados con la mayoría de los folatos naturales que se encuentran en los alimentos (Bailey, 1998; Cuskelly *et al.*, 1996; Pfeiffer *et al.*, 1997; Sauberlich *et al.*, 1987).

En mujeres embarazadas, la ingesta diaria de folatos debe verse incrementada a 600 μg (FNB, 1998). Este incremento de los requerimientos para folatos durante el embarazo está asociado con la rápida tasa de crecimiento y desarrollo celular tanto maternal como fetal.

Los requerimientos de folatos en mujeres en estado de lactación se ven incrementado para recuperar la cantidad de folatos secretada diariamente en la leche más la cantidad necesaria para mantener el estado normal de folatos (Bailey, 1998; FNB, 1998). No se sabe con certeza si los cambios psicológicos asociados con la lactación pueden incrementar las necesidades maternas de folatos. La nueva EAR y RDA es de 450 y 500 μg de DFE/día, respectivamente (Bailey, 1998; FNB, 1998).

Las recomendaciones estimadas de folatos para todas las categorías de edades, incluyendo recién nacidos, niños y adolescentes, no está basada en los resultados obtenidos de los estudios metabólicos de control. Para recién nacidos, no es posible estimar el EAR ni el RDA debido a las limitaciones en la base de datos. Se ha diseñado la AI (ingesta adecuada) para recién nacidos, que se basa en la cantidad de folatos consumida diariamente por la ingesta de leche materna del recién nacido (Bailey, 1998; FNB, 1998). Para niños y adolescentes, la información obtenida se extrapola de las estimaciones para la EAR y RDA de adultos (Bailey, 1998; FNB, 1998).

Tabla 3. Resumen de la AI y RDA estimado para todas las edades y sexos (FNB, 1998).

Grupo	AI ¹	RDA ²
	μg de DFE ³ / día	
Recién nacidos		
0-5	65	
6-11	80	
Niños y adolescentes ⁴		
1-3		150
4-8		200
9-13		300
14-18		400
Adultos		
≥ 19		400
Mujeres embarazadas		
Todas las edades		600
Mujeres lactantes		
Todas las edades		500

1. Ingesta adecuada.
2. Recomendación dietética diaria.
- 3 Equivalentes dietéticos de folatos.
- 4 Masculino y femenino.

Los DFE son obtenidos por transformación de todas las formas de folato dietético incluido el ácido fólico de los productos fortificados, hasta una cantidad que es equivalente al folato del alimento. La biodisponibilidad de los folatos está estimada en aproximadamente un 50% (Sauberlich 1987). Pfeiffer *et al.* (1997) encontraron una ligera reducción (aproximadamente 15%) en la relativa respuesta del ácido fólico cuando se consume como un producto fortificado. Basado en estos datos, una biodisponibilidad estimada en 85% para el ácido fólico consumido con alimentos fue usado para deducir los DFE's. Se estimó que el ácido fólico en alimentos fortificados o tomado con alimentos es 85/50 o 1.7 veces más disponible que el folato del alimento. Por ejemplo, 100 μg provenientes de folatos alimentarios (ej., espinacas) podría igualar 100 μg DFE, y 100 μg obtenidos como ácido fólico en una ración de desayuno de cereales fortificados puede igualar a 170 μg DFE (Bailey, 1998).

EFFECTOS NEGATIVOS DEL INCREMENTO DE LA INGESTA DE ÁCIDO FÓLICO

En numerosos países los programas de fortificación con ácido fólico han comenzado a aumentar la ingesta de este folato en mujeres en edad reproductiva. En Estados Unidos la fortificación de cereales y semillas con ácido fólico comenzó algún tiempo después de 1996, y desde enero de 1998 todos los productos cereales se fortifican con 14 $\mu\text{g}/100\text{ g}$. Hay algunas consideraciones acerca del peligro de tal acción en el segmento del público con deficiencia de vitamina B₁₂ desconocido, ya que el ácido fólico puede enmascarar las anomalías hematológicas y permitir las complicaciones neurológicas que progresan o incluso se aceleran cuando la ingesta de ácido fólico exceden de 1 mg por día (Rothenberg, 1999). Flynn y Enright (2000) informaron de un caso de deficiencia de vitamina B₁₂ en una mujer que usaba suplementos de ácido fólico. A pesar de que un bebé sano nazca, la madre sufrirá una severa neuropatía. Además el ácido fólico inalterado ha sido hallado en la circulación sanguínea después de una ingesta umbral de 266 μg de ácido fólico (Kelly *et al.*, 1997). A pesar de que es asumido que hay suficiente cantidad de dihidrofolato reductasa en los tejidos para reducir el ácido fólico no metabolizado (Scott, 1999), el efecto a largo plazo de esta exposición de ácido fólico no es conocido. El ácido fólico puede también contrarrestar la acción anticonvulsiva de determinadas drogas usadas en el tratamiento de la epilepsia (Chanarin *et al.*, 1960), aunque hallazgos en la literatura son contradictorios (Dipalma y Ritchie, 1977).

Recientemente, han sido publicados límites superiores (UL) seguros para la ingesta de ácido fólico (Institute of Medicine, 1998; European Commission Scientific Committee on Food, ECSCF, 2000). Los límites superiores seguros están basados en datos relatados por otros informes de altos niveles de ingesta no asociados con efectos adversos (nivel de efecto no observado o NOAEL) o niveles bajos con efectos adversos observados (nivel de efectos adversos observados = LOAEL). Puesto que los datos para el ácido fólico fueron insuficientes para

determinar un NOAEL, los UL estimados están basados en estudios que identifican un LOAEL. El UL ha sido fijado por tanto en 1000 $\mu\text{g}/\text{día}$ para todos los adultos incluidas mujeres embarazadas y en lactación (Institute of Medicine, 1998; European Commission Scientific Committee on Food, 2000). Se ha establecido un UL de 1mg de ácido fólico por día (ECSCF, 2000).

INTERACCIONES

Existe mucha literatura a favor de la fortificación de alimentos con folatos, ya que se considera un micronutriente bastante estable, no relacionado con reacciones adversas con importancia.

Sin embargo, los folatos pueden interactuar con otros componentes, disminuyendo su disponibilidad:

- B₁₂ – folato
- Interacción con el metabolismo del Cinc
- Interacción con fármacos con efecto antagonista del folato
- Interacción con fármacos anticonvulsivos
- Consumo excesivo de alcohol

Interacción de la B₁₂ con los folatos

Entre el 1945 y el 1950, altas dosis (5 mg o más) de ácido fólico se usaron para tratar la anemia perniciosa. Se demostraron unos resultados satisfactorios en todos los casos, pero se pudieron observar complicaciones neurológicas, las cuales consecuentes de una deficiencia de vitamina B₁₂. Por ello, desde 1959, el uso de altas dosis (5 mg o más) de ácido fólico en el tratamiento de la anemia perniciosa está contraindicado (FNB DRI Report, 1998).

Las deficiencias neuropáticas de vitamina B₁₂ se pueden diagnosticar en ausencia de anemia. Aquellas personas que siguen una dieta estrictamente vegetariana tienen un riesgo elevado de padecer de deficiencia de vitamina B₁₂, siempre y cuando, la ingesta de folatos sea alta (Bailey, 1992). Por tanto una ingesta excesiva de ácido fólico puede enmascarar una deficiencia de vitamina B₁₂, retrasando

potencialmente su diagnóstico. Tanto la deficiencia de folatos como de B₁₂ tienen la misma sintomatología hematológica, anemia megaloblástica, la cual desaparece con la suplementación en exceso de ácido fólico. La forma predominante de folato en el alimento, (6S)-5-MTHF no parece enmascarar dicha deficiencia. Por tal razón, el (6S)-5-MTHF podría usarse como suplementación en los alimentos como alternativa al ácido fólico (Lamers *et al.*, 2004).

Interacción con el metabolismo del cinc

La disminución en la absorción intestinal del cinc en presencia de niveles altos de folatos ha sido objeto de investigación en muchos estudios. Tamura *et al.* (1987) investigaron la relación entre el aumento de la actividad de la metionina sintetasa hepática y la disminución de folatos en plasma en ratas con déficit de cinc, comparándolo con ratas con un buen estatus de cinc. En el Medical Research Council (MRC) Vitamin Study no han encontrado diferencias en los niveles de cinc entre un grupo control y mujeres embarazadas (MRC, 1991). Aunque para otros autores como Hambidge (1993), la suplementación de folatos no afecta a los niveles de cinc.

Interacción con fármacos antagonistas del ácido fólico

Existe muy poco publicado acerca de la seguridad o toxicidad de estos fármacos (por ejemplo, Metotrexato para diferentes cánceres, Trimethoprim para infecciones bacterianas, Triamterene para la hipertensión) cuando se consumen en presencia de suplementación de ácido fólico (de Paz *et al.*, 2006). En la Tabla 4, De Paz resume los fármacos que actúan interfiriendo con la enzima necesaria para la transformación del ácido fólico en tetrahidrofolato, pero éstos no eliminan al ácido fólico *per se*.

Dentro del grupo de personas que podrían experimentar estos efectos se incluyen personas mayores y personas que sufren de cáncer, SIDA o epilepsia. Este grupo de personas podría recibir consejos sobre el consumo de dietas con una baja o moderada cantidad de folatos. El Colegio de Reumatología en América ha expuesto que una dosis de 1 mg/ día de ácido fólico parece no inhibir los efectos de la terapia a dosis bajas con Metotrexato en casos de artritis reumatoides (Campbell, 1996). Sin embargo, la cantidad de folatos que se utilizan para suplementar los alimentos es improbablemente perjudicial para este grupo (ECSCF, 2000). Por el contrario, el aumento de los folatos naturales en

Tabla 4. Fármacos antifólicos.

- Ácido acetilsalicílico	- Anticonvulsivantes:
- Antiácidos: Cimetidina, Ranitidina	ü Fenitoína
- Diuréticos: Triamterene	ü Fenobarbital
- Alcohol	ü Primidona
- Antibacterianos:	ü Carbamacepina
ü Trimethoprim	- Antihipertensivos: Metildopa
ü Nitrofurantoína	- Antilipemiantes: Colestiramina
- Antituberculosos:	- Quimioterápicos:
ü Isoniazida	ü Methotrexate
ü Cicloserina	ü Fluoruracilo
ü PAS	- Inmunosupresores:
- Antiparasitarios:	ü Sulfasalazina
ü Pirimetamina	ü Aminopterina
ü Pentamidina	- Litio
	- Anticonceptivos orales

cantidades fisiológicas en la dieta en personas con consumo de estos fármacos no presentará efectos clínicamente importantes.

Consumo excesivo de alcohol

Otro antifólico bien documentado es el alcohol. Se ha observado en numerosos estudios que estados nutricionales pobres en folatos se relacionan con pacientes alcohólicos crónicos debido a una inadecuada absorción, una inadecuada ingesta, metabolismo alterado, y a un aumento en la excreción de folatos (Laufer *et al.*, 2004). El alcohol también produce una disminución rápida (entre 2 y 4 días) de los niveles séricos de folatos (Brown, 2006).

ETIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES RELACIONADAS CON LOS FOLATOS

Enfermedades cardiovasculares

Muchos estudios han observado que el riesgo de enfermedad cardiovascular está asociado con altos niveles de homocisteína en plasma (Selhub *et al.*, 1995; Verhoef *et al.*, 1996; Verhaar *et al.*, 2002; Refsum *et al.*, 2004; Pintó *et al.*, 2005). Aumentando la ingesta de ácido fólico así como la de folatos del alimento se ha encontrado que disminuye los niveles de homocisteína del plasma y el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Jacob *et al.*, 1994; Ubbink 1997, Brattström *et al.*, 1998, Brouwer *et al.*, 1999^a, Brouwer *et al.*, 1999^b, Riddell *et al.*, 2000). Boushy *et al.* (1995) descubrieron que un descenso de niveles de homocisteína de 5 $\mu\text{mol/L}$ puede resultar en un 40% de disminución del riesgo de enfermedades cardiovasculares, en sujetos con niveles inicialmente altos de homocisteína en plasma ($>16 \mu\text{mol/l}$). Para sujetos con niveles normales de homocisteína, Van't Veer *et al.*, (1997) mostraron que una ingesta adicional de ácido fólico de 250 $\mu\text{g/día}$ puede resultar en una disminución de un 10% del riesgo de enfermedades cardiovasculares. Brouwer *et al.*, (1999) hallaron aproximadamente un 15% de disminución en la homocisteína del plasma después de una ingesta adicional de 250 $\mu\text{mol/d}$ de ácido

fólico o una ingesta adicional de folatos dietéticos de 350 $\mu\text{mol/d}$. Numerosos estudios de intervención están actualmente en vías de ejecución para investigar las terapias de disminución de homocisteína con ácido fólico dirigidas a la disminución de las enfermedades cardiovasculares.

Anemia megaloblástica

La anemia megaloblástica es una alteración sanguínea caracterizada por la presencia de megaloblastos en médula ósea y macrocitos en sangre periférica, lo cual puede venir acompañado de una o más citopenias. La megaloblastosis es considerada como la consecuencia morfológica de aquellas alteraciones químicas que provocan el enlentecimiento de la síntesis del ADN, con una síntesis relativamente normal del ARN (de Paz, 2006). Dichas alteraciones químicas se deben, generalmente, a la deficiencia, ya sea absoluta o relativa, de ciertas sustancias necesarias para la hematopoyesis normal. Se ha podido comprobar que un alto porcentaje de esta anomalía (aproximadamente el 95%) es provocado por la deficiencia de folatos, cobalaminas o de ambas, aunque estos síntomas pueden aparecer también como consecuencia de leucemias agudas y debido a la acción de agentes mielodisplásicos.

Existen diversas causas de deficiencia de folatos relacionadas con la anemia megaloblástica:

- *Dieta insuficiente:* la anemia megaloblástica debida a la deficiencia de folatos en la dieta afecta a personas con consumo crónico de alcohol, con anomalías mentales y en algunos casos de malnutrición proteica, estados de pobreza y de falta de atención en personas de edades avanzadas pueden llevar también a una deficiencia de folatos y por tanto a una posible anemia megaloblástica (Green *et al.*, 2005). La leche de cabra posee sólo un 12% de folatos en comparación con la leche de vaca. Ésta es una importante causa de deficiencia de folatos en niños con una alimentación casi exclusiva de leche de cabra en vez de vaca; esta situación se ha descrito como “anemia de leche de cabra”.

•*Malabsorción intestinal*: en algunos casos, se ha sugerido la inhibición de la hidrolasa intestinal por algunos fármacos como causa de la malabsorción de folatos, aunque este mecanismo no ha podido ser demostrado. Son más frecuentes aquellos cuadros en los que la malabsorción es secundaria a anormalidades en la mucosa intestinal, como en el caso del *Sprue tropical*, la *enfermedad de Crohn* (enteritis regional), *enfermedad de Whipple*, la esclerodermia, la amiloidosis y la diverticulitis del intestino delgado. En la *resección quirúrgica del estómago o atrofia de la mucosa gástrica*, se produce una absorción inadecuada de folatos por la aclorhidria secundaria. Determinados fármacos pueden interferir en la absorción de folatos (Tabla 4) (de Paz, 2006).

•*Aumento de las necesidades de folatos*: existen situaciones determinantes en las que se ven aumentos de las necesidades de folatos, como el embarazo y los primeros meses de vida. Este incremento de las necesidades de folatos puede llevar a una deficiencia grave de éstos en pacientes que se encuentren en el límite de sus requerimientos dietéticos diarios (RDI). La anemia megaloblástica debida a la deficiencia de folatos se detecta después de 36 semanas de embarazo. Debido a la suplementación de folatos antes de la concepción y durante el embarazo, la prevalencia de anemia megaloblástica es menor. Existe un incremento de la prevalencia en gestaciones gemelares. En países subdesarrollados, donde la ingesta de folatos diaria es inadecuada y no toman suplementación de éstos en estados de gestación, la prevalencia de anemias megaloblásticas es hasta un 50%. Bebés prematuros tienen un requerimiento aún más alto al de un niño debido a su rápido crecimiento durante los 2-3 primeros meses, descubriéndose una posible anemia megaloblástica a las 4-6 semanas de vida. En los ancianos, al carecer de una dentadura adecuada, habitualmente no pueden tomar verduras frescas o alimentos crudos, y muchas veces la dieta se basa fundamentalmente en conservas enlatadas. Se estima que del 10-30% de los humanos mayores de 50 años presentan una capacidad reducida de absorber vitamina B₁₂ (Asrar y O'Connor, 2005). En

los niños, el déficit de folatos se observa con más frecuencia en los prematuros y tras dietas exclusivas basadas en leche de cabra, cuyo contenido en folatos es muy bajo, o la utilización de sustitutos lácteos sin suplementos vitamínicos (de Paz, 2006).

Defectos del tubo neural

Durante el desarrollo embrionario se produce el cierre del tubo neural en torno a las seis semanas tras la concepción. Los llamados defectos del tubo neural (DTN) se producen como consecuencia de alteraciones en el cierre del mismo, y pueden tener lugar a dos niveles: cerebro y columna vertebral. Este defecto a nivel del cerebro da lugar a la *anencefalia* y al *encefalocele*, y a nivel de la columna vertebral constituye la *espina bífida* (Lijun Pei *et al.*, 2005). Numerosas investigaciones han demostrado que durante la preconcepción y estado prenatal adiciones de ácido fólico pueden reducir satisfactoriamente la incidencia de DTNs (Hasenau, *et al.*, 2002).

Estudios de intervención muestran que tratamiento de 400 µg ácido fólico en mujeres en estado de gestación reducen el riesgo de tales defectos (MRC Vitamin Study, 1991; COMA, 2000; Reynolds, 2002).

Cáncer de colon y rectal

Artículos recientes evidencian la relación existente entre el cáncer de colon y rectal y el nivel de folatos en la dieta (Kim *et al.*, 2006). Un estudio informa que las mujeres que toman suplementos multivitamínicos durante largos periodos de tiempo presentan una importante reducción del riesgo de cáncer de colon y rectal (Giovannucci *et al.*, 1998).

Alzheimer y otras alteraciones neurológicas

Esta enfermedad es una grave demencia progresiva que afecta a 20 millones de personas en el mundo y a 800 000 españoles. El aumento de los niveles de homocisteína en sangre ha sido vinculado con el riesgo de enfermedad arterial, demencia y enfermedad de Alzheimer. Por consiguiente, existe interés por saber

si los suplementos dietéticos de ácido fólico (un análogo químico artificial de los folatos naturales) pueden mejorar la función cognitiva de las personas con riesgo de deterioro cognitivo asociado con el envejecimiento o la demencia, mediante la alteración del metabolismo de la homocisteína o por medio de otros mecanismos (Luchsinger *et al.*, 2004).

Estudios *in vivo* examinan el efecto de la administración de suplementos de ácido fólico, con o sin vitamina B₁₂, en personas de tercera edad sanas y con demencia, con el fin de prevenir el deterioro cognitivo o retrasar su desarrollo (Malouf, 2003). Los mayores que ingieren suficiente folato tienen menos probabilidad de desarrollar la enfermedad de Alzheimer que quienes no lo hacen, según un estudio estadounidense publicado en la revista *Alzheimer & Dementia: The Journal of the Alzheimer Association*. El estudio refuerza una evidencia observada previamente (Schneider *et al.*, 2006).

MÉTODOS DE VALORACIÓN DEL CONTENIDO DE FOLATOS EN LOS ALIMENTOS

La valoración del contenido de folatos en los alimentos no resulta sencilla. Todos los métodos disponibles poseen limitaciones ya que existen ciertas formas químicas derivadas que pueden no ser cuantificadas y en otros casos se sobreestima sobre la realidad del contenido. De modo sencillo podemos dividir los métodos en microbiológicos y cromatográficos, que son brevemente descritos a continuación.

Extracción de compuestos de folatos desde diferentes matrices alimenticias

Los folatos se extraen usualmente de la matriz del alimento y diluyendo la muestra en un tampón con antioxidantes y utilizando un tratamiento térmico. Estas soluciones tamponadas tienen un pH cercano a la neutralidad, son ligeramente ácidas o alcalinas. La estructura de la muestra es modificada por la homogeneización con las soluciones tampón, de tal forma que rompe las estructuras celulares y gracias al calentamiento los folatos son liberados dentro

del tampón. El tratamiento por calor también provoca la desnaturalización de las proteínas de unión a folatos así como de las enzimas que catalizan la interconversión de las distintas formas de folatos (Gregory, 1996; Ball, 1998). Los antioxidantes más utilizados son el ácido ascórbico y los tioles (como es el caso del 2-Mercaptoetanol, MCE). El uso de estos dos antioxidantes unidos, ácido ascórbico al 2% y 2-MCE (0.2 M) a pH 7.85 ha sido ampliamente recomendado en la bibliografía (Wilson y Horne, 1984) puesto que permite superar los problemas de estabilidad del 10-FTHF y otras formas más lábiles. Algunos métodos no utilizan antioxidantes en todo el paso de extracción (Jacoby y Henry, 1992), pero si se quiere determinar el contenido total de folatos su utilización es esencial.

Las condiciones de pH también son muy importantes para preservar la estabilidad de los folatos frente a la oxidación (Gregory, 1989, 1996). Cada forma vitamínica derivada tiene su pH óptimo de estabilidad, lo que dificulta la optimización de unas condiciones de extracción que sean válidas para todas las formas de folatos.

Otros factores que afectan la estabilidad de los folatos son la luz (Blakley, 1969; Mastropaolo y Wilson, 1993), el pH del tampón extracción y el tipo de tampón (Gregory, 1990). Además, muchas formas derivadas pueden alterarse durante la extracción. Los fosfatos aceleran la conversión de unas formas en otras ya que el 10-HCO-THF se transforma en 5,10-CH⁺-THF y en 5-HCO-THF si la extracción transcurre a pH menores de 7.0; o bien el 5,10-CH₂-THF en THF (Schirch, 1997). Estos hechos demuestran que las condiciones de extracción influyen en los resultados de la distribución de las formas derivadas por lo que las condiciones más adecuadas de extracción a menudo dependerán del objetivo del análisis.

Por todo ello, la preparación de las muestras y los estándares se han de realizar en condiciones de reducida luminosidad (casi en oscuridad) y evitando el contacto con el aire (bajo atmósfera de nitrógeno).

La incorporación de enzimas como α -amilasa o proteasa durante la digestión permite una máxima

cuantificación del contenido de folatos en alimentos, amiláceos (cereales) o proteicos (vísceras), cuando se utiliza previamente al análisis microbiológico o mediante radioinmunoensayo. Los investigadores que aplican el tratamiento trienzimático (conjugasa, amilasa y proteasa) destacan su esencialidad para la determinación óptima del contenido de folatos cuando hablamos de la dieta (Tamura *et al.*, 1997). Sin embargo, cuando el método final de determinación de folatos es el cromatográfico (HPLC), el tratamiento trienzimático no es una práctica común, ya que para ello es necesario introducir un paso más en el proceso (Pfeiffer *et al.*, 1997).

Hidrólisis de las formas poliglutámicas de folatos

La mayor parte de los métodos de análisis precisan que los poliglutamatos presentes en los alimentos sean hidrolizados enzimáticamente a formas mono o di-glutamatos antes de poder ser cuantificados. Las fuentes más comunes de enzima pteroilglutamato hidrolasa (conjugasa) son las provenientes de páncreas de pollo (utilizada preferentemente en el método microbiológico), la proveniente de riñón de cerdo, y las de plasma humano o de rata (utilizados indistintamente) (Leichter *et al.*, 1979).

Método cromatográfico

•*Separación*— La naturaleza hidrosoluble de los folatos, junto con las diferencias en las propiedades iónicas e hidrofóbicas, hacen que estos componentes se adapten perfectamente al intercambio iónico o fase-reversa del HPLC (Gregory, 1985). El análisis de folatos naturales se puede llevar a cabo por la hidrólisis de estos a monoglutamatos, o como poli- \square -glutamifolatos intactos. En la separación por fase reversa, la supresión o aumento de la ionización de los grupos funcionales por el pH, se puede usar efectivamente para regular la retención de folatos en la columna. El pH, la fuerza iónica y la polaridad del solvente se usan para optimizar la separación. La separación con pares iónicos se lleva a cabo en un pH neutro con surfactantes catiónicos usando el metanol y tetrabutylamoniofosfato (TBAP) (Rein-

gold y Picciano, 1982; Holt *et al.*, 1988; White *et al.*, Gauch *et al.*, 1993) o el gradiente de acetonitrilo con TBAP (Bagley y Selhub, 1997).

•*Purificación y análisis de folatos con HPLC*— Como ya se ha especificado previamente las muestras procesadas deben ser purificadas antes de proceder a su separación y cuantificación mediante HPLC. Sin este paso se pierde sensibilidad y selectividad en la detección de folatos. Para evitar este problema han sido diseñados diversos métodos de preparación de las muestras entre los que destacan los cartuchos de extracción rellenos de sílices modificados que han supuesto una alternativa a otros procedimientos tradicionales de preparación de muestras tales como el uso de resinas de intercambio iónico (Rebello, 1987; Vahteristo y Finglas, 2000).

Los métodos de purificación más utilizados están basados en la afinidad cromatográfica de las muestras, de tal forma que incluyen el intercambio iónico fuerte a través de sílice u otras resinas donde los folatos son retenidos en relación con sus cargas y recogidos con tampones apropiados o soluciones de elución (Vahteristo *et al.*, 1996). Para ello es precisa la preparación previa de las columnas de extracción o cartuchos (LiChrolut[®]).

•*Detección de folatos por cromatografía líquida*— Las formas monoglutámicas THF, 5-MTHF y 5-FTHF pueden ser detectadas tanto en el detector de fluorescencia como en ultravioleta. El ácido fólico (PGA) únicamente es visible en el rango de ultravioleta.

Método microbiológico

Este es el método Oficial aprobado por la “Association Official of Analytical Chemistry”, AOAC, que permite valorar el contenido de folatos totales en alimentos. Hoy en día es el único método reconocido por la AOAC (AOAC, 2000) para el análisis y cuantificación del ácido fólico en la preparación de vitaminas y fórmulas infantiles. Por su comodidad es el método utilizado de forma usual (Finglas *et al.*, 1993). El crecimiento microbiano se basa en los re-

querimientos nutricionales de los microorganismos por los folatos. Con un pH apropiado el crecimiento de *Lactobacillus rhamnosus* es igual en todos los folatos mono-, di- y tri-glutamatos aunque no responde ante los ácidos pteróicos, producto común de la degradación de los folatos.

Este método no puede diferenciar entre formas distintas de folatos. El organismo comúnmente usado es el *Lactobacillus rhamnosus* variedad *casei* quien responde a la presencia de monoglutamatos, así como a los di- y tri-glutamilfolatos (Martín, 1995) pero con crecimiento diferente. No obstante, ciertos compuestos pueden estimular o inhibir el crecimiento bacteriano dando lugar a resultados no reales.

BIODISPONIBILIDAD DE FOLATOS

La biodisponibilidad de los folatos se define como la fracción de folatos ingeridos que son absorbidos en el intestino delgado y que pueden ser usados por los procesos metabólicos o almacenado en el cuerpo (Melse-Boonstra, 2003).

Además hay que definir otros términos como:

- **Disponibilidad:** hace referencia al contenido en folatos que tiene un alimento y que, una vez llegue al intestino podrá ser potencialmente utilizado por el organismo para ser incorporado al metabolismo.
- **Accesibilidad:** hace referencia a la proporción de folatos disponibles en el intestino, que se estima pasan la barrera intestinal y llegan a sangre.
- **Bioconversión:** proporción de folatos ingeridos que son metabolizados en sus formas derivadas.
- **Bioeficacia:** fracción de folatos ingeridos que tiene un efecto favorable en otro biomarcador tal como concentración plasmática de homocisteína (Brower *et al.*, 2001).

FACTORES QUE DETERMINAN LA DISPONIBILIDAD DE FOLATOS EN LA DIETA

Existen estudios que demuestran que la biodisponibilidad de los folatos procedentes de una dieta mixta y variada es de alrededor de 50% mientras que la biodisponibilidad de formas monoglutámicas puede variar entre 70 y 120% en relación con la del ácido fólico (100%). Los factores influyentes en la biodisponibilidad, bioconversión y bioeficacia de los folatos se pueden resumir en el acrónimo SLA-MENGHI, en inglés, cuyas iniciales corresponden a los siguientes factores: “**S**pecies” o forma química de folatos; “**L**inking” o uniones moleculares de los folatos; “**A**mount” o cantidad de folatos; **M**atriz alimentaria en la cual se encuentra; **E**fectos modificadores; estatus de **N**utrientes en el organismo; factores **G**enéticos; factores relacionados con el **H**ospedador; e **I**nteracciones matemáticas (Melse-Boonstra, 2003).

1. “Species” o forma química de folato

Los folatos se presentan en muchas formas diferentes, como se ha descrito al inicio de la Revisión Bibliográfica. La biodisponibilidad, bioconversión y bioeficacia de las formas reducidas de folatos (5-MTHF, DHF, THF, 5-FTHF, 5,10-MTHF) pueden diferir de la forma oxidada (ácido fólico) (Gregory *et al.*, 1992).

La bioeficacia de la oxidación y reducción de los folatos con o sin varias unidades de carbono se ha investigado en varios estudios de intervención con personas. Este es el caso de Perry y Chanarin (1970), los cuales encontraron grandes aumentos de folatos en suero después de la ingestión de folatos reducidos comparados con la ingesta de ácido fólico. Otros estudios no han encontrado diferencias en la bioeficacia entre el ácido fólico y las formas reducidas de folatos (Tamura y Stokstad, 1973; Bhandari y Gregory, 1992).

Un problema que surge con la mayoría de estudios de investigación acerca de la bioeficacia de los folatos es que la variación en la respuesta para cada individuo es sustancialmente grande y además no es posible determinar si esas diferencias han sido causadas por diferencias en la absorción (biodisponibilidad) o en procesos de post-absorción (bioconversión).

2. "Linking" o unión molecular

Los pteroilpoliglutamatos son la mayor forma de folatos presente en los alimentos, y tienen que sufrir una hidrólisis a monoglutamatos para poder ser absorbidos en el intestino delgado. La conjugasa presente en el yeyuno es la responsable de la captación de moléculas glutamato de la pteroilpoliglutamato (Reisenauer y Halsted, 1987). Melse-Boonstra *et al.* (2004) indicaron que la biodisponibilidad de los poliglutamifolatos es marcadamente más baja que la de los monoglutamifolatos. Aunque investigadores como Hannon-Fletcher *et al.* (2004) no han encontrado evidencias que confirmen que la glutamación *per se* sea un factor limitante en la biodisponibilidad de los folatos endógenos en los alimentos.

3. "Amount" o cantidad de folatos

La biodisponibilidad de los folatos probablemente esté influenciada por la cantidad de folatos ingerida. Para su absorción, existen dos sistemas de transporte diferentes. El primer transporte se da merced a las proteínas de unión a folatos, que se encuentran en la membrana, y el segundo es un mecanismo de transporte saturable de membrana. Sin embargo, en situaciones de altas concentraciones de folatos intraluminal ($>10 \mu\text{mol/l}$), el transporte de difusión juega un mayor papel en la absorción de estos folatos (Mason, 1990). El efecto de la cantidad de ingesta parece jugar un papel importante si el sistema de transporte saturable se encuentra saturado. El transporte saturable de membrana puede alcanzar el grado

de saturación con niveles normales de folatos endógenos en alimentos, aunque puede ser rápidamente alcanzado con folatos sintéticos, como el ácido fólico. Heseker y Schmitt (1987) mostraron que la concentración de folatos en plasma se alcanza tras cuatro semanas de la suplementación de 1 mg/día; los niveles de folatos en eritrocitos se ven aumentados alrededor del final de la intervención, a las 17 semanas.

Además del papel que juegan la cantidad de folatos en la absorción, se ha observado que la respuesta relativa de la concentración de folato en suero y eritrocitos, a bajas dosis de ácido fólico ($<200 \mu\text{g/día}$), es más alta que a concentraciones mayores. Se ha comprobado que dosis superiores a 500 $\mu\text{g/día}$ no da lugar a mayores efectos en la disminución de las concentraciones de homocisteína. Muchos autores han investigado el efecto de diferentes concentraciones de ácido fólico sobre los niveles de homocisteína en plasma. En un meta-análisis (Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration, 1998) se mostró un efecto de disminución similar en la homocisteína para dosis entre 0.5 y 5 mg de ácido fólico.

4. Matriz alimentaria

La complejidad de la matriz del alimento o en general de la dieta afecta a la biodisponibilidad. Se ha comprobado que la biodisponibilidad de los folatos en una dieta variada es de 50% (Sauberlich *et al.*, 1987). En el caso de dietas ricas en frutas y verduras, la biodisponibilidad varía en un rango mayor de entre 60 y 98% dependiendo de los parámetros medidos. La disrupción de la matriz en verduras y frutas, por cortado de la mismas, bien por tratamiento enzimático o por procesado tecnológico, aumenta la biodisponibilidad (Riddell *et al.*, 2000).

5. Efectos modificadores

La actividad de la pteroilglutamato hidrolasa es pH dependiente (con un óptimo entre 6.5 y 7.0) y

puede ser inhibida por tomate y zumo de naranja y también por citrato (Bhandari y Gregory, 1990). Es conocido que esta enzima necesita cinc para su actividad (Kauwell *et al.* 1995), por tanto, la biodisponibilidad de los poliglutamatos ingeridos dependerá de la cantidad de cinc presente en la dieta. Otro efecto modificador sería el de la fibra dietética que parece reducir la biodisponibilidad de los folatos, así como el del alcohol que inhibe la absorción de los folatos en el intestino (Halsted, 1995).

6. Estatus de nutrientes en el organismo

La deficiencia de folatos puede alterar el reparto de folatos entre los tejidos corporales, pero todavía no se ha aclarado si esto afecta a la bioeficacia de folatos (Varela-Moreiras y Selhub, 1992). Cuando existe déficit de vitamina B₁₂ se afecta la bioconversión de folato en el organismo, ya que es necesaria esta vitamina para la correcta actividad de la metionina-sintetasa, que transfiere el grupo metil de la forma 5-MTHF hasta la homocisteína para formar metionina. La vitamina B₁₂ puede influir en la bioeficacia de los folatos, ya que su función se interrelaciona con la de los folatos. La metilcobalamina sirve como cofactor de la metionina sintetasa, la enzima responsable de la remetilación de la homocisteína en metionina. En la misma reacción la 5-MTHF es desmetilado para dar el THF (Savage y Lindenbaum, 1995). En la deficiencia de cobalamina, el 5-MTHF no puede convertirse en THF.

En un estudio *in vivo* realizado en ratas por Hong *et al.* (2000) se investigó el efecto de la deficiencia de cinc sobre la concentración de homocisteína en plasma y sobre la distribución de folatos en los hepatocitos. La conclusión a la que se llegó tras el estudio fue que tanto la disminución de la homocisteína en plasma como la disminución de la concentración de folatos y del 5-MTHF en el hepatocito era secundaria al aumento de la actividad de metionina sintetasa durante estados de déficit de cinc.

7. Factores genéticos

Hasta un 40% de los adultos se ven afectados por defectos genéticos que pueden limitar la cantidad de ácido fólico que se transforma en folato activo, el cual neutraliza la homocisteína.

Una de las mutaciones genéticas relacionadas con el estatus de los folatos es la referente a la enzima metiltetrahidrofolato reductasa (MTHFR). Uno de los factores genéticos asociados a hiperhomocisteinemia es la mutación C677T en el gen de la 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) (Frosst *et al.*, 1995). Esta mutación genera una variante termolábil de esta enzima implicada en el metabolismo de la homocisteína y produciendo así incremento de sus niveles en plasma. Este tipo de hiperhomocisteinemia aparece especialmente en conjunción con un déficit de folato. Este polimorfismo fue descrito inicialmente por Kang *et al.* (1991) como un factor de riesgo independiente de la enfermedad coronaria arterial. También se ha descrito como los pacientes homocigotos para esta mutación presentan un incremento de riesgo a la trombosis venosa (Brattstrom *et al.*, 1998).

8. Factores relacionados con el hospedador

La edad no tiene influencia en la biodisponibilidad de folatos. Los requerimientos incrementan en la fase previa a la concepción y durante la gestación (Neuhouser *et al.*, 1998), con fines preventivos frente a la enfermedad del tubo neural (Brower *et al.*, 1993; Czeizel y Dudás, 1992). La biodisponibilidad se ve afectada negativamente en caso de desórdenes del tracto gastrointestinal tal y como se ha descrito por Halsted en 1990. En los ancianos, al carecer de una dentadura adecuada, habitualmente no pueden tomar verduras frescas o alimentos crudos, y muchas veces la dieta se basa fundamentalmente en conservas enlatadas, baja en folatos y por tanto los requerimientos dietéticos diarios en folatos se ven incrementados con respecto a

un adulto. En los niños, el déficit de folatos se observa con más frecuencia en los prematuros y tras dietas exclusivas basadas en leche de cabra, cuyo contenido en folatos es muy bajo, o la utilización de sustitutos lácteos sin suplementos vitamínicos (De Paz, 2005).

9. Interacciones matemáticas

Hace referencia al hecho de que el efecto combinado de los factores anteriormente citados, puede ser distinto al producto de los efectos por separado.

MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE BIODISPONIBILIDAD DE FOLATOS

Actualmente, son muchos los estudios dedicados a la estimación y a la valoración de la biodisponibilidad del ácido fólico procedente de los alimentos de la dieta (Gregory, 1995), debido a las siguientes justificaciones:

1. Por la necesidad de predecir si la dieta provee suficientes folatos disponibles para cubrir las necesidades diarias. Es prácticamente imposible estimar la cantidad de folatos disponible en un grupo de población con base en los datos de consumo de alimentos. Además, la asociación de los folatos dietéticos ingeridos con el estado nutricional y la relación dieta/enfermedad no puede ser completamente interpretada,
2. Por el impacto nutricional de los cambios en la dieta, tales como enriquecimiento de productos con ácido fólico no puede ser prevista con seguridad,
3. Porque el intento de definir los requerimientos de folato a través de modelos cinéticos está limitada por el hecho de la falta de desconocimiento en cuanto a información concerniente a biodisponibilidad de folatos de la dieta se refiere,
4. Porque la mejora de los métodos para la valoración de biodisponibilidad de folatos en

individuos puede ayudar en el diagnóstico y manejo de condiciones de malabsorción.

Los métodos de estimación de la biodisponibilidad pueden ser divididos en dos grupos: métodos *in vivo* y métodos *in vitro*. Muchos de ellos tienen limitaciones conceptuales, es decir los métodos *in vitro* pueden no predecir la biodisponibilidad *in vivo* de los folatos, mientras que, en el caso contrario, los métodos por isótopos pueden no predecir la biodisponibilidad de los folatos que están presentes de forma natural en los alimentos. Hasta ahora, la mayoría de los métodos han ofrecido información referente a la biodisponibilidad de los folatos totales en relación con el ácido fólico más que sobre la biodisponibilidad absoluta del total de folatos o de las diversas especies químicas de la vitamina. No obstante, éstos son los métodos de los que se dispone y con los cuales se está trabajando actualmente.

1. Métodos in vivo

Estos métodos incluyen distintos bioensayos con animales, generalmente ratas y pollos, así como, protocolos a corto plazo y a largo plazo (Figura 4) con dosis simple, métodos por isótopos y estudios de perfusión intestinal todos ellos realizados en humanos y animales (Gregory, 1988 y 1989). Los estudios de perfusión intestinal han sido útiles en la determinación del ratio de absorción en ciertas condiciones, pero estos métodos han proporcionado también información que es aplicable para la predicción de la biodisponibilidad de las vitaminas en los alimentos (Pfeiffer *et al.*, 1997; Rogers *et al.*, 1997).

En el caso de los estudios realizados en humanos, es necesario autorización legal y aprobación de los protocolos que se vayan a seguir, deben ser estudios éticamente correctos, además de laboriosos y caros; suponen una selección previa de los individuos a estudiar. Por otro lado, los datos obtenidos en estos casos serán más exactos y fácilmente validables.

1.1. Bioensayos con animales— La desventaja de los ensayos realizados en animales es que los datos obtenidos deben ser extrapolados al hombre, salvando las diferencias en condiciones fisiológicas, microflora, etcétera (Said *et al.*, 1987). Son laboriosos y requieren de tiempo, instalaciones adecuadas, personal adecuado para el manejo de los animales, conocimiento y cumplimiento de la legislación en cuanto al bienestar animal de especies de laboratorio se refiere.

Los más comúnmente usados son los realizados en ratas y pollos. Además estos procedimientos han sido usados muy extensamente, pero en la actualidad se recomienda un uso menor debido a que su relevancia en la biodisponibilidad de folatos en humanos no ha sido establecida. Las conclusiones de biodisponibilidad en animales no puede hacerse extensiva a humanos porquien existen diferencias bien documentadas entre animales (ratas y pollos) y humanos, en cuanto a la hidrólisis intestinal de folatos por medio de la conjugasa (Gregory 1995, Halsted, 1990).

1.2 Ensayos en humanos a corto plazo— Están basados en la medida de los cambios producidos en plasma, folatos séricos y en la excreción de folatos urinarios (Cooperman *et al.*, 1970; O’Keefe *et al.*, 1995). Una limitación de estos métodos es que son relativamente insensibles, lo que hace estos protocolos adecuados sólo para alimentos con alto contenido de folatos (>300 µg). Las respuestas al test y las dosis de referencia son comparadas sólo con base en los cambios de los folatos plasmáticos 1-2 horas después de la administración de la dosis oral. Por lo cual los resultados dependen del status previo de los sujetos, que deberán haber sido examinados para conocer si tienen un estado nutricional similar de folatos (Fenech *et al.*, 1999; Pietrzik *et al.*, 1990; Prinz-Lagenohld *et al.*, 1999).

1.3. Ensayos en humanos a largo plazo— Son estudios de duración variable (entre 3 y 6 semanas de duración) que sirven para comparar dietas que difieren en la fuente de folatos, con lo que el contenido final de folatos puede ser debido a diferencias

en la biodisponibilidad de folatos. La concentración de folato sérico es el indicador más sensible en estos estudios, mientras que los niveles de homocisteína plasmática reflejan las diferencias en el estatus de folatos tras varias semanas de ingesta de la dieta del protocolo (Brower *et al.*, 1993; Sauberlich, 1987; Malinow, 1998).

1.4. Métodos con isótopos— Su principal ventaja es la especificidad y claridad de interpretación, por ejemplo, las moléculas de folato marcadas aparecen en plasma u orina pudiendo sólo ser derivadas de la dosis marcada administrada. Se ha usado tanto en animales como en hombres para estudios de absorción, metabolismo y cinética *in vivo*. Actualmente han disminuido debido a la tendencia actual de no usar radioisótopos y de reducir la exposición de sujetos humanos. También por el desarrollo de procedimientos alternativos usando isótopos estables marcados. El protocolo más usado es el que utiliza administración oral de ($^{13}\text{C}_5$) y un bolo intravenoso de ($^2\text{H}_2$) ácido fólico. Según este protocolo la respuesta variable usada es una excreción normalizada que será igual a la excreción de los folatos marcados, derivados de la dosis oral, dividida por la excreción derivada de la dosis inyectada (Gregory *et al.*, 1991 y 1992; Pfeiffer *et al.*, 1997).

2. Métodos in vitro

El desarrollo de estos métodos intenta realizar la determinación de la biodisponibilidad de nutrientes permitiendo un mayor “screening” de muestras, más rápida y fácilmente que con los métodos *in vivo*. La ventaja de estos métodos es que son más económicos, menos laboriosos, se prescinde de los problemas éticos y de las limitaciones que conlleva trabajar con seres vivos. Se trata de simular los procesos enzimáticos que tienen lugar durante la digestión, de tal forma que se controlan las condiciones de pH, temperatura y tiempos de digestión, pero no se pueden controlar el resto de procesos fisiológicos que tienen lugar. La hipótesis inicial era que los componentes de los alimentos podían reducir la biodisponibilidad de los poliglutamatos por inhibición de la acción

de la enzima localizada en el borde en cepillo de la mucosa intestinal (conjugasa). Existen estudios que demuestran que los inhibidores predominantes de la conjugasa son algunas especies aniónicas de ácidos orgánicos incluyendo citratos, malatos y ascorbatos donde todos ellos actúan como inhibidores competitivos (Wei y Gregory, 1998). La importancia de estos estudios es que predicen la incompleta biodisponibilidad potencial de los poliglutamilfolatos en alimentos, pero no predicen definitivamente la incompleta biodisponibilidad.

Seyoum y Selhub (1999) idearon una aproximación alternativa a la estimación *in vitro* de la biodisponibilidad de folatos. En este método un extracto de alimento conteniendo folatos naturales es incubado bajo condiciones diseñadas para simular el ácido gástrico, seguida de una neutralización y una exposición a la actividad de la conjugasa intestinal. El “índice de biodisponibilidad” se calcula con base en el concepto de retención *in vitro* (por ejemplo, referido a la estabilidad) y extensión de la hidrólisis de los folatos por acción de la conjugasa. Fue interesante el factor de correlación significativa obtenido entre el “índice de biodisponibilidad” *in vitro* y la biodisponibilidad aparente *in vivo* derivada de los estudios de Tamura y Stokstad (1973).

MODELO DINÁMICO GASTROINTESTINAL IN VITRO TIM® (TNO IN VITRO MODEL)

Otro modelo de biodisponibilidad *in vitro* es el modelo TIM® (TNO In vitro Model), utilizado en la presente Tesis de Licenciatura. Este es un sistema controlado por ordenador que determina el destino de los productos ingeridos en un medio cerrado simulando las condiciones gástricas e intestinales (Minekus *et al.*, 1995). Durante la digestión de estos compuestos el modelo monitoriza y regula de forma continua los parámetros naturales tales como: temperatura corporal, pH, mezclado salivar, gástrico e intestinal y transporte por movimientos peristálticos, secreción gastrointestinal y absorción de agua y pequeñas moléculas tales como componentes liberados y digeridos. Sus ventajas son numerosas ya que permite obtener resultados seguros y reproducibles,

no presenta limitaciones éticas, está validado, posee gran sensibilidad y es económico. Sin embargo, no permite la reproducción de la microflora intestinal así como la presencia de proteínas transportadoras. No obstante, se están desarrollando protocolos en los que se comienza a incluir este tipo de enzimas y proteínas (Verwei *et al.*, 2003). Como parte del proyecto europeo, “Folate: From Food to Functionality and Optimal Health” se obtuvieron diversas conclusiones acerca de la biodisponibilidad de los folatos mediante el modelo gastrointestinal *in vitro* TIM®. Un estudio llevado a cabo en tal proyecto fue la determinación de la biodisponibilidad de folatos procedentes de diversos productos líquidos y sólidos (Verwei *et al.*, 2003). En el mismo, se concluyó que la biodisponibilidad de los folatos, durante el paso a través del modelo gastrointestinal *in vitro* TIM®, en alimentos líquidos era un 10% menos accesible que aquellos presentes en las verduras de hoja verde. En el apartado de Materiales y Métodos se explica con mayor detalle este método de biodisponibilidad que se ha realizado en el presente trabajo.

MODELO ESTÁTICO DE DIÁLISIS IN VITRO

Por otro lado existen métodos modificados de digestión *in vitro* más sencillos basados en la técnica de disponibilidad de Miller *et al* (1981), aunque necesitan ser validados. Con este método se trata de evaluar el paso por difusión de los folatos a nivel intestinal, basándose en la concentración de folatos en dializados. No obstante, están en fase de optimización y validación, pues son muchas las condiciones a tener en cuenta.

En un estudio realizado por Olivares *et al* (2004) se determinó la disponibilidad *in vitro*, mediante el método estático modificado descrito por Miller, de cuatro formas monoglutámicas de folatos (THF, 5-MTHF, FTHF, PGA). Se observó una disponibilidad del ácido fólico del 27.58% seguida del 5-MTHF (18.96%). Las formas FTHF y THF presentaron valores de disponibilidad muy bajos, posiblemente debido a su inestabilidad. Aun así, los valores obtenidos de disponibilidad estimados son

relativamente bajos debidos a que sólo se determina la difusión pasiva de las sustancias, no estando reflejado el transporte activo que estos componentes pudieran presentar en condiciones *in vivo*.

REFERENCIAS

- Bagley, P.J. y J. Selhub (1997). *Analysis of folate using combined affinity and ion- pair chromatographic. Methods Enzymol.* 281: 16-25.
- Bailey L.B., L.E. Barton, S.E. Hillier, J.J. Cerda (1988). "Bioavailability of mono and polyglutamyl folate in human subjects". *Nutrition Rep. Int.*; 38; 3: 509-518.
- Bailey, L. B. (1995). "Folate requirements and dietary recommendations". In: *Folate in Health and Disease*. New York: Bailey, L. B. (ed), p. 123-151. Marcel Dekker, Inc.
- . (1998). "Dietary reference intakes for folate: the debut of dietary folate equivalents". *Nutr. Rev.* 56: 294-299.
- . (1992). "Evaluation of a new recommended dietary allowance for folate". *J. Am. Diet. Assoc.*, 92, 463-468, 471.
- Ball, G.F.M. (1998). *Bioavailability and analysis of Vitamins in Food*. London: Chapman and Hall (1st ed.).
- Bhandari, S.D., J.F. Gregory (1992). "Folic acid, 5- methyl- tetrahydrofolate and 5- formyl- tetrahydrofolate exhibit equivalent intestinal absorption, metabolism and in vivo kinetics in rats". *Journal and Nutrition*, 12, 1847-1854.
- . (1990). "Inhibition by selected food components of human and porcine intestinal Pteroyl- polyglutamate hydrolase activity". *American Journal of Clinical Nutrition*, 114, 1770-1776.
- Birn H., J. Selhub, E.I. Christensen (1993). "Internalisation and intracellular transport of folate-binding in rat kidney proximal tubule". *Am J Physiol* 264: 302- 310.
- Blakey, R.L. (1986). "Nomenclature and symbols for folic acid and related compounds. Recommendations 1986". *Eur J Biochem* 168: 251-3.
- . (1988). "IUPAC- IUB joint commission on biochemical nomenclature (JCBN). Nomenclature and symbols for folic acid and related compounds". Recommendations 1986. *J. Biol. Chem.* 263 (1): 605-607.
- . (1969). *The Biochemistry of Folic Acid and Related Pteridines*. Amsterdam: North Holland Publishing Company.
- Brouwer, C., F.J. Stanley, M. Croft, N. de Klerk, R.E. Davis y D.J. Nicol (1993). "Absorption of pteroylpolyglutamates in mothers of infants with neural- tube defects". *British Journal of Nutrition*, 69, 827-834.
- Brattström L., F. Landgren, B. Israelsson *et al.* (1998). "Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta- analysis of randomised trials". *Br. Med. J.*;316894-8.
- Brouwer I.A., M. van Dusseldorp, C.M.G. Thomas. (1999). "Low-dose folic acid supplementation decreases plasma homocysteine concentrations: a randomized trial". *Am. J. Clin. Nutr.*;69:99-104.
- Brouwer I.A., M. van Dusseldorp, C.E. West, S. Meyboom, C.M. Thomas, M. Duran, K.H. van-het-Hof, T.K. Eskes, J.G. Hautvast, R.P. Steegers- Theunissen (1999). "Dietary folate from vegetables and citricus fruit decreases plasma homocysteine concentrations in humans in a dietary controlled trial". *J. Nutr.*; 129: 1135-1139.
- Brouwer, I.A., D. van Dusseldorf, C.E. West, R.P.M. Steegers-Theunissen (2001). "Bioavailability and bioefficacy of folate and folic acid in humans". *Nutr. res. rev.* 14: 267-293.
- Campbell, N.R.C. (1996). "How safe are Folic acid supplements?" *Arch. Intern. Med.* 156: 1638-1644.
- Chanarin I., J. Laidlaw, L.W. Loughridge y D.L. Mollin (1960). "Megaloblastic anaemie due to phenobarbitone. The convulsant action of therapeutic doses of folic acid". *Br. Med. J.*; 1: 1099-1102.
- Chen, L., S.Y. Chan, F.E. Nargang y E.A. Cossins. (1997). "Cytosolic and mitochondrial enzymes for 10- formylTHF biosynthesis in plants". In: *Chemistry and Biology of Pteridins and Folate*

1997. Belin, Vienna: Pflidere, W. And Rokos, H. (eds), p. 365-368. Blackwell Wissenschafts-Verlag.
- Combs, G. F. Jr. (1992). *The Vitamins. Fundamental aspects in Nutritional Health*. San Diego, CA: Academic Press.
- Cooperman, J.M., A. Pesci-Bourel y A.L. Luhby. (1970). "Urinary excretion of folic acid activity in man". *Clin. Chem.* 16: 375-385.
- Cuskelly, G. J., H. McNulty y J.M. Scott (1996). "Effect of increasing dietary folate on red cell folate: implications for prevention of neural tube defects". *Lancet* 347: 657-659.
- De Bree A., M. Van Dusseldorp, I.A. Brouwer, K.H. Van Het Hof, R.P.M. Steegers- Theunissen. (1997). "Folate intake in Europe: recommended, actual and desired intake". *Eur. J. Clin. Nutr.*; 17: 133-148.
- De Paz, R. *et al.* (2006). "Manejo, prevención y control de la anemia megaloblástica secundaria a déficit de ácido fólico", *Nutr. Hosp.*; 21 (1): 113-119.
- Department of Agriculture (1993). *USDA Nutrient Database for Standard Reference*. Springfield, Virginia: Release 10. National Technical Information Service.
- . (1996). *USDA Nutrient Database for Standard Reference*. Springfield, Virginia: Release 11. National Technical Information Service.
- Dipalma J. R. y R.M. Ritchie (1977). "Vitamin toxicity". *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*; 17: 133-148.
- Directiva 2006/37/CE de la Comisión del 30 de Marzo de 2006 por la que se modifica el anexo II de la Directiva 2002/46/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en cuanto a la inclusión de determinadas sustancias.
- Eitenmiller, R.R. y W.O. Jr Landen (1995). "Vitamins". In: *Analyzing Food for Nutrition Labeling and Hazardous contaminants*. New York: Jeon, I. J. y W.G. Ikins (eds), p. 195-281. Marcel Dekker, Inc.
- European Commission Scientific Committee on Food (SCF) (2000). Opinion of the SCF on the Tolerable Upper Intake Level of folate.
- FAO/OMS (2002). "Human Vitamin and Mineral Requirements". *Report of a joint FAO/OMS expert consultation, Bangkok, Thailand*. Rome: Ed. World Health Organization, Food and Agriculture Organisation of the United Nations.
- Fenech, M, M. Noakes, P. Difton y D. Topping. (1999). "Aleurone flour is a rich source of bioavailable folate in humans". *J. Nutr.* 129: 1114-1119.
- Finglas, Paul M., Anthony J. A. Wright, Caroline A. Wolfe, David J. Hart, Dawn M. Wright, Jack R. Dainty (2003). Is there more to folates than neural-tube defects?". *Proceedings of the Nutrition Society*. 62(3):591-598.
- Finglas, P.M., U. Faure y D.A.T. Southgate (1993). "First BCR- intercomparison on the determination of folate in food". *Food Chem.* 46: 199-213.
- Flynn, C., H. Enright (2000). "Fortification of foods with folic acid. Correspondence to the editor". *N. Engl. J. Med.*; 343: 970-972.
- Food and Nutrition Board. Institute of Medicine. National Academy of Sciences, Subcommittee on Folate, Other B Vitamins, and Choline (1998). *Dietary Reference Intakes: Thiamine, Riboflavin, Niacin, Vitamin B-6, Folate, Vitamin B-12, Panthothenic Acid, Biotin and Choline* (Pre-publication). Washington, DC.: National Academy Press.
- Food and Nutrition Board. National Academy of Sciences (1989). *Recommended Dietary Allowances*. Washington, DC.: National Academy Press (10th ed.).
- Gauch, R., U. Leuenberger y U. Müller (1993). *Die Bestimmung von Folsäure (Pteroyl- L- glutaminsäure) in Lebensmitteln mit HPLC*. Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. 84: 295-302)
- Giovannucci, E., M.J. Stampfer, G.A. Colditz, D.J. Hunter, C. Fuchs, B.A. Rosner, F.E. Speizer y W.C. Willett (1998). "Multivitamin use, folate and colorectal cancer in women in the Nurses, Health Study". *Annals of Internal Medicine*, 129: 517-524.

- Green R, y J.W. Miller (2005). "Vitamin B12 deficiency is the dominant nutritional cause of hiperhomocisteinemia in a folic acid- fortified population". *Clin. Chem. Lab. Med.*; 43: 1048-1051.
- Gregory J.F. III, S.L. Ink, J.J. Cerda (1987). "Comparison of Pteroylpolyglutamate hydrolase (folate conjugase) from porcine and human intestinal brush border membrane". *Comp. Biochem. Physiol.*; 88B: 1135-1141.
- Gregory J.F. III (1995). "The bioavailability of folate". In: Bailey L, ed. *Folate in health and disease*. New York: M. Dekker, 195-235.
- Gregory J.F. (1988). "Recent developments in methods for the assessment of vitamin bioavailability". *Food Technology*. 42: 230-238.
- . (1984). "Determination of folacin in foods and other biological materials". *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 67: 1015-1019.
- . (1989). "Chemical and Nutritional aspects of folate research: analytical procedures, methods of folate synthesis, stability, and bioavailability of dietary folate". *Adv. Food Nutrition Res.* 33: 1-101.
- . (1996). "Vitamins". In: *Food Chemistry*. New York: Fennema, O.R. (ed). Marcel Dekker, Inc. (3rd ed.). Pp. 531-616.
- . (1985). "Folacin. Chromatographic and radiometric assays". In: *Methods of Vitamin Assay*. New York: Augustin, J., Klein, B.P., Becker, D.A. and Venugopal, P.B. (eds.), John Wiley ad Sons, (4 ed.). Pp. 473-496.
- . (1995). "The bioavailability of folate". In: *Folate in Health and Disease*. New York: Bailey, L.B. (Ed), Marcel Dekker, Inc. Pp. 195-235.
- Gregory, J.F., S.D. Bhandari, L.B. Bailey, J. Toth, T.G. Baumgartner y J.J. Cerda (1992). "Relative bioavailability of deuterium- labelled monoglutamyl tetrahydrofolate and folic acid in human subjects". *American Journal of Clinical Nutrition*. 55, 1147-1153.
- Gregory, J.F., R. Engelhardt, S.D. Bhandari, D.B. Sartain y S.K. Gustafson (1990). "Adequacy of extraction techniques for determination of folate in foods and other biological materials". *J. Food Comp. Anal.* 3: 134-144.
- Gregory, J.F., S.D. Bhandari, L.B. Bailey, J.P. Toth, T.G. Baumgartner y J.J. Cerda (1991). "Relative bioavailability of deuterium-labelled monoglutamyl and hexaglutamyl folates in human subjects". *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 736-740.
- Gregory, J.F. (1997). "Bioavailability of folate". *Eur. J. Clin. Nutr.*: 52 (suppl 1): s54-s59.
- Halsted C.H. (1991). "Jejunal brush- border folate hydrolase, a novel enzyme". *West J. Med.*; 155: 605-609.
- . (1995). "Alcohol and folate interactions: Clinical implications". In: *Folate in Health and Disease*. New York: (LB Bailey, editor). Marcel Dekker. Pp. 313-327.
- . (1990). "Intestinal absorption of dietary folates". In: *Folic Acid Metabolism in Health and Disease*. New York: (Picciano, MF, Stokstad, ELR, and Gregory, JF, eds.), Wiley-Liss. Pp. 23-45.
- Hambidge M., A. Hackshaw y N. Wald (1993). "Neural tube defects and serum zinc". *Br. J. Obstet Gynaecol*; 100: 746-749.
- Hannon-Fletcher, M.P., N.C. Armstrong, J.M. Scott, K. Pentieva, I. Bradbury, M. Ward, J.J. Strain, A.A. Dunn, A.M. Molloy, M.A. Scullion y H. McNulty (2004). "Determination of the bioavailability of food folate in a controlled intervention study". *American Journal of Clinical Nutrition* (In the Press.)
- Hasenau, S. (2002). "Neural Tube Defects: Prevention and Folic Acid". *American Journal of Maternal Child Nursing*. 27(2): 87-91.
- Herbert, V. and K.C. Das (1994). "Folic acid and Vitamin B12". In *Modern Nutrition in Health and Disease*. Philadelphia: Vol. 1. Iea and Febiger. Pp. 402-425.
- Heseker H. y G. Schmitt (1987). "Effect of long-term supplementation of folate on folate status in plasma and erythrocytes". *Journal of Nutrition Sci.* Tokyo: Vitaminol, 33, 3: 163-168.
- Holland, B., A.A. Welch, I.D. Unwin, D.H. Buss, A.A. Paul y D.A.T. Southgate (1991). *McCance and Widowsen's The Composition of Foods*. 5th ed. The Royal Society of Chemistry and Minis-

- try of Agriculture, Fisheries and Food, UK.
- Holt, D.L., R.L. Wehling y M.G. Zeece (1988). "Determination of native folate in milk and other dairy products by high-performance liquid chromatographic". *J. Chrom.* 449: 271-279.
- Homocysteine lowering trialists collaboration (1998). "Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials". *BMJ*, 316: 894-898.
- Hong, K.H., C.L. Keen, Y. Mizuno, K.E. Johnston, T. Tamura (2000). "Effects of dietary zinc deficiency on homocystine and folate metabolism in rats". *The journal of nutritional biochemistry*, vol. 11, issue 3, 165-169.
- Hoppner, K., B. Lampi y D.E. Perrin (1972). "The free and total folate activity in foods available on the Canadian market". (Canadian Institute of Food Technology Journal vai) *J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment.* 5 (2): 60-66.
- Hoppner, K., B. Lampi (1993). "Folate retention in dried legumes after different methods of meal preparation". *Food Res. Int.* 26: 45-48.
- Institute of Medicine (1998). Panel on folate, other B-vitamins and choline. Dietary References Intakes: thiamine, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, Panthothenic acid, biotin, and choline. Washington, DC: National Academy Press.
- Jacob R.A., M.M. Wu, S.M. Henning, M.E. Swendseid (1994). "Homocysteine increases as folate decreases in plasma of healthy men during short-term dietary folate and methyl group restriction". *J. Nutr.*; 124, 1072-1080.
- Jacoby, B.T. y F.T. Henry (1992). "Liquid chromatographic determination of folic acid in infant formula and adult medical nutritional". *J. AOAC Internat.* 75: 891-898.
- Kang S-S., P.W.K. Wong, A. Susmano, J. Sora, M. Norosis, N. Ruggie (1991). "Thermolabile MTHFR: an inherited risk factor for coronary artery disease". *American Journal of Human Genetics*, 48, 536-545.
- Kauwell G.P.A., L.B. Bailey, J.F. Gregory, D.W. Bowling y R.J. Cousins (1995). "Zinc status is not aversely affected by folic acid supplementation and zinc does not impair folate utilization in human subjects". *Journal of Nutrition*, 125, 66-72.
- Keagy P.M., B. Shane, S.M. Oace (1988). "Folate bioavailability in humans: effects of wheat bran and beans". *Am. J. Clin. Nutrition*; 47: 80-88.
- Keagy P.M. (1994). *Folate fortification of cereal products* (Guest editorial). *Cereal F. W.* 39 (3): 144.
- Kelly P., J. McPartlin, M. Goggins, D.G. Weir, J.M. Scott (1997). "Unmetabolized folic acid in serum: acute studies in subjects consuming fortified food and supplements". *Am. J. Clin. Nutrition*; 65: 1790-1795.
- Kim Y.I. (2006). "Folate: a magic bullet or a double edged sword for colorectal cancer prevention?". *Gut*, 55: 1387-1389.
- Konings E.J.M. (2001). *Dietary folates in human nutrition*. Doctoral thesis.
- Ladjimi, H., J.C. Gounelle y D. Auchere (1992). "Effect of diet on folate levels and distribution in selected tissues of the rat". *Arch. Int. Physiol. Biochem. Biophys.* 100 (1): 67-72.
- Lamers Y., R. Prinz-Langenohl, R. Moser, K. Pietrzik (2004). "Supplementation with (6S)-5-MTHF or folic acid equally reduces plasma total homocystine concentrations in healthy women". *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 79, n° 3, 473-478.
- Laufer E.M., T.J. Hartman, D.J. Baer, E.W. Gunter, J.F. Dorgan, W.S. Campbell, B.A. Chevidence, E.D. Brown, D. Albanes, J.T. Judd, P.R. Taylor (2004). "Effects of moderate alcohol consumption on folate and vitamin B12 status in postmenopausal women". *EJCN*, vol. 58, n° 11, 1518-1524.
- Lijun Pei, Huiping Zhu Aiguo Ren, Zhiwen Li, Ling Hao, Richard H. Finnell and Zhu Li (2005). "Reduced folate carrier gene is a risk factor for neural tube defects in Chinese population". *Birth Defects research.* 73: 430-433.
- Livsmedelstabeller (1993). Statens Livmedelsverk, Uppsala, Sweden.

- Luchsinger, J.A. y R. Mayeux (2004). "Dietary factors and Alzheimer's diseases". *Lancet Neurol.* 3, 10: 579-587.
- Malouf M., E.J. Grimley, S.A. Areosa (2003). "Folic acid with and without vitamin B12 for cognition and dementia". *Food and Behavior re-search. Cochrane Database System Rev.* (4), CD 004514.
- Mason, J.B. (1995). "Folate status: effect on carcinogenesis". In: Bailey LB, ed. *Folate in Health and disease*. New York: Marcel Dekker,; 361-378.
- . (1990). "Intestinal transport of monoglutamyl folates in mammalian systems". In: Picciano MF, Stokstad ELR., Gregory JF III, eds. *Folic acid metabolism in health and disease*. New York: Wiley- Liss: 47-64.
- Melse-Boonstra, A., C.E. West, M.B. Katan, F.J. Kok y P. Verhoef (2004). "Bioavailability of heptaglutamyl relative to monoglutamyl folic acid in healthy adults". *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 424-429.
- Melse-Boonstra, A. (2003). *Dietary folate: Bioavailability studies in humans*. Doctoral Thesis.
- Minekus, M, P. Marteau, R. Havenaar, J.H.J. Huis in't Veld (1995). "A multicompartmental dynamic computer-controlled model simulating the stomach and small intestine". *Atla* 23: 197-209.
- MRC (1991). "Vitamin Study Research group. Prevention of neural tube defects: Results of the Medical research Council Vitamin Study". *Lancet*, 338: 131-137.
- Mullin, R.J. y D.S. Duch (1992). "Folic acid". In: *Modern Chromatographic Analysis of Vitamins*. New York: De Leenheer, A.P., W.E. Lambert y H.J. Nelis. (eds), Marcel Dekker, Inc., (2nd ed.). Pp. 261-283.
- O'keefe, C.A, L.B. Bailey, E.A. Thomas, S.A. Hofler, B.A. Davis, J.J. Cerda y J.F. Gregory. (1995). "Controlled dietary folates affect folate status in nonpregnant women". *J. Nutr.* 125: 2117-2725.
- Okholm-Hansen, B. y C-H. Brogren (1991). *Indhold af Folacin I levnedsmidler*. Soborg, Denmark: (Content of Folacin in foods). Publikation nr. 206, Levnedsmiddelstyrelsen.
- Olivares, A.B., M.J. Bernal, G. Ros, C. Martínez, M.J. Periago (2004). "Folatos: vitamina emergente en la alimentación y la salud". *Anales de Veterinaria*, vol. 17, 1.
- . (2006). "Quality of data on folic acid content in vegetables included in several Spanish food Composition Tables and new data on their folate content". *Nutrición Hospitalaria*, vol. 21, no. 1, pp. 97-108.
- Pentieva K. and H. McNulty (2004). "Folate bioavailability". *Nutrition Society*, 63, 529-536.
- Perloff, B. P. and R.R. Butrum (1977). "Folacin in selected foods". *J. Am. Diet. Assoc.* 70: 161-172.
- Perry, J. y I. Chanarin (1970). "Intestinal Absorption of Reduced Folate Compounds In Man". *British Journal of Hematology*. 18, 329-339.
- Pfeiffer, C. M., L.M. Rogers, L.B. Bailey, J.F. Gregory (1997). "Absorption of folate from fortified cereal-grain products and of supplemental folates consumed with or without food determined using a dual-label stable-isotope protocol". *Am. J. Clin. Nutr.* 66: 1388-1397.
- Pietrzik K., R. Prinz-Langenohl, I. Fohr, A.M. Bohlmann, H. Nau (2001). "5-Methyl-tetrahydrofolate (5-MTHF) versus pteroylmonoglutamic acid (PGA): what is the better alternative for supplementation?" *FASEB Journal, Experimental Biology*, 15,4 (2001) 491.4, A611A 611.
- Pietrzik, K, M. Hages y T. Remer (1990). "Methodological Aspects In Vitamin Bioavailability Testing". *J. Micronutr Anal.* 7: 207-222.
- Pintó X., M.A. Vilaseca, S. Balcells, R. Artuch, E. Corbella, J.F. Meco, R. Vila, R. Pujol y D. Grinberg (2005). "A folate diet is as effective as folic acid from supplements in decreasing plasma homocysteine concentrations". *Int. J. Med. Sci.* 2(2): 58-63.
- Prinz-Langenohl, R, A. Bronstrup, B. Thorand, M. Hoges y K. Pietrzik (1999). "Availability of Food Folates in Humans". *J. Nutr.* 129: 913-916.

- Ranhotra, G. y P. Ranum (1994). "Adding folic acid to cereal grain products". *Am. Inst. Baking. Techn. Bull.* XVI (8): 1-8.
- Rastas, M., R. Seppänen, L.R. Knuts, R-L. Karvetti y P. Varo (eds.) (1993). *Ruokaaineiden Ravintoainesisältö*. Helsinki. (Nutrient composition of foods). Kansaneläkelaitos.
- Ratnam M. y J.H. Freisheim (1990). "Proteins involved in the transport of folates and antifolates by normal and neoplastic cells". In: Picciano, M.F, E.L.R. Stokstad, J.F. Gregory, eds. *Contemporary Issues in Clinical Nutrition*. New York: Vol. 13. Folic acid Metabolism in Health and Disease. Wiley- Liss. Pp. 91-120.
- Rebello, T. (1987). "Trace enrichment of biological folates on solid-phase adsorption cartridges and analysis by high- pressure liquid chromatography". *Anal. Biochem.* 166: 55-64.
- Refsum H., A.D. Smith, P.M. Ueland, E. Nexø, R. Clarke, J. McPartlin, C. Johnston, F. Engbaek, J. Schneede, C. McPartlin y J.M. Scott (2004). "Facts and recommendations about total homocysteine determination: An expert opinion". *Clinical chemistry*, 50:1; 3-32.
- Reingold, R.N. y M.F. Picciano (1982). "Two improved high- performance liquid chromatographic separations of biologically significant forms of folate". *J. Chromatogr.* 234: 171-179.
- Reisenauer, A.M., C.J. Chandler, C.H. Halsted. (1986). "Folate binding and hydrolysis by pig intestinal brush border membranes". *Am. J. Physiol.*; 251: G481- G486.
- Reisenauer, A. y C. Halsted. (1987). "Human folate requirements". *Journal of Nutrition*, 117, 600-602.
- Reynolds, E.H. (2002). "Benefits and risk of folic acid to the nervous system". *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*; 72, 567-571.
- Riddell L.J., A. Chisholm, S. Williams, J.L. Mann. (2000). "Dietary strategies for lowering homocysteine concentrations". *Am. J. Clin. Nutr.*; 71, 6: 1448-1454.
- Rogers, L.M., C.M. Pfeiffer, L.B. Bailey y J.F. Gregory (1997). "A dual-label stable-isotopic protocol is suitable for determination of folate bioavailability in humans: evaluation of urinary excretion and plasma folate kinetics of intravenous and oral doses of (13C5) and (2H2) folic acid". *Journal of Nutrition*. 127, 2321-2327.
- Rothenberg, S. P. (1999). *Increasing the dietary intake of folate: Pros and cons*. *Semin. Hematol.*; 36: 65-74.
- Said, H.M., F.K. Ghishan, R. Redha (1987). "Folate transport by human intestinal brush-border membranes vesicles". *Am. J. Physiol.* 252: G229-G2
- Sauberlich, H. E., M.J. Kretsch, J.H. Skala, H.L. Johnson & P.C. Taylor (1987). "Folate requirement and metabolism in nonpregnant women". *Am. J. Clin. Nutr.* 46: 1016-1028.
- Savage, D.G. y J.L. Lindenbaum (1995). "Folate-cobalamin interactions". In: *Folate in Health and Disease*. New York: (LB Bailey, editor). Marcel Dekker. Pp. 237-285.
- Scherz, H. Y, F. Senses (eds.) (1994). *Food Composition and Nutrition Tables*. Stuttgart, Germany: Medpharm. Scientific publishers (5th ed.).
- Schirch, V. (1997). *Enzymatic determination of Folylpolyglutamate pools*. *Methods Enzymol.* 281: 77-81.
- Schneider L.S., K. Dagerman y P.S. Insel (2006). "Efficacy and adverse effects of atypical antipsychotics for dementia: meta-analysis of randomised, placebo-controlled trials". *American Journal of Geriatric Psychiatry*. 14: 191-210.
- Scott, J. M. (1999). *Folate and Vitamin B12*. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58, 441-448.
- Scott, J., F. Rébeille y J. Fletcher (2000). "Folic acid and folate: The feasibility for nutritional enhancement in plant foods". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 795-824.
- Selhub J, G.J. Dhar (1983). Rosenberg IH. *Gastrointestinal absorption of folates and antifolates*. *Pharmac. Ther*; 20: 397-418.

- Selhub J., P.F. Jacques, A.G. Bostom, R.B. D'Agostino, P.W. Wilson, A.J. Belanger, D.H. O'Leary, P.A. Wolf, E.F. Schaefer, I.H. Rosenberg (1995). "Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid- artery stenosis". *N. England J. Med.*; 332: 286-291.
- Selhub, J. (1989). "Determination of tissue folate composition by affinity chromatography followed by high- pressure ion- pair liquid chromatography". *Anal. Biochem.* 182: 84-93.
- Selhub, J., B. Darcy- Vrilloin y D. Fell (1988). "Affinity chromatography of naturally occurring folate derivatives". *Anal. Biochem.* 168: 247-251.
- Seyoum, E. and J. Selhub (1993). "Combined affinity and iron pair column chromatographies for the analysis of food folate". *J. Nutr. Biochemistry*: 488-494.
- . (1998). "Properties of food folates determined by stability and susceptibility to intestinal pteroylpolyglutamate hydrolase action". *J. Nutr.* 128: 1956-1960.
- Sherwood, T.A., R.L. Alphin, W.W. Saylor y H.B. White (1993). "Folate metabolism and deposition in eggs by laying hens". *Arch. Biochem. Biophys.* 307: 66-77.
- Tamura, T, L.L. Kaiser, J.E. Watson, C.H. Halsted, L.S. Hurley and E.L. Stokstad (1987). "Increased methionine synthetase activity in zinc-deficient rat liver". *Arch. Biochem. Biophys.* 256, 1, 211-216.
- Tamura, T. y M.F. Picciano (2006). "Folate and human reproduction". *The American Journal of Clinical Nutrition.* Vol, 83, n° 5, 993-1016.
- Tamura, T. y Elr Stokstad (1973). *The Availability of Food Folate in Man.* Br. J. Haematol 25: 513-532.
- Tamura, T., (1995). "Nutrient interaction of folate and zinc". In: *Folate in Health and Disease.* New York: (LB Bailey, editor). Marcel Dekker. Pp. 287-312.
- Tamura, T., Mizuno, Y., Johnston, K. E. and Jacob, R.A. (1997). "Food folate assay with protease, α -amylase, and folate conjugase treatments". *J. Agric. Food Chem.* 45: 135-139.
- Thenen, S. W. (1982). "Folacin content of supplemental foods for pregnancy". *J. Am. Diet. Assoc.* 80: 237-241.
- Ubbink J.B. (1997). "The role of vitamins in the pathogenesis and treatment of hyperhomocyst (e) anaemia". *J. Inheret. Metab. Dis.*; 20: 316-25.
- Vahteristo, L. y P.M. Finglas (2000). "Chromatographic determination of folate". In: *Modern Chromatographic analysis of vitamins.* New York: A.P. de Leenheer, W.E. Lambert and J.F. Van Bocxlaer (eds.), Marcel Dekker, Inc. (3rd ed). Pp. 301-323.
- Vahteristo, L., P.M. Finglas, C. Withöft, K. Wigertz, R. Seale y I. de Froidmontgörtz (1996). "Third EU MAT intercomparison study on food folate analysis using HPLC procedures". *Food Chem.* 57: 109-111.
- Van't Veer P., M.C.J.F. Jansen, M. Van Dusseldorp, F.J. Kok (1997). "Relevantie van voedselverrijking: de visie van de epidemioloog". In: *Bespiegelingen over voor en tegen van oed-selverrijking.* Ed. Van Binsbergen JJ., M. Van Dusseldorp. Bohn Stafleu van Loghum, Houten/ Diegem. Pp. 14-28.
- Varela-Moreiras, G. y J. Selhub (1992). "Long- term folate deficiency alters folate content and distribution differentially in rat tissues". *Journal of Nutrition,* 122, 986-991.
- Venn J., T.J. Green, R. Moser, J.E. Mckenzie, M. Skeaff, J. Mann (2002). "Increase in blood folate indices are similar in women of childbearing age supplemented with (6S)-5-MTHF and folic acid". *The Journal of Nutrition,* 132: 3353-3355.
- Verhaar M.C., E. Stroes, T.J. Rabelink (2002). "Folate and cardiovascular diseases". *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol;* 22:6-13.

- Verhoef P., M.J. Stampfer, J.E. Buring, J.M. Gaziano, R.H. Allen, S.P. Stabler, R.D. Reynolds, F.J. Kok, C.H. Hennekens, W.C. Willet (1996). "Homocysteine metabolism and risk myocardial infraction: relationship with vitamins B6, B12, and folate". *Am. J. Epidemiology*; 134: 845-859.
- Verwei, M, K. Arkbäge, R. Havenaar, H. Van Der Berg, C. Witthöft, G. Schaafsma (2003). "Folic Acid and 5-Methyltetrahydrofolate in Fortified Milk are Bioaccessible as Determined in a Dynamic *In Vitro* Gastrointestinal Model". *J Nutr.* 133: 2377-2383.
- Wagner C. (1995). "Biochemical Role of Folate in Cellular Metabolism". In: Bailey L., Ed. *Folate in Health And Disease*. New York: M. Dekker. Pp. 23-42.
- Wei M. M., L.B. Bailey, J.P. Toth, J.F. III Gregory (1996). "Bioavailability of humans of deuterium-labelled monoglutamyl and polyglutamyl folates is affected by selected foods". *J. Nutrition*; 126: 3100-3108.
- Wei M.M., J.F. III Gregory (1998). "Organic acids in selected foods inhibit intestinal brush border Pteroylpolyglutamate hydrolase in vitro: potential mechanism affecting the bioavailability of dietary polyglutamate folate". *J. Agric. Food Chem.*, 46: 211-219.
- White, D.R., H.S. Lee y R.E. Krüger (1991). "Reversed-phase HPLC/EC determination of folate in citrus juice by direct injection with column switching". *J. Agric. Food Chem.* 39: 714-717.
- Whitehead, V.M. (1986). "Pharmacokinetics and physiological disposition of folate and its derivatives". In: Blakley RL, Whitehead VM, eds. *Folate and Pterins*. New York: Vol. 3. John Wiley and Sons. Pp. 177-205.
- Wickramasinghe, S.N. (2006). *Diagnosis of megaloblastic anaemias*, Elsevier.
- Wigertz, K. y M. Jägerstad (1995). "Comparison of a HPLC and radioprotein-binding assay for the determination of folates in milk and blood samples". *Food Chem.* 54 (4): 429-436.
- Williams, W.M, K.C. Huang (1982). "Renal tubular transport of folic acid and methotrexate in the monkey". *Am J. Physiol*; 242: F484-F490.
- Williams, P.G. (1996). "Vitamin retention in cook/chill and cook/hot-hold hospital foodservices". *J. Am. Diet. Assoc.* 96: 490-498.
- Williams, P.G., H. Ross y J.C. Brand Miller (1995). "Ascorbic acid and 5-methyltetrahydrofolate losses in vegetables with cook/chill or cook/hot-hold foodservice systems". *J. Food Sci.* 60: 541-546.

Aeromonas hydrophila, vibrio alginolyticus y vibrio fluvialis biovariedad II en alimentos marinos de origen animal de restaurantes de la ciudad y puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México

Franco-Monsreal, J¹; Flores-Abuxapqui, JJ¹; Salas-Escajeda, RM²; Concha-Valdez, FG¹; Puc-Franco, MA¹; Heredia-Navarrete, MR¹; Vivas-Rosel, ML¹; Piña-Quijano, JA¹

Se reportan las prevalencias de *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio fluvialis* biovariedad II en alimentos marinos de origen animal crudos (30.15%), marinados sin calor (4.62%), parcialmente cocidos con calor (45.54%) y completamente cocidos con calor (19.69%) de restaurantes de la ciudad y puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México. Del 1 de enero al 30 de junio de 2007 fueron estudiadas 325 muestras. En 16 (4.92%), en 22 (6.77%) y en 28 (8.62%) muestras se aisló un número igual de cepas cuyas características bioquímicas correspondieron a *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio fluvialis* biovariedad II. Los intervalos de estimación al nivel de confianza del 95% para el porcentaje en la población de alimentos marinos con *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio fluvialis* biovariedad II fueron, respectivamente, $2.57\% \leq P \leq 7.28\%$, $4.04\% \leq P \leq 9.50\%$ y $5.56\% \leq P \leq 11.67\%$. Se concluye que los alimentos marinos de origen animal representan fuentes potenciales de infección.

INTRODUCCIÓN

En la novena edición del *Manual de Bergey de Bacteriología Determinativa* (Holt et al., 1994) la familia Vibrionaceae se encuentra integrada por los géneros *Aeromonas*, *Enhydrobacter*, Pho-

tobacterium, *Plesiomonas* y *Vibrio*; *Aeromonas*, *Plesiomonas* y *Vibrio* son de antiguo reconocidos como causantes de infecciones humanas. A éstos hay que añadir *Listonella* y *Shewanella*, dos nuevos géneros propuestos para su inclusión en la familia Vibrionaceae con especies autóctonas del medio

¹Unidad de Ciencias Biomédicas; Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi"; Universidad Autónoma de Yucatán. Correspondencia: Calle 61 No. 525 entre 66 y 68; Colonia Centro; CP: 97000; Mérida, Yucatán, México. Tel. (999) 924 2767 ext. 48; Fax: (999) 928 5115, correo: giussepe56@yahoo.com.mx

²Departamento de Ciencias Básicas; Instituto de Ciencias Biomédicas; Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

marino y con una compleja historia de su taxonomía. El género *Beneckea* fue propuesto para agrupar las especies de vibrios marinos (Baumann *et al.*, 1971) y luego rechazado (Baumann *et al.*, 1980). El nuevo género *Listonella* se crea para segregar algunas especies de *Vibrio*, concretamente *Vibrio anguillarum*, *Vibrio damsela* y *Vibrio pelagius*, de acuerdo con la secuencia 5S-ARN (MacDonell y Colwell, 1985). *Shewanella*, nuevo género también dentro de la familia *Vibrionaceae* tiene como especie representante más característica hasta el momento a *Shewanella putrefaciens* conocida o clasificada previamente como *Achromobacter putrefaciens*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Alteromonas putrefaciens*, *Pseudomonas rubescens* y "CDC group Ib"; es una especie ampliamente difundida en la naturaleza y un agente bien conocido de deterioro del pescado; la biovariedad 1 se considera la más identificada con el comportamiento anterior y rara vez está implicada en casos clínicos como absceso intraabdominal en cáncer de colon; las biovariedades 2 y 3 son aislamientos primarios de la clínica y ocasionalmente ambientales; la biovariedad 2 es oportunista y se aísla en meningitis postraumática, celulitis, otitis media y sepsis (Gilardi, 1991; Kim *et al.*, 1989; Owen *et al.*, 1978).

El medio marino ocupa prácticamente las tres cuartas partes de la superficie terrestre y en las zonas costeras entra en relación con el hombre directamente por razones laborales o deportivas o indirectamente por la manipulación o por el consumo de productos del mar. Es bien conocido que la contaminación de las aguas costeras por los vertidos de aguas residuales ha sido, y es aún, una constante fuente epidemiológica de salmonelosis, hepatitis y otras infecciones; un aspecto menos divulgado es la patología infecciosa ocasionada por bacterias autóctonas marinas de la familia *Vibrionaceae* (Pérez *et al.*, 1983; Pérez y Urbieto, 1982; Pérez *et al.*, 1989; García-Martos *et al.*, 1993; Lantero *et al.*, 1984; López *et al.*, 1985; Revillo *et al.*, 1988; Pérez *et al.*, 1987).

Los vibrios son característicamente indígenas de hábitats marinos, salobres y estuarinos, y aparecen en grandes concentraciones (blooms) cuando

las aguas aumentan de temperatura (17-20°C); a temperaturas bajas los vibrios permanecen en el sedimento de los fondos marinos y los recuentos arrojan normalmente cifras inferiores a las necesarias para producir infección. En los países templados los vibrios se encuentran presentes en el agua de mar durante todo el año, aunque su concentración experimenta un notable incremento en los meses cálidos a causa de las favorables condiciones ecológicas y del plancton aumentando su acumulación por moluscos filtradores y otros animales marinos (Robertson y Tobin, 1983; West, 1989).

Dentro del género *Aeromonas* la especie *hydrophila* es una de las 3 de importancia clínica; las otras 2 especies son *A. caviae* y *A. veronii* biovariedad sobria. Los microorganismos miembros del género *Aeromonas* son bacilos gram-negativos, anaerobios facultativos, oxidasa positiva (Garrity *et al.*, 2003). Tienen una distribución mundial y han sido aislados e identificados en humanos, animales, agua y alimentos (Sharon *et al.*, 2003). La diarrea es la afección clínica que con mayor frecuencia producen las especies del género *Aeromonas*. En individuos sanos o con factores predisponentes como diabetes mellitus, inmunodepresión y neoplasias, entre otros, estos microorganismos pueden pasar al torrente sanguíneo produciendo bacteriemias y procesos infecciosos en diferentes órganos y sistemas, por ejemplo, meningoencefalitis, neumonía e infecciones hepato-biliares las que, en ocasiones, pueden comprometer la vida del paciente (Clark y Chenoweth, 2003; Mayoral *et al.*, 2000). Estas infecciones pueden adquirirse en la comunidad o en el ambiente hospitalario a través de la ingestión de alimentos, agua, contacto con el suelo y por el uso de dispositivos intravenosos (Soler *et al.*, 2002). Se han descrito numerosos factores de virulencia asociados a la enteropatogenicidad de las especies del género *Aeromonas* entre los que pueden mencionarse la producción de enzimas extracelulares (DNasa, gelatinasa, proteasas, hemolisinas), citotoxinas, enterotoxinas y hemaglutininas, entre otros, haciendo más complejo el cuadro clínico del paciente (Soler *et al.*, 2002; Sechi *et al.*, 2002). A pesar de los adelantos en el control de las enfermedades infecciosas,

las infecciones extraintestinales y nosocomiales por los microorganismos antes mencionados son cada día más frecuentes y constituyen una grave amenaza para la salud de la población mundial (Clark y Chenoweth, 2003; Bravo Fariñas *et al.*, 2003; Castro-Escarpulli *et al.*, 2002).

De las 37 especies de *Vibrio* aceptadas al menos 15 han sido aisladas de muestras clínicas y 12 se consideran patógenas: *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio carchariae*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio cincinnatiensis*, *Vibrio damsela*, *Vibrio fluvialis*, *Vibrio furnissii*, *Vibrio hollisae*, *Vibrio metschnikovii*, *Vibrio mimicus*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio vulnificus*. *Vibrio alginolyticus*, conocido anteriormente como *Vibrio parahaemolyticus* biotipo II, es la especie más halotolerante; soporta una concentración hasta del 10% de cloruro de sodio (NaCl) y es la más abundante en el agua de mar; es muy común en el hábitat marino de países templados (Pérez *et al.*, 1983; Pérez *et al.*, 1982). Causa infecciones gastrointestinales en el hombre y, ocasionalmente, extraintestinales. Posee escasa virulencia (West, 1989; Hoge *et al.*, 1989; Janda, 1987) y se asocia con frecuencia a otros patógenos (Hoge *et al.*, 1989; Janda *et al.*, 1988; Hansen *et al.*, 1979; Pien *et al.*, 1977; Dronda *et al.*, 1991); su poder invasivo es bajo y las infecciones que origina suelen ser benignas y autolimitadas. No fue considerado patógeno hasta 1973 (Zen-yogi *et al.*, 1973) pero, desde entonces, el número de procesos infecciosos en los que ha sido implicado ha ido en aumento. Se le ha asociado con enteritis (Nacescu *et al.*, 1980), infecciones de tejidos blandos (sobre todo en heridas y quemaduras) (Pérez *et al.*, 1989; Robertson y Tobin, 1983; Blake *et al.*, 1980; Ryan, 1976; Howard *et al.*, 1985; Patterson *et al.*, 1988; Rubín y Tilton, 1975; Schmidt *et al.*, 1979), abscesos (Opal y Saxon, 1986), bacteriemia (Bonner *et al.*, 1983), conjuntivitis (Schmidt *et al.*, 1979; English y Lindberg, 1977; Janda *et al.*, 1986), peritonitis (Taylor *et al.*, 1981), conjuntivitis externa (Schmidt *et al.*, 1979; Lessner *et al.*, 1986; Ratnam y Watson, 1985) y otitis externa (García *et al.*, 1993; Hansen *et al.*, 1979; Pien *et al.*, 1977; Dronda *et al.*, 1991; Blake *et al.*, 1980; Ryan, 1976; Von Graevenitz y Carrington, 1973; Xercavins *et al.*, 1989; Hasyn

et al., 1987; Puy *et al.*, 1989). En el caso de las otitis existe, con frecuencia, una patología ótica subyacente (Hornstrup y Gahm-Hansen, 1993). La mayoría de estas infecciones se adquiere por exposición al medio marino o por contacto con productos derivados de éste. La especie *Vibrio fluvialis* es halodependiente y presenta muchas similitudes tanto con *Vibrio damsela* como con *Vibrio furnissii* (Lee *et al.*, 1981). Es mucho más común en el medio marino que las otras especies del género *Vibrio* del "grupo EF6" y ha sido implicada en casos esporádicos de infección gastrointestinal con cuadros de diarrea acuosa, vómitos, dolores abdominales y deshidratación grave (Lee *et al.*, 1981; Huq *et al.*, 1980; Tacket *et al.*, 1982; Bellet *et al.*, 1989); se ha señalado que la enterotoxina que posee difiere de la toxina colérica en el receptor, modo de acción y antigenicidad (Ahsan *et al.*, 1988). Un caso aislado de otitis por *Vibrio fluvialis* biovariedad II asociado con *Vibrio alginolyticus* ha sido reportado recientemente (Puy *et al.*, 1989). También ha sido reportado un caso de diarrea en un enfermo de sida (Hodge *et al.*, 1995).

Las causas que con mayor frecuencia contribuyen a la aparición de casos y brotes en la población incluyen el consumo de productos del mar crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor; la defectuosa o ausente refrigeración que favorece la multiplicación del microorganismo; el manejo inadecuado de los alimentos en las cocinas lo cual propicia la contaminación cruzada de los alimentos marinos crudos a los cocidos (Bryan, 1978); y la contaminación de los alimentos marinos por parte del manipulador mediante el mecanismo ano-mano-alimento por ser un portador (Franco y Flores, 1988; Fujino, 1967; Pérez *et al.*, 1980).

Los objetivos del presente estudio fueron el determinar las prevalencias de las especies *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio fluvialis* biovariedad II en alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor, es decir, determinar si dichos alimentos representan factores de riesgo por la especie *Aeromonas hydrophila* para

el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infecciones urinarias y septicemia; por la especie *Vibrio alginolyticus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia primaria; y por la especie *Vibrio fluvialis* biovariedad II para el desarrollo de gastroenteritis aguda.

MATERIALES Y MÉTODOS

a) *Diseño de estudio*

Estudio observacional descriptivo de corte transversal sin direccionalidad y con temporalidad prospectiva. Dicho estudio se realizó en una muestra representativa seleccionada del total de 468 muestras de los 68 restaurantes que expenden alimentos marinos para consumo humano en la ciudad y puerto de Progreso de Castro, Yucatán, México. Dicha muestra representativa fue recolectada en el periodo comprendido del 1 de enero al 30 de junio de 2007.

b) Definiciones operacionales de las variables

- Restaurante: cualquier establecimiento que expendiera alimentos marinos de origen animal para consumo humano y que cuente con licencia sanitaria expedida por la Secretaría de Salud del estado de Yucatán.
- Alimento marino: cualquier producto de origen animal procedente del mar que proporcione al organismo humano elementos para su nutrición.
- Alimento marino crudo: cualquier producto de origen animal procedente del mar que proporcione al organismo humano elementos para su nutrición y que en el momento del muestreo haya sido encontrado en su estado natural.
- Alimento marino marinado sin calor: cualquier producto de origen animal procedente del mar que proporcione al organismo humano elementos para su nutrición y que en el momento del muestreo haya sido encontrado cocido utilizando la acción del ácido del jugo

de limón, del ácido del jugo de naranja, del vinagre, etcétera.

- Alimento marino parcialmente cocido con calor: cualquier producto de origen animal procedente del mar que proporcione al organismo humano elementos para su nutrición y que en el momento del muestreo haya sido encontrado preparado de la siguiente manera: a) calentar agua hasta ebullición; b) apagar la fuente de calor y adicionar el alimento marino; c) dejar "ablandar" el alimento marino en el agua caliente durante 5 minutos; y d) transferir el alimento marino a un recipiente dejándolo reposar hasta enfriamiento. Este alimento se encuentra listo para ser utilizado en la preparación de cócteles y/o cebiches.
- Alimento marino completamente cocido con calor: cualquier producto de origen animal procedente del mar que proporcione al organismo humano elementos para su nutrición y que en el momento del muestreo haya sido encontrado cocido utilizando la acción del calor (por ejemplo: asado a la parrilla, frito, vapor de agua, etcétera).

c) Técnicas y procedimientos

La Secretaría de Salud del estado de Yucatán proporcionó un listado de 68 restaurantes que se especializan en la venta de alimentos marinos para consumo humano. Se realizó una primera visita a cada uno de los 68 restaurantes y se compiló una lista de 468 muestras. Se utilizó el esquema de muestreo correspondiente al Muestreo Aleatorio Simple; el tamaño de la muestra se calculó utilizando el siguiente estadístico (Daniel, 1989);

$$n = \frac{NZ^2PQ}{d^2(N-1) + Z^2PQ}$$

Donde n= tamaño de la muestra; N= tamaño de la población; Z= nivel de confianza; P= proporción de elementos en la población que posee la característica de interés; Q= proporción de elementos en la población que no posee la característica de interés;

y d= nivel de error.

Se utilizó un nivel de confianza de 95%, es decir, un valor de $Z= 1.96$; un valor de $p= 0.5000$; un valor de $Q= 0.5000$; y un nivel de error= 3%.

$$n= 468(1.96)^2(0.5000)(0.5000) / (0.0300)^2(468-1) + 1.96^2(0.5000)(0.5000)$$

$$n= 325$$

Por consiguiente, se seleccionaron aleatoriamente 325 muestras del listado de 468 de los 68 restaurantes. Los restaurantes que correspondieron a las muestras aleatoriamente seleccionadas recibieron una segunda visita durante la cual dichas muestras fueron obtenidas.

Cada muestra pesó aproximadamente 50g, se almacenó individualmente en bolsa estéril de polietileno, se conservó en refrigeración y se envió al Laboratorio de Microbiología del Centro de Investigaciones Regionales "Dr. Hideyo Noguchi" de la Universidad Autónoma de Yucatán. El procesamiento de las muestras, de acuerdo con el cronograma de actividades del protocolo de investigación, se realizó en el periodo comprendido del 1 de enero al 30 de junio de 2007.

Para la homogeneización y el enriquecimiento de cada muestra, así como para el aislamiento y la identificación de las especies *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio fluvialis* biovariedad II se procedió según la metodología descrita en la octava edición del Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual (Elliot *et al.*, 1998).

Se construyeron tablas de contingencia de 2x2 a partir de las cuales se calcularon las prevalencias. Como prueba de significación estadística se utilizó el estadístico Ji-cuadrada de Mantel y Haenszel (χ^2_{M-H}). Se utilizó el programa Epi Info para Windows, versión 3.4.3, para la obtención de los valores de χ^2_{M-H} y de probabilidad (p). El criterio aplicado en la realización de las pruebas de hipótesis para la diferencia entre dos proporciones se basó en las recomendaciones formuladas por Cochran (Cochran, 1954): 1. Cuando $n>40$ utilice la prueba χ^2_{M-H} ; 2.

Cuando $20 \leq n \leq 40$ utilice la prueba χ^2_{M-H} si, y sólo si, todas las frecuencias esperadas son ≥ 5 ; si en alguna celda se encuentra al menos 1 frecuencia esperada < 5 utilice, entonces, la prueba de la probabilidad exacta de Fisher (PPEF); y 3. Cuando $n < 20$ utilice la PPEF.

$$\chi^2_{M-H} = [ad - bc / \sqrt{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)(N-1)}]^2$$
$$PPEF = \frac{(a+b)!(c+d)!(a+c)!(b+d)!}{n!a!b!c!d!}$$

Se construyeron los intervalos de estimación al nivel de confianza del 95% para el porcentaje en la población de alimentos marinos con *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio fluvialis* biovariedad II (Daniel, 1989):

$$p - Z\sigma_p \leq P \leq p + Z\sigma_p$$

Donde p= proporción de elementos en la muestra que posee la característica de interés; Z= nivel de confianza; σ_p = error estándar; y P= proporción de elementos en la población que posee la característica de interés.

A su vez:

$$\sigma_p = \sqrt{pq/n}$$

Donde σ_p = error estándar; p= proporción de elementos en la muestra que posee la característica de interés; q= proporción de elementos en la muestra que no posee la característica de interés; y n= tamaño de la muestra.

Las especies *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio fluvialis* biovariedad II según límites inferior y superior de los intervalos de estimación al nivel de confianza del 95% se presentan en el Cuadro 1. Los intervalos de estimación al nivel de confianza del 95% para el porcentaje en la población de alimentos marinos con *Aeromonas hydrophila*, con *Vibrio alginolyticus* y con *Vibrio fluvialis* biovariedad II fueron, respectivamente, $2.57\% \leq P \leq 7.28\%$, $4.04\% \leq P \leq 9.50\%$ y $5.56\% \leq P \leq 11.67\%$.

Cuadro 1. *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* Y *Vibrio fluvialis* biovariedad II según intervalos de estimación al nivel de confianza del 95%.

	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio fluvialis</i> biovariedad II
P	0.0492	0.0677	0.0862
Z	1.96	1.96	1.96
σ_p	0.0120	0.0139	0.0156
Límite inferior	0.0257	0.0404	0.0556
Límite superior	0.0728	0.0950	0.1167
Límite inferior (%)	2.57%	4.04%	5.56%
Límite superior (%)	7.28%	9.50%	11.67%

d) *Procesamiento de los datos*

En la etapa de elaboración los datos fueron revisados (control de calidad de la información); clasificados (en escala cualitativa); computarizados [se utilizó el software Statistical Package for Social Sciences (SPSS) para Windows, versión 8.0]; presentados (en cuadros y en gráficas); y resumidos (se utilizaron las medidas de resumen correspondientes para datos clasificados en escala cualitativa). En las etapas de análisis e interpretación los datos fueron analizados e interpretados, respectivamente.

RESULTADOS

Según su método de preparación, los alimentos marinos fueron clasificados en crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor. Tres fueron las variedades (crustáceos, moluscos y peces) y 26 las especies estudiadas (camarón, cangrejo, jaiba, calamar, caracol, callo de hacha, chivitas, ostión, pulpo, abadejo, boquinete, cazón, coronado, corvina, cherna, chihua, esmedregal, guachinango, mero, pámpano, pargo,

picuda, raya, robalo, rubia y sierra).

En el Cuadro 2 se presentan las frecuencias absolutas y relativas de los alimentos marinos por prevalencias de *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio fluvialis* biovariedad II según métodos de preparación. En las Gráficas 1, 2 y 3 se presentan, respectivamente, las frecuencias relativas de los alimentos marinos por prevalencias de *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio fluvialis* biovariedad II según métodos de preparación. En 16 (4.92%), en 22 (6.77%) y en 28 (8.62%) muestras se aisló un número igual de cepas cuyas características bioquímicas correspondieron, respectivamente, a *Aeromonas hydrophila*, a *Vibrio alginolyticus* y a *Vibrio fluvialis* biovariedad II. Las prevalencias obtenidas en alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor fueron 9.18% (9/98), 0.00% (0/15), 4.73% (7/148) y 0.00% (0/64) para *Aeromonas hydrophila*; 12.24% (12/98), 13.33% (2/15), 5.41% (8/148) y 0.00% (0/64) para *Vibrio alginolyticus*; y 13.27% (13/98), 13.33% (2/15), 6.08% (9/148) y 6.25% (4/64) para *Vibrio fluvialis* biovariedad II.

Cuadro 2. Frecuencias absolutas y relativas de alimentos marinos por prevalencias de *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* Y *Vibrio fluvialis* biovariedad II según métodos de preparación.

MÉTODOS DE PREPARACIÓN	PREVALENCIAS			TOTALES
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio fluvialis</i> biovariedad II	
CRUDOS	9 (9.18%)	12 (12.24%)	13 (13.27%)	98 (100.00%)
MARINADOS SIN CALOR	0 (0.00%)	2 (13.33%)	2 (13.33%)	15 (100.00%)
PARCIALMENTE COCIDOS CON CALOR	17 (4.73%)	8 (5.41%)	9 (6.08%)	148 (100.00%)
COMPLETAMENTE COCIDOS CON CALOR	0 (0.00%)	0 (0.00%)	4 (6.25%)	64 (100.00%)
TOTALES	16 (4.92%)	22 (6.77%)	28 (8.62%)	325 (100.00%)

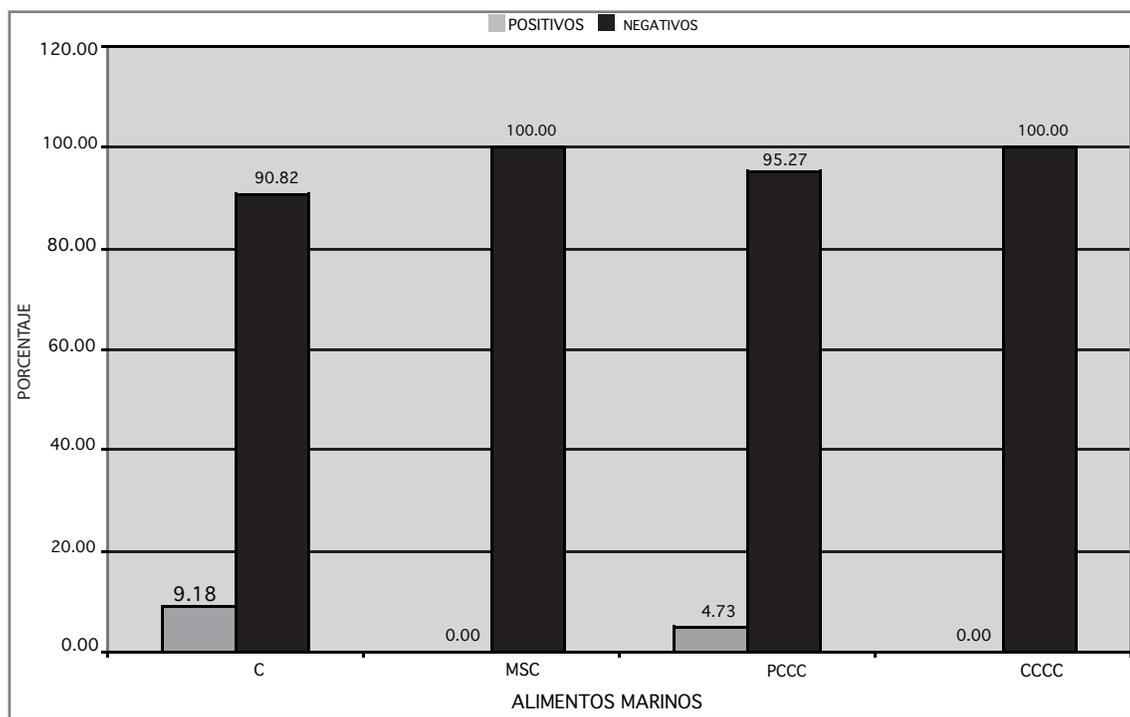


Figura 1. Frecuencias relativas de alimentos marinos por prevalencias de *aeromonas hydrophila* según métodos de preparación. C, crudos; MSC, marinados sin calor; PCCC, parcialmente cocidos con calor; y CCCC, completamente cocidos con calor.

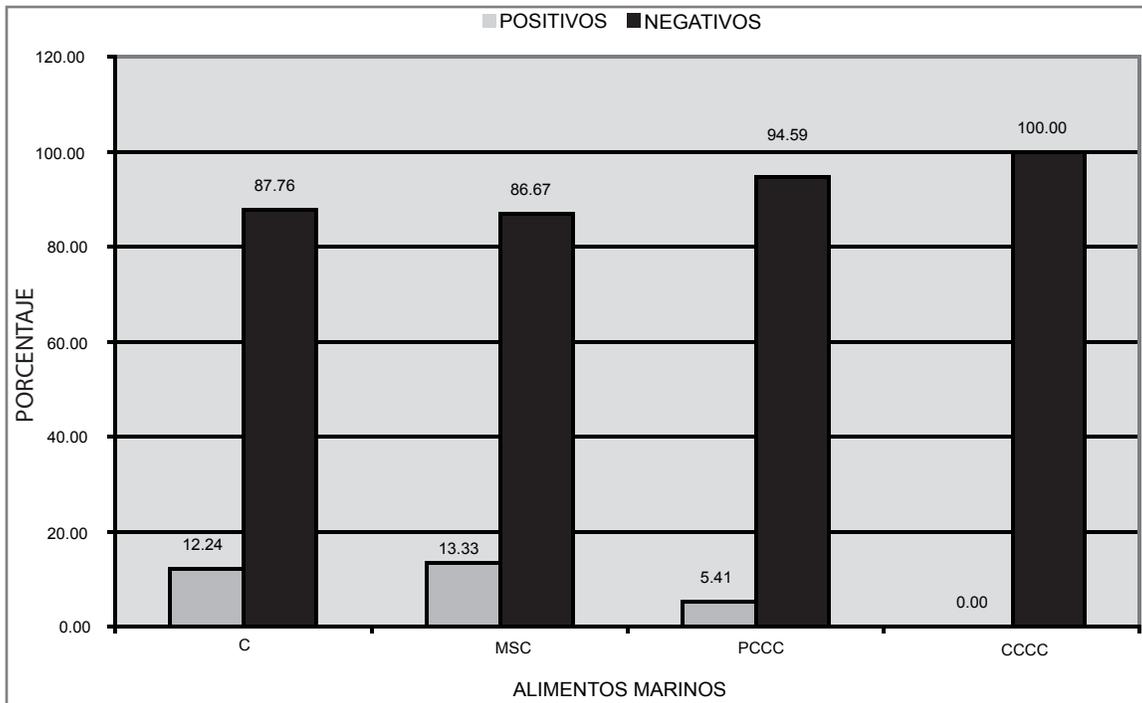


Figura 2. Frecuencias relativas de alimentos marinos por prevalencias de *Vibrio alginolyticus* según métodos de preparación. C, crudos; MSC, marinados sin calor; PCCC, parcialmente cocidos con calor; y CCCC, completamente cocidos con calor.

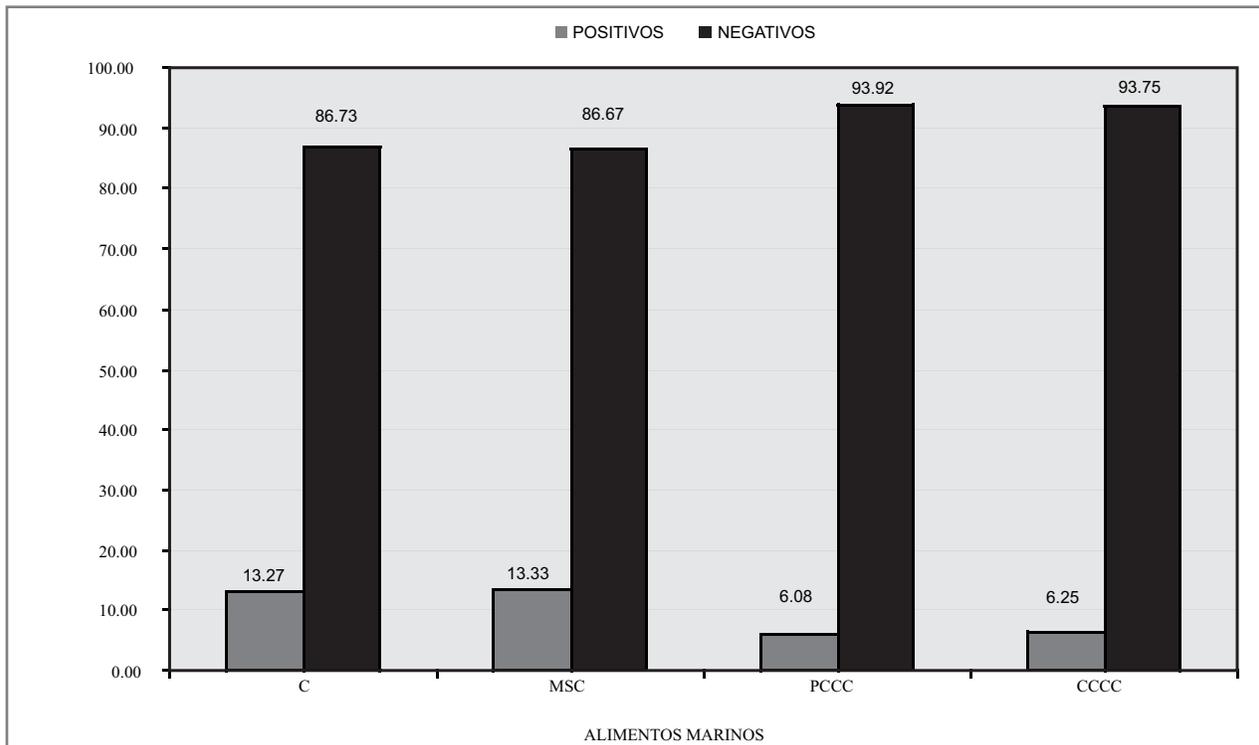


Figura 3. Frecuencias relativas de alimentos marinos por prevalencias de *vibrio fluvialis* biovariedad ii según métodos de preparación. C, crudos; MSC, marinados sin calor; PCCC, parcialmente cocidos con calor; y CCCC, completamente cocidos con calor.

Cuadro 3. Alimentos marinos con aeromonas hydrophila, vibrio alginolyticus y vibrio fluvialis biovariedad ii por valores de ji-cuadrada de mantel y haenszel (x^2_{M-H}) y de probabilidad (p) según contrastes de hipótesis.

CONTRASTES DE HIPÓTESIS	Aeromonas hydrophila		Vibrio alginolyticus		Vibrio fluvialis biovariedad II	
	x^2_{M-H}	p	x^2_{M-H}	p	x^2_{M-H}	p
AMC vs. AMMSC	1.48	0.2232	0.01	0.9056	0.00	0.9943
AMC vs. AMPCCC	1.92	0.1663	3.68	0.0551	3.72	0.0537
AMC vs. AMCCCC	6.18*	0.0129	8.41*	0.0037	2.02	0.1556
AMMSC vs. AMPCCA	0.74	0.3907	1.48	0.2242	1.13	0.2875
AMMSC vs. AMCCCC			8.64*	0.0033	0.86	0.3544
AMPCCC vs. AMCCCC	3.12	0.0775	3.58	0.0585	0.00	0.9626

AMC= alimentos marinos crudos; AMMSC= alimentos marinos marinados sin calor; AMPCCC= alimentos marinos parcialmente cocidos con calor; AMCCCC= alimentos marinos completamente cocidos con calor; *= Significativo al nivel de significación (α) del 5%.

Los valores del estadístico x^2_{M-H} y de la p según prevalencias contrastadas de Aeromonas hydrophila, Vibrio alginolyticus y Vibrio fluvialis biovariedad II se presentan en el Cuadro 3. Utilizando el estadístico x^2_{M-H} se realizaron los correspondientes seis contrastes de hipótesis para cada una de las tres especies encontrando para Aeromonas hydrophila diferencia estadísticamente significativa entre las prevalencias obtenidas en alimentos marinos crudos y completamente cocidos con calor; y para Vibrio alginolyticus diferencia estadísticamente significativa entre las prevalencias obtenidas en alimentos marinos crudos y completamente cocidos con calor, así como entre las prevalencias obtenidas en alimentos marinos marinados sin calor y completamente cocidos con calor: $x^2_{M-H}(\alpha=0.0500, gl=1) > 3.8416, p < 0.0500$.

DISCUSIÓN

Con respecto a la especie Aeromonas hydrophila la más alta prevalencia (9.18%) fue obtenida en los alimentos marinos crudos; en consecuencia, este resultado corresponde al esperado debido a que la probabilidad de aislamiento es mayor cuando el alimento no ha sido expuesto a la acción del calor.

A continuación se tiene la prevalencia (4.73%) obtenida en los alimentos marinos parcialmente cocidos con calor; este resultado también corresponde al esperado y la prevalencia obtenida puede ser explicada porque el procedimiento utilizado para “ablandar” el alimento no es suficiente para destruir al microorganismo, o bien, porque el alimento pudo haber sido contaminado por el manipulador después del proceso de “ablandamiento” ya sea por contaminación cruzada desde otros alimentos, o bien, mediante el mecanismo ano-mano-alimento por ser un portador. No se aisló cepa alguna en las 15 muestras de alimentos marinos marinados sin calor; por ende, este resultado no corresponde al esperado porque son alimentos que no han sido expuestos a la acción del calor. Asimismo, no se aisló cepa alguna en las 64 muestras de alimentos marinos completamente cocidos con calor; subsiguientemente, este resultado corresponde al esperado porque la probabilidad de aislamiento es nula cuando el alimento se ha preparado mediante una adecuada exposición a la acción del calor.

Con respecto a la especie Vibrio alginolyticus la más alta prevalencia (13.33%) fue obtenida en los alimentos marinos marinados sin calor; por ende,

este resultado corresponde al esperado porque son alimentos que no han sido expuestos a la acción del calor. La siguiente prevalencia (12.24%) fue obtenida en los alimentos marinos crudos; en consecuencia, este resultado también corresponde al esperado debido a que la probabilidad de aislamiento es mayor cuando el alimento no ha sido expuesto a la acción del calor. A continuación se tiene la prevalencia (5.41%) obtenida en los alimentos marinos parcialmente cocidos con calor; este resultado corresponde también al esperado y la prevalencia obtenida puede ser explicada ya sea porque el procedimiento utilizado para “ablandar” el alimento no es suficiente para destruir al microorganismo, o bien, porque el alimento pudo haber sido contaminado por el manipulador después del proceso de “ablandamiento” ya sea por contaminación cruzada desde otros alimentos, o bien, mediante el mecanismo ano-mano-alimento por ser un portador. No se aisló cepa alguna en las 64 muestras de alimentos marinos completamente cocidos con calor; subsiguientemente, este resultado también corresponde al esperado porque la probabilidad de aislamiento es nula cuando el alimento se ha preparado mediante una adecuada exposición a la acción del calor.

Finalmente, con respecto a la especie *Vibrio fluvialis* biovariedad II la más alta prevalencia (13.33%) fue obtenida en los alimentos marinos marinados sin calor; por ende, este resultado corresponde al esperado porque son alimentos que no han sido expuestos a la acción del calor. La siguiente prevalencia (13.27%) fue obtenida en los alimentos marinos crudos; en consecuencia, este resultado también corresponde al esperado debido a que la probabilidad de aislamiento es mayor cuando el alimento no ha sido expuesto a la acción del calor. A continuación se tiene la prevalencia (6.25%) obtenida en los alimentos marinos completamente cocidos con calor; subsiguientemente, este resultado no corresponde al esperado porque la probabilidad

de aislamiento es nula cuando el alimento se ha preparado mediante una adecuada exposición a la acción del calor y la prevalencia obtenida puede ser explicada porque el alimento pudo haber sido contaminado por el manipulador ya sea por contaminación cruzada desde otros alimentos, o bien, mediante el mecanismo ano-mano-alimento por ser un portador.

Por último, se tiene la prevalencia (6.08%) obtenida en los alimentos marinos parcialmente cocidos con calor; este resultado corresponde también al esperado y la prevalencia obtenida puede ser explicada porque el procedimiento utilizado para “ablandar” el alimento no es suficiente para destruir al microorganismo, o bien, porque el alimento pudo haber sido contaminado por el manipulador después del proceso de “ablandamiento” ya sea por contaminación cruzada desde otros alimentos, o bien, mediante el mecanismo ano-mano-alimento por ser un portador.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos se concluye que los alimentos marinos crudos y parcialmente cocidos con calor representan factores de riesgo por la especie *Aeromonas hydrophila* para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infecciones urinarias y septicemia; que los alimentos marinos crudos, marinados sin calor y parcialmente cocidos con calor representan factores de riesgo por la especie *Vibrio alginolyticus* para el desarrollo de gastroenteritis aguda, infección de herida, infección de oído y septicemia primaria; y que los alimentos marinos crudos, marinados sin calor, parcialmente cocidos con calor y completamente cocidos con calor representan factores de riesgo por la especie *Vibrio fluvialis* biovariedad II para el desarrollo de gastroenteritis aguda.

REFERENCIAS

- Ahsan, C.R., S.C. Sanyal, A. Zamman, P.K. Nogy, M.I. Huq (1988). "Immunobiological relationships between *Vibrio fluvialis* and *Vibrio cholerae* enterotoxins". *Immunol Cell Biol.*; 66: 251-252.
- Baumann, P., L. Baumann, S.S. Bang, M.J. Woolkalis (1980). "Reevaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckeia* and *Photobacterium*: abolition of the genus *Beneckeia*". *Current*; 4: 127-132.
- Baumann, P., L. Baumann, M. Mandel (1971). "Taxonomy of marine bacteria. The genus *Beneckeia*". *J. Bacteriol.*; 107: 268-294.
- Bellet, J., Klein, M. Altieri, D. Ochsenchlager (1989). "*Vibrio fluvialis*, an unusual pediatric enteric pathogen". *Pediatr. Emerg. Care.*; 5: 27-28.
- Blake, P.A., R.E. Weaver, D.G. Hollis (1980). "Diseases of humans (other than colera) caused by vibrios". *Annu Rev.*; 34: 341-367.
- Bonner, J.R., A.S. Cocker, C.R. Berryman, H.M. Pollock (1983). "Spectrum of vibrio infections in a gulf coast community". *Ann Intern Med*; 99: 464-469.
- Bravo Fariñas, L., L. Morier, N. Castañeda, M. Ramírez, M. Silva, G. Castro-Escarpulli (2003). "*Aeromonas*: an emerging pathogen associated with extraintestinal infection in Cuba". *Rev. Cubana Med. Trop.*; 55(3): 208-209.
- Bryan, F.L. (1978). "Factors that contribute to outbreaks of food-borne disease". *J. Food Prot.*; 41: 816-827.
- Castro-Escarpulli, G., G.M. Aguilera Arreola, S. Giono Cerezo, C. Hernández-Rodríguez, M. Rodríguez Chacon, L. Soler Falgás (2002). "El género *Aeromonas*: ¿Un patógeno importante en México?" *Enf. Infecc. Microbiol.*; 22(4): 206-216.
- Clark, N.M., C.E. Chenoweth (2003). "*Aeromonas* infection of the hepatobiliary system: Report of 15 cases and review of the literature". *Clin. Infect. Dis.*; 37: 506-513.
- Cochran, W.G. (1954). "Some methods for strengthening the common χ^2 tests". *Biometrics.*; 10: 417-451.
- Daniel, W.W. (1989). *Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud*. México: Editorial Limusa. 184-5; 202-203.
- Drona, F., R. Canton, Selman, F. García-Ramos, M. Martínez-Ferrer (1991). "*Vibrio alginolyticus* y otitis externa del nadador. Dos casos y revisión de la literatura". *Clin.*; 9: 630-633.
- Elliot, E.L., C.A. Kaysner, L. Jackson, M.L. Tamplin (1998). "*Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, and other *Vibrio* spp. Ch. 9". In *Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual*. Gaithersburg, MD: (revision A), (CD-ROM version). R.L. Merker (Ed.). AOAC International (8th ed.).
- English, V.L., R.B. Lindberg (1977). "Isolation of *Vibrio alginolyticus* from wounds and blood of a burn patient". *Am. J. Med. Technol.*; 43: 989-993.
- Franco-Monsreal, J., J.J. Flores-Abuxapqui (1988). "Prevalencia de *Vibrio parahaemolyticus* en productos marinos y en heces de manipuladores de alimentos". *Rev. Lat.-amer. Microbiol.*; 30: 223-227.
- Fujino, T.T. (1967). "Report of the food hygiene sub-committee on *Vibrio parahaemolyticus*". In: Fujino T, Fukumi H, ed. *Vibrio parahaemolyticus*. Nayashoten: 673-725.
- García-Martos, P., M. Benjumeda, D. Delgado (1993). "Otitis externa por *Vibrio alginolyticus*: descripción de cuatro casos". *Acta Otorrinolaring. Esp.*; 44: 55-57.
- Garrity, G.M., J.A. Bell, T.G. Lilburm (2003). "Taxonomic outline of the prokaryotes". En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*.

2nd ed. Release 4.0; Oct 2003. [Citado el 10 de febrero del 2004]. Disponible en: [URL:http://dx.doi.org/10.1007/bergeysoutline200310](http://dx.doi.org/10.1007/bergeysoutline200310)

- Gilardi, G.L. (1991). “*Pseudomonadae* and related Genera”. En: Balows A, Hausler WJ, Hermann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, editores. *Clinical microbiology*. Washington, D.C.: Am Soc, (5^a ed.). Pp. 429-439.
- Hansen, W., F. Crohaert, E. Yourassowsky (1979). “Two strains of *Vibrio* sp. with unusual biochemical features isolated from ear tracts”. *J. Clin.*; 9: 152-153.
- Hasyn, J.J., T.P. Mauer, R. Warner, C. Von Hake (1987). “Isolation of *Vibrio alginolyticus* from a patient with chronic otitis media. Report of a case and review of biochemical activity”. *J. Am. Osteopath Assoc*; 87: 560-562.
- Hodge, T.W. Jr., C.S. Levy, M.A. Smith (1995). “Diarrhea associated with *Vibrio fluviatilis* infection in a patient with AIDS”. *Clin. Infect. Dis.*; 21: 237-238.
- Hoge, P., D. Watsky, R.N. Peeler, J.P. Lubonati, E. Israel, J.G. Morris (1989). “Epidemiology and spectrum of vibrio infections in a Chesapeake bay community”. *J. Infect. Dis.*; 160: 985-993.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, S.T. Williams (1994). *Bergey’s manual of determinative bacteriology: subgroup 2: Family Vibrionaceae*. Baltimore: Williams & Wilkins; 190-194; 259-274.
- Hornstrup, M.K., B. Gahm-Hansen (1993). “Extraintestinal infections caused by *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* in a Danish county”, 1987-1992. *Stand. J. Infect Dis.*; 25: 735-740.
- Howard, R.J., M.E. Pessa, B.H. Brennaman, R. Ramphal (1985). *Necrotizing soft-tissue infections caused by marine vibrios*. *Surg.*; 98: 126-130.
- Huq, M.I., A.K.M.J. Alam, D.J. Brenner, G.K. Morris (1980). “Isolation of *Vibrio*-like group EF-6 from patients with diarrhea”. *J. Clin.*; 11: 621-624.
- Janda, J., C. Powers, R.G. Bryant, S.L. Abbott (1988). “Current perspectives on the epidemiology and pathogenesis of clinically significant *Vibrio* spp”. *Clin. Rev.*; 1: 245-267.
- Janda, J.M., R. Brenden, J.A. Debenedetti, M.O. Constantino, T. Robín (1986). “*Vibrio alginolyticus* bacteriemia in an immunocompromised patient”. *Diagn. Infect. Dis.*; 5: 337-340.
- Janda, J.M. (1987). “Pathogenic *Vibrio* spp.: an organism group of increasing medical significance”. *Clin. Newslett.*; 9: 49-53.
- Kim, J.H., R.A. Cooper, K.E. Welty-Wolf, L.J. Harrell, P. Zwadyk, M.E. Klotman (1989). “*Pseudomonas putrefaciens* bacteremia”. *Rev. Inf. Dis.*; 11: 97-104.
- Lantero M., I. Perales, L. Michans, I. Echevarría, A. Díaz, E. Aguirrezábal (1984). “Septicemia por Non O1 *Vibrio cholerae*”. *Clin.*; 2: 62-64.
- Lee, J.V., P. Shread, A.L. Fumiss, T. Bryant (1981). “Taxonomy and description of *Vibrio fluviatilis* sp. nov (synonym group F vibrios, group EF6)”. *J. Appl. Bacteriol.*; 50: 73-94.
- Lessner, A.M., R.M. Webb, B. Rabin (1986). “*Vibrio alginolyticus* conjunctivitis”. *Arch. Ophthalmol.*; 103: 229-230.
- López Brea, M., M.L. Jiménez, C. de las Cuevas, J. Alcalá-Zamora, P. Alonso (1985). “Non-O1 *Vibrio cholerae* septicemia”. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*; 79: 878-879.
- MacDonell, M.T., R.R. Colwell (1985). “Phylogeny of the *Vibrionaceae* and recommendation for two new genera, *Listonella* and *Shewanella*”. *Syst. Appl. Microbiol.*; 6: 171-182.
- Mayoral, C., M. Gómez, M.F. Schmeling, S. Peirano (2000). “Celulitis y bacteriemia por *Aeromonas veronii* biovar *sobria*, presentación de un caso”. *Infect. Microbiol. Clin.*; 12(2): 71-73.

- Nacescu, N, C. Ciufecu, D. Florescu (1980). "Vibrio alginolyticus enteritis". *Ann Sclavo*; 22: 169-172.
- Opal, S.M., J.R. Saxon (1986). "Intracranial infection by *Vibrio alginolyticus* following injury in salt water". *J. Clin.*; 23: 373-374.
- Owen, R.J., R.M. Legros, S.P. Lapage (1978). "Base composition, size and sequence similarities of genome deoxyribonucleic acids from clinical isolates of *Pseudomonas putrefaciens*". *J. Gen.*; 104: 1123.
- Patterson, T.F., S.R. Bell, F.J. Bia (1988). "*Vibrio alginolyticus* cellulitis following coral injury". *Yale J. Biol. Med.*; 61: 507-512.
- Pérez, J.L., J. Ayats, P. López, R. Martín (1989). "Infección de herida por *Vibrio alginolyticus*". *Rev. Esp. Clin.*; 4: 314-315.
- Pérez, J.L., M. Cabré, L. Riera, R. Prú, C.I. Berrocal (1987). "Gastroenteritis por *Vibrio parahaemolyticus* asociada a consumo de ostras". *Clin.*; 5: 160-163.
- Pérez Trallero, E., M. Urbietta Egaña, I. Gasser Laguna, F. Fernández Pérez (1983). *Vibrio alginolyticus*. "Estudio comparativo entre cepas de procedencia humana y aisladas del medio ambiente". *Clin.*; 1: 102-106.
- Pérez Trallero, E., M. Urbietta Ergaña (1982). "Aislamiento de *Vibrio vulnificus* (*Beneckeia vulnifica*) en la costa de Guipúzcoa". *Laboratorio.*; 74: 347-355.
- Pérez-Memije, E., M.L. Vélez-González, F. Galván-Rodríguez (1980). "Búsqueda de *Vibrio parahaemolyticus* en heces de manejadores de alimentos en el puerto de Acapulco, Guerrero". *Rev. Lat.-amer. Microbiol.* 22: 18.
- Pien, F., K. Lee, H. Higa (1977). "*Vibrio alginolyticus* infection in Hawaii". *J. Clin.*; 5: 670-672.
- Puy, H., B. Canarelli, E. Denamur, V. Strunsky, J. Orfila (1989). "Otitis caused by *Vibrio alginolyticus*". *Press Med.*; 18: 985.
- Ratnam, S., M. Watson (1985). "*Vibrio alginolyticus* conjuntivitis". *Arch. Ophthalmol.*; 103: 1283-1284.
- Revillo, M.J., B. Moles, E. Lomba, A. Esteban, M.J. Aldea (1988). "Aislamiento de *Vibrio mimicus* en muestras clínicas". *Clin.*; 6: 189-202.
- Robertson, W.J., R.S. Tobin (1983). "The relationship between three potential pathogens and population indicator organisms in Nova Scotian coastal waters". *Can. J.*; 29: 1261-1269.
- Rubín, S.J., R.C. Tilton (1975). "Isolation of *Vibrio alginolyticus* from infections". *J. Clin.*, 2: 556-558.
- Ryan, W.J. (1976). "Marine vibrios associated with superficial septic lesions". *J. Clin. Pathol.*; 29:1014-1015.
- Schmidt, U., H. Chmel, C. Cobbs (1979). "*Vibrio alginolyticus* infections in humans". *J. Clin.*, 10: 666-668.
- Sechi, L.A., A. Deriu, M.P. Falchi, G. Fadda, S. Zanetti (2002). "Distribution of virulence genes in *Aeromonas* spp. Isolated from Sardinian waters and from patients with diarrhea". *J. Appl. Microbiol.*; 92(2): 221-227
- Sharon, L.A., K. Wendy, W. Cheung, J.M. Janda (2003). "The Genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes". *J. Clin. Microbiol.*; 79(6): 2348-2357.
- Soler, L., M.J. Figueras, M.R. Chacón, J. Vila, F. Marco, A.J. Martínez-Murcia *et al.* (2002). "Potential virulence and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas popoffi* recovered from freshwater and seawater". *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*; 32(3): 243-247.
- Tacket, C.O., F. Hickman, G.V. Pierce, L.F. Mendoza (1982). "Diarrhea associated with *Vibrio fluvialis* in the United States". *J. Clin.*, 16: 991-992.
- Taylor, R., M. McDonald, G. Russ, M. Carson, E. Lukaczynshi (1981). "*Vibrio alginolyticus* peri-

- tonitis associated with ambulatory peritoneal dialysis". *Br. Med. J.*; 283: 275.
- Von Graevenitz, A., G.O. Carrington (1973). "Halophilic vibrios from extraintestinal lesions in man". *Infection.*; 1: 54-58.
- West, P.A. (1989). "The humans pathogenic vibrios. A public health update with environmental perspectives". *Epidem. Infec.*;103:1-34.
- Xercavins, M., I. Gasser, F. Pumarola, F. Fernández (1989). "Aislamiento de *Vibrio alginolyticus* en un paciente con otitis crónica". *Clin.*; 7:115-116.
- Zen-yogi, H., R.A. Leclair, K. Ohta, T.S. Montague (1973). "Comparison of *Vibrio parahaemolyticus* cultures isolates in the United States with those isolates in Japan". *J. Infect Dis.*; 127: 237-244.

La capacidad funcional y el estado mental como determinantes de malnutrición en adultas mayores de la frontera norte de México

Wall-Medrano, A¹; Peña-Saldívar, L¹; Rodríguez-Tadeo, A¹

En este estudio se evaluó la relación entre la capacidad funcional y el estado mental con el estado nutricional de 166 adultas mayores de la frontera norte de México. Metodología. En un diseño factorial 3 x 4 fueron agrupadas las participantes por su nivel de capacidad funcional (escala Katz) y estado mental (escala Pfeiffer), evaluándose su estado nutricional (puntaje MNA) como variable respuesta. Resultados. El 37, 51 y 59% de todas las participantes mostraron un buen estado nutricional, capacidad funcional y estado mental. El 42 y 32% del grupo de mujeres con capacidad funcional completa e incapacidad funcional severa, ambas con buen estado mental, presentaban buen estado nutricional; sin embargo, casi todas las participantes que mostraron deterioro mental severo estaban mal nutridas. Conclusiones. La incapacidad funcional y en mayor grado la mental son factores de riesgo de malnutrición en adultas mayores de la región.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con estimaciones del Consejo Nacional de Población (Partida, 2004), actualmente residen en México 8.5 millones de personas de 60 años o más, y para el 2030 se espera que sean 20.7 millones, en tanto que para la mitad del siglo se alcanzarán los 33.8 millones. Este crecimiento es derivado de la disminución en las tasas de natalidad y mortalidad nacionales, teniendo como consecuencia una espe-

ranza de vida actualmente de alrededor de 75 años a nivel nacional y para el 2010 ésta será de 74.2 para los hombres y 79.1 para las mujeres. En el 2006, Chihuahua ocupaba el 7° lugar en esperanza de vida en todo el país con casi un año más de vida alcanzado en el 2000. Esto, aunado al hecho de que el crecimiento neto de la población chihuahuense se mantuvo casi igual en los 4 millones de personas, indica que el aumento en las condiciones de vida del anciano y el alto recambio poblacional pueden

¹ Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Instituto de Ciencias Biomédicas. Anillo envolvente del Pronaf y Estocolmo s/n Ciudad Juárez 32300, Chihuahua.

ser los responsables (Partida, 2006). De hecho, la tasa de inmigración-emigración en Chihuahua es básicamente la misma, de tal suerte que el principal componente que justifica la esperanza de vida en el estado es la natalidad y la migración neta externa

La mayor sobrevivencia femenina se traduce en cambios que la hacen especialmente vulnerable al deterioro de su calidad de vida. El porcentaje de viudas es tres veces mayor a la de los hombres que sobreviven a sus mujeres (Wong *et al.*, 2007; Ortiz, 2003). Esto ligado a la menor participación económica de las mujeres, al menor goce de beneficios tales como pensiones por jubilación (Salgado-de Zinder y Wong, 2007) y a una mayor tasa de analfabetismo, incide en el grado de marginación y pobreza. Además, en las ancianas cuyo sustento económico depende de familiares en extrema pobreza, son vulnerables a la violencia intrafamiliar, al abuso y al abandono. A pesar de que las mujeres tienen una mayor esperanza de vida, fenómeno conocido como feminización del envejecimiento (Salgado-de Snyder y Wong, 2007), las estadísticas refieren que este grupo, en edades avanzadas, presenta mayor morbilidad y limitaciones funcionales que los varones de la misma edad, siendo esto particularmente importante en las mujeres mayores a los 75 años (González y Ham-Chande, 2007). Independientemente de que esto pueda atribuirse a que las mujeres utilizan con mayor frecuencia los distintos servicios de salud (Wong y Díaz, 2007) y a las desventajas socioeconómicas antes mencionadas, también se ha documentado que factores de alto riesgo en salud reproductiva tales como un parto antes de los 18 años o alta paridad se van a reflejar en su situación de salud en la última etapa de la vida (Kington *et al.*, 1997). La autopercepción de un estado de salud regular o malo es 10% mayor entre mujeres que en hombres mayores de 60 años (Wong *et al.*, 2007).

El papel de la nutrición en este proceso, ha recibido especial atención en los últimos años. Se ha reportado que, la asistencia nutricional y emocional del anciano se traduce en el correcto mantenimiento de procesos metabólicos específicos. La ocurrencia de enfermedades crónico-degenerativas en el paciente geriátrico aumenta día con día, provocando que

los estudios nutricionales tengan mayores justificantes (Wong *et al.*, 2007; Velásquez-Monroy *et al.*, 2002). De hecho, existe evidencia sustancial sobre la relación entre las enfermedades de origen nutricional y la reducción en el desempeño de actividades de la vida cotidiana (Ruiz-Arregui *et al.*, 2008) y capacidad mental del adulto mayor (Mejía-Arango *et al.*, 2007). Sin embargo, la evaluación del estado nutricional y sus factores de morbilidad en mexicanas es todavía muy escasa y prácticamente nula para aquellas que viven en la frontera norte de México. Es por ello que en este trabajo se analizó la relación entre la capacidad funcional para realizar actividades de la vida cotidiana y el estado mental en el estado nutricional de una muestra no probabilística de mujeres mayores de 60 años.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y transversal. Para el reclutamiento de la muestra se contó con el apoyo del Programa *Vive a Plenitud* de Ciudad Juárez y otras instituciones participantes. Se seleccionaron 166 mujeres ≥ 60 años a las cuales se les realizaron diferentes mediciones antropométricas y se les aplicó un cuestionario basado en las preguntas computadas en la encuesta de Salud, Bienestar y Envejecimiento en América Latina y el Caribe (SABE, Wong *et al.*, 2006). La participación dentro del estudio estuvo avalada por consentimiento escrito e informado con el individuo y la institución participante, siguiendo los principios éticos de la declaración de Helsinki para investigaciones en humanos.

Valoración del estado nutricional

Por medio de instrumentos de campo se realizó el levantamiento de información para su análisis, previa estandarización del error humano:

Valoración antropométrica. Como parte de las acciones contenidas en el cuestionario Mini

Nutritional Assessment (MNA), se determinó el IMC de esta población de acuerdo con lo siguiente: la medición del peso se realizó con la menor ropa posible y sin zapatos. Se le pidió a la sujeto que subiera a la báscula colocando los pies paralelos en el centro, de frente al examinador. El sujeto estaba erguido, sin moverse y con los brazos caídos naturalmente en ambos costados. Se tomó la lectura del peso obtenido y se registró en la hoja de antropometría. Posteriormente, para realizar la medición de talla se colocó a la participante debajo del estadímetro de espalda a la pared con la mirada al frente, sobre una línea imaginaria vertical que divide su cuerpo en dos hemisferios. Se verificó que los pies estuvieran en posición correcta y se aseguró que la cabeza, espalda, pantorrillas, talones y glúteos estuvieran en contacto con la pared, y se registró la medición. En el caso de que la participante no pudiese mantenerse en pie, la medición se obtuvo a partir de otras variables antropométricas y utilizando las siguientes ecuaciones desarrolladas para mujeres de la tercera edad (Chumlea, 1987):

$$\text{Peso} = (\text{CMB} \times 0.98) + (\text{CP} \times 1.27) + (\text{PSE} \times 0.40) + (\text{AR} \times 0.87) - 62.35$$

$$\text{Talla} = (1.83 \times \text{AR}) - (0.24 \times \text{Edad}) + 84.88$$

Donde CMB = Circunferencia de brazo, CP = Circunferencia de pantorrilla, PSE = Pliegue subescapular, AR = Altura de rodilla. Estas ecuaciones poseen un margen de error de ± 3.8 Kg. para el peso y 6.0 cm. para la talla. Una vez que se registraron los valores de peso y talla correspondientes, se calculó el índice de masa corporal (IMC) a partir de la fórmula $\text{peso}/\text{talla}^2$ (Kg/m^2), mismo que se utilizó en la valoración del estado nutricio general dentro del cuestionario MNA.

Mini Nutritional Assessment (MNA). El objetivo de esta escala es determinar si hay un riesgo de malnutrición y así permitir una precoz intervención nutricional y detectar la presencia

de franca malnutrición tratando de acercarse a sus causas y permitiendo el establecimiento de intervenciones multidimensionales para corregir factores de riesgo y mejorar el estado nutricional y de salud de ancianos (Guigoz *et al.*, 1996) y pacientes hospitalizados (Izaola *et al.*, 2005). El MNA está compuesto de mediciones simples y preguntas breves que pueden ser contestadas en aproximadamente 10 minutos. Comprende medidas simples y un breve cuestionario puede ser realizado en aproximadamente 10 minutos y engloba: valoración antropométrica (peso, altura, IMC, circunferencia de brazo y pierna), valoración general (estilo de vida, medicación y movilidad), valoración dietética (número de comidas, ingesta de alimentos y líquidos, autonomía en la realización de comidas) y un breve cuestionario sobre autovaloración (autopercepción de salud y del estado nutricional). Este método presenta una sensibilidad y especificidad del 96% y 98%, respectivamente, y un valor predictivo de 97% para malnutrición.

Cuestionario de promoción de estilos de vida saludable en el adulto mayor. Este cuestionario fue conformado por integrantes del Cuerpo Académico en Salud Comunitaria y reproducido de la Encuesta de Salud, Bienestar y Envejecimiento en América Latina y el Caribe (SABE). Este integra varios cuestionarios previamente validados individualmente en distintas poblaciones de habla hispana (Wong *et al.*, 2006). Incluye información socio-demográfica, condiciones de salud, estado nutrición (MNA), apetito (Wilson *et al.*, 2005), osteoporosis (Mendoza-Romo y Ramírez-Arriola, 2007), capacidad funcional (Katz *et al.*, 1963), deterioro mental (Pfeiffer *et al.*, 1975), depresión (Sheik y Yesavage, 1986), ansiedad (Golberg *et al.*, 1988) y datos antropométricos. Para efecto del análisis planteado en este trabajo, se analizaron los datos de capacidad funcional (escala de Katz, 3 niveles) y estado mental (escala de Pfeiffer, 4 niveles) y el puntaje MNA. Mediante un di-

seño 3 x 4 se segmentaron a las participantes, de acuerdo con lo expuesto en la **Tabla 1**. Una vez realizado esto, se evaluó la frecuencia de estar en buen estado nutricional en cada grupo, por el cuestionario MNA.

Tabla 1. Diseño observacional 3 x 4.

	Capacidad Funcional Completa (CC)	Incapacidad Funcional Moderada (IM)	Incapacidad Funcional Severa (IS)
Estado Mental Normal (N)	CCN	IMN	ISN
Deterioro Mental Leve (L)	CCL	IML	ISL
Deterioro Mental Moderado (M)	CCM	IMM	ISM
Deterioro Mental Severo (S)	CCS	IMS	ISS

Por último, la frecuencia ponderal con que se podía encontrar una mujer en buen estado nutricional dentro de todo el universo muestral se determinó por la siguiente ecuación: $(\% \text{ mujeres en buen estado nutricional}) \times (\% \text{ grupo en el universo total}) / 100$.

Análisis estadístico

Los datos se almacenaron en el programa Microsoft Excel versión 2003, y se realizó el análisis de frecuencia respectivo a las variables categóricas en estudio (estado nutricional, estado mental y capacidad funcional) y se determinó la media y desviación estándar de las variables continuas. Estos análisis se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS versión 11.5.

RESULTADOS

Selección y características de la muestra

Durante el periodo de agosto a diciembre de 2007, se obtuvo información de 307 adultos mayores de 60 años. Estas personas fueron reclutadas de un asilo de ancianos (asilo San Antonio), por visita en hogares y lugares públicos como supermercados o parques y del padrón del programa *Vive a Plenitud*. Sin embargo, sólo se recolectó información sobre el MNA, la escala Katz y la escala Pfeiffer de 166 mujeres. El 22.9, 32.5 y 44.6% vivían en asilos, con familiares o amigos o pertenecían al programa, respectivamente. La edad promedio fue de 69 ± 9 años, el 50% sabía leer y escribir pero menos del 10% cursó más de 6 años de estudios, el 42% era casada y 35% viuda.

Estado nutricional por nivel de capacidad funcional y mental.

Sólo el 37.3% de las participantes no mostraron signos de malnutrición de acuerdo con su puntaje MNA (Figura 1). La segmentación de esta población por nivel capacidad funcional indicó que sólo la mitad de estas mujeres gozaban de capacidad funcional (51.2%, Figura 2), y mental (59%, Figura 3) completas. Posteriormente, cada uno de los 166 registros fue segmentado por nivel capacidad funcional y mental en un diseño 3 x 4 como se explicó en la sección de metodología. La distribución porcentual de estos casos en el universo total y el porcentaje de mujeres clasificadas con “buen estado nutricional” se muestra en la Figura 4. El 60% de la muestra estuvo distribuida en sólo 3 grupos con capacidad funcional completa o severa y capacidad mental de normal a discapacidad leve (CCN = 34%, ISN = 18% y CCL = 8%). Los grupos que presentaron mujeres con buen estado nutricional superior al 30% fueron CCN e ISN en orden de importancia y el resto presentaba porcentajes por debajo del 10%, no presentándose ningún caso en buen estado nutricional en los grupos CCS, ISL e ISS. La frecuencia ponderal con que se

pudo encontrar una mujer en buen estado nutricional en todo el universo muestral se presenta en la Figura 5. De este gráfico se observa que la capacidad mental tiene efectos aditivos sobre los niveles de incapacidad funcional, a juzgar por la caída de la curva en cuanto aparecen signos de deterioro mental (con excepción del grupo CCL). Sin embargo, la gravedad con que la mujer padece incapacidad mental tiene su propio impacto negativo (Figura 4).

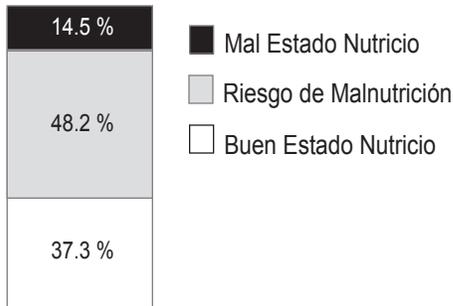


Figura 1. Evaluación del Estado Nutricio (MNA).

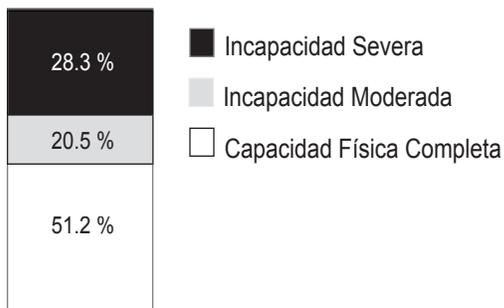


Figura 2. Capacidad Funcional (Escala Katz).

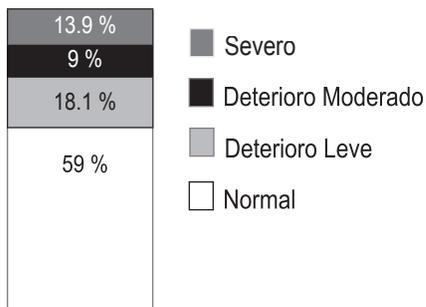


Figura 3. Capacidad Mental (Escala Pfeiffer).

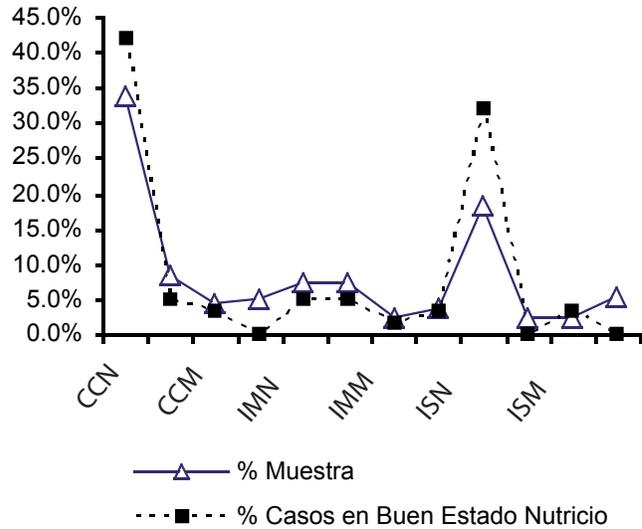


Figura 4. Capacidad Funcional y Mental: Frecuencia grupal y por "Buen Estado Nutricio".

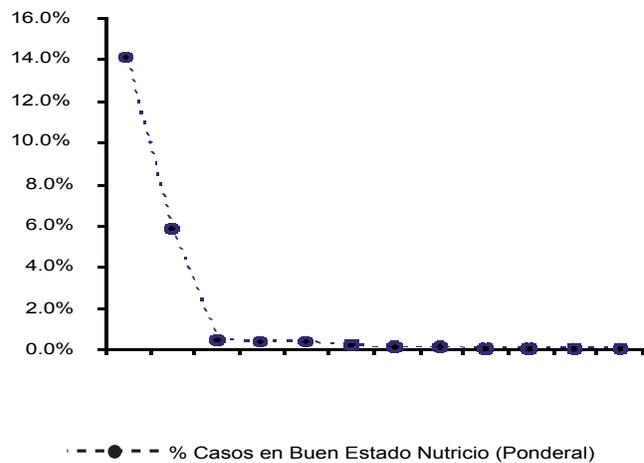


Figura 5. Capacidad Funcional y Mental y estado nutricional. Frecuencia ponderal.

DISCUSIÓN

El que el adulto mayor contemporáneo viva más, es un fenómeno multi-casual con muchos y muy diversos determinantes fisiológicos, psicológicos y sociales (Wong *et al.*, 2007). Con la edad avanzada se produce un declive en las funciones sensoriales

y cognitivas que no se dan por igual en todos los individuos de una determinada edad (Podrabsky, 1997). De hecho, existen muchas diferencias individuales que hacen que unos individuos envejezcan bien tanto funcional como mentalmente, mientras otros presentan un envejecimiento prematuro con un rápido declive de sus funciones funcionales y mentales. Estos cambios pueden ser atribuidos al desarrollo, a defectos genéticos, al medio ambiente, a la enfermedad y a la nutrición. Los cambios deletéreos producidos a nivel celular y tisular que dañan progresivamente la función de los órganos y sistemas del cuerpo y eventualmente llevan a la muerte (Pannemans *et al.*, 1995; Shephard, 1986).

Una de las consecuencias más importantes de la transición epidemiológica es el creciente aumento de adultos mayores en situación de dependencia funcional, hecho que no sólo impacta a los servicios de asistencia públicos y privados (Wong y Díaz, 2007) sino a la percepción de la salud y estado emocional del propio anciano (Barrantes-Monge *et al.*, 2007). Al respecto, entre el 2001 y el 2003 se realizó el Estudio Nacional de Salud y Envejecimiento en México (ENASEM) mismo que se constituyó como la referencia informativa por excelencia sobre las condiciones de vida de los 14 millones de personas mayores de 50 años a nivel nacional en ese año (Wong *et al.*, 2007). En esta encuesta se encontró que el 24.5 (25.1 hombres y 23.8 mujeres) de la población ≥ 60 años tenía al menos un problema de funcionalidad para realizar actividades de la vida diaria (AVD), incluyendo las instrumentales (AIVD), como preparar comida, hacer compras, caminar o comer. Estudios más detallados derivados de la ENASEM sobre los factores comorbidos relacionados a los problemas de funcionalidad para realizar AVD (Mejía-Arango *et al.*, 2007; Dorantes-Mendoza *et al.*, 2007) indican que la probabilidad de disfunción es mayor en mujeres, al avanzar la edad, a una baja escolaridad, al ser divorciado o no tener pareja y a una peor autopercepción de la salud. Además, las prevalencias de desnutrición-bajo peso y sobrepeso-obesidad derivadas de la ENASEM fueron de 38.2 (30.7 en hombres y 45.8

mujeres) y 36% (35.8 hombres y 36.2 mujeres), respectivamente. Por éstos y otros factores, 1 de cada 3 adultos mayores envejece en una forma menos activa y más patológica a nivel nacional (González y Ham-Chande, 2007).

En este estudio se encontró que el 49% de las mujeres participantes (casadas o viudas no institucionalizadas y con baja escolaridad en su mayoría) sufría de incapacidad funcional, el 63% tenía riesgo de malnutrición o estaba mal nutrida y el 41% sufría de alguna forma de deterioro mental. García *et al.* (2008) en un muestreo en la región sur y norte de Tamaulipas reportaron que de 2296 adultos mayores de 60 años entrevistados la mayor parte eran viudas en alto riesgo nutricional y dependencia funcional que ante la ausencia de un cuidador tenían menor probabilidad de acceder a los servicios de salud. En 30 mujeres que vivían en asilos de la ciudad de Chihuahua, Ornelas *et al.* (2008) encontraron que el 100 y 70% de ellas presentaban alguna forma de incapacidad para las AVD o algún grado de deterioro mental, siendo el deterioro mental más importante en varones de la misma edad. Estos argumentos parecen indicar que la población de adultos mayores de la frontera norte de México, sufren los impactos de la transición epidemiológica en mayor escala que los del resto del país, a juzgar por las tasas de deterioro nutricional, funcional y mental.

La interacción entre la capacidad física, la mental y el estado nutricional en adultos mayores ha sido tema de estudio en varias investigaciones. En el ENASEM, la incapacidad funcional se asoció a un IMC menor y mayor deterioro cognitivo en comparación al adulto promedio con capacidad física completa (Dorantes-Mendoza *et al.*, 2007). En la submuestra mexicana de la encuesta SABE se encontró que una prevalencia de riesgo de desnutrición del 31% y la presencia de ésta se asoció a los siguientes factores: baja escolaridad, no recibir pensión, escasos recursos económicos, mala salud bucal, mayor deterioro cognoscitivo y menos caídas e incapacidad para realizar AVD (Franco-Álvarez *et al.*, 2007). Mejía-Arango *et al.* (2007) encontraron en 2000 mujeres mexicanas analizadas una preva-

lencia de deterioro cognoscitivo y deterioro cognoscitivo + dependencia funcional de 7.7 y 5.5%; ellos también reportaron que la dependencia funcional representa un factor aditivo que duplica el riesgo de co-morbilidad para varias enfermedades crónicas como hipertensión arterial, diabetes y cáncer y que magnifica 4 y 11 veces más el riesgo de enfermedad pulmonar y cerebral.

En este estudio, la segregación por grupos de acuerdo al estado funcional y mental de las participantes permitió evidenciar su influencia individual y concomitante en el estado nutricional de ellas. Los hallazgos indican que la probabilidad de encontrar una mujer en buen estado nutricional en toda la muestra es de un 50% cuando la capacidad mental es completa mientras que esta probabilidad es de un 14% cuando la capacidad funcional es completa. Sin embargo, la interrelación discapacidad funcional-deterioro mental-estado nutricional es mucho más compleja que las simples relaciones estadísticas causa-efecto como la que aquí se reporta por lo que resulta necesario continuar explorando este fenómeno en poblaciones más grandes.

CONCLUSIÓN

Según se desprende de este estudio, la incapacidad funcional y en mayor grado la mental son factores de riesgo de malnutrición en adultas mayores de la región. Esta vulnerabilidad fisiológica se acentúa por las condiciones sociodemográficas y psicológicas que viven las ancianas fronterizas, cuyo desgaste físico y emocional es común al de ancianas institucionalizadas de otras partes como Polonia (Wojszel, 2006), España (Ruiz-López *et al.*, 2003), mexicanas del sur (Franco-Álvarez *et al.*, 2007) y del norte (Ornelas *et al.*, 2008; García *et al.*, 2008). Por lo anterior, resulta indispensable el diseño de estrategias de intervención que ayuden a retardar el deterioro funcional de este segmento de la población femenina, con el fin de que el deterioro no se sume al mental, desacelerando con esto sus estragos en el estado nutricional.

REFERENCIAS

- Barrantes-Monge, M., E.J. García-Mayo, L.M. Gutiérrez-Robledo, A. Miguel-Jaimes (2007). "Dependencia funcional y enfermedades crónicas en ancianos Mexicanos". *Salud Pública Mex.*, 49(4), S459-S466.
- Dorantes-Mendoza, G., J.A. Ávila-Funes, S. Mejía-Arango, L. Gutiérrez-Robledo (2007). "Factores asociados con la dependencia funcional en los adultos mayores: un análisis secundario del estudio nacional sobre salud y envejecimiento en México", 2001. *Rev. Panam. Salud Pública*, 22(1), 1-11.
- Chumlea, W.C., A.F. Roche, D. Mukherjee (1987). *Nutritional assessment of the elderly through anthropometry*. Columbus, OH: Ross Laboratories.
- Franco-Álvarez, N., J.A. Ávila-Funes, L. Ruiz-Arreguá, L.M. Gutiérrez-Robledo (2007). "Determinants of malnutrition risk among the older adult community: a secondary analysis of the Health, Wellbeing, and Aging Study (SABE) in México". *Rev. Panam. Salud Púb.*, 22(6), 369-375.
- García, V.I.A., E.A. Reyes, C.B.G. Yáñez, B.V. Guajardo, A.M.J. de Valle (2008). "Equidad y patrones en el uso de servicios de salud por parte del adulto mayor en el estado de Tamaulipas". *Memoria in extenso de la LXVI reunión anual de la asociación Fronteriza Mexicano-Estadounidense de Salud (AFMES)*. Hermosillo, Son. 7 a 9 de mayo de 2008.
- Goldberg, D., K. Bridges, P. Duncan-Jones, D. Grayson (1988). "Detecting anxiety and depression in general medical settings". *BMJ*. 297(6653), 897-899
- González, C.A., R. Ham-Chande (2007). "Funcionalidad y salud: una tipología del envejecimiento en México". *Salud Pública Méx.* 49(4), S448-S458.
- Guigoz, Y., B.J. Vellas, P.J. Garry (1996). "Assess-

- ing the nutritional status of the elderly. The Mini Nutritional Assessment as part of the geriatric evaluation". *Nutr. Rev.*; 54, 59-65.
- Izaola, O., L. Román, D.A. de Cabezas *et al.* (2005). "Mini Nutritional Assessment (MNA) como método de evaluación nutricional en pacientes hospitalizados". *An. Med. Interna* (Madrid), 22(7), 313-316.
- Katz, S., A.B. Ford, R.W. Moskowitz, B.A. Jackson, M.W. Jafee (1963). "Studies of illness in the aged. The index of ADL. A standardized measure of biological and psychosocial function". *J. Am. Med. Assoc.*, 185, 914-919.
- Kington, R., L. Lilliard, J. Rogowski (1997). "Reproductive History, Socioeconomic Status and Self-Reported Health Status of Women Aged 50 Years or Older". *Am. J. Public Health*, 87(1), 33-37.
- Mejía-Arango, S., A. Miguel-Jaimes, A. Villa, L. Ruiz-Arregui, L.M. Gutiérrez-Robledo (2007). "Deterioro Cognoscitivo y factores asociados en adultos mayores en México". *Salud Pública Méx.*, 49(4), S475-S481.
- Mendoza-Romo, M.A., M.C. Ramírez-Arriola (2007). "Confiabilidad del cuestionario de Albrand modificado para el diagnóstico de osteoporosis". *Rev. Med. Inst. Méx. Seguro Soc.*, 45(4), 329-334.
- Ortiz, H.D. (2003). "Aspectos Sociales del Envejecimiento. Antología: Salud del Anciano", Departamento de Salud Pública-Enseñanza, Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de México, Consultado en línea el 25 de mayo del 2008, http://www.facmed.unam.mx/deptos/salud/aspectos.htm#_edn5
- Ornelas, C.M., V.H. Blanco, P.J. Peinado, F.F. Mondaca, V.J.M. Rodríguez, V.R. Blanco, B.F. Muñoz, G.A. Chávez (2008). "Diagnóstico situacional del adulto mayor en estancias de residencia permanente de Chihuahua". *Memoria in extenso de la LXVI reunión anual de la asociación Fronteriza Mexicano-Estadounidense de Salud* (AFMES). Hermosillo, Son. 7 a 9 de mayo de 2008.
- Pannemans, D.L.E., D. Halliday, K.R. Westerterp. (1995). "Energy expenditure, physical activity and basal metabolic rate of elderly subjects". *Brit. J. Nutr.*, 73(4), 571-581.
- Partida, B.V. (2004). "La transición demográfica y el proceso de envejecimiento en México". Página web de la (Conapo): <http://www.conapo.gob.mx/publicaciones/2004/sdm23.pdf>, revisado en octubre de 2007.
- . (2006). "Situación Demográfica Nacional y Estatal". Página web de la (Conapo): http://www.conapo.gob.mx/publicaciones/sdm2006/sdm06_01.pdf, revisado en octubre de 2007.
- Pfeiffer, E. (1975). "A short portable mental status questionnaire for the assessment of organic brain deficit in elderly patients". *J. Am. Geriatric Soc.*, 23, 433-441.
- Podrasky, M. (1995). "Nutrición en el envejecimiento". En: Krause (ed.). *Nutrición y Dietoterapia*. Edit. Interamericana-McGraw Hill, 247-262.
- Ruiz-Arregui, L., L. Castillo-Martinez, A. Orea-Tejeda, S. Mejía-Arango, A. Miguel-Jaimes (2007). "Prevalence of self-reported overweight-obesity and its association with socioeconomic and health factors among older Mexican adults". *Salud Pública Méx.*, 49(4), S482-S487.
- Ruiz-López, M.D., R. Artacho, P. Oliva, R. Moreno-Torres, J. Bolaños, C. de Teresa, M.C. López. (2003). "Nutritional risk in institutionalized older women determined by the Mini Nutritional Assessment test: what are the main factors?". *Nutrition*, 19(9), 767-771.
- Salgado-de Snyder, V.N., R. Wong (2007). "Género y pobreza: determinantes de la salud en la vejez". *Salud Pública Méx.*, 49(4), S515-S521.
- Sheikh, J.I., J.A. Yesavage (1986). "Geriatric

- Depression Scale (GDS): Recent evidence and development of a shorter version". In: Brink TL (Ed.): *Clinical Gerontology: A Guide to Assessment and Intervention*. New York. The Haworth Press. 165-173.
- Shephard, J. (1986). "Nutrition and the physiology of aging". In: Young EA (Ed.). *Nutrition, Aging and Health*. New York. Alan R. Liss Inc. 115-120.
- SPSS Inc, authors. SPSS (11.5) for Windows. Chicago, Illinois: SPSS; <http://www.spss.com/spss>.
- Velásquez-Monroy, O., M. Rosas-Peralta, A. Lara-Esqueda, G. Pastelón-Hernández, Grupo ENSA2000 *et al.* (2002). "Hipertensión arterial en México: resultados de la Encuesta Nacional de Salud". *Cardiol. Mex.* , 72, 71-84.
- Wilson, M.M.G., D.R. Thomas, L.Z. Rubenstein, J.T. Chibnall, S. Anderson, A. Baxi, M.R. Diebold, J.E. Morley (2005). "Appetite assessment: simple appetite questionnaire predicts weight loss in community-dwelling adults and nursing home residents". *Am. J. Clin. Nutr.*, 82, 1074-1081.
- Woszel, Z.B. (2006). "Determinants of nutritional status of older people in long-term care settings on the example of the nursing home in Bialystok". *Adv. Med. Sci.*, 51, 168-173.
- Wong, R., M. Peláez, A. Palloni, K. Markides (2006). "Survey data for the study of aging in Latin America and the Caribbean: Selected studies". *J. Aging Health*, 18, 157.
- Wong, R., J.J. Díaz (2007). "Health care utilization among older Mexicans: health and Socioeconomic Inequalities". *Salud Pública Méx.*, 49(4), S505-S514.
- Wong, R., M. Espinoza, A. Palloni (2007). "Adultos mayores mexicanos en contexto socioeconómico amplio: salud y envejecimiento". *Salud Pública Méx.*, 49(4), S436-S447.

Licopeno y otros antioxidantes del tomate. Papel en la prevención de enfermedades cardiovasculares

Periago Castón, MJ*; García-Alonso, J*; Jacob, K*; Jorge Vidal, V*; García Valverde, V*; Ros Berruezo, G.*

El tomate y sus productos derivados constituyen una fuente dietética importante de licopeno, compuestos fenólicos, vitamina C y folatos. Todos estos componentes tienen diversos efectos fisiológicos beneficiosos para la salud, y concretamente para la prevención de las enfermedades cardiovasculares (ECV). El presente trabajo realiza una visión sobre el papel del licopeno y otros antioxidantes del tomate en la prevención de las ECV, mostrando las evidencias científicas que sustentan esta hipótesis.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha incrementado el interés por parte de las industrias alimentarias y los consumidores por el concepto de alimento funcional. El tomate y algunos productos derivados del tomate pueden ser considerados como alimentos funcionales, por el beneficio para la salud derivado de su consumo, asociado al alto contenido en licopeno y otros antioxidantes. El tomate es la segunda hortaliza más consumida en el mundo después de la patata, y constituye un ingrediente fundamental de la dieta mediterránea, al consumirse en fresco y formar parte

de una extensa variedad de platos, salsas y bebidas. Existen evidencias científicas que correlacionan la dieta mediterránea con menores tasas de cáncer, ECV y otras enfermedades crónicas, debido al mayor consumo de frutas y hortalizas, incluidos los tomates (La Vecchia, 1997), y éstos parecen jugar un papel importante en la prevención (Wilcox *et al.*, 2003).

Los tomates contienen diferentes compuestos (carotenoides, vitaminas C y E, polifenoles), que pueden ser los responsables de las propiedades antioxidantes (Martínez-Valverde *et al.*, 2002; Ghaleh *et al.*, 2003). Numerosos estudios epidemiológicos sugieren que la capacidad antioxidante plasmática se

* Departamento de tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo, 30071-Murcia, España.
mjperi@um.es

mejora por el consumo de productos del tomate, lo que disminuye el riesgo de desarrollar enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Giovanucci *et al.*, 1995; Porrini y Riso, 2000; Canece-Adams *et al.*, 2005, Jorge-Vidal, 2007, Jacob *et al.*, 2008).

El presente trabajo muestra cómo los principales compuestos bioactivos del tomate pueden actuar en la prevención de las enfermedades cardiovasculares con especial atención al licopeno.

COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL TOMATE

El tomate al ser un alimento de origen vegetal, tiene un bajo contenido en proteínas y grasas, con un escaso valor energético, pero es una buena fuente de minerales, vitaminas y compuestos antioxidantes, lo que hace que el tomate y otros productos derivados, tengan propiedades beneficiosas para la salud. Desde el punto de vista químico, al igual que la mayoría de los vegetales, el tomate es un alimento con un contenido mayoritario en agua (94%) y de escasa riqueza en macronutrientes (4.3% hidratos de carbono; 0.9% de proteínas) (Alonso y Souza-Egipsy, 1998).

Entre los hidratos de carbono disponibles o asimilables (almidón y azúcares libres) destacan glucosa, fructosa y sacarosa. En la fracción de fibra encontramos celulosa, hemicelulosa, lignina y pectinas (Martínez-Valverde *et al.*, 2002). La fracción de pectinas tiene gran incidencia en la rigidez tisular de los vegetales. Así los tomates son más firmes cuanto mayor sea su contenido en pectinas totales y en los minerales asociados a ellas como son el calcio y el magnesio, y cuanto más bajo sea el grado de esterificación de las pectinas, serán menos firmes. El contenido en grasa es muy bajo (0.2%), estando constituido principalmente por triglicéridos, glicolípidos y fosfolípidos (Belitz y Grosch, 1988).

Entre las vitaminas hay que destacar su contenido en vitaminas hidrosolubles, sobre todo vitamina C y vitaminas del grupo B. Las vitaminas liposolubles son escasas, pero es preciso destacar la presencia de provitamina A, en forma de α -caroteno y vitamina E. De los elementos minerales el más des-

tacado en general es el potasio, el cual se encuentra en mayores concentraciones que el sodio (Wilcox *et al.*, 2003). Los productos derivados del tomate, contienen cantidades similares de potasio y folatos comparados con otros vegetales, pero los productos del tomate son una mayor fuente de vitamina C y E (Canene-Adams *et al.*, 2005).

Además de los beneficios de los micronutrientes, los tomates contienen compuestos bioactivos, como los carotenoides y los compuestos fenólicos, que contribuyen a reducir el riesgo de enfermedades comunes en los países desarrollados (Clinton, 1998; Willcox *et al.*, 2003). Entre los carotenoides, destaca el licopeno y β -caroteno que se encuentran en los tomates y en sus productos en elevadas cantidades. Entre los compuestos fenólicos, el contenido de flavonoides en los tomates y sus productos también es elevado, encontrándose más del 98% del total de flavonoides en la piel en la forma conjugada de quercetina y kaemferol (Canene-Adams *et al.*, 2005).

LICOPENO Y OTROS CAROTENOIDES

Los carotenoides son pigmentos naturales sintetizados por plantas y microorganismos, responsables en parte del color de los mismos (Clinton, 1998). La importancia de los carotenoides en nutrición humana se ha centrado principalmente en aquellos que poseen actividad pro-vitamina A, como son α -carotenos y β -carotenos. Sin embargo, en la actualidad otros carotenoides están despertando un interés nutricional como sustancias fitoquímicas. Entre los carotenoides con un efecto potencial para la salud en función de sus propiedades biológicas se encuentra el licopeno, cuya actividad está relacionada con importantes efectos beneficiosos en la salud (Nguyen y Schwartz, 1999).

Hay más de 600 carotenoides en la naturaleza, de los cuales, más de 50 están presentes en los alimentos y consumidos en la dieta a partir de una gran variedad de frutas y verduras. Los más conocidos son el α -caroteno, β -caroteno y licopeno. Desde un punto de vista químico, los carotenoides son una clase de pigmentos terpenoides con 40 átomos de carbono derivados biosintéticamente a partir de

Productos del tomate (mg/100g)					
Carotenoide	Tomate crudo	Ketchup	Zumo de Tomate	Salsa de Tomate	Sopa de Tomate
β -caroteno	0.449	0.56	0.27	0.29	0.075
α -caroteno	0.101	0	0	0	0
Licopeno	2.573	17	9.037	15.152	5.084
Luteína + Zeaxantina	0.123	0	0.06	0	0.001
Fitoeno	1.86	3.39	1.9	2.95	1.72
Fitoflueno	0.82	1.54	0.83	1.27	0.72

Tabla 1. Contenido de carotenoides en los tomates y sus productos (Canene-Adams et al., 2005).

dos unidades de geranio-geranil-pirofosfato, en su mayoría son solubles en solventes apolares y de coloraciones que oscilan entre el amarillo (por ejemplo el β -caroteno) y el rojo (por ejemplo el licopeno). La estructura química de estos compuestos contribuye a su actividad química y funciones biológicas (Britton, 1995).

Entre los carotenos provitamínicos encontramos el α -caroteno, β -caroteno y γ -caroteno. El licopeno, fitoeno y fitoflueno son carotenos no provitamínicos. De las xantofilas provitamínicas destaca la β -criptoxantina y de las no provitamínicas la luteína, zeaxantina, cantaxantina y equinenona. De todos estos carotenoides, β -caroteno, α -caroteno, luteína y licopeno poseen acción antioxidante (Britton, 1995).

De los más de 50 carotenoides presentes en los alimentos, el licopeno se encuentra en un grupo reducido de los mismos. Entre éstos destaca el tomate y los productos elaborados a partir del tomate como principal fuente de licopeno en la dieta. El contenido de carotenoides, y especialmente licopeno, en los tomates varía en función de muchos factores como son la variedad, condiciones agronómicas, estado de madurez, procesado etc... (Periago et al., 2001; Martínez-Valverde et al., 2002; Periago et al., 2008). La Tabla 1 recoge las variaciones en el contenido de licopeno y otros carotenoides de diferentes productos procesados de tomate.

El tomate constituye la principal fuente dietética de licopeno y puede presentarse como un isómero *cis* o un isómero *trans*, aunque su forma natural en

el reino vegetal, salvo en raras excepciones, es la configuración *trans*. La nomenclatura utilizada para designar el contenido total de licopeno presente en los vegetales es *all-trans* licopeno, siendo ésta la forma mayoritaria del licopeno presente en los tomates y productos basados en tomate (Nguyen y Schwart, 1999). Al igual que otros carotenoides, los factores físicos y químicos afectan también al licopeno, produciendo reacciones de oxidación o isomerización. Entre estos factores tenemos las temperaturas elevadas, la exposición a la luz y al oxígeno, valores de pH extremos y superficies activas (Scita, 1992).

Los productos procesados del tomate presentan una mayor proporción de licopeno como consecuencia de la reducción del contenido de agua asociada a los procesos de concentración, deshidratación y calentamiento aplicados durante el procesado industrial (Tonucci et al., 1995; Nguyen y Scharzt, 1999). Incluso algunos autores han observado una mayor biodisponibilidad del licopeno en los productos procesados (Gärdner et al., 1997). Este efecto se debe principalmente a que el procesado industrial, triturado y homogeneización, favorece la ruptura de la estructura celular y aumenta la disponibilidad del licopeno (Van Het Hof et al., 2000). Además el procesado térmico de los productos alimenticios ricos en licopeno parece favorecer su isomerización a su forma *cis*, aumentando de este modo la biodisponibilidad, al ser la forma química mejor absorbida por el organismo (Gärdner et al., 1997). También la presencia de grasas y aceites en la dieta facilita

la disolución de los productos ricos en licopeno, al formar micelas que estimulan las sales biliares y la lipasa pancreática y mejoran la absorción. Algunos estudios demuestran que la biodisponibilidad del licopeno mejora ante distintos tipos de grasa absorbibles, resultando ser mayor ante la presencia de aceite de oliva que en presencia de otros aceites vegetales (Clark *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2004).

El estudio de las implicaciones del licopeno para la salud ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años como consecuencia del descubrimiento de Di Mascio *et al.* (1989) acerca de la gran capacidad del licopeno para actuar como agente antioxidante, al secuestrar eficientemente las formas reactivas del oxígeno. Este efecto, asociado al hecho de que el tomate y sus productos procesados son la principal fuente de licopeno en la dieta, ha determinado que se recomiende el consumo de tomate en cualquiera de sus formas, y que sea considerado como un alimento saludable (Nguyen y Schwart, 1999). Diferentes estudios han puesto de manifiesto que el licopeno parece jugar un papel importante tanto en la prevención de la carcinogénesis como en el bloqueo biomolecular de la aterogénesis (Biesalski y Obermueller-Jevic, 2001).

Así, el efecto antioxidante del licopeno es potencialmente beneficioso en la prevención de ECV disminuyendo el riesgo de desarrollar la enfermedad al reducir las reacciones de inflamación, inhibir la síntesis de colesterol y mejorar la función inmunológica y endotelial (Van Het Hof *et al.*, 2000; Canene-Adams *et al.*, 2005). Existen pruebas científicas que indican que la oxidación de las LDL juega un papel esencial en la etiopatogenia de la aterosclerosis, que a su vez es el desencadenante principal de los episodios de infarto e isquemia de miocardio (Urritchard, 2000). Los antioxidantes pueden disminuir y enlentecer los procesos de aterosclerosis debido a la habilidad que tienen de inhibir los daños oxidativos que se generan en la pared vascular. Por otro lado, al estudiar la capacidad del licopeno de modular el metabolismo del colesterol en cultivos celulares, se ha observado una disminución de la síntesis del colesterol, con un incremento en la actividad del receptor para la fracción LDL de los

macrófagos encargados de acelerar el aclaramiento desde el plasma de este tipo de colesterol (Fuhrmann *et al.*, 1997). Paralelamente en un pequeño ensayo clínico en el que se probó el efecto de intensificar la ingesta de licopeno mediante zumo y salsa de tomate durante una semana, se observó una disminución de los niveles plasmáticos de la fracción LDL y de los marcadores de daño oxidativo de lipoproteínas y ADN, lo que viene a corroborar los resultados obtenidos *in vitro* (Agarwal y Rao, 1998). También se han observado una disminución de biomarcadores relacionados con ECV tras el consumo de zumo de tomate, especialmente la proteína C reactiva, homocisteína y factores de función endotelial (VCAM-1 e ICAM-1) (Jorge-Vidal, 2007; Jacob *et al.*, 2008).

COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad, englobando más de 8000 compuestos distintos. Los compuestos fenólicos poseen una estructura química ideal para captar iones metálicos (principalmente hierro y cobre) y por tanto para inhibir la formación de radicales libres (Hollman *et al.*, 1996; Clifford, 2000) interviniendo como antioxidantes naturales de los alimentos, por lo que la obtención y la preparación de alimentos con un alto contenido en estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, a la vez que se obtienen alimentos más saludables, que incluso pueden llegar a englobarse dentro de los alimentos funcionales (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

Entre los compuestos fenólicos con una reconocida actividad antioxidante destacan los flavonoides, los ácidos fenólicos (principalmente hidroxicinámicos, hidroxibenzódicos, caféico, clorogénico), taninos (elligataninos), calconas y cumarinas (Martínez-Valverde *et al.*, 2002), los cuales constituyen la fracción polifenólica de una gran diversidad de alimentos. En relación con los compuestos fenólicos los tomates destacan por ser vegetales con un contenido medio en flavonoides (<50 mg/Kg; Hol-

Iman *et al.*, 1996), destacando como mayoritarios la quercetina y naringenina. Entre los ácidos hidroxicinámicos el mayor contenido corresponde al ácido clorogénico (Martínez-Valverde *et al.*, 2002) y constituyen la mayor fuente dietética de glucósidos de ácidos cinámicos, pudiendo llegar hasta 130 mg/Kg (Clifford, 2000). Hay que destacar también, el aporte de calcona naringenina que aparece en grandes cantidades en la piel del tomate 64 mg/Kg (Tomás-Barberán y Clifford, 2000). Estudios realizados por Crozier *et al.*, (1997) en tomate mostraron una amplia variedad de resultados dependiendo de la variedad de tomate y de la época del año. En cuanto a los ácidos hidroxicinámicos el clorogénico es el mayoritario encontrándose en grandes cantidades en los frutos en desarrollo y disminuyendo al final del crecimiento y conforme se inicia la maduración del fruto (George *et al.*, 2004).

La capacidad antioxidante descrita para distintos polifenoles se puede considerar como la actividad biológica responsable del efecto preventivo que se les atribuye sobre determinadas enfermedades frecuentes en los países desarrollados como son las ECV. Diferentes estudios epidemiológicos sugieren que altos niveles de polifenoles presentes en frutas y vegetales, están asociados con un bajo riesgo de ECV. El mecanismo no está claro, pero se sugiere que los flavonoides mejoran la función endotelial e inhiben la agregación plaquetaria en humanos. El endotelio vascular es fundamental para regular la homeostasis vascular, y la disfunción endotelial contribuye a la patogénesis y expresión clínica de las ECV. La agregación plaquetaria es el mecanismo central en la patogénesis de los síndromes coronarios agudos, incluidos el infarto de miocardio y la angina inestable. Por esta razón, el efecto observado de los flavonoides sobre el endotelio y la función plaquetaria puede explicar, en parte, el efecto beneficioso observado de los flavonoides sobre el riesgo de ECV (Vita, 2005).

FOLATOS

Se denominan folatos o vitamina B₉ a los derivados reducidos, biológicamente activos, del ácido pteroil-

glutámico y que se encuentran de forma natural en los alimentos. Los folatos son sintetizados solamente por las bacterias y las plantas, por lo que el ser humano requiere de la dieta para cubrir sus necesidades diarias de la vitamina.

Los folatos están presentes en una gran variedad de alimentos, especialmente en las verduras de hoja ancha (espinacas, brócoli, coles de Bruselas), hígado, frutas (naranjas), cereales, legumbres, levaduras y frutos secos (Ros *et al.*, 2002). En particular, las hojas de las verduras, y como referencia las de la espinaca, son una fuente excelente de ácido fólico. Las diferentes formas de folatos difieren en su susceptibilidad a pérdidas durante su almacenamiento, procesado y cocinado (Scoot *et al.*, 2000); estos factores influyen de manera muy importante en la biodisponibilidad de los folatos de la dieta y, como consecuencia, en sus funciones preventivas en la salud humana. De hecho, los folatos en los alimentos, por lo general se encuentran en forma poliglutámica, y es necesaria su transformación a formas monoglutámicas para la utilización de éstos por el organismo.

Por lo que se refiere a las formas predominantes de los folatos, en todos los alimentos vegetales encontramos principalmente la forma metilada del tetrahydrofolato (el 5-metiltetrahydrofolato, 5-MTHF) y en menor cantidad el tetrahydrofolato (THF), mientras que la forma formilada (5-formiltetrahydrofolato, 5-FTHF) se detecta en cantidades traza (Scoot *et al.*, 2000). El contenido de folatos en tomates frescos se debe a la presencia del 5-metil-tetrahydrofolato, observando diferencias en el contenido de acuerdo a la variedad y al grado de madurez. Así se puede observar un claro descenso en el contenido de folatos con el mayor desarrollo del grado de madurez (Periago *et al.*, 2008).

Los folatos participan en cinco funciones esenciales para el mantenimiento del estado de salud (Ros *et al.*, 2002) como son la resolución de la anemia megaloblástica, prevención de los defectos del cierre neuronal y prevención de ECV, procesos carcinogénicos y síndrome de Down.

El mecanismo primario propuesto del efecto del ácido fólico sobre la ECV es la reducción en

plasma de la concentración de homocisteína por la remetilación de la homocisteína que da lugar a la metionina. Hay evidencias crecientes de que el ácido fólico puede tener efectos beneficiosos sobre el endotelio vascular por reducir la concentración de homocisteína en plasma (Brown y Hu, 2001). Numerosos estudios han mostrado que la administración aguda de ácido fólico mejora la función endotelial sin ningún efecto sobre la concentración de homocisteína. El ácido fólico tiene propiedades antioxidantes y efectos directos como captador de radicales libres *in vitro* y puede mejorar directamente la producción de óxido nítrico por aumentar la actividad enzimática de la óxido nítrico sintasa (Brown y Hu, 2001). No se sabe muy bien cómo la homocisteína promueve la disfunción endotelial, además de producir daño endotelial y disminuir la producción y disponibilidad de óxido nítrico, parece ser que la generación de especies reactivas de oxígeno es un mecanismo importante por el cual la homocisteína produce daño endotelial (Doshi *et al.*, 2001). Diversos estudios experimentales sugieren que la homocisteína promueve la modificación oxidativa de las LDL, lo cual promueve la aterogénesis (Usui *et al.*, 1999; Villa *et al.*, 2005).

Doshi *et al* (2001), demostraron que la exposición de cultivos de células endoteliales con homocisteína ($\geq 30 \mu\text{mol/L}$), estimula la generación intracelular de superóxido. El estudio *in vitro* también demostró que el 5-MTHF puede reducir los niveles intracelulares de superóxido, lo cual explicaría la mejora en la dilatación arterial del estudio en humanos llevado a cabo por los mismos investigadores. Existen varios mecanismos que pueden explicar esto, el 5-MTHF además de reducir los niveles de homocisteína, secuestra radicales superóxido y/o reduce la formación de éstos. Otro estudio *in vitro*, ha demostrado que el 5-MTHF secuestra radicales superóxido, incrementa la producción de óxido nítrico por la óxido nítrico sintasa, y también reduce la formación de radicales superóxido (Stroes *et al.*, 2000).

ESTRÉS OXIDATIVO Y LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

El consumo de frutas y verduras (ricas en antioxidantes) está asociado con una disminución del riesgo de estas enfermedades. Recientes recomendaciones muestran que cinco raciones de fruta y verdura al día reducen el riesgo de enfermedades crónicas y posiblemente retrasa el comienzo de enfermedades relacionadas con la edad (Sánchez Moreno *et al.*, 2004).

También se ha estudiado el estrés oxidativo en pacientes diabéticos. Diversos estudios apoyan la hipótesis general de que en pacientes con diabetes mellitus tipo I y II, el exceso de radicales libres de oxígeno generados durante la glicosilación no enzimática de proteínas puede conducir a un estrés oxidativo y una disminución en la capacidad antioxidante del suero. Magoala *et al.* (1991), consideran que en los pacientes diabéticos la concentración de ácido úrico está disminuida como consecuencia de una excreción urinaria incrementada en presencia de glicosuria y esta disminución parece ser la causante de la reducción de la capacidad antioxidante total del suero (Romay, 1996).

En los últimos años se han asociado la modificación oxidativa de las LDL con el desarrollo de la aterosclerosis. Los niveles de LDL son uno de los factores de riesgo de la ECV, ya que puede promover la aterogénesis por varias razones. Aproximadamente la mitad de las moléculas de los ácidos grasos en las LDL son poliinsaturados, por tanto susceptible de la oxidación en presencia de radicales libres u otras especies reactivas de oxígeno. Las partículas de LDL modificadas (oxidadas) no se unen a los receptores endógenos de las mismas y, por tanto, no son eliminados de la circulación por este mecanismo. Las LDL oxidadas penetran en el interior de las arterias más fácilmente, son más fácilmente oxidadas, probablemente porque contiene menos protección antioxidante, y son captadas por los receptores *scavenger* de los macrófagos, acelerando la formación de células espumosas. Este hecho lleva

a la formación de la placa de ateroma (Nuttal *et al.*, 1999). Por otro lado, las LDL oxidadas atraen a los monocitos a la pared del vaso por el aumento de la producción de proteína quimiotáctica monocito-1 (MCP-1) y aumento de la expresión de moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1) y moléculas de adhesión celular vascular (VCAM-1). Estudios han demostrado que de todos los carotenoides, el licopeno es el más efectivo en reducir la expresión de moléculas y monocitos de adhesión (Wilcox *et al.*, 2003). Un estudio *in vivo* realizado con mujeres mostró que el consumo de 500 mL de zumo de tomate diario durante 15 días reduce los niveles de ICAM-1 e VCAM-1, así como otros mediadores de inflamación que se liberan durante la formación del ateroma (Jorge-Vidal, 2007).

Las LDL oxidadas también alteran la función endotelial, al inhibir la liberación de óxido nítrico. El óxido nítrico es el principal componente responsable de la vasodilatación arterial, también inhibe la agregación plaquetaria y la expresión de VCAM-1. Todos estos efectos de las LDL oxidadas favorecen la aparición de ECV (Wilcox *et al.*, 2003).

La protección de los carotenoides en las LDL depende del lugar inicial de ataque del radical de oxígeno. Si el ataque ocurre en la interfase lípido/acuosa, los carotenoides más polares como la zeaxantina y luteína podrían ser efectivas. Mientras que, si los radicales son generados en fase lipídica, los carotenoides menos polares como el licopeno y los carotenos podrían ser más importantes. Los carotenoides no polares como α - y β -carotenos, y licopeno son transportados más en las LDL ($\approx 60\%$) que en HDL ($\approx 25\%$) o VLDL ($\approx 15\%$), mientras que los carotenoides más polares son mayoritariamente transportados en HDL y VLDL. Esto influye en la oxidación de las LDL o protección de las mismas (Palace *et al.*, 1999).

Otros antioxidantes presentes en el tomate pueden contribuir junto con el licopeno a prevenir los fenómenos de oxidación de las LDL, desencadenantes de las ECV. Así, la vitamina E que es un antioxidante liposoluble presente en las membranas

celulares y lipoproteínas a las que protege de la modificación oxidativa. Estudios *in vitro* han demostrado que la oxidación de las LDL no ocurre hasta que la vitamina E endógena haya sido oxidada. La suplementación de las LDL con vitamina E, *in vivo* e *in vitro*, ha mostrado un incremento de la resistencia a la oxidación. El mayor antioxidante de fase acuosa es la vitamina C, la cual actúa como primera línea de defensa durante el estrés oxidativo. La concentración *in vivo* es únicamente dependiente de los niveles de la dieta, pero una vez es oxidado puede ser reducido intracelularmente a su forma antioxidante por la glutatión. La vitamina C también es importante para mantener los niveles de la vitamina E antioxidante, por reducir el radical vitamina E (forma oxidada de la vitamina E). Estos antioxidantes con capacidad de secuestrar radicales libres, son importantes no sólo porque ellos reaccionen con radicales libres directamente, sino también porque entre ellos actúan sinérgicamente (Nuttal *et al.*, 1999). El consumo de zumo de tomate enriquecido con vitamina C reduce significativamente los niveles de proteína C reactiva, por lo que puede realizar una función sinérgica en la protección de la enfermedad cardiovascular (Jacob *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES

En conclusión, podemos considerar que los tomates aportan a la dieta una amplia variedad de compuestos bioactivos antioxidantes. Dado que todos ellos pueden actuar de forma sinérgica sería recomendable optimizar el contenido en los tomates frescos y en sus productos procesados para conseguir una buena ingesta de licopeno y otros antioxidantes (compuestos fenólicos, caroteno y vitamina C) así como de folatos. Considerando que los productos procesados del tomate muestran un mayor contenido de estos compuestos así como una mayor biodisponibilidad, los productores deben de evaluar los sistemas de producción con el objetivo de alcanzar un buen contenido en los productos finales, sobre todo de licopeno, preservando su biodisponibilidad.

AGRADECIMIENTOS

Estos estudios se han realizado gracias a los proyectos financiados por el VI Programa Marco de la Unión Europea LYCOCARD (Project nº 016213), por el Ministerio de Educación y Ciencia de España (CGL2006-26965-E/ALI) y por la Agencia Regional de Investigación de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia “Fundación Séneca” (05774/PI/07). También queremos agradecer el financiamiento y la ayuda de la empresa Juver Alimentación S.L.U. y Zumos Hesperia Filab S.L.U. (Murcia, España).

REFERENCIAS

- Alonso, F.J. y V. Souza-Egipsy (1998). “Guía completa de hortalizas y verduras”. *La huerta bella*. Madrid: Editorial Agata.
- Argarwal, S. y A.V. Rao (1998). “Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study”. *Lipids* 33 (10): 981-984.
- Belitz, H.D. y W. Grosch (1988). *Química de los alimentos*. Zaragoza, España: Ed. Acribia (2ª ed.).
- Biesalski, H.K. y U.C. Obermueller_Jevic (2001). “UV light, β -carotene and human skin beneficial and potentially harmful effects”. *Arch. Biochem. Biophys.* 389: 1-6.
- Britton, G. (1995). *Structure and properties of carotenoids in relation to function*. FASEB J. 9 (15): 1551-1558.
- Brown, A. y F.B. Hu (2001). “Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease”. *Am. J. Clin. Nutr.* 73: 673-686.
- Canene-Adams, K., J.K. Campbell, S. Zaripheh, E.H. Jeffery y H.W. Erdman Jr. (2005). “The tomato as a functional food”. *J. Nutr.* 135: 1226-1230.
- Clark, R.M., L. Yao, L. She y H.C. Furr (2000). “A comparison of lycopene and staxanthin absorption olive oil emulsions”. *Lipids* 35 (7): 803-806.
- Clifford, M. N. (2000). “Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism”. *J. Sci. Food. Agric.* 80: 1033.-1042.
- Clinton, S.K. (1998). “Lycopene: Chemistry, biology and implications for human health and disease”. *Nutr. Rev.* 56: 35-51.
- DiMascio, P., S. Kaiser y H. Sies (1989). “Lycopene as the most effective biological carotenoid singlet oxygen quencher”. *Arch. Biochem. Biophys.* 274: 532-538.
- Doshi, S.N., I.F.W. McDowell, S.T. Moat, D. Lang. “Newcombe, R.G., M.B. Kredan, *et al.* (2001). Folate improves endothelial function in Coronary Artery Disease. An effect mediated by reduction of intracellular superoxide?”. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 21: 1196-1202.
- Fuhrman, B., A. Elis y M. Aviram (1997). “Hypercholesterolemic effect of lycopene and β -carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophage”. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 233: 658-662.
- Gärdner, C., W. Stahl y H. Sies (1997). “Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes”. *Am. J. Clin. Nutr.* 66: 116-122.
- George, B., Ch. Kaur, D.S. Khurdiya y H.C. Kapoor (2004). “Antioxidants in tomato (*Lycopersicon esculentum*) as a function of genotype”. *Food Chemistry.* 84: 45-51.
- Ghalar, S., K. Otto y V. Böhm (2003). “Alterations of Vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products”. *J. Agric. Food. Chem.* 51: 7962-7968.
- Giovanucci, E., A. Ascherio, E.B. Rimm, M.J. Stampfer, G.A. Colditz y W.C. Willet (1995). “Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer”. *J. Natl. Center Inst.* 87: 1767-1776.
- Grolier, P., G. Bertholin, L. Broers, C. Caris-Veyrat, M. Dadomo, G. Di Lucca, Y. Dumas, F. Meddens, L. Sandei y W. Schuch (2001).

- “Composition of tomatoes and tomatoes products in antioxidants”. En: *The white book on antioxidants in tomatoes and tomato products and their health benefits*. Avignon, Francia: R. Bilton, M. Gerber, P. Grolier y C. Leoni (eds.).
- Hollman, P.C.H., M.G.L. Hertog y M.B. Katan (1996). “Analysis and health effects of flavonoids”. *Food Chem.* 57: 43-46.
- Jacob, K., M.J. Periago, V. Böhm y G. Ros (2008). “Influence of lycopene and vitamin C from tomato juice on biomarkers of oxidative stress and inflammation”. *British Journal Nutrition*, 99, 137-146.
- Jorge-Vidal, V. (2007). Efecto de un zumo de tomate enriquecido con ácidos grasos omega-3 sobre biomarcadores de enfermedad cardiovascular. Tesis Doctorales. Universidad de Murcia.
- La Vecchia, C. (1997). “Mediterranean epidemiological evidence on tomatoes and the prevention of digestive cancers”. *Proc. Soc. Exp. Bio. Med.* 218: 125-128.
- Lee, J., N. Koo y B.D. Min (2004). “Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals”. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3: 21-33.
- Magoala, I., G. Tsapas, K. Paletas y K. Mauromatidis (1991). “Insulin dependent diabetes and renal hypouricemia”. *Nephron*. 59: 21-26.
- Martínez-Valverde, I., M.J. Periago, G. Provan. y A. Chesson (2002). “Phenolic compounds, Lycopene and antioxidant activity in comercial varieties of tomato (*lycopersicum esculentum*)”. *J. Sci. Food. Agric.* 82: 323-330.
- Nguyen, M.L. y S.J. Schwartz (1999). “Lycopene: chemical and biological properties”. *Food Technol.* 53: 38-53.
- Nuttall, S.L., M.J. Kendall y U. Martin (1999). “Antioxidant therapy for the prevention of cardiovascular disease”. *Q. J. Med.* 92: 239-244.
- Palace Vince, P., N. Khaper, Quin Quining y PK Singal (1999). “Antioxidant Potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease”. *Free Rad. Biol. Med.* 26 (5/6): 746-761.
- Periago, M.J., I. Martínez-Valverde, G. Ros, C. Martínez, G. Ros y G. López (2001). “Propiedades químicas; biológicas y valor nutritivo del licopeno”. *Anales de Veterinaria*. Murcia. 17: 51-66.
- Periago, M.J., F.J. García-Alonso, K. Jacob, A.B. Olivares, M.J. Bernal, M.D. Iniesta, C. Martínez y G. Ros (2008). “Bioactive compounds, folates and antioxidant properties of tomatoes (*Lycopersicum esculentum*) during vine ripening”. *Internacional Journal of Food Science and Nutrition*. En prensa (Ref. 2007-7197).
- Porrini, M. y P. Riso (2000). “Lymphocyte lycopene concentration and DNA protection from oxidative damage is increased in women after a short period of tomato consumption”. *J. Nutr.* 130: 189-192.
- Romay, C.H. (1996). “Capacidad antioxidante total del suero en la diabetes mellitas”. *Rev. Cubana Invest. Biomed.* 15 (2).
- Ros, G., M.J. Bernal, A.B. Olivares, M.J. Periago y C. Martínez (2002). Funcionalidad de los folatos en la dieta. *Form. Contin. Nutr. Obes.* 5 (5): 223-237.
- Sánchez-Moreno, C., M.P. Cano, B. Ancos, L. Plaza, B. Olmedilla, F. Granado y A. Martín (2004). “Consumption of high-pressurized vegetable soup increases plasma vitamin C and decreases oxidative stress and inflammatory biomarkers in Health humans”. *J. Nutr.* 134: 3021-3025
- Scita, G. (1992). “Stability of β -caroteno under different laboratory conditions”. *Meth. Enzymol.* 213: 175-185.
- Scoot, J., F. Rebeille y J. Fletcher (2000). “Folic acid and folates: the feasibility for nutritional enhancement in plant foods”. *J. Science Food Agric.* 80: 795-824.
- Stroes, E.S., E.E. Van Faassen, M. Yo, P. Martasek, N. Boer, R. Govers, T.J. Rabelinij (2000). “Folic acid reverts dysfunction of endotelial nitric oxide syntasa”. *Circ. Res.* 86: 1129-1134.
- Tomás-Barberán, F.A. y M.N. Clifford (2000).

- “Flavanones, chalcones and dihydrochalcones-nature, occurrence and dietary burden”. *J. Sci. Food. Agric.* 80: 1073-1080.
- Tonucci, L.H., J.M. Holden, G.R. Beecher, F. Khachik, C.S. Davis y G. Mulokozi (1995). “Carotenoid content of thermally processed tomato based food”. *J Agric Food Chem.* 43: 579-586.
- Urritchard, J.E., W.H.F. Sutherland y J. Mann (2000). “Effect of Supplementation with tomato juice, vitamin E, and vitamin C on LDL oxidation and Productos of inflammatory Activity in Type 2 Diabetes”. *Diabetes Care.* 23 (6): 733-738.
- Usui, M., H. Matsuoka, H. Miyazaki, S. Ueba, S. Okuda y T. Imaizumi (1999). “Endothelial dysfunction by acute hyperhomocysteinaemia: restoration by folic acid”. *Clinical Science.* 96: 235-239.
- Van Het Hof, K.H., B.C. de Boer, L.B. Tijburg, B.R. Lucius, I. Zijp, C.E. West, J.G. Hautvast y J.A. Weststrad (2000). “Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed in different ways determined from carotenoid response in the triglyceride-rich lipoprotein fraction of plasma after a single consumption and in plasma after four days of consumption”. *J Nutr.* 130 (5): 1189-1196.
- Villa, P., C. Perri, R. Suriano, F. Cucinelli, S. Paunzi, M. Ranieri, *et al.* (2005). “L-Folic Acid Supplementation in Healthy Postmenopausal Women: Effect on Homocysteine and Glycolipid Metabolism”. *J Clin Endocrinol Metab.* 90: 4622-4629.
- Vita, J.A. (2005). “Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function”. *Am J Clin. Nutr.* 81 (suppl): 292S-297S.
- Wilcox, J.K., G.L. Catignani y S. Lazarus (2003). “Tomatoes and cardiovascular health”. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (43) 1:1-18.

Análisis cinemático de la técnica individual del lanzamiento de jabalina

Campos Granell, J;* Brizuela, G;* Ramón, V.*

INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos fundamentales del proceso de entrenamiento está centrado en la adquisición y dominio de la técnica deportiva. Los deportistas, a través de un largo proceso de entrenamiento, intentan adquirir una técnica de ejecución lo más cercana posible a las condiciones del modelo teórico de referencia de su especialidad. Sin embargo, la reproductividad de estos modelos teóricos es relativa porque a través del entrenamiento, el modelo se adapta a las características personales del deportista (fuerza, características antropométricas, neuromotrices, etcétera) dando lugar a lo que se denomina “estilo” o modelo personal.

El proceso de consolidación del modelo personal es amplio en el tiempo a lo largo del cual el deportista realiza numerosos ajustes en el plano coordinativo que dan como resultado que algunas acciones técnicas se fijen mejor que otras, lo que se traduce en un mayor o menor grado de estabilidad

del patrón de movimiento adquirido. El análisis de la variabilidad, entre e inter sujetos, aporta información relevante acerca de la forma en que los deportistas satisfacen las exigencias situacionales de sus acciones a la vez que indicador de la habilidad en la ejecución. En este sentido, la relación entre estabilidad y variabilidad resulta determinante en el proceso de adquisición de una técnica deportiva porque ayuda a explicar las razones por las que los atletas más habilidosos alcanzan, no sólo niveles superiores de consistencia y estabilidad en la ejecución, sino también de adaptación por su capacidad de realizar ajustes durante la ejecución del gesto. Unos ajustes que son necesarios en la medida que la realización de cualquier tarea está abierta a diferentes soluciones coordinativas (Bernstein, 1967).

Desde el punto de vista dinámico, el patrón de movimiento empleado en el lanzamiento de jabalina es similar al utilizado en otros movimientos de golpeo o de proyección de objetos, descritos como “movimientos por encima del hombro”, (Atwater, 1979; Whiting *et al.*, 1991; Mero *et al.*, 1994). Estos

* Departamento Educación Física y Deportiva de la Universidad de Valencia (España). Jose.Campos@uv.es

movimientos se caracterizan por el hecho de que los segmentos corporales actúan de forma secuencial para conseguir la máxima velocidad del segmento más distal del sistema en los instantes del golpeo o de la proyección del objeto, (Atwater, 1979; Menzel, 1987). Desde esta perspectiva son abundantes los estudios que han descrito la técnica del lanzamiento de jabalina entre los que cabría destacar los realizados por Hay (1993), (Whiting y col. 1991, Best y col. 1993, Mero y col. 1994; y Bartlett y col. 1996), Campos y col. (2004).

En el lanzamiento de jabalina está ampliamente referenciado que la velocidad de proyección de la jabalina es el parámetro que más relación guarda con la distancia de lanzamiento (Ikegami, 1981, Mero, 1994, Menzel, 1987, Morris, Barlett & Fowler 1997). Pero, el valor de la velocidad lineal de la jabalina en el instante del abandono depende de la calidad de la transmisión del impulso del cuerpo a la extremidad superior, y de ésta a la jabalina. Justamente, en los instantes finales del lanzamiento, cuando la jabalina se acelera hacia su liberación, es cuando resulta decisiva la coordinación del movimiento que realiza el miembro superior a partir de las secuencias de aceleración-desaceleración de los segmentos que constituyen la cadena cinemática su-

perior. Como ejemplo, en la figura 1 se representan las trayectorias de la velocidad de los marcadores correspondientes a la cadera, hombro, y codo, así como a la jabalina, en la que se puede comprobar la acción secuencial en el intercambio de velocidad que se produce desde los segmentos proximales a los distales en la fase final del lanzamiento.

Por, otro lado, hay que tener en cuenta también que la obtención de una velocidad máxima de lanzamiento requiere de la acción de sujeción y de frenado que ejerce la pierna adelantada al reducir drásticamente la velocidad horizontal del sistema lanzador-jabalina. Parece demostrado que esta acción es decisiva dado que el 70% de la energía cinética de la jabalina, en los lanzadores de élite se genera, en los últimos 60 ms. previos al instante del despegue (Morris, Bartlett, 1996). En este sentido, el ángulo de flexión de la rodilla de la pierna adelantada constituye un indicador de la capacidad del atleta para transmitir la energía cinética de la parte superior del tronco a la jabalina (Morris, Bartlett, Navarro, 2001).

Por regla general, la descripción de los modelos de ejecución técnica de los lanzadores se realiza a partir del estudio de la técnica de grupos de lanzadores de igual o diferente nivel de rendimiento,

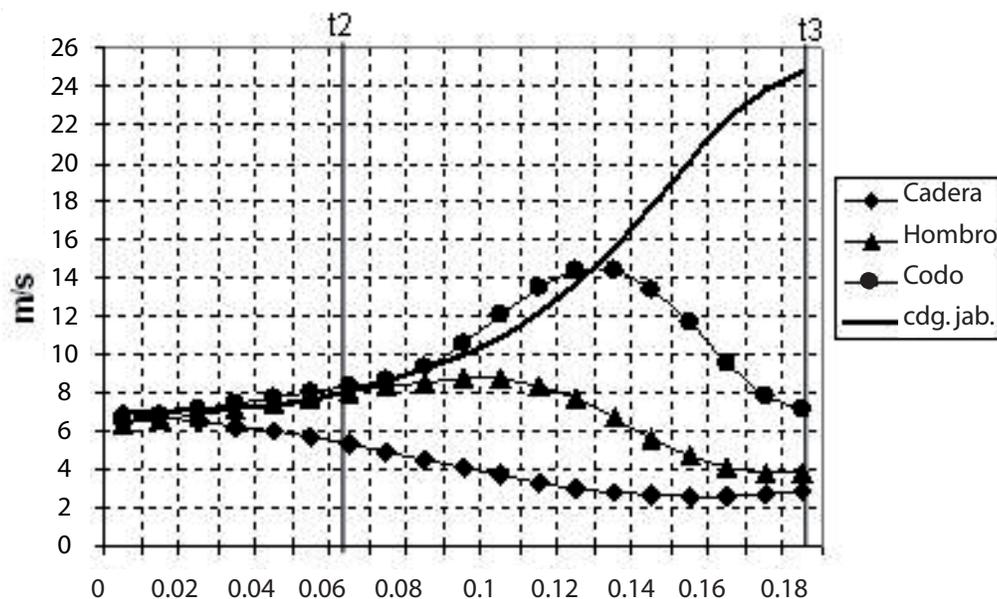


Figura 1. Velocidades de los marcadores de la cadera, hombro, codo y jabalina durante la fase final de lanzamiento en uno de los lanzamientos de la serie utilizada en el presente estudio (63,02 m.).

aunque en los últimos tiempos se aprecia un mayor interés en el estudio de los modelos individuales de los lanzadores, a partir de estudios de caso cuyo objeto es el de profundizar en las razones que justifican la coordinación de las acciones en gestos de alta exigencia. Para reconstruir dichos modelos se debe recurrir a la utilización de técnicas estadísticas multivariantes como es el caso de la regresión múltiple, el análisis discriminante, o análisis factorial. En el caso de la regresión múltiple, se trata de una técnica estadística que ha sido ampliamente utilizada en el estudio de la técnica deportiva (Hay & Reid, 1988; Menzel, 1987; Takey, 1989; Dapena Mc Donald & Cappaert, 1990).

En el lanzamiento de jabalina, H.J. Menzel (1998), estudió las diferencias que se producían en los patrones de movimiento en un estudio intrasujeto a través de técnicas de clustering, llegando a la conclusión de que pueden identificarse diferentes patrones individuales de ejecución, y que el ángulo de flexión de la rodilla de la pierna adelantada es uno de los factores decisivos para la obtención de rendimiento dada su contribución a la reducción de la velocidad del tronco y la obtención de una óptima transmisión de energía a los segmentos superiores. Por otro lado, Barlett *et al.*, (1996) comprobaron que la variabilidad intrasujeto es mayor en lanzadores noveles que en lanzadores experimentados. Por su parte, Navarro y Campos (1995), estudiaron la técnica individual de dos lanzadores de élite españoles mediante la aplicación de análisis discriminante, concluyendo que cada lanzador conseguía sus mejores resultados apoyándose en parámetros cinemáticos diferenciados, y no siempre coincidentes con los que postula el modelo teórico de referencia.

A modo de resumen, las referencias revisadas en la literatura refuerzan la idea de que el modelo de los deportistas es un modelo abierto que a pesar de años de entrenamiento se mueve dentro de unos notables márgenes de variabilidad. Los resultados obtenidos por Shöllhorn y Bauer (1998) refuerzan esta idea alejando la noción de la consistencia en los movimientos intrasujeto.

El objetivo del presente trabajo es el de profundizar en esta perspectiva para tratar de responder a cuestiones prácticas que se plantean en el entrenamiento de los deportistas. Para ello, se analiza el modelo individual de un joven lanzador de jabalina español de categoría junior, utilizando un método de trabajo que permita conocer la estabilidad con la que se ejecuta el gesto y determinar los factores que colaboran más directamente en la obtención del rendimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

El proceso de análisis se ha inspirado en las directrices propuestas por Hay, Wilson & Dapena (1976) para la identificación de los factores limitantes del rendimiento. Por ello, se parte del modelo teórico para el lanzamiento de jabalina propuesto por Morris y Bartlett (1996) que representa los factores que contribuyen a la distancia de lanzamiento (figura 2).

El modelo de referencia establece que los factores predictivos de la distancia de lanzamiento, en su primer nivel jerárquico, son el ángulo de lanzamiento, el ángulo de ataque, el ángulo Yaw, el pitching moment, los factores aerodinámicos, y la velocidad de lanzamiento.

A su vez, y en un segundo nivel, la velocidad de lanzamiento se predice a partir del impulso de fuerza aplicado a la jabalina y de la velocidad de aproximación en la carrera de impulso. El tercer nivel establece que el impulso de fuerza se predice a partir de la acción de bloqueo de la pierna de apoyo, la secuencia de activación muscular y la posición de los segmentos corporales en el instante del doble apoyo, especialmente de la alineación del eje de los hombros, del ángulo del codo del brazo lanzador y del transporte de la jabalina en la fase final. En el presente estudio se toman como referencia los factores predictores que aparecen sombreados en la figura 1.

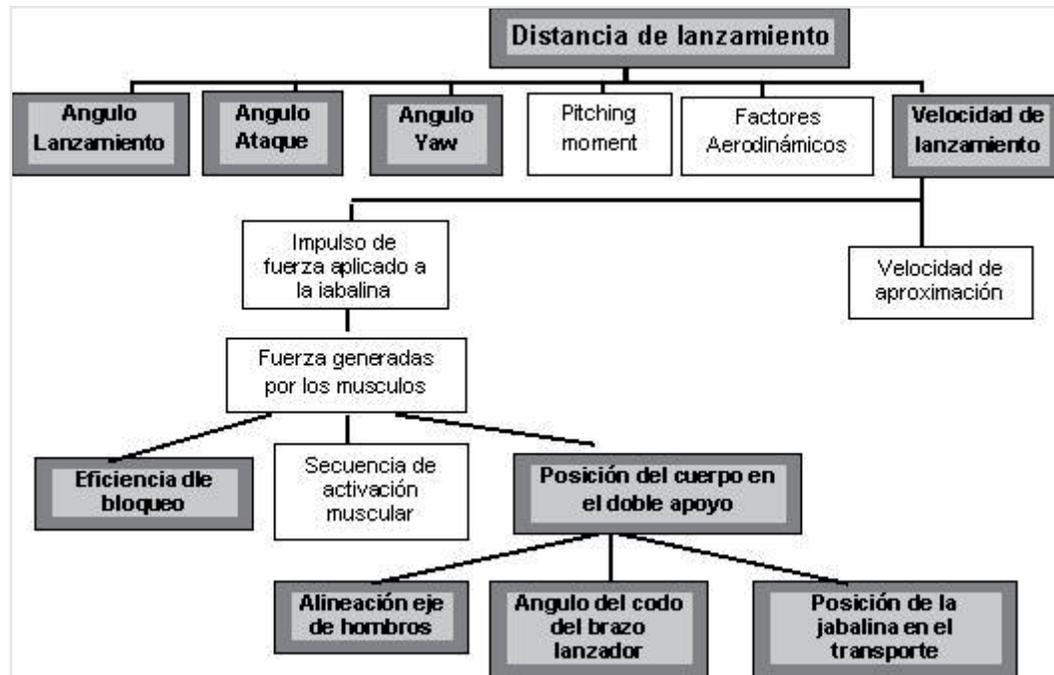


Figura 2. Modelo jerárquico de los factores que afectan el rendimiento en el lanzamiento de jabalina (Adaptado de Morris & Bartlett, 1996).

Al tratarse de un estudio intrasujeto, la muestra está constituida por 22 lanzamientos realizados por un lanzador español de categoría junior. Para evitar el efecto de la fatiga se dejó suficiente tiempo de recuperación de forma que el propio atleta decidía el tiempo de recuperación entre lanzamientos (los tiempos de descanso oscilaron entre 5 y 7 minutos).

Se utiliza la metodología de Fotogrametría 3D. La filmación se realizó con dos cámaras Photo-Sonics 1 PL de alta velocidad sincronizadas y a una frecuencia de muestreo de 100 Hz. Las cámaras se situaron en posición lateral y posterior respecto del pasillo de lanzamiento y formando un ángulo de 90° entre sus ejes focales respectivos. Para calibrar el espacio se utilizó un sistema de referencia de 4x2x2 m.

El proceso de digitalización y tratamiento de los datos se realizó con la ayuda del software “Fotogrametría IBV v7.6” del Instituto de Biomecánica

de Valencia. Las coordenadas tridimensionales de los puntos digitalizados se obtuvieron a partir de los ficheros que contenían las coordenadas bidimensionales de cada una de las cámaras aplicando el algoritmo de la Transformación Lineal Directa (DLT) propuesto por Abdel-Aziz y Karara (1971). El modelo de análisis utilizado para este estudio estuvo formado por 24 puntos: 22 puntos correspondientes a centros articulares del cuerpo del lanzador, más 2 puntos correspondientes a la jabalina.

Se analiza la fase final del lanzamiento (figura 3), esto es, la fase que transcurre entre el instante del contacto del pie izquierdo con el suelo en el último apoyo antes de la suelta de la jabalina (t_2), hasta el instante de proyección en que la mano del lanzador y la jabalina dejan de estar en contacto (t_3). Se diseñaron y sometieron a análisis un total de 47 variables cinemáticas.

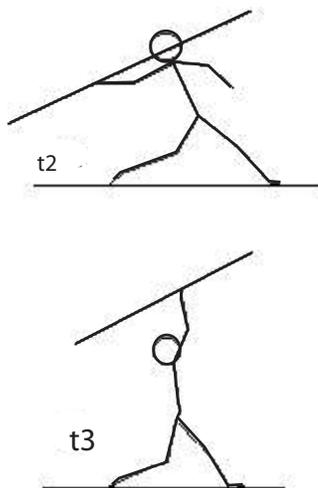


Figura 3. Representación de los instantes de referencia t2 y t3.

Para el tratamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS 14.0. El proceso de análisis se realiza a dos niveles: en primer lugar, un estudio descriptivo de la variabilidad del modelo de ejecución, y en segundo lugar, un estudio predictivo mediante análisis de regresión paso a paso para establecer las variables que en mayor medida predicen el rendimiento obtenido. Para el cálculo de la variabilidad se utiliza el coeficiente de variación obtenido para cada uno de los parámetros cinemáticos estudiados en los dos instantes de referencia temporal t2 y t3, esto es, la razón de la desviación estándar a la media aritmética, expresada en porcentaje.

$$CV = \frac{s}{X}(100\%)$$

Como variable dependiente se ha considerado la distancia real alcanzada en cada intento, esto es, la distancia existente entre la punta del pie adelantado del lanzador en el instante del despegue de la jabalina, y el punto de caída de la jabalina.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La consideración de los ángulos de Ataque y de Yaw, es importante en lanzamientos cuyos artefactos

tienen condiciones aerodinámicas como es el caso de la jabalina. Dichos ángulos se calculan a partir del ángulo de posición del eje longitudinal de la jabalina y el ángulo de lanzamiento, restando el segundo al primero. El ángulo de ataque se mide en el plano sagital, y el ángulo Yaw, en el plano transversal. Se trata por tanto de parámetros referidos a la proyección del centro de masas de la jabalina que influyen en el comportamiento de la jabalina en la fase de vuelo, con el objetivo de conseguir una trayectoria que permita alcanzar la máxima distancia posible.

En el cuadro 1 se presentan los estadísticos descriptivos de las principales variables de producto. Como podrá comprobarse, el lanzador consiguió una distancia media superior a los $62 \pm 1,99$ metros, para una velocidad de lanzamiento superior a los 24 m/s, que exige ya un alto grado de coordinación y dominio. El ángulo de lanzamiento también se encuentra dentro de los límites referenciados en la literatura para el lanzamiento de jabalina que oscila entre los 34° y 36° .

Cuadro 1. Descriptivos de las variables de referencia en el instante de la proyección de la jabalina.

Parámetros	(n: 22) Media	Sd	C.V. (%)
Distancia real (m)	62.23	1,99	3
Ángulo de Lanzamiento (°)	36.56	1,55	4
Velocidad de Lanzamiento (m/s)	24,20	0,66	3
Altura de lanzamiento (m)	1,89	0,04	2
Ángulo de Ataque (°)	4,82	1,87	39
Ángulo Yaw (°)	-2,18	1,97	90

Respecto de la variabilidad, se comprueba que estos parámetros se comportan dentro de unos niveles de variabilidad reducida que oscilan entre el 2% y el 4%, a excepción de los ángulos de Ataque y Yaw, que muestran una variabilidad elevada (39% y 90% respectivamente), que en todo caso no se cor-

responde con la reducida variabilidad encontrada en la distancia de lanzamiento (CV: 3%). A pesar de la alta variabilidad de estos dos parámetros, sus valores medios se mantienen dentro de los límites razonables para obtener un vuelo estable (4,8° y -2,18° respectivamente).

1. Estudio de la variabilidad del modelo individual

Como primer paso se analizan los resultados obtenidos sobre las variables que caracterizan la velocidad de los marcadores de la cadena cinemática superior y de la jabalina. Los resultados ponen de manifiesto que la variabilidad de los parámetros estudiados se mantiene en unos niveles razonables de variabilidad por cuanto el coeficiente de variación oscila entre el 3% y el 10% (Cuadro 2).

Cuadro 2. Coeficientes de variación correspondientes a la velocidad de los marcadores en los instantes t2 y t3, expresados en porcentaje.

Parámetros.	C.V. (%)	
	t ₂	t ₃
Velocidad de la cadera	9	9
Velocidad del hombro	5	9
Velocidad del codo	7	1
Velocidad de la jabalina	5	3

Como se puede observar, los valores calculados para el coeficiente de variación de las velocidades demuestran que la variabilidad aumenta ligeramente en los instantes finales del lanzamiento (t3) para el caso de los marcadores correspondientes al hombro y codo. Por el contrario, se mantiene estable en el caso de la cadera; y disminuye en el el caso de la velocidad de proyección. Con todo, parece que estas variables de producto se mantienen en unos niveles de variabilidad razonables que demuestran la consistencia del modelo individual del lanzador.

En el caso de las variables de la cadena cinemática superior ocurre lo contrario. A excepción del ángulo de la flexión del codo y de la altura de

lanzamiento, el resto de variables (inclinación del tronco, inclinación de los hombros, rotación de los hombros), muestran una mayor variabilidad en el instante t2 que en el instante t3, y de forma muy especial la inclinación y rotación de los hombros (Cuadro 3), demostrándose que el lanzador se sitúa de forma cambiante en la fase previa a la aceleración de la jabalina.

Cuadro 3. Coeficientes de variación en los instantes t2 y t3 expresados en porcentaje (parámetros relacionados con la cadena cinemática superior).

Parámetros.	C.V. (%)	
	t ₂	t ₃
A.. inclin. del tronco	15	7
A.. inclin. de hombros	61	9
A. rotación de hombros	25	1
A. flexión del codo	4	5
Altura de la mano	3	2

Si atendemos a los parámetros de la cadena cinemática inferior, se han encontrado diferencias en la variabilidad de la flexión de la articulación de la rodilla de ambas piernas, así como de la amplitud del último paso y de los ángulos de inclinación y rotación de las caderas entre t2 y t3 (Cuadro 4). Como puede comprobarse, la variabilidad aumenta en el instante t3, justo al contrario de la inclinación y rotación de las caderas cuya máxima variabilidad se produce en el instante t2.

Cuadro 4. Coeficientes de variación en los instantes t2 y t3 (parámetros relacionados con la cadena cinemática inferior).

Parámetros.	C.V. (%)	
	t ₂	t ₃
Ang. flexión rod. derecha	2	11
A. flexión rod. izquierda	3	6
Amplitud doble apoyo	3	8
Alt. cad. derecha al suelo	3	3
Ang. inclinación caderas	9	32
Ang. rotación caderas	109	16

2. El pronóstico del rendimiento

La velocidad de lanzamiento está reconocida como una de las variables con mayor poder predictivo del rendimiento en las especialidades de lanzamiento. En nuestro estudio hemos comprobado que, a pesar de mantener una relación significativa con la distancia de lanzamiento ($p < .01$), su capacidad de pronóstico es relativa en la medida que la ecuación de regresión obtenida muestra que sólo consigue explicar el 27% de la varianza. Este hecho es interesante tenerlo en cuenta porque pone de manifiesto que en los modelos individuales, la velocidad de proyección de la jabalina juega un papel secundario existiendo otros parámetros que hay que tener en cuenta para explicar el rendimiento del deportista. En la figura 4 se representa la dispersión de los valores en la relación entre velocidad y distancia de lanzamiento, que es positiva, tal y como expresa la función predictiva obtenida.

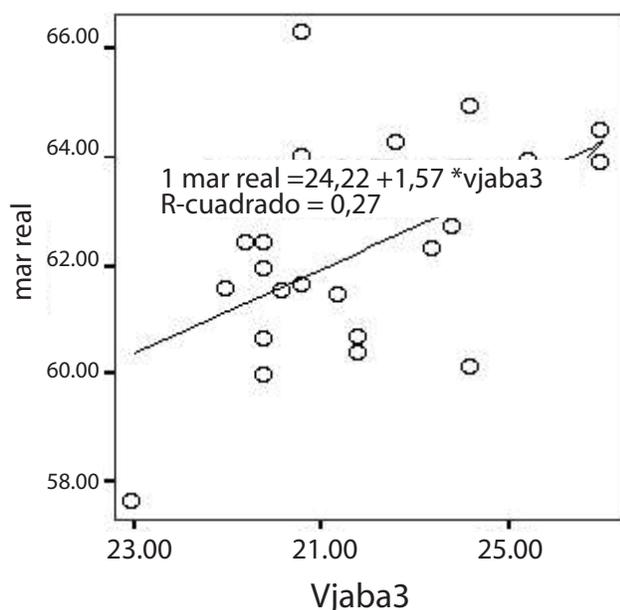


Figura 4. Representación de la función predictiva sobre la distancia real de lanzamiento.

Siguiendo el argumento anterior, hemos comprobado que cuando la velocidad de lanzamiento se asocia con otras variables como la inclinación del tronco en t2, la rotación de las caderas en t2, el ángulo de lanzamiento, y la velocidad de jabalina en t2,

entonces la varianza explicada sobre la distancia real aumenta notablemente ($R^2: 88\%$). De esta manera, se consigue una ecuación en la que intervienen variables que justifican el modelo teórico general como es el caso de la velocidad de lanzamiento, pero también variables técnicas que, para el caso del modelo individual estudiado, jugarían el papel más decisivo en la obtención del máximo rendimiento.

$$\text{Distancia real} = 16,700 + (1,649 \times V_{jab3}) - (2,90 \times \text{incltronc2}) + (1,54 \times \text{rotcad2}) + (,385 \times \text{Alanz}) - (1,370 \times V_{jab2})$$

Por tanto, en este caso, la distancia de lanzamiento se predice cuanto mayor sea la velocidad de lanzamiento, menor sea la inclinación del tronco en el instante t2, mayor sea el ángulo de rotación de las caderas en el instante t2, mayor sea el ángulo de lanzamiento y menor sea la velocidad de la jabalina en el instante t2.

De los resultados que se desprenden del análisis de regresión llama la atención la referencia a la rotación de las caderas en el instante t2, lo que significa disponer de un rango amplio de acción en el movimiento de las caderas en el plano transversal, como motor de arrastre hacia los segmentos más distales de la cadena cinemática superior. Además, también es esclarecedor el hecho de que la velocidad de la jabalina en el instante t2 se haya introducido en la función predictiva, demostrándose que una aceleración temprana de la jabalina tiene unos efectos negativos sobre la distancia, en consonancia con los postulados teóricos relacionados con el principio del curso óptimo de aceleración (Hochmuth, 1973).

Por último, conviene también destacar el hecho de que los parámetros técnicos que entran en la función predictiva sean aquéllos en los que se ha observado una variabilidad elevada. Concretamente, la inclinación del tronco en el instante t2 (CV: 15%), y la rotación de las caderas en el plano transversal en t2 (CV: 109%), lo que significa que en el caso del modelo evaluado, el rendimiento depende de las acciones que se producen en la fase previa al lanzamiento en la que el lanzador adopta la posición definitiva para conseguir una trayectoria

de aceleración de la jabalina amplia y equilibrada en su estructura temporal

CONCLUSIONES

En primer lugar, conviene destacar que los resultados muestran una gran coincidencia con el modelo de referencia propuesto por Morris y Bartlett (1996). En su primer escalón jerárquico se ha comprobado que la velocidad de lanzamiento y el ángulo de lanzamiento contribuyen a la distancia. En niveles jerárquicos posteriores, también se ha confirmado la participación de algunos parámetros que describen la posición del cuerpo del lanzador en el instante del “doble apoyo”.

Sin embargo, ha resultado interesante constatar que en el modelo individual evaluado, la velocidad de lanzamiento, contrariamente a lo que se pudiera prever, no tiene el valor determinante que se le concede en la literatura. Guarda una relación significativa con la distancia de lanzamiento ($p < .01$), pero su valor predictivo sobre el rendimiento es limitado. Por el contrario, otros parámetros de carácter técnico, ejercen una influencia mayor demostrándose que el rendimiento es una cuestión individual que requiere de un proceso de análisis singular. Cada lanzador dispone de un patrón de comportamiento cuyo equilibrio depende de factores diferenciados.

También se ha comprobado que, a excepción de algunos parámetros relacionados con la velocidad, existe una mayor variabilidad en las acciones técnicas que se realizan en el inicio de la fase final (t_2), esto es, en la fase en que el lanzador adopta la posición final de lanzamiento, y se prepara para generar las fuerzas y dirigir las hacia la jabalina.

Con todo, la metodología utilizada en este trabajo nos ha permitido conocer la estabilidad de un modelo individual e identificar los factores de los que depende el rendimiento. En su aplicación práctica, los resultados obtenidos refuerzan la idea de la necesidad de abordar el entrenamiento de los lanzadores desde una perspectiva individualizada. El entrenamiento de la técnica debe realizarse a partir del patrón individual de cada sujeto. Durante la especialización los jóvenes deportistas se encuentran

en una fase abierta a la adquisición de las técnicas, y es en fases posteriores cuando esta exigencia de la individualización del entrenamiento técnico cobra una mayor importancia, justo cuando los deportistas disponen ya de un patrón de ejecución estable en sus características cinemáticas y dinámicas.

REFERENCIAS

- Abdel-Aziz, Y.I. y H.M. Karara (1971). “Direct linear transformation from comparator coordinates into object space coordinates in close range photogrammetry”. En *ASP Symposium on close range photogrammetry*, American society of photogrammetry (eds.), ASP, Falis Church, 1-18.
- Atwater, E.A. (1979). “Biomechanics of overarm throwing movements and of throwing injuries”. *Exercise and Sport Science Review*, 7, 43-85.
- Bartlett, R., E. Müller, S. Lindinger, F. Brunner, C. Morriss (1996). “Three-dimensional evaluation of the kinematic release parameters for javelin throwers of different skill levels”. *Journal of Applied Biomechanics*, (Champaign, Ill.); 12(1), Feb 1996, 58-71.
- Bernstein, N. (1967). “The coordination and regulation of movement”. Pergamon Press.
- Best, R.J, R.M. Bartlett, C.J. Morriss (1993). “A three-dimensional analysis of javelin throwing technique”. *Journal of Sports Sciences*, 11(4), 315-328.
- Campos, J., G. Brizuela y V. Ramon (2004). “Three-dimensional kinematic analysis of elite javelin throwers at the 1999 IAAF World Championships in Athletics”. *New studies in Athletics* 19: 47-57.
- Campos, J., G. Brizuela, V. Ramon, J. Gámez (2002). “Analysis of kinematic parameters between spanish and world class javelin throwers”. In Giannikellis, K. (ed) *Scientific Proceedings of the XX International Symposium on Biomechanics in Sports*. Extremadura: Universidad

- de Extremadura. Pp.107-110.
- Dapena, J., C. McDonald, J. Cappaert (1990). "A regression analysis of high jumping technique", *International Journal of Sport Biomechanics*, 6(3), pp. 246-260.
- Hay, J.G., B.D. Wilson, J. Dapena (1976). "Identification of the limiting factors of the performance of a basic human movement", in *Biomechanics V-B*. Baltimore, MD: (ed. P.V. Komi), University Park Press. Pp. 13-19.
- Hochmuth, G. (1973). "Biomecánica de los movimientos deportivos". Doncel, Madrid.
- Ikegami, Y. (1981). "Biomechanical analysis of the javelin throw", en Morecki, A. y K. Fidelus (eds.). *Biomechanics VII-B*. Baltimore: University Press. Pp. 271-276.
- Menzel, H.J. (1998). "Intra-individual differences of movement patterns in the javelin throw". In Riehle & Vieten. *Proceedings of the XVI International Symposium on Biomechanics in Sport*, Konstanz. Pp. 525- 528.
- . (1987). "Transmission of partial momenta in javelin throw". In Johnsson, B. (ed.). *Biomechanics X-8*. Champaign: Human Kinetics Publishers. Pp. 643-647.
- Mero, A., P.V. Komi, T. Orjus, E. Navarro, R. Gregor (1994). "Body segment contributions to javelin throwing during final thrust phases". *Journal of Applied-Biomechanics*, (Champaign,-Ill.); 10(2), 166-177.
- Morris, C., R. Barlett, E. Navarro (2001). "The function of blocking in elite javelin throws: a re-evaluation". *Journal of Human Movement Studies*, 41, 175-190.
- Morris, C., R. Bartlett (1996). "Biomechanical factors critical for performance in the men's Javelin throw". *Sports Medicine*. Auckland,-N.Z., 21(6), pp. 438-446.
- Morriss, C., R.M. Bartlett, y N. Fowler (1997). "Biomechanical analysis of the men's javelin throw at the 1995 World Championships in Athletics", *New Studies in Athletics*, 12, 31-41.
- Navarro, E., J. Campos, P. Vera, E. Chillaron (1995). "A procedure for determining the acceleration phase in javelin throwing". En Barabas, A. & Fabián, G. *Biomechanics in Sport XII*. ISBS. Budapest: Hungarian University of Physical Education. Pp. 357-359.
- Schöllhorn, W. I., y H.U. Bauer. (1998). "Identifying individual movement styles in high performance sports by means of self-organizing Kohonen maps". En H. J. Riehle y M. Vieten (eds.). *Proceedings of the XVI Congress of the ISBS*, (pp. 754-577). Konstanz: Konstanz University Press.
- Takey, Y. (1989). "Techniques used by elite male gymnasts performing a handspring vault at the 1987 Pan American Games", *International journal of sport biomechanics*, 5, 1-25.
- Whiting, W., R. Gregor, M. Halushka (1991). "Body segment and release parameter contributions to new-rules javelin throwing". *International Journal of Sport Biomechanics*, 7, 111-124.
- Woltring, H.J. (1986). "A fortran package for generalized, cross-validatory spline smoothing and differentiation". *Adv. Eng. Software*, 8, 2, 104-113.

Elaboración de un producto fermentado de soya (glycine max) tipo tempeh con *Rhizopus oryza*

Munguía-Pérez, R;¹ Espinosa-Texis, A;¹
Hernández-Arroyo, MM;⁴ Reyes-Matías, M;²
Gonzales-Salome, F;³ Melgoza-Palma, N.³

El tempeh es un producto de soya (*Glycine max*) fermentada por hongos del género *Rhizopus* y *Aspergillus*, que se elabora de forma artesanal en Indonesia. El objetivo fue elaborar un producto fermentado de soya tipo tempeh realizando una evaluación sensorial y un análisis proximal. Se empleó soya (variedad Esperanza) empleando una cepa tipo de *Rhizopus oryzae* NRRL 2700 (104 esporas/mL) teniendo como variables: el remojo (soya) por 12h en una solución de ácido láctico (0.5, 0.75, 1.5%), el tiempo de cocción (10, 15, 20 minutos), la temperatura (26, 28, 30°C), y el tiempo de fermentación (12, 24, 36h). Se obtuvo un producto óptimo bajo las siguientes condiciones: 0.5% de ácido láctico, 15 minutos de cocción, 24h de fermentación a 30°C de temperatura. La evaluación sensorial demostró la aceptabilidad general del producto en un 70%. El análisis proximal del producto reveló la disminución en el contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos.

INTRODUCCIÓN

El origen de las fermentaciones alimentarias es muy antiguo y no existen datos precisos que indiquen fecha exacta. Desde el punto de vista de la tecnología de alimentos la fermentación puede definirse como un proceso en el que se llevan a cabo cambios fisicoquímicos en un sustrato orgánico por la acción

de enzimas elaboradas por microorganismos específicos (Cuacher 1993). La mayoría de los alimentos fermentados ocupan un lugar importante por ser base de la alimentación del pueblo que los produce (Henkel 2005). Estos alimentos forman parte de la riqueza cultural de las primeras civilizaciones, la mayoría se elaboran en forma artesanal; sin embargo, en ocasiones la higiene no es adecuada y su

¹Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas del Instituto de Ciencias. ²Escuela de Biología, ³Facultad de Ciencias Químicas Bioquímica-Alimentos; Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México. ⁴CIBA-Instituto Politécnico Nacional-Tlaxcala. México. lewimx@yahoo.com.mx

calidad es variable. Actualmente existe el interés en producir alimentos naturales, sin la adición de ingredientes sintéticos; los alimentos fermentados no los requieren, ya que durante la fermentación se produce en forma natural sustancias antimicrobianas, como el ácido acético y láctico (Leisner, 1999) entre otros; por lo que tiene menos problemas de incidencia de patógenos, y es común que su calidad nutritiva sea mejor que la del sustrato (Wang, 1972). Además, existe un interés científico en el estudio de la ecología microbiana de estos productos (Bourges, 1987; Burgeois, *et al.*, 1994).

La fermentación de leguminosas y cereales representa una alternativa tecnológica para incrementar su calidad nutricional y obtener productos con características sensoriales aceptables (Reyes-Moreno 2000). Uno de estos alimentos es el tempeh el cual es originario de Indonesia el cual consiste en la fermentación de la soya por hongos del género *Rhizopus*, *Aspergillus* (Mucoraceae, Zygomycota), frecuentemente se emplean *R. oryzae* y *R. oligosporus* por ser seguras ya que no hay reportes de que sean productoras de micotoxinas (rhizonina A y B) que pudieran causar micotoxicosis (Partida-Martínez, 2006). La actividad enzimática de este moho que interviene en la fermentación, reblandece las semillas y el crecimiento del micelio las aglomera, dando lugar a una torta sólida (Jurus, 1976). Esta fermentación cambia la textura y el sabor de la semilla de soya, al mismo tiempo provoca cambios complejos en el valor nutritivo del producto debido a que cambia el contenido proteico, de lípidos, carbohidratos y liberación de vitaminas contribuyendo a mejorar el valor nutritivo del producto (Wang, 1972; Lien, 1977; Rombouts, 1990). En México la producción de soya (334 600 ton) aumenta anualmente y sólo un mínimo porcentaje es empleado en la alimentación humana (INEGI, 2006). Con todo lo anterior surge el interés por la elaboración de un producto fermentado de soya tipo tempeh; realizándose una evaluación sensorial y un análisis proximal para obtener un producto de calidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del sustrato. Las semillas de soya (75 g) (*Glycine max* variedad Esperanza) se sometieron a un remojo por 12h en soluciones de ácido láctico grado alimenticio a diferentes concentraciones (0.50, 0.75, 1.5%) (150 ml), después de este tiempo se descascarilló por dos métodos, frotándola sobre mayas de acero inoxidable y manualmente. Ya descascarillado se realizó una cocción del frijol en autoclave por diferentes tiempos (10, 15, 20 minutos).

Preparación del inóculo. Se empleó una cepa tipo de *Rhizopus oryzae* NRRL 2700, crecida en agar dextrosa Sabouraud. Ajustándose el inóculo a una concentración de 10^4 esporas por mililitro.

Proceso de fermentación. Se colocó el frijol ya macerado, descascarillado y cocinado, en bolsas plásticas estériles con cierre no hermético (Lotong, 1983), depositándose 5 ml del inóculo por aspersión, distribuyéndolo con movimientos circulares y haciendo presión para compactarlo, las bolsas se dividieron en grupos para incubarlas a diferentes temperaturas (26, 28, 30°C), por diversos tiempos (12, 24, 36h), finalizada la fermentación se realizó el salado del producto sumergiéndolo en una solución de NaCl al 7%, se escurrió por 15 minutos y frió en aceite comestible de soya por 4 minutos (Figura 1).



Figura 1. Etapas de producción del producto fermentado de soya tipo tempeh: a) soya después del proceso de maceración y descascarillado, b) fermentación de la soya, c) segmentación del producto después del proceso de fermentación, d) Freído del producto.

Análisis proximal. Al producto se le determinaron, proteínas, lípidos, humedad, cenizas, fibra cruda, pH y valor energético.

Evaluación sensorial. Se realizó con la participación de 180 panelistas no entrenados, a los cuales se les proporcionó una boleta para evaluar la aceptabilidad o rechazo del producto. También se realizó una prueba discriminativa de comparación múltiple para encontrar diferencias en los distintos atributos (color, textura, apariencia, sabor y aroma).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 81 ensayos resultantes se determinó que: la concentración óptima de ácido láctico es de 0.5% ya que permite un desarrollo abundante del hongo (figura 2). El mejor método para realizar el descascarillado fue el manual; observándose además que el remojo facilita este proceso. El tiempo de cocción que permitió que la textura fuera la más aceptable fue el de 15 minutos.

Se obtuvo una fermentación óptima en condiciones a 30°C durante 24h., debido a que las características sensoriales fueron las más aceptables por los consumidores.

Análisis proximal. En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos y la comparación con el sustrato. La soya fermentada contiene un porcentaje menor tanto de proteínas como de grasa debido a los procesos hidrolíticos presentes durante la fermentación. Se observó que la humedad se incrementó durante el proceso de maceración. El contenido de cenizas disminuyó durante la maceración y durante la fermentación ya que el microorganismo utiliza parte de éstas en su metabolismo. El pH del producto es resultado de la adición inicial de ácido láctico a la materia prima además de su producción durante la fermentación, el cual tiene la función de preservación en el alimento. Además, el valor energético del producto es menor en comparación de la materia prima (Erdman, 1988).

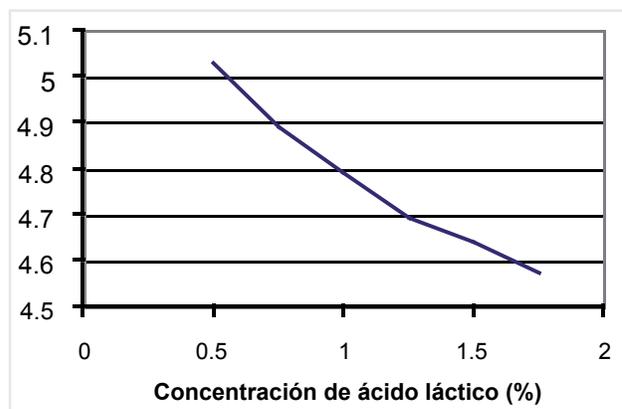


Figura 2. Influencia del pH inicial de la materia prima (soya) en el desarrollo de *Rhizopus oryzae*.

Los resultados obtenidos en el análisis sensorial fueron: una aceptación general del 70% (figura 3). Los resultados de la evaluación de los atributos fueron: color 77%, textura 75%, apariencia 75%, sabor 72%, aroma 71% (figura 4). De acuerdo a los resultados obtenidos se determina que la mayor aceptación es para el atributo color, el cual fue adquirido durante el proceso de freído del producto. Se determinó que la textura del producto fue aceptada por los panelistas ya que la fermentación mejoró considerablemente la misma, dando como resultado un producto suave y firme.

Tabla 1. Resultados obtenidos en el análisis fisicoquímico del tempeh en 100g de muestra (% base húmeda) y composición fisicoquímica del frijol de soya.

Determinación	Tempeh (%)	*Frijol de soya (%)
Proteínas	27	40
Grasa	8.8	20
Humedad	35	10
Cenizas	2.6	5
Fibra cruda	7.7	5
pH	6.6	-
V.E. (valor energético)	289kcal	422kcal

*Fuente: U.S. Soyfoods 2005.

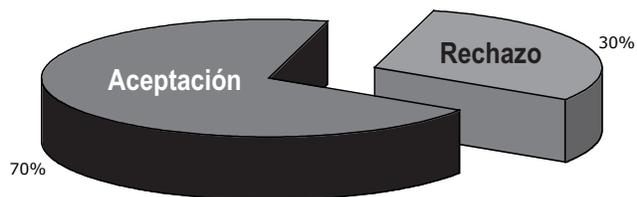


Figura 3. Gráfica de la aceptación-rechazo obtenida del producto fermentado tipo tempeh.

La apariencia del producto tuvo una buena aceptación, lo que indica que la apariencia es un punto decisivo en la aceptación o rechazo de un alimento. El sabor fue el atributo de menor aceptación por los panelistas debido a que en nuestro medio no se está acostumbrado a alimentos de este tipo. El aroma alcanzó el menor porcentaje debido a la desnaturalización de proteínas, genera aromas característicos de estos productos. Se obtuvo un producto óptimo bajo las siguientes condiciones: 12 h de remojo, 0.5% de ácido láctico, descascarillado manual, 15 minutos

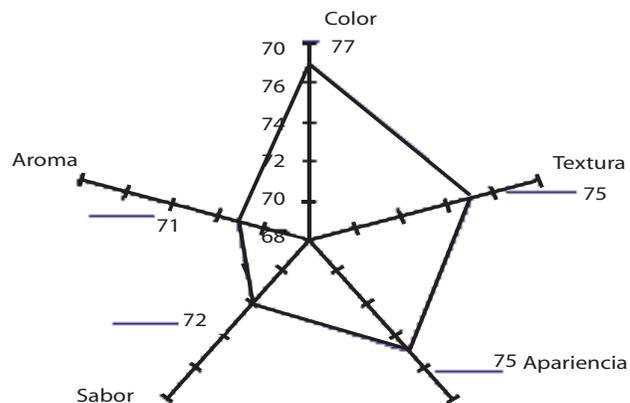


Figura 4. Gráfica radial de la evaluación de los atributos del producto fermentado obtenido tipo tempeh.

de cocción, 24 h de fermentación a 30°C de temperatura. El análisis proximal del producto reveló la disminución del contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos. Se demostró la aceptabilidad general del producto en un 70%. La prueba discriminativa de comparación múltiple mostró la aceptabilidad de los atributos en un 74.6%.

REFERENCIAS

- Burgeois, G.M., J.F. Mescle, J. Zucca, et al. (1994). "Fermentaciones alimentarias". Microbiología alimentaria. Zaragoza: Editorial Acribia. Pp. 436-443.
- Erdman, J.W, E.J. Fordyce (1988). "Soy products and the human diet". The American Journal of Clinical Nutrition 49: 725-737.
- Hackler, L.R, K.H. Steinkraus, J.P. Van Buren, D.B. Hand (1963). "Studies on the Utilization of Tempeh Protein by weanling rats". J. Nutrition 82(64): 452-456.
- INEGI (2006) "Anuario estadístico de producción agrícola". Sagarpa.
- Jurus, A.M, W.J. Sundberg (1976). "Penetration of Rhizopus oligosporus into soybeans in Tempeh". Applied and Environmental Microbiology 32(2): 284-287.
- Liem, I.T., K.H. Steinkraus, T.C. Cronk (1977). "Production of Vitamin B-12 in Tempeh, a fermented soybeans foods". Applied and environmental Microbiology 34(6): 773-776.
- Lotong, N., P. Suwanarit (1983). "Production of soy Sauce Koji mold spore inoculum in plastic bags". Applied and environmental Microbiology 46(5): 1224-1226.
- Partida-Martínez, L.P., C. Flores de Loo, K. Ishida, et al. (2006). "Rhizonin, the first Mycotoxin isolated from the Zygomycota, Is not a fungal metabolite but is produced by bacterial endosymbionts". Applied and environmental Microbiology 73(3): 793-797.
- Reyes-Moreno, C., C.A. Romero-Urías, J. Milan-Carrillo, R.M. Gómez-Garza (2000). "Chemical composition and nutritional quality of fresh and hardened chickpea (*Cicer arietinum* L.) after the solid state fermentation (SSF)". Food Science and Technology International 6(3): 251-258.
- Rombouts (1990). "Recent envelopments in Tempeh research". Balderior. U. S. "Soyfoods". Indiana soybean development, copyright 2005.
- Wang, H.L., E.W. Swain, L.L. Wallen, C.W. Hesseltine (1975). "Free fatty acids identified as anti-tryptic factor in soybean fermented by Rhizopus oligosporus". J. Nutr. 105: 1351-1355.
- Wang, H.L, J.B. Vespa, C.W. Hesseltine (1972). "Release of bound trypsin inhibitors in soybeans by Rhizopus oligosporus". J. Nutrition 102: 1495-1500.
- Zamora, R.G, T.L. Veum (1978). "The nutritive value of dehulled soybeans fermented with *Aspergillus oryzae* or *Rhizopus oligosporus* as evaluated by rats". J. Nutr. 109: 1333-1339.

Avances en el estudio de las levaduras como activadoras de la fermentación ruminal en bovinos que consumen dietas fibrosas

Galindo, J; Torres, V; Rodríguez, Z; Álvarez, E¹; Aldana, AI; Rodríguez, R; García, R; Boucourt, R; Delgado, D; Martín, E²; Moreira, O; Noda, A; Núñez, O; González, M; Herrera, F; Cairo, J; Rodríguez, D²

Se desarrolló una secuencia investigativa con el objetivo de obtener un preparado microbiano a partir de levaduras y evaluar su inclusión en animales que consumen dietas con alto contenido de fibra. Para ello se evaluó una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* como activadora de la fermentación ruminal, se aislaron y caracterizaron cepas de levaduras procedentes del ecosistema ruminal y finalmente se seleccionó la más promisoría para su evaluación como activadora en condiciones in vivo. Se demostró que la cepa *Saccharomyces cerevisiae* L/25-7-13, ejerce un efecto estimulador en las poblaciones de bacterias viables totales y celulolíticas y aumenta la producción y calidad de la leche. Se estableció una metodología para el aislamiento y caracterización de levaduras presentes en el rumen. Además se obtuvieron 24 cepas de levaduras con potencialidad de uso como activadores de la fermentación ruminal y se elaboró un preparado capaz de estimular las poblaciones celulolíticas en el rumen.

INTRODUCCIÓN

En la última década los nutricionistas han mostrado gran interés en manipular el ecosistema microbiano ruminal para mejorar la eficiencia de producción de los rumiantes. Una amplia variedad de microorganismos ha sido utilizada como probióticos, que añadidos en pequeñas cantidades a la dieta mejoran

la salud y la productividad de los animales.

El uso de éstos ha devenido en una gran cantidad de productos biológicos activadores de la fermentación ruminal (Diamond VXP; BIOSAF; *S. cerevisiae* NCYC 1026 y NCYC 240 entre otros), y constituye una de las vías más empleadas en el ámbito mundial, para mejorar la eficiencia de utilización de los nutrientes en rumiantes.

La literatura internacional se refiere al uso de diversos productos aditivos que utilizan cepas comerciales de levaduras (Chaucheyras *et al.*, 1996; Sullivan y Martin, 1999; Wang *et al.*, 1999 y Garret, 2000). No obstante, se ha definido la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como uno de los microorganismos más promisorios, ya que su adición a la dieta de rumiantes: incrementa el consumo (Erasmus *et al.*, 1992), el número de bacterias celulolíticas del rumen (Dawson, 1987) y bacterias totales, la concentración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Beharka y Nagaraja, 1991), el pH ruminal y disminuye la concentración de ácido láctico (Williams *et al.*, 1991).

En algunos países de América Latina se ha utilizado la levadura *S. cerevisiae* como suplemento de las dietas fibrosas y se han encontrado alteraciones en los patrones de fermentación, mejoras en la eficiencia de utilización y disponibilidad de los nutrientes (Ayala, 1992; Angeles *et al.*, 1995 y Mendoza *et al.*, 1995), así como aumentos en la producción de leche (Miranda *et al.*, 1993). A pesar de ello, es necesario señalar que en estos países los productos con levaduras que se utilizan como aditivos, casi siempre son importados de países desarrollados que no presentan las mismas problemáticas de alimentación en la explotación de rumiantes. Esto demuestra que es necesaria la obtención de aditivos propios que respondan a las situaciones generadas en las producciones lecheras basadas en el uso de dietas fibrosas de mediana y baja calidad.

Teniendo en cuenta los antecedentes anteriores investigadores de diferentes instituciones nacionales (ICA-CENSA) e internacionales (CORPOICA, Colombia) aunaron sus esfuerzos para llevar a cabo la presente propuesta y se trazaron como objetivo fundamental obtener un preparado microbiano a partir de levaduras aisladas del ecosistema ruminal y evaluar su inclusión en animales que consumen dietas con alto contenido de fibra. Lo anterior se llevó a cabo mediante 3 proyectos de investigación pertenecientes a programas nacionales financiados por GEPROP- CITMA, MINAGRI y MES y 2 proyectos de colaboración Cuba- Colombia financiados por MINVEC-ACCI.

RESULTADOS

Efecto de Saccharomyces cerevisiae cepa L/25-7-13 en la fermentación microbiana ruminal

Mediante la ejecución de tres experimentos se determinó el tiempo de máximo crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* L/25-7-13 en medio caldo extracto de malta y el efecto de la inclusión de células vivas de dicha cepa y el producto de sus excreciones, en la población microbiana y algunos indicadores fermentativos ruminales bajo condiciones *in vitro*, así como en la dinámica fermentativa del pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) mediante la técnica de producción de gas *in vitro*. Este último estudio se realizó en los Laboratorios de Microbiología Molecular y de Química del Programa de Fisiología y Nutrición Animal de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), en su sede situada en Tibaitatá, Bogotá, Colombia.

Los resultados mostraron que el crecimiento máximo de la cepa de *S. cerevisiae* L/25-7-13 en medio extracto de malta, ocurre entre las 12 y las 16 horas, cuando se incubaba a 30°C, y aún a las 36 horas las células se mantienen viables. Este resultado permite establecer el momento del crecimiento óptimo para utilizar el cultivo de la levadura y comprobar su efecto activador en la fermentación ruminal.

Cuando se comparó la inclusión de células vivas de *S. cerevisiae* L/25-7-13 solas o en su medio de cultivo se comprobó que las células vivas provocaron aumentos en las poblaciones de microorganismos totales y celulolíticos hasta las 12 horas de fermentación, lo que indica que, aunque no se debe descartar el aporte de factores de crecimiento que proporciona el medio de cultivo de la levadura, son los productos de su metabolismo bajo condiciones de anaerobiosis, los que provocan mayor estimulación en las poblaciones microbianas y por lo tanto esto constituye una nueva línea de estudios que se deben abarcar en el futuro.

Por otra parte la inclusión de células vivas de *S. cerevisiae* L/25-7-13 en su medio de cultivo provocó aumento en la producción de gas acumulada y disminución de la fase lag, así como un incremento de

la degradabilidad tanto para la MS como la FDN de *C. nlemfuensis* bajo condiciones in vitro. Igualmente la inclusión de dicha levadura en la fermentación de cuatro leguminosas tropicales: *Leucaena leucocephala*, *Acacia cornigera*, *Albizia lebbekoides* y *Enterolobium ciclocarpus* redujo la fase lag pero no modificó la razón de colonización de la fibra.

Los resultados del presente estudio demostraron además, que la actividad estimuladora de esta cepa de *S.cerevisiae* está vinculada a la inclusión de la levadura viva y es independiente a la presencia de oxígeno, ya que los medios de fermentación contaban con cisteína como agente reductor, por lo que la levadura ejerció su acción en condiciones de anaerobiosis. Esto constituye un acercamiento a la interpretación de la posible vía de acción a través de la cual *S.cerevisiae* ejerce su efecto estimulador en las poblaciones ruminales.

Aislamiento, caracterización y selección de cepas de levaduras con posibilidades de uso como activadoras de la fermentación ruminal

Las investigaciones referidas al aislamiento y selección de cepas de levaduras se llevaron a cabo en el ICA y la caracterización de dichas cepas se realizaron en los laboratorios del CENSA.

La inclusión de un producto biofermentado en la dieta de vacas permitió aumentar las poblaciones de levaduras en el rumen y se comprobó que los conteos de las mismas, se mantienen hasta la hora 12 después de su ingestión. De esta forma se lograron aislar 24 cepas de levaduras procedentes del ambiente ruminal que no pertenecen al género *Saccharomyces* y que conforman el primer Ceparario Cubano de levaduras con potencialidades de uso como activadoras de la fermentación ruminal en animales que consumen dietas fibrosas.

Los resultados que se obtuvieron en los estudios anteriores permitieron proponer una nueva metodología para el aislamiento y caracterización de cepas de levaduras presentes en el ecosistema ruminal.

Para el estudio de selección de cepas con mayor potencialidad de uso como activadora de la fermentación ruminal, se tomó como criterio de selección la

capacidad fermentativa de la levadura en el ambiente ruminal mediante la técnica de producción de gas. Los análisis estadísticos mostraron que la levadura que estimuló la mayor producción de gas ($p<0.05$) fue la cepa 25 con 70.83 ml y que en el resto de las cepas la producción de gas fue superior a la del control (sin levaduras) y *S.cerevisiae*. Este resultado es alentador si se tiene en cuenta que ninguna de las cepas pertenece al género *Saccharomyces*, lo que las coloca con mayores posibilidades de uso en la obtención de preparados con capacidad de mejorar los procesos fermentativos en el rumen de animales que consumen dietas fibrosas. Por su parte la cepa 25 produjo 15 ml/g de MS más que el grupo que le precedió, lo que la sitúa como la más promisoría para conducir estudios de su acción en la fermentación ruminal. Esta cepa recibió la denominación de LEVICA-25.

Obtención de preparados microbiales a partir de levaduras viables

Para obtener preparados microbiales a partir de levaduras viables se desarrolló una secuencia experimental que incluyó el diseño de un medio comercial para el crecimiento de levaduras a escala de laboratorio, la optimización de dicho medio para el cultivo de las cepas *S. cerevisiae* y LEVICA 25 y finalmente se realizaron los estudios básicos para establecer una metodología de producción de los preparados a escala banco.

La formulación de un medio comercial para el cultivo de levaduras a escala de laboratorio y banco resultó una adecuada opción que permite utilizar fuentes nacionales para la optimización del crecimiento microbiano.

Para la optimización de un medio de cultivo comercial para el crecimiento de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* L/25-7-13 y LEVICA 25, se prepararon 10 variantes de formulación de medios de cultivo. En ellas se evaluaron combinaciones de 3 fuentes de energía y 3 relaciones PB/PV. Se logró determinar las mejores formulaciones para el crecimiento de cada cepa.

Finalmente para realizar los estudios básicos

para establecer una metodología de producción a escala banco, de un preparado microbiano a partir de una cepa de *S. cerevisiae* capaz de activar la fermentación ruminal, se realizaron dos experimentos. En el experimento 1 se estudió el sistema de cultivo (agitación por recirculación en fermentador rústico o estático con aireación forzada) y en el experimento 2 la temperatura inicial del lecho (26 ± 2 o 30 °C).

Se halló que las condiciones de producción del activador son: temperatura inicial de 30 °C, sistema de cultivo estático con aireación forzada durante 16 horas. La estabilidad del producto es de 15 días con una carga de levaduras viables de 5.8×10^7 ufc/ml de. Tiempos posteriores ocasionan deterioro del producto bajo las condiciones ambientales.

Estudio de preparados biológicos activadores de la fermentación ruminal

Se ejecutaron dos experimentos mediante los cuales se determinó el tiempo de máximo crecimiento de la cepa de levadura LEVICA 25 y se procedió a evaluar su inclusión, en comparación con *S. cerevisiae*, en la fermentación microbiana ruminal de vacas que consumen dietas con alto contenido de fibra.

Los resultados que se obtuvieron permitieron interpretar que el crecimiento máximo de LEVICA 25 en medio extracto de malta, ocurre entre las 16 y las 20 horas de crecimiento cuando se incubaba a 30 °C y que a las 36 horas aún no se evidencia la fase de declinación.

Para estudiar el efecto de la inclusión de levaduras en vacas que consumen dietas fibrosas, se diseñó un experimento donde se le ofertó de 10 g/día de preparados microbianos de *S. cerevisiae* y LEVICA 25, solos y combinados. Se pudo comprobar que la inclusión de ambos preparados provocó una estimulación de la población microbiana ruminal y

en especial la celulolítica y que el efecto más marcado lo provocó la cepa LEVICA 25. Todo parece indicar que dicha cepa presenta mayor adaptabilidad a las condiciones estresantes del rumen, lo que la sitúa en una posición ventajosa con respecto a *S. cerevisiae*.

Los parámetros de la cinética de degradación ruminal del forraje mostraron que la inclusión de levaduras reduce en 25% la fase lag de colonización de la fibra por los microorganismos ruminales, lo que resulta ventajoso al propiciar una mayor liberación de los glúcidos que constituyen la fracción fibrosa de los vegetales, paso previo para el creciente incremento de la síntesis de proteína microbiana.

Evaluación del efecto de Preparados con levaduras viables en la producción de leche bajo condiciones controladas

Con el objetivo de determinar el efecto de la inclusión de un preparado microbiano en base a levaduras viables en la producción de leche en vacas de mediano potencial en dietas altas en fibra, se diseñó un experimento con vacas lecheras Holstein comercial, las que se encontraban en la etapa media de lactación. A las mismas se les ofertó 10g/l diarios de un preparado microbiano con *S. cerevisiae*.

El preparado incrementó en 0.7 litros la producción de leche e influyó, directamente, en la proteína láctea y en los sólidos totales, lo que indica una mejor utilización de los recursos finales de la digestión.

El análisis de prefactibilidad económica que se efectuó justifica la posibilidad de elevar el nivel de escalado de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* viable con el propósito de incrementar la producción de leche en vacas de mediano potencial que se alimentan con dietas fibrosas.

REFERENCIAS

- Angeles, C.S., G.D. Mendoza, P.F. Castrejón y P.M. Cobos (1995). "Evaluación de dos cultivos de levadura SC a dosis comercial sobre la población de protozoarios y el metabolismo ruminal en ovinos alimentados con una dieta a base de rastrojos de maíz". *Revista Argentina de producción Animal*. 15:2, 549-551.
- Ayala, O.L. (1992). Efecto de la adición de SC y una mezcla de melaza urea en el valor nutricional de paja de cártamo en ovinos. Tesis de maestría. Centro de Ganadería. Colegio de Posgraduados. Montecillo, México.
- Beharka, A.A. y T.G. Nagaraja (1991). Effects of *Aspergillus oryzae* extract (AMAFER) on ruminal fibrolytic bacteria and in vitro degradation. *Abstracts of 21st Biennial conference on Rumen Function*. Chicago, IL, pp. 32.
- Chaucheyras, F., G. Fonty, G. Bertin, J.M. Salmon, P. Gouet (1996). "Effects of avstrain of *Saccharomyces cerevisiae* (Levucell SCI), a microbial additive for ruminants, on lactate metabolism in vitro". *Can. J. Microbiol.* 42, 927-933.
- Dawson, K.A. (1987). "Mode of action of culture, Yea-Sacc, in the rumen: a natural fermentation modifier". *Biotechnology in the feed industry*. Nicholasville, KY: T.P. Lyons ed. Alltech technical publication. Pp. 119.
- Erasmus, L.J., P.M. Botha, A. Kistner (1992). "Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows". *J. Dairy. Sci.* 75, 3056-3065.
- Garret, J. (2000). Use yeast culture to "Feed the rumen first". *J. Feed Management*, julio-agosto. Revista electrónica.
- Mendoza, D.G, R. Ricalde, H. Esparza, L. Velázquez (1995). "Efecto de dos cultivos de SC en la digestión ruminal de la MS y FND de paja de trigo". *Revista Argentina de Producción Animal*. 15:2, 464-465.
- Miranda, J.; M. Vélez, A. Revilla, A. Flores (1993). "Suplementación de las dietas de vacas lecheras con cultivos secos de levadura SC y su efecto en la producción y composición de la leche". *CEIBA*. Honduras. 34:2.
- Sullivan, H.M. y S.A. Martin (1999). "Effect of *Saccharomyces cerevisiae* yeast culture on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation". *J. Dairy Sci.* 77, 3073-3079.
- Wang, Z., M.L. Eastridge, X. Qiu (1999). "Effects of Forage Neutral Detergent Fiber and Yeast Culture on Performance of Cows During Early Lactation". *J. Dairy Sci.* 1:82. Columbus, Ohio: Suppl. The Ohio State University. Pp. 71.
- Williams, A.G. (1991). The biochemical activities and importance of the ciliated protozoa in the rumen ecosystem. En: *Biochemical protozoology*. Washington: Coombs, G.H., M.J. North (eds.). Pp. 61-79.

Análisis de la expresión in vitro de lactoferrina recombinante

González Chávez, SA¹; Arévalo Gallegos, S¹; Salazar Martínez, J²;
Rascón-Cruz Q¹

La lactoferrina (Lf) es una proteína funcional reconocida por su potencialidad en aplicaciones biológicas, farmacológicas y nutraceuticas. En el presente estudio se pretendió obtener esta proteína mediante la clonación del gen de Lf bovina (bLf) para producirla de manera recombinante. Se desarrolló un método para producir bLf recombinante (rbLf) en un sistema de expresión en *E. coli*. Se construyeron los plásmidos pCRbLf53 y pCRbLf35 que contenían el gen de bLf en el vector de clonación pCRTPO 2.1 además del plásmido de expresión pET32bLf el cual fue introducido en células competentes BL21/DE3 que fueron inducidas para que expresaran la proteína recombinante. Los niveles de expresión de rbLf fueron analizados por Northern blot. Los mRNA's recombinantes de la bLf estuvieron presentes desde etapas tempranas después de la inducción del gen.

INTRODUCCIÓN

La lactoferrina (Lf) es una proteína no hemática de unión a hierro pertenece la familia de las transferrinas cuya función es el transporte de hierro en el suero sanguíneo (Shanbacher y col., 1992). Es producida en las mucosas de varios mamíferos entre ellos, los humanos, bovinos, caprinos, equinos, caninos y roedores. Esta glicoproteína se encuentra en secreciones mucosas incluyendo lágrimas, saliva, fluidos vaginales, semen (Van Der Strate, 2001), secreciones nasales y bronquiales, bilis, fluidos

gastrointestinales, orina (Öztaş Yeşim, 2005) entre otras. Sin embargo, es en la leche y principalmente en el calostro en donde se encuentra en mayor concentración (7 g/l) (Rodríguez y col., 2005). La Lf también está presente en el plasma sanguíneo y se encuentra en cantidades considerables en los gránulos secundarios de los neutrófilos (15 $\mu\text{g}/10^6$ neutrófilos) en donde juega un papel fisiológico importante. La Lf plasmática deriva de los neutrófilos y su concentración puede ser baja en condiciones normales o elevada en procesos inflamatorios, esto se debe a la degranulación celular durante las infec-

¹ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chihuahua. grascon@uach.mx

² Proteo/MU-Technology/, Monterrey, N.L.

ciones que trae como consecuencia la liberación de la Lf en el plasma (Drago, 2006).

La Lf posee una alta afinidad de unión a hierro y tiene la capacidad de retenerlo en un amplio rango de pH (Aisen y Leibman, 1972). Esta característica, su carga positiva y su distribución a lo largo de varios tejidos contribuyen a que esta proteína se considere multifuncional. La Lf está involucrada en diversas funciones fisiológicas, dentro de las que se incluyen la regulación de la absorción de hierro en el intestino, respuesta inmune, agente antioxidante, anticancerígeno, antiinflamatorio y principalmente la protección contra infecciones microbianas. La actividad antimicrobiana de la Lf se da principalmente por dos mecanismos, el primero se define como un mecanismo bacteriostático ya que refiere el secuestro de hierro en los sitios de infección privando al microorganismo de este nutriente. En el segundo mecanismo la Lf interactúa directamente con el agente infeccioso, la carga positiva de la molécula permite su interacción con moléculas aniónicas de superficies bacterianas, virales, de hongos y parásitos ocasionando la ruptura de la misma lo que trae como consecuencia la lisis celular (Rodríguez y col., 2005).

Durante el proceso inflamatorio la Lf se ve incrementada en el plasma sanguíneo en donde tiene la capacidad de modular la producción de citocinas proinflamatorias, promoviendo así la respuesta inmune celular y humoral en procesos inflamatorios agudos, por el contrario en procesos inflamatorios crónicos la Lf actúa inhibiendo la producción de estas citocinas (Conneely, 2001). Asimismo, durante procesos cancerígenos, la Lf tiene la capacidad de regular la producción de citocinas anticancerígenas y de actuar directamente inhibiendo el crecimiento de tumores o bloqueando el ciclo celular en células malignas.

Observando las capacidades fisiológicas de la Lf en la defensa del huésped sumado a las necesidades farmacéuticas y nutricionales que existen en la actualidad, la Lf es una proteína con uso potencial en ambos campos por lo que es considerada un nutraceutico y desde hace varias décadas hasta la fecha, los investigadores han buscado la manera

más conveniente de obtenerla, de tal forma que a la fecha la podemos obtener como Lf nativa, aislada principalmente de leche y calostro de mamíferos y Lf recombinante para la cual a través de los años se han empleado varios modelos de expresión dentro de los que se encuentran sistemas bacterianos, fúngicos y virales, además se ha logrado la expresión de esta proteína en organismos superiores como plantas y mamíferos.

En el presente trabajo se pretendió obtener la bLf mediante la clonación y expresión del cDNA que codifica para la bLf para producir la proteína de manera recombinante en un sistema de expresión en *E. coli*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento del RNA total y RNA mensajero

Para aislar el RNA total se partió de tejido de glándula mamaria de bovino raza Holstein el cual fue pulverizado en nitrógeno líquido y homogenizado en TRIZOL® Reagent (Invitrogen). Después de incubar el homogenizado a temperatura ambiente se realizó la extracción clorofórmica del RNA recuperándolo en la fase acuosa para después precipitarlo con isopropanol. Los RNA's mensajeros fueron purificados utilizando las perlas magnéticas poli-T Dynabead (DynaL, OSLO) a partir del RNA total.

Clonación de cDNA de bLf

El cDNA de la bLf fue sintetizado mediante la reacción de RT-PCR (Super-Script One step RT-PCR, Invitrogen) partiendo del RNA mensajero empleando dos juegos de iniciadores sintetizados con base en la secuencia de Lf reportada en la base de datos del NCBI para *Bos taurus* (BC116051) (Lacto5: CGCCAGCCATGAAGCTCT, Lacto3: AGGTAAAGCCTGCAAAGAAGC y Lacto5Bgl2: AGGAGATCTGCCATGAAG, Lacto3Sac1: AGGTAAAGCCTGAGCTCAAGC). El cDNA fue clonado en el vector pCR2.1 TOPO utilizando el kit TOPO TA Cloning (Invitrogen) y se transformaron las células competentes químicas de *E. coli* Mach1-

T1. Después de la transformación las clonas fueron analizadas mediante PCR con los iniciadores Lacto5 y Lacto3 así como con los iniciadores M13F y M13R que alinean con el vector y permiten amplificar el producto de clonación.

Expresión del cDNA de Blf

El cDNA de bLf fue clonado también en el vector de expresión pET-32a mediante la liberación del gen de bLf del plásmido pCRbLf53 con las enzimas de restricción SacI y EcoRV con las que también fue cortado el vector para permitir la clonación orientada del gen en pET32-a. Después de la transformación en las células competentes químicas de *E. coli* BL21/DE3 (Invitrogen), el análisis de las clonas obtenidas se realizó mediante digestión con enzimas de restricción que permitían la liberación del gen del vector. Las células con el plásmido que contenía el gen de bLf fueron crecidas en medio SOC por 6 horas y después inducidas a una concentración final de 1mM de IPTG.

Análisis de la expresión de Ralf

Para analizar los niveles de expresión del gen de bLf fueron recolectadas alícuotas de células a las 4, 8 y 12 horas después de la inducción. A estas células se les extrajo en RNA total mediante el método de TRIZOL® Reagent (Invitrogen) y éste fue analizado por Northern blot. El RNA total extraído de las células inducidas fue corrido electroforéticamente en un gel de agarosa en condiciones desnaturalizantes y transferido a una membrana de nylon Hybond™-N+ (Mnersham Biosciences). La membrana fue prehibridada por cinco horas e hibridada por 18 con la sonda específica de DNA pCRbLf53-Dig. Después de la hibridación se realizaron los lavados de astringencia a la membrana para retirar la sonda no hibridada, luego se incubó la membrana en un buffer con Anti-Dig AP que nos permitió detectar los niveles de expresión del RNA por quimioluminiscencia después de agregar el sustrato para la enzima.

RESULTADOS

Clonación del cDNA de Blf

A partir de tejido de glándula mamaria de bovino se obtuvo el RNA total y de éste el mRNA. La Figura 1 muestra el producto de la reacción de RT-PCR en donde se obtuvo el cDNA de bLf, el gel de agarosa muestra una banda de 2102 pb que corresponde al tamaño esperado (~2100 pb) la cual fue obtenida con ambos juegos de iniciadores. El cDNA fue clonado en el vector pCR2.1-TOPO y se transformaron las células de *E. coli* Mach1-T1 las cuales fueron cultivadas en medio LB con 100 µg/ml de ampicilina y X-gal que permitió la diferenciación de colonias transformadas (blancas) y no transformadas (azules). A las colonias transformadas se les extrajo el DNA plasmídico mediante lisis alcalina y posteriormente fue sometido a PCR utilizando los iniciadores Lacto5/Lacto 3 y M13F/M13R que permitieron la amplificación del fragmento insertado del vector. Los productos de PCR obtenidos fueron identificados en un gel de agarosa (Fig. 2) en donde se observan bandas de alrededor de 2200 pb para 3 de las clonas obtenidas.

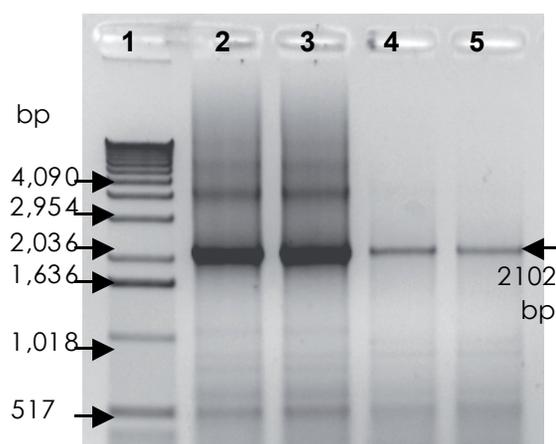


Figura 1. Obtención de cDNA de bLf a partir de tejido. Gel de agarosa 1%. El cDNA se obtuvo mediante RT-PCR a partir de mRNA utilizando iniciadores Lacto 5 y Lacto 3 (Carriles 2 y 3) y Lacto5Bgl2 y Lacto3SacI (Carriles 4 y 5). El carril 1 contiene el MWM 1Kb DNA Ladder.

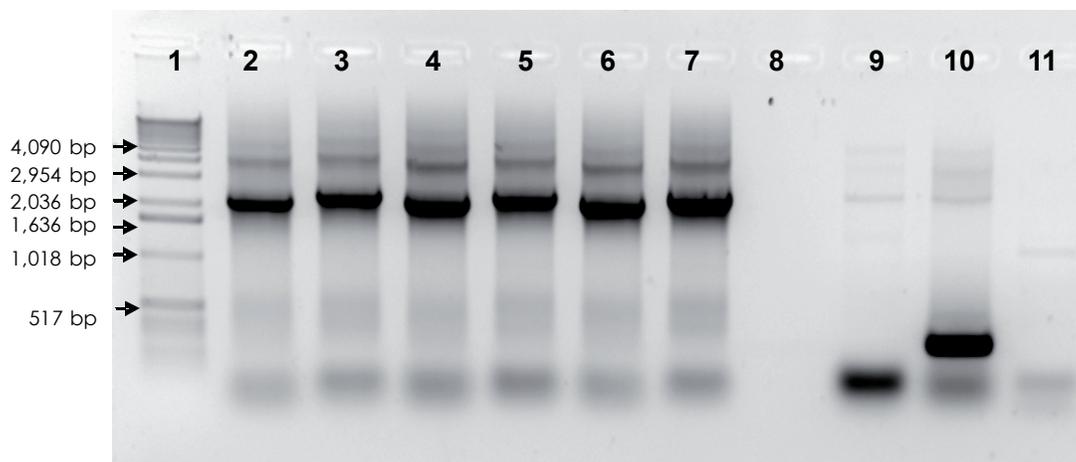


Figura 2. Caracterización de los cDNAs clonados de bLf. Gel de Agarosa 1% donde se separaron los productos de amplificación del cDNA de bLf que fueron clonados en el vector pCR 2.1-TOPO. Las clonas se analizaron por PCR utilizando los iniciadores Lacto 3 y Lacto 5 (carriles 2, 4 y 6) y M13 (3, 5 y 7). Carriles 9, 10 y 11 controles negativos. Carril: MWM 1Kb DNA.

A las tres clonas se les realizó un análisis de restricción con la enzima HindIII para determinar la orientación del gen en el vector con respecto al promotor T7 del vector. Se realizó un análisis de la secuencia del gen de bLf reportado para *Bos taurus* (BC116051) y se determinaron los sitios de digestión para la enzima HindIII identificando un sitio en la posición 880 del gen, además el mapa de vector indica que éste tiene un sitio HindIII que queda separado del promotor T7 por el fragmento clonado. Con los datos anteriores se diseñaron dos mapas de restricción posibles al cortar el plásmido con HindIII en los cuales el gen de bLf estuviera orientado en posición contraria en el vector (Fig. 3) y se llevó a cabo la digestión obteniendo dos patrones de bandeo diferentes. Como se puede observar en la Figura 4 en el carril 3 se obtienen bandas de 4761 y 1164 pb que de acuerdo a los mapas de restricción diseñados corresponden a la orientación 5'→3' y en el carril 6 se obtienen bandas de 5105 y 906 pb que corresponden a la orientación 3'→5'. Se caracterizaron entonces dos construcciones pCRbLf53 en donde el gen de bLf se clonó en orientación 5'→3' con respecto al promotor T7 y la construcción pCRbLf35 en donde el gen de bLf fue clonado con orientación 3'→5' con respecto al promotor (Fig. 5).

Expresión del cDNA de bLf

El plásmido pCRbLf53 fue cortado con las enzimas de restricción SacI y EcoRV que permitieron la liberación del cDNA de bLf de un peso aproximado a 2100 pb. Del mismo modo se realizó una doble digestión con las mismas enzimas en el vector pET-32a que nos permitió linearizar el vector con un peso de 5900 pb. El vector pET-32a y el fragmento de 2100 pb de bLf fueron ligados y con los productos de la ligación se transformaron químicamente las células competentes de *E. coli* BL21/DE3 (Invitrogen). Después de la transformación se analizaron las clonas obtenidas mediante digestión con las enzimas de restricción que se cortaron el inserto y el vector de tal manera que la clona de interés denominada pET32bLf nos dio un patrón de bandeo de 5900 pb y 2100 pb correspondientes a los pesos del vector y el inserto respectivamente (Fig. 6). Células BL21/DE3 que contenían el plásmido construido pET32bLf fueron inducidas para medir los niveles de expresión del gen. Además fueron utilizados 3 controles de expresión que consistieron en la cepa pura BL21/DE3 y cepa con el vector pET-32 las cuales fueron también inducidas y una cepa con el plásmido construido pET32bLf sin inducir.

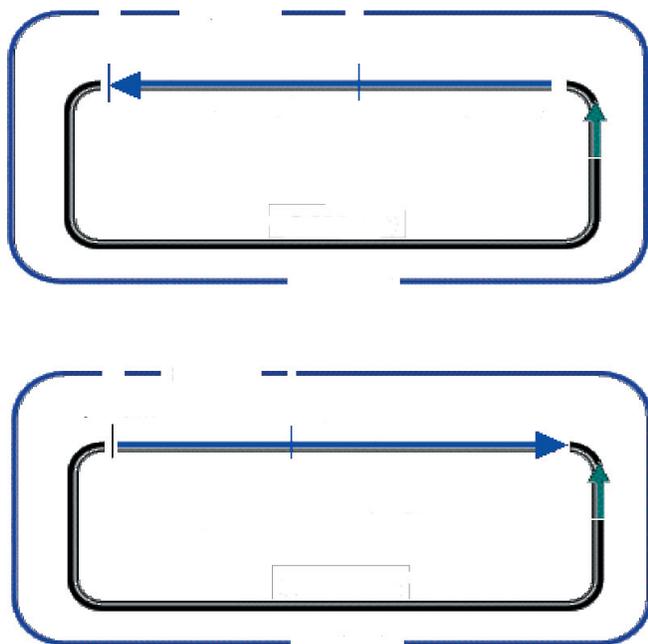


Figura 3. Diseño de mapas de restricción con HindIII de clonas obtenidas en el vector pCR2.1TOPO. Se diseñaron dos mapas de restricción en donde el gen de bLf clonado se encuentra en posición contraria y se determinaron los patrones de bandeo obtenidos con la enzima HindIII para los dos casos. Estos mapas permitieron determinar la orientación del gen de bLf en las clonas obtenidas en el vector pCR2.1TOPO.

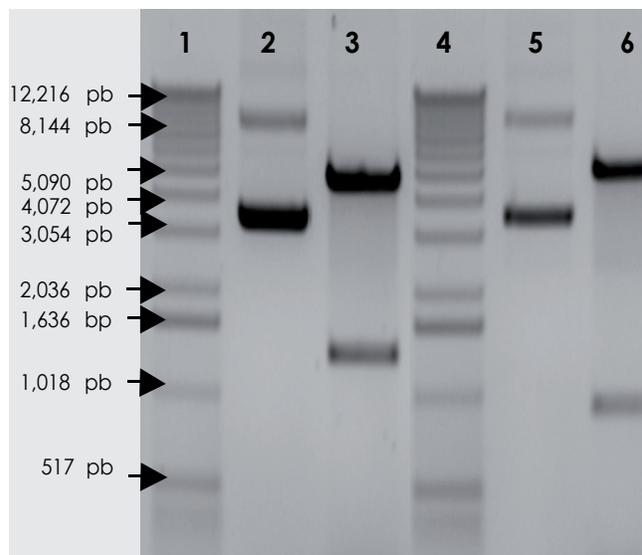


Figura 4. Determinación de la orientación del gen de bLf en el vector pCR2.1-TOPO. Gel de agarosa 1% con el producto de la digestión con HindIII de las clonas caracterizadas por PCR por tener el gen de bLF. Carriles 1 y 3: MWM 1Kb ladder. Carriles 2 y 4: DNA plasmídico sin cortar, carriles 3 y 6: clonas cortadas con HindIII.

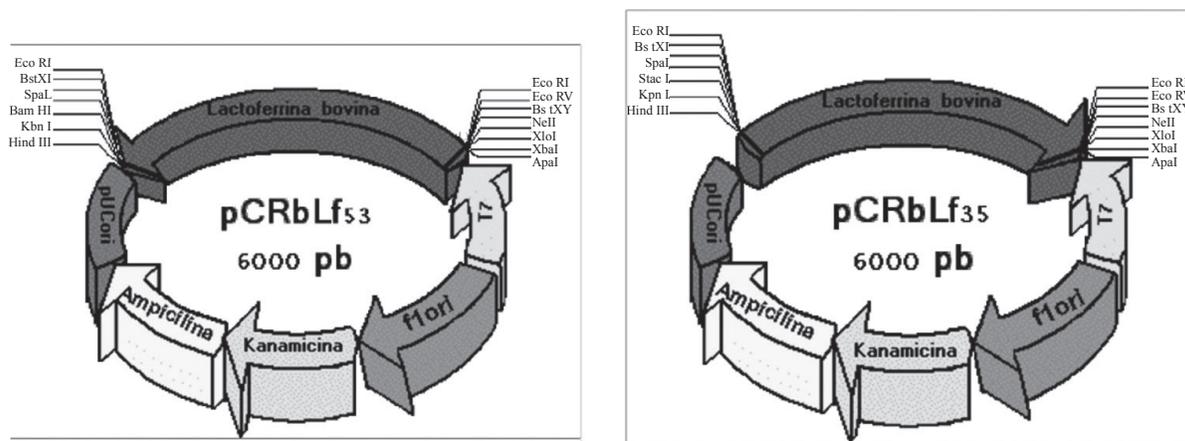


Figura 5. Construcciones obtenidas con el gen de bLf. De acuerdo a la caracterización mediante enzimas de restricción se determinaron dos diferentes construcciones plasmídicas que contiene el gen de bLf, pCRbLf53 en donde en gen de bLf se encuentra en orientación de 5' a 3'.

Analisis de la Expresión de Ralf

Después de la inducción con IPTG se recolectaron 3 ml de células a las 4, 8 y 12 horas después de la inducción. Después de la extracción del RNA total de las células inducidas el RNA fue analizado en un gel de agarosa en condiciones desnaturalizantes (Fig. 7) en donde se observó la integridad del RNA. El gel fue transferido a una membrana de nylon Hybond™-N+ y analizado por Northern blot (Fig. 8) en donde se puede observar que para los tres controles analizados: cepa BL21/DE3 inducida (carriles 2, 6 y 11), cepa con el vector pET-32a inducida (carriles 3, 7 y 12) y la cepa con la construcción pET32bLf sin inducir (carriles 4, 8 y 13) no existen señales de hibridación. Sin embargo para la clona que contenía el plásmido pET32bLf y que fue inducida (carriles 5, 9 y 14) se detectadas señales de hibridación a las 4, 8 y 12 horas después de la inducción.

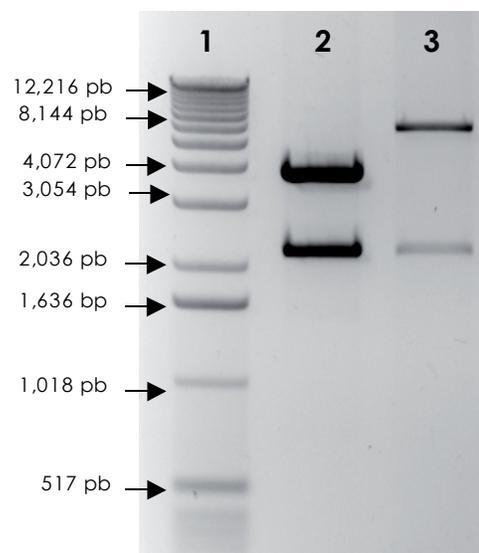


Figura 6. Caracterización de la clona pET32bLf. Gel de agarosa 1% con el producto de la digestión con SacI y EcoRV de la clona pET32bLf. Carril 1: MWM 1Kb, Carril 2: Clona pCRbLf53 cortada con SacI y EcoRV, Carril 3: Clona pET32bLf cortada con SacI y EcoRV.

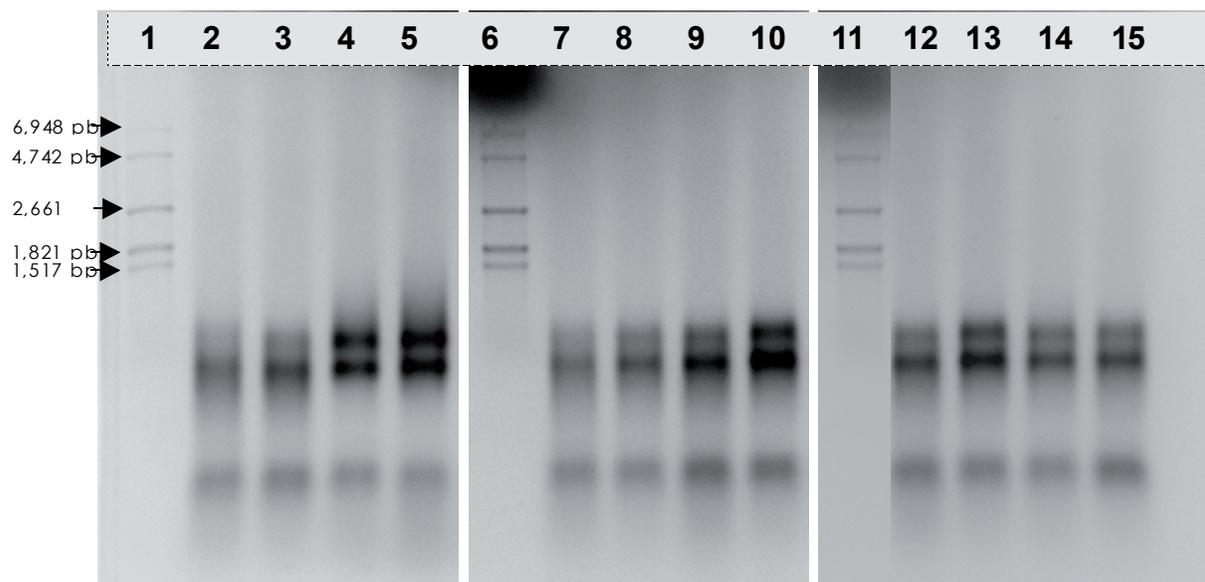


Figura 7. RNA total extraído de las células inducidas. Gel de agarosa 1% en condiciones desnaturalizantes. Carriles 1, 6 y 11: MWM RNA molecular weight marker II, digoxigenin-labeled (1.5-6.9 kb), Carriles 2, 7 y 12: RNA total extraído a las 4, 8 y 12 horas después de la inducción de las células BL21/DE3, Carriles 3, 8 y 13: RNA total extraído a las 4, 8 y 12 horas después de la inducción de las células con el vector pET-32a, Carriles 4, 9 y 14: RNA total extraído a las 4, 8 y 12 horas sin inducción de las células con el plásmido construido pET32bLf, carriles 5, 10 y 15: RNA total extraído a las 4, 8 y 12 horas después de la inducción de las células con el plásmido construido pET32bLf.

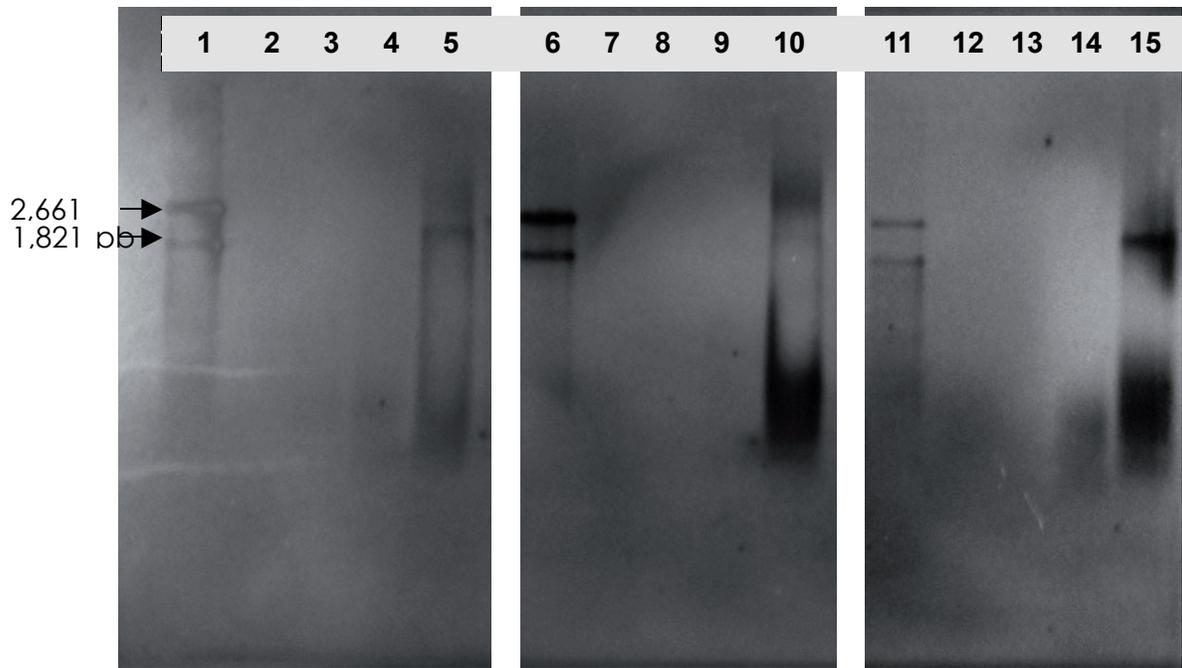


Figura 8. Detección de RNA de bLf. Northern blot de RNA total extraído de las células inducidas utilizando la sonda de DNA pCRbLf53-Dig y el anticuerpo antidigoxigenina acoplado a una fosfatasa alcalina. Revelado por quimioluminiscencia después de exponer al sustrato de la enzima. Carriles 1, 6 y 11: MWM RNA molecular weight marker II, digoxigenin-labeled (1.5-6.9 kb), Carriles 2, 7 y 12: RNA total extraído a las 4, 8 y 12 horas después de la inducción de las células BL21/DE3, Carriles 3, 8 y 13: RNA total extraído a las 4, 8 y 12 horas después de la inducción de las células con el vector pET-32a, Carriles 4, 9 y 14: RNA total extraído a las 4, 8 y 12 horas sin inducción de las células con el plásmido construido pET32bLf, carriles 5, 10 y 15: RNA total extraído a las 4, 8 y 12 horas después de la inducción de las células con el plásmido construido pET32bLf.

CONCLUSIONES

Se clonó y caracterizó el cDNA que codifica para la Lf bovina con un tamaño aproximado de 2100 pb muy cercano al tamaño reportado en la literatura logrando la construcción de dos plásmidos con el gen de bLf orientado en posición contraria en el vector. Se logró además la construcción de un plásmido de expresión que contiene el gen el cual después de

ser inducido mostró niveles de expresión de RNA del gen con el peso molecular correspondiente al de la bLF.

Este trabajo podría proveer de rbLf para su aplicación en diferentes áreas principalmente en la industria alimenticia mediante la suplementación de alimentos tanto para el consumo humano como animal con el objetivo de agregarles un valor nutricional extra a beneficio de los consumidores.

REFERENCIAS

- Aisen, P. y A. Leibman (1972). "Lactoferrin and transferrin: a comparative study". *Biochim. Biophys.* 257, 314-323.
- Connely, O.M. (2001). "Antiinflammatory activities of lactoferrina". *J. Am. Coll. Nutr.* 20, 389S-395S.
- Drago, S.M.E. (2006). "Actividades antibacterianas de la lactoferrina". *Enf. Inf. Microbiol.* 26, 58-63.
- Öztaş Yeşim, E.R. y N. Özgüneş. (2000). "Lactoferrin: A multifunctional protein". *Adv. Mol. Med.* 1, 149-154.
- Rodríguez, D.A., L. Vázquez y G. Ramos (2005). "Actividad Antimicrobiana de la lactoferrina: Mecanismos y aplicaciones clínicas potenciales". *Rev. Latinoam. Microbiol.* 47,102-111.
- Shanbacher, F.L., R.E. Goodman y R.S. Talhouk (1992). "Bovine mammary lactoferrin: Implications from messenger ribonucleic acid (mRNA) sequence and regulation contrary to other milk proteins". *J. Dairy Sci.* 76, 3812-3831.
- Van Der Strate, B.W.A., L. Belijaars, G. Molema, M.C. Harmsen y D.K.F. Meijer (2001). "Antiviral activities of Lactoferrin". *Antiviral Res.* 52, 225-239.

Calidad nutricional de avena forrajera en suelos tratados con biosólidos y agua residual en el Valle de Juárez, Chihuahua

Flores Márgez, JP¹; Sapién Mediano, G¹; Corral Díaz, B¹; Figueroa Viramontes, U²

El agua residual y el uso potencial de biosólidos en la agricultura del Valle de Juárez son factores estratégicos para mejorar la calidad nutricional de los forrajes y la productividad de los suelos en la región. El estudio se realizó en el Rancho Universitario de la UACJ, localizado en el municipio de Praxedis G. Guerrero, Chihuahua. El estudio consistió en evaluar el efecto de los biosólidos estabilizados con cal en la respuesta agronómica y nutricional de la avena forrajera (*Avena sativa* L.) en suelos irrigados con agua residual. Los tratamientos fueron el testigo, 200, 400 y 600 kg de nitrógeno total Kjeldahl (NTK) ha⁻¹ de biosólidos, distribuidos en un diseño experimental de bloques completos al azar con ocho repeticiones. El mayor incremento en proteína cruda en hoja (8.9%), tallo (3.1%) y planta entera (6%) fue obtenida con 400 kg NTK ha⁻¹; no se observaron diferencias en rendimiento, altura de planta, FDN, PC en grano, atribuido al alto contenido de N en agua de riego.

INTRODUCCIÓN

En el estado de Chihuahua los cultivos forrajeros son de gran importancia, ya que son una fuente de nutrientes para los animales destinados a la producción de carne y leche (Terrazas *et al.*, 2002). La avena forrajera es la especie más extendida y

utilizada como forraje de invierno (Barnes *et al.*, 1995). En 1999 el estado llegó a ocupar el primer lugar a nivel nacional en producción de avena grano y avena forrajera (INEGI, 2000), mientras que en el ciclo agrícola 2006 se cultivaron 95 321 ha a nivel nacional de las cuales 11 749 ha se sembraron en el estado de Chihuahua (Sagarpa, 2008).

¹ Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ), Anillo Pronaf y Estocolmo s/n, Ciudad Juárez, Chihuahua. juflores@uacj.mx.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), Campo Experimental La Laguna, Torreón, Coah.

La producción de forraje en el Valle de Juárez, Chihuahua, se realiza con aguas negras o aguas residuales que se generan en Ciudad Juárez. También se han realizado aplicaciones de lodos residuales o biosólidos estabilizados con cal en cultivos forrajeros a nivel experimental y comercial desde el año 1999 (Figuroa *et al.*, 2008; Flores *et al.*, 2008). La producción de biosólidos se ha incrementado hasta 84 217 toneladas por año y con ello, su potencial de uso como fertilizante orgánico y mejorador de suelos para elevar el valor nutritivo de los cultivos (Poncio, 2008; JMAS, 2006). Aunque el agua residual y los biosólidos tienen la ventaja de aportar nutrientes para los cultivos, también tienen el inconveniente de aportar metales pesados y microorganismos patógenos, lo cual representa un riesgo de contaminación cuando no se analizan, manejan y aplican adecuadamente (USEPA, 1995).

La calidad nutritiva de los forrajes se determina con base seca o materia seca (MS) lo que representa el contenido de todos los componentes excepto el agua; las cenizas es el residuo de la combustión total del alimento; el extracto etéreo es un estimador de las grasas y aceites; la proteína cruda (PC) representa el total de los compuestos nitrogenados, principalmente proteínas; la fibra cruda es el residuo teóricamente insoluble que incluye celulosa, hemicelulosa y lignina; el extracto libre de nitrógeno corresponde a los hidratos solubles y energía bruta que son las calorías que se obtienen de la combustión completa del alimento en un calorímetro adiabático (Alba, 1971). La fibra detergente neutra (FDN) corresponde a la pared celular de la planta, la fibra detergente ácida (FDA) determina celulosa y lignina principalmente (Church, 1977).

La cantidad de nutrientes absorbidos por la planta de avena forrajera es de 106, 20 y 118 kg ha⁻¹ de N, P y K, respectivamente, incluyendo grano y forraje (Havlin *et al.*, 1999). El forraje de avena presenta como cualidad una alta palatabilidad, además en edad temprana del cultivo predominan el contenido de carbohidratos solubles y PC (Church, 1977). La composición química de la avena es: 82 a 88% de agua, 17.8 a 18.1% de MS, 1.7 a 2% de PC, 0.4 a 0.6% de grasas, 5.8 a 6.5 de fibras, 1.6 a

1.7 % de cenizas (Juscafresa, 1983), 62 % de FDN, 39 % de FDA (NRC, 1988).

La calidad nutricional de la avena forrajera es afectada por el sistema de labranza, cultivos anteriores, el clima (Melgar y Díaz, 1997), fecha de siembra, variedad, frecuencia de corte y fertilización (Esqueda, 1994). De los factores mencionados, uno de los más importantes es la fertilización al suelo, ya que provee de nutrientes necesarios a la planta para aprovechar su máximo potencial de crecimiento y producción (Havlin *et al.*, 1999). Además de conocer el aporte de cada nutriente en forma total en el suelo, debe de hacerse un análisis sobre qué cantidad de ellos están en formas aprovechables para las plantas y con ello evaluar la necesidad de fertilizar.

A lo largo de varios años de investigación se ha encontrado que cuando se aplica un fertilizante nitrogenado al suelo, se incrementa la producción de forraje. Uno de estos estudios fue realizado por Melgar y Díaz (1997) donde se evaluó la aplicación de 250 kg ha⁻¹ de fertilizante nitrogenado. En este estudio se encontró una producción de tres veces más en el tratamiento con fertilización, debido principalmente al aumento de oferta de N y otros nutrientes como el P por el fertilizante. Puoli *et al.* (1991) mencionan que en dosis de 75 kg N ha⁻¹ como urea incrementan los niveles de PC en un 21 a 30%, MS entre 11 y 16%, mientras que los minerales, FC y la digestibilidad no se alteran.

Las aguas negras o residuales varían mucho en sus características, por ejemplo las utilizadas para el riego agrícola en el Valle de Juárez, Chihuahua tienen un pH de 7.35 a 8.3, conductividad eléctrica 1100 a 3750 $\mu\text{S m}^{-1}$, relación de absorción de sodio 3.69 a 6.47, dureza total 271 a 487 mg L⁻¹, alcalinidad 192 a 355 mg L⁻¹, nitratos 0.2 a 0.04 mg L⁻¹, P 1.1 a 8.2 mg L⁻¹ (Flores, 2006). Este autor menciona que se pueden aportar de 10 a 20 kg N ha⁻¹ en cada riego de auxilio, lo cual tiene efecto en la nutrición de las plantas cultivadas. En una región similar, el Valle del Mezquital, Estado de Hidalgo, México, se encontró un aumento significativo en la producción agrícola de la alfalfa al utilizar agua residual, ya que se proporcionaban 320 kg ha⁻¹ año⁻¹ de N y 140 kg ha⁻¹ año⁻¹ de P, lo que representa entre un 63 y

81% del total de N y más del doble de P de lo que requiere la alfalfa por año (Siebe y Cifuentes, 1997). Ippolito *et al.* (1999) en un estudio para evaluar los efectos del agua residual a diferentes láminas de riego en el cultivo de algunos forrajes (*Bouteloua gracilis* y Blue grama) en un suelo tratado con biosólidos, encontraron que al aumentar la cantidad de agua residual, la producción de MS aumentó. Sin embargo, el contenido de P en la planta disminuyó. En cultivos como la avena y el trigo se utiliza más eficientemente el N contenido en las aguas residuales, que el N contenido en un fertilizante químico para aumentar la producción y la PC, aunque estos efectos positivos no se observan en los nutrientes digestibles *in vitro* (Day *et al.*, 1961).

La mayoría de los compuestos removidos en el tratamiento del agua residual finalizan en los biosólidos (USEPA, 1999), permitiendo que éstos sean utilizados como abono orgánico. Los biosólidos contienen en peso seco: 45 a 70% de materia orgánica, 3 a 8% de N, 1.5 a 3% P, 0.1 a 0.6%K, 1 a 4% Ca, 0.4 a 0.8%Mg y 0.6 a 1.3%S. Los biosólidos pueden aportar hasta 575 kg de materia orgánica y 55 kg de N por tonelada, cantidad suficiente para el desarrollo de un ciclo de cultivo. Además, los resultados de la capacidad de mineralización de N en biosólidos indican que puede descomponerse entre 7 y 20% del N orgánico dependiendo del ciclo de cultivo (Flores *et al.*, 2008). Debido a que el N es el nutriente utilizado en mayor cantidad por los cultivos, generalmente la dosis de biosólidos se basa en la cantidad de este nutriente (Gilmour y Skinner, 1999; Adjei y Rechcigl, 2002), aunque el P, nitratos y elementos trazas pueden ser críticos en ciertas condiciones ambientales (Cogger *et al.*, 2001).

El primer estudio de evaluación de biosólidos generados en Ciudad Juárez fue conducido por Flores *et al.* (2001), estos autores concluyeron que debido a que los biosólidos resultaron de excelente calidad en base a metales pesados, podrían ser utilizados como fuente de nutrientes y mejoradores de suelo. El contenido de materia, N orgánico e inorgánico, Mg, Na, CO₃, y HCO₃ aumentaron con la aplicación de biosólidos, mientras que el contenido de sales y pH del suelo permanecieron

sin variación. Los estudios en Delicias, Chihuahua indican que para maíz y algodón, la aplicación de 10 hasta 40 ton ha⁻¹ de biosólidos, muestran incrementos importantes en el rendimiento, si se compara con un cultivo fertilizado químicamente además estas dosis de aplicación tienen una respuesta de rendimiento muy similar, por lo cual se puede asumir que no es necesario aplicar dosis mayores a 10 ton ha⁻¹ y con ello se reduce los efectos de contaminación por metales tóxicos en el suelo (Uribe *et al.*, 2002). Utilizando una dosis adecuada de biosólidos se pueden obtener los beneficios en el cultivo forrajero ya mencionados, aunque para datos agronómicos como la densidad de plantas emergidas y cosechadas, altura de la planta, etapa fenológica a la cosecha e inclusive MS no se aprecia ningún efecto (Flores *et al.*, 2003). El rendimiento de los cultivos puede incrementarse aún y cuando la dosis de N proporcionada por los biosólidos no alcance a satisfacer la demanda del cultivo. La razón de que aún y cuando los niveles de N no sean alcanzados por los biosólidos y se obtenga una respuesta favorable en cuanto a la producción de materia seca, se debe al efecto que tiene la materia orgánica y los micronutrientes que proporcionan los lodos, de hecho, la materia orgánica puede aumentar en el suelo hasta uno por ciento (Quintero *et al.*, 1998).

En cuanto a la calidad nutritiva del forraje, los biosólidos aplicados en suelos semiáridos incrementan la concentración en las plantas de la PC y algunos nutrientes como P, K, Zn, Cu, con la aplicación de una tasa óptima de 45 Mg ha⁻¹ (Fresquez *et al.*, 1990). Un efecto adicional que tienen los biosólidos es la alteración de la calidad del agua que tiene contacto con ellos, un ejemplo de lo anterior es el aumento en la conductividad eléctrica, así como de los siguientes nutrientes: nitratos, amonio, fosfatos, Cu y Mn. De los nutrientes mencionados uno de los más abundantes es el amonio, que en determinado momento puede hacer que el agua no sea apta para el consumo animal. Por otro lado, la presencia de fosfatos puede ayudar a la eutroficación del agua (Rostagno y Sosebbe, 2001). La literatura actual proporciona cierta información sobre los cultivos en suelos tratados con biosólidos e irrigados con

agua residual. Sin embargo, esta información no se enfoca al efecto que tienen éstos sobre la calidad nutricional de los forrajes, por tal razón, los objetivos del presente estudio fueron evaluar el efecto de dosis de biosólidos y agua residual en la calidad nutricional de la avena forrajera y cambios del N en el suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en terrenos del Campo Experimental Valle de Juárez (CEVAJ) dependiente del INIFAP, localizado en el municipio de Praxedis G. Guerrero, a 4 km del Río Bravo con una latitud norte de 31° 21' y longitud oeste de 106° 00'. La altitud es de 1,135 msnm, una precipitación y temperatura media anual de 264.5 mm y 18° C, respectivamente (INEGI, 2000). El experimento inició en el mes de octubre de 2002, con una duración de diez meses tomando en cuenta la fase de campo y análisis de laboratorio.

El suelo donde se realizó el estudio fue de la Serie Juárez (fine-silty, mixed, calcareous, thermic typic Torrifuvents), presentó una textura franco, con una densidad aparente de 1.6 t m⁻³, pH de 8.17, conductividad eléctrica de 3.63 dS m⁻¹, 0.9 % de materia orgánica y 28 mg kg⁻¹ de N inorgánico. El área experimental total fue de una hectárea. La preparación del suelo consistió en un barbecho a 30 cm y un rastreo con discos, cruza y nivelación. Las unidades experimentales fueron de 180 m² (18 x 10 m). Los tratamientos consistieron en cuatro dosis de biosólidos con una composición de 64.75 % de humedad y 1.65 % de N, calculados en base a nitrógeno total: 200, 400, 600 kg de N ha⁻¹ y un testigo sin biosólidos. Estas dosis correspondieron a 9.8, 19.7 y 29.5 ton ha⁻¹ de biosólidos en base a peso seco, respectivamente. El diseño experimental utilizado fue en bloques al azar con ocho repeticiones. Una vez preparado y analizado el terreno de siembra se continuó con la aplicación de los biosólidos dos semanas antes del riego de pre-siembra utilizando una estercoladora marca Pro Twin Slinger Knight 8030. Los biosólidos, fueron incorporados inmediatamente con un paso de rastra, para reducir la atracción de

vectores como moscas y roedores.

El tipo de agua de riego incluyó agua de pozo por bombeo y agua residual tratada, proveniente de Ciudad Juárez. Después del riego de pre-siembra se realizaron cuatro más con una periodicidad de 30 días y una lámina de riego de 15 cm. La siembra de la avena forrajera variedad Monaida se realizó el 16 de diciembre de 2002. El manejo del cultivo se llevó a cabo conforme al paquete tecnológico generado por el INIFAP para la región, el cual consistió en la aplicación de 200 kg ha⁻¹ de semilla. La cosecha de la avena fue a los 140 días, cuando la planta se encontraba en un estado fenológico de grano lechoso-masoso. Se tomaron tres muestras de 1.0 m² por cada unidad experimental, a cada una de estas muestras se le realizaron análisis de respuesta agronómica y calidad nutritiva de la avena. Para los análisis de laboratorio, las muestras fueron secadas a 65°C hasta peso constante y se molieron en un aparato de molienda Wiley con malla de 1 mm, se almacenaron en recipientes de plásticos con tapaderas para los análisis posteriores.

La respuesta agronómica de la avena forrajera a la aplicación de biosólidos fue evaluada mediante las características agronómicas: densidad y altura de la planta, longitud de panícula, contenido de agua, número de tallos cosechados y rendimiento en fresco y en seco. La calidad nutricional: PC a los 51 días después de siembra, PC en hoja, PC en tallo, PC en grano, y para planta entera PC y FDN. Densidad de plantas, altura, número de tallos cosechados se hizo por conteo directo al tiempo de cosecha. De cada parcela útil (1 m²) se pesó directamente la avena cosechada en fresco, se colectaron 200 g de forraje fresco para secarse en una estufa a 65°C hasta peso constante y cuantificar así el rendimiento de forraje en base seca. Este mismo procedimiento se aplicó a las muestras tanto de tallo como a hoja y grano, las cuales consistieron en 3 plantas por parcela útil. Tanto a los biosólidos como el suelo, grano, tallo y hoja de la planta se les determinó NTK (nitrógeno total Kjeldahl), el contenido de PC en grano, hoja y tallo se estimó multiplicando el NTK por el factor de conversión 6 (AOAC, 2000). Para la determinación de FDN en el forraje se utilizó el Método Van Soest

modificado por Chai y Uden (1998).

El contenido de materia orgánica (en suelo) se analizó mediante el método Walkley y Black (Nelson y Sommers, 1996). La textura del suelo se determinó con el método del hidrómetro de Boyoucos, el pH y la conductividad eléctrica se midieron con un potenciómetro y conductímetro, respectivamente en una pasta de saturación de suelo. El N inorgánico (amonio y nitratos) se analizó en agua de riego y suelo mediante un aparato de destilación por arrastre de vapor en presencia de óxido de magnesio y aleación de Devarda (Mulvaney, 1996).

La variable tallos cosechados se incluyó en este estudio para confirmar una condición similar entre tratamientos o bien con la finalidad de realizar ajustes mediante covarianza para rendimiento de forraje. Además, un análisis de regresión fue realizado entre proteína cruda en hoja y dosis de biosólidos. El análisis estadístico de los datos de suelo, respuesta agronómica y calidad del forraje fue realizado mediante análisis de varianza y prueba de promedios de la Diferencia Mínima Significativa (DMS), para ello se utilizó el paquete computacional SAS (SAS, 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables agronómicas

La cantidad de plantas emergidas por metro lineal o densidad de plantas al inicio del ciclo de cultivo de avena forrajera, no fueron afectadas significativamente por las dosis de biosólidos evaluadas en este estudio ($P > 0.05$), lo cual resultó importante ya que no se afecta la germinación y emergencia de plantas cuando se requiera el uso de dosis altas de biosólidos. El número de plantas varió entre 72 y 75 por metro lineal (Cuadro 1), con mayor densidad en la dosis de 600 kg NTK ha⁻¹. El éxito de un cultivo inicia con un buen establecimiento, por lo que en el presente estudio se logró 365 plantas m⁻², superior a las 250 plantas m⁻² reportadas por Infoagro (2002).

Así también, la altura de las plantas de avena no fueron diferentes significativamente entre tra-

tamientos ($P > 0.05$), variando de 155 a 159 cm con valor mayor en el tratamiento de 200 kg NTK ha⁻¹. Estas alturas de planta resultaron superiores a 104 cm tradicionalmente observados en la variedad utilizada, lo cual se atribuyó al N aportado por el agua de riego. Similarmente, la longitud de panícula no fue afectada significativamente por la dosis de biosólidos ($P > 0.05$) y varió entre 23 y 25 cm, con mayor longitud en la dosis de 400 kg NTK ha⁻¹ (Cuadro 1). Al respecto, Benton y Wester (1998) al evaluar diferentes dosis de biosólidos sobre *Hilaria mutica* y *Sporobolus tiroides* encontraron que con el incremento de 34 y 90 Mg ha⁻¹ de biosólidos, las plantas fueron 120 % más altas. Esto indica que todos los tratamientos recibieron y respondieron a la mayor cantidad de nitrógeno disponible del requerido para su desarrollo fisiológico (Havlin *et al.*, 1999).

El contenido de agua en el forraje fue mayor significativamente ($P < 0.05$) con la dosis de 200 kg NTK ha⁻¹ (Cuadro 1) y varió en promedio entre 76 y 78%, así también fue diferente entre bloques debido al gradiente de riego. Este porcentaje de agua en el forraje de avena es similar al reportado por Flores *et al.* (2003) para una pradera de rye grass que fue de 71 a 77%. La mayor cantidad de tallos cosechados fue de 1652 tallos en 3 m², se observó en el tratamiento con 600 kg NTK ha⁻¹ (Cuadro 1). Esto confirma que los biosólidos en dosis altas tienen efecto positivo a ciertas dosis en el desarrollo y producción del cultivo, lo cual también fue reportado por Figueroa *et al.* (2008).

El rendimiento de forraje fresco y seco no fue diferente significativamente entre tratamientos ($P > 0.05$), el promedio mayor fue de 77 t ha⁻¹ en fresco obtenido con la dosis de 200 kg NTK ha⁻¹, mientras que el rendimiento de materia seca mayor fue de 17.3 t ha⁻¹ con el tratamiento de 600 kg NTK ha⁻¹ (Cuadro 1). Aún después del análisis de covarianza por tallos cosechados no se detectó efecto significativo. La falta de efecto de las dosis de biosólidos fue atribuido a la gran cantidad de N inorgánico aportado por el agua de riego, la cual fue de 130 kg ha⁻¹, suficiente para la demanda de N de la avena forrajera que es de 106 kg ha⁻¹ (Havlin *et*

al., 1999). Ippolito *et al.* (1999) mencionaron que al cultivar forrajes con aguas residuales y biosólidos, que mientras la dosis de biosólidos se mantuviera constante, la aplicación del agua residual aumentaría la producción de materia seca del cultivo, dado que ésta es una fuente importante de nutrientes.

Calidad del forraje

En el presente estudio se realizó un muestreo a los 51 días después de siembra para determinar el contenido de PC en planta, con la finalidad de simular el primer corte de avena cuando ésta es utilizada para pastoreo directo. Al respecto, no se detectó efecto significativo ($P > 0.05$) de las dosis de biosólidos en la concentración de PC en dicho lapso de tiempo (Cuadro 2). En dicha etapa fenológica, el contenido de PC en promedio varió entre 18.5 y 19.7% y fue

mayor con la dosis de 400 kg NTK ha⁻¹. Sin embargo, al momento de la cosecha se detectó efecto significativo de las dosis de biosólidos en la PC de la hoja ($P < 0.05$), la cual fue en promedio de 8.9% en el tratamiento con 600 kg NTK ha⁻¹. Así también, el contenido de PC en tallo a la cosecha fue diferente entre tratamientos con valor mayor (3.11%) en la dosis de 400 kg NTK ha⁻¹. En contraste, el contenido de PC en el grano de avena no fue diferente significativamente entre tratamientos y varió entre 9.6 y 10.5%, siendo mayor con la dosis de 400 kg NTK ha⁻¹ (Cuadro 2). Este resultado fue similar a lo reportado por Infoagro (2002) de 10% para proteína en grano de avena. Day *et al.* (1961) evaluaron el contenido de PC en avena (variedad Palestina) quienes reportaron que irrigar esta planta con aguas negras incrementa el contenido de proteína de 13.68 a 16.26%.

Variable agronómica	0 200 400 600			
	(Biosólidos: kg NTK ha ⁻¹)			
Plantas emergidas por metro lineal	72 ± 2.59 ^{a*}	72 ± 3.06 ^a	74 ± 3.13 ^a	75 ± 2.81 ^a
Altura de planta (cm)	155.5 ± 2.14 ^a	159.6 ± 1.55 ^a	156.4 ± 1.45 ^a	155.7 ± 0.99 ^a
Longitud de panícula (cm)	23.8 ± 0.69 ^a	23.6 ± 0.81 ^a	25.2 ± 0.62 ^a	23.9 ± 0.75 ^a
Contenido de agua en forraje(%)	77.5 ± 0.52 ^{ab}	78.2 ± 0.45 ^a	76.8 ± 0.49 ^b	77.3 ± 0.51 ^{ab}
Tallos cosechados (3m ²)	1581 ± 30 ^{ab}	1501 ± 30 ^{bc}	1482 ± 33 ^c	1652 ± 42 ^a
Rendimiento de forraje fresco (t ha ⁻¹)	76.48 ± 2.71 ^a	77.45 ± 1.72 ^a	74.03 ± 2.29 ^a	76.5 ± 2.18 ^a
Rendimiento de forraje seco (t ha ⁻¹)	17.08 ± 0.6 ^a 16.89 ^{a**}	16.80 ± 0.39 ^a 17.15 ^a	17.13 ± 0.68 ^a 17.60 ^a	17.26 ± 0.54 ^a 16.61 ^a

* Medias seguidas por la misma letra en la misma hilera son estadísticamente iguales a un nivel de significancia de 0.05.
 ** Medias corregidas después del análisis de covarianza entre rendimiento y tallos cosechados.
 ± Error estándar con n=24.

Cuadro 1. Promedio de las variables agronómicas registradas en avena forrajera para los tratamientos de biosólidos en el Valle de Juárez, Chihuahua, 2003.

Al analizar la PC en la planta entera, es decir, al incluir hoja, tallo y grano, se observó efecto significativo entre la dosis de biosólidos ($P < 0.05$), lo cual coincidió a lo casos anteriores en que la dosis de 400 kg NTK ha⁻¹ fue en promedio de 6%, mientras que el testigo presentó 5.1% de PC. Además, en el presente estudio se observó una relación lineal significativa ($P < 0.05$) entre las dosis de biosólidos y el contenido de PC en la hoja, de la cual se generó la siguiente ecuación: $\% PC = 7.52 + 0.0026 X$; $R^2 = 0.8473$). Esto coincide con lo reportado por Torres y Melgar (1998), quienes observaron un aumento en el contenido de PC en la avena tratada con fertilizante nitrogenado.

El contenido de PC en la avena en este estudio disminuyó de 19.7 a 6% entre la etapa de amacollamiento a la de cosecha (grano lechoso-masoso). Esto coincide con lo reportado por Church (1977) quien menciona que al comienzo del crecimiento, las gramíneas como la avena tienen un elevado contenido de proteínas y disminuye conforme la

planta madura, ya que se van perdiendo hojas que tienen un mayor valor nutritivo que el resto de la planta, este mismo autor reporta como promedio de ocho gramíneas el efecto de la madurez sobre el contenido de PC. Así, en estado vegetativo presentan 17.8%, inflorescencias a media emergencia 12.4% y semillas en estado pastoso 6.8%.

Con respecto a la FDN, no se detectó efecto significativo entre tratamientos (Cuadro 2) y varió en promedio de 34.6 a 35.3%, con valor mayor en la dosis de 600 kg NTK ha⁻¹. Cuomo y Anderson (1996) mencionaron que la aplicación de fertilizantes nitrogenados no afecta la concentración de FDN en *Panicum virgatum* L, *Andropogon yeraldii* y *Sorghastrum nutans*. En contraste, en un estudio donde se aplicaron las dosis de 0, 50 y 100 kg N ha⁻¹ en avena se incrementó 42.8 a 48.3, y 49.9% la FDN, respectivamente, aunque en este caso la fertilización nitrogenada disminuyó el contenido de carbohidratos solubles (Romero y Bruno, 2000; Torres y Melgar, 1998).

Variable	0	200	400	600
	(Biosólidos: kg NTK ha ⁻¹)			
Proteína en hoja a 51 dds (%)	19.42 ± 0.58 ^{a*}	18.64 ± 0.48 ^a	19.66 ± 0.38 ^a	18.55 ± 0.53 ^a
Proteína en hoja final (%)	7.27 ± 0.76 ^b	8.45 ± 1.02 ^{ab}	8.49 ± 0.95 ^{ab}	8.99 ± 0.77 ^a
Proteína en tallo (%)	2.31 ± 0.16 ^b	2.08 ± 0.12 ^b	3.11 ± 0.35 ^a	2.27 ± 0.15 ^b
Proteína en grano (%)	9.68 ± 0.51 ^a	10.47 ± 0.68 ^a	10.39 ± 0.71 ^a	10.09 ± 0.58 ^a
Proteína en planta entera (%)	5.13 ± 0.21 ^c	5.74 ± 0.16 ^{ab}	6.01 ± 0.32 ^a	5.37 ± 0.17 ^{bc}
FDN en planta entera (%)	34.78 ± 0.44 ^a	34.75 ± 0.37 ^a	34.68 ± 0.36 ^a	35.26 ± 0.57 ^a
* Medias seguidas por la misma letra en la misma hilera son estadísticamente iguales a un nivel de significancia de 0.05.				
± Error estándar. FDN con n = 16 y las demás variables con n = 8.				

Cuadro 2. Promedios de las variables de calidad del forraje evaluadas en diferente dosis de biosólidos en el Valle de Juárez, Chihuahua, 2003.

N total (NTK) en la planta y suelo

La cantidad de N absorbido por el cultivo fue mayor significativamente ($P < 0.05$) con la dosis de 400 kg NTK ha⁻¹ con un rango promedio entre 139 y 163 kg ha⁻¹ (Cuadro 3). Así también, el contenido de NTK del suelo aumentó significativamente conforme se incrementó la dosis de biosólidos ($P < 0.05$), es decir la dosis con 600 kg NTK ha⁻¹ mostró la concentración mayor de NTK del suelo. En promedio, los valores de NTK del suelo variaron desde 1,276 kg ha⁻¹ en el suelo sin biosólidos (testigo) hasta 1,748 kg ha⁻¹ en la dosis mayor de biosólidos. Esto confirma el efecto positivo de las dosis crecientes de biosólidos en la fertilidad del suelo. De acuerdo a la literatura sobre descomposición de biosólidos, se estima que de 7 a 30% del N orgánico en biosólidos se transforma en inorgánico por la acción de los microorganismos del suelo el primer año (Pierzynski, 1994; Poncio, 2008; Flores *et al.*, 2008). Esto indica que la mayor parte de bio-

sólidos permanece en forma orgánica almacenado en el suelo para cultivos posteriores. Epstein *et al.* (1976) evaluaron dosis de biosólidos de 0, 40, 80, 160 y 240 ton ha⁻¹ y observaron que el N-total del suelo disminuyó al año de aplicación, a su vez el N-total residual fue mayor en dosis mayores a 160 ton ha⁻¹ comparadas con el testigo.

En el Cuadro 3 se observa que el contenido de N aumentó en 81, 303 y 473 kg ha⁻¹ para los tratamientos de 200, 400 y 600 kg N ha⁻¹, respectivamente, en relación con el testigo absoluto. En promedio, esto indicaría que 119, 97 y 127 kg N ha⁻¹ se transformaron a N inorgánico y fueron disponibles al cultivo. Cogger *et al.* (2001) mencionaron que el consumo de N por el forraje en su estudio se vio favorecido con la aplicación de biosólidos, resultado que se puede comparar con los datos mencionados anteriormente. Esto sugiere que si se suma el N agregado en el agua de riego, se superó la demanda de N del cultivo, lo cual fue comprobado por el aumento en el contenido de proteína del forraje.

Variable	0 200 400 600			
	(Biosólidos: kg NTK ha ⁻¹)			
N absorbido por el cultivo de avena (kg ha ⁻¹)	139 ± 5.9 ^b	146 ± 4.3 ^{ab}	163 ± 8.9 ^a	147 ± 3.9 ^{ab}
N total del suelo al final del cultivo (kg ha ⁻¹)	1276 ± 51 ^c	1357 ± 23 ^{bc}	1579 ± 97 ^{ab}	1748 ± 119 ^a
* Medias seguidas por la misma letra en la misma hilera son estadísticamente iguales a un nivel de significancia de 0.05.				
± Error estándar. Con n=8.				

Cuadro 3. Promedios de las variables de suelo evaluadas en los tratamientos de biosólidos y avena forrajera en el Valle de Juárez, Chihuahua.

Demanda de N por la planta

En el presente estudio se realizaron dos cálculos de la demanda. El primero fue con los rendimientos de materia seca obtenidos en el experimento y el segundo asumiendo un rendimiento promedio de 17 ton ha⁻¹. En ambos casos se obtuvieron promedios similares. Se obtuvo una diferencia significativa ($P < 05$) entre bloques y entre tratamientos para el N absorbido por el cultivo. De acuerdo con el concepto de rango de suficiencia de nutrientes, Havlin *et al.* (1999) mencionan que en aplicaciones de N arriba del rango crítico de N en la planta, se aumenta la concentración del nutriente en la planta, pero no se incrementa el rendimiento del cultivo, lo cual fue observado en el presente trabajo, al detectarse un aumento en el contenido PC en el forraje, pero no en rendimiento de materia seca.

La demanda de N calculada en este estudio es mayor a la reportada por Havlin *et al.* (1999), quienes mencionan una absorción de N-total de 106 kg ha⁻¹ para un potencial de rendimiento de 9,855 kg ha⁻¹ de avena de grano, o lo que es lo mismo 10.75 kg N por tonelada de grano cosechado. Por otra parte, Infoagro (2002) menciona que la avena tiene una extracción media por hectárea y tonelada producida de 27.5 kg de N. La diferencia con el presente estudio se puede atribuir a que en avena forrajera la biomasa producida es mayor, ya que el rendimiento promedio fue de 17 ton ha⁻¹ de peso seco, es decir 9.6 kg N por tonelada de materia seca. Los resultados del presente estudio se consideran de valiosa utilidad para el cálculo de dosis de fertilización o dosis de residuos orgánicos, con la finalidad de evitar aplicaciones excesivas de nutrientes, principalmente N en cultivos forrajeros y en sistemas de producción como en el Valle de Juárez donde se aportan grandes cantidades de nutrientes mediante aguas residuales.

CONCLUSIONES

Las dosis de biosólidos en el rango de 0 a 600 kg NTK ha⁻¹ evaluadas en el presente estudio y el uso de agua residual alta en N inorgánico sólo presentó efecto significativo para el contenido de agua del forraje y no influyó significativamente en las demás variables agronómicas evaluadas: emergencia de plántulas de avena forrajera, altura de planta, longitud de panícula, rendimiento de forraje en fresco y en seco. Sin embargo, la aplicación de biosólidos mostró valores mayores al testigo en todos los análisis de promedios de las variables mencionadas. El contenido de PC no fue diferente significativamente entre tratamientos a los 51 días después de siembra, ni en el grano al momento de la cosecha. Sin embargo, se detectó efecto significativo entre dosis de biosólidos para las variables PC en hoja, en tallo y en la planta entera al momento de la cosecha. En estos casos, las dosis de biosólidos de 400 y 600 kg NTK ha⁻¹ mostraron los valores mayores de dichas variables. El N absorbido por la planta y el NTK del suelo resultaron diferentes significativamente entre tratamientos, además se detectó una relación lineal entre la PC en hoja y las dosis de biosólidos. La falta de efecto significativo en las variables agronómicas fue atribuida a que el N aportado por el agua de riego fue suficiente para abastecer la demanda de la planta, incluso pudo haber rebasado su demanda fisiológica, es decir, se presentó un excedente de N inorgánico en el sistema suelo-planta. Este resultado sugiere la utilización de dosis bajas de biosólidos en suelos irrigados con agua residual, lo cual evita una contaminación por nitratos al acuífero somero en áreas agrícolas.

REFERENCIAS

- Adjei, M.B. y J.E. Rechcigl (2002). "Bahigrass production and nutritive value as affected by domestic wastewater residuals". *Agron. J.* 94, 1400-1410.
- Alba, J. (1971). *Alimentación del Ganado en América Latina*. México: Editorial La Prensa Médica Mexicana (2da ed.).
- AOAC (2000). *Oficial Methods of Analysis*. Arlington, VA: 16th ed. Association of Oficial Analytical Chemists.
- Barnes, F.R., D.A. Miller y C.J. Nelson (1995). *Forages an Introduction to Grassland Agriculture*. Iowa: Printes Iowa State University.
- Benton, M.W. y D.B. Wester (1998). "Biosolids effects on tobosagrass and alkali sacaton in a Chihuahuan desert grasslands". *J. Environ. Qual.* 27, 199-208.
- Chai W. y P. Udén (1998). "An alternative oven method combined with different detergent strengths in the analysis of neutral detergent fibre". *Anim Feed Sci.Technol.* 74, 281-288.
- Church, D.C. (1977). *Alimentos y Alimentación del Ganado* Tomo I. Montevideo: Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur.
- Cogger, C.G., A.I. Baray, S.C. Fransen y D.M. Sullivan (2001). "Seven years of biosolids versus inorganic nitrogen applications to tall fescue". *J. Environ. Qual.* 30, 2188-2194.
- Cuomo J. y B.E. Anderson (1996). "Nitrogen fertilization and burning effects on rumen protein degradation and nutritive value of native grasses". *Agron. J.* 88, 439-442.
- Day, A.D., T.C. Tucker y M.G. Vavich (1961). "Effect of city sewage effluent on the yield and quality of grain from barley, oats and wheat". *Agron. J.* 53: 133-135.
- Esqueda, C.M.H. (1994). Fechas de establecimiento y corte de variedades de avena (*Avena sativa*) para producción de forraje y doble propósito. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Figuroa, V.U., M. Palomo R., M.A. Flores O., B. Corral D. y J.P. Flores Márquez (2008). "Uso de biosólidos estabilizados con cal como fertilizante orgánico en algodónero para el Valle de Juárez, Chihuahua". *Ciencia en la Frontera*, Vol VI (1), aceptado el 11 abril 2008.
- Flores, M.J.P. (2006). "Aguas residuales utilizadas en la producción agropecuaria en el Valle de Juárez, Chihuahua". Pp. 55-67. En Salas P.M.J. (ed.). *Nuevos estudios sobre agua y medio ambiente en Ciudad Juárez*, Vol. III, UACJ, Ciudad Juarez, Chih.
- Flores, M.J.P., B. Corral D. y G. Sapién M. (2008). "Mineralización de nitrógeno de biosólidos estabilizados con cal en suelos agrícolas. Terra Latinoamericana". Aceptado en junio 2008.
- Flores, M.J.P., U. Figueroa M., M.A. Flores O. y F. Nuñez S. (2001). "Caracterización de biosólidos generados en Ciudad Juárez y su evaluación en un suelo agrícola del Valle de Juárez, Chihuahua". Praxedis G. Gro. Chih.: Junta Municipal de Agua y Saneamiento de Ciudad Juárez, Universidad de las Naciones Unidas, Red Internacional del Agua, Medio Ambiente y Salud.
- Flores, M.J.P., M.A. Flores O., M. Palomo R. y B. Corral D. (2003). "Evaluación de biosólidos en cultivos forrajeros en el Valle de Juárez, Chihuahua". Praxedis G. Gro. Chih.: Informe de proyecto. INIFAP.
- Fresquez, P.R., R.E. Francis y G.L. Denno (1990). "Sewage sludge effects on soil and plant quality in a degraded, semiarid grassland". *J. Environ. Qual.* 19, 324-329.
- Gilmour J.T. y V. Skinner. (1999). "Predicting plant available nitrogen in land-applied Biosolids". *J. Environ. Qual.* 28, 1122-1126.
- Havlin, J.L, J.D. Beaton, S.L. Tisdale y W.L. Nelson (1999). *An introduction to nutrient management. Soil Fertility and Fertilizers*. New Jersey: Prentice May.
- INEGI (2000). *Análisis de los Principales Cultivos Establecidos en el Estado de Chihuahua*. Chihuahua: Edición 2000. Alianza para El Campo. Infoagro. (2002). <http://www.infoagro.com/herbaceos/cereales/avena.asp>.
- Ippolito J.A., K.A. Barbarick y E.F. Redente (1999).

- “Co-application effects of water treatment residuals and biosolids on two range grasses”. *J. Environ Qual.* 28, 1644-1650.
- Junta Municipal de Agua y Saneamiento (JMAS) (2006). *Reportes de producción de lodos de las plantas de tratamiento de agua residual Norte y Sur*. Ciudad Juárez, Chih.: Departamento de Reuso del Agua, Dirección de Saneamiento.
- Juscáfresa, B. (1983). *Forrajes, Fertilizantes y Valor Nutritivo*. México-Barcelona: Editorial Aedos Barcelona (2da ed.).
- Melgar, R. y M. Díaz-Zorita. (1997). *La Fertilización de Cultivos y Pasturas*. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur.
- Mulvaney, R.L. (1996). “Nitrogen-inorganic forms”. In: J. M. Bartels *et al.* *Chemical Methods. Part 3 Methods of Soil Analysis*. Madison, WI: ASA and SSSA, Books series No. 5 (3rd ed.).
- Nelson, D.W. y L.E. Sommers (1996). “Total carbon, organic carbon and organic matter”. In Bartels *et al.* *Part 3 Methods of Soil Analysis. Chemical Methods*. Madison, WI: ASA and SSSA, Books series No. 5 (3rd ed.).
- National Research Council (NRC) (1988). *Nutrient Requirement of Dairy Cattle*. Washington: National Academy Press.
- Pierzynski, G.M. (1994). “Plant nutrient aspects of sewage sludge”. In: C. E. Clapp, W. E. Larson and R. H. Dowdy. *Sewage Sludge: land utilization and the environment*. Madison, WI: Ed. American Society of Agronomy Madison, WI. Pp. 21-25.
- Poncio, A.M.Z. (2008). Mineralización de nitrógeno en tres tipos de suelo tratados con biosólidos estabilizados con cal en el Valle de Juárez, Chihuahua. Ciudad Juárez, Chih.: Tesis de Maestría en Ciencias, IIT, UACJ.
- Puoli, J.R., G.A. Jung y R.L. Reid. (1991). “Effect of nitrogen and sulfur on digestion and nutritive quality of worm-season grass hays for cattle and sheep”. *J. Anim.Sci.* 69, 843-852.
- Quintero, R.M.P., M.L. Andrade C. y E. De Blas V. (1998). “Efecto de la adición de un lodo residual sobre las propiedades del suelo: Experiencias en campo”. México: *Edafología*, nº 5. 1-10.
- Romero, A. y O. Bruno (2000). “Fertilización de cultivos forrajeros”. *Producir XXI*. Año 9. p. 104-122.
- Rostagno C.M. y R.E. Sosebee (2001). “Biosolids application in the Chihuahuan desert: effects on runoff water quality”. *J. Environ. Qual.* 30: 160-170.
- Sagarpa (2008). *Estadísticas de superficie sembrada en México*: www.sagarpa.gov.mx
- SAS, Institute Inc. (1997). SAS/STAT. User Guide. Version 6. 4th ed. Volume 2. Cary, NC, SAS Institute Inc.
- Siebe, C. y E. Cifuentes (1997). *Utilización de Aguas Regeneradas y Biosólidos. Impacto ambiental de la irrigación con aguas residuales en México central*. Virginia: Editorial Water Environment Federation.
- Terrazas, P.G., R.I. González O. y J.A. Payán G. (2002). “Triticales de hábito de crecimiento invernal, para pastoreo, doble propósito, en el área de riego de Chihuahua”. México: Folleto técnico No. 10. INIFAP.
- Torres, D.M. y R. Melgar (1998). *Guía Práctica de Ganadería Vacuna. I. Bovinos para carne Región Campeana*. INTA, Argentina.
- Uribe, M.H.R., R. Galván L., N. Chávez S., R. Rodríguez M., G. Orozco H. y M. del S. Espino V. (2002). *Uso de biosólidos en maíz forrajero y algodónero. Resultados y Avances de la Investigación en el Estado de Chihuahua*. Sagarpa, INIFAP. Publicación 9, 101-110.
- USEPA. Environment Protection Agency (1995). “A guide to biosolids risk assessments for the EPA Part 503 Rule”. EPA832-B-93-005.
- USEPA. Environment Protection Agency (1999). “Biosolids generation use, and disposal in the United States”. EPA530-R-99-009.

Nitrógeno mineralizable de estiércol bovino lechero en suelo cultivado con algodónero

Flores Márgez, JP;* Sotomayor Villezcas, V;* Corral Díaz, B.*

El estiércol de ganado bovino lechero ha sido utilizado en suelos agrícolas como abono orgánico desde hace siglos, sin embargo la falta de información sobre la descomposición del N orgánico ha ocasionado que se apliquen dosis inapropiadas. El presente estudio incluyó la evaluación de las dosis 50, 100 y 150 t/ha de estiércol base seca para evaluar la mineralización de N orgánico en campo. Resinas sintéticas de intercambio iónico fueron utilizadas para captar el N inorgánico liberado en 178 días. La concentración de N inorgánico mineralizado estuvo relacionada significativamente con la dosis de estiércol. El N potencialmente mineralizable (No) vario de 55 a 192 mg/kg y la tasa constante (k) entre 0.0097 y 0.0042 mg/día. Los valores observados de N mineralizado sugieren que el suelo podría suministrar 177 kg N/ha con la aplicación de 50 t/ha, de los cuales 53.5 kg N/ha vienen de la descomposición del estiércol.

INTRODUCCIÓN

Los estiércoles han sido utilizados desde tiempos remotos en muchos países del mundo como abono, el problema de la utilización de éstos es que en muchos casos se aplican cantidades excesivas provocando una alta salinidad en los suelos o bien en dosis insuficientes para la demanda nutrimental de las plantas (Castellanos *et al.*, 2000). La región norte de Chihuahua se caracteriza como cuenca lechera, sólo en el Valle de Juárez se estima una producción de 138 millones de toneladas al año, con

base en un promedio de 34 kg de estiércol fresco por día por cabeza (Flores, 2007) y una población de ganado bovino registrada en la región de 11 097 (Sagarpa, 2007).

El estiércol bovino puede ser utilizado en suelos agrícolas como abono orgánico mediante un reciclamiento natural, ya que al aplicarse incrementa el contenido de materia orgánica y la disponibilidad de nutrientes en formas inorgánicas aprovechables para las plantas (Eghball, 1999). La estructura del suelo es el factor principal que afecta la fertilidad y productividad de un suelo, la cual tiende a deteriorarse

* Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ), Anillo Pronaf y Estocolmo s/n. Ciudad Juárez, Chihuahua.
juflores@uacj.mx

con un arduo laboreo y compresión mecánica, lo cual es mejorado por los abonos orgánicos (estiércoles, biosólidos, compostas) que proveen grandes cantidades de nutrientes y aumentan la capacidad de retención de agua (López *et al.*, 2001).

En relación con la descomposición y/o biodegradación del estiércol, algunas de las estructuras de la biodegradación del estiércol son la celulosa, la hemicelulosa almidón, lignina, entre otras, las cuales por la actividad de la acción enzimática de los microorganismos, son biodegradadas de grandes polímeros a simples monómeros, liberándose también iones. Ambos subproductos llegan a ser aprovechados por las plantas, así como por los mismos microorganismos (Brady y Weil, 1996).

El efecto de los estiércoles sobre la mineralización difiere de acuerdo al tipo de estiércol aplicado, el estiércol de cerdo tiene una disponibilidad mayor de N, debido a que una gran porción del N total se encuentra en forma de amonio (>70%), el cual puede ser aprovechado inmediatamente por las plantas. Estiércoles que contienen una gran porción de N orgánico (como el estiércol bovino), poseen menor cantidad de N disponible para las plantas ya que éste requiere ser mineralizado a N inorgánico antes de poder ser utilizado por las plantas (Eghball *et al.*, 2002).

En México el método más utilizado para el manejo de los estiércoles bovinos es el secado al aire libre, el cual consiste en apilarlo cerca del establo sin ningún manejo para su composteo, lo cual hace que se requiera de entre 8 a 12 meses para que ésta se establezca mediante un proceso mixto aerobio-anaerobio. Este mal manejo de los estiércoles bovinos causa graves problemas de contaminación ambiental, ya que genera una gran proliferación de moscas, malos olores, dispersión y suspensión de partículas finas en el aire. Además el Nitrógeno se volatiliza en forma de amoníaco y se lixivia como nitrato al suelo (Capulin *et al.* 2001).

La mineralización de los nutrientes de estiércoles aplicados depende de la temperatura, la humedad del suelo, las propiedades del suelo, las características del abono y la actividad microbiana. Como estos

factores no pueden ser predichos la mineralización de los nutrientes del estiércol o abono aplicado solamente pueden ser aproximados, la disponibilidad del N del abono aplicado incluye sus dos formas: N inorgánico (N-NO₃ y N-NH₄) y nitrógeno orgánico (Ross, 1989; Eghball *et al.*, 2002).

La medición de la descomposición de N orgánico se puede realizar tanto en condiciones de campo como en laboratorio. El método que utiliza una fracción de suelo y resinas de intercambio iónico fue desarrollado por Distefano y Gholz (1986). Esta metodología se ha utilizado en algunos estudios referentes a la disponibilidad de N en condiciones de campo y tiene varias ventajas con respecto a otros métodos (Rouppet, 1994; Kolberg *et al.*, 1997; Flores, 2001; Flores *et al.*, 2006; Poncio, 2008). El método de resinas permite una obtención directa del lixiviado de N inorgánico (NO₃⁻ + NO₂⁻ + NH₄⁺) en el flujo vertical. La fracción de suelo utilizada está sujeta a los cambios de humedad y temperatura del suelo, además existe un intercambio natural de gases en la solución del suelo. Por lo tanto, este método es sensible a condiciones ambientales y refleja las condiciones reales durante la medición del N inorgánico como resultado del proceso de descomposición de la materia orgánica (Kjonaas, 1999).

El N inorgánico en las resinas puede ser extraído con KCl 2N (Flores *et al.*, 2006) y medido por el método de arrastre con vapor que utiliza óxido de magnesio para el N en forma de amonio y aleación de devarda para el N en forma de nitratos (Aguilar *et al.*, 1987; Bremner, 1996).

Flores (2001) realizó un estudio durante tres ciclos agrícolas en suelos del Sur del Estado de Nuevo México en los cuales se evaluaron diferentes abonos orgánicos y períodos variables de incubación utilizando resinas sintéticas de intercambio iónico. En el sitio Las Cruces, los valores de k variaron de 0.0061 a 0.015 mg N día⁻¹ en los suelos tratados con estiércol bovino lechero, mientras que en el testigo fue de 0.009 mg N día⁻¹. Los valores de k para el sitio Artesia fluctuaron de 0.0064 a 0.0179 mg N día⁻¹ en los suelos tratados y 0.0133 mg N día⁻¹ en el control. De tal manera que las tasas de mineralización fueron

de 2.8, 4.3, 4.0 y 6.6 mg N kg⁻¹ semana⁻¹ para el testigo, estiércol seco, composta y estiércol fresco, respectivamente.

El estudio tuvo como objetivos determinar el N potencialmente mineralizable y la tasa constante de mineralización para dosis de estiércol bovino lechero, así como el porcentaje de descomposición del N orgánico en un suelo cultivado con algodónero.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se estableció en el Rancho Universitario de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ) localizado en el municipio de Praxedis G. Guerrero, Chihuahua localizado en 31° 21' latitud norte y 105° 59' longitud oeste. El estiércol bovino evaluado se colectó en la lechería ubicada a la salida del poblado de Guadalupe en el Valle de Juárez. Las dosis de estiércol se calcularon con base en la demanda de N del algodónero (130 kg N/ha) y un rango práctico con base en la literatura y cultivos de mayor demanda y suelos pobres en N. Las dosis de estiércol que se aplicaron fueron de 0, 50, 100 y 150 kg N/ha en base al peso seco.

La evaluación de la mineralización o descomposición de N orgánico del estiércol se realizó mediante el uso de la técnica de resinas sintéticas de intercambio iónico, la cual utiliza cilindros de aluminio de 5 cm de ancho por 15 cm de largo. Estos cilindros fueron llenados con las dosis de estiércol respectivas e instaladas en el campo en la parte honda o base de los surcos del cultivo de algodónero. En la base del cilindro se coloca una bolsa de nylon conteniendo cantidades iguales (20 g total) de resinas sintéticas de intercambio aniónico y catiónico. Los cilindros se colocaron utilizando una barrena de muestreo des suelo para hacer un orificio con una profundidad de 0 a 30 cm, la bolsa de resina quedó sujeta con cinta adhesiva en la parte inferior del tubo pero dejando espacio para el drenaje de solución después del riego. Las bolsas con resina fueron reemplazadas por bolsas de resinas nuevas en cada riego y los tubos se colocaron de nuevo en mismo orificio del suelo para medir in situ el N mineralizado en condiciones

de campo. Los tubos permanecen abiertos de la parte superior para permitir el flujo libre de agua y gases, de esta manera los productos de la mineralización se moverán a través de la columna de suelo y son retenidos en las resinas.

El manejo agronómico del suelo y cultivo de algodónero donde se instalaron los tubos fue realizado conforme las técnicas de la región. Previo a la instalación de los cilindros en campo, se simuló un riego inicial del suelo en los tubos en el laboratorio, en el cual se aplicaron a cada tubo 250 mL de agua, esto con el objeto de homogenizar la humedad del suelo en cada tubo antes de instalarlos en campo y promover la actividad microbiana de manera homogénea. Los cambios de resinas fueron entre riegos del cultivo, cuando el suelo se encontraba con baja humedad para facilitar el acceso y manipuleo de los tubos al cambiar las resinas. El manejo de los cilindros durante las labores de cultivo del algodón consistió en removerlos para facilitar las labores de cultivo como deshierbes. La extracción del N inorgánico de las resinas se realizó de la siguiente manera: la bolsita con resina se colocó en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se agregó 50 mL de KCl 2 N, el matraz se cubrió con un tapón de hule y se colocaron en un agitador de vaivén por 30 minutos a 130 rpm y una temperatura de 20 °C. El contenido del matraz se filtró con papel Whatman número 41 y el procedimiento de extracción se repitió tres veces para la misma resina, con la finalidad de asegurar la extracción de todo el N inorgánico atrapado en la resina. El volumen total colectado fue de 200 mL, el filtrado se agitó para homogenizar el extracto y colocarlo en un frasco de plástico de 100 mL debidamente etiquetado, se guardó en el refrigerador para su posterior análisis. Las resinas lavadas con KCl 2N se volvieron a colocar en bolsas de plástico. La preparación del extractante consistió en pesar 149.1 g de KCl y se colocó en un vaso de precipitado de 1000 mL. Se agregaron 800 mL de agua destilada y se colocaron en un agitador con un magneto hasta disolverse por completo. La solución se aforó con un matraz volumétrico de 1000 mL. El nitrógeno potencialmente mineralizable se estimó con la siguiente

fórmula exponencial, ya que ésta permite predecir la cantidad de nitrógeno que puede ser mineralizado en función del tiempo.

$$N_{\min} = N_0 (1 - \exp^{-kt})$$

Donde:

N_{\min} = Nitrógeno mineralizado en campo

N_0 = Nitrógeno potencialmente mineralizable

k = Constante

t = Tiempo

La textura, pH, sales solubles y NTK fueron también analizados en las muestras de suelo colectadas en el presente estudio. El análisis de datos consistió en prueba de promedios de la Diferencia Mínima Significativa, análisis de varianza, análisis de regresión y correlación, y obtención del modelo para la tasa de mineralización de nitrógeno. Estos análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS versión 15.0. Se utilizó un diseño factorial en bloques al azar con 3 repeticiones. Dentro del análisis estadístico se incluyó el factor fechas de siembra por el posible efecto de las alturas de plantas en el sombreado y evaporación de agua de los tubos, ya que el experimento de mineralización se estableció dentro de otro experimento de variedades y fechas de siembra de algodónero.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades Químicas y Físicas del Suelo

El suelo experimental presentó 58% de arena, 12% de arcilla y 30% limo, clasificado como franco-arenoso. La densidad aparente del suelo fue 1.5 t/m³, pH de 7.9 ligeramente alcalino, conductividad eléctrica de 3.9 dS/m, sin problemas de sales solubles en el perfil radicular. El contenido de N total Kjeldahl (NTK) fue de 440 mg/kg suelo y la suma de N inorgánico en forma de NO₃⁻ y NH₄⁺ fue de 46 mg/kg, es decir un suelo con buena disponibilidad de N al inicio de crecimiento de las plantas. El contenido de NTK en el estiércol fue de 16.3 g/kg. El análisis de nitrógeno inorgánico en el agua de riego en el

mes de junio de 2007 mostró una concentración de 3.73 mg/L de amonio y de 0.056 mg/L de nitratos, mientras que en el mes de julio presentó 2.49 mg/L de amonio y 0.202 mg/L de nitratos.

Las condiciones edáficas prevalecientes fueron textura media a ligera y sin problema de sales pero con alto contenido de N inorgánico inicial (46 mg/kg), lo que puede atribuirse al riego con agua residuales típico en el Valle de Juárez (Flores *et al.*, 2007). El suelo correspondió a la Serie Juárez que representa el 41.3 % de los suelos del Valle de Juárez (CIEPS, 1970). El estiércol utilizado ha resultado en el promedio de otros estudios que indican entre 10 y 20g NTK/ kg estiércol (Flores, 2001; Salazar *et al.*, 2004).

Nitrógeno Mineralizado

Aunque el suelo de los cilindros no estuvo en contacto con las raíces, se consideró que la altura de las plantas y el desarrollo del follaje del algodónero podrían afectar el contenido de humedad del suelo en los tubos, lo cual tiene influencia en la actividad microbiana del suelo y en el proceso de mineralización (Ross, 1989). El Cuadro 1 muestra diferencias altamente significativas entre tratamientos para la concentración de N inorgánico (NO₃⁻ + NH₄⁺ o suma Inc.) en el primer período de incubación ocurrido a los 27 días de instiladas las resinas (p<0.01), así como para el efecto de fechas de siembra y la interacción fechas por tratamientos. El 63% del N inorgánico fue en forma de NO₃⁻ y 37% en forma de NH₄⁺ en este periodo de incubación. Los resultados del segundo periodo de incubación (39 días o 66 días acumulados) indican una diferencia altamente significativa (p<0.01) entre fechas para la suma del N inorgánico y diferencia significativa (p<0.05) para la interacción fechas por tratamiento, mientras que para tratamientos no se observó efecto significativo (Cuadro 1). En este periodo de incubación, el 91% del N inorgánico fue en forma de NO₃⁻ y solo 9% en forma de NH₄⁺.

En el tercer periodo de incubación (42 días o 108 días acumulados) no se detectaron diferencias significativas entre las fuentes de variación estu-

diadas (Cuadro 2). El 95% del N inorgánico fue en forma de NO_3^- en este periodo de incubación. El cuarto periodo de incubación (17 días o 125 días acumulados) presentó diferencia significativa entre tratamientos para la concentración de NO_3^- y diferencia altamente significativa para las concentraciones de NH_4^+ en la interacción fecha por tratamiento. La quinta incubación (53 días o 178 días acumulados) presentó un efecto altamente significativo entre tratamientos para la concentración NO_3^- y la suma del N inorgánico.

El Cuadro 3 muestra la comparación de promedios para el N-inorgánico determinado en las resinas (mg N/resina). El tratamiento testigo (0 t/ha) muestra la cantidad de N-inorgánico que había en el suelo de manera nativa, mientras que en los demás tratamientos los promedios obtenidos muestran la cantidad de N-inorgánico que fue aportado mediante la descomposición del estiércol. Resulta evidente que al aumentar la dosis de estiércol, también aumenta la cantidad de N liberado y captado en resinas.

Cuadro 1. Niveles de significancia observado ($\text{Pr}>\text{F}$) en el análisis de varianza para las concentraciones de N inorgánico determinado en las resinas durante los primeros dos periodos de incubación en campo.

Fuente de Variación	G.L.	Incubación 1 (27 d)			Incubación 2 (39 d)		
		NH_4^+	NO_3^-	Suma Inc. 1	NH_4^+	NO_3^-	Suma Inc. 2
Bloque	2	0.087 ^z	0.68	0.501	0.699	0.956	0.981
Fecha Siembra	2	0.2284	0.0003**	0.0005**	0.054	0.0081	0.008**
Tratamientos	3	0.0001**	0.003**	0.006**	0.449	0.0665	0.064
Fecha * Trat.	6	0.883	0.0001**	0.0001**	0.571	0.036	0.027*
C.V. (%)		19.9	37.4	25.9	107.3	65.2	58.67
Promedio mg/Resina		1.58	2.65	4.25	0.52	5.49	6.01
% (N-inorg)		37	63	100	9	91	100

^z Nivel de significancia observado ($\text{Pr}>\text{F}$): *, **, prueba de F significativa al 0.05 y 0.01 nivel de probabilidad, respectivamente.

Cuadro 2. Niveles de significancia observado ($\text{Pr}>\text{F}$) en el análisis de varianza para las concentraciones de N inorgánico determinado en las resinas durante los periodos 3, 4 y 5 de incubación en campo.

Fuente de Variación	G.L.	Incubación 3			Incubación 4			Incubación 5		
		NH_4^+	NO_3^-	Suma Inc. 3	NH_4^+	NO_3^-	Suma Inc. 4	NH_4^+	NO_3^-	Suma Inc. 5
Bloque	~	0.499 ^z	0.551	0.524	0.783	0.603	0.556	0.409	0.805	0.821
Fecha Siembra	~	0.159	0.367	0.362	0.094	0.213	0.0954	0.013	0.378	0.251
Tratamientos	~	0.245	0.512	0.567	0.076	0.048*	0.093	0.486	0.0035**	0.005**
Fecha * Trat.	~	0.818	0.665	0.658	0.0281*	0.584	0.475	0.513	0.65	0.643
C.V. (%)		95.7	81.31	78.4	185.1	89.9	85.6	57.8	52.8	49.5
Promedio mg/Resina		0.19	3.87	4.06	0.61	3.25	3.86	0.18	1.85	2.03
% (N-inorg)		5	95	100	16	84	100	9	91	100

^z Nivel de significancia observado ($\text{Pr}>\text{F}$): *, **, prueba de F significativa al 0.05 y 0.01 nivel de probabilidad, respectivamente.

Los resultados de N inorgánico fueron afectados significativamente por las dosis de estiércol en la mayoría de los periodos de incubación en campo. Similarmente, Trinidad (2007), Flores (2001), Flores (2007), Salazar *et al.* (2004) y Eghball *et al.* (2002), ente otros han reportado la misma tendencia de que el N aumentó conforme las dosis de estiércol se incrementaron, incluso para diferentes abonos orgánicos tales como compostas, estiércol seco o estiércol fresco. También en el presente estudio se encontró que al aumentar las dosis de estiércol bovino, aumentó el contenido de agua en el suelo, lo que también coincide con lo reportado por Salazar *et al.*, (2004), quienes mencionan que la humedad del suelo con y sin acolchado por tratamiento de estiércol de bovino para la profundidad de 0 - 7.5 cm, tiene una tendencia de incremento de humedad a mayor contenido de estiércol mayor contenido de humedad.

El efecto observado sobre el incremento en el contenido de humedad de los suelos incubados conforme se aumentó la dosis de estiércol, también ha sido reportada por Trinidad (2007), quien en un estudio similar con estiércol bovino evaluó las dosis 0, 67 y 134 t/ha, y encontró que el contenido de materia orgánica aumentó de 1.41 a 2.79 %, la densidad aparente del suelo disminuyó de 1.37 a 1.20 t/m³, la concentración de sales solubles aumentó de 0.01 a 2.61 mmhos/cm y finalmente el contenido de humedad del suelo a saturación aumentó de 32.7 a 41%. Dicho autor, también encontró que con una sola aplicación de 66 t/ha de estiércol al suelo aumentó la porosidad y la capacidad del suelo para retener el agua, incrementando simultáneamente la velocidad de infiltración de 8 a 9.6 cm/hr. Resultados similares también fueron reportados por Vázquez *et al.*, (2004), quienes mencionaron que se pueden modificar las propiedades del suelo como la retención de humedad y la materia orgánica cuando se realizan aplicaciones de abonos orgánicos.

Cuadro 3. Prueba de comparación múltiple de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) para los promedios de concentraciones de N inorgánico (mg N/resina) determinados en las resinas incubadas en campo para las dosis de estiércol bovino evaluadas durante 178 días de incubación en 2007.

Variable	Tratamiento (t/ha)			
	0	50	100	150
NH ₄ ⁺ 1	0.19 d	1.34 c	1.98 b	2.84 a
NO ₃ ⁻ 1	3.82 a	1.98 b	2.28 b	2.55 b
Incubación 1	4.01 b	3.32 b	4.26 b	5.39 b
NH ₄ ⁺ 2	0.36 a	0.77 a	0.47 a	0.46 a
NO ₃ ⁻ 2	3.99 b	4.53 b	5.05 ab	8.40 a
Incubación 2	4.35 b	5.31 b	5.53 ab	8.86 a
NH ₄ ⁺ 3	0.31 a	0.16 a	0.16 a	0.14 a
NO ₃ ⁻ 3	3.03 a	4.39 a	3.13 a	4.91 a
Incubación 3	3.34 a	4.55 a	3.29 a	5.06 a
NH ₄ ⁺ 4	0.29 b	0.49 ab	1.51 a	0.16 b
NO ₃ ⁻ 4	1.49 b	2.80 ab	3.11 ab	5.58 a
Incubación 4	1.78 b	3.29 ab	4.62 ab	5.75 a
NH ₄ ⁺ 5	0.21 a	0.16 a	0.19 a	0.15 a
NO ₃ ⁻ 5	0.97 c	1.15 bc	2.81 a	2.17 ab
Incubación 5	1.19 c	1.61 bc	3.01 a	2.31 ab

Medias seguidas por la misma letra son estadísticamente iguales a un alfa de 0.05.

El nitrógeno inorgánico determinado en el presente estudio fue predominantemente en forma de nitratos, y su concentración varió de 63 a 95%. Castellanos y Peña (1990), mencionaron que los nitratos pueden ser altamente tóxicos ya que son lixiviados y pueden contaminar los acuíferos, por tal motivo es muy importante definir dosis de estiércol bovino para evitar contaminación química del agua.

El Cuadro 4 muestra efecto significativo entre tratamientos para todas las variables indicadas. En el

Cuadro 5 se observa que al sumar el N determinado en las resinas y el N del suelo al final del estudio (A + B) se tienen cantidades mineralizadas (tratamiento con estiércol-testigo) de 23.8, 44.2 y 88.5 mg/kg suelo para las dosis 50, 100 y 150 t/ha, respectivamente. Es decir, este suelo podría suministrar 177 kg N/ha ($0.15\text{m} \times 1.5 \text{ t/m}^3 = 2.25 \times 78.8=177$) con la aplicación de 50 t estiércol/ha, de los cuales 53.5 kg N/ha ($0.15\text{m} \times 1.5 \text{ t/m}^3 = 2.25 \times 23.8=53.5$) vienen de la descomposición del estiércol en 178 días de incubación en campo. Las dosis mayores de estiércol tendrían una aportación de 223.2 y 322.9 kg N/ha.

El análisis de varianza mostrado en la Cuadro 6 muestra las condiciones del nitrógeno al final del experimento. Al respecto, se detectó diferencia significativa en las fechas de siembra para el NH_4^+ y el N-inorgánico (NH_4^+ y NO_3^-), lo que indica que de alguna manera, las fechas de siembra afectaron el amonio presente en el suelo y el N-inorgánico total presente en el suelo al final del experimento. Para los tratamientos se encontraron diferencias altamente significativas en NTK, NO_3^- y N-inorgánico total, lo que nos muestra que cada dosis de estiércol utilizada

provocó un efecto diferente sobre el comportamiento del nitrógeno en el suelo.

En el Cuadro 7 se puede observar que la cantidad de NTK aumenta conforme aumenta la dosis de estiércol o el tratamiento utilizado (Figura 1), lo que era de esperarse ya que conforme aumenta la dosis de estiércol, había una mayor cantidad de N-orgánico. De igual manera, los promedios para los NO_3^- y el N-inorgánico aumentan, con el incremento en la dosis del tratamiento, esto debido a que existe una mayor cantidad de N-orgánico que pasa a formas inorgánicas.

Otro factor estudiado en el presente experimento fue el porcentaje de NTK mineralizado, el cual vario de 46.6 a 58.9 % en 178 días de incubación en campo. Al respecto, Flores (2001) menciona que existen valores reportados de porcentajes de mineralización de N con estiércol bovino que van de un 13 a un 51% en un periodo de 182 días, mientras que en periodos de incubación mayores los porcentajes varían de 21 a 67%. Esto indica que los resultados de la presente investigación están en el rango de otros estudios similares.

Cuadro 4. Niveles de significancia observado ($\text{Pr}>\text{F}$) en el análisis de varianza para los datos de contenido de agua en el suelo, peso del suelo en los tubos, N acumulado en las resinas y N en suelo al final del experimento.

Fuente de Variación	G.L.	Agua en suelos	Peso suelo en tubos	N-inorg. (A) resinas acumulado	N-inorg. (B) suelo final	A * B
Bloque	2	0.292 ^z	0.485	0.831	0.141	0.678
Fecha	2	0.419	0.387	0.191	0.0393 *	0.041
Tratamientos	3	0.000 **	0.000 **	0.000 **	0.016 *	0.000 **
Fecha * Trat.	6	0.337	0.483	0.879	0.583	0.927
C.V. (%)		39.1	7.15	35.01	43.8	27.6
Promedio		8.35%	277.92 g	76.4 mg/kg	17.7 mg/kg	94.1 mg/kg

^z Nivel de significancia observado= $\text{Pr}>\text{F}$: *, **, prueba de F significativa al 0.05 y 0.01 nivel de probabilidad, respectivamente.

Cuadro 5. Comparación de promedios (DMS) para los datos de contenido de agua en el suelo, peso del suelo en los tubos, N acumulado en las resinas y N en suelo al final del experimento de mineralización en campo.

Variable	Tratamientos			
	0	50	100	150
Agua en Suelo (%)	5.71 b □□□	6.36 b ± 0.59	8.63 b ± 0.44	12.68 a ± 1.97
Peso suelo (g)	327.2 a ± 7.1	301.3 b ± 7.5	263.6 c ± 6.3	219.5 d ± 5.2
(A) N-inorgánico acumulado en resinas (mg/kg)	44.7 c ± 3.4	61.3 bc ± 8.9	78.66 b ± 7.7	121.1 a ± 11.3
(B) N-inorgánico Suelo al final (mg/kg)	10.3 b ± 1.7	17.5 ab ± 2.6	20.5 a ± 3.3	22.4 a ± 3.3
A + B	55.0 c ± 3.4	78.8 bc ± 8.7	99.2 b ± 8.3	143.5 a ± 11.9

Medias seguidas por la misma letra son estadísticamente iguales a un nivel de significancia de 0.05.

Cuadro 6. Niveles de significancia observado ($Pr > F$) en el análisis de varianza para los datos de NTK y N-inorgánico determinados en el suelo al final del experimento.

Fuente de Variación	NTK suelo	N-NH ₄ ⁺ en suelo	N-NO ₃ ⁻ en suelo	N-inorgánico (NH ₄ ⁺ NO ₃ ⁻)
Fecha	0.1874 ^z	0.0282 **	0.1725	0.0404 **
Bloque	0.7790	0.3741	0.0876	0.0549
Tratamientos	0.0001 **	0.6141	0.0017 **	0.0039 **
Fecha * Trat.				
C.V. (%)	10.65	130.73	41.86	41.58
Promedio (mg/kg)	905.08	2.32	15.31	17.83

^z Nivel de significancia observado= $Pr > F$: *, **, prueba de F significativa al 0.05 y 0.01 nivel de probabilidad, respectivamente.

Cuadro 7. Comparación de promedios (DMS) de NTK y N-inorgánico determinados en suelo al final del experimento.

Parámetro	Tratamiento (t/ha)			
	0	50	100	150
NTK (mg/kg)	462 ± 15d	699 ± 34c	1098 ± 40b	1359 ± 33a
N-NH ₄ ⁺ suelo	1.68 ± 0.82a	2.79 ± 0.34a	1.53 ± 0.99a	3.2 ± 1.21 ^a
N-NO ₃ ⁻ suelo	7.35 ± 0.9b	14.74 ± 1.77a	19.00 ± 3.4a	19.24 ± 2.2 ^a
N-inorg. (mg/kg)	9.04 ± 1.27b	17.54 ± 2.63a	20.54 ± 3.39a	22.44 ± 3.3a

Medias seguidas por la misma letra son estadísticamente iguales a un nivel de significancia de 0.05, ± error estándar.

En el Cuadro 8 se observa que los promedios de NTK no fueron afectados por el factor fecha de siembra, mientras que para el N inorgánico las fechas 1 y 3 presentaron las concentraciones mayores significativamente. Es importante aclarar que las fechas pudieron tener un efecto indirecto en la mineralización del N orgánico al afectar el contenido de humedad del suelo en los tubos por el sombreado de las plantas de algodónero.

En el Cuadro 9 se puede observar que el N acumulado en 178 días de incubación fue de 16.7, 34.02 y 76.51 mg/kg suelo para la diferencia entre el testigo y cada uno de los tratamientos de estiércol, respectivamente. Al sumar en N detectado en las resinas y el N inorgánico residual del suelo al final

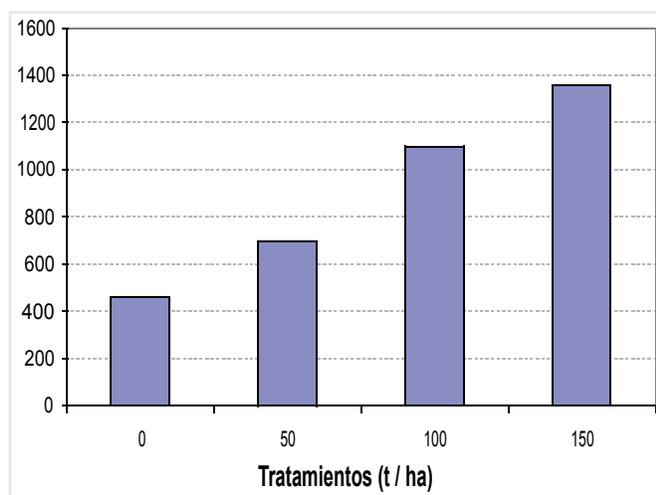


Figura 1. N total Kjeldahl en suelo al final del experimento.

del estudio mostró una diferencia entre el testigo y cada tratamiento de 23.83, 44.16 y 88.55 mg/kg suelo, respectivamente. Estas concentraciones de N inorgánico provinieron de la descomposición del estiércol, representando 53.6 kg/ha ($2.25 \times 23.83 = 53.6$), para la dosis de 50 t/ha.

A partir de los datos acumulados a los 178 días de incubación para cada tratamiento, se realizaron los análisis de regresión no lineal y ajuste del modelo exponencial indicado en la metodología del presente estudio, de los cuales se generaron los parámetros de N potencialmente mineralizable (N_0) y la tasa constante de mineralización (k) que se muestran en el Cuadro 9.

Cuadro 8. Promedios de NTK y N inorgánico para las fechas de siembra.

Parámetro	Fecha		
	1	2	3
NTK (mg/kg)	868 a	905 a	942 a
N-NH ₄ ⁺	3.95 a	2.81 ab	0.333 b
N-NO ₃ ⁻	16.22 a	12.36 a	17.42 a
N-inorg.	20.17 a	12.69 b	20.23 a

Medias seguidas por la misma letra son estadísticamente iguales a un nivel de significancia de 0.05.

Cuadro 9. Nitrógeno mineralizado acumulado en resinas (mg/kg suelo) a los 27, 66, 108, 125 y 178 días de incubación, N inorgánico en el suelo al final del experimento y valores de N potencialmente mineralizable (N_0) y la tasa constante de mineralización (k).

Días	Tratamientos			
	0	50	100	150
27	12.65	10.89	16.22	24.93
66	25.41	29.71	37.17	61.05
108	35.74	45.02	49.78	84.50
125	41.01	55.95	67.28	110.42
178 (Total en resinas)	44.6	61.30	78.62	121.11
N predicho	45.5	63.70	79.6	124.5
suelo + resinas al final	55.0	78.83	99.16	143.55
N_0	55.1968	102.893	150.9154	192.388
k	0.009797	0.005428	0.00421	0.005853

N_0 = N potencialmente mineralizable (mg/kg)
K = constante de mineralización (mg/día)

Los valores de (N_0) variaron de 55.19 a 192.39 mg/kg suelo y las tasas constantes (k) estuvieron entre 0.009797 y 0.00421 mg/día (Cuadro 9). Estos parámetros al incluirse en el modelo generaron los valores estimados o predichos para el N mineralizado, los cuales fueron 45.5, 63.7, 79.6 y 124.5 mg N/kg suelo/178 días, para los tratamientos 0, 50, 100 y

150 t/ha de estiércol bovino, respectivamente Figura 2. En esta Figura se muestran los valores observados y los predichos con el modelo, lo cual confirma el buen ajuste del modelo exponencial utilizado ($r = 0.99$). El N mineralizado del estiércol puede ser pronosticado con base en los modelos generados para cada dosis de estiércol en suelos similares (serie Juárez) en el Valle de Juárez, Chihuahua.

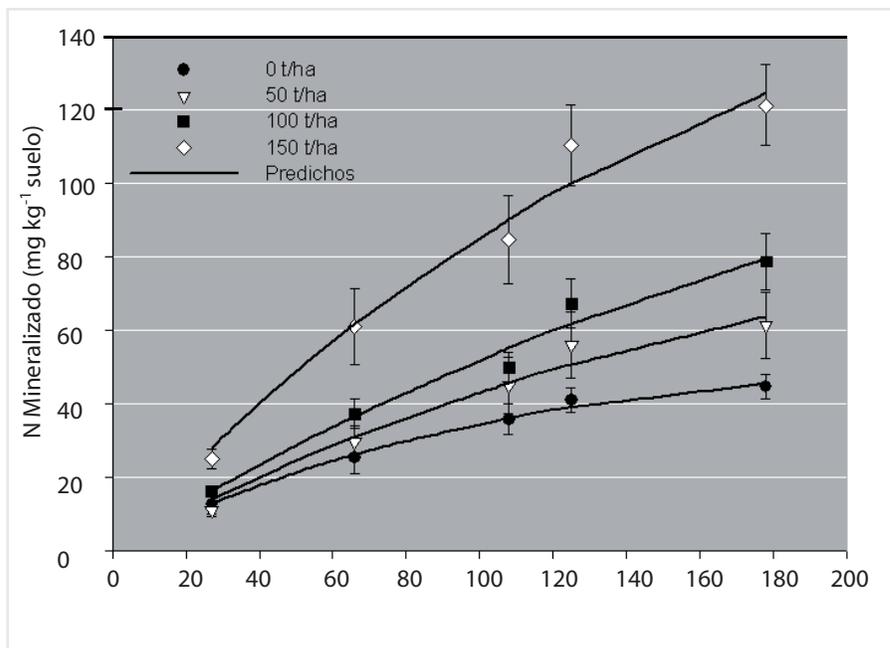


Figura 2. Nitrógeno mineralizado acumulado ($NH_4 + NO_3$) en suelo tratado con dosis crecientes de estiércol bovino durante el ciclo agrícola Primavera-Verano 2007. Las barras indican el error estándar.

En el presente estudio se determinó que los porcentajes de mineralización fueron de 55.3, 46.6 y 58.9% para las dosis de estiércol 50, 100 y 150 t/ha respectivamente. En el Cuadro 10 se indica que el NTK residual estuvo entre 41 y 53% después de 178 días de incubación en campo.

Los valores de N potencialmente mineralizable (N_o) variaron de 55 a 192 mg/kg, los cuales son inferiores a los reportados por Chae y Tabatabai (1986) quienes reportaron 773 mg/kg y Griffin y Laine (1983) reportaron de 255 a 429 mg/kg, estos mismos autores reportaron tasas de mineralización de 0.024 a 0.054 mg/semana. Dado que el N mineralizable es una función de los dos parámetros mencionados, por esa razón su variación es natural en diferentes condiciones de suelo y clima. Por ejemplo, Flores (2001) reportó valores de k entre 0.0061 y 0.015

mg/día, mientras que los valores del presente estudio estuvieron entre 0.0097 y 0.0042 mg/día. Las tasas de mineralización reportadas por dicho autor fueron de 2.8 a 6.6 mg N/kg/semana y un rango de 16 a 51 mg N/kg de suelo de diferencia entre el testigo y tratamientos de estiércol para diferentes tipos como compostas y estiércol fresco de bovino lechero.

La variación observada sobre las concentraciones de N inorgánico en las resinas fue expresada por los coeficientes de variación los cuales fluctuaron de 19.9 a 185% tanto para amonio como nitrato en las diferentes incubaciones. Resultados similares fueron reportados por Flores (2001) y Poncio (2008), quienes encontraron coeficientes de variación desde 20 hasta 99% en los análisis de varianza para N inorgánico con resinas en condiciones de campo.

Cuadro 10. Cálculos del NTK mineralizado en 178 días de incubación en campo.

Variable	Tratamientos (t / ha)			
	0	50	100	150
NTK (mg/kg)	462	699	1098	1359
NTK aplicado (mg / kg suelo)	-	159.7	313.6	479.0
NTK residual (mg / kg suelo)	-	237	636	897
Peso suelo / suelo (g)	327.2	301.3	263.6	219.5
NTK residual (mg / tubo)	-	71.41	167.6	196.9
NTK residual (%)	-	44.71	53.4	41.11
NTK mineralizado (%)	-	55.29	46.6	58.9

NTK en estiércol = 163 g / kg estiércol

NTK residual = 237 x 301 g / 1000 g

NTK residual (%) = 71.41 x 100 / 159.7

NTK mineralizado (%) = 100 - NTK residual (%)

CONCLUSIONES

El suelo presentó textura franco-arenoso, ligeramente alcalino y sin problema de sales solubles, con bajo contenido de NTK (440 mg/kg) y alto en N inorgánico (46 mg/kg), correspondiente a la serie de suelos Juárez que representa el 41.3% de los suelos del Valle de Juárez. La mayoría de los periodos de incubación mostraron efectos significativos entre tratamientos de estiércol para la concentración de N inorgánico medido en las resinas sintéticas de intercambio iónico. La concentración de N inorgánico mineralizado estuvo relacionada significativamente con la dosis de estiércol, así como el contenido de agua en el suelo y el peso del suelo. Al aumentar las dosis se incrementó el N inorgánico y en contenido de agua en el suelo significativamente.

Esto indica que a mayor materia orgánica aportada con las dosis de estiércol se mejora la actividad microbiana y por lo tanto la mineralización de N. Las diferencias de NTK entre el testigo y cada dosis de estiércol fueron de 237, 636 y 897 mg/kg suelo para las dosis 50, 100 y 150 t/ha, respectivamente al final del estudio. El porcentaje de NTK mineralizado varió de 46.6 a 58.9% en 178 días de incubación en campo. El modelo exponencial utilizado ajustó los valores observados significativamente ($r = 0.99$), el N potencialmente mineralizable (N_p) varió de 55 a 192 mg/kg y la tasa constante (k) entre 0.0097 y 0.0042 mg/día. Los valores observados de N mineralizado sugieren que el suelo estudiado podría suministrar 177.3 kg N/ha con la aplicación de 50 t estiércol/ha, de los cuales 53.5 kg N/ha vienen de la descomposición del estiércol en 178 días de incubación en campo. Las dosis de 100 y 150 t/ha de estiércol presentaron una aportación de 223.2 y 322.9 kg N/ha. Los resultados anteriores serán de valiosa utilidad tanto para productores como para técnicos del área de estudio ya que tienen relación con el uso y manejo de este importante fertilizante orgánico y mejorador de suelo, no sólo en el Valle de Juárez sino en otras regiones agroclimáticas similares.

REFERENCIAS

- Aguilar, A.A., J.D. Etchevers y J. Castellanos (1987). *Análisis químico para evaluar la fertilidad del suelo*. Chapingo, Estado de México: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo (1ra ed.).
- Brady, N.C. y R.R. Weil (1996). *The nature and properties of soils*. Apper Saddle river, NJ: Prentice Hall.
- Bremner, J.M. (1996). "Nitrogen Total". En: J.M. Bartels *et al.* (ed.) Part.3. *Methods of soil analysis. Chemical Methods*. Madison, WL: ASA and SSSA, Buk series No. 5 (3rd ed.). Pp. 1085-1021.
- Capulín, G.J., R. Nuñez, J.D. Etchevers y G.A. Baca (2001). "Evaluación del extracto líquido del estiércol bovino como insumo de nutrición vegetal en hidroponía". *Agrociencia*. Edo. México. 35 (3), 287-299
- Castellanos, J.Z., J.X. Uvalle y S.A. Aguilar (2000). *Manual de Interpretación de Análisis de Suelos y Aguas*. México: Instituto de Capacitación para la Productividad Agrícola (2da ed.).
- Castellanos, J. y J.J. Peña (1990). "Los nitratos provenientes de la agricultura: una fuente de contaminación de los acuíferos". *Terra Latinoamericana*, 8 (1), 113-124.
- Chae, Y.M., y M.A. Tabatabai (1986). "Mineralization of nitrogen in soils amended with organic wastes". *J. Environ. Qual.*, 15:193-198.
- CIEPS. (1970). *Estudio agrológico del Valle de Juárez*. Chihuahua: Secretaría de Recursos Hidráulicos.
- Distefano, J.F., y H.L. Gholz (1986). "A proponed use of ion Exchange resins to measure nitrogen mineralization and nitrification in intact soil cores". *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 17, 989-998
- Eghball, B. (1999). "Liming effects of beef cattle feedlot manure or compost". *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* 30, 2563-2570.
- Eghball, B. (2002). "Nitrogen mineralization from

- field-applied beer Cattle feeflot manure or compost". *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 64 (6), 2024-2030.
- Flores, M.J.P. (2001). Nitrogen Mineralization and Agriculture soils treated with diary manure under two soil water potenciales. Dessertation Doctor of Philosophy. Las Cruces. NM: New Mexico Estate University.
- Flores, M.J.P. (2007). Resinas de intercambio iónico para evaluar la mineralización denitrógeno en suelos tratados con abonos orgánicos. En: *Uso y provechamiento de Abonos Orgánicos e Inocuidad*. Ed. Salazar *et al.* México: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, Conacyt. Pp. 386-412.
- Flores, J.P., F. Pérez, Z. Poncio y E. Salas (2006). "Nitrogen Mineralization in Alkaline soil treated with lime-stabilized biosolids and residual wastewater at the north of Mexico". Pennsylvania: 18th World Congress of Soil Science Philadelphia.
- Flores, M. J. P., D.B. Corral y M.G. Sapién (2008). "Mineralización de nitrógeno de biosólidos estabilizados con cal en suelos agrícolas". *Terra Latinoamericana*. Aceptado en Junio 2008.
- Griffin, G.F, y A.F. Laine (1983). "Nitrogen mineralization in soils previously amended with organic wastes". *Agron. J.* 75, 124-129.
- Kjonaas, O.J. (1999). "In situ efficiency of ion exchange resins in studies of nitrogen transformation". *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 63, 399-409.
- Kolberg, R.L., B. Rouppe, D.G. Westfall y G.A. Peterson (1997). "Evaluation of an in situ net soil mineralization metod in dryland agrecosystems". *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 61, 504-508.
- López, J.D., A. Díaz, E. Martínez y R.D. Valdéz (2001). "Abonos Orgánicos y sus efectos en las propiedades físicas y químicas del suelo y rendimiento en el maíz". *Terra latinoamericana*. Chapingo, Estado de México: Universidad Autónoma de Chapingo. 19(004), 293-299.
- Poncio, A.M.Z. (2008). Mineralización de nitrógeno en tres tipos de suelo tratados con biosólidos estabilizados con cal en el Valle de Juárez, Chihuahua. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
- Ross, S. (1989). *Soil processes: a systematic approach*. New York: Chapman and Hall, Inc. Pp. 39-74.
- Rouppet, B. (1994). In situ soil nitrogen mineralization in no-till dryland agroecosystems. Dissertation. Fort Collins, CO: Department of Soil and Crop Sciences, Colorado State University.
- Salazar, S.E., J.D. López, R. Suñiga, C. Vázquez, M. Rortis y J. Vital (2003). "Uso y aprovechamiento del Estiércol como alternativa nutricional en Invernadero". Universidad Juárez del Estado de Durango. Pp. 1-12.
- Salazar, S.E., C. Vazquez, J.A. Leos, M. Fortis, J.A. Montemayor, R. Figueroa y J.D. López (2004). "Mineralización del estiércol bovino y su impacto en la calidad del suelo y la producción de tomate (*lycopersiq Sculentum mill*) bajo riego sub-superficial". *Revista Internacional de Botánica Experimental*. Pp. 259-273.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (Sagarpa) (2007). Relación de cédulas de registro al padrón de exportadores de ganado (inventario ganadero). Distrito de desarrollo rural 04-Valle de Juárez.
- Trinidad, S. A. (2007). Abonos Orgánicos. Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Postgraduados. Subsecretaría de Desarrollo Rural, Dirección General de Apoyo para el Desarrollo Rural, Montecillo, Estado de México. www.colpos.mx. (Consulta: 12 de enero de 2008).
- Vázquez, A.R. (2004). "Uso y manejo del estiércol en la productividad del nopal". Facultad de Agricultura y Zootecnia. Universidad Juárez Estado de Durango. Pp. 37-60.

Efecto de la dieta en corderos de lana y pelo sobre la ganancia diaria de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y características de la canal

Jaramillo, L.E.*; Molinar, H.F.*;
Leos, M. J.A.*; Hinojosa, A.M.C.*

Se utilizaron ocho corderos de lana Polipay x Rambouillet (PR) siete de pelo Pelibuey (P) de dos meses de edad y peso de 15.92 ± 1.050 y 14.95 ± 1.024 kg. Se usaron dos dietas, una con base en maíz y otra de sorgo ambos rolados. Durante 14 semanas de alimentación los corderos se pesaron cada siete días. Los datos se analizaron con un diseño factorial. La mejor ganancia diaria de peso ($P < 0.05$) fue en los corderos PR (0.24 ± 0.0004 kg/día) que en P (0.178 ± 0.006 kg/día) y con la ración base maíz fue superior a la de sorgo $P < 0.05$ (0.24 ± 0.004 vs 0.18 ± 0.006 kg/día). La CAL fue mayor en los PR con 6.54 kg que P con 8.07 kg. El consumo de alimento fue mayor en PR con 1.55 ± 0.200 kg que P con 1.37 ± 0.016 kg ($P < 0.01$). Los corderos PR que recibieron una dieta a base de maíz produjeron una pierna más pesada, como cuello y tórax ($P < 0.05$).

INTRODUCCIÓN

La gran demanda de carne ovina en México y la incapacidad de satisfacerla, ha obligado a importar cantidades considerables, en 2004 alcanzó la cifra de 44 mil toneladas principalmente de Estados Unidos, Australia y Nueva Zelanda (Sagarpa, 2005). Tradicionalmente los consumidores de carne ovina

en México demandan carne de ovinos de un año de edad o mayores (Arbiza y DeLucas, 1996). Debido a esta demanda la producción ovina en México ha evolucionado de sistemas extensivos a intensivos, en los que se emplean razas muy diversas tanto de lana como Suffolk, Hampshire, Rambouillet o de pelo como Panza negra y Pelibuey, y esta última encastada en ocasiones con las tres primeras razas,

* Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Departamento de Ciencias Veterinarias, Anillo Pronaf y Estocolmo s/n, Ciudad Juárez, Chihuahua. ejaramil@uacj.mx

con el objeto de producir corderos con una mejor ganancia diaria de peso (GDP) y conversión alimenticia (CAL) (López, *et al.*; 2000).

El crecimiento de los corderos y el rendimiento de la canal, se ven afectados por varios factores, tanto de orden genético como ambiental, entre los que destacan la nutrición, el sexo y la edad del animal (Arbiza y DeLucas, 1996). De especial importancia en la eficiencia de los corderos es el consumo de alimento, que de igual manera se ve afectado por factores tales como el sexo, la edad del cordero, el tipo de forraje y las condiciones ambientales (Fimbres, *et al.*; 2002).

El consumo de alimento (CA), CAL y la GDP, varía entre razas de ovinos, también se ve afectado por la edad, sexo y estado fisiológico de los corderos (Avendaño *et al.*; 2004).

La calidad de la canal y carne ovina se afecta por factores internos como: la raza, edad y peso al sacrificio, así como el sexo, además de factores externos como la alimentación (Sañudo *et al.*; 1998). En corderos Suffolk x Rambouillet, la canal fue más pesada por día de edad, contiene un mayor porcentaje de pierna, humedad y proteína que el grupo (Suffolk x Finnish Landrace x Southdown) (Solomon, *et al.*; 1980).

Gutiérrez (2001) evaluó las canales de ovinos, machos y hembras, Pelibuey (Pb) y sus cruza con Rambouillet (R-Pb) y Suffolk (S-Pb) de acuerdo con las normas de España y Estados Unidos; no encontró diferencias significativas entre grupos genéticos pero sí entre sexos, las hembras presentan una mejor conformación de la canal y las piernas. El área de la chuleta de los machos Pb y R-Pb fue mayor que las hembras de los mismos grupos. El espesor de la grasa subcutánea de las hembras Pb fue mayor que el de los machos de los tres grupos raciales.

Las investigaciones sobre la GDP, CAL, CA y características de la canal en corderos en México son limitadas y la mayoría de la información se ha

generado en el centro del país, por lo que el objetivo de este estudio fue determinar el efecto del tipo de dieta sobre la GP, CAL, CA y las características de la canal en corderos de lana de una cruce Polipay x Rambouillet, respecto a una de pelo de raza Pelibuey.

MATERIALES Y MÉTODOS

La GDP, CAL y CA así como las características de la canal se determinaron en quince corderos, ocho de lana Polipay x Rambouillet (PR) y siete de pelo de la raza Pelibuey (P). Los corderos provenían del rebaño de la posta zootécnica de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, unidad Valle de Juárez. Todos los corderos se destetaron a los sesenta días de edad y un peso inicial para PR de 15.92 ± 1.05 kg y de 14.95 ± 1.024 kg para P.

De los ocho corderos PR, cuatro se asignaron a la dieta de maíz y los otros cuatro a la de sorgo, de los corderos P, cuatro se asignaron a la dieta de maíz y tres a la de sorgo. Cada cordero se colocó en una jaula individual durante las catorce semanas de experimentación.

Los requerimientos nutricionales de los corderos, se estimaron de acuerdo al (NRC, 1985), se elaboraron dos raciones una a base de maíz y otra con sorgo, ambos rolados, porque son los granos de cereales que más se emplean en la formulación de raciones para corderos en finalización. Los ingredientes y la composición química de las dietas se presentan en los cuadros 1 y 2.

Después de un periodo de adaptación de 15 días a las dietas, el CA se estimó individualmente, al estimar la diferencia entre el peso del alimento ofrecido y el rechazado que se pesaba diariamente 7:00 AM y 7:00 PM. Para estimar la GDP los corderos se pesaron cada siete días a las 7:00 AM, se seleccionó esta hora porque la temperatura ambiental es baja y los animales no se someten a un estrés severo. La CAL se obtuvo al dividir el consumo total de alimento sobre el peso final que ganaron los corderos.

Cuadro 1. Ingredientes de las dietas empleadas en la alimentación de los corderos (kg/kg).

Ingrediente	Dieta de maíz (kg/kg)	Dieta de sorgo (kg/kg)
Maíz	0.555	0
Sorgo	0	0.555
Alfalfa	0.420	0.4161
Harinolina	0.0242	0.0241
Sulfato de amonio	0.0044	0.0044
Minerales	0.00013	0.00013
Total	0.998	0.999

Cuadro 2. Composición química de las dietas empleadas en la alimentación de los corderos (kg/kg).

Componente (kg/kg)	Dieta de maíz (kg/kg)	Dieta de sorgo (kg/kg)
Cenizas	0.081	0.095
Extracto etéreo	0.034	0.037
Proteína cruda	0.143	0.196
Fibra cruda	0.165	0.149
Extracto libre de nitrógeno	0.589	0.522
Energía metabolizable Mcal/kg.	2.76	2.70

Al finalizar las catorce semanas de alimentación, los corderos se sacrificaron previo ayuno de doce horas. Después del sacrificio, se pesó la canal caliente, la piel el sistema digestivo lleno y vacío, sangre, pulmones, corazón, hígado, bazo, tráquea, patas y cabeza.

La canal limpia se almacenó en un congelador horizontal a una temperatura de 2°C y se pesó 24 horas después, este peso correspondió al peso de la canal fría. Posteriormente la canal se dividió en sus distintos componentes de acuerdo a la metodología

recomendada por la Unión Europea (Fisher y de Boer, 1994), como se muestra en la figura 1.

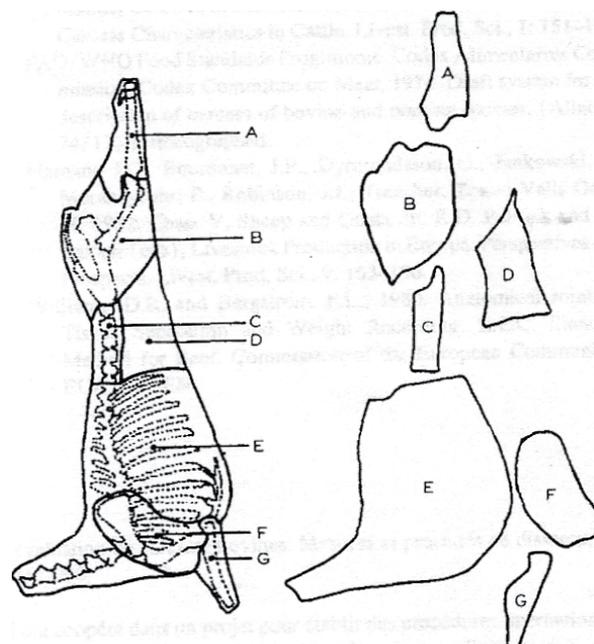


Figura 1. Cortes de la canal (Fisher y de Boer 1994). A= Badal; B = Pierna; C = Lomo; D = Bajos; E = Costilla y cuello; F = Espalda y G = Carrizo.

Las características de la canal se evaluaron de la siguiente manera: peso de la canal caliente y en frío, peso de los principales componentes de la canal y subproductos comestibles.

El efecto de la raza y tipo de grano en la dieta sobre la GDP, CA y CAL, se analizaron mediante el empleo de un diseño factorial 2x2, que representa las razas de lana y pelo y las dos dietas (maíz y sorgo). Los componentes de la canal se analizaron de manera similar. Los datos se analizaron mediante el uso del programa estadístico SPSS, versión 11 (Norusis, 1999).

El modelo utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + r_j + gr_{jk} + e_{ijkl}$$

Y_{ijk} = variable

μ = media general

g_i = efecto del tipo de dieta

r_j = efecto de la raza

gr_{jk} = interacción grano por raza

e_{ijkl} = efecto del error aleatorio

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tipo de dieta afectó la GDP, fue mejor en la dieta con base en maíz con 0.24 ± 0.004 kg/día vs 0.18 ± 0.006 kg/día para la dieta de sorgo ($P < 0.05$). El efecto de tipo de cordero fue altamente significativo ($P < 0.01$). Los corderos de lana tuvieron una GDP mayor 0.24 ± 0.004 kg/día vs 0.18 ± 0.006 kg/día de GDP para los de pelo.

La GDP fue diferente entre semanas ($P < 0.05$), la mejor GDP ocurrió durante las primeras cuatro semanas de estudio y se mantuvo estable en las semanas 5 y 6, para incrementarse nuevamente en las semanas siete y ocho, y disminuyó durante la semana diez y se mantuvo constante hasta la 14 (figura 2).

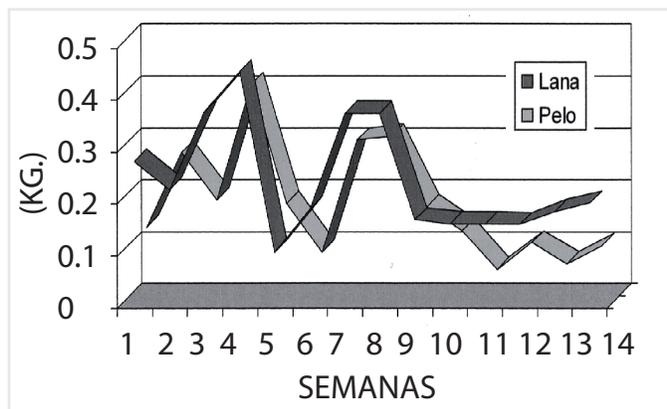


Figura 2. Ganancia diaria de peso de los corderos de lana y pelo, durante las 14 semanas de alimentación.

La interacción del tipo de cordero con la dieta no fue significativa para la GDP ($P > 0.05$). En los corderos de lana alimentados con maíz y sorgo fue de 0.27 ± 0.006 y 0.22 ± 0.006 kg/día respectivamente, mientras que para los de pelo en el mismo orden fue de 0.20 ± 0.006 y 0.15 ± 0.007 kg/día.

El tipo de cordero afectó el CA ($P < 0.05$), los corderos de lana consumieron en promedio 1.55 ± 0.05 kg/día vs 1.37 ± 0.016 kg/día de los de

pelo. No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre dietas con respecto al CA (1.47 ± 0.015 vs 1.46 ± 0.021 kg/día para maíz y sorgo respectivamente). Sin embargo el CA ($P < 0.01$) fue diferente entre semanas (figura 3).

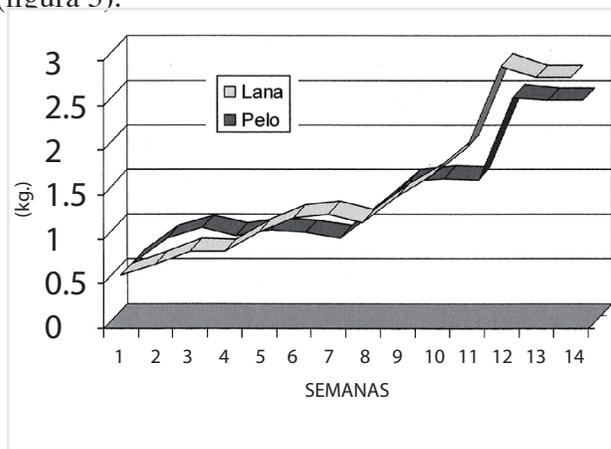


Figura 3. Consumo de alimento de corderos de lana y pelo durante las 14 semanas de alimentación.

La interacción entre el tipo de cordero y dieta fue significativa para el CA ($P < 0.01$). El CA, para los corderos de lana alimentados con una dieta de maíz fue de 1.50 ± 0.021 kg/día y 1.61 ± 0.034 kg/día para los que recibieron la dieta con sorgo. Para los corderos de pelo el CA fue de 1.44 ± 0.021 kg/día con la dieta de maíz y de 1.30 ± 0.025 kg/día para la dieta de sorgo.

La CAL, el peso final de los corderos alimentados con la dieta de maíz y sorgo; así como la ganancia total de peso y consumo total de alimento se presentan en el Cuadro 3. La CAL fue mayor en los corderos de lana.

En el cuadro 4 se presenta el peso de las vísceras y grasa mesentérica. El peso máximo de las vísceras corresponde al sistema digestivo lleno, seguido de la piel, cabeza y patas.

El peso de la canal caliente y fría, así como cada uno de los componentes considerados para el análisis se presentan en el Cuadro 5.

Cuadro 3. Conversión alimenticia (CAL) de los corderos de lana y pelo, así como el tipo de grano en la ración.

	Corde- ros de lana	Corde- ros de pelo	Dieta de maíz	Dieta de sorgo
DA	98	98	98	98
PVI	14.95	15.92	15.51	14.70
PVF	38.26	31.26	39.02	31.07
CPAPD	1.56	1.37	1.47	1.43
PTG	23.31	15.92	23.51	16.37
CAT	152.48	134.27	143.77	143.37
CAL	6.54	8.43	6.11	8.76

DA: Días de alimentación (kg)

PVI: Peso vivo inicial (kg)

PVF: Peso vivo final (kg)

CPAPD: Consumo promedio de alimento por día (kg)

PTG: Peso total ganado (kg)

CAT: Consumo de alimento total (kg)

CAL: Conversión alimenticia =CAT/PTG (kg)

Los resultados de este trabajo muestran que como grupo racial la GDP en los corderos de lana PR son similares a los reportados para corderos de otras razas o cruzamientos como la Barbaresca (Lanza, *et al.*; 2003), la raza Merinizzate (Scerra, *et al.*; 2001), Dorper (Chestnutt, 1994), Ille France x Ideal (Silva, *et al.*; 2002), e incluso superior a los reportados para la Awassi (Omar, 2002), Texel x Bergamacia x Corriedale (Zundet, *et al.*; 2003).

En general la GDP entre razas de lana suelen ser mejores que en los corderos de pelo indistintamente del sistema de alimentación, esta diferencia puede deberse al efecto de la selección a que han sido sometidas las razas de lana en comparación con las razas de pelo.

La GDP de los corderos P en este estudio fue inferior a lo reportado por Avendaño *et al.*; 2004, quienes reportaron una GDP de 0.233 kg/día, muy superior a 0.178 kg/día, esta diferencia puede haberse debido al tipo de dieta que emplearon, porque solamente contenía 10% de forraje y 90% de concentrado y en el presente trabajo fue de 41.54% de

forraje y 58.46 de concentrado.

La dieta también tuvo un efecto significativo sobre la GDP, esto puede verse en experimentos con corderos alimentados con 50% de ensilaje de sorgo y 50% de concentrado en la dieta, en la cual la principal fuente de energía fue el sorgo. Silva *et al.*; 2002, mencionan GDP de 0.25 kg/día, este valor es superior al que se obtuvo en el presente estudio con corderos en cuya dieta el sorgo fue la principal fuente de energía (0.180 kg/día). La diferencia en la GDP puede ser por la variedad de sorgo utilizada en la dieta a base de este grano ya que algunas variedades de sorgo contienen altas concentraciones de taninos y esto limita la degradación del sistema digestivo (Cheeke, 1998).

Zundett *et al.*; (2002), reportaron una GDP de 0.160 kg/día en corderos alimentados con una dieta compuesta por 59.7% de sorgo y 12% de proteína cruda, en el presente estudio la GDP fue de (0.180 kg/día) esta diferencia de 0.020 kg/día puede deberse al mayor porcentaje de proteína cruda (20.10%) presente en la dieta a base de sorgo.

Scerra *et al.*; (2001), obtuvo una GDP de 0.26 kg/día, en corderos alimentados con una dieta compuesta por 70% de concentrado y 30% de maíz, estos resultados son muy similares a los obtenidos en este trabajo (0.239 kg/día). Chesnutt (1994) reportó una GDP de 0.213 a 0.32 kg de la semana seis a la semana 13 de experimentación, esta diferencia en los resultados con respecto e los encontrados en el presente estudio, puede deberse a la edad de los corderos empleados, ya que en el trabajo de Chestnutt (1994) se emplearon corderos de seis semanas de edad y en este trabajo de ocho.

El CA difiere entre razas, Lanza *et al.*; 2003, reportaron que el CA para la raza Barbaresca fue de 1.03 kg/día, mientras que en el presente trabajo fue de 1.55 kg/día en los corderos PR y de 1.37 kg/día para P. Los resultados reportados por Scerra *et al.*; (2001) para corderos de lana y pelo el CA fue de 1.225 kg/día. Sin embargo, en el presente estudio, el CA promedio para los corderos PR y P fue más alto (1.47 kg/día). La diferencia en el CA puede deberse a la duración del periodo experimental, el estudio de ellos duro ochenta días y el presente

Cuadro 4. Comparación del peso (kg) de los despojos y vísceras, así como el nivel de significancia después del sacrificio.

	Lana	Pelo	Maíz	Sorgo	Raza	Dieta	Interacción
Piel	3.94±0.310	2.83±0.330	3.71±0.310	3.06±0.330	*	NS	NS
Cabeza	2.04±0.150	1.79±0.160	2.05±0.150	1.77±0.160	NS	NS	NS
Sangre	1.51±0.160	1.18±0.140	1.41±0.120	0.129±0.120	NS	NS	NS
Patas	0.86±0.090	0.73±0.080	0.92±0.080	0.67±0.07	NS	NS	NS
Corazón	0.45±0.060	0.21±0.030	0.32±0.060	0.36±0.08	*	NS	NS
PyT	0.65±0.110	0.46±0.030	0.58±0.120	0.53±0.040	NS	NS	NS
Hígado	0.71±0.130	0.78±0.150	0.90±0.160	0.56±0.030	NS	*	NS
Vejiga	0.04±0.004	0.04±0.004	0.03±0.004	0.04±0.004	NS	*	NS
PREEYALL	4.55±0.350	3.61±0.348	4.72±1.169	3.51±0.874	NS	*	NS
PREEYABV	1.13±0.102	1.01±0.110	1.28±0.102	0.85±0.110	NS	*	NS
IDLL	1.41±0.140	1.12±0.150	1.28±0.120	0.88±0.080	NS	NS	NS
IDV	0.81±0.092	0.76±0.100	1.05±0.092	0.52±0.100	NS	**	NS
IGLL	1.27±0.070	1.24±0.200	1.45±0.120	1.04±0.120	NS	NS	NS
IGV	0.44±0.051	0.42±0.055	0.52±0.051	0.35±0.055	NS	*	NS
GRM	0.42±0.090	0.53±0.100	0.59±0.100	0.34±0.050	NS	NS	NS

NS= No significativo; * (P<0.05); ** (P<0.01); PyT = Pulmón y traquea; PREEYALL= Prestómagos y abomaso llenos; PREEYABV = Prestómagos y abomaso vacíos; IDLL = Intestino delgado lleno; IDV = Intestino delgado vacío; IGLL = Intestino grueso lleno; IGV = Intestino grueso vacío y GRM = Grasa mesentérica.

trabajo duro noventa y ocho días. Sin embargo, los resultados de este trabajo son muy similares a los arrojados por Omar (2002), quien reportó un CA de 1.49 kg/día en corderos Awassi con dietas que contenían 0%, 10 y 20% de harina de semilla ajonjolí respectivamente.

En el presente estudio, el CA en promedio fue de 1.47 kg/día para la dieta que contenía 55.55% de maíz. Al comparar los resultados de este trabajo se encontraron valores similares a los reportados por Cobos *et al.*; (2002), quienes emplearon tres dietas con diferentes porcentajes de maíz (41.9%, 46.7% y 50%). El CA fue de 1.181 kg/día, 1.41 kg/día y 1.27 kg/día para las tres dietas respectivamente.

El fenotipo del animal y la composición química de la dieta pueden afectar la CAL Lanza *et al.*; (2003) en corderos de raza Barbaresca obtuvieron una CAL de 4.53 kg después de seis semanas de alimentación con una dieta compuesta por: pasta de

soya, maíz y alfalfa. En el presente estudio la CAL fue de 6.54 kg para los corderos PR y 8.43 para P, alimentados con dietas a base de maíz, alfalfa y harinolina. El mejor comportamiento de la raza Barbaresca pudo deberse a la composición química de la dieta y al genotipo de esta raza. Sin embargo, Omar (2002) obtuvo una CAL de 6.8 kg en corderos Awassi alimentados con 60% de cebada por nueve semanas. Estos resultados coinciden con los del presente trabajo para los corderos PR alimentados con maíz y sorgo (6.11 y 8.75 kg respectivamente). En el estudio de Zundet *et al.*; (2003) en corderos alimentados con una dieta de 30% de forraje y 70% de concentrado la CAL fue de 7.56 kg. Semejante CAL cae dentro de cada uno de los valores encontrados en este trabajo (6.54 y 8.34 para corderos PR y P respectivamente).

En este trabajo el rendimiento de la canal para corderos PR fue de 47.06% y para los P de 50.97%.

El rendimiento es más bajo en 2.8% que el 49.9% reportado por Snyman *et al.*; (2002) para corderos de lana. La variación en el rendimiento de la canal puede ser debida a la edad de los animales al momento del sacrificio. En el presente estudio los corderos se sacrificaron a los 180 días de edad aproximadamente y en cambio en el estudio referido, los corderos Dorper se sacrificaron a los 365 días.

Silveira *et al.*; (2002) han reportado que el rendimiento de la canal al sacrificio de corderos Corriedale x Border y Border Leicester x Ideal, a los 195 días de edad, fue de 47.05 y 45.44% respectivamente. Estos resultados coinciden con los reportados en el presente estudio (47.06 y 50.97%). Por otra parte, Cantón *et al.*; (1992) obtuvieron un rendimiento más bajo de la canal (40.35%) al emplear animales adultos (aproximadamente 591 días de edad). Estas variaciones pueden deberse a la edad de los animales así como también a la raza (Black belly y Black belly x Pelibuey). Sin embargo, Zundet *et al.*; (2003) reportaron un rendimiento de la canal de 46.48% similar al del presente trabajo en corderos Merinizzate. Sin embargo Moraiz *et al.*; (2002 a) en la raza Bergamacia reportaron que el rendimiento de la canal fue de 53%. La diferencia puede deberse a la edad de los animales al momento del sacrificio,

así como al peso vivo del animal (210 días y 45 kg de peso respectivamente).

No se encontraron diferencias entre razas para el peso de las vísceras. Estos resultados coinciden con los reportados por Moraiz *et al.*; (2002 b) para las razas Bergamacia y Santa Inés. Adicionalmente estos autores encontraron un alto porcentaje de grasa mesentérica en las vísceras de ambas razas. El porcentaje de grasa obtenido para corderos de la raza Bergamacia y Santa Inés fue de 2.11 y 2.08% respectivamente. En el presente estudio se encontró un 0.53% de grasa mesentérica en los corderos P y 0.42% en los corderos PR. La disparidad entre estos porcentajes de grasa mesentérica reportados por Moraiz, *et al.*; (2002 b) y los reportados en este estudio puede deberse a la edad de los animales.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio, que los corderos PR con dietas a base de maíz rolado presentaron una mejor GDP, CAL y CA y mayor peso de la pierna y espaldilla que los corderos de pelo (Pelibuey) alimentados con sorgo rolado.

Cuadro 5. Comparación entre los diferentes componentes de la canal (kg) y su nivel de significancia después de la separación, para la raza, dieta e interacción.

Componente	Lana	Pelo	Maíz	Sorgo	Raza	Dieta	Interacción
PCC	17.92±0.960	15.94±1.040	18.18±0.960	15.68±1.040	NS	NS	NS
PCF	17.17±0.870	15.22±0.930	17.22±0.870	15.17±0.940	NS	NS	NS
Pierna	4.16±0.190	3.48±0.210	4.22±0.190	3.42±0.210	*	*	NS
Costilla	6.10±0.280	5.08±0.310	6.06±0.280	5.13±0.310	*	*	NS
Badal	0.970±0.080	0.82±0.090	0.98±0.080	0.81±0.090	NS	NS	NS
Espalda	2.63±0.150	2.14±0.160	2.58±0.150	2.19±0.160	NS	*	NS
Bajos	0.77±0.040	0.67±0.040	0.72±0.040	0.72±0.04	NS	NS	NS
Lomos	1.68±0.100	1.42±0.110	1.68±0.100	1.42±0.110	NS	NS	NS
Carrizo	0.85±0.070	0.76±0.070	0.83±0.070	0.78±0.070	NS	*	NS

PCC = Peso canal caliente; PCF = Peso de la canal fría; NS = No significativo; * (P<0.05); ** (P<0.01).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dirección General de Investigación Científica y a la Coordinación de Investigación.

REFERENCIAS

- Arbiza, S.I., T.J. DeLucas (1996). *Producción de Carne Ovina*. México: Editores Mexicanos Unidos.
- Avendaño, R.L., V.F.D. Álvarez, R.L. Molina, Q.J.S. Saucedo, C.A. Correa, O.R.S. Vejar, B.J. Escobar y V.J. Bernal (2004). *Engorda de borregos pelibuey y sus cruzas con dorper y katahdin bajo condiciones de estrés calórico: Resultados preliminares*. Morelia Michoacán: XXVIII Congreso Nacional de Buiatría. 12-14 de agosto.
- Boggs, D.L., R.A. Merkel (1984). *Live animal carcass evaluation and selection manual*. Dubuque, Iowa: Second Edition. Kendall/Hunt Publishing Company.
- Bosman, M.J.C., E.C. Webb, H.J. Cillieres, H.S. Steynd (2000). "Growth, carcass sensory characteristics of m. Longissimus lumborum from wethers fed silage diets made from maize or various sorghum varieties". *South Africa Journal of Animal Science*. (31) 36-45.
- Cantón, J.M., M.A. Velásquez y R.A. Castellanos (1992). "Body composition of pure and cross-breed blackbelly sheep". *Small Ruminant Research*. 7:61-66.
- Cheeke, P.R. (1999). *Applied Animal Nutrition. Feeds and Feeding*. USA: Ed. Prentice-Hall.
- Cobos, M.A., L.E. García, S.S. González, J.R. Barcena, D.S. Hernández y M. Pérez-Sato (2002). "The effect of shrimp shell waste on ruminal bacteria and performance of lambs". *Animal feed Science and Technology*. (95) 179-187.
- Cooper, M. McG., R.G. Thomas (1978). *Producción del Cordero*. Barcelona: Ed. Biblioteca Agrícola Aedos.
- Chestnutt, D.M.B. (1994). "Effect of lamb growth rate and growth pattern on carcass fat levels". *Animal Production*. (58) 77-85.
- Dhahad, A., A.K. Garg, P. Singh, y D.K. Agrawal (2002). "Effect of replacement of maize grain with bran on the performance of growing lambs". *Small Ruminant Research*. (43) 227-234.
- Fisher, A.V. y H. de Boer (1994). "The EAAP standard method of sheep carcass assessment. Carcass measurements and dissection procedures. Report of the EAAP Working Group on Carcass Evaluation in cooperation with the Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza and the Directorate General for Agriculture in Brussels". *Livestock Production Science*. 38:149-159.
- Fimbres, H., V.G. Hernández, P.J. Rubio, J.R. Kawas, y C.D. Lu (2002). "Productive performance and carcass characteristics of lambs fed finishing containing various forage levels". *Small Ruminant Research*. (43) 283-288.
- García, M.J.A., G.F.A.J. Núñez, A.F.A. Rodríguez, C. Prieto, D.N.I. Molina (1998). "Calidad de la Canal y de la Carne de Borregos Pelibuey Castrados". *Técnica Pecuaria en México*. (36) 225-232.
- Gutiérrez M.J. (2001). "Efecto del cruzamiento con Suffolk y Rambouillet sobre el rendimiento, composición y calidad de la canal de ovinos Pelibuey". Tesis de Maestría. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.
- Huerta, B.M. (2002). *Requerimientos nutricionales de ovinos Pelibuey y de Lana*. Mérida, Yucatán: II Congreso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Camélidos Sudamericanos. XI Congreso Nacional de Producción Ovina.
- Lanza, M., B. Bella, A. Priolo, y V. Fasose (2003). "Peas (*Pisum sativum* L.) as an alternative protein source in lamb diet: growth performance and carcass and meat quality". *Small Ruminant Research*. (47) 63-68.
- López, P.M.G., L.M.S. Rubio, M.S.E. Valdés (2000). "Efecto del cruzamiento, sexo y dieta en la composición química de la carne de

- ovinos Pelibuey con Rambouillet y Suffolk”. *Veterinaria México*. (31) 11-19.
- Macit, M. (2002). “Growth and carcass characteristics of male lambs of the Morkaraman breed”. *Small Ruminant Research*. (43) 191-194.
- Moraiz, O.M.V., P.J.R. Olalquiaga, E.L. Alves, V.M.A. Rodrigues, y R.P. Lana (2002a). “Rendimento da Carcaca, Mesuracoes e Peso da Cortes Comercias da Cordeiros Santa Ines e Bergamacia Alimentados com Dejetos de Suinos em Confinamento”. *Revista Brasileira de Zootecnia*. (31) 1451-1458.
- Moraiz, O.M.V., P.J.R. Olalquiaga, E.L. Alves, V.M.A. Rodrigues y R.P. Lana (2002b). “Avaliação da Composição da Cortes Comerciais, Componentes Corporais e Orgaos Internos de Cordeiros Confinados e Alimentados com Dejetos de Suinos”. *Revista Brasileira de Zootecnia*. (31) 1459-1468.
- National Research Council (1985). *Nutrient requirements for sheep*. Washington, D.C.: National Academy of Sciences.
- Norusis, J.M. (1999). *SPSS 9.0. Guide to Data Analysis*. New Jersey: Ed. Prentice Hall.
- Omar, J.M.A. (2002). “Effects of feeding different levels of sesame oil cake on performance and digestibility of Awasi lambs”. *Small Ruminant Research*. (46) 187-190.
- SAGARPA (2005). Secretaría de Agricultura Ganadería Pesca y Alimentación.
- Sañudo, C., A. Sánchez, y M. Alfonso (1998). “Small ruminants production systems and factors affecting lamb meat quality”. *Meat Science* 49. Suppl (1) S24-S64.
- Scerra, V., P. Caparra, F. Foti, M. Lanza, A. Priolo (2001). “Citrus pulp and wheat straw silage as ingredient in lambs diets: effects on growth and carcass and meat quality”. *Small Ruminant Research*. (40) 51-56.
- Silva, S.A.G., M.M.R. Fernandes., K.A. Gastaldi y C.A. Garcia (2002). “Efeitos da Relação Volumosos: Concentrado e do Peso au Abate sobre os componentes da perna de Cordeiros Ile de France x Ideal Confinados”. *Revista Brasileira da Zootecnia*. (31) 1017-1023.
- Silveira, O.J.C., N.M. Oliveira, O.M.T. Moreira, R.D. Jordin y P.M. Alves (2002). “Produção de Carne em Cordeiros Cruza Border Leicester com Ovelhas Corriedale a Ideal”. *Revista Brasileira de Zootecnia*. (31) 1469-1480.
- Snyman, M.A. y W.J. Oliver (2002). “Productive performance of hair and wool type Dorper sheep under extensive conditions”. *Small Ruminant Research*. (45) 17-23.
- Solomon, M.B., J.D. Kemp, W.G. Moody, D.G. Ely, y J.D. Fox (1980). “Effect of breed and slaughter weight on physical, chemical and organoleptic properties of lamb carcasses”. *Journal of Animal Science*, 51:1102-1107.
- Zundet, M., M.F.A. Fonseca, M.E. Nunes, A.A. Mexia y S.M. Yamamoto (2003). “Desempenho de Cordeiros Alimentados com Diferents Níveis Protêicos”. *Revista Brasileira da Zootecnia*. (31) 1037-1314.

Diversidad de la vegetación en cuatro comunidades forestales con grado de disturbio en el municipio de Bocoyna, Chihuahua

Quiñónez Martínez, M;¹ Lebgue Keleng, T;²
Corral Díaz, R;¹ Lavín Murcio, P;¹ De La Mora
Covarrubias, A;¹ Sosa Cerecedo, M.²

Se estudió la riqueza y diversidad de especies de la vegetación en cuatro comunidades vegetales con diferente grado de disturbio en los bosques forestales del municipio de Bocoyna, durante los meses de julio a septiembre de 2006, en las siguientes zonas: De quema, tala, de regeneración forestal y una zona natural de bosque. Se utilizaron las técnicas de diversidad de Shannon-wiener y de equitatividad de Pielou. Se registró un total de 18, 652 plantas en 27 géneros y 26 especies. La zona de quema presentó la mayor riqueza y diversidad de especies, dominada en su abundancia por *Packera candidissima* y *Quercus striatula*. La zona de tala presentó una total dominancia de *Packera candidissima*. La zona natural presentó valores considerables de frecuencias de *Quercus depressipes* y *Arctostaphylos pungens* sobre *Pinus arizonica*. En la zona de regeneración se presentó la misma condición. Esto podría ser un indicador de una lenta pero cierta sustitución de bosque de pino a chaparral.

INTRODUCCIÓN

En los bosques de coníferas, la dinámica de la vegetación es afectada por procesos de disturbio y sucesión (Kennedy y Spies, 2004). El disturbio es un agente ecológico que puede alterar profundamente patrones de heterogeneidad del recurso suelo. Por la eliminación de la vegetación dominante, los eventos de disturbio incrementan los niveles de luz (Dali *et*

al., 2004) formando bosques secundarios producto de una sucesión, un proceso ecológico donde la estructura y composición de una comunidad de plantas cambian a través del tiempo (Toledo *et al.*, 2005), ya sea por disturbios naturales o antropogénicos, donde fragmentos de bosques son cortados, quemados y cultivados por un periodo transitorio corto (Onaindia *et al.*, 2004). El análisis de los cambios que ocurren en la vegetación a través del tiempo

¹ Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

² Facultad de Zootecnia, Universidad Autónoma de Chihuahua

y del espacio permite entender cómo operan los procesos de regeneración, sucesión o degradación de los ecosistemas. Los resultados de este análisis indican que el ser humano es sin duda el principal agente transformador de los ecosistemas (Márquez *et al.*, 2005).

El municipio de Bocoyna forma parte de la sierra Tarahumara en el estado de Chihuahua. Tiene una superficie de 2,801.80 kilómetros cuadrados, ocupando el 5° lugar por superficie en el estado, lo cual representa el 1.13% de la extensión territorial estatal (SEGOB, 2005). En él predominan los bosques de coníferas, caracterizados por una gran variedad de especies de flora y fauna. En los bosques de pino, la sobreexplotación de sus bosques, ha generado la deforestación de algunas zonas naturales dentro de las comunidades de pino y de pino-encino. Los disturbios han sido el factor determinante de la heterogeneidad en el paisaje y cambios en la composición de la comunidad vegetal, principalmente la proliferación de vegetación herbácea, indicadora de una sucesión secundaria en estas áreas. El presente trabajo identifica y analiza los datos de especies vegetales que determinan el patrón de sucesión y compara la vegetación secundaria producto de un disturbio por tala y quema con otros sitios naturales y de reforestación en el municipio de Bocoyna, Chihuahua.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio se localiza en la localidad de San Juanito, perteneciente al Municipio de Bocoyna. Se encuentra ubicado en la parte alta de la sierra madre occidental, entre las coordenadas 28° 00' 41" y 27° 53' 38" latitud norte y entre los 107° 35' 39" y 107° 35' 37" longitud oeste con una altitud de 2427 a 2442 metros sobre el nivel del mar. Colinda al norte con Guerrero, al este con Carichi, al sur con Guachochi, Urique y Guazapares, y al oeste con Ocampo, Maguarichi y Guazapares. La cabecera municipal se encuentra a 250 kilómetros aproximadamente de la capital del estado (SEGOB, 2005). Las comunidades vegetales presentes en el municipio de Bocoyna son: Bosque de pino (P) y Bosque de pino-encino (Pq).

Las zonas de muestreo comprenden cuatro comunidades forestales que se encuentran bajo diferentes condiciones ecológicas. 1. Zona de impacto por quema (ZQ), 2. Zona de impacto por tala (ZT), 3. Zona de regeneración (ZR) de *P. arizonica* como plantación forestal, y 4. Zona natural de bosque (ZNB) con un aparente bajo impacto antropogénico, todas pertenecientes al municipio de Bocoyna. En cada punto de muestreo seleccionado se ubicaron tres cuadrantes de un tamaño de 100 x 100 m² utilizado a través de 4 muestreos a partir de julio a mediados de septiembre de 2006. Se identificaron y herborizaron los ejemplares de cada especie vegetal. Se determinó la riqueza y abundancia de herbáceas en las zonas de disturbio y arbustos y árboles en las zonas conservadas (Krebs, 1985), se utilizó el índice de diversidad de Shannon-Wiener (Shaw, 2003; Behera, *et al.*, 2004; Lindgren & Sullivan, 2001) y de equitatividad de Pielou's (Onaindia *et al.*, 2004; Pitkänen, 1998; Shaw, 2003), para cada una de las áreas de estudio. A través del índice de similitud entre pares de comunidades se ordenaron las especies para cada localidad en un registro, el cual representa la diferencia de especies presentes y/o ausentes en dos o más comunidades, utilizando el Índice de Sorensen (Smith, 2000).

RESULTADOS

Riqueza de especies y abundancia

Se determinaron 27 géneros con 26 especies de plantas a partir de un muestreo total de 18,652 ejemplares. Las especies de herbáceas que se presentaron con mayor frecuencia en las localidades con disturbio son *Packera candidissima*, *Stevia salicifolia*, *Psacalium decompositum*, *Chenopodium incisum* y *Quercus striatula*. En todas las localidades *Pinus arizonica* estuvo presente, aunque en crecimiento juvenil en la ZQ.

En las ZQ y ZT se presentaron los valores de riqueza de especies más altos correspondientes en su mayoría por herbáceas (n1= 24; n2=12) pero son las zonas que presentaron el mayor valor de abundancia, principalmente en la especie *Packera*

candidissima con un registro de 2947 ejemplares en la zona de quema y 4694 individuos en la zona de tala, generando un 64 y 87% de la abundancia total en cada zona (figura 1 y 2).

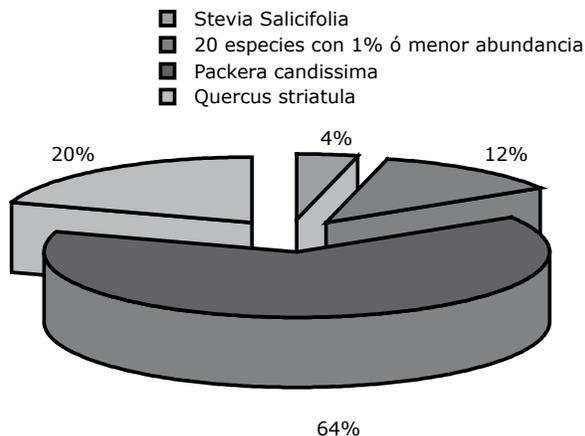


Figura 1. Abundancia relativa de especies vegetales de la zona de quema (ZQ) en el municipio de Bocoyna, Chihuahua.

Asimismo se registraron otras especies pero con una abundancia menor al 7%, a excepción de Quercus striatula que registró 918 arbustos generando un 20 % de la abundancia total en la ZQ.

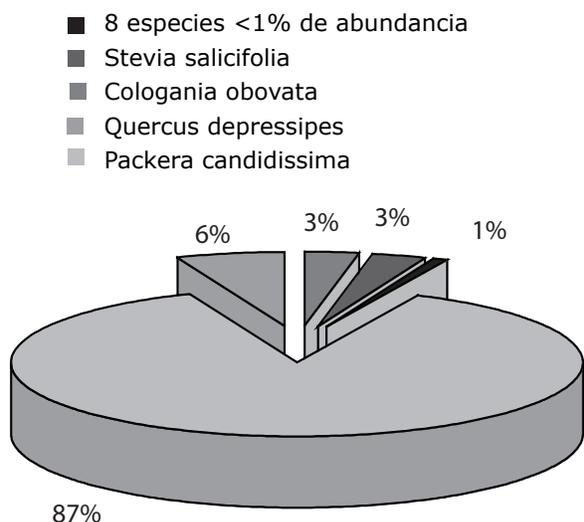


Figura 2. Abundancia relativa de especies vegetales de la zona de tala (ZT) en el municipio de Bocoyna, Chihuahua.

La especie Pinus arizonica Engelm, se presentó en todas las localidades, pero con menos del 1% de la abundancia total en las zonas con disturbio y en la ZNB y ZR presentaron del 15 al 25%, dominando pequeños arbustos de Quercus depressipes Trel., (72% en la ZR y 50 % en la ZNB), seguido por Arctostaphylus pungens H.B.K., que presentó el 30% de la abundancia total en la ZNB. En la ZR, A. pungens presentó el 1% de la abundancia total muestreada.

Aunque la ZQ presentó la mayor riqueza de especies, todas son herbáceas a excepción de Juniperus deppeana, Quercus striatula y plantas juveniles de Pinus arizonica. La ZNB presentó nueve especies, considerada en este estudio la mayor riqueza de especies de pino, algunas de ellas de valor maderable, destacando Pinus arizonica, Pinus ayacahuite y Pinus leiophylla, además de otras especies como Juniperus deppeana, Quercus sideroxila, Quercus crassifolia, Arbutus jalapensis y Arctostaphylos pungens, integrantes naturales de un ecosistema de bosque de pino-encino. La mayor riqueza lo presentó el género Quercus con 4 especies diferentes, donde Quercus depressipes fue la especie de mayor abundancia en la ZR y ZNB (figura 3 y 4).

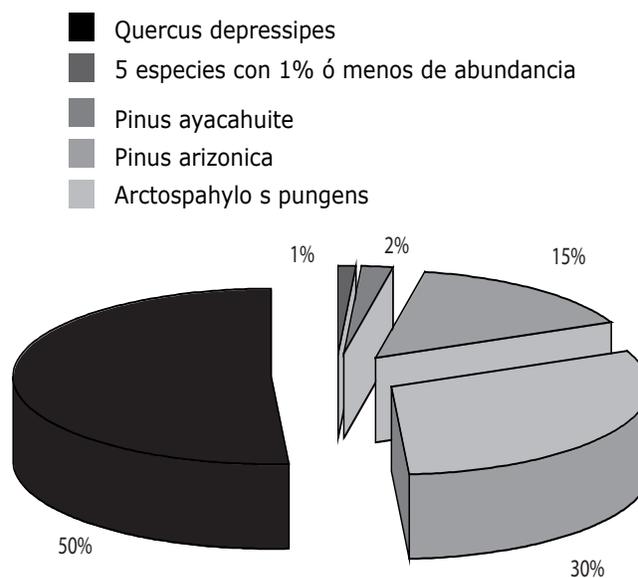


Figura 3. Abundancia relativa de especies vegetales de la zona natural de bosque (ZNB) en el Municipio de Bocoyna, Chihuahua.

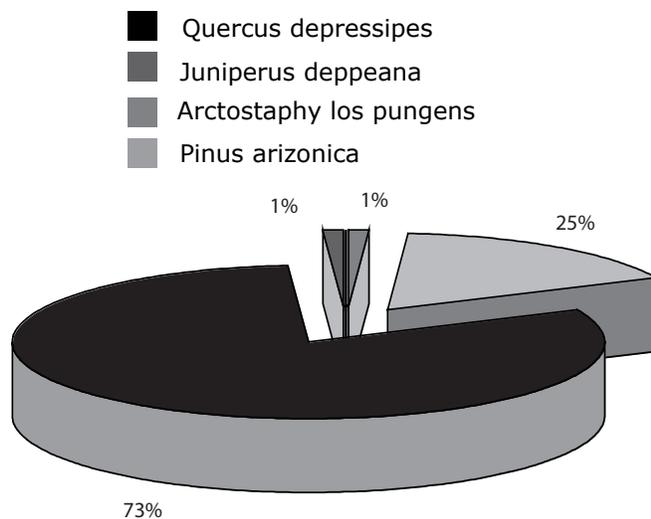


Figura 4. Abundancia relativa de especies vegetales de la zona de regeneración forestal (ZR) en el Municipio de Bocoyna, Chihuahua.

Índice de Diversidad y Equitatividad

La mayor diversidad de especies de plantas se obtuvieron en la ZQ ($H' = 1.91$); debido a que presentó la mayor riqueza y una alta equitatividad de especies ($J' = 0.60$). Las plantas más abundantes son *Packera candidissima* y *Quercus striatula*, con un 64 y 20% de la abundancia total muestreada. La especie *Stevia salicifolia* presentó el 4% y la abundancia entre las 21 especies restantes se presenta de manera proporcional. En la ZT, el índice de diversidad sólo alcanzó el valor de 0.8, aunque se registraron altos valores de riqueza de especies ($n = 12$), *Packera candidissima* representó el 70.9% de la abundancia total, generando una baja equitatividad ($J' = 0.32$).

En la ZR, la dominancia de *Quercus depressipes* (72%) sobre *Pinus arizonica* (25%) y aunado a una baja riqueza de especies, generó la más baja equitatividad ($J' = 0.25$) resultando en un índice de diversidad poco significativo ($H' = 0.9$). La ZNB presentó un mayor índice de diversidad que la ZT y ZR, ya que las frecuencias de las especies reportadas no presentaron proporciones de abundancia diferentes de manera significativa, a excepción de *Q. depressipes* y *A. pungens*, registrando la mayor equitatividad ($J' = 0.76$) y aunque su riqueza de es-

pecies es menor que las zonas de disturbio, el índice de diversidad de Shannon-Wiener le da más peso a la equitatividad que a la riqueza de especies como se muestra en este caso (Cuadro 1).

Cuadro 1. Abundancia, riqueza, equitatividad e índice de diversidad de especies vegetales en las cuatro zonas forestales del municipio de Bocoyna, Chihuahua.

LOCALIDAD	R	FR	EQ	ID
ZQ	24	4639	0.60	1.91
ZT	12	5438	0.32	0.8
ZR	4	3151	0.25	0.99
ZNB	9	5424	0.76	1.67

R, Riqueza de especies; FR, Frecuencia de individuos; EQ, Equitatividad de especies; ID, Índice de Diversidad de Shannon-Wiener

Similitud entre comunidades

Los resultados muestran que *Pinus arizonica* es la única especie común en todas las áreas de estudio, incluyendo las zonas con disturbio, pero en estado juvenil en la ZQ. En las localidades sin disturbio (ZR y ZNB), se observó una similitud de cuatro especies: *Arctostaphylos pungens*, *Juniperus deppeana*, *Quercus depressipes* y *P. arizonica*. En la ZQ se presentaron dos especies similares a las ZNA y ZRF: *Juniperus deppeana* y *P. arizonica*. La ZQ y ZT presentaron siete especies similares: *Packera candidissima*, *Stevia salicifolia* y *Psacalium decompositum*, pertenecientes a la familia Asteraceae; *Quercus striatula* correspondiente a la familia Fagaceae; *Chenopodium incisum* de la familia Chenopodiaceae; *Verbena wrightii* de la familia Verbenaceae y *Pinus arizonica* de la familia Pinaceae.

Índice de similitud

La matriz de Sorensen (figura 5) muestra que el mayor número de especies en común lo presentan las zonas con disturbio, registrando 7 especies similares de un promedio de riqueza de 18 especies, lo

cual no fue muy significativo, ya que el número de especies en ambas comunidades fue de 24 y 12 respectivamente, por lo que esta diferencia de valores no generaron el mayor índice de similitud (IS= 38 %). El más alto valor se encontró en la similitud de la ZR y ZNB, registrando cuatro especies comunes para un promedio de 6.5 especies provenientes de cuatro y nueve especies por zona, respectivamente, generando el 61% de afinidad. El análisis de similitud de las zonas de disturbio con las de no disturbio (ZQ, ZT vs ZR, ZNA) alcanzaron sólo del 9.5 al 14% de similitud, propiciado principalmente por *Pinus arizónica* y *Juniperus deppeana*, aunado a la diferencia de valores en la riqueza de especies (figura 5).

DISCUSIÓN

La ZQ de bosque forestal presentó la mayor riqueza y diversidad de especies, dominada en su abundancia por *Packera candidissima* y *Quercus striatula*. Esta última especie es considerada un encino con hábito de crecimiento subarborescente, que se encuentra comúnmente en zonas con mayor exposición solar, formando matorrales (Encina y Villarreal, 2002) y puede sustituir a algunos bosques de pino (González, *et al.*, 2000), después de un incendio. Por ejemplo, algunos estudios como los de Fulé *et al.*, (2000) indicaron que en la reserva de la biosfera La Michilia, *A. pungens* y *Quercus sp.*, se regeneraron en altas densidades como consecuencia de incendios forestales de alta intensidad. Asimismo, en la ZQ pero con menores frecuencias se presentaron: *Stevia salicifolia*, *Helianthemum pringlei*, *Gilia capitata*, *Machaeranthera gracilis*, *Carpochaete pringlei*, *Psacalium decompositum* y 16 especies de mínima abundancia, siendo en su mayoría herbáceas, a excepción de la presencia en un 1% de plantas juveniles de *Pinus arizónica* y 0.06% de *Juniperus deppeana*. Estos valores indican una sustitución de bosque de pino, por incendio forestal de baja intensidad a una vegetación secundaria, con una aparente recuperación muy lenta del bosque de *Pinus arizónica*.

	ZT	ZQ	ZR	ZNB
ZT		38	12.5	9.5
ZQ	7		14	12
ZR	1	2		61
ZNB	1	2	4	

Figura 5. Matriz señalando la similaridad de especies de plantas entre los pares de las cuatro comunidades de estudio del municipio de Bocoyna. Diagonal superior muestra los coeficientes de similaridad del Índice de Sorensen (%); diagonal inferior muestra el número de especies comunes. Zona de Quema (ZQ); Zona de Tala (ZT); Zona de Regeneración (ZR); Zona natural de bosque (ZNB).

La ZT presentó una total dominancia de *Packera candidissima* (87%), seguido en mucha diferencia por *Quercus depressipes* (6%). Ambas especies son comunes de encontrar en sitios abiertos y con exposición solar. Sin embargo, *Packera candidissima* presentó en frecuencia una diferencia muy significativa con respecto a la zona de quema, en donde hay cierta asociación con *Q. striatula*, esto puede ser atribuido al tipo y nutrientes del suelo que puedan presentar, así como la intensidad del disturbio, que en este caso fue muy alta.

La ZNA y ZR presentaron valores considerables de frecuencias en *Quercus depressipes* y *Arctostaphylos pungens*, lo cual indica una lenta pero cierta sustitución de bosque de pino a chaparral, lo cual coincide con algunos estudios, como los de González *et al.*, (2000) reportando que en el municipio de Canatlán, Durango algunos bosques de pino y pino-encino fueron sustituidos por chaparrales de *A. pungens*, *Quercus depressipes* y *Q. striatula*.

Las especies que forman el chaparral, *Arctostaphylos sp.*, y *Quercus sp.*, tienen adaptaciones para sobrevivir a condiciones adversas como los incendios, el primero con semillas refractarias y una corteza lisa protectora (Barrio *et al.*, 1999) y

el segundo con reproducción vegetativa. El follaje de ambos géneros no es forrajado por ganado y ocasionalmente por fauna silvestre, lo cual propicia la formación de comunidades cada vez más densas y extensas (Márquez, *et al.*, 2005), lo que coincide con los resultados de abundancia de este trabajo.

La presencia de vegetación secundaria, principalmente este tipo de herbáceas y arbustos, son importantes como indicadores de sucesión y biodiversidad del bosque. La riqueza y abundancia de las especies vegetales determinan si este tipo de sucesión puede ser incrementado y competir con las especies de pino de importancia económica. El conocer la dinámica de la vegetación del bosque es una guía para diseñar políticas que mantengan o restauren hábitats de bosques sucesionales.

CONCLUSIONES

El disturbio generado en los bosques del municipio de Bocoyna es confirmado por la proliferación de una sucesión secundaria caracterizada por herbáceas y algunos arbustos, principalmente las especies *Packeria candidissima*, *Quercus striatula* y *Q. depressipes*, indicadores de sitios abiertos y bosques juveniles.

La sustitución de los bosques de *Pinus arizónica* por chaparrales formados a partir de *Quercus depressipes* y *Arctostaphylos pungens*, puede tener consecuencias ecológicas importantes, como la disminución de la cobertura, biomasa y económicamente, la disminución de la actividad maderable, principal fuente de ingreso en el municipio de Bocoyna.

Los parámetros estimados de riqueza, abundancia y diversidad de pinos, encinos y herbáceas sirven como indicadores del grado de disturbio y/o estabilidad del ecosistema del bosque dentro de la sierra de Chihuahua. Es importante realizar estudios de cobertura de la vegetación y continuar este tipo de trabajos en los años sucesivos, para comprender el valor de importancia de las especies de uso maderable en términos de superficie y si esta comunidad de vegetación secundaria puede generar más cambios o persistir de manera estable.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Coordinación de Investigación del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez por el apoyo financiero para la realización del trabajo de campo de esta investigación.

REFERENCIAS

- Barrio J., E.L. Calabuig y R. Tárrega (1999). "Vegetative response of *Arctostaphylos uva-ursi* to experimental cutting and burning". *Plant Ecology*, 145:191-195.
- Behera M.D., S.P.S. Kushwaha, P.S. Roy (2005). "Rapid assessment of biological richness in a part of Eastern Himalaya: an integrated three-tier approach". *Forest Ecology and Management* 207. 363-384.
- Dali G., P. Mou, R. H. Jones y R.J. Mitchell (2004). "Spatio-temporal patterns of soil available nutrients following experimental disturbance in a pine forest". *Oecología*. 138:613-621.
- Encina D.J.A. y J.A. Villarreal (2002). "Distribución y aspectos ecológicos del género *Quercus* (Fagaceae) en el estado de Coahuila, México". *Polibotánica*. 13:1-23.
- Fulé, P.Z., A. García-Arévalo y W. Covington, (2000). "Effects of an intense wildfire in a Mexican oak-pine forest". *Forest Science*. 46(1):52-61.
- González, E.M., Y. Herrera, M.S.E. González, M.A.L. Márquez y C.G. López (2000). "Canatlán: asociaciones vegetales". *Interciencia*. 1(4):12-16.
- Krebs, J.Ch. (1985). *Ecología. Estudio de la distribución y abundancia*. México: 2ª. Edición. Harla.
- Lindgren, P.M.F., T.P. Sullivan (2001). "Influence of alternative vegetation management treatments on conifer plantation attributes abundance, species diversity, and structural diversity". *Forest Ecology and Management* 142. 163-182.

- Márquez-Linares, M.A., E.J. Treviño, E. Jurado. (2005). "Reemplazo de áreas arboladas por chaparrales y comunidades herbáceas en el periodo 1970-2000 en una microcuenca de Durango, México". *Investigaciones Geográficas*, UNAM. 58:54-65
- Onaindia, M., I. Dominguez, I. Albizu, C. Garbisu, I. Amezaga (2004). "Vegetation diversity and vertical structure as indicators of forest disturbance". *Forest Ecology and Management* 195. 341-354.
- Pitkänen, S. (1998). "The use of diversity indices to assess the diversity of vegetation in managed boreal forests". *Forest Ecology and Management* 112:121-137.
- SEGOB (2005). *Enciclopedia de los Municipios de México*. Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. http://www.e-local.gob.mx/wb2/ELOCAL/EMM_chihuahua .
- Shaw, P.J.A. (2003). "Multivariate Statistics for the Environmental Sciences". *Arnold Publishers*. 30-39.
- Smith, R.L., T.M. Smith (2000). "Ecología". *Addison Wesley*. 304-307.
- Toledo, S., J. Loiselle y P. Jorgensen (2005). "Composición florística y usos de bosques secundarios en la provincia Guarayos, Santa Cruz, Bolivia". *Rev. Bol. Ecol.* 18:1-16.
- Wilson, J.B., P. White, J. P. Bakker, y S. Díaz (2004). "Restoration, succession and climatic change".

Cuestionario de hábitos de actividad física de Maurice Pierón: estudio de validación para población mexicana aparentemente activa

Ramos-Jiménez, A;¹ Hernández-Torres, RP;²
Rivera-Sosa, JM;² Wall-Medrano, A.¹

El “cuestionario de Maurice Pieron” para conocer los hábitos de actividad física ha sido validado en población europea pero no en mexicana. A 31 hombres y 19 mujeres (~22 años) físicamente activos se les aplicó el cuestionario. La validación de contenido se realizó por análisis cualitativo, y la de constructo, por Cronbach y correlación bivariada de Pearson. El cuestionario mostró una buena consistencia interna (>0.76). El 74% de los encuestados reconocían que la actividad física es importante pero sólo 56% y 42% realizaban actividades deportivas o recreativas, respectivamente. Las actividades más mencionadas fueron escuchar música y ver televisión. Los deportes más practicados fueron el fútbol (competitivo) y las pesas (no competitivo). El 12% mencionaron tener buena salud y 24% no estar satisfecho con su aspecto físico. La práctica de actividad física se asoció a mayor autoestima y la no práctica a lesiones y falta de tiempo.

INTRODUCCIÓN

Como Maurice Pierón menciona, la salud es un producto que resulta de un proceso continuo de prácticas sanas, en donde la actividad física es el proceso indispensable para poder alcanzar la salud (Pierón, 1996). En este sentido, los estilos de vida sedentarios han demostrado que perjudican la salud en general, afectando por lo tanto la calidad de vida de las personas (Prentice, 2006). Por el contrario,

la práctica sistemática de ejercicio no sólo mejora la salud general sino también la calidad de vida (Yu y cols, 2000; Blair, 2001). Teniendo en cuenta que el sedentarismo y las enfermedades crónicas degenerativas están en aumento (Ricciardi, 2005), es importante conocer las causas por las cuales las personas practican o no practican ejercicio físico, y qué factores sociales, económicos y culturales se asocian con dicha práctica. Lo anterior nos per-

¹ Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Ciudad Juárez Chihuahua, México 32310. aramos@uacj.mx

² Facultad de Educación Física y Ciencias del Deporte, Universidad Autónoma de Chihuahua, México.

mitirá diseñar mejores programas de intervención para que las personas inicien y continúen realizando ejercicio.

Dentro de las causas reportadas que se asocian a la práctica de la actividad física y al sedentarismo tenemos: razones académicas y laborales, las cuales se traducen en la falta de tiempo (Zhang y cols, 2007), cuestiones económicas y socioculturales que impiden la práctica de la actividad física (Weiss y cols, 2007), el uso exagerado de la televisión, la computadora y el internet (Tamelin y cols, 2007; Kuriyan y cols, 2007), condiciones ambientales e infraestructura no propicias (Evenson y McGinn, 2005; Merchant y cols, 2007) y otras razones como la edad avanzada, sobrepeso y escasa salud (Weiss y cols, 2007).

Para conocer estas causas y los patrones que hacen que las personas se vuelvan sedentarias se han aplicado diversos cuestionarios de auto-reporte (Ainsworth y cols, 2006; Arvidsson y cols, 2005). En nuestro país se han desarrollado y validado diversos cuestionarios para poblaciones muy específicas como niños (Hernández y cols., 2000) o poblaciones indígenas (Esparza y cols., 2000), sin embargo éstos contemplan actividades muy específicas para aquéllos en que fueron evaluados. Otros como el cuestionario de actividad física de la Universidad de Laval, probado por López-Alvarenga y cols (2001) en mexicanos de 20-60 años, resulta impráctico debido a que necesitan que el participante registre sus actividades por más de dos días. El cuestionario de actividad física de Pierón se ha aplicado y validado en población europea (Pierón, 2008; López y cols, 2005), sin embargo no hay reportes de su aplicación en México. Lo interesante del cuestionario de Pierón es que no sólo investiga las posibles razones por las cuales, en el tiempo libre, los jóvenes practican o no actividades físicas deportivas y su grado de participación en éstas, sino que explora cómo la participación en dichas actividades se asocia a la imagen personal y con la autoimagen frente al deporte; es decir, cómo los jóvenes perciben el ejercicio y cómo se observan practicándolo.

Por todo lo anterior, aquí se reporta la validación del cuestionario de actividad física Maurice

Pieron en jóvenes del norte de México. Los procedimientos escogidos para su validación fueron, los de validez de constructo y los de validez de contenido (Hernández y cols, 2006).

MATERIALES Y MÉTODOS

Encuesta

El cuestionario de Pierón es un instrumento que consta de 87 reactivos divididos en 23 secciones. La mayoría de las secciones contienen preguntas de opción múltiple y 5 secciones con escala Likert de 4 niveles para las secciones 1, 12, 16, 17 y 18 (Pierón, 1996), este fue aplicado a 50 alumnos (31 hombres y 19 mujeres, edad promedio 22 ± 2.6 años) de 5° semestre de la Licenciatura en Educación Física, de la Universidad Autónoma de Chihuahua de la Ciudad de Chihuahua, Chih., México. La población fue considerada aparentemente activa físicamente no sólo porque se trataba de estudiantes de esta carrera profesional sino porque todos ellos realizaban entre 2 y 3 h/día de actividad física de intensidad moderada a mediana intensidad dentro de su plan curricular (<http://www.fefcd.uach.mx/admision>). Antes de aplicar el presente cuestionario se explicó a los alumnos que dicho cuestionario tenía por objetivo el conocer, “por qué los jóvenes no realizan actividad física” además se les mencionó que posteriormente éste sería aplicado a un grupo de mayor magnitud de jóvenes de bachillerato. Por lo que la aplicación de este cuestionario en ellos sería un estudio piloto que nos serviría para validarlo en nuestra población. El documento se entregó personalmente a cada uno de los alumnos, cuando éstos se encontraban dentro de su salón de clases entre una pausa de sus actividades académicas permitida por el profesor. El documento se explicó, se resolvieron preguntas y posteriormente se pidió a los alumnos lo leyeran con precaución, para que luego lo contestaran en su totalidad. No se les dio un tiempo límite para su contestación, por lo que el rango de tiempo fue de 10 a 30 minutos. Posteriormente los estudiantes tomaron el documento y lo contestaron sin realizar ninguna otra pregunta.

Validación

Para analizar la validez de constructo fue necesario primeramente conocer las hipótesis que dieron vida al cuestionario, así como las diversas áreas del conocimiento que se tuvieron en cuenta para la elaboración de los reactivos. En este sentido se analizó el cuestionario de Pierón encontrándose que la principal hipótesis de investigación planteada para su elaboración fue, que la participación de las personas en la actividad física deportiva está determinada por los siguientes factores y características: a) Características de la persona o (factores psicológicos, cognitivos y emocionales), b) Características del entorno físico, c) Características propias del deporte o la actividad física, d) Factores sociales y culturales y, e) Factores demográficos y biológicos. Lo anterior nos dice que las preguntas que trata de responder el cuestionario de Pierón es: ¿por qué las personas no realizan actividad física deportiva? y ¿cuáles son los factores psicológicos, emocionales, sociales, culturales y biológicos que se relacionan con la práctica de la actividad física y el sedentarismo?

Las áreas del conocimiento que se tomaron en cuenta para la elaboración del cuestionario fueron: a) Conocimiento de cómo se utiliza el tiempo libre, b) Conocer cuáles son las actividades deportivas y recreativas en que participan las personas, el lugar donde las practican y el grado de participación en ellas y, c) Conocer las asociaciones entre la práctica de la actividad física y los aspectos de salud, autoestima, económicos, placer, habilidades propias, comunicación e influencia familiar y de amigos.

Una vez conocidas las hipótesis y las áreas del conocimiento que dieron vida al cuestionario se buscaron las posibles formas de validación. Ya que, como se mencionó anteriormente, en México no contamos con un instrumento de criterio, contra el cual pudiéramos comparar el cuestionario de actividad física de Pierón, los procedimientos que escogimos para su validación fueron, los de validez de constructo y los de validez de contenido (Hernández y cols, 2006). Los procedimientos de validación fueron los siguientes:

Constructo

- Se investigaron las hipótesis y las áreas de conocimiento (arriba mencionadas) que dieron vida al cuestionario de actividad física de Pierón.
- Se aplicó el cuestionario.
- Se contrastaron los resultados obtenidos de la encuesta con las hipótesis planteadas.

Contenido

- Una vez analizados los resultados de la encuesta aplicada a los alumnos, se consultaron a dos expertos en el área y se emitieron las recomendaciones correspondientes para cada área y para cada pregunta elaborada.

Análisis estadístico

Se realizó una estadística cualitativa y otra cuantitativa. Asimismo para analizar la consistencia interna de los reactivos por grupos se aplicó el α de Cronbach. Cualitativamente primero se presentan los resultados agrupados de acuerdo a su categoría o área de conocimiento y en seguida la consistencia interna de los reactivos. En la estadística cuantitativa se presenta una estadística descriptiva a través de las medias (\bar{X}) y sus desviaciones estándar (DE), asimismo se presentan las correlaciones (correlación de Pearson) entre los reactivos. Los datos se analizaron con el programa estadístico SPSS versión 13.0. El número de respuestas para cada reactivo es diferente, debido a que algunos estudiantes no contestaron algunos reactivos. Las diferencias estadísticas se presentan con una $p < 0.05$.

RESULTADOS

Utilización del tiempo libre

Al preguntarse a los participantes ¿Qué actividades consideras más importantes y en cuáles participas?, éstos mencionaron que ganar dinero fue la actividad más importante (11 importante y 30 muy importante), sin embargo sólo 13 personas trabajaban. Lo

segundo en importancia fue, estar con los amigos (22 importante y 22 muy importante), hacer los deberes del día (20 importante y 24 muy importante) y visitar a los familiares (15 importante y 25 muy importante). De las actividades menos importantes fueron el tocar un instrumento o cantar, jugar cartas o videojuegos y hacer manualidades; sin embargo, el videojuego es una de las actividades que más realizaban en su tiempo libre.

En cuanto a las actividades en que los estudiantes participan, el escuchar música resultó ser la actividad que más realizaban (31 estudiantes), en segundo lugar ver televisión y/o videos y estar y hablar con los amigos (25 estudiantes), y en tercer lugar el hacer los deberes del día (24 estudiantes). Las actividades que menos realizaban fueron tocar un instrumento o cantar (3 estudiantes) y hacer manualidades (3 estudiantes).

Si bien la población estudiada realizaba ejercicio de manera regular (por la exigencia de su currícula), se detectó que la actividad física, ya sea practicada de manera deportiva o recreativa, no era la forma común de utilizar el tiempo libre. Otros estudios han confirmado este patrón en población joven, observado hasta un 50% de sedentarismo en jóvenes de edad escolar, y en donde el ver televisión (2.5 h/día) ocupa un lugar importante (Zaragoza y cols., 2006).

Actividades deportivas y recreativas

Al preguntar a los participantes sobre el tipo de actividad deportiva o recreativa, el lugar donde las practicaban y el grado de participación en ellas (preguntas 2 a 10), veintiocho personas (56%) reportaron participar en actividades deportivas extraescolares de forma habitual (2 o más veces por semana) y 21 (42%) en actividades recreativas. Treinta de estas personas lo practica como mínimo durante 20 min. Las actividades practicadas en clubes deportivos fueron: levantamiento de pesas (7 personas), fútbol (6 personas) y natación (3 personas).

A nivel competitivo, 15 personas mencionaron practicar los siguientes deportes: 13 personas fútbol, 7 basquetbol y 6 beisbol. Once personas practican 2

deportes. La edad de inicio en los diferentes deportes que practicaban fue: en 23 personas antes de los 13 años y en 6 personas de los 13 años en adelante. Las 35 personas restantes mencionaron ya no practicar deportes competitivos. Los deportes que dejaron de practicar fueron: en primer lugar el basquetbol (17 sujetos), en segundo lugar el fútbol (9 sujetos) y en tercer lugar el atletismo (8 sujetos). La edad de inicio en los deportes que dejaron de practicar fue: En 23 personas antes de los 13 años y en 14 después de los 13 años. Veintisiete de los sujetos mencionaron dejar de practicarlos antes de los 13 años y 8 después de los 13 años.

Fuera del horario escolar, la mayor frecuencia en la participación de actividades deportivas fue de 2 a 3 veces por semana y en actividades recreativas una vez por semana. Por otro lado, 23 personas mencionaron realizar 2 o más horas de actividad física por semana, mientras que las 27 restantes una hora o menos. Treinta y ocho personas respondieron tener clubes deportivos en el colegio, sin embargo sólo 8 participaban normalmente en sus actividades. Siendo que todas las personas encuestadas pertenecen a la misma institución educativa y conociendo que dicha institución cuenta con diferentes clubes deportivos, suponemos que la pregunta 7 no fue planteada correctamente. Lo anterior, ya que los alumnos encuestados llevaban 2 años y medio en la institución, por lo que probablemente sí conocieran la existencia de clubes deportivos.

Factores de salud, autoestima, económicos, placer, habilidades, comunicación, sociales y familiares

La relación entre la práctica de deportes y actividades recreativas con estos factores fueron analizados en las preguntas 11 a 21 del cuestionario. Con respecto a la salud la mayoría de las personas contestaron estar en buen y muy buen estado de salud, y 6 mencionaron no estar muy sanas.

Con respecto a la forma física y capacidades físicas, la mayoría de las personas se encuentran satisfechas con ellas mismas. Sólo 12 personas no se encontraban satisfechas con su aspecto físico.

Asimismo, la mayoría considera que es importante y muy importante ser bueno en las asignaturas (50 sujetos), en el deporte (47 sujetos) y estar en buena forma física (48 sujetos). A la mayoría le gusta ir al colegio (40 sujetos) y le gusta la clase de educación física (45 sujetos), solamente a una le disgusta esta clase. Treinta y dos alumnos pasan 2 o más días a la semana con los amigos, 2 no tenían amigos por el momento. En cuanto a lo que las personas piensan cuando tienen éxito deportivo (pregunta 16: creo que tengo éxito cuando), en promedio mencionan estar de acuerdo con lo que se plantea en la pregunta. En el reactivo 17, en todos o en la mayoría de los estudiantes es importante y muy importante el ser bueno en las asignaturas, ser guapo/a y el estar en forma. El ser popular entre los chicos y chicas no fue ni muy importante ni muy poco importante.

Entre las muchas razones por la se practica deporte, la mayoría de las personas encuestadas están de acuerdo que lo practican por razones de salud física, emocional y social. Lo anterior, ya que para la mayoría es importante y muy importante tanto los beneficios físicos del ejercicio, como el placer emocional que conlleva y las relaciones sociales que implica su práctica. Si bien se ha reportado que el apoyo familiar aumenta la práctica de la actividad física (Davison y Schmalz, 2006), en este estudio los sujetos reportaron que la presión económica, social y familiar no afectó el hecho de practicar o no ejercicio físico; probablemente porque la población estudiada por cuestiones académicas practica de forma habitual actividades deportivas. La razón principal por la que 15 personas de las encuestadas no practicaban deporte es por falta de tiempo, ya que razones académicas y laborales se los impedía. Asimismo, sólo 4 personas no practicaban el deporte por cuestiones de salud (lesiones); razón comúnmente encontrada entre personas físicamente activas (Gabilondo y cols., 2005).

Por otro lado las personas que practicaban deportes lo hacían en su mayoría acompañados, aunque algunas veces lo realizaban solos. Únicamente 14 de los padres de los alumnos practicaban deporte de forma regular. La falta o la participación en activi-

dades deportivas de los padres, no se relacionaron con la falta o la participación de los estudiantes en las actividades deportivas, ni con ninguna otra variable. A pesar de que 37 personas opinaron que es muy importante participar en deportes competitivos, sólo 15 lo practicaban regularmente. Asimismo 36 mencionan que es importante participar en deportes recreativos, sin embargo sólo 21 lo practican regularmente. Estudios semejantes muestran que las personas independientemente de su estado de salud y de su somatotipo, conocen los beneficios del ejercicio en la salud y desean practicarlo aunque diferentes razones se los impidan (Zhang y cols., 2007).

Analizando las correlaciones con una probabilidad tipo II menor al 5% ($p < 0.05$) entre las variables observamos las siguientes asociaciones: La participación en actividades deportivas fuera del horario de clases, ya sea de forma competitiva o amateur, se asoció con la participación en clubes deportivos escolares ($r=0.48$) y el disfrutar la práctica del ejercicio ($r=0.48$). Asimismo, a mayor la autoestima de los jóvenes, mayor la práctica deportiva y recreativa, y mejor la opinión que se tiene hacia la actividad física ($r > 0.36$). La buena opinión sobre las clases de educación física escolares, se asoció con el gusto de ir a la escuela ($r=0.49$) y con el grado de participación en actividades deportivas ($r=0.35$) y recreativas ($r=0.38$) fuera del colegio. La opinión que los estudiantes tienen sobre su estado de salud no se asoció con ninguna variable.

Contrariamente a lo que podríamos esperar, los estudiantes que más les gusta ir a la escuela son los que consideran no ser tan importante el ser bueno en las asignaturas. Por otro lado, el ser bueno en la mayoría de las asignaturas escolares es más importante en las mujeres que en los hombres. Las personas que practican las actividades deportivas y recreativas acompañados por otros amigos, son las que más días y más horas por semana las practican. En cuanto al sexo, son los hombres los que practican más que las mujeres (54.8% vs. 16.7%), otros resultados han encontrado resultados semejantes (Weiss, 2007).

Validación

El grado de consistencia interna de este primer grupo de reactivos fue buena (α de Cronbach =0.799, Cuadro 1). Semejante a nuestros resultados, otros resultados de validación interna en cuestionarios de actividad física, han igualmente encontrado valores altos en el α de Cronbach; entre 0.82 y 0.92 (Trigg y Wood, 2003). Tomando en cuenta las respuestas obtenidas y analizando en su conjunto el primer grupo de reactivos del cuestionario, podemos decir que éstos proporcionan buena información sobre la posible participación de las personas en las diversas actividades de la vida diaria y sobre el grado de importancia que estas actividades tienen en su vida. Sin embargo, debido a la falta de asociaciones con los demás reactivos del cuestionario, no podemos saber cómo afecta al grado de participación en las actividades deportivas y recreativas. Además, en la segunda parte de la primera pregunta; respecto al grado de importancia que para la persona tienen las diversas actividades de la vida diaria sólo fue contestada en un 28.6%. Es decir, de 1100 respuestas esperadas sólo obtuvimos 315, por lo que consideramos que no fue entendida en su totalidad y que debería ser explicada con mayor detalle dentro del documento o por el personal que lo aplica.

Cuadro 1. Reactivo 1, utilización del tiempo libre: qué actividades realiza regularmente y su grado de importancia.

Punto	α Cronbach
Escuchar música	0.790
Tocar un instrumento o cantar a coro	0.787
Ver televisión y/o videos	0.806
Ganar dinero	0.805
Estar y hablar con los amigos	0.793
Estar con mi novia/o	0.809
Jugar a las cartas o videojuegos	0.813
Leer libros o revistas	0.779
Participar en deportes competitivos	0.795
Acudir a espectáculos deportivos	0.788
Hacer los deberes del día	0.790
Ir a fiestas o bailar	0.793
Hacer manualidades	0.792
Pasar el tiempo a solas	0.789
Ir de compras	0.808
Ir al cine, conciertos, teatro	0.776
Hacer trabajo de voluntariado social	0.772
Ayudar a las tareas de la casa	0.777
Ir a centros de jóvenes	0.784
Visitar a mis familiares	0.779
Practicar deportes recreativos	0.781
Incluyendo a todos los reactivos	0.799

Valores α Cronbach si el punto fuera eliminado.

Poniendo en un mismo grupo desde la pregunta 2 hasta la 10, observamos una buena consistencia interna entre ellas, ya que en estas preguntas la mayoría de las personas mencionó una participación regular en las actividades deportivas y recreativas, esto es de una a tres veces por semana, lo cual concuerda con las horas de participación semanal en dichas actividades, que fue de una a tres horas semanal. Sin embargo consideramos que la pregunta 2 es un tanto semejante a la pregunta 5, ya que ambas aportan la misma información, por lo que la 2 debería eliminarse. Por lo anterior podemos decir que a excepción de la número 2, este grupo de preguntas tienen buena consistencia interna, tanto entre ellas como con el resto del cuestionario. La pregunta sobre el estado de salud no se asoció con ninguna otra variable, por lo que consideramos que en esta población estudiada debe ser planteada de otra forma.

El grado de consistencia interna del grupo de reactivos de la pregunta 12 fue buena (α de Cronbach = 0.836, Cuadro 2). Tomando en cuenta los diferentes resultados y analizando en su conjunto este grupo de reactivos proporciona buena información sobre el grado de autoestima física de la persona. Asimismo analizando las asociaciones con el resto del cuestionario podemos saber cómo afecta dicha autoestima con el grado de participación en las actividades deportivas y recreativas. El reactivo 13: ¿Qué piensas sobre el ir al colegio?, además de proporcionar poca información, no se asoció con ningún otro reactivo, por lo que debe eliminarse o replantearse. Además, es muy cuestionable el reactivo 14 ¿Qué opinas sobre las clases de educación física?, cuando se aplica a personas que no asisten a colegios, o que no tienen una clase formal de educación física. Por lo que en esas personas: o se realiza la pregunta sobre una experiencia pasada o se le pregunta si le gustaría tener, o asistir a una clase formal de educación física. El reactivo 15 ¿Cuánto tiempo pasas con tus amigos/as fuera de las horas de clase? no se asoció con ningún reactivo del cuestionario, por lo que puede ser eliminado o plantearse de otra forma.

Cuadro 2. Reactivo 12, autoestima: comparación con otras personas de mi edad:

Punto	α Cronbach
Tengo o no tengo buenas facultades deportivas	0.806
Mis movimientos son o no son elegantes	0.823
Soy o no soy flexible	0.829
Estoy o no estoy en forma	0.798
Soy o no soy rápido/a	0.802
Soy o no soy fuerte	0.822
Soy o no soy atrevido/a	0.844
Soy o no soy demasiado alto/a	0.833
Soy o no soy demasiado delgado/a	0.821
Estoy o no estoy satisfecho con mi aspecto	0.825
Incluyendo a todos los reactivos	0.836

Valores α Cronbach si el punto fuera eliminado.

La consistencia interna de las preguntas 16 a 18 fue muy buena (>0.75 , Cuadros 3 a 5). Tomando en cuenta los diferentes resultados y analizando en su conjunto el grupo de reactivos de la pregunta 16, podemos decir, que este grupo de reactivos proporciona buena información sobre el grado de satisfacción de las personas al participar en actividades deportivas. Asimismo, dado que la mayoría de los sujetos mencionan estar de acuerdo con lo planteado en las preguntas, significa que ellos tienen una opinión positiva del deporte y que el éxito deportivo es resultado del esfuerzo personal. En cuanto al grupo de reactivos de la pregunta 17, podemos decir, que este grupo de reactivos proporciona buena información sobre los valores académicos, sociales, forma física y forma deportiva mientras que los del grupo de reactivos de la 18, proporciona información sobre las razones para participar en el deporte.

Asimismo a través de sus asociaciones observamos su buena consistencia con el resto del cuestionario y saber si el grado de participación en las actividades deportivas y recreativas se ven afectados por las anteriores razones.

Cuadro 3. Reactivo 16; creo que tengo éxito en el deporte cuando:

Punto	α Cronbach
Soy el único/a que puede realizar una habilidad bien	0.789
Aprendo una habilidad nueva y me motiva a practicar más	0.818
Puedo hacerlo mejor que mis amigos/as	0.811
Los otros no pueden hacerlo tan bien como yo	0.794
Aprendo algo que es divertido de hacer	0.810
Otros entorpecen el juego, yo no	0.833
Aprendo una tarea nueva esforzándome	0.815
Yo trabajo y me esfuerzo mucho	0.820
Yo soy el que más anota o el que gana	0.802
Soy el/la mejor	0.794
Aprender una habilidad me hace sentir realmente bien	0.815
Lo hago lo mejor que puedo	0.813
Incluyendo a todos los reactivos	0.823

Valores α Cronbach si el punto fuera eliminado.

Por último, el reactivo 20 ya fue analizado arriba y dada su asociación con el grado de práctica deportiva consideramos que es un buen reactivo dentro de este cuestionario. Si bien la participación de los padres en la actividad deportiva no afectó la participación en dichas actividades de los estudiantes, ni se correlacionó con ninguna otra variable, consideramos que estos resultados son importantes, por lo que este reactivo debe permanecer; sin embargo la pregunta debe replantearse de otra manera.

Cuadro 4. Reactivo 17; es importante para mí:

Punto	α Cronbach
Ser bueno en la mayoría de las asignaturas escolares	0.797
Ser bueno en el deporte	0.753
Ser popular entre los chicos	0.664
Ser popular entre las chicas	0.659
Ser guapo/a	0.660
Estar en forma	0.774
Incluyendo a todos los reactivos	0.764

Valores de la media y el α Cronbach si el punto fuera eliminado.

Cuadro 5. Reactivo 18; participo en deporte porque:

Punto	α Cronbach
Van mis amigos/as	0.786
Quiero seguir la carrera deportiva	0.775
Conozco a gente nueva	0.767
Puedo hacer algo que me beneficia	0.764
Disfruto con la competición	0.763
Quiero estar en forma	0.760
Me relaja	0.751
Disfruto haciendo ejercicio	0.755
Me gusta formar parte de un equipo	0.768
Mi familia quiere que lo practique	0.777
Puedo estar así en forma	0.747
Puedo ganar dinero	0.766
Es emocionante	0.763
Me hace más atractivo/a físicamente	0.779
Puedo hacer amigos/as	0.757
Me da la oportunidad de expresarme como soy	0.753
Incluyendo a todos los reactivos	0.776

Valores de la media y el α Cronbach si el punto fuera eliminado.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados y análisis realizados concluimos, que para aplicarse este cuestionario en una población semejante a la de este estudio y que respondan de forma consistente a las preguntas de la hipótesis planteada, se deben de realizar las siguientes adecuaciones:

1. Dada la buena consistencia interna de las preguntas del primer reactivo, este puede ser aplicado en población general para conocer los hábitos de actividad física y sedentarismo. Sin embargo ya que la pregunta sobre el grado de importancia de las actividades no fue bien entendida, las posibles asociaciones con el resto de los reactivos no se pudieron observar.
2. Ya que el reactivo 2 es semejante al 5, y que el 5 da mayor información, el reactivo 2 debe ser eliminado.
3. Cuando la encuesta se dirija a personas que pertenezcan a algún club deportivo, el reactivo 7 debe ser eliminado.
4. El reactivo 14 debe ser modificado o eliminado, dependiendo de las características de la población a la que se aplique el cuestionario.
5. El reactivo 15 puede ser eliminado o replanteado, ya que no se asoció con ningún reactivo del cuestionario.
6. El reactivo 21 debe de replantearse de otra manera.
7. Por otro lado es muy importante que el encuestador esté preparado en la forma de aplicación del cuestionario y lo conozca perfectamente, para poder así aclarar las dudas de los encuestados.

REFERENCIAS

- Ainsworth, B.E., C.A. Macera, D.A. Jones, J.P. Reis, C.L. Addy, H.R. Bowles, H.W. Kohl (2006). 3rd. "Comparison of the 2001 BRFSS and the IPAQ Physical Activity Questionnaires". *Med Sci Sports Exerc* 38: 1584-92.
- Arvidsson, D., F. Slinde, L. Hulthen (2005). "Physical activity questionnaire for adolescents validated against doubly labelled water". *Eur J Clin Nutr.* 59, 376-83.
- Blair, S.N., Y. Cheng, J.S. Holder (2001). "Is physical activity or physical fitness more important in defining health benefits?". *Med. Sci. Sports. Exerc.* 33, S379-S399.
- Davison, K.K., D.L. Schmalz (2006). "Youth at risk of physical inactivity may benefit more from activity-related support than youth not at risk". *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* 3, 5.
- Esparza, J., C. Fox, I.T. Harper, P.H. Bennett, L.O. Schulz, M.E. Valencia, E. Ravussin (2000). "Daily energy expenditure in Mexican and USA Pima Indians: low physical activity as a possible cause of obesity". *Int. J Obesity.* 24, 55-59.
- Evenson, K.R., A.P. McGinn (2005). "Test-retest reliability of a questionnaire to assess physical environmental factors pertaining to physical activity". *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* 2, 7.
- Gabilondo, J.A., L.G. Montes, S.A. Galarraga (2005). "La práctica de actividad física y deporte en la población adulta de Gipuzcoa". Universidad del País Vasco. pp61. <http://www.kirolbegi.net/docs/slides/PAFYD%20-%20Actividad%20Fisica%20y%20salud%20-%202007.pdf>.
- Hernández, B., S.L. Gortmaker, G.A. Colditz, K.E. Peterson, N.M. Laird, S. Parra-Cabrera (1999). "Association of obesity with physical activity, television programs and other forms of video viewing among children in Mexico City". *Int. J. Obes.* 23, 845-854.
- Hernández, B., S.L. Gortmaker, N.M. Laird, G.A. Colditz, S. Parra-Cabrera, K.E. Peterson (2000). "Validez y reproducibilidad de un cuestionario de actividad e inactividad física para escolares de la ciudad de México". *Salud Pública Mex.* 42, 315-323.
- Hernández, S.R., C. Fernández-Collado, L.Pr. Baptista (2006). *Metodología de la Investigación*. México: 4ª Ed. Mc Graw Hill.
- Kuriyan, R., S. Bhat, T. Thomas, M. Vaz, A.V. Kurpad (2007). "Television viewing and sleep are associated with overweight among urban and semi-urban South Indian children". *Nutr. J.*, 6, 25.
- López, A.G., F.J. Ruiz, M.E. García-Montes, M. Pieron (2005). "Hábitos deportivos y estilos de vida de los escolares de eso en los municipios de la provincia de almería." En: Incidencia en la sociedad almeriense de los Juegos Mediterráneos. Consejo Superior de Deportes. Almería. 118, 17/05/01. <http://feadef.iespana.es/valladolid/063.%20antonio%20garcia.pdf>
- López-Alvarenga, J.C., S. Reyes-Díaz, L. Castillo-Martínez, A. Dávalos-Ibañez, J. González-Barranco, J. (2001). "Reproducibilidad y sensibilidad de un cuestionario de actividad física en población mexicana". *Salud Pública Mex* 43, 306-312.
- Merchant, A.T., M. Dehghan, D. Behnke-Cook, S.S. Anand (2007). "Diet, physical activity, and adiposity in children in poor and rich neighbourhoods: a cross-sectional comparison". *Nutr. J.* 6,1.
- Pierón, M. (1996). "Investigación sobre los factores psicológicos, emocionales, sociales y culturales en relación con un estilo de vida saludable". Presentado en el X Congreso Internacional de Educación Física Deporte y Recreación. Hacia Dónde va la Educación Física, Deporte y Recreación. Universidad Autónoma de Chihuahua.

- Piéron, M. (2008). "La opinión del alumnado de enseñanza secundaria sobre las clases de educación física: un desafío para los profesores y los formadores". *Revista Fuentes*. 8, 1-17. http://www.revistafuentes.org/html/article.php?id_volumen=8&id_article=173
- Pikora, T., B. Giles-Corti, F. Bull, K. Jamrozik, R. Donovan (2003). "Developing a framework for assessment of the environmental determinants of walking and cycling". *Soc. Sci. Med.* 56, 1693-1703.
- Prentice, A.M. (2006). "The emerging epidemic of obesity in developing countries". *Int. J. Epidemiol.* 35, 93-99.
- Ricciardi, R. (2005). "Sedentarism: A Concept Analysis. Nursing Forum". 40, 79-87.
- Tammelin, T., Ekelund, U., Remes, J., Näyhä, S. (2007). "Physical activity and sedentary behaviors among Finnish youth". *Med. Sci. Sports. Exerc.* 39, 1067-1074.
- Trigg, R, Wood, V.A. (2003). "The validation of the Subjective Index of Physical and Social Outcome (SIPSO)". *Clin. Rehab.* 17, 283-289.
- Weiss, D.R., J.L. O'Loughlin, R.W. Platt, G. Paradis (2007). "Five-year predictors of physical activity decline among adults in low-income communities: a prospective study". *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* 4, 2.
- Yu, C.M., C.P. Lau, B.M. Cheung, Y.M. Fong, Y.Y. Ho, K.B. Lam, L.S. Li (2000). "Clinical predictors of morbidity and mortality in patients with myocardial infarction or revascularization who underwent cardiac rehabilitation, and importance of diabetes mellitus and exercise capacity". *Am. J. Cardiol.* 85, 344-349.
- Zaragoza, C.J., P.J. Serra, G.O. Ceballos, L.E. Generelo, O.E. Serrano, C.J. Julián (2006). "The environmental factors and their influence in the patterns of physical activity in adolescents". *Int. J. Sport Sci.* 2, 1-14.
- Zhang, J., S.E. Middlestadt, C.Y. Ji (2007). "Psychosocial factors underlying physical activity". *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* 4, 38.

Purificación y caracterización parcial de una proteasa tipo cucumisina presente en *Solanum elaeagnifolium*

Vargas-Requena, CL;¹ Hernández-Santoyo A;²
Jiménez-Vega, F,¹ López-Díaz, JA.¹

En algunas regiones de Chihuahua, México; el fruto de la planta *Solanum elaeagnifolium* es utilizado para la elaboración de queso asadero de manera artesanal y empírica. En la presente investigación fue aislada y caracterizada de forma parcial la enzima presente en dicha planta, responsable de la propiedad de coagulación de la leche. Resultando ser dos proteínas catiónicas con un peso molecular de aproximadamente 19kDa y con una amplia capacidad de formar agregados.

INTRODUCCIÓN

El queso es el derivado lácteo que más se consume en todo el mundo, así, como del que mayor cantidad de variedades se conocen. En su contenido destacan proteínas de alto valor biológico, calcio, fósforo y algunas vitaminas. La elaboración de este producto requiere el empleo de enzimas coagulantes obtenidas de diferentes fuentes, de las cuales, en la actualidad las más utilizadas son las de origen animal, y microbiana (Villegas de Gante 2004).

El cuajo del estómago de los rumiantes es un producto clásico en la elaboración de quesos, obtenido como preparación enzimática relativamente pura hasta 1879. Es una enzima digestiva obtenida

del cuajar de las terneras jóvenes conocida como quimosina (EC 3.4.4.3), cuya principal propiedad es su capacidad para hidrolizar la caseína sin promover un nivel de proteólisis elevado (Scott, 1991). A causa de la escasez y carencia de terneras en determinadas épocas del año, desde la antigüedad se han buscado diferentes productos de sustitución, pero la búsqueda es difícil debido a la estricta especificidad del cuajo sobre la kapa-caseína. Desde la edad antigua se han utilizado otras enzimas con una acción semejante obtenidas a partir de vegetales. La referencia más vieja es de los años 50 a.C., en donde se le atribuye acción de coagulante vegetal de leche a la planta *Cynara cardunculus* L. (cardo). Sin embargo también existen algunos otros como la ficina de *Ficus*

¹ Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Departamento de Ciencias Básicas.

² Instituto de Química, Universidad Autónoma de México, Departamento de Bioquímica. cvargas@uacj.mx

sp., papaina de *Carica papaya*, cardosinas de *Cynara sp.*, Pinguicola y *Whitania coagulans*. Las cuales son utilizadas tradicionalmente con mayor abundancia en países del mediterráneo, oeste de África y sur de Europa, ya que sus proteasas actúan sobre los caseinatos ovinos y caprinos (Vioque y col., 2000).

En México, en algunas regiones del estado de Chihuahua, el fruto de la planta *Solanum elaeagnifolium* se utiliza tradicionalmente como un sucedáneo del cuajo para la elaboración de quesos. La familia de las Solanáceas incluye plantas de uso comestible, así como, medicinales, venenosas, ornamentales y malezas. Es nativa de América y crece con más abundancia al suroeste de Estados Unidos de América y al norte de México. Sin embargo también se le puede encontrar en países como Australia, Egipto, Grecia, Sudáfrica y España. Esta planta, cuyas bayas y follaje son veneno para el ganado; se disemina a través de semillas y rizomas, y crece bajo una amplia variedad de condiciones ambientales (Boyd y Murray, 1982). La proteasa presente en esta planta a la cual se le atribuye la acción hidrolítica sobre la caseína, no ha sido estudiada a nivel molecular de forma aislada. Por lo que en el presente trabajo, se aisló y caracterizó de forma parcial a la proteasa responsable de dicha actividad con la finalidad de llegar a conocer más a detalle la forma de actuar de esta enzima.

MATERIALES Y MÉTODOS

La colecta del fruto de la planta *Solanum elaeagnifolium* se realizó en las inmediaciones de Ciudad Juárez y Delicias. Las frutillas se colectaron frescas y se clasificaron en base a sus diversos estadios de maduración, identificados en base a su coloración. Se colocaron en bolsas de plástico y se conservaron a -20°C , hasta su utilización.

Para la extracción y purificación de la proteasa, se molieron 5g del fruto amarillo y se mezclaron con 50ml de solución amortiguadora de Acetatos pH 6.8. El extracto se centrifugó a 16,000 g durante 30 minutos, a 4°C ; el sobrenadante se dializó durante toda la noche contra solución amortiguadora de Acetatos pH 6.8, teniendo cuidado de realizar tres

recambios de la solución amortiguadora. Posteriormente se centrifugó a 16,000 g durante 30 min y el sobrenadante obtenido se cargó en la columna cromatográfica de intercambio catiónico (CM-celulosa). Como eluyente se utilizó amortiguador de Acetatos pH 6.8 con concentraciones de Cloruro de Sodio del 0.1 al 1 M (Nilo, 1997).

La actividad proteolítica contra caseína en los extractos obtenidos, se hicieron siguiendo el método de Kunitz (1947). El análisis de pureza y seguimiento de la purificación de la proteína se hizo utilizando geles de poliacrilamida con tamaño de poro al 12 % ($8 \times 10 \times 0.1\text{ cm}$) en condiciones desnaturalizantes. Se aplicó una corriente constante de 60 V (Laemmli, 1970). Los geles tras su corrimiento se tiñeron siguiendo el protocolo establecido para la tinción con nitrato de plata (Merril y col., 1981).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se inyectaron cinco mililitros del extracto del fruto amarillo en la columna de CM-celulosa; tras la elución con amortiguador de acetatos pH 6.8 con cloruro de sodio de 0 a 1M se observan básicamente tres fracciones de pobre resolución. Al realizarles a dichas fracciones la prueba de actividad contra caseína se obtiene como resultado que todas las fracciones presentan actividad hidrolítica contra caseína (Figura 1).

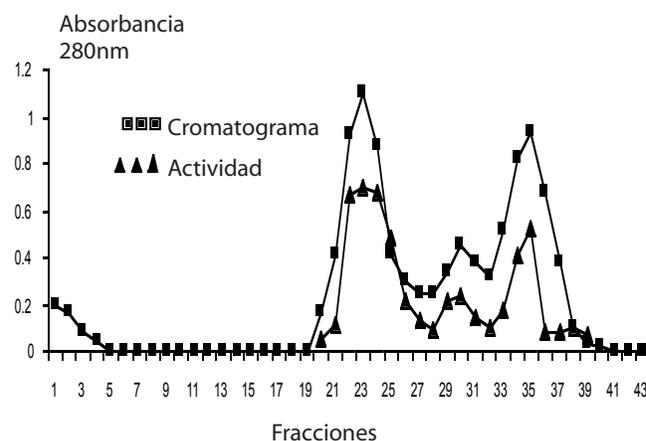


Figura 1. Cromatograma del extracto total obtenido en columna de CM-celulosa; actividad hidrolítica de las fracciones contra caseína.

Además de esto se observó que el cromatograma se modifica entre las inyecciones realizadas con diferencia de 12 horas entre una y otra, a partir de un mismo extracto total conservado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Figura 2).

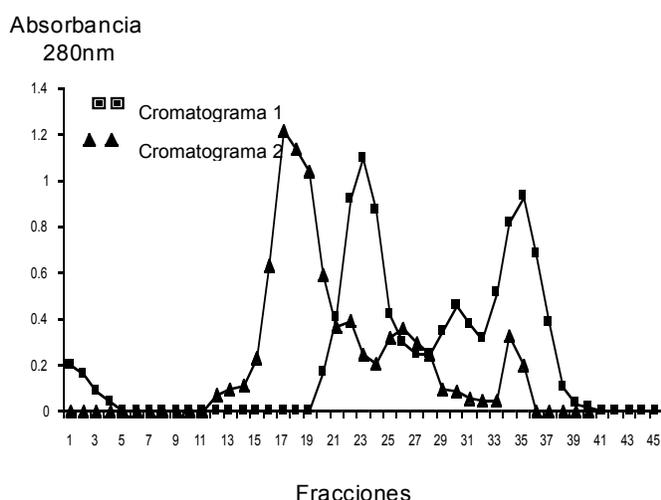


Figura 2. Cromatogramas del extracto total con diferencia de 12 horas entre cada inyección.

Dichas fracciones se analizaron utilizando geles de poliacrilamida al 12% en condiciones desnaturizantes (Figura 3). El gel permite apreciar un amplio bandeo presente en dichas fracciones en un intervalo de masa molecular de 6 a 96 kDa.

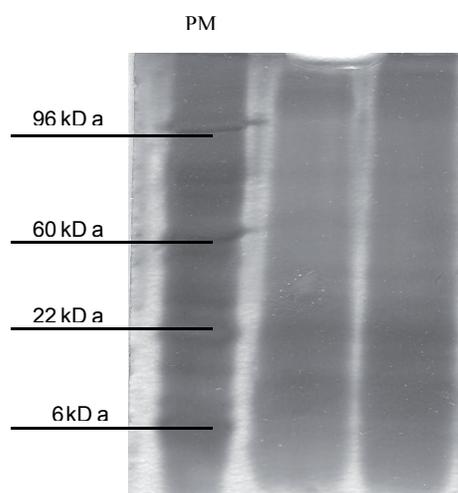


Figura 3. Perfiles electroforéticos de fracciones cromatográficas. Carril 1 pesos moleculares, carril 2 cromatografía 1 y carril 3 cromatografía 2.

La aparición de un amplio bandeo y los cambios observados en el perfil cromatográfico hacen se confirme la sospecha de un posible efecto de agregación de la o las proteínas presentes conforme el extracto se va envejeciendo.

Para confirmar si este estado de agregación es generado por una o varias proteínas presentes en las fracciones cromatográficas obtenidas; se procedió a poner dichas fracciones en contacto con soluciones que tienen la capacidad de modificar la solubilidad de las proteínas, como: metanol, etanol, PEG, glucosa, trealosa, sorbitol, glicerol y Manitol.

Observándose que el PEG es el único agente que ayuda a evitar el estado de agregación de la proteasa, la cual presenta dos fracciones con una masa molecular de aproximadamente 19kDa y un punto isoeléctrico de 5.2 (Figura 4).

Estas dos fracciones no han podido separarse debido a la cercanía de su punto isoeléctrico lo cual hace se sospeche de la presencia de isoformas. Sin embargo queda por hacer más estudios que nos permitan corroborar si son o no isoformas proteicas para poder separarlas y caracterizar mejor a cada una de ellas.

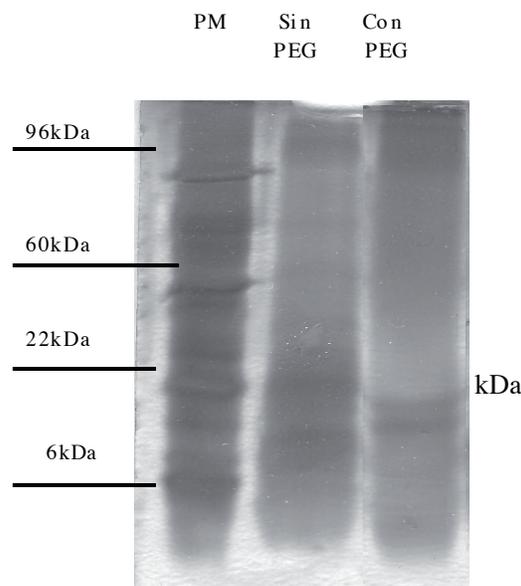


Figura 4. Perfil electroforético de fracciones cromatográficas con agentes desagregantes. Carril 1 pesos moleculares, carril 2 fracción sin PEG y carril 3 fracción con PEG.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio se puede concluir que no se trata sólo de una proteasa tipo cucumisin que tiene la capacidad hidrolítica sobre la caseína, más bien hablamos de dos posibles isoformas con dicha actividad, sin embargo falta profundizar más en los estudios que nos permitan corroborar esta hipótesis.

REFERENCIAS

- Boyd, J. W. y D.S. Murray (1982) "Growth and development of silverleaf nightshade (*Solanum elaeagnifolium*)" *Weed Science*. 30. 238-243.
- Castro López, C., (2003). *Perspectivas de la red lechera de bovino en México*. México: FIRA: Fideicomisos instituidos en relación con la agricultura.
- Kunitz, M. (1947). "Crystalline Soybean Trypsin Inhibitor, II. General Properties". *J Gen Physiol* 30, 291, 1947.
- . (1947). "Isolation of a Crystalline Protein Compound of Trypsin and of Soybean Trypsin Inhibitor". *J Gen Physiol* 30, 311.
- Laemmli, U.K. (1970). "Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4". *Nature*, 227:680-685.
- Merril, C.R., D. Goldmann, S.A. Sedman y M.H. Ebert (1981). "Ultrasensitive stain for proteins in polyacrilamide gels shows regional variation in cerebrospinal fluid proteins". *Science* 211:1437-1438.
- Nilo Rivas R. (1997) *Purificación parcial y caracterización cinética de la polifenoloxidasas del Cambur manzano (Musa [AAB] cy "manzano")*. Macaray (Aroguá): Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela.
- Scott, R. (1991). *Fabricación de queso*. Zaragoza: Ed. Acribia.
- Smith, P.K., R.I. Krohn, G.T. Hermanson, A.K. Mallia, F.H. Garther, M.D. Provenzano, E.K. Fujimoto, N.M. Goeke, B.J. Olson y D.C. Klenk (1985). "Measurement of protein using bicinchoninic acid". *Anal. Biochem.* 1985, 150(1):76-85. Erratum in: *Anal Biochem* 1987 May 15;163(1):279.
- Veisseyre, R. (2004) *Tecnología de la leche*. Zaragoza: Ed. Acribia. Pp. 11-31, 377-569.
- Villegas de Gante, Abraham (2004). *Tecnología Quesera- México*. México: Trillas.
- Vioque, M., R. Gómez, E. Sánchez, C. Mata, L. Tejada y J. Fernández (2000). "Chemical and microbiological characterization of ewes' milk cheese manufactures with extracts from flowers of *Cynara cardunculus* and *Cynara humilis* as coagulants". *J. Agric. Food Chem.* 48, 451-456.

Evaluación del efecto hipocolesterolemizante de productos de soya

Arellano Ortiz, AL;* Rodrigo García, J;* López Díaz, JA.*

El consumo de productos de soya se ha asociado con mejoras del metabolismo de lípidos, disminución del colesterol total y lipoproteínas de baja densidad. Diversos estudios establecen que este efecto se debe al contenido de proteínas e isoflavonas. Por ello, en este estudio se realizó una investigación a fin de establecer los factores que condicionan el efecto hipocolesterolemizante del consumo de proteína e isoflavonas de soya y determinar si en las condiciones en que habitualmente son consumidos ejercen este beneficio. Los resultados muestran que en las condiciones en que habitualmente son consumidos no se lograría el efecto hipocolesterolemizante.

INTRODUCCIÓN

La hipercolesterolemia es una condición que se presenta cuando la concentración de colesterol se encuentra elevada en sangre. Si la concentración alta de colesterol en sangre permanece elevada por mucho tiempo, comienza la formación de depósitos de grasa que se adhieren a las paredes de los vasos sanguíneos, una condición llamada aterosclerosis. Esta condición puede generar el riesgo de padecer alguna de las enfermedades cardiovasculares, como la falta de oxígeno hacia el músculo del corazón, enfermedad considerada como cardiopatía isquémica (NHLBI, 2006).

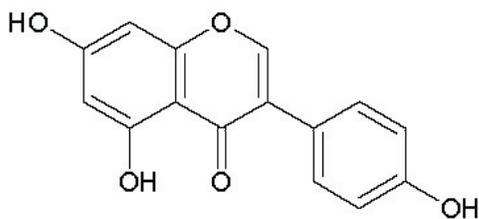
Un tratamiento que se utiliza para la disminución de colesterol, es otorgado por el Programa Nacional de Educación sobre Colesterol, en Estados Unidos. En el 2002, el programa realizó un reporte final dentro del Panel de tratamiento para adultos III (ATPIII por sus siglas en inglés) proponiendo un proyecto llamado Cambios de Estilo de vida Terapéutico (TLC por sus siglas en inglés) (NCEP, 2002). El TLC maneja algunos criterios para la efectividad en la disminución del colesterol, entre ellos se habla del consumo de algunos compuestos activos que se encuentran en determinados alimentos. A estos alimentos se les consideran como “alimentos funcionales” (Silveira-Rodríguez *et al.*, 2003).

* Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Ciudad Juárez, Chihuahua, México 32310. joslopez@uacj.mx

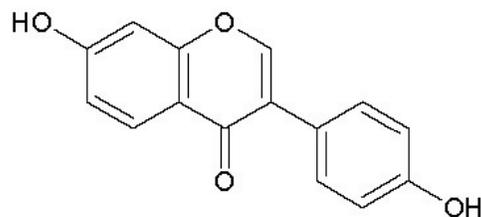
La soya es una legumbre que se ha estudiado desde hace algunas décadas. Los efectos de este grano sobre la salud ha sido tema de controversia por sus beneficios o perjuicios y dentro de los efectos estudiados, se encuentra el efecto hipocolesterolemizante (Pamplona, 2004).

Los alimentos funcionales que se conocen como hipocolesterolemizantes, se han comprobado mediante estudios experimentales diseñados para la búsqueda de algún componente activo natural presente en el alimento y que pueda contrarrestar alguna enfermedad, en este caso la hipercolesterolemia. Dentro de estos alimentos, la soya ha tenido un buen papel para la disminución del colesterol. Varios de los compuestos encontrados en la soya, han tenido la función de reducir las concentraciones de colesterol total, así como el colesterol LDL (Low Density Lipoprotein). Dentro de estos compuestos se encuentran las saponinas, la lecitina, la fibra y principalmente las proteínas y las isoflavonas siendo las más importantes la genisteína y la daidzeína (Liu y Felice, 2007) (Figura 1).

Las saponinas son sustancias que impiden la absorción del colesterol en el intestino. La lecitina, por otro lado, siendo un complejo de fosfolípidos, impide que el colesterol se deposite en las paredes de las arterias. La fibra contenida en la soya junto con la proteína, ayudan a la prevención de aterosclerosis disminuyendo el colesterol LDL sanguíneo. A la proteína de soya y a las isoflavonas se le atribuye el mayor efecto hipocolesterolemizante (Sacks *et al.*, 2006; Zhan y Ho, 2005; Zho *et al.*, 2004).



Genisteína



Daidzeína

Figura 1. Estructura química de las isoflavonas más importantes.

Varios autores han reportado cambios en el metabolismo de lípidos y colesterol cuando se ingiere proteína de soya. Estos cambios se han atribuido al perfil de aminoácidos contenidos en dicha proteína. El efecto corresponde a la proporción de glucagón/insulina existente en sangre. La proteína de soya, al igual que las proteínas vegetales, contiene gran cantidad de los aminoácidos arginina, glicina y alanina, mientras que la proteína animal contiene aminoácidos como la lisina. Cuando existe una proporción mayor de arginina que lisina, se relaciona con una concentración alta de glucagón en sangre (Torres *et al.*, 2006). El efecto que presentan estas dos hormonas, insulina y glucagón, es incrementar la síntesis de enzimas encargadas de la elaboración del colesterol en las células. Los genes encargados para la síntesis de enzimas son controlados por factores de transcripción llamados SREBPs (por sus siglas en inglés sterol regulatory element binding proteins). Estos factores de transcripción están en tres isoformas, SREBP-1a, SREBP-1c y SREBP-2. Las isoformas SREBP-1a y 1c se encargan de regular las enzimas que intervienen en la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos. La isoforma SREBP-2 promueve los genes implicados en la síntesis de Hidroximetil-glutaril-CoA reductasa (HMG-CoA reductasa) y los receptores LDL (LDLr) en el hígado. Por lo anterior, el consumo de caseína provoca un incremento rápido de insulina en la sangre y además un incremento de SREBP-1c en hígado, que conlleva a un incremento de ácidos grasos. En cambio, si se consume proteína de soya se reduce la concentración

de insulina seguida de la reducción de SREBP-1c y por ende, una reducción en la producción de ácidos grasos. Por otro lado, la proteína de soya incrementa la actividad de los receptores LDL y un incremento en la secreción de ácidos biliares. Cuando se tiene un bajo consumo de colesterol y se consume proteína de soya, se incrementa la producción de SREBP-2 aunado con el incremento de la activación de HMG-CoA reductasa para la síntesis de colesterol celular, asimismo se activa la síntesis de los receptores LDL para captar el colesterol circulante en el torrente sanguíneo (Torres *et al.*, 2006).

Por otra parte, las isoflavonas son también un factor importante en la disminución de colesterol y detención de la formación de placas aterogénicas. Las isoflavonas se encuentran conjugadas con carbohidratos, llamadas isoflavonas glicosiladas, que al ser ingeridas son hidrolizadas por bacterias en el intestino delgado a las formas agliconas (sin carbohidratos) como genisteína, daidzeína y gliciteína (Garrido *et al.*, 2003). Las isoflavonas, especialmente la daidzeína, se vuelven a metabolizar dentro del cuerpo formando el metabolito llamado S-equol. Este metabolito es muy parecido a los estrógenos naturales.

Por el parecido de las isoflavonas a los estrógenos, presentan efectos que ayudan en una forma favorable sobre los factores de coagulación, la distribución corporal de las grasas y un efecto protector sobre las paredes arteriales al interferir en el tiempo de oxidación de las LDL. Además de esto, las isoflavonas interfieren en la producción de SREBP-2 al igual que las proteínas de soya, presentando un efecto positivo en la regulación del colesterol descrito anteriormente (Torres *et al.*, 2006).

Existe evidencia científica que las isoflavonas y proteína de soya actúan en forma sinérgica. Esta relación potencia la disminución de colesterol en sangre, en comparación a si se manejaran los dos componentes por separado. Pero entonces, ¿cuál sería la cantidad que se debe ingerir de proteína e isoflavonas de soya para lograr este efecto? La FDA (Food & Drugs Administration) en el año 2000 determinó que una dieta con al menos 4 porciones de productos de soya, reduciría el 10% de las concen-

traciones de colesterol LDL. De esta manera, la FDA sugiere que así se alcanzará la cantidad de 25 g de proteína de soya al día (FDA, 2000). Sin embargo, no esclarece ni hace mención sobre la cantidad de isoflavonas que ayudará a la disminución del colesterol. Pero, ¿realmente es ésta la cantidad de proteína que se deberá de consumir para la eficacia de la disminución del colesterol?

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo una investigación documental descriptiva y correlacional de los factores involucrados con el efecto hipocolesterolemiantes de las proteínas e isoflavonas de soya. Se realizó un estudio de mercado y se registraron los productos a base de soya que se expenden en las tiendas comerciales de Ciudad Juárez, Chih. Se estimó el contenido de proteína de soya e isoflavonas en los productos encontrados y con ellos se diseñaron menús que cumplieran con las cantidades a las que se les adjudica el efecto hipocolesterolemiantes.

RESULTADOS

En los estudios revisados sobre el consumo de soya y el cambio del metabolismo lipídico, se encontró que para una disminución efectiva de colesterol se deben consumir más de 30 g de proteína de soya, llegándose a necesitar hasta 50 g (Sacks *et al.*, 2006; Zho *et al.*, 2004; FDA, 2000; Anderson *et al.*, 1995). En cuanto a isoflavonas, otros autores sugieren que la cantidad debe ser de entre 80 y 150 mg (Zhan y Ho, 2005; Zho *et al.*, 2004; Yeung y Yu, 2003).

Otros estudios demuestran que para tener efectividad en la disminución de colesterol, se requiere una dieta baja en colesterol (menos de 200 mg/día), baja en ácidos grasos saturados (menos del 7% de la energía), bajo en ácidos grasos trans (menos de 2 g/día), ajuste de calorías para cada persona y que las personas tenga actividad física (NCEP, 2002; Texeira *et al.*, 2000; Stefanick *et al.*, 1998).

Al igual que los estudios sobre la relación entre la proteína de soya e isoflavonas para la disminución

de colesterol, escasos autores han desarrollado estudios experimentales que incluyan productos de soya disponibles en el mercado, como leche de soya, leche fermentada de soya y tofu (Takatsuka *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2004; Dunn y Liebman, 1986). Además de ello, desde que la soya empezó a ser estudiada sobre sus beneficios acerca de la disminución de las concentraciones de colesterol en sangre, se han utilizado modelos de animales como conejos, ratas, ratones, hamsters y primates (Wilson *et al.*, 1998; Liu *et al.*, 2006; Yamashita y Hayashi, 1990; Raheja y Linscheer, 1982; Bossisio *et al.*, 1981). Sin embargo, la mayoría de las pruebas experimentales con animales, especialmente conejos y ratas, han dado como resultado una reducción más drástica del colesterol en suero en comparación con las pruebas que se han reportado en seres humanos (Erdman y Fordyce, 1989). Esto indica que aquellos estudios que incluyeron animales, no resultan to-

talmente confiables, pues se requiere el control de otros factores implicados que pudieran generar el mismo resultado. Otros autores han comentado que la diferencia de la composición química y orgánica de los seres vivos hace diferir los resultados, encontrándose mejores respuestas de disminución de colesterol en animales que en el hombre (Erdman *et al.*, 2004).

Productos comerciales que contiene soya

Otro factor a considerar para evaluar el efecto de la disminución de colesterol por el consumo de proteínas e isoflavonas de soya sería la disponibilidad en el mercado de alimentos con estos ingredientes. En México se comercializan una amplia variedad de productos derivados de la soya. Estos productos se encuentran principalmente en centros comerciales y tiendas naturistas. La mayoría de estos productos

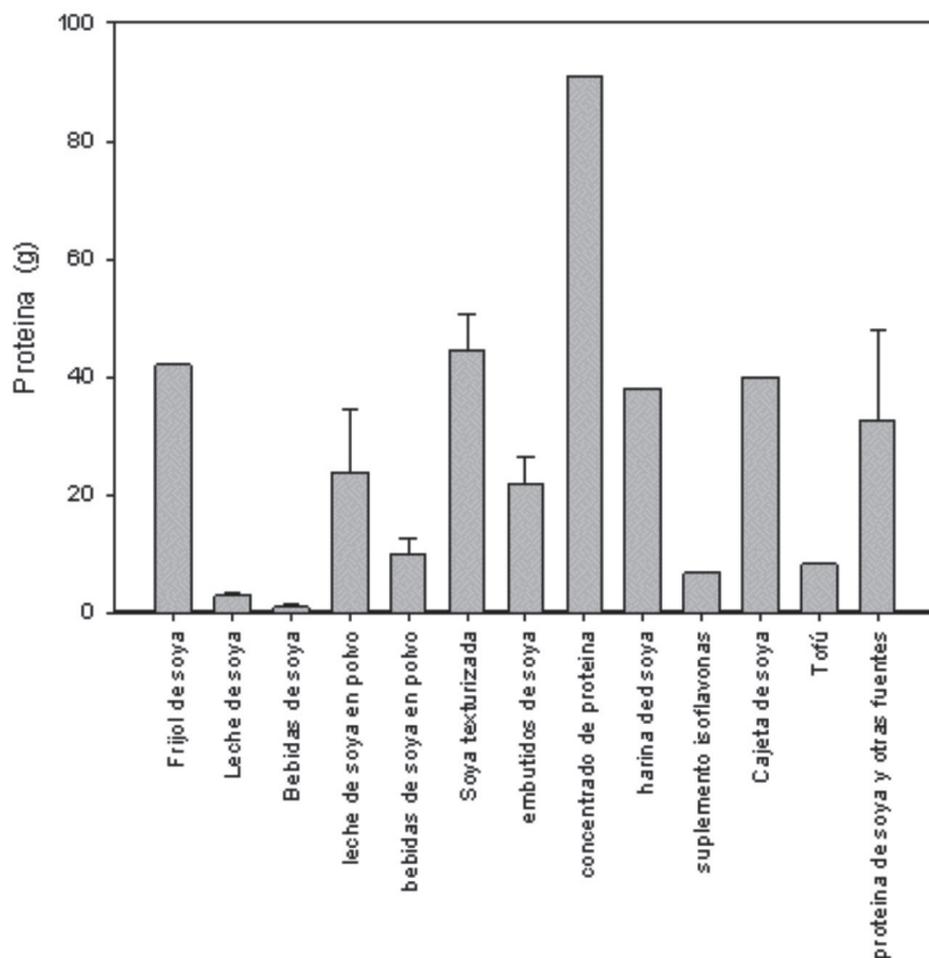


Figura 2. Tipos de Producto de soya que se expenden en centros comerciales y tiendas naturistas en función del contenido de proteína de soya.

proviene de diferentes estados de la República Mexicana y algunos otros provienen del extranjero, principalmente Estados Unidos. Como no existe información documentada en México sobre los productos con soya, se realizó un estudio de mercado en Ciudad Juárez Chihuahua a fin de tener una visión más real de tal situación (Figura 2).

En Estados Unidos los productos de soya son regulados por la FDA. En México por su parte, no se cuenta con alguna norma oficial para la regulación de estos productos. Es así como los productos que no están regulados, carecen de información en cuanto a la cantidad en gramos de proteína de soya que contienen. Por otro lado, la mayoría de los productos (en especial los productos encontrados en tiendas naturistas) no presentan en sus etiquetas la cantidad de ácidos grasos, ácidos grasos trans, etcétera. Asimismo, ciertos productos presentan defectos en sus etiquetas: mal conteo de calorías, falta de macronutrientes y errores de impresión, por lo que hay cierta duda en cuanto a la veracidad que muestra la tabla nutricional.

En el diseño de una dieta para pacientes hipercolesterolémicos con la inclusión de productos de soya, es necesario reunir los factores favorecedores del efecto hipocolesterolemiante antes planteados. Esto es, incluir proteínas e isoflavonas de soya y disminuir los ácidos grasos y el colesterol (Cuadro 1).

Cuadro 1. Factores que garantizan que una dieta con soya ejerza efecto hipocolesterolemiante.

- Proteína de soya : 30- 50 g/día
- Isoflavonas: 80- 150 mg/día
- Ácidos grasos saturados: <7 % de la energía
- Ácidos grasos trans: < 2 g/día
- Colesterol: < 200 mg/día
- Consideración de calorías para mantener el peso adecuado
- Actividad física

Al diseñar un plan de alimentación para pacientes con hipercolesterolemia se requiere llegar a la ingesta recomendada de más de 30 g de proteína de soya y más de 80 mg de isoflavonas. Para lograr esto se diseñaron dietas en donde se requirieron de 4 a 5 porciones de productos de soya al día, dependiendo del contenido de proteína. Se observó que la inclusión de este número de raciones de productos de soya en la dieta, automáticamente sustituye a los alimentos de origen animal. Esto es, se requiere eliminar leche, embutidos, bebidas lácteas, quesos, carnes entre otros productos. Esta sustitución origina que se vayan supliendo las proteínas de origen animal por las de origen vegetal, así como la eliminación automática del colesterol, como se compara en la figura 3.

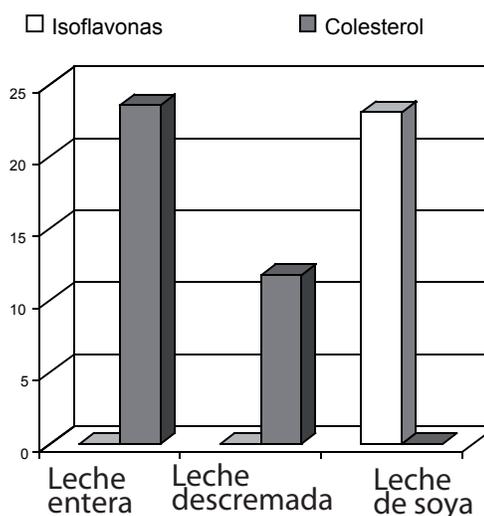


Figura 3. La diferencia entre productos análogos de origen animal y vegetal con la misma cantidad de proteína son las isoflavonas y el colesterol.

CONCLUSIONES

El consumo de 4 o 5 raciones de productos de soya no corresponde a una práctica común, está ligado a hábitos alimenticios como es el caso de los vegetarianos. En el caso de consumidores ocasionales de alimentos con soya, no habría efecto, pues no se cumpliría con las recomendaciones. En aquellos consumidores que modificaran su alimentación e incluyeran más alimentos con soya, automáticamente eliminarían las fuentes de colesterol y por ende se observaría una disminución. Por lo tanto, resulta difícil afirmar si la disminución del colesterol total se debe al consumo frecuente de productos a base de soya o si es debido a la sustitución de fuentes de colesterol.

REFERENCIAS

- Anderson, J.W., B.M. Johnstone, M.E. Cook-Newell (1995). "Meta-analysis of the effects of soy protein intake on lipids". *New Eng J Med* 333(5): 276-282.
- Bossio, E., G.C. Ghiselli, M. Galli Kienle, G. Galli y C.R. Sirtori (1981). "Effects of dietary soy protein on liver catabolism and plasma transport of cholesterol in hypercholesterolemic rats". *J Steroid Biochem* 14(11):1201-1207.
- Chen, J.R., S.M. Liu, S.C. Yang y K. Suetsuna (2004). "Soy milk intake is associated with plasma and liver lipid profiles in rats fed a high-cholesterol diet". *Nutrition* 20(10):929-933.
- Dunn, C. y M. Liebman (1986). "Plasma lipid alterations in vegetarian males resulting from the substitution of tofu for cheese". *Nutr Res.* 6 (12): 1343-1352.
- Erdman, J.W. Jr., T.M. Badger, J.W. Lampe, K.D.R. Setchell y M. Messina (2004). "Not All Soy Products Are Created Equal: Caution Needed in Interpretation of Research Results. Fifth International Symposium on the Role of Soy in Preventing Chronic Disease", *J of Nutr* 134: 1229S-1233S.
- Erdman, J.W. Jr, y E.J. Fordyce (1989). "Soy products and the human diet". *American Journal Clinical of Nutrition.* 49 :725-737.
- FDA. U.S. Food and Drug Administration. (2000). "Soy: Health claims for soy protein, question about other components". Obtenido el 26 de octubre de 2006, en http://www.fda.gov/fdac/features/2000/300_soy.html
- Garrido, A.G., M. Pia de la Maza y L.B. Valladares (2003). "Fitoestrógenos dietarios y sus potenciales beneficios en la salud del adulto humano". *Revista Médica de Chile* 131: 1321-1328.
- Hamilton, R.M.G. y K.K. Carroll (1976). "Plasma cholesterol levels in rabbits fed low fat, low cholesterol diets Effects of dietary proteins, carbohydrates and fibre from different sources". *Atherosclerosis.* 24(1-2): 47-62.
- Liu, J.R., S.Y. Wang, M.J. Chen, H.L. Chen, P.Y. Yueh y C.W. Lin (2006). "Hypocholesterolaemic effects of milk-kefir and soyamilk-kefir in cholesterol-fed hamsters". *Bromatology Journal of Nutrition.* 95(5): 939-946
- Liu, R.H. y D.L. Felice (2007). "Antioxidants and whole food phytochemicals for cancer prevention". En: Fereidoon Shahidi and Chi-Tang Ho (eds) *Antioxidant Measurement and Applications.* Washington, DC: American Chemical Society. Pp 15-34.
- NCEP (2002). National Heart, Lung and Blood Institute. National Institutes of Health. "Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report". *NIH Publication* :284.
- NHLBI (National Heart Lung and Blood Institute) (2006). "High blood Cholesterol". Sept. 2006, en: <http://www.nhlbi.nih.gov/health/dci/Diseases/>
- Pamplona, J. (2004). *Enciclopedia de los alimentos y su poder curativo. Tratado de Bromatología y Dietoterapia.* 1a ed. Ed. Safeliz. Tomo 2. 446 p.
- Raheja, K.L. y W.G. Linscheer (1982). "Comparative effects of soy and casein protein on plasma cholesterol concentrations". *Ann Nutrition Metabolism* 26(1): 44-9.

- Sacks, F. M., A. Lichtenstein, L. Van Horn, W. Harris, P. Kris-Etherton, M. Winston y The American Heart Association Nutrition Committee (2006). "Soy Protein, Isoflavones, and Cardiovascular Health: An American Heart Association Science Advisory for Professionals From the Nutrition Committee". *Journal of the American Heart Association*. 113:1034-1044.
- Silveira-Rodríguez, M.B., S. Monereo-Megías y B. Molina-Baena (2003). "Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿cerca o lejos?" *Revista Española de Salud Pública* 77: 317-331.
- Stefanick, M.L., S. Mackey, M. Sheehan, N. Ellsworth, W.L. Haskell, y P.D. Wood (1998). "Effects of diet and exercise in men and postmenopausal women with low levels of HDL cholesterol and high levels of LDL cholesterol". *The New England Journal of Medicine* 339:12-20.
- Takatsuka, N., C. Nagata, Y. Kurisu, S. Inaba, N. Kawakami y H. Shimizu (2000). "Hypocholesterolemic Effect of Soymilk Supplementation with Usual Diet in Premenopausal Normolipidemic Japanese Women". *Preventive Medicine*. 31(4): 308-314.
- Texeira, S.R., S.M. Potter, R. Weigel, S. Hannum, J.W. Jr. Erdman y C.M. Hasler (2000). "Effects of feeding 4 levels of soy protein for 3 and 6 wk on blood lipids and apolipoproteins in moderately hypercholesterolemic men". *American Journal of Clinical Nutrition* 71:1077-1084.
- Torres, N., I. Torre-Villalvazo y A.R. Tovar (2006). "Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders". *Journal of Nutritional Biochemistry* 17: 365-373.
- Wilson, T.A., C.M. Meservey y R.J. Nicolos (1998). "Soy lecithin reduces plasma lipoprotein cholesterol and early atherogenesis in hypercholesterolemic monkeys and hamsters: beyond linoleate". *Atherosclerosis* 140(1): 147-53.
- Yamashita, J. y S. Hayashi (1990). "The effect of dietary protein source on plasma cholesterol level and fecal steroid excretion in obese mice". *Journal Nutritional Science and Vitaminology* 36(6): 545-558.
- Yeung, J. y T. Yu (2003). "Effects of isoflavones (soy phyto-estrogens) on serum lipids: a meta-analysis of randomized controlled trials". *Nutrition Journal* 2:15.
- Zhan, S. y S.C. Ho (2005). "Meta-analysis of the effects of soy protein containing isoflavones on the lipids profile". *Am J Clin Nutr.* 81(2):397-408.
- Zho, X.G., K.M. Melissa y W. Shaw (2004). "Soy Isoflavone Intake Lowers Serum LDL Cholesterol: A Meta-Analysis of 8 Randomized Controlled Trials in Humans". *Journal of Nutrition* 134: 2395-2400.

Optimización de la extracción y estandarización de un cuajo vegetal para la elaboración de queso asadero

Martínez-Ruiz, NR* y López-Díaz, JA*

Se optimizó la obtención de un extracto vegetal a partir del fruto amarillo de la planta *Solanum elaeagnifolium* y se estandarizó su uso como coagulante vegetal para la elaboración de queso asadero. La optimización de la extracción del cuajo vegetal con sulfato de amonio permitió obtener un concentrado proteico de 311 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y su estandarización como coagulante determinó que se requieren 560 μg de esta proteína vegetal para coagular 1 litro de leche en condiciones similares a las del cuajo comercial. Adicionalmente, se mejoró el rendimiento de queso asadero hasta un 1.6% más que el reportado.

INTRODUCCIÓN

Los “cuajos vegetales” procedentes de varias especies, como las *Cynaras* (cardos y alcachofas), *Gallium*, *Pinguicula*, *Whitania*, *Ficus*, han sido utilizados tradicionalmente para la elaboración de quesos en regiones del Mediterráneo y Australia (Alaís, 1998). Estos cuajos proceden de extractos de plantas que contienen proteinasas capaces de coagular las caseínas de la leche. Los extractos que contienen estas enzimas son utilizados actualmente en la elaboración de quesos artesanales, especialmente en Portugal, en el Mediterráneo y en el sur de España. Un extracto elaborado a partir de la flor de

Cynara cardunculus L es utilizado en la elaboración de quesos con denominación de origen, como la “Torta del Casar”, “La Serena”, y entre los portugueses, el “Serra da Estrela”. Los quesos elaborados con extractos vegetales tienen propiedades químicas, bioquímicas y sensoriales parecidas a los quesos elaborados con cuajo animal y ahora también con cuajo microbiano (Pino *et al.*, 2005; Llorente *et al.*, 2004; Shaojiang *et al.*, 2003; Vioque *et al.*, 2000). La cocina mestiza de Chihuahua incluye diferentes tipos de quesos artesanales en cuya elaboración se utiliza como cuajo vegetal el fruto de la planta *Solanum elaeagnifolium* (Frias y Vargas, 1996). Esta planta, comúnmente conocida como “Trompillo”, es

* Departamento de Ciencias Básicas, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Anillo Envolvente del Pronaf y Estocolmo s/n, Cd. Juárez, Chihuahua, México. C.P. 32300. nmartine@uacj.mx

nativa del norte de México y sur de Estados Unidos; aunque es considerada una maleza, su fruto es ampliamente usado en la elaboración de queso asadero. Los frutos de esta planta en sus diferentes estadios de maduración (verde, amarillo y negro) han sido analizados, encontrándose que el fruto amarillo tiene mayor contenido proteico y su extracto es el que presenta mejor capacidad de coagulación de leche en la elaboración de queso asadero (Martínez-Ruiz *et al.*, 2008). Por lo anterior, el presente estudio se realizó con el fin de optimizar la obtención del extracto vegetal a partir del fruto amarillo de la planta *Solanum elaeagnifolium* y asimismo, estandarizar su uso como coagulante vegetal para la elaboración de queso asadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

El fruto amarillo de la planta *Solanum elaeagnifolium* fue recolectado en lotes baldíos de Ciudad Juárez en el estado de Chihuahua. Las muestras fueron transportadas a temperatura ambiente, en bolsas de plástico y posteriormente almacenadas a -20 °C hasta su posterior análisis. El extracto vegetal se obtuvo por precipitación con sulfato de amonio (Matthews, *et al.*, 2002; Hernández-González *et al.*, 2000; Duckjovich y Esquivel, 1995; Gacesa y Hubble, 1990); para ello, el fruto congelado se maceró en una solución amortiguadora de acetato de sodio 0.1 M y pH 5.2, en una relación 1:3; se le adicionó polivinilpirrolidona (PVPP) para prevenir la oxidación del extracto en una relación del 1% del peso del fruto. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 4000 rpm durante 4 min a 4 °C. Al sobrenadante obtenido se le adicionó por goteo una solución de acetato de sodio 0.1M, saturada con sulfato de amonio hasta alcanzar una concentración final del 20% (p/v), manteniendo agitación constante y 4 °C. La mezcla se dejó durante 20 horas en agitación lenta y a la misma temperatura; posteriormente se centrifugó a 4000 rpm, durante 4 min. Se recuperó el sobrenadante y se le adicionó nuevamente por goteo una solución de acetato de sodio 0.1M, saturada con sulfato de amonio hasta alcanzar una concentración final del 40% (p/v), manteniendo agitación constante

y 4 °C. Se descartó el sobrenadante y el precipitado se resuspendió en buffer de acetato de sodio 0.1 M, pH 5.2. El extracto crudo así obtenido se dializó en una membrana de 12-14 KDa contra solución amortiguadora de acetato de sodio 0.1 M, pH 5.2 a 4 °C por 16 horas. Al extracto crudo dializado se le cuantificó la concentración de proteína por el método de Bradford (1976), se colocó en tubos de 15 mL, se congeló y guardó a -20 °C.

Para las pruebas de coagulación se utilizó leche pasteurizada y estandarizada a 35 °D, adicionada con CaCl₂ (0.2 g/L), condiciones empleadas para la elaboración de queso asadero. Se evaluó la capacidad de coagulación del extracto vegetal en 100 mL de leche, para ello se hicieron 5 pruebas, empleando 50, 100, 150, 180 o 200 µL de extracto crudo. Como control se usó cuajo comercial de acuerdo a las instrucciones del fabricante (renina microbiana Laczyme®, Enmex S.A. de C.V.). Estas pruebas se mantuvieron a 35 °C y se monitoreó el tipo y firmeza de la cuajada al corte a los 20, 40, 50, 60 y 80 min (Solórzano *et al.*, 2003). Para verificar la aptitud y efectividad del extracto, se evaluó su aplicación en la elaboración de queso asadero (Silva, 2005; Villegas de Gante, 2004; Villegas de Gante, 1993).

RESULTADOS

En relación a la saturación del buffer de acetatos utilizado, se determinó que fueron suficientes 12 g de sulfato de amonio por cada 20 mL de la solución, por lo que se estableció una relación al 50%, es decir, 10 g de sulfato de amonio por cada 20 mL de solución amortiguadora. Así, durante el proceso de extracción cruda de proteínas, a partir del fruto amarillo de “Trompillo”, se obtuvieron del primer sobrenadante un volumen de 195 mL a los cuales se les añadieron 54.6 g de sulfato de amonio en 78 mL de buffer. Para el segundo sobrenadante se obtuvieron 260 mL, al cual se le adicionó 72.8 g de sulfato de amonio en 104 mL de buffer. El precipitado se resuspendió obteniéndose un volumen total de extracto crudo de 102 mL (Figura 1). La concentración proteica de este extracto fue de 311 µg/mL.

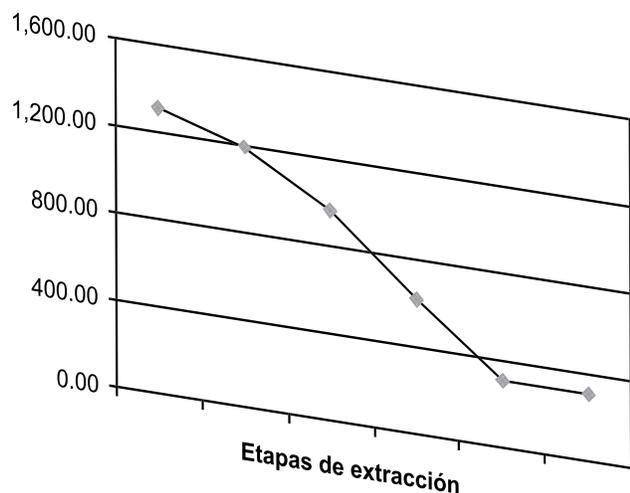


Figura 1. Concentración de proteína por etapa de obtención de cuajo vegetal a partir del fruto amarillo de la planta *Solanum elaeagnifolium*.

Durante el proceso tradicional de elaboración de queso asadero, el tiempo usado para la coagulación de la leche es de 40 min (Silva, 2005; Villegas de Gante, 2004), mostrando a este tiempo una cuajada firme al corte, lo que evita la disminución del rendimiento en el queso debido a una cuajada

débil (Villegas de Gante, 2004). El uso del extracto crudo obtenido del fruto amarillo de la *Solanum elaeagnifolium* mostró tener comparativamente su mejor aptitud de formación de cuajada usando 180 μL del extracto por cada 100 mL de leche y tomando como referencia los 40 min de coagulación que generalmente se emplean en la industria quesera (Silva, 2005; Villegas de Gante, 2004). Estos resultados de pruebas de coagulación pueden observarse en el Cuadro 1.

De acuerdo a la concentración de proteína del extracto crudo, en 1.8 mL de extracto que se emplearían para coagular un litro de leche se tendrían 560 μg de proteína y en 0.1 mL de cuajo comercial empleado habrían 258 μg , lo cual establece una relación de proteína de 1:2.17 entre cuajo comercial y cuajo vegetal por litro de leche a cuajar. Finalmente los quesos asaderos fueron elaborados realizando el cuajado en 40 min y los rendimientos de tres quesos fueron de 10.94%, 11.54% y 11.65%, ubicándose como un buen rendimiento para queso asadero, que resulta superior a lo reportado por Villegas de Gante (2004) quien encontró un rendimiento promedio de 8.5 a 10% en quesos asaderos comerciales.

Cuadro 1. Pruebas de coagulación del extracto vegetal proveniente del fruto amarillo de la *Solanum elaeagnifolium*.

Extracto Vegetal	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	80 min
50 μL	Negativo	Negativo	Negativo	Débil	Débil	Firme
100 μL	Negativo	Débil	Débil	Firme	Firme	Muy Firme
150 μL	Débil	Débil	Débil	Firme	Muy firme	Muy firme
180 μL	Débil	Débil	Firme	Firme	Muy firme	Muy firme
200 μL	Débil	Débil	Firme	Firme	Muy firme	Muy firme

CONCLUSIONES

El extracto crudo obtenido del fruto amarillo de la *S. elaeagnifolium* presentó una acción coagulante similar a la del cuajo comercial a razón de una concentración de proteína 2.17 veces superior a la del cuajo comercial. La cantidad de extracto crudo proteico de 1.8 mL/ L de leche forma un gel firme

comparativamente semejante al formado por el cuajo comercial a los 40 min de iniciado este proceso y corresponde a la operación tradicional de elaboración de queso asadero. La aplicación de este extracto en la elaboración de queso asadero permitió incrementar los porcentajes de rendimiento del producto con respecto a experimentos anteriores.

REFERENCIAS

- Alaís, C. (1998). *Ciencia de la leche: principios de la técnica lechera*. México: Continental.
- Bradford, M.M. (1976). "A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding". *Analytical Biochem.* 72. 248-254.
- Duckjovich, A. y G. Esquivel (1995). "Extracción, purificación y caracterización de la proteasa del trompillo (*Solanum elaeagnifolium*) y su posible aplicación en la industria alimentaria". México: Tesis de maestría en biotecnología de enzimas. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila.
- Frías, M. y J. Vargas (1996). *La cocina regional de Chihuahua*. Chihuahua: Ediciones Nueva Vizcaya. Pp. 131-137.
- Gacesa, P. y J. Hubble (1990). *Tecnología de las enzimas*. Zaragoza: Acribia.
- Hernández González, M., F. Hernández, O. Reboloso Padilla, A. Lliná y X. Chacón (2000). "Obtención y caracterización de proteasas con la aplicación en la industria quesera a partir del cardo (*Cynara cardunculus*)". Proyecto de titulación. Universidad Autónoma de Coahuila.
- Llorente, B., C. Brutti y N. Caffini (2004). "Purification and characterization of a milk-clotting aspartic proteinase from globe artichoke (*Cynara scolymus* L.)". *J. Agric. Food Chem.* 52:8182-8189.
- Martinez-Ruiz, N.R., C.L. Vargas-Requena, J.A. López-Díaz y A. Aquino-Favela (2008). "Manufacture of Asadero Cheese with a vegetable rennet from *Solanum elaeagnifolium*". Memories. Article in extenso presented in 3rd International Congress Food Science and Food Biotechnology in Developing Countries. AMECA/Food Science and Food Biotechnology in Developing Countries. FP-14:75-79.
- Matthews, C., K. Van Holde y K. Ahern (2002). *Bioquímica*. 3ra. Edición. Pearson.
- Pino, A., F. Prados, M. Vioque, E. Galán, R. Gómez y J. Fernández-Salguero (2005). "Características fisicoquímicas, bioquímicas y microbiológicas de queso de cabra elaborado con distintos coagulantes". Memorias en extenso. V Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos. Tomo III. 26. Accesado el 03 de febrero de 2007. Obtenido de: <http://www.encl.ipn.mx>
- Shaojiang, C., A. Samson y Z. Jian (2003). "Use of Australian cardoon extract in the manufacture of ovine milk cheese- a comparison with commercial rennet preparations". *International Journal of Food Science and Technology*. 38:799-807.
- Silva, G. (2005). "Centro de estudios de la leche: Queso asadero". En: Memorias de Curso: Quesos mexicanos y cultivos lácticos (Diciembre: Hidalgo, México).
- Solórzano, T.S., O. Reboloso Padilla, M. Hernández González, X. Chacón y O. Fuentes (2003). "Caracterización de la actividad coagulante de la planta trompillo sobre la leche" Proyecto de titulación. Universidad Autónoma de Coahuila.
- Villegas de Gante, A. (1993). *Los Quesos Mexicanos*. México: CIESTAAM-UACH.
- . (2004). *Tecnología quesera*. México: 1ª edición. Ed. Trillas.
- Vioque, M.; Gomez, R.; Sanchez, E.; Mata, C.; Tejada, Luis.; y Fernandez, J. 2000. "Chemical and microbiological characteristics of ewes' milk cheese manufactured with extracts from flowers of *Cynara cardunculus* and *Cynara humilis* as coagulants". *J. Agric. Food Chem.* 48:451-456.

Guidelines for authors

The Editorial Board of the journal *Ciencia en la Frontera: Revista de Ciencia y Tecnología de la UACJ*, invites authors to submit manuscripts under three categories: research articles, short manuscripts (which will be short articles showing results of undergraduate thesis and written by the undergraduate students, reviewed by their advisers), and invited reviews. Manuscripts should be sent to the Editor in Chief, according to the following specifications:

- 1) Papers should be from original research and with scientific content.
- 2) Once published, articles cannot be published elsewhere in the same form, in any language, without the consent of UACJ publishers.
- 3) Papers may be: research articles, short manuscripts and invited reviews, belonging to the fields of natural or exact sciences (biology, life sciences, chemistry, mathematics, physics, etc). Final decisions concerning acceptability of the manuscripts will be made by the Editorial Board.
- 4) Papers may be written in English, Spanish or any Romance language. If a translation to Spanish is submitted, the text in original language should also be provided.

Abstracts written both in Spanish and English should also be provided.

- 5) Originals are not sent back.
- 6) If the author fails to respond to the final comments of the Editorial Board of *Ciencia en la Frontera: Revista de Ciencia y Tecnología de la UACJ*, the journal can make editing changes which do not modify the original content of the article.

7) Papers should meet the following format:

- a) Short and concise title, written in both English and Spanish or Romance languages.
- b) A brief abstract between 40 and 150 words, which should also be written in both languages.
- c) Name and nationality of authors.
- d) Affiliation of authors, including highest degree and research field of all authors.
- e) Author affiliations should be included as footnotes starting from number 1.
Ex. Ramírez, J. L.¹ y Martínez, R.²
1 Universidad de Puebla, México.
2 Universidad de Santiago Compostela, España.
Footnotes should be posted at the bottom left side of the page where they are mentioned.
- f) Specify type of paper, i.e. Research article, Short manuscript or Invited Review.
- g) Postal address of the corresponding author, which includes: telephone, fax and e-mail. Corresponding author should be highlighted with an asterisk (*) mark.
- h) Manuscripts should be submitted in triplicate, printed in one side only, letter or A4 size paper, double-spaced, with margins of 3 cm.
- i) A disk copy of the manuscript in Win/Word 6.0 or higher, should also be provided. Figures and tables should be sent in Excel or WinWord 97, each saved in a different file.
- j) For Research articles, manuscript length should be between 10 and 30 pages, plus figures and tables. Short manuscripts should be shorter than 10 pages, plus figures and tables.
- k) Figures and tables should be mentioned in the text, and

numbered in Arabic numbers. The software in which they were created, should be mentioned.

- l) Figure and table legends should be concise and understandable, and should be listed at the end of the manuscript (after references).
- m) Bibliographic references should be quoted in the text by writing the last name of the first author and publication year between parentheses. References will be included at the end of the text, ordered alphabetically.
- n) In references for book titles, capital letters should be used only at the beginning of the title and on authors names.
- o) When using abbreviations, the full meaning of them should be provided, when mentioned for the first time.
- p) Bibliographic references should be formatted as follows:

BOOK REFERENCES:

- Author's last name, name (year). "*Book title*". City: Editorial. Total pages.

Ex:

Foucault, Michael (1984). "*Las palabras y las cosas*". México: Siglo XXI. 200 pp.

BOOK SECTION REFERENCES:

- Author's last name, first name (year). "Section title". En: Editor's name and last name (ed.). *Book title*. City: Editorial. Pages.

Ex:

Levine, Frances (1991). "Economic perspectives on the Comanchero trade". En: Catherine A Spielmann (ed.). *Farmers, hunters and colonists*. Tucson, AZ: The University of Arizona Press. 155-169.

JOURNAL REFERENCES:

- Author's last name, first name(s) initial(s); other authors. (year). "Article's title". *Journal abbreviation*, volume, pages.

Ex:

Sagara, Y., Fernandez-Belda, F., de Meis, L. e Inesi, G. (1992). "Characterization of the inhibition of intracellular Ca²⁺ transport ATPases by thapsigargin". *J. Biol. Chem.*, 267, 12606-12613.

Rivas-Cáceres, R. (1999). "Médanos de Samalayuca. Un urgente reclamo, una estrategia emergente". *Ciencia en la Frontera*, 1, 29-32.

Normas de publicación para colaboradores

El comité editorial de la revista *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ* acoge con gusto propuestas de artículos para su publicación, bajo dos modalidades: artículos de investigación y avances de investigación (artículos derivados de tesis de pregrado, escritos por los estudiantes y avalados por sus asesores). Las normas establecidas para la publicación son las siguientes:

- 1) Los trabajos deberán ser de *calidad científica e inéditos*, avalados por un investigador de carrera.
- 2) Una vez publicado el artículo, los derechos de autor pasan a la UACJ.
- 3) Los artículos pueden ser de fondo (de investigación), revisiones invitadas (actualizaciones en temas de investigación) o comunicaciones breves (avances de investigación), los cuales deberán referirse a las áreas de ciencias naturales y exactas, ajustándose al dictamen del Comité Editorial, quien evalúa su contenido científico de calidad y decide sobre la pertinencia de su publicación.
- 4) Los trabajos pueden ser enviados para su publicación en el idioma inglés, el español u otras lenguas romances. Si se envía una traducción al español, hay que adjuntar el texto también en forma original. Los artículos deberán incluir resumen en español seguido de uno en inglés (y viceversa).
- 5) No se devuelven los originales.
- 6) En caso de que el autor no responda después de haberse presentado las correcciones o dudas de su trabajo, la revista *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, se reserva el derecho de hacer los cambios de edición sin modificar el contenido original de la obra.
- 7) Los trabajos deben ajustarse a los siguientes requisitos (de no cumplirse con ellos, no se considerarán para su publicación):
 - a) Título del trabajo, breve y conciso en inglés y español.
 - b) Un resumen del contenido de una extensión aproximada de 40 palabras como mínimo y 150 palabras como máximo que deberá estar en inglés y español.
 - c) Nombre y nacionalidad del autor.
 - d) Adscripción de todos los autores, incluyendo el máximo grado de estudios y área de especialización.
 - e) La institución de adscripción de los autores participantes deberá incluirse como un pie de página, comenzando con el número 1.

Ejem. Ramírez, J. L.¹ y Martínez, R.²
1 Universidad de Puebla, México.
2 Universidad de Santiago Compostela, España

Los pies de página, que denotan tanto la institución de adscripción como ciertos tipos de notas, etc; aparecerán en el margen inferior izquierdo de la página en la que se mencionen.

- f) Naturaleza del trabajo: artículo de investigación, avance de investigación, etc.
- g) Dirección para correspondencia que incluya: teléfono, fax y correo electrónico. El nombre del autor al cual se dirigirá la correspondencia debe indicarse con un asterisco (*).
- h) Presentar tres originales impresos en una sola cara, en papel Bond tamaño carta o A4, a doble espacio y con márgenes de 3 cm.

- i) Adjuntar el texto con una copia del trabajo en disquet, en formato Win/Word 6.0 en adelante, los cuadros y figuras en hoja de Excel o Win/Word '97 en adelante. Cada figura deberá estar grabada en un archivo individual.
- j) La extensión del trabajo deberá ser de un mínimo de 10 cuartillas de texto más las figuras, y de un máximo de 30 cuartillas más las figuras para un artículo de investigación. La extensión de los avances de investigación deberá ser de un máximo de 10 cuartillas de texto más las figuras.
- k) Las ilustraciones, cuadros y fotografías, deberán referirse dentro del texto, enumerándose en el orden que se cita en el mismo, e indicar el programa de cómputo en el que están elaborados.
- l) Los pies de figura deberán ser claros, de forma que se entiendan sin necesidad de leer el texto. Estas deberán incluirse en un listado después de la bibliografía.
- m) Las referencias bibliográficas deben asentarse de la forma convencionalmente establecida en español, es decir, indicando éstas en el cuerpo del texto con los apellidos del primer autor y año de publicación entre paréntesis, y los datos bibliográficos al final del escrito. La bibliografía se presenta al final del artículo por orden alfabético.
- n) Al citar los títulos de libro se deben utilizar mayúsculas sólo al inicio y en nombres propios.
- o) Al menos la primera vez, se deben proporcionar la equivalencia de las siglas empleadas en el texto, en la bibliografía y en los cuadros y las figuras.
- p) Distribuir los datos de las referencias bibliográficas de la siguiente manera:

REFERENCIA DE LIBRO:

- Apellidos, nombre del autor (año). *Título del libro*. Lugar: Editorial. Número de páginas totales.

Ejemplo:

Foucault, Michael (1984). *Las palabras y las cosas*. México: Siglo XXI. Pp. 30-45.

REFERENCIA DE CAPÍTULO DE LIBRO:

- Apellidos, nombre del autor (año). "Título del capítulo". En: Nombre y apellido del editor (ed.). *Título del libro*. Lugar: Editorial. Páginas.

Ejemplo:

Levine, Frances (1991). "Economic perspectives on the Comanchero trade". En: Catherine A Spielmann (ed.). *Farmers, hunters and colonists*. Tucson, AZ: The University of Arizona Press. 155-169.

REFERENCIA DE REVISTA:

- Apellido(s) del autor, inicial(es); otros autores. (año). "Título del artículo". *Nombre de la revista*, abreviado según el citation index o como aparezca en el artículo original, volumen, páginas.

Ejemplos:

Sagara, Y., Fernández-Belda, F., de Meis, L. e Inesi, G. (1992). "Characterization of the inhibition of intracellular Ca²⁺ transport ATPases by thapsigargin". *J. Biol. Chem.*, 267, 12606-12613.

Rivas-Cáceres, R. (1999). "Médanos de Samalayuca. Un urgente reclamo, una estrategia emergente". *Ciencia en la Frontera*, 1, 29-32.



Esta obra se terminó de imprimir en febrero de 2010
en el Centro Editorial UACJ, ubicado en
el edificio R, campus ICB, en
Av. Hermanos Escobar y Av. Plutarco Elías Calles,
zona Pronaf, C.P. 32310
Ciudad Juárez, Chihuahua, México.

Tiraje: 300 ejemplares