

Estimado lector:

En el año 2013, ante el nuevo marco normativo universitario del país, la UPS encargó al grupo GESPLAN de la Universidad Politécnica de Madrid la realización de una asesoría para emprender una acción estratégica de posicionamiento hacia una Universidad de Investigación. Tras varias misiones de “trabajo con la gente” de la Comunidad Académica, el resultado se sintetizó en el Cuaderno de Reflexión Universitaria 14: “Hacia una comunidad académica que investiga” publicado en 2014. En aquel año 2013, cuando se emprendió la consultoría, la UPS se encontraba en la posición 6.611 del mundo y 13 del Ecuador (Webometrics, 2013).

El equipo de la UPS liderado por su Rector, el Dr. Javier Herrán realizaron cambios estratégicos en la manera de gestionar la investigación; y actualmente la universidad ocupa la posición 2.993 del mundo (Webometrics, 2019). El avanzar 3.618 puestos en 6 años, ha permitido validar la estrategia adoptada y el modelo de gestión en donde los grupos de investigación han sido el pilar, desarrollando líneas de investigación y áreas de conocimiento estratégicas en conexión con la sociedad. En estos años se han formado más de 300 profesores docentes que realizan labores de investigación en campos científicos y de innovación educativa.

Dentro de las estrategias de mejora destaca la inclusión en el 2018 de la revista LA GRANJA, del área de Ciencias de la Vida, como la primera publicación universitaria del Ecuador en ser incluida en SCOPUS. De la misma manera, junto con otras revistas ha sido indexada en el Emerging Source Citation Index de la Web of Science (WOS).

En esta edición se presentan artículos de autores de 6 países y 11 Universidades y Centros de Investigación, abordando las temáticas importantes de las ciencias ambientales, de la vida y agropecuarias. Empezaremos por

el Dr. Jimmy Quisirumbay, de la Universidad Central del Ecuador, quien presenta una revisión bibliográfica de nutrición porcina. A continuación los Drs. Pagliaro y Lowy, presentan su investigación sobre formulaciones eficientes para ahorro energético en baterías desde la Universidad de Maryland y Virginia del Norte. Y desde el Instituto Politécnico Nacional de la ciudad de México, el Dr. Pablo Escamilla, nos presenta estudios de eficiencia sobre modelos de estimación de biogás en rellenos sanitarios.

Por otra parte, desde la ESPOL y la Universidad Nacional Autónoma de Costa Rica, Edwin Rolando Jiménez y su equipo, nos dan una idea de los cambios de biomasa debido a los efectos del cambio climático. Asimismo, en una colaboración entre la UPS y la Universidad de Vermont, Paola Duque et al., presentan un detallado balance de masa en cuencas australes. Reinvindicando prácticas agropecuarias saludables, desde la EPN, Gabriela Bonilla y David Singaña a través de análisis estadísticos cuestionan las técnicas de la revolución verde el rendimiento por hectárea. Mientras que Pablo Marini y Ricardo Di Masso, presentan indicadores de eficiencia en ganado vacuno relacionados a las edades del primer parto.

Finalmente, cerramos este número mostrando el potencial de nuestros recursos naturales, en primer lugar, Cristina López y su equipo de la UTE, nos presentan bajo qué condiciones de almacenamiento se conservan mejor las propiedades de antioxidantes en vinos elaborados con Flor de Jamaica. Mientras que, Mónica Espadero y su equipo de investigadores nos muestra la capacidad microbiológica de Euphorbia, en una investigación conjunta entre la UPS y el Departamento de Investigación Jatun Yachay.

Estamos seguros de que disfrutarán este número de su revista de Ciencias de La Vida, La Granja.

Cordialmente,


Ph.D Ignacio de los Ríos Carmedano  
Universidad Politécnica de Madrid  
EDITOR EN JEFE

Ph.D Sheila Serrano Vincenti  
Universidad Politécnica Salesiana  
EDITOR EN JEFE



# VITAMINA D, CALCIO TOTAL Y FÓSFORO DIGESTIBLE EN LA NUTRICIÓN PORCINA: RECOMENDACIONES NUTRICIONALES

## VITAMIN D, TOTAL CALCIUM AND DIGESTIBLE PHOSPHORUS IN SWINE NUTRITION: NUTRITIONAL RECOMMENDATIONS

Jimmy Rolando Quisirumbay Gaibor\* 

*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Central del Ecuador, Av. Universitaria, Quito, Ecuador*

\*Autor para correspondencia: [jrquisirumbay@uce.edu.ec](mailto:jrquisirumbay@uce.edu.ec)

Manuscrito recibido el 27 de noviembre de 2018. Aceptado, tras revisión, el 14 de enero de 2019. Publicado el 1 de marzo de 2019.

### Resumen

La vitamina D, calcio y fósforo son nutrientes esenciales necesarios para una mineralización ósea, immuno-modulación y reproducción eficiente. La vitamina D se sintetiza en el organismo tras la exposición a la luz solar, además puede ser aportado a través de la dieta en sus formas D2 y D3. En los últimos años se ha utilizado la forma 25-OH-D3 en la alimentación animal con mejores resultados que la forma D3 debido a su mayor biodisponibilidad. Su deficiencia produce alteraciones en el desarrollo del sistema óseo conocido como raquitismo y osteomalacia en cerdos jóvenes y adultos, respectivamente. Existe un gran avance en el conocimiento de los requerimientos nutricionales de vitamina D, calcio y fósforo para la especie porcina, razón por la cual se han publicado varios artículos de investigación, revisión y guías nutricionales. Dentro de estas últimas destacan NRC, NSNG, Tablas Brasileñas, FEDNA y otras desarrolladas por la industria proveedora de aditivos y genética porcina de reconocido prestigio mundial. Los valores sugeridos varían entre las diferentes fuentes de información relacionadas en gran parte a las condiciones en las cuales fueron desarrolladas (experimentales, comerciales o tipo campo). Sin embargo, es el nutricionista quien debe estar en la capacidad de adaptar estos valores a sus condiciones y objetivos de producción. El propósito de este manuscrito es presentar de manera resumida las recomendaciones nutricionales de vitamina D, calcio y fósforo proporcionando un contenido valioso para el nutricionista dedicado a la alimentación y formulación de dietas para cerdos.

**Palabras clave:** Alimentación, micronutrientes, vitaminas, minerales, cerdos.

### Abstract

Vitamin D, calcium and phosphorus are essential nutrients necessary for efficient bone mineralization, immuno-modulation and reproduction. Vitamin D is synthesized in the body after exposure to sunlight, and it can also be provided through the diet in its D2 and D3 forms. In recent years, the 25-OH-D3 form has been used in animal feed with better results than the D3 form due to its greater bioavailability. Its deficiency produces alterations in the development of the bone system known as rickets and osteomalacia in young and adult pigs, respectively. There is great

advance in the knowledge of the nutritional requirements of vitamin D, calcium and phosphorus for the swine species, causing that research articles, reviews and nutritional guides have been published. Among the latter are NRC, NSNG, Brazilian Tables, FEDNA and others developed by the supplier industry of additives and genetics of swine of recognized world prestige. The suggested values vary among the different sources of information related largely to the conditions in which they were developed (experimental, commercial or field type). However, it is the nutritionist who must be able to adapt these values to their production conditions and objectives. The purpose of this manuscript is to present in a summarized way the nutritional recommendations of vitamin D, calcium and phosphorus providing a valuable content for the nutritionist dedicated to the feeding and formulation of diets for pigs.

**Keywords:** Food, micronutrients, vitamins, minerals, pigs.

---

Forma sugerida de citar: Quisirumbay Gaibor, J. R. (2019). Vitamina D, Calcio Total y Fósforo Digestible en la Nutrición Porcina: Recomendaciones Nutricionales. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol. 29(1):6-16. <http://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.01>.

---

ID Orcid:

Jimmy Rolando Quisirumbay Gaibor: <https://orcid.org/0000-0003-1612-8503>

## 1 Introducción

La vitamina D es una vitamina liposoluble que participa en la mineralización ósea (Endo y col., 2003) y está últimamente relacionada a procesos de inmuno-modulación (Bikle, 2008; Yuk y col., 2009; Baeke y col., 2010a; Baeke y col., 2010b; Sun, 2010; Zhao y col., 2014; Tian y col., 2016) y antioxidantes (Lahucky y col., 2007). Esta vitamina se acumula en el tejido adiposo de ratas, cerdos y humanos (Brouwer y col., 1998; Jakobsen y col., 2007; Didriksen y col., 2015), y es una molécula esteroidea que podría considerarse como una hormona en lugar de una vitamina debido a su mecanismo de acción.

La vitamina D se sintetiza en la piel, específicamente en las células epiteliales a partir del 7-deshidrocolesterol con intervención de la luz ultravioleta (Larson-Meyer y col., 2017). La activación de esta vitamina requiere de dos hidroxilaciones a nivel hepático y renal, en las posiciones C-25 y C-1, respectivamente, para formar un compuesto activo 1-25-(OH)<sub>2</sub>-vitamina D (Hollis, 2005). La regulación de la activación a nivel renal se controla por la acción de la paratohormona (PTH) (Crenshaw, Rortvedt y Hasen, 2011; Dittmer y Thompson, 2011). El descenso en el nivel de calcio sérico estimula la secreción de PTH sintetizándose la vitamina D activa y provocando un aumento en el nivel de calcio plasmático (Cunningham, 2014). Este efecto se logra puesto que la vitamina D incrementa la absorción de Ca y P a nivel intestinal, promueve una mayor resorción ósea y reduce la excreción renal de calcio y fosfato (Guyton y Hall, 2011). Adicionalmente la vitamina D puede ser ingerida a través de la dieta en su forma D2 o D3; los aceites de pescado naturalmente contienen grandes cantidades de la forma D3, mientras que la forma D2 está presente en ciertas plantas en forma de ergosterol, siendo transformado a la forma D2 por acción de la luz ultravioleta (DeLuca, 2004).

La producción porcina confinada limita la exposición a los rayos solares, causando un mayor riesgo de sufrir deficiencia de vitamina D aun cuando se esté suplementando a través de la dieta (Alexander y col., 2017), esto aunado al rápido crecimiento del cerdo y destetes tempranos. La deficiencia de vitamina D produce raquitismo, retraso en el desarrollo esquelético (Holick, 2006) y muscular en cerdos en crecimiento, mientras que en cerdos adultos la deficiencia produce osteomalacia (Pepper y col., 1978; Horst y Littledike, 1982; Fox y col., 1985; Thompson y Robinson, 1989; Dittmer y Thompson, 2011; NRC, 2012). Desde hace varios años se ha incorporado al mercado de la formulación de dietas una nueva forma de suplementación de vitamina D, la 25OHD<sub>3</sub> la cual al ser usada en cerdas mejora el estatus corporal de vitamina D al compararlo a la forma D3 (Fritts y Waldroup, 2003; Lauridsen y col., 2010; Coffey y col., 2012; Lauridsen, 2014), y está asociado

a una mejor biodisponibilidad (Bar y col., 1980).

En cerdos de engorde, el desempeño productivo y la calidad de carne se ven mejorados cuando la fuente de vitamina D es el 25OHD<sub>3</sub>, relacionado en gran parte a su mejor biodisponibilidad (Jakobsen y col., 2007; Burild y col., 2016; Duffy y col., 2018). Sin embargo, dosis excesivamente altas pueden disminuir el consumo de alimento (Flohr y col., 2014b), y la suplementación dietaria de vitamina D3 en cerdas durante la gestación tiene efectos a largo plazo en el crecimiento, integridad y mineralización ósea de sus lechones. Algunas de estas alteraciones pueden estar presentes desde el nacimiento y otras pueden tardar más tiempo (3-8 semanas de edad) en manifestarse (Amundson y col., 2016). La suplementación de altas concentraciones de vitamina D3 en cerdas incrementa el nivel de 25(OH)D<sub>3</sub> en el suero de cerdas y lechones, así como la concentración de vitamina D3 en leche y la concentración tisular del neonato (Flohr y col., 2014a). Por todo lo anterior es importante conocer los niveles correctos de suplementación de vitamina D, calcio y fósforo en la alimentación porcina para mantener un estado de salud adecuada y garantizar un máximo rendimiento productivo.

En la actualidad existen diversas fuentes de información donde se pueden encontrar los requerimientos nutricionales para la especie porcina, unas de carácter académico-experimental y otras creadas por la industria con el fin de alcanzar el máximo potencial productivo. En el primer grupo se encuentra la guía nutricional de la National Research Council (NRC, 2012), las Tablas brasileñas para aves y cerdos (Rostagno y col., 2017), la Guía Nacional de Nutrición de los Estados Unidos (NSNG) (U.S. Pork Center of Excellence, 2010), y las recomendaciones de la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA) (FEDNA, 2013). En el segundo grupo destaca la Guía de suplementación vitamínica 2016 de DSM para la nutrición animal (DSM, 2016) y el Manual de Especificación de Nutrientes de PIC (PIC, 2016). El objetivo de este manuscrito es presentar de manera resumida las recomendaciones nutricionales de vitamina D, calcio y fósforo realizada por diferentes fuentes de reconocido prestigio mundial, proporcionando un contenido valioso para el nutricionista dedicado a la alimentación y formulación de dietas para cerdos en sus diferentes estados fisiológicos.

## 2 Fuentes de información

En la Tabla 1 se presentan las principales guías nutricionales utilizadas para la elaboración de este manuscrito y sus características.

Tabla 1. Guías nutricionales

Guía nutricional	Características	País de origen	Año de publicación
National Research Council (NRC)	Requerimientos nutricionales mínimos. Desarrollado por Universidades bajo condiciones experimentales.	Estados Unidos de América	2012
Tablas Brasileñas	Requerimientos para una producción más económica de cerdos. Desarrollado por Universidades del Brasil.	Brasil	2017
Guía Nacional de Nutrición de los Estados Unidos (NSNG)	Proporciona márgenes de seguridad para un rendimiento productivo estándar.	Estados Unidos de América	2010
Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA)	Recomendaciones prácticas en condiciones de campo para alcanzar niveles de producción estándar.	España	2013
DSM (Comercial 1)*	Recomendaciones para alcanzar un máximo potencial productivo en los cerdos. A partir de investigaciones a nivel universitario e industrial	Suiza	2016
PIC (Comercial 2)*	Recomendaciones para alcanzar un máximo potencial productivo en los cerdos.	Estados Unidos de América	2016

\* Durante el desarrollo de este manuscrito se utilizarán los nombres de Comercial 1 y 2 para hacer referencia a las guías nutricionales de las empresas DSM y PIC, respectivamente.

### 3 Requerimientos de vitamina D, calcio total (Ca total) y fósforo digestible (P dig.) para cerdos de engorde

Los requerimientos de vitamina D se expresan en Unidades Internacionales (UI) por kilogramo de alimento, mientras que Ca total y P dig. se expresan en términos de composición porcentual (%) (Tablas 2 y 3). No se incluyó el valor de fósforo total pues este no se utilizó en varias de las guías utilizadas. En la Figura 1 se grafican líneas de tendencia de las necesidades de vitamina D<sub>3</sub> (eje vertical) considerando el peso del cerdo (eje horizontal).

Las necesidades de vitamina D según el NRC, (2012) son las más bajas de entre todas las guías nutricionales 150 – 220 UI/Kg, pues incluyen la cantidad mínima necesaria para evitar el apareamiento de signos clínicos relacionados a problemas deficitarios. Esto se opone con los niveles sugeridos por *Comercial 2*, 2233 – 3883 UI/Kg que es el más alto y corresponde a aproximadamente 14 a 17 veces por encima de lo reportado por el NRC, buscan-

do alcanzar el mayor desempeño productivo del cerdo, proporcionando la cantidad necesaria para cubrir pérdidas por estrés en los animales, variaciones en la temperatura ambiental, presencia de enfermedades infecciosas, parasitosis entre otras situaciones que puedan mermar el rendimiento óptimo del animal. La guía U.S. Pork Center of Excellence, (2010) sugiere un nivel 3 veces superior al NRC encontrándose su rango entre 330 – 660 UI/Kg de alimento. Las Tablas *brasileñas* (2017), *FEDNA* (2013) y *Comercial 1* (2016) presentan valores más cercanos entre sí, con un rango entre 1000 – 2700 UI/Kg, pero superiores a NRC, (2012) e inferiores a los reportados por *Comercial 2*. En todos los casos el aporte siempre es mayor en las fases iniciales de la vida del cerdo (etapa de pre y post-destete), pues el consumo de alimento es inferior al estar más concentrado el aporte de esta vitamina, logrando así satisfacer el nivel requerido. Mientras que, en las etapas de crecimiento y finalización, 30-60 Kg y 60-120 Kg (o hasta la salida al mercado), respectivamente, disminuye el aporte de vitamina D por Kg de alimento, pero se incrementa el consumo de alimento por parte del animal, excepto en el caso de *NSNG* en el que aumenta el nivel de vitamina D

**Tabla 2.** Recomendaciones nutricionales vitamina D3, Ca total, P dig. y relación Ca total-P dig. para NRC, Tablas Brasileñas y NSNG.

Guía nutricional	Rango Peso Vivo (Kg)	Vitamina D3 (UI/Kg)	Ca total (%)	P digestible (%)	Relación Ca total-P dig.
NRC (2012)	5 - 7	220	0,85	0,7	1,21
	7 - 11	220	0,8	0,65	1,23
	11 - 25	200	0,7	0,6	1,17
	25 - 50	150	0,66	0,56	1,18
	50 - 75	150	0,59	0,52	1,13
	75 - 100	150	0,52	0,47	1,11
	100 - 135	150	0,46	0,43	1,07
	3,5 - 5,5	2707	0,888	0,5	1,78
Tablas Brasileñas (2017)	5,5 - 9	2707	1,068	0,51	2,09
	9 - 15	2405	0,973	0,47	2,09
	15 - 30	1969	0,794	0,38	2,09
	30 - 50	1599	0,655	0,31	2,09
	50 - 70	1324	0,524	0,25	2,06
	70 - 100	1101	0,454	0,22	2,06
	100 - 125	924	0,406	0,197	2,06
	4 - 5	660	0,9	0,57	1,58
	5 - 7	660	0,85	0,53	1,6
	7 - 11	660	0,85	0,4	2,13
	11 - 20	660	0,75	0,33	2,27
	20 - 41	550	0,71	0,29	2,45
NSNG (2010)	41 - 61	550	0,61 - 0,65	0,24 - 0,25	2,57
	61 - 81	440	0,56 - 0,61	0,2 - 0,22	2,79
	81 - 102	440	0,52 - 0,57	0,17 - 0,19	3,03
	102 - 122	330	0,49 - 0,53	0,14 - 0,15	3,52
	102 - 122*	550	0,51 - 0,55	0,19 - 0,20	2,72
	122 - 143*	550	0,48 - 0,52	0,15 - 0,17	3,13

\* Inclusión alimenticia de ractopamina.

en la etapa de acabado o finalización cuando se incluye ractopamina con la finalidad de tener un mayor desempeño magro en el cerdo.

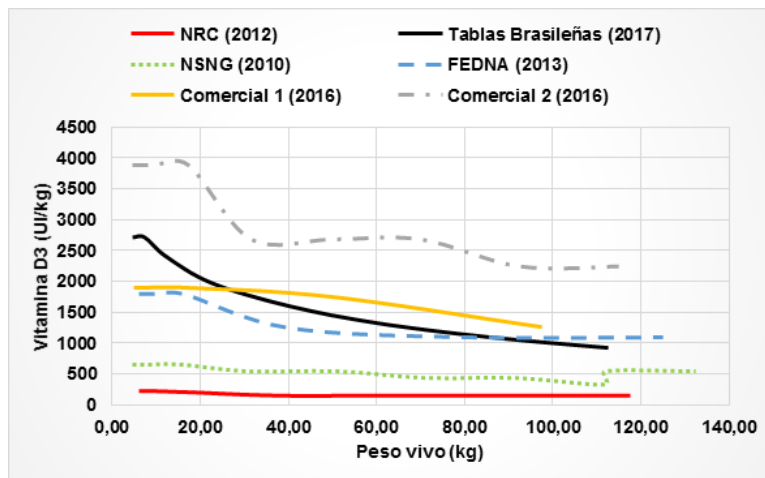
En un estudio realizado en lechones con un peso inicial de 6,6Kg (28 días de edad) y una duración de 14 días se encontró que no existió diferencia significativa en el rendimiento productivo (consumo de alimento, ganancia diaria de peso, conversión alimentaria) ni en la mineralización ósea cuando la vitamina D3 se suplementó a niveles de 1378 (control) o 13780 UI/Kg de alimento. Sin embargo, cuando la suplementación se realizó a un nivel de 44100 UI/Kg (200 veces superior al NRC) el consumo de alimento disminuyó significativamente (Flohr y col., 2014b). Estos resultados coinciden con los reportados en otro estudio realizado por el mismo autor, en el cual la suplementación de vitamina D3 a niveles de 1800 o 18000 UI/Kg durante 35 días posteriores al destete (día

21 edad) no generó diferencias significativas en las variables productivas (Flohr y col., 2014a). Adicionalmente, la suplementación de vitamina D3 a un nivel de 3500 UI/Kg en lechones destetados 6-7 kg de peso (18 días de edad) provoca un impacto inmuno-modulador al aumentar significativamente el número de leucocitos en sangre y su capacidad fagocítica (Konowalchuk y col., 2013). La suplementación de vitamina D3 a niveles supranutricionales de 40000 u 80000 UI por Kg de alimento por al menos 44 días previo al sacrificio mejora el color de la carne e incrementa el pH sin afectar las concentraciones de calcio muscular (Wilborn y col., 2004). Por su parte, Wiegand y col., (2002) encontraron que la suplementación de niveles elevados de vitamina D3 (250000-500000 UI/día) en cerdos en finalización 3 días previos al sacrificio resulta en altas concentraciones plasmáticas de calcio sin mejorar la calidad de la carne.

**Tabla 3.** Recomendaciones nutricionales de la vitamina D3, Ca total, P dig. y relación Ca total-P dig. para FEDNA, Comercial 1 y 2.

Guía nutricional	Rango Peso Vivo (Kg)	Vitamina D3 (UI/Kg)	Ca total (%)	P digestible (%)	Relación Ca total-P dig.
FEDNA (2013)	5 - 7	1800	0,65 - 0,75	0,41	1,71
	7 - 12	1800	0,70 - 0,80	0,38	1,97
	12 - 20	1800	0,73 - 0,81	0,33	2,33
	20 - 60	1250	0,67 - 0,80	0,28	2,63
	60 - 100	1100	0,65 - 0,80	0,25	2,9
	>100	1100	0,59 - 0,80	0,23	3,02
Comercial 1 (2016)	<5	1800 - 2000	-	-	-
	5 - 30	1800 - 2000	-	-	-
	30 - 70	1500 - 2000	-	-	-
	70 - mercado	1000 - 1500	-	-	-
Comercial 2 (2016)	3,5 - 5,5	3883	0,85	0,57	1,49
	5,5 - 7,5	3883	0,85	0,57	1,49
	7,5 - 11,5	3883	0,79	0,44	1,8
	11,5 - 23	3883	0,71	0,39	1,82
	23 - 40	2673	0,70 - 0,71	0,33	2,14
	40 - 60	2673	0,64 - 0,65	0,3	2,15
	60 - 80	2673	0,58 - 0,6	0,27 - 0,28	2,15
	80 - 105	2233	0,53 - 0,55	0,25 - 0,26	2,12
	105 - mercado (<21 días)*	2233	0,48 - 0,5	0,24	2,04
105 - mercado (>21 días)*	2233	0,63 - 0,64	0,29 - 0,30	2,15	

\* Inclusión alimenticia de ractopamina.



**Figura 1.** Requerimiento de vitamina D3 durante el crecimiento del cerdo.

#### 4 Relación Ca total (%) - P digestible (%) en cerdos de engorde

La relación Ca total-P dig. (Tablas 2 y 3) resulta de dividir el valor de la columna Ca total para el valor de la columna P dig. y se consideró como una variable referencial para poder comparar entre las diferentes fuentes de información; además se ha graficado la tendencia de la relación considerando los requerimientos a medida que el cerdo va creciendo (Figura 2). La primera de ellas *NRC* con una recta sostenida a lo largo del crecimiento del cerdo con valores superiores a 1 (1,07 – 1,21), sin importantes variaciones hasta llegar al peso de faena. Las Tablas *brasileñas* y *Comercial 2* presentan también una recta sostenida pero sus valores están muy próximos a 2; 1,78 – 2,09 y 1,49 – 2,16 respectivamente. Por su parte U.S. Pork Center of Excellence, (2010) y FEDNA, (2013) presentan una tendencia al aumento a medida que el cerdo crece, llegando a alcanzar una relación de 3 o más. Valores más altos de la relación Ca total – P digestible resultan de una gran amplitud entre los niveles de Ca sugerido y los requerimientos de P, específicamente altos requerimientos de Ca y más bajos de P. No fue posible presentar la tendencia de *Comercial 1* pues esta guía únicamente hace recomendaciones de vitaminas.

#### 5 Recomendaciones nutricionales de Vitamina D3, calcio total y fósforo digestible para cerdos en etapa reproductiva

Las recomendaciones de vitamina D para cerdos en etapa reproductiva se muestran en la Tabla 4 y se grafican en la Figura 3 para mejor comprensión. Los valores más bajos son los sugeridos por el *NRC* en cerdas de reemplazo (núlparas o futuras madres) y verracos (machos sexualmente activos) siendo de 200 *UI/Kg* para ambos casos, mientras que para el caso de cerdas los valores más bajos los presenta *NSNG* 660 *UI/Kg*. Los niveles más altos en todas las categorías reproductivas están dado por *Comercial 2* 1985, 1985 y 2000 *UI/Kg* para reemplazo, cerdas y verracos, respectivamente; resultando ser 10 veces superior a las recomendaciones del *NRC* y coincidiendo en ser el nivel más alto por parte de esta guía al igual que en cerdos de engorde. Seguido a los valores de *Comercial 2* se encuentran los de *Comercial 1*, 1900, 1750 y 1750 *UI/Kg* de alimento. Valores intermedios en la comparación general y muy similares entre sí son los descritos por las *tablas brasileñas* y *FEDNA* con un rango entre 1200 – 1600 *UI/Kg*; siendo 8 veces superior a las recomendaciones del *NRC* para reemplazo y verracos y el doble en la categoría de cerdas.

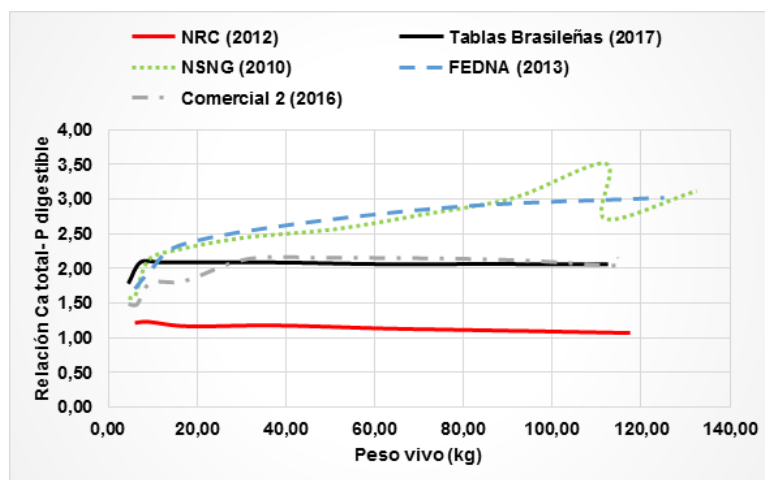
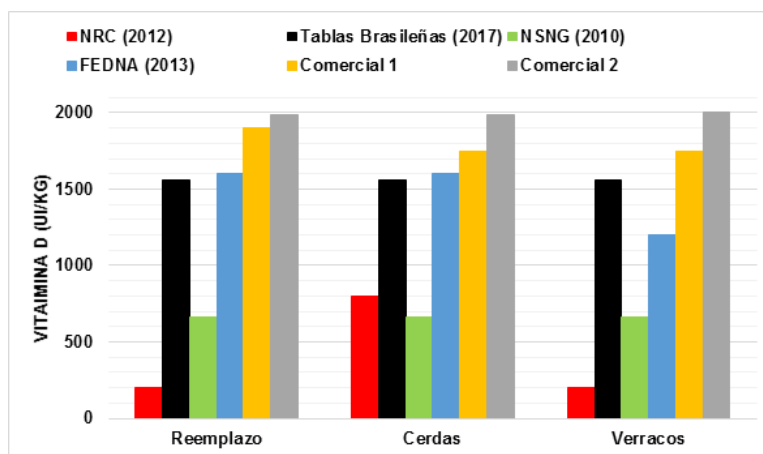


Figura 2. Relación Ca total – P digestible durante el crecimiento de cerdos.

**Tabla 4.** Recomendaciones nutricionales de vitamina D3, Ca total y P dig. en cerdos en etapa reproductiva.

Guía nutricional	Etapa	Vitamina D (UI/Kg)	Ca total (%)	P digestible (%)	Relación Ca total-P dig.
NRC (2012)	Reemplazo	200	0,49 - 0,61	0,27 - 0,30	1,93
	Cerdas	800	0,43 - 0,83	0,19 - 0,36	2,29
	Verracos	200	0,57 - 0,64	0,23 - 0,28	2,37
Tablas Brasileñas (2017)	Reemplazo	1560	0,705 - 0,847	0,333 - 0,405	2,1
	Cerdas	1560	0,705 - 0,847	0,333 - 0,405	2,1
	Verracos	1560	0,705 - 0,847	0,333 - 0,405	2,1
NSNG (2010)	Reemplazo	660	0,65 - 0,81	0,26 - 0,35	2,39
	Cerdas	660	0,85 - 0,90	0,35 - 0,39	2,36
	Verracos	660	0,68 - 0,86	0,29 - 0,45	2,08
FEDNA (2013)	Reemplazo	1600	0,85 - 1,05	0,30 - 0,32	3,06
	Cerdas	1600	0,81 - 1,05	0,29 - 0,32	3,05
	Verracos	1200	0,85 - 1	0,31	2,98
Comercial 1 (2016)	Reemplazo	1900	-	-	-
	Cerdas	1750	-	-	-
	Verracos	1750	-	-	-
Comercial 2 (2016)	Reemplazo	1985	0,7	0,35	2
	Cerdas	1985	0,85	0,44	1,93
	Verracos	2000	0,8	0,4	2



**Figura 3.** Requerimientos de vitamina D3 en cerdos en etapa reproductiva.

La suplementación de 25OHD3 (500 IU D3/Kg de alimento +50g25OHD3/Kg de alimento) en cerdas de primer servicio antes y durante la gestación mejora el estatus de vitamina D en la madre y en los fetos, la tasa de concepción y el tamaño de la camada sin afectar la media del peso vivo de los lechones en comparación con las cerdas que únicamente recibieron vitamina D3 (2500 UID3/Kg de alimento) (Coffey y col., 2012). En un estudio similar se encontró que el 25OHD3 suplementado en los mismos niveles del estudio anterior en cerdas gestantes impacta positivamente en el desarrollo muscular esquelético fe-

tal así como también en la actividad mioblástica (Hines y col., 2013; Zhou y col., 2016). Lo anterior se debe a que la forma 25OHD3 tiene mayor biodisponibilidad en comparación con la forma D3 (Sitrin y col., 1982; Bischoff-Ferrari y col., 2012), sin embargo, independientemente de la forma de la vitamina D y de la dosis, la transferencia de esta vitamina a la progenie es escasa por vía transplacentaria (Lauridsen y col., 2010) no así a través de la leche materna (Flohr y col., 2016a; Flohr y col., 2016b). Adicionalmente, en un estudio realizado en cerdas en las cuales se les suplementó 25OHD3 a un nivel de 2000 UI/Kg durante la

gestación y lactancia se mejoró el estatus de esta vitamina en las cerdas y la mineralización esquelética en los lechones (Witschi y col., 2011), a este mismo nivel pero en otro estudio se determinó que la suplementación de 25OHD3 a una concentración 2000 UI/Kg incrementó de manera significativa el peso al nacimiento y al destete, comparado con la forma D3 (Weber y col., 2014). Por su parte en verracos la suplementación de vitamina D3 a un nivel de 2000 UI/Kg mejora la calidad de los espermatozoides, relacionado a un incremento en la síntesis hormonal y a cambios en la composición del plasma seminal y a la expresión genética en los espermatozoides; estadísticamente no hubo diferencia entre la suplementación de 2000 UI con 4000 UI de vitamina D3 por Kg de alimento (Lin y col., 2017).

## 6 Relación Calcio total – fósforo digestible en cerdos en etapa reproductiva

Las relaciones calcio total–fósforo digestible se observan en la Figura 4. Los valores más altos son los calculados para FEDNA siendo de 3,06, 3,05 y 2,98 en reemplazo, cerdas y verracos, respectivamente. Las demás guías nutricionales (NRC, Tablas brasileñas, NSNG, Comercial 2) presentan valores similares que oscilan entre 1,93-2,39; 1,93-2,36 y 2-2,37 para reemplazo, cerdas y verracos respectivamente. No se presentan los valores de Comercial 1 pues esta guía únicamente presenta recomendaciones de vitaminas.

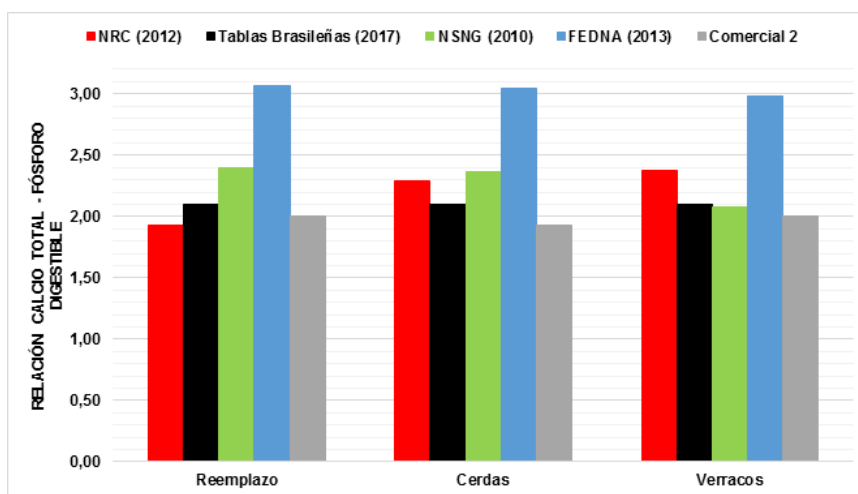


Figura 4. Relación Ca total–P digestible para cerdos en etapa reproductiva.

## 7 Conclusión

Varias son las fuentes de información (guías nutricionales) de las cuales se pueden obtener las recomendaciones nutricionales para cerdos en etapas productiva (engorde) y reproductiva. Amplia es la variación existente entre las sugerencias de vitamina D, calcio total y fósforo digestible entre las distintas referencias, el nutricionista y/o especialista en producción porcina debe estar en la capacidad de adaptar los niveles de nutrientes sugeridos a las condiciones de producción en las cuales trabaja, buscando de esta manera alcanzar los objetivos de la granja.

## Referencias

- Alexander, B.M. y col. (2017). «Sunlight exposure increases vitamin D sufficiency in growing pigs fed a diet formulated to exceed requirements». En: *Domestic Animal Endocrinology* 59, 37-43. Online: <https://bit.ly/2Ay4bfU>.
- Amundson, Laura A. y col. (2016). «Maternal dietary vitamin D carry-over alters offspring growth, skeletal mineralisation and tissue mRNA expressions of genes related to vitamin D, calcium and phosphorus homeostasis in swine». En: *British Journal of Nutrition* 116.5, 774-787. Online: <https://bit.ly/2Dbq8Eb>.
- Baekke, Femke y col. (2010a). «Human T lymphocytes are direct targets of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the immune system». En: *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 121.1. Proceedings of the 14th Vitamin D Workshop, 221-227. Online: <https://bit.ly/2JINbMG>.
- Baekke, Femke y col. (2010b). «Vitamin D: modulator of the immune system». En: *Current Opinion in Pharmacology*.

- Bar, Arie y col. (1980). «Absorption and Excretion of Cholecalciferol and of 25-Hydroxycholecalciferol and Metabolites in Birds». En: *The Journal of Nutrition* 110.10, 1930-1934. Online: <https://bit.ly/2zaLEoe>.
- Bikle, Daniel D (2008). «Vitamin D and the immune system: role in protection against bacterial infection». En: *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 17.4, 348-352. Online: <https://bit.ly/2D82Yi9>.
- Bischoff-Ferrari, H. A. y col. (2012). «Oral supplementation with 25(OH)D3 versus vitamin D3: effects on 25(OH)D levels, lower extremity function, blood pressure, and markers of innate immunity.» En: *Journal of Bone and Mineral Research* 27.1, 160-169. Online: <https://bit.ly/2StwzXq>.
- Brouwer, D. A. Janneke y col. (1998). «Rat adipose tissue rapidly accumulates and slowly releases an orally-administered high vitamin D dose.» En: *British Journal of Nutrition* 79.6, 527-532. Online: <https://bit.ly/2JnOw5U>.
- Burild, Anders y col. (2016). «Vitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D3 in pork and their relationship to vitamin D status in pigs». En: *Journal of Nutritional Science* 5.e3, 1-6. Online: <https://bit.ly/2OXbOWg>.
- Coffey, J. D. y col. (2012). «Feeding 25-hydroxycholecalciferol improves gilt reproductive performance and fetal vitamin D status». En: *Journal of Animal Science* 90.11, 3783-3788. Online: <https://bit.ly/2RjApkA>.
- Crenshaw, T. D., L. A. Rortvedt y Z. Hassen (2011). «Triennial Growth Symposium: a novel pathway for vitamin D-mediated phosphate homeostasis: implications for skeleton growth and mineralization.» En: *Journal of animal science* 89.7, 1957-1964. Online: <https://bit.ly/2CPgeY0>.
- Cunningham J. G. & Klein, B. G (2014). *Fisiología Veterinaria*. Barcelona: Elsevier. Online: <https://bit.ly/2zes5uW>.
- DSM, ed. (2016). *Guía de Suplementación Vitamínica para la nutrición animal*, Online: <https://bit.ly/2Oe1uUi>.
- DeLuca, Hector F (2004). «Overview of general physiologic features and functions of vitamin D». En: *The American Journal of Clinical Nutrition* 80.6, 1689S-1696S. Online: <https://bit.ly/2OWyE04>.
- Didriksen, Allan y col. (2015). «Vitamin D3 increases in abdominal subcutaneous fat tissue after supplementation with vitamin D3». En: *European Journal of Endocrinology* 172.3, 235 -241. Online: <https://bit.ly/2Dbc4L4>.
- Dittmer, K. E. y K. G. Thompson (2011). «Vitamin D Metabolism and Rickets in Domestic Animals: A Review». En: *Veterinary Pathology* 48.2. PMID: 20634407, 389-407. Online: <https://bit.ly/2Q7J7m5>.
- Duffy, Sarah K. y col. (2018). «The use of synthetic and natural vitamin D sources in pig diets to improve meat quality and vitamin D content». En: *Meat Science* 143, 60-68. Online: <https://bit.ly/2RnpIOa>.
- Endo, Itsuro y col. (2003). «Deletion of Vitamin D Receptor Gene in Mice Results in Abnormal Skeletal Muscle Development with Deregulated Expression of Myoregulatory Transcription Factors». En: *Endocrinology* 144.12, 5138-5144. Online: <https://bit.ly/2yA96f5>.
- FEDNA (2013). *Necesidades Nutricionales para Ganado Porcino: Normas FEDNA*. Ed. por FEDNA. Segunda. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Online: <https://bit.ly/2Px5HHq>.
- Flohr, J. R. y col. (2014a). «An evaluation of the effects of added vitamin D3 in maternal diets on sow and pig performance». En: *Journal of Animal Science* 92.2, 594-603. Online: <https://bit.ly/2Q36GMI>.
- Flohr, J. R. y col. (2014b). «Effects of supplemental vitamin D3 on serum 25-hydroxycholecalciferol and growth of preweaning and nursery pigs». En: *Journal of animal science* 92.1, 152-63. Online: <https://bit.ly/2SqWhMh>.
- Flohr, J. R. y col. (2016a). «Evaluating the impact of maternal vitamin D supplementation: I. Sow performance, serum vitamin metabolites, and neonatal muscle characteristics». En: *Journal of Animal Science* 94.11, 4629-4642. Online: <https://bit.ly/2StiOlN>.
- (2016b). «Evaluating the impact of maternal vitamin D supplementation on sow performance: II. Subsequent growth performance and carcass characteristics of growing pigs». En: *Journal of Animal Science* 94.11, 4643-4653. Online: <https://bit.ly/2COsw2D>.
- Fox, John y col. (1985). «Vitamin D-dependent rickets type I in pigs». En: *Clinical Science*. 0143-5221 69.5, 541-548. Online: <https://bit.ly/2ESPI2p>.
- Fritts, C. A. y P. W. Waldroup (2003). «Effect of Source and Level of Vitamin D on Live Performance and Bone Development in Growing Broilers». En: *The Journal of Applied Poultry Research* 12.1, 45-52. Online: <https://bit.ly/2Q2W7ZX>.
- Guyton, A. C. y J. E. Hall (2011). *Fisiología Médica*. Barcelona: Elsevier. Online: <https://bit.ly/2PYDs1o>.
- Hines, E. A. y col. (2013). «Improvement of maternal vitamin D status with 25-hydroxycholecalciferol positively impacts porcine fetal skeletal muscle development and myoblast activity». En: *Journal of Animal Science* 91.9, 4116-4122. Online: <https://bit.ly/2OdlEhK>.
- Holick, M. F. (2006). «Resurrection of vitamin D deficiency and rickets». En: *The Journal of clinical investigation* 116.8, 2062-72. Online: <https://bit.ly/2CQGSQj>.
- Hollis, Bruce W. (2005). «Circulating 25-Hydroxyvitamin D Levels Indicative of Vitamin D Sufficiency: Implications for Establishing a New Effective Dietary Intake Recommendation for Vitamin D». En: *The Journal of Nutrition* 135.2, 317-322. Online: <https://bit.ly/2yD6mO8>.
- Horst, R.L. y E.T. Littledike (1982). «Comparison of plasma concentrations of vitamin D and its metabolites in young and aged domestic animals». En: *Comparative*

- Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 73.3, 485-489. Online: <https://bit.ly/2ESiWyB>.
- Jakobsen, Jette y col. (2007). «25-Hydroxyvitamin D3 affects vitamin D status similar to vitamin D3 in pigs but the meat produced has a lower content of vitamin D». En: *British Journal of Nutrition* 98.5, 908-913. Online: <https://bit.ly/2Sr218N>.
- Konowalchuk, Jeffrey D. y col. (2013). «Modulation of weanling pig cellular immunity in response to diet supplementation with 25-hydroxyvitamin D3». En: *Veterinary Immunology and Immunopathology* 155.1, 57-66. Online: <https://bit.ly/2qjgsiD>.
- Lahucky, Rudolf y col. (2007). «Effects of dietary supplementation of vitamins D3 and E on quality characteristics of pigs and longissimus muscle antioxidative capacity». En: *Meat Science* 77.2, 264-268. Online: <https://bit.ly/2RliSZc>.
- Larson-Meyer, D. Enette y col. (2017). «Sun exposure in pigs increases the vitamin D nutritional quality of pork». En: *PLOS ONE* 12.11, 1-12. Online: <https://bit.ly/2ERq7qJ>.
- Lauridsen, C. (2014). «TRIENNIAL GROWTH SYMPOSIUM -Establishment of the 2012 vitamin D requirements in swine with focus on dietary forms and levels of vitamin D1». En: *Journal of Animal Science* 92.3, 910-916. Online: <https://bit.ly/2Sr2Hel>.
- Lauridsen, C. y col. (2010). «Reproductive performance and bone status markers of gilts and lactating sows supplemented with two different forms of vitamin D1». En: *Journal of Animal Science* 88.1, 202-213. Online: <https://bit.ly/2qfhr30>.
- Lin, Yan y col. (2017). «Effects of the different levels of dietary vitamin D on boar performance and semen quality». En: *Livestock Science* 203, 63-68. Online: <https://bit.ly/2OVHod7>.
- NRC, National Research Council (2012). *Nutrient Requirements of Swine: Eleventh Revised Edition*. Ed. por National Research Council. Washington, DC: National Academies Press.
- PIC (2016). *Manual de especificación de nutrientes*. Ed. por PIC. PIC. Online: <https://bit.ly/2Rm6VTf>.
- Pepper, TA y col. (1978). «Rickets in growing pigs and response to treatment». En: *Veterinary Record* 103.1, 4-8. Online: <https://bit.ly/2z8rjgg>.
- Rostagno, H. S. y col. (2017). *Tablas brasileñas para aves y cerdos : composición de alimentos y requerimientos nutricionales*. Ed. por Departamento de Zootecnia Universidad Federal de Viçosa. Cuarta. Brasil: Universidad Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia. Online: <https://bit.ly/2EO9x18>.
- Sitrin, M. D. y col. (1982). «Comparison of vitamin D and 25-hydroxyvitamin D absorption in the rat». En: *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 242.4. PMID: 6978078, G326-G332. Online: <https://bit.ly/2yEmHlm>.
- Sun, Jun (2010). «Vitamin D and mucosal immune function». En: *Current opinion in gastroenterology* 26.6, 591-595. Online: <https://bit.ly/2Azgl8y>.
- Thompson, K. G. y B. M. Robinson (1989). «An osteodystrophy apparently caused by vitamin D deficiency in growing pigs». En: *New Zealand Veterinary Journal* 37.4, 155-157. Online: <https://bit.ly/2AZgl8y>.
- Tian, Gang y col. (2016). «Vitamin D3 supplementation alleviates rotavirus infection in pigs and IPEC-J2 cells via regulating the autophagy signaling pathway». En: *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 163, 157-163. Online: <https://bit.ly/2Sqak4O>.
- U.S. Pork Center of Excellence (2010). *National Swine Nutrition Guide*. Ed. por U.S. Pork Center of Excellence. NSNG. Online: <https://bit.ly/2OXX21d>.
- Weber, G. M. y col. (2014). «Triennial Growth Symposium- Effects of dietary 25-hydroxycholecalciferol and cholecalciferol on blood vitamin D and mineral status, bone turnover, milk composition, and reproductive performance of sows». En: *Journal of Animal Science* 92.3, 899-909. Online: <https://bit.ly/2qj3kKk>.
- Wiegand, B. R. y col. (2002). «Short-term feeding of vitamin D3 improves color but does not change tenderness of pork-loin chops.» En: *Journal of Animal Science* 80.8, 2116-2121. Online: <https://bit.ly/2Q2dLwT>.
- Wilborn, B. S. y col. (2004). «Improving pork quality by feeding supranutritional concentrations of vitamin D3.» En: *Journal of Animal Science* 82.1, 218-224. online: <https://bit.ly/2RpdHI5>.
- Witschi, A.-K. M. y col. (2011). «Effect of source and quantity of dietary vitamin D in maternal and creep diets on bone metabolism and growth in piglets». En: *Journal of Animal Science* 89.6, 1844-1852. Online: <https://bit.ly/2qjapdO>.
- Yuk, J.M. y col. (2009). «Vitamin D3 induces autophagy in human monocytes/macrophages via cathelicidin.» En: *Cell Host Microbe* 6.3, 231-243. Online: <https://bit.ly/2qiIBQ>.
- Zhao, Ye y col. (2014). «Dietary vitamin D supplementation attenuates immune responses of pigs challenged with rotavirus potentially through the retinoic acid-inducible gene I signalling pathway». En: *British Journal of Nutrition* 112.3, 381-389. Online: <https://bit.ly/2JnsDDD>.
- Zhou, Hui y col. (2016). «Improving maternal vitamin D status promotes prenatal and postnatal skeletal muscle development of pig offspring». En: *Nutrition* 32.10, 1144-1152. Online: <https://bit.ly/2Oed1TC>.



# INTERACCIÓN DE AGLUTINANTES DE FLUORURO DE POLIVINILIDENO (PVDF) CON SOLUCIONES FUERTEMENTE ALCALINAS

## INTERACTION OF POLYVINYLIDENE FLUORIDE (PVDF)-BASED BINDERS WITH STRONGLY ALKALINE SOLUTIONS

Leonard Pagliaro<sup>1</sup> y Daniel A. Lowy\*<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Investigador Científico, FlexEl, LLC, College Park, MD 20740, USA

<sup>2</sup> Northern Virginia Community College, Departamento de Ciencias e Ingeniería, Alexandria Campus, Alexandria, VA 22311, USA

\*Autor para correspondencia: [daniellowy@gmail.com](mailto:daniellowy@gmail.com)

Manuscrito recibido el 6 de enero de 2019. Aceptado, tras revisión, el 13 de febrero de 2019. Publicado el 1 de marzo de 2019.

### Resumen

Se propone una metodología para evaluar los fenómenos degradantes de aglutinantes en los medios alcalinos, información que debe de ser de gran ayuda para los expertos en el campo de la investigación y desarrollo de baterías, ya que se podría evaluar la estabilidad esperada de los aglutinantes fluorados antes de ser probados en células galvánica ensambladas. Por esto, se ahorra tiempo, esfuerzo y se agiliza el trabajo. Mientras que el poli (tetrafluoroetileno), PTFE, ha demostrado ser químicamente inerte, este plantea un desafío tecnológico severo, siendo difícil de procesar debido a su fibrilación. Los aglutinantes alternos son poli (1, 1-difluoroetileno), PVDF, y sus copolímeros, conocidos bajo el nombre comercial de Kynar®, que son significativamente más fáciles de usar. Sin embargo, cuando se mantiene en contacto con soluciones fuertemente alcalinas, la estabilidad química de Kynars se ve comprometida. Estos pueden someterse a reacciones de eliminación con la liberación de iones de fluoruro y la formación de enlaces dobles. Estos enlaces  $\pi$  pueden degradarse aún más por oxidación, en contacto con oxidantes incorporados en el cátodo. Estos procesos químicos no deseados pueden inhibir las propiedades aglutinantes y, en última instancia, pueden reducir la vida útil de las células galvánica, agotando el rendimiento de la batería. En este rol, se investigó la descomposición de la aglutinación de PVDF en medios alcalinos siguiendo dos pasos: (i) los aglutinantes puros fueron probados exponiéndolos a 32 wt % solución acuosa de KOH, a 60°C, temperatura que acelera los procesos degradantes, y (ii) se investigaron los aglutinantes incorporados en la pasta cátodo en condiciones similares. La degradación del aglutinante se evaluó determinando la concentración de iones de fluoruro liberados, monitoreando el cambio de color y la formación de precipitados y grabando e interpretando los espectros FT-IR.

**Palabras clave:** Kynar, polivinílico (1,1- difluoretileno), PVDF, PTFE, deshidrohalogenación, aglutinante del cátodo,

---

células galvánicas.

---

### Abstract

A careful methodology to monitor binder degrading phenomena in alkaline media is proposed, which should assist experts in field of battery research and development, as it can evaluate the expected stability of fluorinated binders, prior to being tested in assembled galvanic cells. By this, it saves time, effort, and expedites work. While poly(tetrafluoroethylene), PTFE, has proven chemically inert, it poses a severe technological challenge, being difficult to process due to its fibrillation. Alternate binders are poly(1,1-difluoroethylene), PVDF, and its copolymers, known under the trade name of Kynar®, which are significantly easier to use. Nevertheless, when kept in contact with strongly alkaline solutions, the chemical stability of Kynars is compromised. They may undergo elimination reactions with the release of fluoride ions and the formation of double bonds. These  $\pi$  bonds may further degrade by oxidation, in contact with oxidizers incorporated in the cathode. Such undesired chemical processes may inhibit the binding properties and, ultimately, may reduce shelf life of galvanic cells, depleting battery performance. In this paper PVDF binder decomposition in alkaline media was investigated in two steps: (i) pure binders were tested by exposing them to 32 wt % aqueous KOH solution, at 60°C, a temperature that accelerates degrading processes, and next (ii) binders incorporated in cathode paste were investigated under similar conditions. Binder degrading was evaluated by determining the concentration of released fluoride ions, monitoring color change and precipitate formation and recording and interpreting FT-IR spectra.

**Keywords:** Kynar, poly(1,1-difluoroethylene), PVDF, PTFE, dehydrohalogenation, cathode binder, galvanic cells.

---

Forma sugerida de citar: Pagliaro, L. y Lowy, D. A. (2019). Interacción de aglutinantes de fluoruro de polivinilideno (PVDF) con soluciones fuertemente alcalinas. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol. 29(1):17-31. <http://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.02>.

---

IDs Orcid:

Leonard Pagliaro: <https://orcid.org/0000-0002-3969-2636>

Daniel A. Lowy: <https://orcid.org/0000-0003-2210-6757>

## 1 Introducción

Politetrafluoroetileno, PTFE, es un material con propiedades únicas, químicamente inerte en medios fuertemente ácidos o alcalinos y en contacto con disolventes orgánicos. También, posee una excelente resistencia al calor y al frío, una llama lenta, y alta adhesividad, y es un buen aislador eléctrico. Sin embargo, el PTFE plantea graves desafíos tecnológicos, ya que es difícil de ser procesado debido a su fibrilación. Se identifica como un polímero que muestra la formación de la microestructura esencial durante el procesamiento en frío, como la extrusión de pasta (Patil y col., 2008; Mitsoulis y Hatzikiriakos, 2009). Dado que la producción de pasta es un paso obligatorio en la fabricación de células galvánicas, en la industria de la batería se prefieren otros aglutinantes que son más rentables y más fáciles de manejar, aumentando el rendimiento y reduciendo el tiempo de inactividad del procesamiento (Vora y Gingras, 2012b; Vora y Gingras, 2012a). Los aglutinantes alternativos que han sido ampliamente utilizados son poli (1, 1-difluoroetileno) o polivinílico (fluoruro del vinilideno), PVDF, y sus copolímeros conocidos bajo el nombre comercial de Kynar® (Arkema Technical Polymers, 2018).

El polivinílico (fluoruro del vinilideno), PVDF, se considera uno de los polímeros más resistentes químicamente y mecánicamente disponibles comercialmente (Grasselli y Betz, 2005). Por lo tanto, el PVDF es un material muy popular para la fabricación de la membrana, separadores que tienen diferentes usos en varias aplicaciones industriales. Entre las propiedades importantes del PVDF que permiten la formación de membranas es su hidrofobicidad natural, la estabilidad térmica y la inercia química en medios alcalinos (Liu y col., 2011). Debido a estas propiedades, el PVDF sirve como una de los aglutinantes más comunes en la fabricación de baterías. Sin embargo, se demostró que existe una interacción perjudicial de PVDF y de los materiales del cátodo para las baterías del Li-ion. Se comprobó que el contacto de PVDF con  $LiCoO_2$  agota la estabilidad de la masa activa. Particularmente en las temperaturas elevadas, la formación de óxido superficial ( $Co_3O_4$ ) y la disolución de  $Co$  iones se acelera en los puntos de contacto entre la masa activa y el aglutinante (Markevich, Salitra y Aurbach, 2005). Más recientemente, se han documentado fenómenos similares para las baterías Li- $O_2$ , donde el PVDF, un aglutinante de cátodo de uso común, se degrada en

presencia de especies de oxígeno reducidas durante la descarga de  $Li - O_2$ , cuando hay impurezas presentes (Papp y col., 2017).

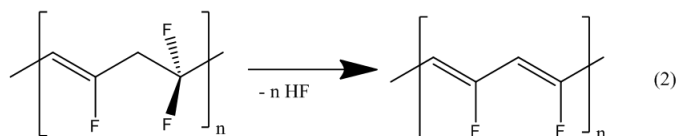
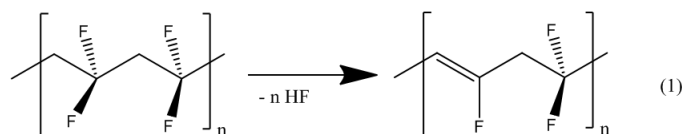
Cuando se utiliza en baterías alcalinas, las condiciones básicas pueden rechazar la estabilidad mecánica y térmica de las películas PVDF y pueden causar la degradación de la superficie y las modificaciones estructurales. Dias y McCarthy demostraron que cuando el PVDF original se expone a las soluciones alcalinas fuertes, la superficie del polímero puede ser modificada (Dias y McCarthy, 1984). También se demostró que el procedimiento de deshidrofluoración en la superficie del polímero depende de la temperatura (Shoichet y McCarthy, 1991). Cuando las películas de PVDF se exponen a los medios alcalinos, estas se dañan debido a la formación de poros en la textura del polímero. Se han realizado varios estudios de grabado químico con 9-10  $mol L^{-1}$  o 20 wt.% de solución de hidróxido sódico en un rango de temperatura de 55 a 85°C (Grasselli y Betz, 2005; Komaki y col., 1996; Hashim, Liu y Li, 2011). Mientras que el grabado alcalino a 55 – 65°C produce poros cilíndricos, a 85°C se producen poros grabados en forma cónica (Grasselli y Betz, 2005). Incluso las soluciones de KOH diluidas ( $\leq 0,2 M$ ) fueron probadas para generar un gran número de poros en la textura del polímero por un proceso de grabado (Samsure y col., 2016). La presencia de un agente oxidante en la solución alcalina amplifica el grabado de PVDF (Grasselli y Betz, 2005). En una investigación del funcionamiento del ciclo de los electrodos del óxido del Fe (III), se compararon cuatro materiales aglutinantes para el uso en la solución alcalina. Se encontró que el PTFE ofrece mejores propiedades que el PVDF (Kitamura y col., 2012).

La deshidrohalogenación de PVDF es un fenómeno conocido y se ha utilizado como método sintético para introducir enlaces dobles en la cadena polimérica, que eventualmente sirvió para injertar otros polímeros. Para permitir la eliminación, se utilizó hidróxido de Tetrametilamonio como base ( $K_b = 4, 2$ ), (Yan y col., 2016; Zhang y col., 2015), que está cerca de 4 órdenes de magnitud más débiles que el KOH utilizado en presente trabajo. Estos estudios de grabado químico sugieren que la exposición de PVDF a soluciones alcalinas deteriora su estabilidad mecánica y térmica. Además, las altas concentraciones alcalinas y altas temperaturas causarían la degradación adicional de PVDF.

La reducción de PVDF en la solución fuertemen-

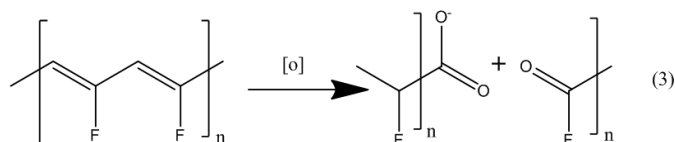
te alcalina ocurre probablemente por la pérdida de HF de las cadenas fluoradas del hidrocarburo por medio de la eliminación (Ecuación 1). Los iones del fluoruro se liberaron y forman los enlaces dobles.

Esta reacción puede continuar para formar enlaces dobles adicionales (Ecuación 2). El resultado es una cadena no saturada que contiene un sistema conjugado que absorbe la luz en el rango visible/UV.



Con el tiempo, se puede notar un oscurecimiento del polímero (Danks, Slade y Varcoe, 2002; Danks, Slade y Varcoe, 2003; Hinksman, Isaac y Morrissey, 2000). Las cadenas de carbono insaturadas pueden degradarse aún más por oxidación en contacto con los materiales catódicos-activos,  $NiOOH$

(Guiader y Bernard, 2018),  $MnO_2$  (Biswal y col., 2015), o  $RuO_2$  (Peckerar y col., 2011b; Peckerar y col., 2011a), que sirven como el oxidante. Una posible esquematización del proceso de oxidación se muestra en la Ecuación 3, donde  $[O]$  representa al agente oxidante.



Todos estos procesos químicos no deseados pueden agotar las propiedades aglutinantes y reducir la vida útil de las células galvánicas. Con el objetivo de evaluar el posible uso del PVDF en el sistema de baterías alcalinas, se evaluó su degradación utilizando una metodología diseñada específicamente para la investigación de la descomposición del aglutinante PVDF en medios alcalinos, tales como la liberación de la concentración de iones F (expresada en ppm), el cambio de color, la formación de precipitados y los espectros de reflectancia FT-IR.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Productos químicos y materiales

Los aglutinantes fluorados de PVDF se compraron o fueron regalados por parte de Arkema, Inc. (King of Prussia, Pennsylvania, USA). El Politetrafluoro-

tileno, PTFE, se compró en DuPont, en forma de 60wt% suspensión en agua. En la Tabla 1 se observan los nombres comerciales, nombres químicos, números CAS y composiciones de los aglutinantes reportados por el fabricante. Todos los aglutinantes fueron usados sin realizarles ningún cambio. Las soluciones alcalinas acuosas se prepararon disolviendo las pelotillas de KOH ( $\geq 85\%$ , Sigma-Aldrich) en agua desionizada ( $18,2M\Omega \cdot cm$ , sistema de purificación de agua Super-Q<sup>®</sup> Plus, EMD Millipore). Para la calibración de sondas de fluoruro, se utilizaron 1000 ppm de solución estándar ion-selectiva, fluoruro (Cole-Parmer), mientras que se prepararon 100 ppm, 10,0 ppm, y 1,00 ppm  $F^-$  de soluciones estándares in-House por la dilución serial del 1000 ppm estándar con agua desionizada. El ajustador de fuerza iónico era TISAB 1 (Tampón de ajuste de fuerza iónica total, #EW-27502-69, kit de solución de doble Unión ISE de fluoruro, Cole-Parmer).

**Tabla 1.** Propiedades físicas de los aglutinantes a base de PVDF y PTFE.

Nombre comercial	Nombre químico	Número CAS	Composición/ Estado físico
Kynar Flex® 2751-00 PVDF	Poli(1,1-difluoroetileno)-co-hexafluoropropileno (PVDF-HFP)	Copolímero #9011 – 17 – 0	Relación del monómero no conocida / Sólido
Kynar Ultraflex RC-10,204	Poli(1,1-difluoroetileno)-co-hexafluoropropileno (PVDF-HFP)	Copolímero PVDF: #24937 – 79 – 9 HFP: #116 – 15 – 4	35 – 55wt % copolímero en agua / suspensión
Kynar® 32 Latex PVDF	Poli(1,1-difluoroetileno) homopolímero (PVDF) + C <sub>7</sub> – C <sub>13</sub> ácido perfluorocarboxílico, sal amoníaco (PFAA)	Homopolímero con aditivos PVDF: #24937 – 79 – 9 PFAA: #72968 – 38 – 8	99wt % PVDF & << 1wt. % PFAA/ en suspensión acuosa
PTFE TE3859	Poli(tetrafluoroetileno), PTFE Éter de Polilitenglicol (Tergitol® TMN)*	PTFA: #9002 – 84 – 0 Tergitol: #60828 – 78 – 6	45 – 65wt % polímero, 1 – 10wt % Tergitol en 25 – 50wt % agua / suspensión

\* Tergitol TMN actúa como surfactante para el mantenimiento de PTFE en suspensión acuosa.

## 2.2 Métodos

### 2.2.1 Muestras utilizadas para la medición de fluoruro

Se realizaron experimentos con 4 aglutinantes (recibidos como sólidos o dispersiones acuosas), los cuales estuvieron expuestos a una solución acuosa de 32wt % de KOH ( $pH > 14$ ), a 60°C, para aumentar la duración. La liberación de iones  $F^-$  se monitoreó con el tiempo mediante un electrodo de combinación de fluoruro (para más detalles ver sección 2.2.4). Luego, se construyeron células galvánicas utilizando 4 pastas de cátodos diferentes, conteniendo cada uno de los aglutinantes enumerados en la Tabla 1. Cada pasta de cátodo se llevó a un colector, y luego se enrolló con un separador de batería, y se sumergió en solución acuosa 32wt % de solución KOH. Este enfoque imita el uso de aglutinantes en las células galvánicas en la vida real. Una película de olefina sulfonada, Freudenberg FV-4304, sirvió como separador (Freudenberg Performance Materials, LP, Durham, Carolina del norte). Cada rollo estaba atado con cinta CURAPROX PTFE resistente al desgarrar (código DF820, Curaden AG, Kriens, Suiza), y luego, estos cátodos se sumergieron de manera individual en 32wt % solución acuosa de KOH, en un vial de polipropileno separado para duraciones cronometradas.

### 2.2.2 Preparación de la muestra

La preparación de la muestra implicó tres pasos: (i) se filtró la parte precipitada del aglutinante (II) la

muestra se enfrió en el baño de hielo con el fin de evitar posibles daños causados por el calor liberado sobre la neutralización, en el siguiente paso; (III) la muestra fue llevada a pH 5,5-6,5 mediante neutralización con ácido acético glacial. Según nuestro protocolo, se añadió 14,7 g de agente de amortiguación de ácido acético glacial a 22,4 g solución filtrada, de tal manera que la muestra se ajustó a un de  $pH 6,5 \pm 0,2$ , que es el rango ideal para la determinación de iones de fluoruro.

### 2.2.3 Prevención de interferencias en la respuesta de la sonda selectiva F

Se tomó precaución en no contaminar las muestras con aniones interferentes, incluyendo haluros ( $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ), nitrato, sulfato, etc. Para evitar la contaminación de la muestra, se evitó el uso de envases de vidrio durante todo el proceso de preparación de la muestra (descrito en la sección 2.2.4). Todas las muestras se diluyeron, según fue necesario, en matraces volumétricos de polipropileno (matraces volumétricos de plástico Corning PP, 100 mL,  $\pm 0,20$  mL a 20°C), y todas las mediciones de concentración de iones  $F^-$  se realizaron en vasos de polipropileno (Cole-Parmer Tri-Corner Beaker, PP, 100 mL).

### 2.2.4 Monitoreo mediante potenciómetro de la concentración de fluoruro

Se determinó la concentración de  $F^-$  en las muestras filtradas mediante el uso de un electrodo epoxi de combinación de iones de fluoruro (CAT. No. 27504-14, Cole-Parmer), con un rango de medida de

1.0 mol  $L^{-1}$  to 1.0  $\mu$  mol  $L^{-1}$ , unido a un medidor modelo Orion Star A211  $pH/mV$  (Thermo Scientific). Las mediciones se realizaron con un  $pH \sim 6,5$ . En cada día de mediciones, la sonda selectiva  $F^-$  fue calibrada con 4 soluciones estándares. La curva de calibración de la sonda fue lineal sobre 3 órdenes de magnitud de la concentración  $F^-$  (1-1000 ppm), con una pendiente ligeramente sobre Nernstian de 62,1 mV / (década de concentración  $F^-$ ), y cerca del coeficiente de correlación teórica de  $R^2 = 0,9998$ . La sonda fue recalibrada por calibración de 4 puntos todos los días. Además, antes de cada medición, se comprobó de nuevo el electrodo selectivo de la pendiente de  $F^-$  por medio de la calibración de 2 puntos, con dos soluciones estándares conteniendo 10 y 100 ppm  $F^-$ , respectivamente. La fuerza iónica de cada solución se ajustó al valor constante, añadiendo TISAB 1 (tampón de Ajustador de fuerza iónica total, #EW – 27502 – 69, kit de solución de doble Unión de fluoruro ISE, Cole-Parmer). Esta operación es impuesta por la necesidad de fuerza iónica alta y por la constante en relación con la concentración de iones de  $F^-$ , de modo que el coeficiente de actividad,  $\gamma$ , es constante; por la tanto, la actividad de fluoruro es directamente proporcional a la concentración de flúor.

Dado que las dos normas de calibración consecutivas abarcan un decenio de concentración, la diferencia del potencial registrado en mV corresponde

a la pendiente de la sonda (mV/década).

### 2.2.5 Cambio de color de los aglutinantes

El cambio de color de los aglutinantes en función del tiempo de exposición a la solución alcalina fue monitoreado en la solución clara, después de eliminar los sólidos por filtración de gravedad. Las fotografías se tomaron periódicamente y se compararon visualmente para evaluar los cambios de color. También, se registró la formación de precipitados.

### 2.2.6 Espectros FT-IR

Se grabaron los espectros FT-IR de los polímeros PVDF antes y después de haber sido expuestos a la solución de hidróxido concentrado. Después de la exposición, el sólido fue recogido por la filtración de la gravedad, se enjuagó 7 veces con el DIW para quitar cualquier rastro de KOH, y después se secó en el aire, a temperatura ambiente durante 48h. Los espectros FT-IR de las muestras de polímero se registraron en modo de reflectancia; como controles se utilizaron muestras del polímero idéntico que no había sido expuestas a los medios alcalinos. Los espectros se grabaron en un instrumento modelo Nexus 870 FT-IR ESP, fabricado por Thermo Nicolet, en el rango espectral de 4000 a 400  $cm^{-1}$ . Como se muestra en el apéndice, todos los espectros se registraron como absorbancia versus longitud de onda.

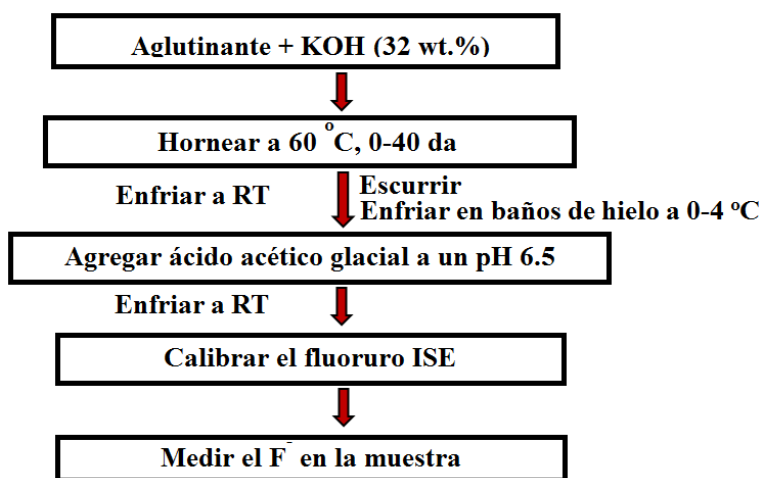


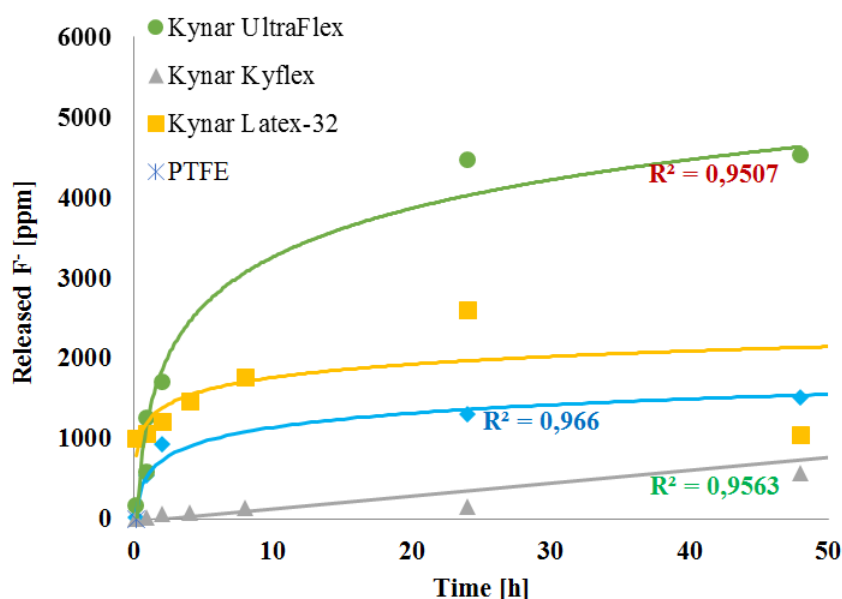
Figura 1. Esquema de la preparación de la muestra y del procedimiento analítico.

### 3 Análisis y resultados

Un detalle importante de la metodología implementada fue operar la sonda selectiva en solución ligeramente ácida, instrucciones impuestas por el fabricante (Cole-Parmer Company Fluoride Ion Electrodes, 2018). Como se describió, las soluciones de muestra utilizadas en este estudio fueron muy básicas ( $pH > 14$ ). Por lo tanto, antes de cualquier medida potenciométrica, la preparación de la muestra fue necesaria, de acuerdo con la metodología descrita en la sección 2.2.2. En la Figura 1 se muestra un esquema del procedimiento analítico y de pre-

paración de la muestra.

El estado físico de un aglutinante fue sólido, mientras que los otros 3 fueron obtenidos en forma de suspensiones acuosas (ver Tabla 1). La masa de cada muestra de aglutinante tomada para estas pruebas se calculó de tal manera que contenía aproximadamente 1 g de material sólido. Por lo tanto, la concentración de iones  $F^-$  medida (expresada en ppm), liberada de la muestra de aglutinante, es paralela a la pérdida masiva de aglutinante (en % de masa), causada por la liberación de iones  $F^-$ . El aglutinante PTFE sumergido en la misma solución fuertemente alcalina sirvió como el experimento del control.



**Figura 2.** Liberación de iones de fluoruro durante 2 días a partir de 4 aglutinantes fluorados diferentes al sumergirse en 32wt % solución de KOH, y mantenido en 60°C. A mayor concentración de  $F^-$  (en ppm) medida sobre 48 h, mayor el grado de degradación de la aglomerante. El control de PTFE liberó concentraciones insignificantes de  $F^-$  (ver marca en la parte inferior del gráfico).

Las curvas en la Figura 2 ilustran la liberación de iones  $F^-$  de cada aglutinante con el tiempo. La pérdida de fluoruro agota las propiedades aglutinantes, causando la degradación del aglutinante. Los datos para PTFE están cerca de 0 ppm de  $F^-$  liberado; por lo tanto, se alinean a lo largo del eje x y no se pueden ver en el gráfico. Fuera de los aglutinantes puros expuestos a 32wt % solución de KOH, Kynar ultra Flex se degrada a un ritmo más rápido; dado que es una suspensión, el polímero fluorado contenido en el aglutinante tiene el área de con-

tacto más grande con el electrólito. Por el contrario, Kynar Flex, que es sólido, muestra una degradación mucho más lenta (ver triángulos verdes en la Figura 2).

A continuación, se imitó el entorno real del aglutinante, cuando fue encontrado en la investigación y el desarrollo de baterías alcalinas. Cada aglutinante se mezcló con la pasta de cátodo y luego la pasta se aplicó al colector de corriente. El contenido sólido de aglutinante de cada pasta dentro del cátodo fue expresado como wt % según se indica en la Ta-

bla 2. Las muestras de cátodo se pesaron y se enrollaron con el separador de poliolefina sulfonada (Freudenberg FV-4304). Los rollos obtenidos se ataron con cinta de PTFE y se sumergieron en una solución de KOH al 32wt % en peso, cada rollo en un vial de plástico separado. Luego, todos los viales se

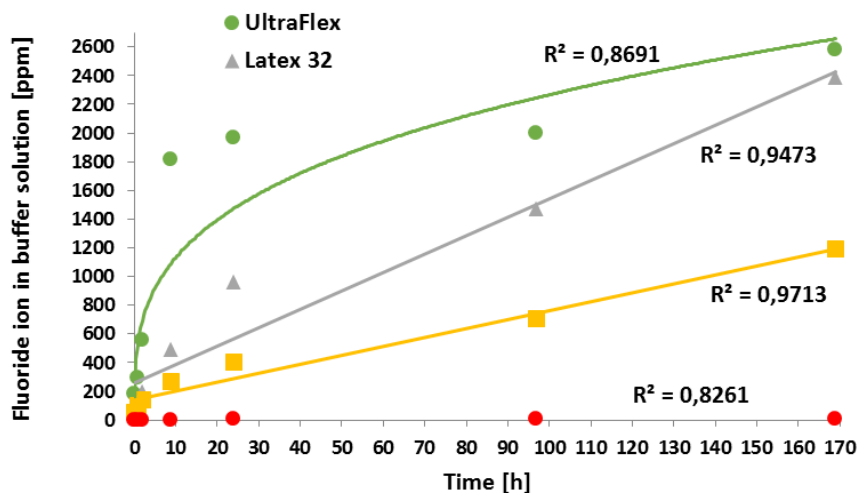
colocaron en una cámara ambiental y se mantuvieron a 60°C. De nuevo, el control del experimento fue la tasa de degradación del aglutinante de PTFE. Los resultados del monitoreo de la liberación de fluoruro se muestran en la Figura 3.

**Tabla 2.** Contenido de aglutinante y acondicionamiento de cátodos.

Aglutinante	Contenido sólido del aglutinante en el cátodo	Secado en aire	Estabilizado
Kynar Flex	2,44 wt %	N/A	150°C, 15 min
Kynar Ultra Flex	3,36 wt %	60°C, 1 h	95°C, 15 min
PVDF Latex-32	4,24 wt %	60°C, 1 h	150°C, 15 min
PTFE	0,988 wt %	60°C, 1 h	N/A

Para las celdas de cátodo investigadas, se encontró que, en 1 semana a 60°C, el aglutinante Kynar ultra Flex se degradó a la tasa más alta, seguida de PVDF latex-32 y Kynar Flex. El experimento del control con PTFE demostró degradar a un grado insignificante. El cambio de color (oscurecimiento de la solución de la muestra) o la formación de precipi-

tados (causada por el desprendimiento del material activo de cátodo del colector) son similares a los degradantes evaluados por el aumento de la concentración de fluoruro. Los espectros FT-IR revelan la desaparición de los enlaces C–F como resultado de la degradación de PVDF, lo que provocó el aumento de la desaturación de la cadena de carbono.



**Figura 3.** Degradación de los aglutinantes de las celdas a lo largo del tiempo, cuando se exponen en solución de KOH a 32wt %. Se realizaron pruebas en aglutinantes incorporados en medias celdas, y la concentración de  $F^-$  (en ppm) se monitoreó durante 1 semana. El control de PTFE liberó concentraciones insignificantes de  $F^-$  (ver círculos rojos en la parte inferior del gráfico)

## 4 Discusión y conclusiones

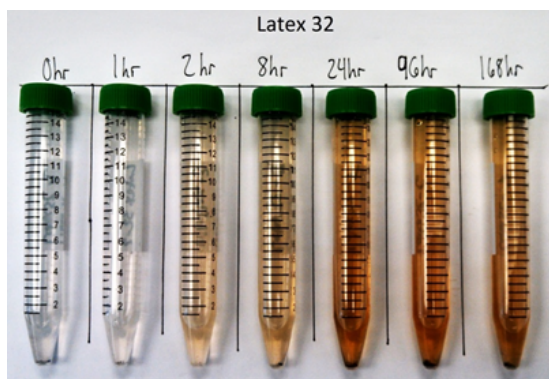
La liberación de fluoruro de diferentes aglutinantes muestra una tendencia similar para los aglutinantes libres (no incorporada en la pasta cátodo, mostrada en la Figura 2), y para los aglutinantes presentes en las celdas (Figura 3). La pérdida de fluoruro de los aglutinantes se eleva en el orden mostrado a continuación, que también corresponde a la magnitud de la degradación química de los aglutinantes:

PTFE  $\ll$  Kynar Flex < PVDF Latex-32  $\ll$  Kynar Ultra Flex

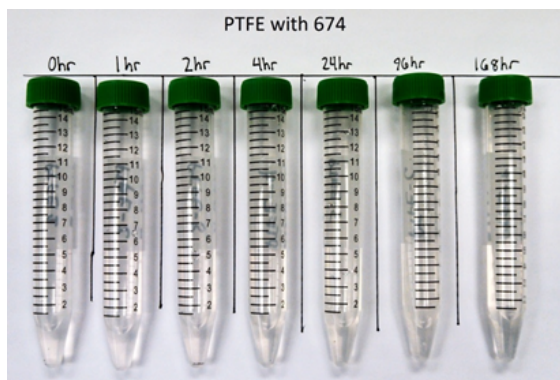
En las Figuras 4 y 5 se muestra la prueba visual de la degradación del aglutinante:

- Con el tiempo, el latex-32 exhibe un cambio de color (oscurecimiento de la solución), Figura 4.
- PTFE no muestra ningún signo de degradación (ya sea cambio de color o formación de precipitados), Figura 5.

Por último, en la Figura 6 se comparan los cátodos con Kynar ultra Flex (el más estable de los aglutinantes Kynar investigados) y los cátodos preparados con PTFE (control). Las imágenes se tomaron después de 168 h de exposición a la solución KOH a 32wt % (sirviendo como electrolito típico en celdas alcalinas). La Tabla 2 revela más vertimiento del cátodo obtenido con Kynar ultra Flex que con PTFE.



**Figura 4.** Fotografía que muestra el cambio de color de la solución de KOH a 32wt % y el precipitado formado a lo largo del tiempo para PVDF latex-32; el oscurecimiento corresponde al número cada vez mayor de enlaces dobles sobre las cadenas de carbono, debido a la pérdida de fluoruro; el precipitado consiste en partículas que se derraman del cátodo y se colocan en la parte inferior del vial.



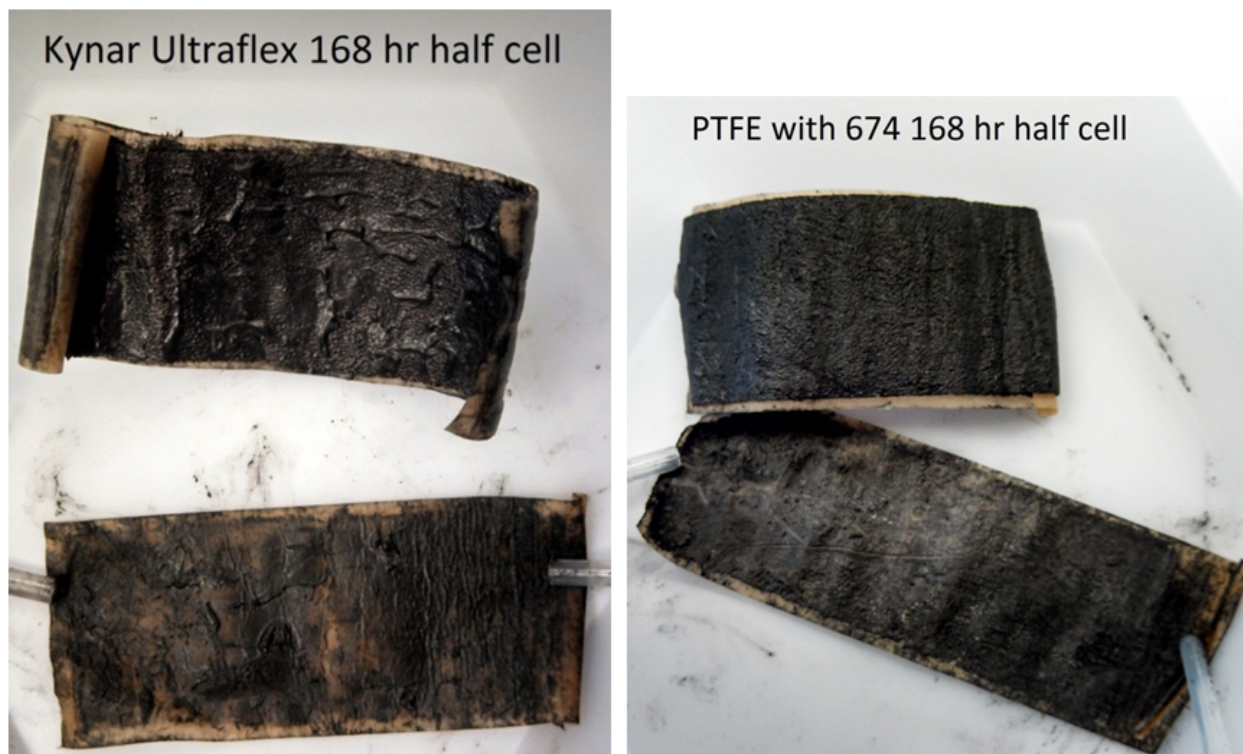
**Figura 5.** Fotografía que muestra el cambio de color de la solución KOH a 32wt % y precipitado formado a lo largo del tiempo para PTFE, utilizado como control; la solución fuertemente alcalina permanece clara y no hay precipitado notable.

El apéndice indica espectros FT-IR sobrepuestos; se analizó cada aglutinante después de haber sido expuesto a solución de KOH en 32wt %, y luego superpuesto con el espectro del aglutinante inicial sin tratar. Las asignaciones de bandas espectrales se basan en Robinson, (1974) y en otros autores (Bhullar, Bedeloglu y Martin, 2014; Smith, 2011; Stuart, 2004; Ningrum, Ruwanti y Kusumawati, 2016; Perusich, 2000). A excepción de PTFE, cada aglutinante muestra un cambio en sus cadenas  $C-F$ , es decir, la absorción de este enlace obtiene el más agotado o el menos agotado, demostrando que parte de las cadenas  $C-F$  son descompuestas por el electrolito fuertemente alcalino. Los espectros de la Figura 1A revelan un cambio significativo en la composición del aglutinante. Sobre la inmersión en la solución alcalina concentrada, la banda de absorción de estiramiento  $>CF_2$  casi desaparece, mientras que las bandas de absorción adicionales aparecen en la región  $1575 - 1660\text{ cm}^{-1}$ , que se puede asignar a la formación de enlaces dobles  $-C=C-$ . Algunos de estos enlaces  $\pi$  pueden someterse a reac-

ciones de adición de moléculas de agua, y formar grupos carbonilos que se absorben a  $1700\text{ cm}^{-1}$  (ver Figura 1A). Un sistema de doble enlace conjugado ( $-C=C-C=C-C=C-$ ) representa el color marrón anaranjado evaluado para varias de las soluciones de aglutinante (ver Figura 5). La formación del precipitado corresponde al vertimiento de los materiales cátodo-activos de la espuma del níquel. La magnitud de la degradación química de los aglutinantes aumenta en el orden:



Se estima que la metodología reportada en esta investigación permitirá monitorear la liberación de fluoruro de cualquier aglutinante que contenga fluoruro cuando esté presente en las celdas completas. Por lo tanto, estas investigaciones brindan a los expertos información de calidad sobre la estabilidad esperada de los aglutinantes antes de ser probados en celdas galvánica ensambladas, ahorrando tiempo y esfuerzo, y agilizando la investigación y el desarrollo de la batería.



**Figura 6.** Más desprendimiento del cátodo expuesto a la acción de la solución de KOH a 32wt % (el electrolito en baterías alcalinas) se puede observar para Kynar ultra Flex y no para PTFE (en cada fotografía la imagen superior es la espuma de NI, mientras que la parte inferior es el separador).

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Jean-François Audebert, CEO y Presidente de FlexEL, LLC, por la valiosa colaboración y el estímulo permanente brindado para llevar a cabo este estudio y difundir sus resultados. De igual forma, agradecen a la Sra. Mahsa Dornajafi por proporcionar su asistencia técnica, lo que permitió acelerar la labor de la presente investigación.

## Referencias

- Arkema Technical Polymers (2018). *Materials Database*. Arkema Technical Polymers.
- Bhullar, S. K., Ayse Bedeloglu y B. G. Martin (2014). «Characterization and Auxetic effect of Polytetrafluoroethylene Tubular structure». En: *International journal of Advanced Science and Engineering* 1.2, 8-13. Online: <https://bit.ly/2GB4sTu>.
- Biswal, A. y col. (2015). «Electrodeposition of manganese dioxide: effect of quaternary amines». En: *Journal of Solid State Electrochemistry* 17.5, 1349-1356. Online: <https://bit.ly/2BKIHOj>.
- Cole-Parmer Company Fluoride Ion Electrodes (2018). *Instruction Manual*. Cole-Parmer Company. Online: <https://bit.ly/2EnZB5V>.
- Danks, T. N., R. C. Slade y J. R. Varcoe (2003). «Alkaline anion-exchange radiation-grafted membranes for possible electrochemical application in fuel cells». En: *Journal of Materials Chemistry* 13.4, 712-721. Online: <https://bit.ly/2GRYOfb>.
- Danks, T. N., R. T. Slade y J. R. Varcoe (2002). «Comparison of PVDF-and FEP-based radiation-grafted alkaline anion-exchange membranes for use in low temperature portable DMFCs». En: *Journal of Materials Chemistry* 12.12, 3371-3373. Online: <https://rsc.li/2XcNakX>.
- Dias, A. J. y T. J. McCarthy (1984). «Synthesis of a two-dimensional array of organic functional groups: surface-selective modification of poly(vinylidene fluoride)». En: *Macromolecules* 17.12, 2529-2531. Online: <https://bit.ly/2X8DEiC>.
- Grasselli, M. y N. Betz (2005). «Making porous membranes by chemical etching of heavy-ion tracks in  $\beta$ -PVDF films». En: *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 236.1-4, 501-507. Online: <https://bit.ly/2NgrH5M>.
- Guiader, O. y P. Bernard (2018). «Understanding of  $Ni(OH)_2/NiOOH$  Irreversible Phase Transformations:  $Ni_2O_3H$  Impact on Alkaline Batteries». En: *Journal of The Electrochemical Society* 165.2, A396-A406.
- Hashim, N. A., Y. Liu y K. Li (2011). «Preparation of PVDF hollow fiber membranes using  $SiO_2$  particles: the effect of acid and alkali treatment on the membrane performances». En: *Industrial & Engineering Chemistry Research* 50.5, 3035-3040. Online: <https://bit.ly/2EiVNCM>.
- Hinksman, P., D. H. Isaac y P. Morrissey (2000). «Environmental stress cracking of poly(vinylidene fluoride) and welds in alkaline solutions». En: *Polymer Degradation and Stability* 68.2, 299-305. Online: <https://bit.ly/2VaAh9d>.
- Kitamura, H. y col. (2012). «Effect of binder materials on cycling performance of  $Fe_2O_3$  electrodes in alkaline solution». En: *Journal of Power Sources* 208, 391-396. Online: <https://bit.ly/2SNrnle>.
- Komaki, Y. y col. (1996). «Radicals in heavy ion-irradiated polyvinylidene fluoride». En: *Radiation Measurements* 26.1, 123-129. Online: <https://bit.ly/2T3vnx3>.
- Liu, F. y col. (2011). «Progress in the production and modification of PVDF membranes». En: *Journal of membrane science* 375.1-2. Online: <https://bit.ly/2SdM3Oa>, págs. 1-27.
- Markevich, E., G. Salitra y D. Aurbach (2005). «Influence of the PVdF binder on the stability of  $LiCoO_2$  electrodes». En: *Electrochemistry communications* 7.12, 1298-1304. Online: <https://bit.ly/2GRNM9G>.
- Mitsoulis, E. y S. G. Hatzikiriakos (2009). «Steady flow simulations of compressible PTFE paste extrusion under severe wall slip». En: *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics* 157.1-2, 26-33. Online: <https://bit.ly/2DVviCh>.
- Ningrum, Cahya, Dewi Ruwanti y Nita Kusumawati (2016). «Development and Characterization of Polysulfone/Polyvinylidene Fluoride Blend Membrane Induced by Delayed Liquid-Liquid Demixing». En: *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology* 6.5, 716-722. Online: <https://bit.ly/2NfBdX9>.
- Papp, Joseph K. y col. (2017). «Poly(vinylidene fluoride)(PVDF) binder degradation in  $Li - O_2$  batteries: a consideration for the characterization of lithium superoxide». En: *The journal of physical*

- chemistry letters* 8.6, 1169-1174. Online: <https://bit.ly/2T6Q9vZ>.
- Patil, P. D. y col. (2008). «Viscoelastic flow simulation of polytetrafluoroethylene (PTFE) paste extrusion». En: *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics* 153.1, 25-33. Online: <https://bit.ly/2Xf7bHF>.
- Peckerar, Martin y col. (2011a). «A novel high energy density flexible galvanic cell». En: *Energy & Environmental Science* 4.5, 1807-1812. Online: <https://rsc.li/2EmhEto>.
- Peckerar, Martin y col. (2011b). «Fabrication of flexible ultracapacitor/galvanic cell hybrids using advanced nanoparticle coating technology». En: *Journal of Vacuum Science & Technology B, Nanotechnology and Microelectronics: Materials, Processing, Measurement, and Phenomena* 29.1, 011008. Online: <https://bit.ly/2BKnpFM>.
- Perkin-Elmer (2018). *Polymer Identification Using Mid IR Spectroscopy*. p. 2, Fig. 1. Perkin-Elmer Application. Online: <https://bit.ly/2Nwfwlu>.
- Perusich, Stephen A. (2000). «Fourier transform infrared spectroscopy of perfluorocarboxylate polymers». En: *Macromolecules* 33.9, 3431-3440. Online: <https://bit.ly/2GS712Q>.
- Robinson, James W. (1974). *Handbook of Spectroscopy: Volume I*. CRC press.
- Samsure, Nurul Alwani y col. (2016). «Alkaline etching treatment of PVDF membrane for water filtration». En: *RSC Advances* 6.26, 22153-22160. Online: <https://rsc.li/2tvUQRJ>.
- Shoichet, M. S. y T. J. McCarthy (1991). «Convenient syntheses of carboxylic acid functionalized fluoropolymer surfaces». En: *Macromolecules* 24, 982-986. Online: <https://bit.ly/2ScTt3Z>.
- Smith, Brian C. (2011). *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy*. CRC press.
- Stuart, B. H. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. 1st. Chichester (West Sussex, England): John Wiley & Sons, Ltd.
- Vora, V. y J. Gingras (2012a). «PVDF Fluoropolymer process aids: For best-in-class performance,» en: *Modern Plastics & Polymers* september, págs. 71-72.
- (2012b). «PVDF fluoropolymer process aids: Increasing throughput, reducing downtime». En: *Modern Plastics & Polymers*, january, págs. 190-192.
- Yan, Kai-bo y col. (2016). «Preparation and Characterization of Oil/Water Separation Membranes via Grafting Methyl Methacrylate onto Poly(vinylidene fluoride)». En: *Acta Polymerica Sinica* 5, págs. 659-666.
- Zhang, Jia-Han y col. (2015). «Synthesis and properties of proton exchange membranes via single-step grafting PSBMA onto PVDF modified by TMAH». En: *Acta Physico-Chimica Sinica* 31.10, 1905-1913. Online: <https://bit.ly/2TW9BIT>.

## Apéndice

### A Estudios FT-IR sobre aglutinantes iniciales y degradados

Para facilitar la visión general, cada banda IR ha sido marcada con la vibración molecular a la que corresponde. Los espectros revelan un cambio signi-

ficativo en la composición del aglutinante. En relación al tratamiento de KOH la banda de absorción de estiramiento  $>CF_2$  casi desaparece, mientras que las bandas de absorción adicionales aparecen en la región  $1575 - 1660\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde a la presencia de enlaces dobles conjugados. Algunos de estos pueden agregar una molécula de agua y formar grupos carbonilos que absorben a  $1700\text{ cm}^{-1}$  (ver las líneas en la figura 1A).

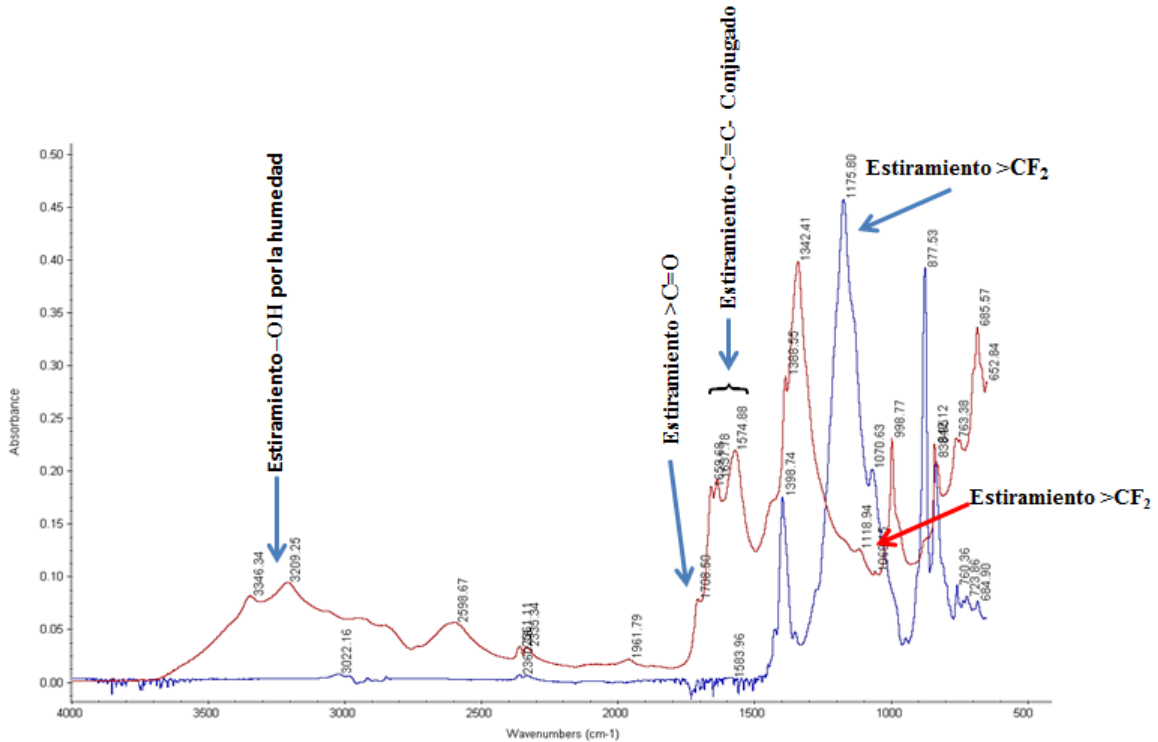
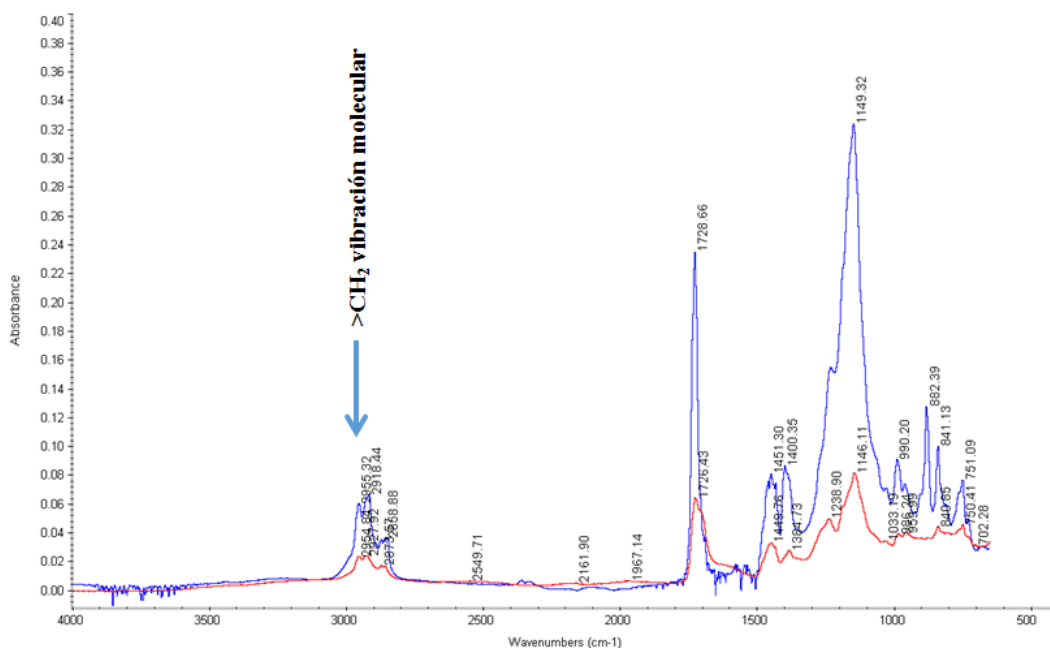
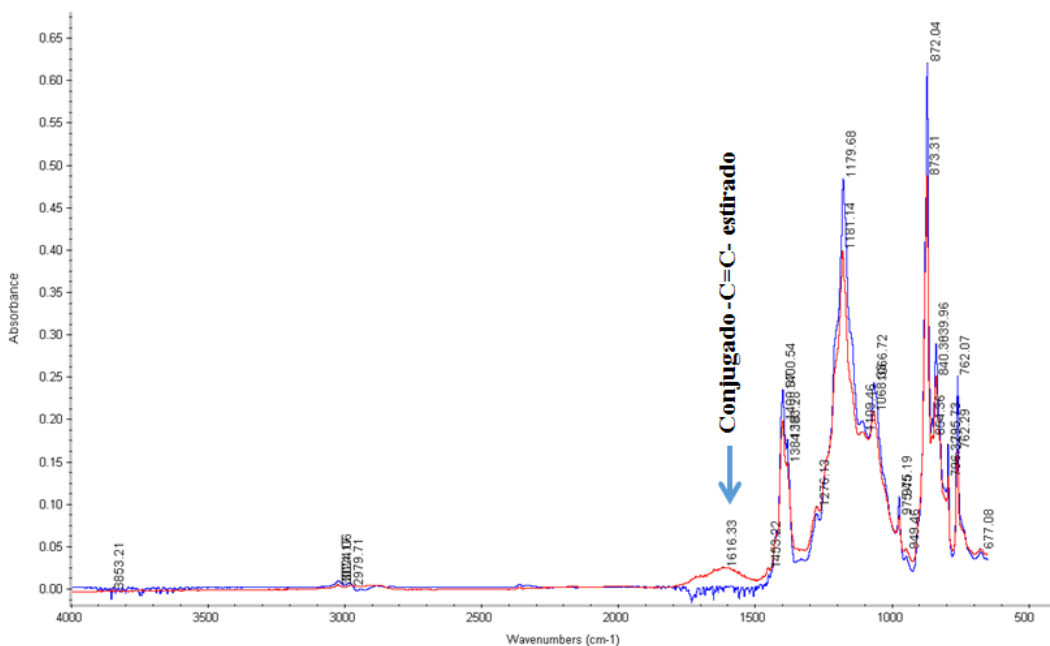


Figura 1. A. Superposición de espectros IR para Kynar UltraFlex: azul – aglutinante inicial, rojo – después de 48 h de exposición a solución KOH a 32wt %, a 60°C.



**Figura 2. A.** Superposición de espectros IR para Kynar Kynar Flex: azul – aglutinante inicial, rojo – después de 48 h exposición a solución de KOH a 32wt %, a 60°C. No se puede evaluar ningún cambio relevante en la estructura del polímero (las alturas máximas difieren debido a la cantidad de la muestra).



**Figura 3. A.** Superposición de espectros IR para PVDF latex-32: azul – aglutinante inicial, rojo – después de 48 h exposición solución KOH a 32wt %. En cuanto a Kynar Kynar Flex (Figura 2), la banda de absorción de los enlaces dobles conjugados aparece después de exponer el aglutinante al electrolito alcalino durante 1 semana a 60°C. Sin embargo, el cambio en la estructura del polímero no parece ser notorio.

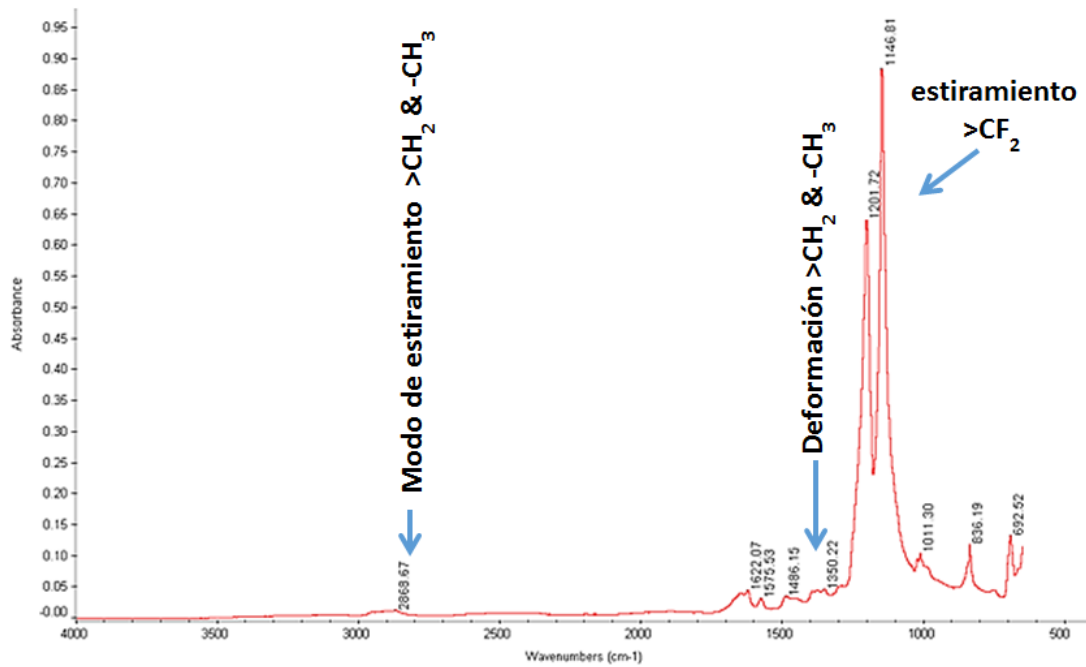


Figura 4. A. La figura indica en rojo el espectro FT-IR para PTFE después de 96 h de exposición a la solución KOH a 32wt %.

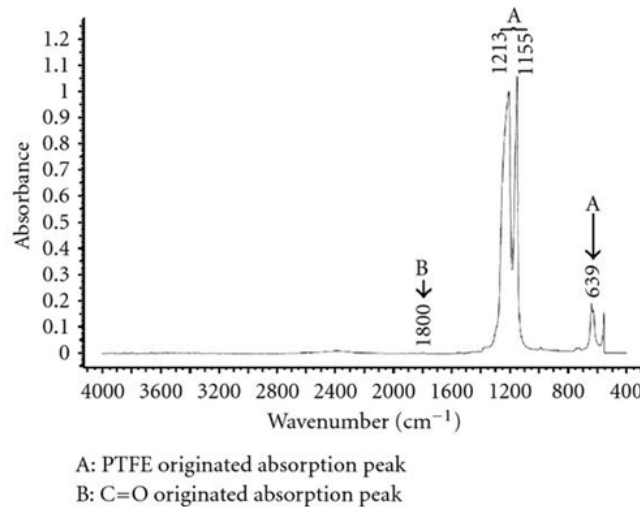


Figura 5. A. La figura indica en negro el espectro de PTFE base (Perkin-Elmer, 2018). Existen diferencias insignificantes entre los dos espectros, demostrando que el PTFE no sufre degradación química.



## EFICIENCIA Y CONFIABILIDAD DE MODELOS DE ESTIMACIÓN DE BIOGÁS EN RELLENOS SANITARIOS

### EFFICIENCY AND RELIABILITY OF THEORETICAL MODELS OF BIOGAS FOR LANDFILLS

Pablo Emilio Escamilla García\*

*Escuela Superior de Comercio y Administración Unidad Tepepan, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México*

\*Autor para correspondencia: [peescamilla@ipn.mx](mailto:peescamilla@ipn.mx)

Manuscrito recibido el 10 de enero de 2019. Aceptado, tras revisión, el 27 de febrero de 2019. Publicado el 1 de marzo de 2019.

#### Resumen

Este artículo muestra un análisis comparativo de las emisiones de biogás generadas en un relleno sanitario al aplicar el modelo mexicano de biogás, el modelo de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (EPA) y comparar los resultados con datos obtenidos in-situ. Las estimaciones con los modelos teóricos y la medición en campo se realizaron en 36 pozos de venteo de un relleno sanitario ubicado en el Estado de México, México, con una recepción diaria de 3500 kilogramos de RSU. Los resultados in-situ mostraron una generación de biogás ( $CH_4$ ,  $CO_2$  y  $O_2$ ) con una frecuencia media de 35,44 Hz (1/s) y emisiones de metano de 3355,99  $m^3/hr$ . En contraste los modelos teóricos estimaron valores para el año 2018 de 6270,57  $m^3/hr$  para el modelo de la EPA y 8379,52  $m^3/hr$  para el modelo mexicano de biogás. Los resultados mostraron variaciones significativas en las estimaciones de los modelos teóricos versus la medición in-situ. La información generada permite discutir la confiabilidad del uso de modelos teóricos para formular proyectos de aprovechamiento y valorización de RSU al considerar los altos montos de inversión que implican y que las proyecciones de generación de energía se basan en la frecuencia de generación del flujo de biogás estimado en el relleno.

**Palabras clave:** Biogás, metano, relleno sanitario, estimación teórica.

#### Abstract

This paper highlights a comparative analysis of biogas emissions produced in a Mexican landfill. The Mexican biogas model, the model of the Environmental Protection Agency of the United States of America (EPA) were applied in order to compare results with data obtained in-situ. The sanitary landfill located in the State of Mexico, Mexico, has 36 wells with a daily reception of 3500 kilograms of MSW. The results showed an in-situ generation of biogas ( $CH_4$ ,  $CO_2$  and  $O_2$ ) with an average frequency of 35,44 Hz (1/s) and methane emissions of 3355,99  $m^3/hr$ . The theoretical models estimated values for the year 2018 of 6270,57  $m^3/hr$  for the EPA model and 8379,52  $m^3/hr$  for the Mexican

biogas model. The results showed significant variations in the estimates of the theoretical models versus in-situ measurements. This result discusses the reliability of the use of theoretical models to formulate projects for the utilization and valorization of MSW, considering the high amounts of investment involved and that the projections of power generation are based on the frequency of generation of the estimated biogas flow in the landfill.

**Keywords:** Landfill gas, methane, landfill, theoretical estimation.

---

Forma sugerida de citar: Escamilla García Pablo E. (2019). Eficiencia y confiabilidad de modelos de estimación de biogás en rellenos sanitarios. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol. 29(1):32-44. <http://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.03>.

---

IDs Orcid:

Pablo Emilio Escamilla García: <http://orcid.org/0000-0001-6704-521X>

## 1 Introducción

El biogás es una mezcla de metano ( $CH_4$ ) (40% – 70%), dióxido de carbono ( $CO_2$ ) y otros gases (hidrógeno, nitrógeno, oxígeno y sulfuro de hidrógeno) generados por la fermentación de materiales orgánicos (Gautam, Baral y Herat, 2009). Este gas es el resultado de la fermentación de metano de diferentes materiales, como materias primas agrícolas, productos agrícolas, desperdicios de alimentos y heces líquidas o sólidas (Iglinski y col., 2012). La combustión del biogás permite la recuperación de energía y se ha utilizado ampliamente en centrales térmicas y eléctricas, entre otras aplicaciones industriales (Tampio y col., 2014). El biogás se puede usar como fuente de energía y se puede usar en motores combinados de calor y energía. También se puede utilizar como sustituto del gas natural al eliminar el  $CO_2$  del  $CH_4$ . Por tanto, el biogás es un combustible versátil que se puede usar tanto para la generación de energía como para la industria química (Scholz, Melin y Wessling, 2013).

El biogás se genera en grandes volúmenes, principalmente en rellenos sanitarios. En los rellenos sanitarios, la materia orgánica se descompone en ausencia de oxígeno que resulta en la emisión de biogás a la atmósfera (Colling y col., 2016). Los rellenos sanitarios de Residuos Sólidos Urbanos (RSU) son la tercera fuente de emisiones de metano relacionadas con la actividad humana a nivel mundial, esto representa aproximadamente el 15,4% de estas emisiones (EPA, 2016). Al mismo tiempo, las emisiones de metano de los rellenos sanitarios representan una oportunidad perdida para capturar y utilizar un recurso con potencial energético (Cabrera y Ortiz, 2011). El control y el uso de este gas deben estimar, con una certeza razonable, tanto la producción diaria como la producción acumulada de metano ( $CH_4$ ) a largo plazo. Sin embargo, de acuerdo con Calvo y col., (2005), independientemente del método seleccionado para realizar estimaciones, las metodologías deben considerar que: 1) el diagnóstico solo es válido en el momento de la evaluación y su validez disminuye con el tiempo si el relleno sanitario no se monitorea periódicamente; 2) la metodología solo se puede realizar para rellenos sanitarios de RSU independientemente de la escala de recepción; 3) la composición de los desechos del relleno se puede obtener a partir de datos históricos reportados, datos de caracterización de desechos promedios en una población o de la caracterización *in situ*.

Se han realizado numerosas investigaciones que demuestran que el biogás en los rellenos sanitarios se produce durante largos períodos de tiempo, incluso después de que cesa la disposición de desechos (Pillai, 2018; Lombardi y Carnevale, 2016; Dace y col., 2015; Xiaoli y col., 2011). Sin embargo, la acumulación de dioxinas, furanos y otras emisiones de gases tóxicos en los rellenos crean severos riesgos ambientales y de salud pública en las poblaciones circundantes (Gomez y col., 2018; Kret y col., 2018; Hirata y col., 1995; Bramryd, 1997; Meadows, Franklin y Campbell, 1997). Por lo tanto, el biogás debe ser monitoreado para garantizar un control adecuado de estas emisiones. Este tratamiento normalmente implica la captura y utilización de biogás para fines de producción de energía.

La viabilidad económica de los proyectos para construir y operar tecnologías de aprovechamiento y captura de biogás requiere información precisa sobre la composición del gas y sobre todo sobre las proyecciones estimadas de generación (Chakraborty, Boksh y Chakraborty, 2013). La cantidad de biogás producido en los sitios de disposición final varía en función de la cantidad de residuos, el tipo de desecho, el contenido de humedad, la temperatura y las prácticas de manejo, por lo que es necesario realizar una estimación de los gases presentes para cuantificar las emisiones (Knox, 2005). La estimación del metano generado por los RSU se puede realizar utilizando metodologías como el modelo EPA y el modelo mexicano de biogás, que son modelos empíricos basados en una ecuación de primer orden para la degradación de la materia orgánica. Dichas metodologías asumen que la generación de biogás alcanza su máximo después de un período de tiempo anterior a la generación de metano, este período es un año después de la colocación de los residuos sólidos para la generación de biogás; Después de un año de disponer RSU, la generación de biogás disminuye exponencialmente mientras se consume la fracción orgánica de desechos (Urrego y Rodríguez, 2016).

De acuerdo con lo anterior, esta investigación considera la aplicación de dos modelos teóricos (modelo EPA y modelo mexicano) para la estimación de biogás en un relleno sanitario de RSU. Los resultados se comparan con mediciones precisas obtenidas *in situ*. Esto permite identificar el grado de confiabilidad y eficiencia de los modelos teóricos versus la medición real *in situ* al comparar variaciones y analizar parámetros y aspectos que pueden causar po-

sibles inconsistencias.

## 2 Materiales y métodos

La investigación se realizó aplicando diferentes metodologías para estimar el biogás generado en un

relleno sanitario en el Estado de México, México. Estas cifras se compararon con mediciones reales obtenidas con un analizador de gases (GA5000) para identificar la efectividad en modelos teóricos.

**Tabla 1.** Información de alimentación a modelos teóricos.

Parámetro	Valor
Año de apertura	2010
Año proyectado de clausura	2037
Inicio de sistema de captura	2017
Cantidad promedio anual de recepción de residuos	1105427
Proyección de residuos en el relleno en año de clausura	29846539
Profundidad del relleno sanitario	65m
Superficie en acres	36 (1 por pozo)
Contenido de metano en biogás	50.00 %
Eficiencia de captura	85.00 %
Tamaño del proyecto	Mínimo
% del área con residuos con sistema de captura	80

Fuente: Encuestas en relleno sanitario.

### 2.1 Medición *in situ*

El sitio de muestreo fue un relleno sanitario ubicado en una latitud de 19,320539 y una longitud de 98,808288, con una extensión de 255,619  $m^2$  y ubicado a 2260 metros sobre el nivel del mar con una temperatura promedio de 16,51°C y 19,50°C y una precipitación pluvial promedio anual de 600 a 800 milímetros. El relleno recibe un promedio diario de 3500 toneladas de residuos provenientes de la Ciudad de México y de ciertos municipios del Estado de México en México.

El relleno cuenta con 36 pozos de venteo, de los cuales 20 se refieren a pozos con sistema de quema, mientras que 16 solo se usan para liberar biogás a la atmósfera. Las mediciones incluyeron datos de los 36 pozos que están en pleno funcionamiento actualmente. La altura promedio de cada pozo se estimó en 3 m con una longitud total de 65 m. Los pozos están compuestos por columnas con un tubo perforado de polietileno de alta densidad de 6 pulgadas de diámetro. Los tubos están dispuestos a una distancia de 25 metros entre sí, y cada uno cuenta con 4 ranuras en el perímetro dispuestas a lo largo de la longitud del tubo a una distancia de 25 cm entre ellas.

La medición se realizó en el periodo comprendido entre el 12 al 18 de mayo de 2018. Se realizaron repeticiones triples en horarios de 9:00 hrs, 14:00 hrs, 18:00 hrs. a fin de considerar diferentes temperaturas ambientes. Se utilizó un analizador portátil de biogás modelo GA5000. Inicialmente se tomaron mediciones de presión barométrica y presión relativa y posteriormente se monitoreó  $CH_4$  y  $CO_2$  por lapsos de 45 segundos. Los datos fueron analizados mediante el Gas Analyser Manager Software (GAM).

Para las estimaciones con los modelos teóricos se utilizaron los datos de la Tabla 1 para alimentar los algoritmos del Modelo de México de Biogas y el modelo de la Environmental Protection Agency (EPA):

### 2.2 Modelo EPA

El modelo de la EPA requirió datos relacionados con la tasa promedio anual de desechos eliminados, el número de años que el relleno ha estado abierto, el año proyectado de clausura, el potencial de los desechos eliminados para generar metano y la tasa de metano. Para las estimaciones subsecuentes se

aplicó la siguiente ecuación de primer orden:

$$LFG = 2 \times L_0 \times R \times \left( e^{-k \times C} e^{-k \times T} \right) \quad (1)$$

Donde LFG es la cantidad total de biogás generado en el año actual o en consideración ( $pies^3$ );  $L_0$  es el potencial total de generación de metano de

los residuos ( $pies^3/lb$ );  $R$  es el promedio anual de residuos dispuestos durante la vida del relleno (libras);  $k$  es la tasa anual de generación de metano (1/año);  $T$  es número de años de operación del relleno (años);  $C$  es el tiempo transcurrido desde el cierre del relleno sanitario (años) (EPA, 2017). El valor de  $L_0$  y  $k$  se estimaron con base en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Parámetros para  $L_0$  y  $K$  para rellenos sanitarios convencionales.

Parámetros del modelo	Valor
$K$	0,050 por año
$L_0$	$170m^3/ton$

Fuente: (EPA, 2016).

**Tabla 3.** Índice de potencial de generación de metano ( $L_0$ ).

Precipitación pluvial anual ( $mm/año$ )	$L_0 (m^3/Ton)$
0 – 249	60
250 – 499	80
> 500	84

Fuente: Adaptado de Stege y J., (2009).

**Tabla 4.** Tasa de generación de metano ( $K$ ).

Precipitación pluvial anual ( $mm/año$ )	$L_0 (m^3/Ton)$
0 – 249	0,040
250 – 499	0,050
500 – 999	0,065
> 1000	0,080

Fuente: Adaptado de Stege y J., (2009).

### 2.3 Modelo mexicano

El modelo utilizó la siguiente información para estimar la generación y recuperación de biogás: 1) La cantidad de desechos depositados anualmente en el relleno sanitario, 2) El año de apertura y cierre del sitio, 3) La tasa de generación de metano ( $k$ ), 4) La generación potencial de metano ( $L_0$ ), 5) El factor de corrección de metano ( $MCF$ ), 6) El factor de ajuste por incendios ( $F$ ), 7) La eficiencia de recuperación del sistema de captura. Para estimar la tasa de generación de biogás para cada año se utilizó la ecuación de degradación de primer grado, como sigue:

$$Q_{LFG} = \sum_{i=1}^n \sum_{j=0,1}^1 2kL_0 \left[ \frac{Mi}{10} \right] \left( e^{-kt_{ij}} \right) (MCF) (F) \quad (2)$$

Donde:  $Q_{LFG}$  = Flujo máximo esperado de biogás ( $m^3$ );  $i$  = aumento de tiempo de 1 año;  $n$  = (año de cálculo) - (año inicial de eliminación de desechos);  $j$  = Incremento de tiempo en 0, 1 años;  $k$  = Generación de metano (1 / año);  $L_0$  = Generación potencial de metano ( $m^3/Mg$ );  $M_i$  = Masa de residuos dispuestos en el año  $i$  ( $Mg$ );  $t_{ij}$  = Edad de la sección  $j$  de la masa de desechos  $M_i$  dispuesta en el año  $i$  (años decimales);  $MCF$  = factor de corrección de metano;  $F$  = Factor de ajuste por incendios.

La ecuación anterior estimó la generación de biogás utilizando las cantidades de residuos eliminados acumulados durante un año. Las proyecciones para varios años se desarrollan variando la proyección anual y luego iterando la ecuación. La genera-

ción total de biogás es igual al doble de la generación de metano calculada. La composición de biogás asumida en el modelo fue de 50% ( $CH_4$ ) y 50%, que incluyen dióxido de carbono ( $CO_2$ ) y otros compuestos. La función de degradación exponencial supone que la generación de biogás se encuentra en su máximo un período antes de la generación de metano. El modelo asumió un período de seis meses entre la colocación de los residuos y la generación de biogás. Para cada unidad de residuos, después de seis meses, se asumió que la generación de biogás disminuye exponencialmente a medida que se consume la fracción orgánica de los desechos. El año máximo de generación usualmente ocurre en el año de cierre o el año siguiente (dependiendo del índice de disposición en los años finales).

Para el cálculo de la tasa de generación de metano y del índice de potencial de metano se utilizaron los siguientes parámetros (Tablas 3 y 4).

### 3 Resultados y discusión

#### 3.1 Resultados de medición *in situ*

En la Tabla 12 se muestran los resultados obtenidos luego de muestrear 36 pozos en el relleno sanitario. La concentración de metano, dióxido de carbono, oxígeno, así como la frecuencia de generación mostró valores similares para cada pozo. Los valores promedio para el relleno sanitario se presentan en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Valores promedios obtenidos *in-situ* para el relleno sanitario.

$CH_4$ (%)	$CO_2$ (%)	$O_2$ (%)	H <sub>z</sub> (1/s)	$CH_4$ por hora
50.29	46.88	1.01	35.44	3355.99

#### 3.2 Resultados del modelo mexicano de biogás

La estimación se realizó al aplicar la ecuación [1] de degradación de primer orden. Los datos utilizados para alimentar el modelo se pueden ver en la Tabla 1. El modelo proporcionó valores para el índice de generación de metano ( $k$ ) y la generación poten-

cial de metano ( $Lo$ ) que fueron verificados por los valores propuestos por Aguilar, Taboada y Ojeda, (2011). Estos valores se desarrollaron utilizando datos climáticos, caracterización de residuos y prácticas de eliminación precargados en los modelos teóricos. La Tabla 6 muestra los parámetros utilizados para el modelado.

**Tabla 6.** Parámetros para modelaje (Modelo mexicano de biogás).

Contenido de metano en biogás: 50%				
Factor de corrección de metano (MCF): 1.0				
Categoría de residuos	Degradación rápida	Degradación moderadamente rápida	Degradación moderadamente lenta	Degradación lenta
$CH_4$ ( $k$ ) índice de generación:	0.16	0.075	0.032	0.016
$CH_4$ ( $Lo$ ) potencial de generación ( $m^3/Mg$ ):	69	138	214	202

La Tabla 7 presenta los valores obtenidos después del modelaje. Cabe señalar que los modelos teóricos (EPA y modelo mexicano) estiman la generación en función de la caracterización pre establecida. Asimismo, el modelo estima la acumulación de

residuos aumentando la cantidad de residuos dispuestos por año. Aunque la Tabla 7 presenta datos hasta 2025, el modelo resultó en valores hasta 2037, año proyectado para el cierre del relleno sanitario.

**Tabla 7.** Proyecciones de generación y recuperación de biogás en modelo mexicano.

Año	Disposición (Mg/año)	Disposición acumulada (Mg)	Generación de biogás			Recuperación estimada de biogás		
			(m <sup>3</sup> /hr)	(pies <sup>3</sup> /min)	(mm Btu/hr)	(m <sup>3</sup> /hr)	(pies <sup>3</sup> /min)	(mm Btu/hr)
2010	981600	981600	0	0	0	0	0	0
2011	1001200	1982800	1424	838	25.4	0	0	0
2012	1021200	3004000	2706	1593	48.4	0	0	0
2013	1041600	4045600	3866	2275	69.1	0	0	0
2014	1062400	5108000	4922	2897	88	0	0	0
2015	1083600	6191600	5889	3466	105.2	0	0	0
2016	1105427	7297027	6781	3991	121.2	0	0	0
2017	1127500	8424527	7608	4478	135.9	4032	2373	72
2018	1150100	9574627	8380	4932	149.7	4441	2614	79.4
2019	1173100	10747727	9105	5359	162.7	4825	2840	86.2
2020	1196600	11944327	9790	5762	174.9	5189	3054	92.7
2021	1220500	13164827	10442	6146	186.6	5534	3257	98.9
2022	1244900	14409727	11065	6513	197.7	5865	3452	104.8
2023	1269800	15679527	11665	6866	208.4	6182	3639	110.5
2024	1295200	16974727	12244	7207	218.8	6489	3819	116
2025	1321100	18295827	12807	7538	228.8	6788	3995	121.3

### 3.3 Resultados del modelo EPA

El modelo EPA utiliza una herramienta desarrollada para el Landfill Methane Outreach Program

(LMOP) para estimar emisiones y costos en proyectos de captura y aprovechamiento de biogás (Tabla 8). En la Tabla 9 se muestran los principales valores obtenidos en el modelo EPA.

**Tabla 8.** Generación, recolección y utilización de biogás.

<b>Parámetros para modelación:</b>	
Tasa de generación de metano, k (1/año):	0.04
Capacidad de generación de metano, LO (pies <sup>3</sup> /ton):	3204
Contenido de metano en LFG:	50.00 %
<b>Generación estimada durante operación del relleno (pies<sup>3</sup>/min LFG):</b>	
Mínimo:	3291
Promedio anual	5663
Máximo	7659
<b>Recuperación durante operación del relleno (pies<sup>3</sup>/min LFG):</b>	
Mínimo:	2798
Promedio anual:	4814
Máximo:	6510
<b>Tamaño del proyecto:</b>	
Mínimo	
<b>Tasa de generación (pies<sup>3</sup>/min LFG):</b>	
	2798
<b>Utilizado por el proyecto: (pies<sup>3</sup>/min LFG):</b>	
Promedio anual	2601.8
<b>Eficiencia de recuperación de biogás:</b>	
	85.00 %

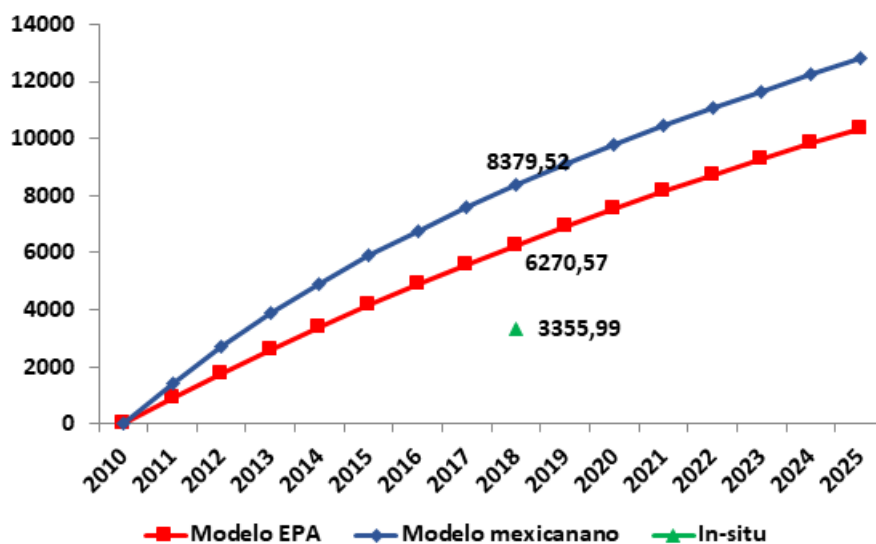
## 4 Discusión

Los valores obtenidos mostraron diferencias significativas en los niveles de biogás. Los modelos teó-

ricos (EPA y modelo mexicano) estimaron valores que resultan de modelar datos en ecuaciones de degradación de primer orden. Los resultados se muestran en la Figura 1:

**Tabla 9.** Proyecciones de generación de metano ( $m^3/hr$ ) en modelo EPA. Valores obtenido en modelación.

Año	$m^3/hr$
2010	0
2011	897.83
2012	1760.46
2013	2589.27
2014	3385.57
2015	4150.66
2016	4885.74
2017	5592
2018	6270.57
2019	6922.53
2020	7548.93
2021	8150.76
2022	8729
2023	9284.56
2024	9818.34
2025	10331.19



**Figura 1.** Generación estimada de metano ( $m^3/hr$ ).

La Figura 1 muestra las emisiones de metano en metros cúbicos por hora. Es posible apreciar que los modelos teóricos estimaron valores para el 2018 de  $8379,52 m^3/hr$  (modelo mexicano) y  $6270,57 m^3/hr$  (Modelo EPA). Estos valores contrastan significativamente con el valor real *in situ* que muestra que en el año 2018 la generación es de  $3355,99 m^3/hr$ . Las variaciones en los resultados obedecen a diferentes elementos, en primera estancia están los supuestos

de los modelos teóricos.

En el modelo de la EPA, la estimación de la generación de biogás (LFG) producida se multiplica por la eficiencia de recolección para estimar el volumen de final de metano que se puede recuperar. Sin embargo, las proyecciones se calculan con base en estimaciones de eficiencia de captura razonables para rellenos sanitarios que cumplen con los estándares establecidos en Título 40, parte 258 del

Código de Regulaciones Federales en los Estados Unidos de América. Las eficiencias de recolección que reportan estos rellenos sanitarios oscilan entre el 50% y el 95% de eficiencia, por lo que el modelo asume un 75% de eficiencia de captura. Adicionalmente, el modelo de la EPA asume instalaciones con un sistema integral de recolección y tratamiento que aumentará su eficiencia y los años proyectados. En consecuencia, la variación del valor real *in situ* con las estimaciones del modelo EPA es entendible ya que los rellenos sanitarios en México carecen de sistemas integrales que garanticen una eficiencia en la captura de biogás, y sobre todo que los rellenos sanitarios en México en su gran mayoría basan su

operación en métodos rudimentarios y tecnologías obsoletas (Escamilla y col., 2016).

Los resultados obtenidos en el modelo mexicano de biogás, presentan una variación aun mayor que los datos del modelo de la EPA. La diferencia de los  $m^3$  por hora de metano generado en 2018 entre la medición real *in situ* y el modelo EPA fue de 2914,58  $m^3/hr$ , mientras que la diferencia con el modelo mexicano de biogás fue de 5023,53  $m^3/hr$ . Esto implica una diferencia 2.5 veces mayor que la emisión real. El modelo mexicano asigna automáticamente los valores de  $k$  y  $Lo$  de acuerdo a los valores de la Tabla 10.

**Tabla 10.** Valores del Índice de Generación de Metano ( $k$ ) y de Generación Potencial de Metano ( $Lo$ ) en modelo Mexicano de biogás por región.

Categoría de Residuos	Región1		Región 2		Región3		Región 4		Región 5	
	Sureste		Oeste		Centro/Interior*		Noreste		Noroeste & Interior Norte	
	$k$	$Lo$	$k$	$Lo$	$k$	$Lo$	$k$	$Lo$	$k$	$Lo$
1	0.3	69	0.22	69	0.16	69	0.15	69	0.1	69
2	0.13	115	0.1	126	0.075	138	0.07	138	0.05	149
3	0.05	214	0.04	214	0.032	214	0.03	214	0.02	214
4	0.025	202	0.02	202	0.016	202	0.015	202	0.01	202

Fuente: Adaptado de (Stege y J., 2009).

Como se puede observar en la Tabla 10, el índice de generación de metano usado en la estimación se asigna en función de la localización del relleno sanitario a evaluar. El modelo establece cinco regiones geográficas. Cada región identifica primeramente la precipitación pluvial y la temperatura promedio de la zona. Posteriormente la categoría de residuos se refiere a 1) Sitio sin manejo; 2) Sitio con manejo; 3) Sitio semi-aeróbico y 4) Condición desconocida. Si no existe información precisa sobre la caracterización de los residuos, el modelo asume valores de caracterización por cada zona.

El considerar el hecho que el modelo mexicano estima los valores con base en información particular de México, debería brindar una mayor confiabilidad en los resultados. Estos resultados tendrían que estar en niveles con una variación aceptable en relación con los datos de mediciones reales *in situ*. Sin embargo, como se evidenció, las estimaciones mostraron una variabilidad significativa. El modelo de

la EPA reportó valores aún más cercanos a los datos reales *in situ*. Esto es una situación importante ya que se demuestra que el modelo mexicano, el cual dadas sus características tendría que estimar valores cercanos a la realidad, mostró lo contrario al reportar los valores más alejados de la medición real. El principal punto débil del modelo mexicano y que podría explicar la variación tan amplia en las estimaciones es la información sobre la caracterización de los residuos, particularmente las fracciones orgánicas. La información estadística relacionada con la caracterización de residuos en México es escasa y presenta niveles bajos de confiabilidad. En un sistema integral de gestión de RSU la caracterización de los residuos es fundamental no solo para establecer estimaciones de metano en la fracción orgánica sino para establecer estrategias para migrar a sistemas de cero residuos (Ayeleru, Okonta y F., 2018; Adeniran, Nubi y Adelopo, 2017).

El flujo de residuos en un relleno sanitario y su ca-

racterización varía en función factores de cada región como: actividades económicas, clima, cultura, energía, fuentes de generación, entre otras. Los países en vías de desarrollo tienden a generar una proporción significativa de residuos orgánicos, mien-

tras que los países desarrollados presentan proporciones mayores en la fracción inorgánica (Chang y col., 2011). La Tabla 11 ilustra los diferentes valores promedio de composición de acuerdo con el tipo de economía.

**Tabla 11.** Composición de residuos por nivel economico\*. Elaborado a partir de datos de **Banco Mundial2012**

Nivel de ingreso	Orgánico (%)	Papel (%)	Plástico (%)	Vidrio (%)	Metal (%)	Otros (%)
Ingreso bajo	64	5	8	3	3	17
Ingreso medio bajo	59	9	12	3	2	15
Ingreso medio alto	54	14	11	5	3	13
Ingreso alto	28	31	11	7	6	17

\*Nota: La Tabla fue construida con información del Banco Mundial, que incluye datos de 105 países clasificados por ingreso y con tasas de generación de RSU en el periodo 2006 a 2012. La tasa de generación incluyó áreas urbanas solamente y en algunos países los valores de composición fueron de una sola ciudad.

La Tabla 11 muestra que los países de bajos ingresos tienen una fracción orgánica del 64% en comparación con el 28% en países de alto ingreso. Esto demuestra que, a medida que un país incrementa sus niveles de desarrollo económico, se tiene una repercusión en el flujo de RSU y la fracción orgánica disminuye. En consecuencia, las estimaciones del modelo mexicano de biogás presentan una baja confiabilidad debido a los datos de caracterización de residuos que utiliza como base. El modelo asume una alta concentración de fracción orgánica mientras que los datos reales demuestran que este componente es menor al estimado. Los valores reportados por los modelos teóricos en esta investigación tienen un comportamiento similar, esto es debido al modelo matemático que aplican y a la degradación exponencial del residuo estimada. La variabilidad significativa entre los datos de los modelos teóricos y la medición *in situ* que se reporta en este artículo se alinean con los resultados reportados por Urrego y Rodríguez, (2016) quienes encontraron variaciones atípicas entre los modelos teóricos y un modelo del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC).

Sin embargo, esta investigación se ubica en México, se esperaba que el modelo mexicano brindará información aproximada pero confiable de generación de metano. Investigaciones han demostrado el impacto negativo que una incorrecta cuantificación de biogás en un relleno sanitario puede tener en pro-

yectos de generación de energía (Judy y col., 2018; Blanco y col., 2018; Li y col., 2018). En consecuencia, los modelos teóricos, particularmente el modelo mexicano de biogás demostró ser poco confiable para generar información preliminar sobre emisiones de metano.

En México la provisión de información sobre caracterización de residuos es poco confiable. Se demuestra así que, si bien los modelos teóricos pueden ser una herramienta de uso práctico, los resultados no pueden ser utilizados para definir estrategias y planes de acción sobre todo en proyectos de inversión para generación de energía. La eficiencia y rentabilidad de una planta de valorización de RSU para generación se basa en la frecuencia adecuada y niveles de emisión constante de metano por hora. Es importante que el modelo mexicano de biogás sea actualizado en términos de caracterización de residuos para evitar así la variabilidad en las estimaciones.

## 5 Conclusiones

La medición *in situ* evidenció emisiones de metano significativamente menores a los valores estimados por los modelos teóricos (*in situ* = 3355,99 m<sup>3</sup>/hr, modelo EPA = 6270,57 m<sup>3</sup>/hr, modelo mexicano = 8379,52 m<sup>3</sup>/hr). Las variaciones en los valores obtenidos se deben a los parámetros que cada modelo asume que discrepan ampliamente de las características reales de los rellenos sanitarios en México.

El modelo EPA y el modelo mexicano no presentan una variación tan amplia entre sí debido al método matemático que aplican (ecuación de primer orden).

La medición *in situ* mostró que la complejidad de los elementos necesarios para la estimación del biogás generado puede tener un impacto significativo en los resultados. Los modelos teóricos proporcionan proyecciones que pueden utilizarse como información preliminar. Sin embargo, se demuestra que no son confiables y es fundamental realizar una medición con equipo especializado *in situ* para obtener información útil para la toma de decisiones. Un mo-

delo teórico puede subestimar o sobreestimar la generación de biogás proyectada. Esto es crítico si dicha información es la base para la implementación de proyectos de generación de energía a partir del biogás. Si los interesados no están en condiciones de realizar una medición *in situ*, se debe prestar especial atención al modelo teórico elegido para las proyecciones y procurar la provisión certera de información sobre la caracterización de los residuos en el relleno en cuestión, ya que son estos datos los que pueden provocar la variabilidad de los resultados finales.

## Referencias

- Adeniran, A., A. Nubi y A. Adelopo (2017). «Solid waste generation and characterization in the University of Lagos for a sustainable waste management.» En: *Journal of the Air and Waste Management Association* 67, 3-10. Online: <https://bit.ly/2Vw2DLI>.
- Aguilar, Q., P. Taboada y S. Ojeda (2011). «Modelo mexicano para la estimación de la generación de biogás.» En: *Revista Académica de la Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Yucatán* 15.1, págs. 37-45.
- Ayeleru, O., F. Okonta y Ntuli F. (2018). «Municipal solid waste generation and characterization in the City of Johannesburg: A pathway for the implementation of zero waste.» En: *Waste Management* 79, 87-9. Online: <https://bit.ly/2U6p09E>.
- Blanco, H. y col. (2018). «Potential of Power-to-Methane in the EU energy transition to a low carbon system using cost optimization.» En: *Applied Energy* 232.15, 323-340. Online: <https://bit.ly/2XumGv9>.
- Bramryd, T. (1997). «Landfilling in the perspective of the global CO<sub>2</sub> balance.» En: ed. por Sixth International Landfill Symposium. Sardinia, Italia.
- Cabrera, R. y A. Ortiz (2011). *Estudio experimental a escala piloto y modelización de la producción de biogás en relleno sanitario*. Inf. téc. Centro Interdisciplinario de Investigaciones y Estudios sobre Medio Ambiente y Desarrollo del Instituto Politécnico Nacional.
- Calvo, F. y col. (2005). «Environmental diagnosis methodology for municipal waste landfills.» En: *Waste Management* 25.8, 768-779. Online: <https://bit.ly/2TdByz1>.
- Chakrabarty, S., M. Boksh y A. Chakraborty (2013). «Economic viability of biogas and green self-employment opportunities.» En: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 28, 757-766. Online: <https://bit.ly/2EnYLEW>.
- Chang, S. y col. (2011). «Comprehensive utilization of biogas in Inner Mongolia, China.» En: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15.3, 1442-1453. Online: <https://bit.ly/2tjfttM>.
- Colling, A. y col. (2016). «Brazilian recycling potential: Energy consumption and Green House Gases reduction.» En: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 59, 544-549. Online: <https://bit.ly/2VrdDJO>.
- Dace, E. y col. (2015). «Optimization of Landfill Gas Use in Municipal Solid Waste Landfills in Latvia.» En: *Energy Procedia* 72, 293-299. Online: <https://bit.ly/2T1sZbb>.
- EPA (2016). *Air Emissions from Municipal Solid Waste Landfills Background Information for Proposed Standards and Guidelines*. Inf. téc. EPA-Environmental Protection Agency, Office of Air Quality Planning and Standards. Online: <https://bit.ly/2Tlw84S>.
- (2017). *LFG Energy Project Development Handbook. Landfill Methane Outreach Program*. Inf. téc. EPA Environmental Protection Agency. Online: <https://bit.ly/2fTvZh9>.
- Escamilla, P.E. y col. (2016). «Economic feasibility analysis for electrical generation from biogas in waste disposal sites in Mexico City.» En: *Applied Economics* 48 48.59, págs. 5761-5771.
- Gautam, R., S. Baral y S. Herat (2009). «Biogas as a sustainable energy source in Nepal: Present status and future challenges.» En: *Renewable and*

- Sustainable Energy Reviews* 13.1, 248-252. Online: <https://bit.ly/2BTSj8w>.
- Gomez, S. y col. (2018). «Dioxins and furans legacy of lindane manufacture in Sabiñánigo (Spain). The Bailín landfill site case study». En: *Science of The Total Environment* 624, 955-962. Online: <https://bit.ly/2GPnFRA>.
- Hirata, T. y col. (1995). «Construction of facilities on closed landfills». En: ed. por Fifth International Landfill Symposium. Sardinia, Italia.
- Iglinski, B. y col. (2012). «Agricultural biogas plants in Poland: Investment process, economical and environmental aspects, biogas potential». En: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16.7, 4890-4900. Online: <https://bit.ly/2Eis9fS>.
- Judy, J. y col. (2018). «Energy balance and diurnal variation in methane production as affected by feeding frequency in Jersey cows in late lactation». En: *Journal of Dairy Science*. Online: <https://bit.ly/2EgNruf>.
- Knox, A. (2005). *An Overview of Incineration and EFW Technology as Applied to the Management of Municipal Solid Waste (MSW)*. Inf. téc. Energy Subcommittee of the Ontario Environment Industry Association. Online: <https://bit.ly/2Tg8hUj>.
- Kret, J. y col. (2018). «A respiratory health survey of a subsurface smoldering landfill». En: *Environmental Research* 166, 427-436. Online: <https://bit.ly/2tIUx5U>.
- Li, R. y col. (2018). «Improved methane production and energy recovery of post-hydrothermal liquefaction waste water via integration of zeolite adsorption and anaerobic digestion». En: *Science of The Total Environment* 651.1, 61-69. Online: <https://bit.ly/2TqHgO8>.
- Lombardi, L. y E.A. Carnevale (2016). «Analysis of an innovative process for landfill gas quality improvement.» En: *Energy* 109, 1107-1117. Online: <https://bit.ly/2H53kad>.
- Meadows, C., D. Franklin y P. Campbell (1997). «Global methane emissions from solid waste disposal sites». En: ed. por Sixth International Landfill Symposium. Sardinia, Italia.
- Pillai J. and Riverol, C. (2018). «Estimation of gas emission and derived electrical power generation from landfills». En: *Trinidad and Tobago as study case. Sustainable Energy Technologies and Assessments* 29, 139-146. Online: <https://bit.ly/2H5xVVe>.
- Scholz, M., T. Melin y M. Wessling (2013). «Transforming biogas into bio-methane using membrane technology.» En: *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 17, 199-212. Online: <https://bit.ly/2BYqcVs>.
- Stege, G. y Davila J. (2009). *Manual del Usuario Modelo Mexicano de Biogas Version 2.0*. Online: <https://bit.ly/2GNMIEB>.
- Tampio, E y col. (2014). «Anaerobic digestion of autoclaved and untreated food waste.» En: *Waste Management* 34.2, 370-377. Online: <https://bit.ly/2EjR4ji>.
- Urrego, E. y J.P. Rodríguez (2016). «Application of methodologies EPA, Mexican and IPCC for estimating biogas, a case study of the sanitary landfill Dona Juana, Bogotá- Colombia». En: *Revista Universidad y Salud* 18.2, págs. 338-344.
- Xiaoli, C. y col. (2011). «Characteristics of vegetation and its relationship with landfill gas in closed landfill». En: *Biomass and Bioenergy* 35.3, 1295-1301. Online: <https://bit.ly/2EjR4ji>.

**Tabla 12.** Valores obtenidos *in situ* por pozo de venteo.

Pozo	Metano (CH <sub>4</sub> ) (%)	Dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> )(%)	Oxígeno (O <sub>2</sub> ) (%)	Frecuencia Hz (1/s)	Emisiones por hora de metano
1	48.8	51	0.2	5.42	53.1005715
2	50	50	0	5.06	1310.77465
3	49.5	50.5	0	77.57	19893.2849
4	49.7	50.3	0	113.77	1135.1787
5	51.7	48.3	0	90.1	24133.6408
6	49.8	50.2	0	0.3	77.4030562
7	38.5	59.2	2.3	0.3	59.8397121
8	51.3	48.6	0	76.57	20350.8955
9	50.4	49.2	0.4	96.93	25310.2398
10	50.4	49.6	0	79.6	20785.052
11	51.4	48.2	0.4	3.48	35.9105825
12	51.9	48.1	0	2.58	142.729123
13	50.7	48.9	0.3	164.1	1670.30825
14	51.3	48.7	0	4.02	41.4022082
15	50.5	49.4	0.1	130.97	1327.83249
16	50.6	48.5	0.8	2.32	23.5677753
17	51.4	48.6	0	165.1	1703.68884
18	52	48	0	72.13	753.007605
19	50.8	49.1	0.1	20.4	208.052992
20	50.2	49.7	0.1	0.87	8.76805078
21	50.7	49.1	0.2	0.3	3.05357999
22	49.9	50.1	0	22.79	228.310012
23	53.3	46.4	0.3	0.57	6.09933028
24	52.6	46.6	0.8	0.3	81.7550352
25	44.6	32.9	5.3	0.3	2.68618673
26	54.1	45.6	0.3	4.88	53.0025999
27	55.4	40.5	2.3	0.3	3.33665348
28	52.7	38.3	3.1	0.3	3.17403679
29	54.3	44.9	0.8	4.68	51.0182749
30	26	18.3	12.5	0.3	1.56593845
31	56.4	40.2	1.8	0.3	3.39688188
32	52.9	47.1	0	62.2	660.581099
33	49.8	50.2	0.1	15.38	153.767929
34	52.8	47.2	0.1	17.3	183.383439
35	52.6	47.4	3.9	5.29	55.862646
36	51.4	48.6	0	29.07	299.977193

Elaborada a partir de mediciones *in situ*.



# SISTEMAS SILVOPASTORILES Y CAMBIO CLIMÁTICO: ESTIMACIÓN Y PREDICCIÓN DE BIOMASA ARBÓREA

## SILVOPASTURE SYSTEMS AND CLIMATE CHANGE: ESTIMATE AND PREDICTION OF ARBOREAL BIOMASS

Edwin Rolando Jiménez Ruíz\*<sup>1</sup> , William Fonseca González<sup>2</sup> y Leticia  
Pazmiño Pesantez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad Ciencias de la Vida, Escuela Superior Politécnica del Litoral Campus Gustavo Galindo, Guayaquil, Ecuador.

<sup>2</sup> Instituto de Investigación y Servicios Forestales, Universidad Nacional Autónoma de Costa Rica, Heredia, Costa Rica.

\*Autor para correspondencia: [ejimenez@espol.edu.ec](mailto:ejimenez@espol.edu.ec)

Manuscrito recibido el 4 de febrero de 2018. Aceptado, tras revisión, el 27 de febrero de 2019. Publicado el 1 de marzo de 2019.

### Resumen

En este trabajo se cuantificó la biomasa y el carbono almacenado en la cobertura vegetal de un sistema silvopastoril compuesto por pasto (*Hyparrhenia rufa*) y guasmo (*Guazuma ulmifolia*) establecido en forma natural en el cantón Balzar de la provincia Guayas en Ecuador. A través del método destructivo y con un muestreo aleatorio por medio de parcelas anidadas, se evaluó la cantidad de biomasa arbórea y subterránea de árboles de diámetro promedio, la necromasa y la vegetación herbácea. Se desarrollaron modelos para estimar la biomasa del árbol completo, sus componentes (tronco, raíz, ramas y hojas) y el volumen. La biomasa arbórea es de  $16,45 \text{ Mgha}^{-1}$  ( $8,23 \text{ MgC ha}^{-1}$ ) y el aporte de la vegetación herbácea y la necromasa de  $1,4$  y  $1,9 \text{ Mgha}^{-1}$  ( $0,7$  y  $0,95 \text{ MgC ha}^{-1}$ ), respectivamente. Los modelos predicen la biomasa y el volumen en función del diámetro con errores de estimación o sesgos menores al 3% y mostraron ajustes ( $R^2$ ) mayores a 96%. Adicionalmente, se generó información sobre factores de expansión de biomasa.

**Palabras clave:** Biomasa, carbono, Guazuma, mitigación, alometría.

### Abstract

In this work both the biomass and carbon present in a vegetative cover from a silvopastoral system were quantified. The system, composed of *Hyparrhenia rufa* and *Guazuma ulmifolia*, was established naturally in Balzar, Guayas province of Ecuador. By using a destructive method and a random sampling in nested plots both the arboreous and underground biomass of average-sized trees were measured as well as the necromass and herbaceous vegetation. Models were developed in order to estimate the volume and the biomass of the whole tree and its components (trunk, roots, branches and leaves). The arboreous biomass was estimated in  $16,45 \text{ Mg/ha}$  ( $8,23 \text{ MgC/ha}$ ), whereas the herbaceous vegetation and the necromass were  $1,4$  and  $1,9 \text{ Mg/ha}$  ( $0,7$  and  $0,95 \text{ MgC/ha}$ ), respectively. The models predict

the biomass and the volume in dependence of the diameter with less than 3% of error and  $R^2$  values higher than 96%. In addition, information regarding factors that influence the expansion of biomass were generated.

**Keywords:** Biomass, carbon, Guazuma, mitigation, allometric.

---

Forma sugerida de citar: Jiménez Ruíz, E. R., Fonseca González, W. y Pazmiño Pesantez, L. (2019). Sistemas silvopastoriles y cambio climático: Estimación y predicción de biomasa arbórea. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol. 29(1):45-55. <http://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.04>.

---

IDs Orcid:

Edwin Rolando Jiménez Ruíz: <http://orcid.org/0000-0001-7930-1081>

William Fonseca González: <http://orcid.org/0000-0002-4546-9035>

Leticia Pazmiño Pesantez: <http://orcid.org/0000-0001-7045-8445>

## 1 Introducción

El cambio climático de origen antrópico ha sido un tema muy discutido en foros a nivel mundial y los estudios que hacen referencia a este problema son abundantes (IPCC, 2013; Herrán, 2012). Las categorías de emisión más contaminantes son energía, procesos industriales y usos de subproductos (MINAE-IMN, 2014), sin dejar de lado el sector agropecuario, se conoce que la deforestación y la degradación de bosques tropicales genera entre el 15 y 35% de las emisiones globales (Houghton, 2005). El sector agropecuario es altamente emisor por el consumo de fertilizantes, por la descomposición anaeróbica y la liberación de metano ( $CH_4$ ) como el caso del arroz (MINAE-IMN, 2014) o la liberación de  $CH_4$  generada por la ganadería (Agarwal y col., 2008). El metano es un gas de efecto invernadero con alto valor de forzamiento radiactivo 23 veces mayor al del  $CO_2$  (Agarwal y col., 2008). Las praderas, asociadas a la ganadería ocupan el 41% de la superficie terrestre y contribuyen en un 18% al cambio climático (9% de las emisiones de  $CO_2$ , 37% de las emisiones de metano y 65% de óxido nitroso (Steinfeld y col., 2006).

A nivel mundial se estima que existen unos 3442 millones de hectáreas con pastos (FAO, 2007), de ellas 516 millones pueden estar cubiertas de sistemas agroforestales (Nair, Mohan y Nair, 2009). La ganadería vacuna es uno de los principales usos de la tierra en América Latina, y en general, en las regiones tropicales se caracteriza por bajos niveles de productividad y rentabilidad. Y es responsable de incrementos significativos en las tasas de deforestación, acompañados de procesos de degradación de suelos, fragmentación de paisajes, pérdidas de biodiversidad, escasez del agua y reducción del nivel de ingresos (Quero Carrillo, Enríquez Quiroz y Miranda Jiménez, 2007). El sector agropecuario y especialmente los sistemas silvopastoriles son reconocidos a nivel mundial por sus múltiples beneficios, como por sus productos de carne y leche para el consumo humano, los productos de madera (madera para aserrío y leña), sus árboles que proporcionan abrigo y alimento para la fauna silvestre (Alonso, 2011); ya que contribuyen a revertir los procesos de degradación de los pastizales porque protegen el suelo, contribuyen en la recuperación de la fertilidad (Nair, Mohan y Nair, 2009), son fijadores de dióxido de carbono ( $CO_2$ ) en la biomasa (Ibrahim y col., 2007; Bacab y col., 2013) y mejoran la calidad y

cantidad del recurso hídrico (Nair, Mohan y Nair, 2009).

Desde el punto de vista del cambio climático son una amenaza por la liberación del metano producto de las excretas de los animales domésticos (Steinfeld y col., 2006; Agarwal y col., 2008). En América Central y alrededor del mundo, existen extensas áreas de pasturas con un alto potencial para contribuir a la mitigación del cambio climático si son manejadas bajo sistemas silvopastoriles (Nair, Mohan y Nair, 2009; FAO, 2010). Actualmente existe información científica que reconoce el potencial de mitigación de los sistemas agrícolas y ganaderos (FAO, 2010) y el tema se discute bajo la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre Cambio Climático (Murphy y Boyle, 2012).

En las zonas semi secas de la provincia del Guayas en Ecuador sobresalen los sistemas silvopastoriles de *Hyparrhenia rufa* con *Guazuma ulmifolia* y *Samanea saman*. A *G. ulmifolia* se le atribuyen gran variedad de usos: producción de forraje y frutos para ganado bovino, frutos para fauna silvestre, tiene un néctar valioso para la producción de miel de alta calidad, leña de buena calidad, el fruto, hoja, corteza, raíz y la flor poseen propiedades medicinales, tienen múltiples efectos restauradores del medio ambiente y presta muchos servicios ambientales (Villa Herrera y col., 2009).

Con estos antecedentes, se inició un estudio cuyo objetivo fue cuantificar la capacidad de mitigación del cambio climático de sistemas silvopastoriles con *G. ulmifolia*, evaluando la cantidad de biomasa arbórea y bajo el suelo para desarrollar modelos de biomasa. Adicionalmente, se generó información sobre factores de expansión de biomasa e incrementos en biomasa que son elementos básicos para el monitoreo del carbono.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Zona de estudio

El trabajo de campo se desarrolló en la Hacienda El Diamante, ubicada en el cantón Balzar, provincia Guayas, Ecuador, a 52 msnm, con 26°C de media anual y una precipitación media de 834,7 a 1183,7mm (INAMHI, 2014). El predio registra un área de 265 hectáreas, destinadas en su gran mayoría a la ganadería. La cobertura del suelo está compuesta por la combinación de samán (*Samanea saman*) + pasto puntero (*Hyparrhenia rufa*) y guas-

mo (*Guazuma ulmifolia*) + (*H. rufa*). *Guazuma ulmifolia* forma parte del sistema silvopastoril desde el año 2000, cuando el propietario de la hacienda decidió proteger la regeneración de esta especie para ser usada como forraje. El área con samán, también es el resultado de una regeneración natural, luego de un incendio forestal en 1996. En ambas especies el distanciamiento entre individuos es irregular.

## 2.2 Evaluación de la biomasa de *G. ulmifolia* y de *Hyparrhenia rufa*

En cada uno de los sitios se instalaron tres unidades de muestreo circulares de 1000 m<sup>2</sup> (17,84 m de ra-

dio), de forma aleatoria y se midió el diámetro a 1,3 m sobre el nivel del suelo (Diámetro a la Altura de Pecho -DAP-) de cada uno de los árboles y la altura del fuste comercial y total con un hipsómetro Haga (50 árboles en promedio). La parcela se dividió en cuadrantes para muestrear distintos tamaños de árboles: en la unidad completa se midieron los que tenían un DAP > 4,8 cm, en 250 m<sup>2</sup> los individuos entre 1,6 y 4,7 cm y en una subparcela de 25 m<sup>2</sup> los arbustos entre 0,6 y 1,5 cm. El pasto puntero y la necromasa se evaluaron en unidades de 0,5 m<sup>2</sup>. La ubicación de cada unidad de muestreo se presenta en la Tabla 1. Para calcular el volumen se usó la fórmula de Smalian (Prodan y col., 1997).

**Tabla 1.** Ubicación de las unidades de muestreo dentro el área de estudio.

<b>GRID</b>	<b>UTM</b>	
<b>DATUM</b>	<b>WGS 84</b>	
<b>Descripción</b>	<b>Posición</b>	
UPM 4 guasmo- H. rufa	17 M 615376	9849155
UPM 5 guasmo- H. rufa	17 M 615280	9848718
UPM 6 guasmo- H. rufa	17 M 615695	9848589

Con el fin de calcular la biomasa de hojas, ramas y raíces, se extrajo el árbol promedio por parcela (MacDicken, 1997) y se determinó en el campo el peso (kg) de cada componente. Las raíces, principalmente la de anclaje, se extrajeron con una retroexcavadora. Seguidamente se colectaron muestras húmedas de aproximadamente 1,0 kg. Para el tronco se tomaron tres muestras (de la parte basal, central y apical) y se mezclaron para obtener una compuesta. Este material fue llevado al laboratorio y secado en un horno a 75°C hasta obtener un peso constante. La biomasa seca de cada componente se obtuvo del cociente "peso seco/peso húmedo".

Con la biomasa seca de cada componente se calculó el factor de expansión de biomasa para hojas, ramas y raíz. Con el fin de aumentar el tamaño de la muestra para este cálculo se utilizó información de la misma especie, generada bajo la misma metodología, por el proyecto "Manejo del cambio climático a través del sector forestal en Costa Rica" desarrollado por la Universidad Nacional de Costa Rica. Este factor relaciona la biomasa de cada componente con respecto a la del fuste y fue usado para calcular la biomasa total de los árboles medidos en pie. La biomasa seca se pasó a carbono usando el factor

de conversión de 0,5 (IPCC, 2013).

## 2.3 Ajuste de modelos alométricos

Los modelos se ajustaron mediante el método de mínimos cuadrados ordinarios con el programa estadístico Statgraphics Centurion XV. Se ensayaron aproximadamente 20 modelos para estimar la biomasa de cada componente del árbol (hojas, ramas, fuste, raíz), para el individuo completo y para el volumen. El rango diamétrico usado comprendió individuos desde 3,8 a 30,2 cm.

En todos los modelos la variable dependiente fue la biomasa o el volumen y la independiente el diámetro. En la selección de la ecuación de mejor ajuste se procedió según la metodología expuesta por Salas, (2002) y por Segura y Andrade Castañeda, (2008). Los supuestos de normalidad y homocedasticidad se probaron por medio del análisis gráfico de los residuales del modelo. Adicionalmente se graficaron los valores estimados contra los observados para ver si los modelos sobreestiman o subestiman el cálculo de la biomasa o del volumen. También por método gráfico se observó el comportamiento biológico de los modelos. La validación de las ecuaciones

se realizó según lo descrito por Moret y Ruiz, (1998) y Barrales, Peña y Reguera, (2004).

### 3 Resultados y Discusión

#### 3.1 Acumulación de biomasa y carbono

La cantidad de biomasa acumulada (C fijado) en sistemas agrosilvopastoriles depende de múltiples interacciones entre los componentes árbol, pasto, suelo y animal (Shibu, 2009). En los sistemas forestales el carbono se acumula en cuatro componentes (biomasa arriba del suelo, necromasa, sistemas radiculares y carbono orgánico del suelo) y la biomasa leñosa representa el carbono con mayor permanencia (Snowdon y col., 2001) y el mayor almacén a nivel de árbol.

En el presente estudio la biomasa total fue de  $19,75 \text{ Mg ha}^{-1}$  ( $9,8 \text{ Mg C}$ ), los árboles de guasmo según el muestreo acumularon el 83% ( $16,45 \text{ Mg ha}^{-1}$ ;  $8,23 \text{ Mg Cha}^{-1}$ ), mientras que el aporte de la necromasa y el pasto fue de  $1,4$  y  $1,9 \text{ Mg ha}^{-1}$  ( $0,7$  y  $0,95 \text{ Mg Cha}^{-1}$ ), con incrementos medios de  $1,08 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ao}^{-1}$  y  $0,55 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ao}^{-1}$ , respectivamente. El componente arbóreo se compone de un promedio de 497 árboles  $\text{ha}^{-1}$ , distribuidos en una amplitud diamétrica de 3,8 a 30,2 cm.

Estas reservas de biomasa y/o carbono son comparables a los existentes en otras latitudes en bosques caducifolios, por ejemplo, en el trópico seco de Costa Rica, en sistemas silvopastoriles las especies maderables nativas *Dalbergia retusa*, *Dyphisa robinoides* y *Pithecellobium saman* en la biomasa arbórea aérea fijaron anualmente  $0,2$ ;  $1,25$  y  $0,26 \text{ Mg Cha}^{-1}$ , respectivamente (Rojas, Ibrahim y Andrade, 2009). En zonas de clima seco en México se han reportado valores promedios de biomasa de árboles en potrero de  $13 \text{ Mg ha}^{-1}$  (Hughes Flint, Kauffman Boone y Jaramillo, 2000) y de  $5,9$  a  $7,7 \text{ Mg ha}^{-1}$  («Biomass, carbon, and nitrogen pools in Mexican tropical dry forest landscapes»). Torres Rivera y col., (2011) reportan para un sistema silvopastoril con baja densidad del componente arbóreo (120 árboles  $\text{ha}^{-1}$ ) una acumulación de  $2,86 \text{ Mg Cha}^{-1}$  a los tres años. En Colombia, con la implementación de sistemas silvopastoriles Chará y col., (2009) citan incrementos en C almacenado de  $0,51 \text{ Mg ha}^{-1} \text{ ao}^{-1}$  y en Costa Rica a los cuatro años y tres meses  $12,5 \text{ Mg Cha}^{-1}$  (Andrade, Brook e Ibrahim, 2008). También en potreros arbolados sin una edad definida (Chacón León y Alice Harvey, 2013) para Costa Rica (Esparza) y

Nicaragua (Mitiguás) indican un promedio de biomasa de  $10,7 \text{ Mg ha}^{-1}$  con variaciones entre  $5,3$  y  $13,5 \text{ Mg ha}^{-1}$ , para estos mismos sitios Ibrahim y col., (2007) cita cifras de  $3,2$  a  $14,2 \text{ Mg ha}^{-1}$  en árboles dispersos en potreros en Esparza y de  $9$  a  $17,9 \text{ Mg ha}^{-1}$  en Matiguás.

En Nicaragua, Ruiz, (2002) encontró contenidos de carbono de  $8,2 \pm 3,0 \text{ Mg Cha}^{-1}$  en pasturas nativas con árboles (100 árboles  $\text{ha}^{-1}$ ) y en pasturas mejoradas con árboles (110 árboles  $\text{ha}^{-1}$ ) de  $12,5 \pm 3,6 \text{ Mg ha}^{-1}$ . Mientras que en los Andes Colombianos la biomasa aérea de *Acacia decurrens* en sistema silvopastoril con abundancias de 1111 y 407 árboles  $\text{ha}^{-1}$ , mostró un incremento un anual de  $9,9$  y  $11,2 \text{ Mg Cha}^{-1}$  (Giraldo, Zapata y Montoya, 2008).

En el componente arbóreo la raíz acumuló el 18% de la biomasa total ( $2,96 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) y los componentes leñosos -raíz, fuste y ramas- el 95% ( $15,63 \text{ Mg ha}^{-1}$ ), similar a lo citado por Anguiano, Aguirre y Palma, (2013) quienes reportan cifras entre 85 y 98% incluyendo las hojas. La biomasa aérea de los árboles fue de  $13,49 \text{ Mg ha}^{-1}$ . El tronco representa el 47,4% de la biomasa del árbol y el 57,7% de la biomasa aérea, valor que concuerda con lo encontrado por Gómez y col., (2010) para *Gliricidia sepium* (60,9%) y *Leucaena leuccephala* (58,3%).

La biomasa (C) determinada en este estudio también es similar a la reportada en sistemas agroforestales en Changuinola Panamá, en cacao plantado a  $3 \times 3 \text{ m}$  más laurel a  $6 \times 6 \text{ m}$  y  $12 \times 12 \text{ m}$ ; el carbono almacenado en 25 años varió entre  $43 - 62 \text{ Mg Cha}^{-1}$ , cuyo incremento anual fue de  $1,7$  y  $2,5 \text{ Mg Cha}^{-1}$  (Ortiz, Riascos y Somarriba, 2008). Según Umaña y Conde, (2013), en Tolima, Colombia, en sistemas agroforestales de aguacate + plátano, cacao + aguacate y cacao + plátano, la fijación anual de carbono fue  $2,23$ ;  $4,14$  y  $0,52 \text{ Mg}$ , respectivamente.

En el componente arbóreo, la raíz a pesar de representar un carbono de mayor permanencia, ha sido poca estudiada porque se le atribuye un alto grado de dificultad (Dixon, 1995; Schlegel, 2001), a pesar de representar entre el 10 y 40% de la biomasa total (Cairns y col., 1997; MacDicken, 1997; Andrade e Ibrahim, 2003), en este estudio la raíz acumula el 18% de la biomasa del árbol. Cuantificar la biomasa radical es un esfuerzo que debe reconocerse en este estudio por la poca disponibilidad de información existente para la diversidad de especies. Usar valores generales en vez de información local y específica por especie puede generar cálculos con mucha

imprecisión.

Debe tenerse presente que, aunque la cantidad de biomasa o carbono determinada en este estudio sea similar o esté dentro del rango de lo reportado en la literatura, siempre existirán diferencias influen-

ciadas por la diversidad de arreglos espaciales de los sistemas silvopastoriles, diversidad de especies y variaciones metodológicas para cuantificar la biomasa.

**Tabla 2.** Modelos para estimar biomasa y volumen del fuste. El tamaño de la muestra fue 148 en todos los casos. Todos los modelos poseen una confianza  $P < 0,0001$ .

Modelo	$R^2$ (%)	EEE	EMA	DW	ECM	DA	E (%)	AIC
$Btotal = (-0,180763 + 58,812 * DAP)^2$	96,21	0,6038	0,4438	0,656768 ( $P = 0,0000$ )	9,971	0,351	2,909	2,308
$Bfuste = (-0,124328 + 40,4522 * DAP)^2$	96,22	0,4152	0,3053	0,656758 ( $P = 0,0000$ )	4,717	0,166	2,909	1,564
$Bramas = (-0,0984273 + 32,0264 * DAP)^2$	96,22	0,3287	0,2417	0,656857 ( $P = 0,0000$ )	2,957	0,104	2,909	1,1
$Braz = (-0,0770575 + 25,0645 * DAP)^2$	96,22	0,2573	0,1892	0,656732 ( $P = 0,0000$ )	1,81	0,06	2,909	0,614
$Bhojas = (-0,0399297 + 12,983 * DAP)^2$	96,22	0,1333	0,098	0,656575 ( $P = 0,0000$ )	0,486	0,017	2,907	-0,683
$Vol = (-0,00532694 + 1,80282 * DAP)^2$	96,24	0,0184	0,0134	0,682172 ( $P = 0,0000$ )	0,009	0	3,107	-4,408

*Btotal*: biomasa total del árbol (kg); *Bfuste*: biomasa del fuste (kg); *Bramas*: biomasa de ramas (kg); *Braz*: biomasa de raíz (kg); *Bhojas*: biomasa de hojas (kg); *DAP*: diámetro normal (m); *Vol*: volumen ( $m^3$ );  $R^2$ : coeficiente de determinación; *EEE*: error estándar de la estimación; *EMA*: error medio absoluto; *ECM*: error cuadrático medio; *DA*: diferencia agregada; *E* (%): error de predicción del modelo; *AIC*: índice de Akaike.

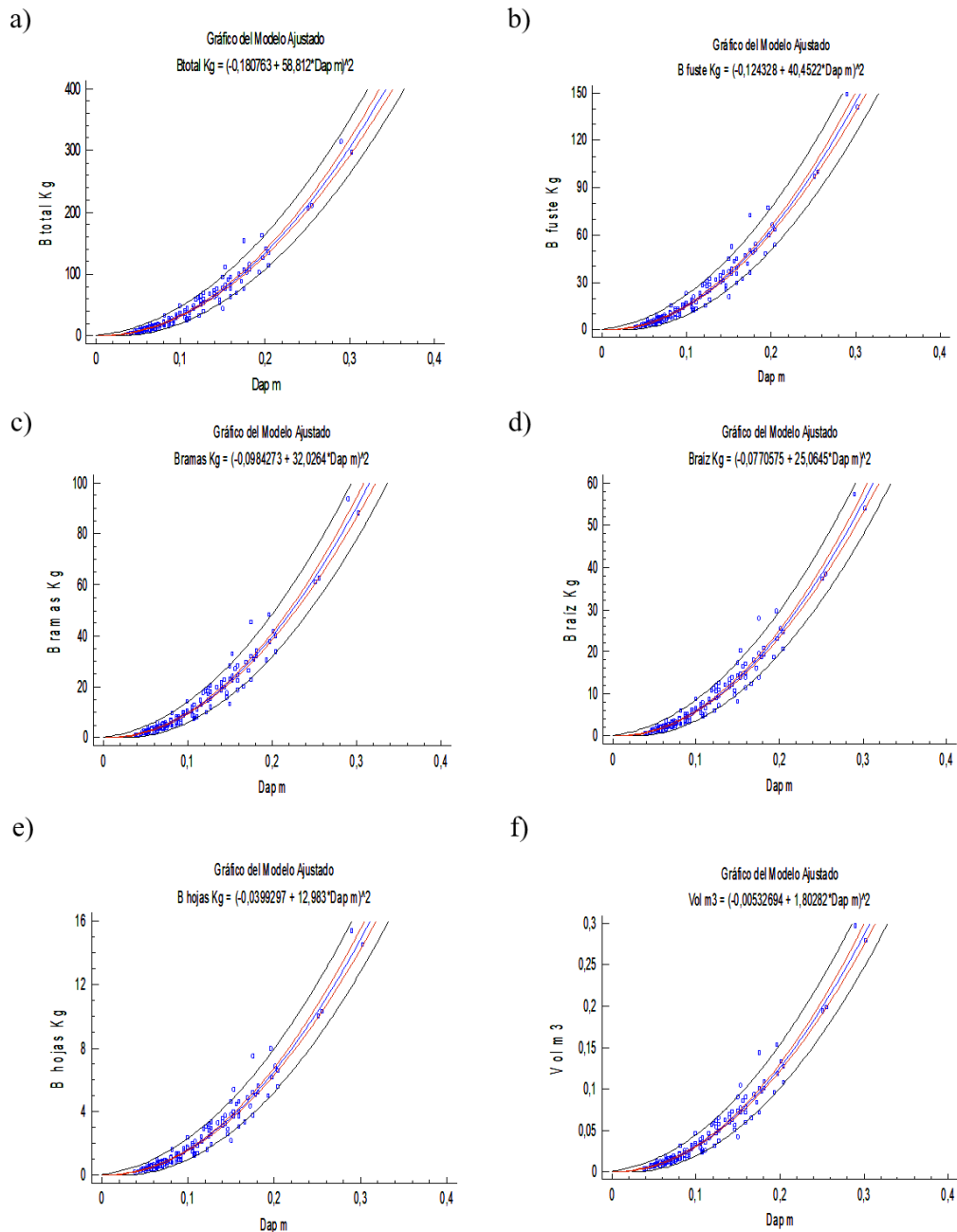
### 3.2 Modelos de biomasa, volumen y factores de expansión

Los modelos para estimar la biomasa de los distintos componentes del árbol y para la biomasa total presentaron muy buenos ajustes ( $R^2 > 0,96$ , con  $P < 0,0001$ ) y valores muy bajos para los otros estadísticos. Es importante resaltar que el error de predicción no supera el 3,1% (Tabla 2, Figura 1 y 2). Además, son modelos muy sencillos y prácticos que presentan poco grado de dificultad para el cálculo de la biomasa por usar solo el diámetro como variable regresiva. Se han logrado características similares de ajuste (predicción) con modelos para árboles en sistemas silvopastoriles cuya arquitectura es diferente a la de árboles en plantación pura y de bosque natural, por ejemplo, para árboles dispersos de motilón silvestre *Freziera canescens* Cabrera y col., (2007) logró un ajuste de  $R^2 = 89,61$  para estimar la biomasa aérea en función del DAP, y ajuste más bajo 71,81; 87,60; 87,57, cuando usaron como variable independiente la altura, el volumen y el área basal, respectivamente. Gómez y col., (2010) lograron ajustes inferiores lograron para *Gliricidia sepium* ( $R^2$  entre 75 y 86) y de 61 a 87% en *Leucaena leucocephala*. Es sorprendente el buen ajuste para ramas y hojas,

componentes que en otras investigaciones presentan un ajuste inferior como el reportado por Fonseca, Alice y Rey, (2009) para especies en bosque secundario (83,04% en hojas, 88,25% en raíz), para *Vochysia guatemalensis* (89,05% en hojas) e *Hieronyma alchorneoides* (89,69% en raíz), o  $R^2$  superiores al 70%, con errores de estimación superiores al 25% (Fonseca y col., 2016). Correlaciones bajas entre la biomasa de hojas y ramas con el diámetro también fueron reportadas por Montero y Kanninen, (2002), Nívar, González y Graciano, (2011) y Pérez y Kanninen, (2003).

El modelo elegido para estimar el volumen total del fuste presenta las mismas características de los modelos para biomasa (Tabla 2, Figura 1 y 2). La bondad de ajuste lograda ( $R^2 = 96,2\%$ ) es igual o superior al obtenido para otras especies (Da Cunha y Guimarães Finger, 2009; Barrios, López y Nieto, 2014; Ramos y col., 2014).

El factor de expansión de biomasa para hojas fue de 0,1 ( $S = 0,03$ ), 0,66 ( $S = 0,15$ ) para ramas y de 0,39 ( $S = 0,10$ ) en raíz, valores que se encuentran dentro del rango reportado en diferentes estudios, con diferentes especies y para otras latitudes (Fonseca, Alice y Rey, 2009; Schlegel, 2001; Segura y col., 2000).



**Figura 1.** Modelos para estimar biomasa y volumen. a) biomasa total, b) biomasa del fuste, c) biomasa de ramas, d) biomasa de raíz, e) biomasa de hojas, f) volumen del fuste.

## 4 Conclusiones

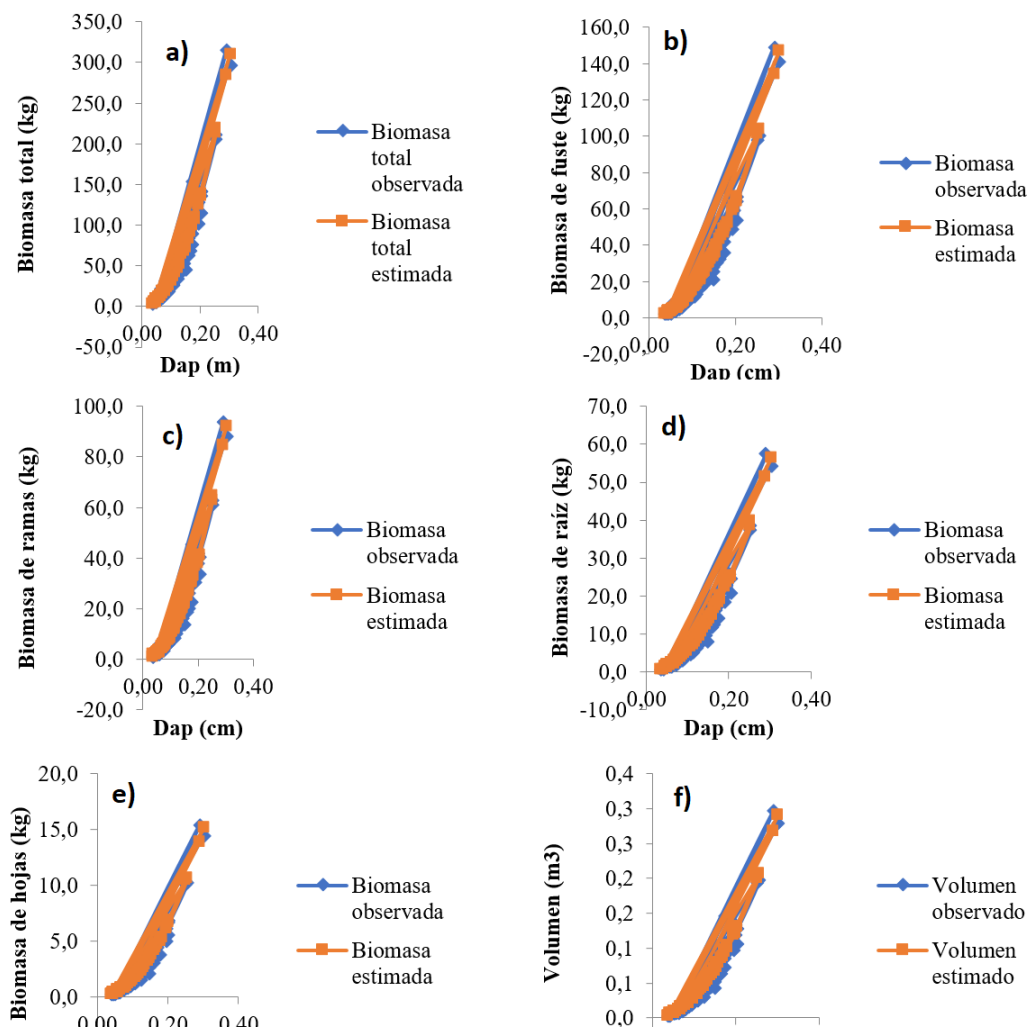
Los sistemas silvopastoriles representan un aporte significativo a la mitigación del cambio climático, beneficio que puede incrementarse si se introducen técnicas de manejo.

Las ecuaciones para estimar la biomasa y el volumen de los árboles ayudan a reducir el costo de los inventarios de carbono para aquellas organizaciones que están en proceso de buscar la neutralidad del carbono o para la definición de políticas a nivel nacional. El uso del diámetro como variable predic-

tora el diámetro facilita su aplicación y reduce los errores de estimación, además, la capacidad de predicción de estos modelos ( $R^2 > 96\%$ ) y el bajo error de estimación ( $E < 3\%$ ) aportan mucha confiabilidad en las estimaciones.

Cuantificar la biomasa radical es un esfuerzo que

debe reconocerse en este estudio por la poca disponibilidad de información existente para la diversidad de especies. El uso de valores generales en vez de información local y específica por especie puede generar cálculos con mucha imprecisión.



**Figura 2.** Estimación de biomasa y volumen a partir del diámetro: a) biomasa total [ $B_{total} = (-0,180763 + 58,812 * DAP)^2$ ], b) biomasa del fuste [ $B_{fuste} = (-0,124328 + 40,4522 * DAP)^2$ ], c) biomasa de ramas [ $B_{ramas} = (-0,0984273 + 32,0264 * DAP)^2$ ], d) biomasa de raíz [ $B_{raiz} = (-0,0770575 + 25,0645 * DAP)^2$ ], e) biomasa de hojas [ $B_{hojas} = (-0,0399297 + 12,983 * DAP)^2$ ], f) volumen del fuste [ $Vol = (-0,00532694 + 1,80282 * DAP)^2$ ].

## Referencias

Agarwal, Neeta y col. (2008). «In vitro methanogenesis, microbial profile and fermentation of green forages with buffalo rumen liquor as in-

fluenced by 2-bromoethanesulphonic acid». En: *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 21,6, 818-823. Online: <https://bit.ly/2tDmkEU>.

Alonso, J. (2011). «Los sistemas silvopastoriles y su contribución al medio ambiente». En: *Revista*

- Cubana de Ciencia Agrícola 45.2, 107-115. Online: <https://bit.ly/2T4G8jF>.
- Andrade, Hernán J., Robert Brook y Muhammad Ibrahim (2008). «Growth, production and carbon sequestration of silvopastoral systems with native timber species in the dry lowlands of Costa Rica». En: *Plant and Soil* 308.1-2, 11-22. Online: <https://bit.ly/2GTKQdN>.
- Andrade, Hernán y Muhammad Ibrahim (2003). «¿Cómo monitorear el secuestro de carbono en los sistemas silvopastoriles?» En: *Agroforestería en las Américas* 10.39-40, 109-116. Online: <https://bit.ly/2XBIWoi>.
- Anguiano, J. M., J. Aguirre y J. M. Palma (2013). «Secuestro de carbono en la biomasa aérea de un sistema agrosilvopastoril de Cocos nucifera, Leucaena leucocephala Var. Cunningham y Penisetum purpureum. Cuba CT-115». En: 17.1, 149-160. Online: <https://bit.ly/2SzC71K>.
- Bacab, H. M. y col. (2013). «Los sistemas silvopastoriles intensivos con Leucaena leucocephala: una opción para la ganadería tropical». En: *Avances en Investigación Agropecuaria* 17.3, 67-81. Online: <https://bit.ly/2Nydtxj>.
- Barrales, V., R. Peña y Pedro Fernández de la Reguera (2004). «Validación de modelos: un enfoque aplicado». En: *Agricultura técnica* 64.1, 66-73. Online: <https://bit.ly/2UcqCPo>.
- Barrios, Alonso, Ana M. López y Víctor Nieto (2014). «Predicción de volúmenes comerciales de Eucalyptus grandis a través de modelos de volumen total y de razón». En: *Colombia forestal* 17.2, 137-149. Online: <https://bit.ly/2H68aUT>.
- Cabrera, G. y col. (2007). «Estimación de la biomasa aérea y captura de carbono en árboles dispersos en potreros con motilon silvestre (Freziera canescens) en el Municipio de Pasto Nariño – Colombia». En: *Revista de Ciencias Agrícolas* 24.12, 46-55. Online: <https://bit.ly/2NAtO4S>.
- Cairns, Michael A. y col. (1997). «Root biomass allocation in the world's upland forests». En: *Oecologia* 111.1, 1-11. Online: <https://bit.ly/2EAKpm6>.
- Chacón León, Mario y Celia Alice Harvey (2013). «Reservas de biomasa de árboles dispersos en potreros y mitigación al cambio climático». En: *Agronomía Mesoamericana* 24.1, 17-26. Online: <https://bit.ly/2BPXXsb>.
- Chará, J. y col. (2009). *Evaluación ambiental del proyecto de ganadería colombiana sostenible*.
- Da Cunha, Thiago Augusto y César Augusto Guimarães Finger (2009). «Modelo de regresión para estimar el volumen total con corteza de árboles de Pinus taeda L. en el sur de Brasil». En: *Revista Forestal Mesoamericana Kurú* 6.16, 1-15. Online: <https://bit.ly/2XBpbMu>.
- Dixon, Robert K. (1995). «Sistemas agroforestales y gases invernadero». En: 2.7, 22-26. Online: <https://bit.ly/2GPFY99>.
- FAO (2010). *Challenges and opportunities for carbon sequestration in grassland systems. A technical report on grassland management and climate change mitigation*. Integrated Crop Management 9. Roma, Italia. Online: <https://bit.ly/1ElclQJ>: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2007). *State of the world's forests 2007*. FAO.
- Fonseca, W. y col. (2016). *Construcción de Funciones Alométricas para Costa Rica en el Contexto del Proyecto de Protección Ambiental a través de la Protección de los Bosques de Centro América (Informe final)*. Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2VnJcE7>: Cooperación Internacional entre la Universidad Nacional y la Agencia de Cooperación Alemana (GIZ), 1-30. Online:
- Fonseca, William, Federico Alice y José María Rey (2009). «Modelos para estimar la biomasa de especies nativas en plantaciones y bosques secundarios en la zona Caribe de Costa Rica». En: *Bosque (Valdivia)* 30.1, 36-47. Online: <https://bit.ly/2H6zGRW>.
- Giraldo, A., M. Zapata y E. Montoya (2008). «Captura y flujo de carbono en un sistema silvopastoril de la zona Andina Colombiana». En: *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal* 16.4, 241-245. Online: <https://bit.ly/2Nvrege>.
- Gómez, H. y col. (2010). «Estimaciones de biomasa aérea y carbono almacenado en Gliricidia sepium (lam.) y Leucaena leucocephala (jacq.) y su aplicación en sistemas silvopastoriles.» En: *Información Técnica Económica Agraria* 106.4, 256-270. online: <https://bit.ly/2H7CLBg>.
- Herrán, Claudia (2012). *El cambio climático y sus consecuencias para América Latina*. Online: <https://bit.ly/1zLUkwX>: Friedrich-Ebert-Stiftung.
- Houghton, Richard A. (2005). «Tropical deforestation as a source of greenhouse gas emissions». En: *Tropical deforestation and climate change* 13, 13-20. Online: <https://bit.ly/2T1TeOG>.
- Hughes Flint, R., J. Kauffman Boone y Víctor J. Jaramillo (2000). «Ecosystem-scale impacts of de-

- forestation and land use in a humid tropical region of Mexico». En: *Ecological Applications* 10.2, 515-527. Online: <https://bit.ly/2H5wENV>.
- INAMHI (2014). *Anuario Meteorológico. Nro. 51-2011*. Inf. téc. Quito, Ecuador. Online: <https://bit.ly/2EjXfE1>: Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología,
- IPCC (2013). *Cambio climático 2013: bases físicas. Contribución del Grupo de trabajo I al Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático*. Resumen para responsables de políticas. públicas. Online: <https://bit.ly/2q1RItV>: Panel Intergubernamental de Expertos sobre Cambio Climático.
- Ibrahim, M. y col. (2007). «Almacenamiento de carbono en el suelo y la biomasa arbórea en sistemas de usos de la tierra en paisajes ganaderos de Colombia, Costa Rica y Nicaragua». En: *Agroforestería en las Américas* 45, 27-36. Online: <https://bit.ly/2T7wo8q>.
- Jaramillo, Víctor J. y col. «Biomass, carbon, and nitrogen pools in Mexican tropical dry forest landscapes». En:
- MINAE-IMN (2014). *Tercera comunicación nacional-Convención Marco de las Naciones Unidas sobre cambio climático*. Inf. téc. San José, Costa Rica. Online: <https://unfccc.int/resource/docs/natc/crinc3.pdf>: Ministerio del Ambiente y Energía-Instituto Meteorológico Nacional.
- MacDicken, Kenneth G. (1997). «A guide to monitoring carbon storage in forestry and agroforestry projects». En: *Forest Carbon Monitoring Program*, 87. Online: <https://bit.ly/2SuBoP9>.
- Montero, Marcelino y Markku Kanninen (2002). «Biomasa y Carbono en plantaciones de Terminalia amazonia en la zona sur de Costa Rica.» En: *Recursos Naturales y Ambiente* 39-40. Online: <https://bit.ly/2VpNATb>.
- Moret, A. Y. y P. Ruiz (1998). «Determinación de ecuaciones de volumen para Mureillo (*Erisma uncinatum*) en la Unidad C4 de la Reserva Forestal Imataca, Bolívar-Venezuela.» En: *Revista Forestal Venezolana* 42.2, 187-197. Online: <https://bit.ly/2H68G54>.
- Murphy, D. y J. Boyle (2012). *Agriculture and Climate Change: post-Durban issues for negotiators. IISD Food Security and Climate Change Initiative*. Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2UaXHv5>: International Institute for Sustainable Development (IISD), pág. 13.
- Nair, P. K., Kumar B. Mohan y V. D. Nair (2009). «Agroforestry as a strategy for carbon sequestration». En: *Journal of plant nutrition and soil science* 172.1, 10-23. Online: <https://bit.ly/2XsTlfp>.
- Návar, J., N. González y J. Graciano (2011). «Ecuaciones para estimar componentes de biomasa en plantaciones forestales de Durango, México.» En: *Simposio Internacional Medición y Monitoreo de la Captura de Carbono en Ecosistemas Forestales*. Valdivia. Online: <https://bit.ly/2Vqt98u>.
- Ortiz, Ángela, Lorena Riascos y Eduardo Somarriba (2008). «Almacenamiento y tasas de fijación de biomasa y carbono en sistemas agroforestales de cacao (*Theobroma cacao*) y laurel (*Cordia alliodora*)». En: *Agroforestería en las Américas* 46, 26-29. Online: <https://bit.ly/2VugBgJ>.
- Prodan, M. y col. (1997). *Mensura forestal. (CATIE: Série Investigación y Educación en Desarrollo Sostenible)*. Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2BRlwR9>: IICA-BMZ-GTZ.
- Pérez, D. y M. Kanninen (2003). «Aboveground biomass of *Tectona grandis* plantations in Costa Rica». En: *Journal of Tropical Forest Science* 15.1, 199-213. Online: <https://bit.ly/2EINF3l>.
- Quero Carrillo, Adrián Raymundo, Javier Francisco Enríquez Quiroz y Leonor Miranda Jiménez (2007). «Evaluación de especies forrajeras en América tropical, avances o status quo». En: *Interciencia* 32.8, 566-571. Online: <https://bit.ly/2XundNB>.
- Ramos, José A. y col. (2014). «Ecuaciones y tablas de volumen para dos especies de *Pinus* de la Sierra Purhépecha, Michoacán». En: *Revista mexicana de ciencias forestales* 5.23, 92-109. Online: <https://bit.ly/2EAyWD8>.
- Rojas, Jairo, Muhammad Ibrahim y Hernán J. Andrade (2009). «Secuestro de carbono y uso de agua en sistemas silvopastoriles con especies maderables nativas en el trópico seco de Costa Rica». En: *Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 10.2, 214-223. Online: <https://bit.ly/2Svm84r>.
- Ruiz, A. (2002). *Fijación y almacenamiento de carbono en sistemas silvopastoriles y competitividad económica en Matiguás, Nicaragua*. Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2le8mCa>: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.
- Salas, E. C. (2002). «Ajuste y validación de ecuaciones de volumen para un relicto del bosque de Roble-Laurel-Lingue». En: *Bosque* 23.2, 81-92. Online: <https://bit.ly/2VnEs1p>.

- Schlegel, Bastienne (2001). «Estimación de la Biomasa y Carbono en Bosques del Tipo Forestal Siempreverde». En: *Valdivia*, Online: <https://bit.ly/2Xse0FS>.
- Segura, M. y Hernán J. Andrade Castañeda (2008). «¿Cómo construir modelos alométricos de volumen, biomasa o carbono de especies leñosas perennes?» En: *Agroforestería en las Américas* 46, 89-96. Online: <https://bit.ly/2Ub1clb>.
- Segura, Milena y col. (2000). «Almacenamiento y fijación de carbono en bosques de bajura de la zona atlántica de Costa Rica». En: *Revista Forestal Centroamericana (CATIE)* 30, 23-28. Online: <https://bit.ly/2U69Tgq>.
- Shibu, Jose (2009). «Agroforestry for ecosystem services and environmental benefits: an overview». En: *Agroforestry systems* 76.1, 1-10. Online: <https://bit.ly/2GP7dB2>.
- Snowdon, P. y col. (2001). *Protocol for sampling tree and stand biomass*. Inf. téc. 31. doi 10.13140/RG.2.1.2825.8967. National Carbon Accounting System, Australian Greenhouse Office.
- Steinfeld, Henning y col. (2006). *Livestock's long shadow: environmental issues and options*. Online: <https://bit.ly/1gUpXqK>: Food & Agriculture Org.
- Torres Rivera, José Antonio y col. (2011). «Secuestro de carbono en potreros arbolados, potreros sin árboles y bosque caducifolio de Huatusco, Veracruz». En: *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 13.3, 543-549. Online: <https://bit.ly/2EgDugx>.
- Umaña, J.A y A. Conde (2013). «Huella de carbono en los sistemas de producción agrícola dominantes en el municipio de Falan, Tolima.» En: *Revista Ciencia Animal* 6, 11-27. Online: <https://bit.ly/2NC07jW>.
- Villa Herrera, Adán y col. (2009). «Utilización del guácimo (*Guazuma ulmifolia* Lam.) como fuente de forraje en la ganadería bovina extensiva del trópico mexicano». En: *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10.2, 253-261. Online: <https://bit.ly/2Sysmkp>.



## ESTIMACIÓN DEL BALANCE HÍDRICO DE UNA CUENCA ANDINA TROPICAL

### ESTIMATION OF THE WATER BALANCE OF FOR A SMALL TROPICAL ANDEAN CATCHMENT

Paola Duque-Sarango\*<sup>1</sup> , Ronald Cajamarca-Rivadeneira<sup>2</sup> , Beverley C.  
Wemple<sup>3</sup>  y Manuel E. Delgado-Fernández<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Biotecnología Ambiental, INBIAM, Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador

<sup>2</sup> Consultor Individual, ronaldcajamarca93@gmail.com

<sup>3</sup> Departamento de Geografía, Universidad de Vermont, Burlington, Vermont, USA

\*Autor para correspondencia: pduque@ups.edu.ec

Manuscrito recibido el 20 de octubre de 2018. Aceptado, tras revisión, el 20 de febrero de 2019. Publicado el 1 de marzo de 2019.

#### Resumen

El presente estudio estima el balance hídrico para una cuenca tropical en los Andes de Ecuador. Se estudió la variación temporal de la precipitación y la temperatura de la microcuenca Chaquilcay, ecosistema natural situado dentro del Bosque y Vegetación Protector Aguarongo en Gualaceo, Ecuador. Para examinar la variabilidad temporal de la temperatura y la precipitación, se estudiaron cuatro estaciones meteorológicas del Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI) durante el periodo 1982 a 2015. Para cuantificar las contribuciones y pérdidas de agua, se llevaron a cabo análisis estadísticos de las series temporales. Mientras que, para llenar y validar las series de precipitación y temperatura, se utilizó un análisis de doble masa desarrollando estaciones de referencia y con ello completar los registros faltantes. Los datos de temperatura se complementaron con la trama isotérmica del Ecuador. Además, se usó un modelo de elevación digital (MED) para predecir la cantidad de luz solar y se aplicó el método de Thornthwaite (1948) para estimar series temporales de evapotranspiración. El análisis de balance hídrico indica 843,7 mm de precipitación anual total, una diferencia de almacenamiento de 18,71 mm que representa el 2,22% de la precipitación anual total, un excedente de 144,5 mm y una evapotranspiración real de 680,5 mm, que asciende a 17,13% y 80,65% del total anual de precipitación, respectivamente.

**Palabras clave:** Balance hídrico, evapotranspiración, Thornthwaite, norte de los Andes, hidrología tropical.

#### Abstract

The present study seeks to estimate the water balance for a tropical catchment in the Andes of Ecuador. Temporal variation in precipitation and temperature of the Chaquilcay microcatchment were studied; it is a natural ecosystem situated in the Aguarongo Protected Forest in Gualaceo, Ecuador. Four meteorological stations of the National Institute of Meteorology and Hydrology (INAMHI - Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología) were studied for 33 years (1982-2015), in order to quantify the contributions and losses of water, and statistical analyzes of the time series. To fill and validate the series of precipitation and temperature, a double mass analysis was used to develop reference stations and fill missing records. Temperature data were supplemented with the isothermal raster of Ecuador. A digital elevation model (DEM) was used to predict the amount of sun light, and the Thornthwaite method (1948) was applied to estimate time series of evapotranspiration. Our water balance analysis indicates 843,7 mm of total annual precipitation, a storage difference of 18,71 mm representing 2,22% of the total annual precipitation, surplus of 144,5 mm, and current evapotranspiration of 680,5 mm, amounting to 17,13% and 80,65% of the total annual precipitation, respectively.

**Keywords:** Catchment water balance, evapotranspiration, Thornthwaite, northern Andes, tropical hydrology.

---

Forma sugerida de citar: Duque-Sarango, P., Cajamarca-Rivadeneira, R., Wemple, B. C. y Delgado-Fernández, M. (2019). Estimación del balance hídrico de una cuenca andina tropical. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol. 29(1):56-69. <http://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.05>.

---

IDs Orcid:

Paola Duque Sarango: <http://orcid.org/0000-0003-4484-7273>

Ronald Cajamarca Rivadeneira: <http://orcid.org/0000-0001-5658-6539>

Beverley C. Wemple: <http://orcid.org/0000-0002-3155-9099>

Manuel E. Delgado Fernández: <http://orcid.org/0000-0002-9532-7940>

## 1 Introducción

Los cambios globales que implican desplazamientos simultáneos y rápidos tanto en las temperaturas superficiales de la tierra como en la cobertura terrestre han provocado cambios profundos en el equilibrio hídrico mundial, el ciclo del carbono y los ecosistemas (Aber y col., 2001). Los ecosistemas de alta montaña son particularmente vulnerables a los impactos de estos cambios globales, con cambios documentados en la distribución de especies, composición de las comunidades y tasas de crecimiento de la vegetación (Dirnböck, Dullinger y Grabherr, 2003; Kulonen y col., 2018; Zhañay, 2018). Estos cambios alterarán el balance hídrico de la cuenca a través de agua diferencial y captación de carbono por las plantas, a medida que se altera la distribución y eficiencia en el uso del agua. Un metanálisis reciente de diferentes lugares del mundo sobre el uso de agua muestra la importancia de la captación del agua y la evapotranspiración (Schlesinger y Jasechko, 2014), pero la representación de los ecosistemas tropicales en estas áreas está limitada por la falta de datos y estudios a largo plazo. Se necesita más información y análisis de los registros existentes – y el desarrollo de modelos predictivos – de las regiones tropicales del mundo, con el fin de mejorar la comprensión de los cambios globales en el equilibrio hídrico inducido por el cambio climático y la cobertura terrestre.

Los Andes tropicales son una de las regiones más hidrológicamente diversas, debido a la convergencia de los sistemas climáticos amazónicos y ecuatoriales del Pacífico, aunado a terrenos excesivamente pronunciados y un alto nivel de biodiversidad vegetal (Crespo y col., 2011). El crecimiento demográfico y la intensificación del uso de la tierra en los Andes tropicales han provocado alteraciones en el ciclo natural del agua (Ochoa Tocachi y col., 2016). Las nuevas observaciones de las cuencas montañosas en los Andes del Ecuador revelan la importancia de la variabilidad de las precipitaciones (Celleri y col., 2007; Padrón y col., 2015) y mecanismos de producción de escorrentía (Crespo y col., 2011; Mosquera y col., 2015) sobre el balance hídrico.

Los modelos de cambio climático y los productos de América del Sur también proporcionan nuevas perspectivas sobre la magnitud y la forma del cambio climático para Sudamérica. La variación media de la temperatura superficial global para el

período 2016 – 2035 en relación con 1986 – 2005 es similar para los cuatro RCPs, y estará en el rango de 0,3°C y 0,7°C (confianza media) (IPCC, 2014). Los productos de modelos climáticos de escala reducida para Sudamérica predicen cambios en la magnitud y estacionalidad de las precipitaciones (Vera y col., 2006; Urrutia y Vuille, 2009), con los cambios previstos en el balance hídrico relacionados con el modelo de circulación general (GCM) de los datos (Buytaert, Célleri y Timbe, 2009). A lo largo de Sudamérica, el cambio climático impactará a las economías vinculadas a la agricultura y los recursos naturales (Magrin, 2015; Loor Barrezueta, 2017).

Por lo tanto, se estudiaron registros climatológicos a largo plazo para la microcuenca Chaquilcay, ubicada en la reserva de bosque de vegetación protectora de Aguarongo (BVPA) en los Andes ecuatorianos, utilizando un modelo espacial explícito para obtener el balance de agua en esta zona. El agua se considera el elemento ambiental más importante de este ecosistema, ya que el área de estudio sirve como una de las fuentes importantes de abastecimiento de agua para los asentamientos en la región (Minga y col., 2002; Jadán, 2015). Se utilizaron los criterios establecidos por el Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI) del Ecuador, con referencia a la elección de la estación meteorológica; además, se adoptaron los criterios de la Organización Meteorológica Mundial (OMM) para la selección de registros climatológicos. El objetivo era evaluar la variabilidad temporal en los componentes del balance hídrico como un estudio de referencia para futuras evaluaciones y analizar los impactos del cambio climático y el uso de la tierra en la región.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Área de estudio

El área de estudio comienza en el bosque protegido Aguarongo (BVPA- El Bosque de Vegetación Protectora Aguarongo), un área protegida declarada por el Ministerio del medio ambiente (MAE) como la principal fuente de abastecimiento de agua para las comunidades de los cantones Gualaceo, Sigsig y Cuenca (Minga y col., 2002). Hay 191 arroyos en este ecosistema, y de acuerdo a la topografía del terreno existen cuatro microcuencas en el río Paute. La presente investigación se dirige a la micro-cuenca de Chaquilcay, ya que es el sistema natural con mayor

interés local.

La microcuenca del río Chaquilcay se ubica en las coordenadas geográficas entre los meridianos  $78^{\circ}48'54''$  y  $78^{\circ}51'8''$  longitud oeste del meridiano de Greenwich, y los paralelos  $2^{\circ}51'28''$  y  $2^{\circ}56'35''$  latitud sur, representados bajo las coordenadas UTM:

742876 O – 9683894 S y 738733 O – 9674451 S, zona 17S. Esta micro-cuenca tiene un área de drenaje de  $20,92 \text{ km}^2$ , de los cuales  $9,39 \text{ km}^2$  se encuentra dentro del bosque de Aguarongo. Según la ubicación política territorial, el sitio de estudio se ubica en la parroquia de Jadán, perteneciente al cantón Gualaico (Figura 1).

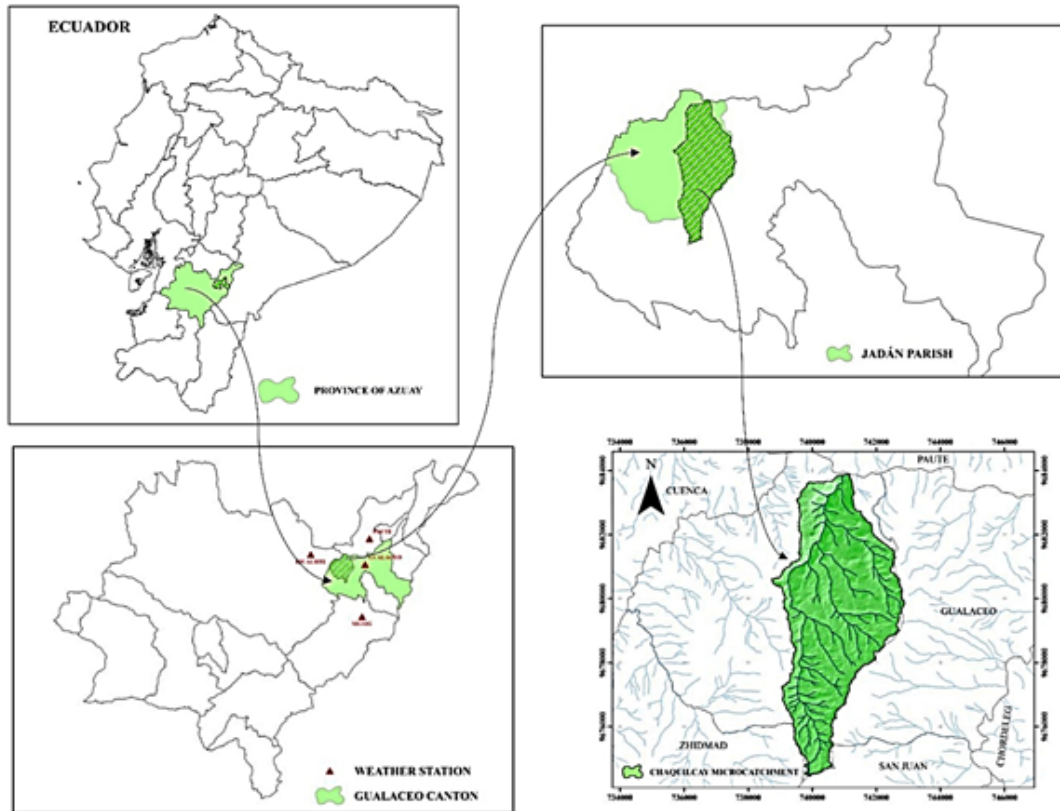


Figura 1. Ubicación de la microcuenca Chaquilcay.

Entre las características físicas de la microcuenca se observa que esta tiene una pendiente con una inclinación del 34%, y se encuentra entre 3242 – 2271 msnm, con una diferencia de 971 msnm entre los puntos más altos y los más bajos. En cuanto a la edafología, las órdenes de los suelos son Inceptisoles, Mollisoles, Alfisoles, y las texturas predominantes son arcillosos, franco y franco-arcilloso. Además, una gran parte de la superficie está ocupada por cultivos permanentes como la gramínea ( $7,78 \text{ km}^2$ ); el bosque nativo está en el sur y al este de la micro-cuenca.

Durante el período 2000 – 2008 el bosque nativo le dio paso a una vegetación arbustiva a una tasa

de 8,37 ha/año (Minga y col., 2002; Prado Farfán, 2015). Esta pérdida de vegetación ha impactado el ciclo hidrológico, reduciendo la disponibilidad de agua, que, debido a la importancia de la gestión y protección del agua, genera conflictos entre las comunidades asentadas. El muestreo realizado en el área de estudio indica que los suelos tienen altos niveles de contenido de materia orgánica y capacidades de campo que oscilan entre 13,2 y 24,9 mm (Tabla 1). Estos suelos altamente orgánicos son típicos de la región y han demostrado ser importantes para la retención y provisión del agua (Célleri y Feyen, 2009).

**Tabla 1.** Resumen del análisis estadístico en las muestras del suelo (Cajamarca R., 2017).

	Mínima	Máxima	Media	Mediana
SOM (%)	9,2	33,8	21,3	21,29
FC (mm)	13,2	24,9	18,7	19,05

## 2.2 Selección de las estaciones meteorológicas

La Tabla 2 muestra los criterios para seleccionar las estaciones meteorológicas analizando el tipo de estación, el radio de acción y las características del terreno, además de considerar una duración mínima de 30 años, según lo propuesto por la Organización

Meteorológica Mundial (OMM, 2011). Por lo tanto, se eligieron cuatro estaciones meteorológicas distribuidas fuera de la microcuenca de Chaquilcay. Estas estaciones registraron series en el período 1982-2015, adquiriendo datos mensuales de precipitación y temperatura de las estaciones climatológicas de Gualaceo y Paute, y sólo precipitaciones en las estaciones pluviométricas de Sigsig y Ricaurte.

**Tabla 2.** Resumen de las estaciones meteorológicas seleccionadas en el período bajo estudio 1982-20154

Código	Estación	Tipo de estación	Distancia <sup>1</sup> (km)	Altitud (msnm)	Variable medida <sup>2</sup>	INAMHI radio de acción <sup>3</sup>	Datos faltantes %
M0139	Gualaceo	Principalmente Climatológica	4,25	2230	P(mm) Mt (°C)	25 km	8,58 15,2
M0138	Paute	Normalmente Climatológica	9,52	2194	P(mm) Mt (°C)	25 km	5,88 9,8
M0424	Sigsig	Pluviométrica	12,57	2600	P(mm)	20 km	5,64
M0426	Ricaurte	Pluviométrica	13,38	2545	P(mm)	20 km	0,98

<sup>1</sup> Se refiere a la distancia de la estación meteorológica al centro de la microcuenca.

<sup>2</sup> Las variables medidas incluyen P= precipitación mensual total, Mt = temperatura media mensual.

<sup>3</sup> Radio de acción según las recomendaciones de la OMM para estaciones comunes.

<sup>4</sup> Información obtenida de los anuarios proporcionados por el Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI).

## 2.3 Análisis de series temporales

### 2.3.1 Estimado de datos faltantes

El método de regresión lineal resulta ser muy útil en hidrología debido a su eficacia en la estimación de datos faltantes en las regiones costeras y andinas de Ecuador (Carrera V. y col., 2016), y se utilizó para rellenar datos de precipitación faltantes. Toro y col., (2015) y Aparicio M., (2015) afirman que la regresión lineal se puede aplicar para estimar los datos faltantes de la temperatura cuando se cumplen estas condiciones: distancia de < 25km, altitud de  $\pm 30$  m, siendo las condiciones climáticas del área de estudio similares. Este método se utilizó a pesar de tener una altitud de  $\pm 36$  m, ya que el uso de otros métodos implica ciertas desventajas. Dentro del conjunto

de datos utilizado, el promedio aritmético ajustable de datos faltantes es inferior al 10%.

### 2.3.2 Validación y homogeneización de los valores estimados

Con el fin de validar los datos estimados, se realizaron la prueba de trazado de Thom (Barros López y Troncoso Salgado, 2010) y la curva de doble masa (Dingman, 2002). La primera establece una hipótesis sobre la mediana para verificar la confiabilidad de los datos, y la segunda demuestra por medio de un gráfico la relación que existe entre las variables. La prueba de trazado de Thom analiza la homogeneidad o aleatoriedad de una serie. Esto se logra calculando la media de una serie y comparando las observaciones individuales con esa serie. Los datos de

la serie se codifican como valores de NA o positivos cuando están por encima de la media ( $x - Med > 0$ ), y como valores NB o negativos cuando están por debajo de la media ( $x - Med < 0$ ). Cada cambio de signo en la serie de datos se conoce como trazo y se codifica como NS. Para verificar la homogeneidad, los valores NS deben estar dentro del rango de 10% y 90% de probabilidad para cada NA. Si el valor NS supera el intervalo, la serie se identifica como aleatoria.

El análisis de la curva de doble masa es un método gráfico para evaluar el cambio de estación a lo largo del tiempo. Se construye como una curva de los valores anuales de la estación en estudio en contraste con otras estaciones o grupos de estaciones confiables. La serie se considera estacionaria en el tiempo cuando la gráfica de datos y una línea recta con un coeficiente de correlación  $r$  es cercano a uno. Los cambios de una línea de 1:1 indican condiciones variables en una estación comparada con la otra (s). La estacionalidad en la curva de doble masa se puede utilizar para confirmar la validez de la estación y completar los registros que faltan en una estación de interés.

## 2.4 Estimación de las variables faltantes

### 2.4.1 Temperatura

Las temperaturas de referencia para las estaciones que no calculan esta variable se midieron utilizando

la herramienta Extract Multi Values de los puntos ArcGIS, utilizando el recorrido isotérmico mensual del INAMHI para el período 1981-2010. Esta herramienta proporciona un medio de extracción interpolado basada en el análisis regional de las variables climáticas proporcionadas en estos recorridos del INAMHI.

### 2.4.2 Cantidad de luz solar

Para estimar las horas de luz solar para el modelo de evapotranspiración, se utilizaron un DEM y algoritmos de ArcGIS para determinar la cantidad de energía solar a través de la orientación y la inclinación de los píxeles representados en el modelo de elevación. La Figura 2 muestra la descripción esquemática de la preparación de los datos y las etapas que se desarrollan para obtener la cantidad de luz solar u horas de luz solar.

Basándose en el DEM, los mapas de las pendientes y los aspectos reclasificados se desarrollaron y combinaron para obtener el índice morfológico (Bezzi y Vitti, 2005). Este índice se procesó mediante la herramienta ArcGIS Spatial Analyst, utilizando las recomendaciones de la FAO (Allen, 2006), para producir recorridos de horas de luz solar utilizando el esquema ordinario de interpolación de Kriging. Los datos introducidos corresponden al día 15 de cada mes del año 2015, con un límite de tiempo de 06:00 – 18:30.

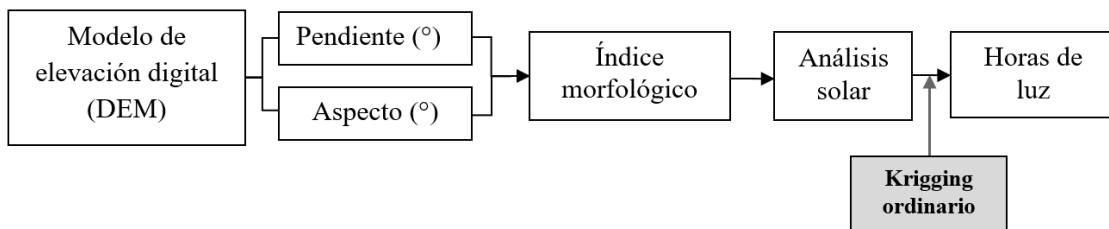


Figura 2. Esquema de estimación de horas de cantidad de luz solar.

## 2.5 Estimación del balance hídrico

### 2.5.1 Cálculo de la evapotranspiración (ET)

Debido a la falta de datos sobre la medición de las variables meteorológicas, se utilizó el método empírico de Thornthwaite. Este método aporta excelentes resultados en condiciones climáticas húmedas

con abundante vegetación. La confianza aumenta aún más cuando se trabaja con largos periodos entre los 40° norte y 40° sur (Silva y Campos, 2011). Para la estimación de la evapotranspiración potencial ( $ET_0$ ), la temperatura media mensual, expresada en las ecuaciones 1, 2, 3, 4 se utiliza como datos

de entrada.

$$ET0_c = 16 \left( \frac{10T}{I} \right)^{a(I)} Kd \quad (1)$$

Donde  $ET0_c$  es la evapotranspiración potencial corregida,  $T$  es la temperatura media del aire en el período considerado [°C],  $I$  es el índice térmico anual, y  $Kd$  es el coeficiente de duración del sol y número de días del mes. El índice térmico anual ( $I$ ) se define como:

$$I = \sum_j^{12} i_j, \quad \text{with } i_j = \left( \frac{T_j}{5} \right)^{1,514} \quad (2)$$

Donde  $T_j$  es la temperatura promedio mensual. De la ecuación (1) el exponente  $a(I)$  se define como:

$$a(I) = 6,75 \cdot 10^7 I^3 + 7,71 \cdot 10^5 I^2 + 1,79 \cdot 10^2 I + 0,49 \quad (3)$$

Y el término  $Kd$  se define como:

$$Kd = \frac{N}{12} \frac{d}{30} \quad (4)$$

Donde  $N$  es el número máximo de horas de sol, dependiendo del mes y latitud y  $d$  es el número de días en el mes.

### 2.5.2 Evaluación temporal y espacial del balance hídrico

Para estimar el balance hídrico, se utilizaron las aportaciones y pérdidas de agua en la microcuenca de Chaquilcay, como se describe en la ecuación 5:

$$P = ET + Q \pm \Delta S \quad (5)$$

Donde  $P$  es la precipitación,  $ET$  es la evapotranspiración,  $Q$  es el flujo superficial y  $\Delta S$  es la variación de almacenamiento, con todos los términos medidos en unidades de mm. El término de evapotranspiración,  $ET$ , en (5) se cuantifica en comparación con  $ET_0$  a  $P$  de tal forma que la evapotranspiración real ( $ETr$ ) se cuantifica como:

$$\begin{aligned} ETr &= ET_0 \text{ cuando } ET_0 < P \\ ETr &= P \text{ cuando } ET_0 > P \end{aligned} \quad (6)$$

Un aspecto del almacenamiento de la humedad del suelo ("almacenamientos") y un aspecto del "excedente" se fijaron cada mes, dependiendo del valor de  $P - ET_0$ , tal que para meses con  $P - ET_0 < 0$ ,

el almacenamiento y el excedente se fijaron en 0 y si  $P - ET_0 > 0$ , el almacenamiento se fijó a la capacidad media del campo medida en nuestra área de estudio (18,7 mm, ver Tabla 4) y el exceso se fijó en  $P - ET_0$ . La evaluación espacial del balance hídrico ( $WB$ ) se llevó a cabo por medio de ArcGIS, utilizando la ubicación de las estaciones meteorológicas con la serie de precipitación y evapotranspiración. Utilizando Map Algebra se generó la siguiente ecuación (6) en forma matricial:

$$WY = P - ET \quad (7)$$

Donde  $WY$  es la cantidad de agua (exceso o déficit en mm) y los otros términos ya han sido definidos anteriormente.

## 3 Resultados y discusión

### 3.1 Estimación de los datos faltantes

#### 3.1.1 Aplicación del método de regresión lineal

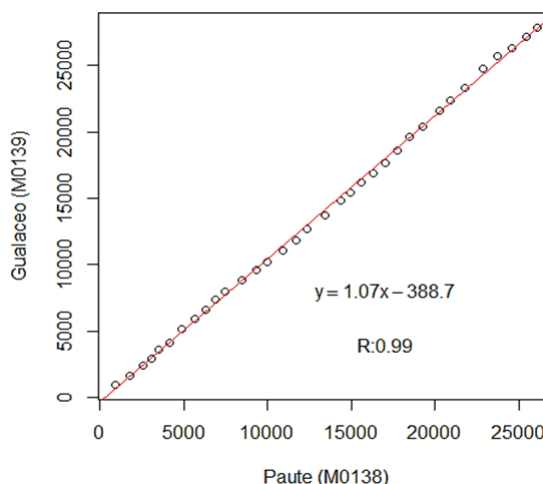


Figura 3. Curva de masa doble, estaciones de Paute – Gualaceo para el durante 33 años de registro (1982-2015).

Se verificó que ninguna estación presentaba datos completos, requiriendo un análisis de mes y correlaciones mensuales de las estaciones con el fin de completar las series de precipitación. Los hallazgos mostrados en la Tabla 6 indican que los valores del coeficiente de correlación  $r$  para las estaciones meteorológicas son en su mayoría superiores a 0,5. Hay meses con baja correlación ( $< 0,5$ ), esto puede deberse a múltiples factores en la producción de variabilidad en el registro de cada área (por ejemplo,

tormentas de pequeña escala registradas en una estación y no en otra). A pesar de esto, este método es ampliamente utilizado en algunas regiones de Su-

damérica, debido a que no existen estaciones meteorológicas “cercanas” a la estación de interés (Allen, 2006; OMM, 2011).

**Tabla 3.** Prueba de trazado en series de tiempo de precipitación anual.

Estación	NA	NS	Homogeneidad
Gualaceo	17	16	SI
Paute	17	14	SI
Sigsig	17	16	SI
Ricaurte	17	20	SI

### 3.1.2 Análisis de la calidad de la información

Al aplicar la prueba de trazado a las variables de precipitación y temperatura, se observó que los valores NS están en el rango de 10% y 90% para cada NA. Barros López y Troncoso Salgado, (2010) afirman que la serie se estabiliza en este intervalo, lo que significa que la serie es homogénea y adecuada para el análisis en este estudio. La prueba de trazado se llevó a cabo en las estaciones de Gualaceo, Paute, Sigsig y Ricaurte en la serie de tiempo anual de precipitación (Tabla 3) y en las estaciones de Gualaceo y Paute para los registros anuales de temperatura (Tabla 4).

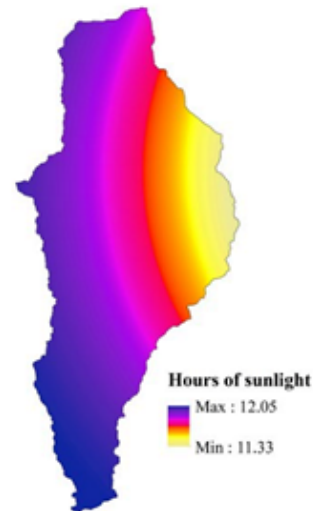
La Figura 3 muestra que casi no hay dispersión en la curva de doble masa entre la estación Paute y la estación Gualaceo, es decir, el valor del coeficiente de correlación  $r$  es cercano a 1. Esta homogeneidad es el resultado de la alta dependencia entre las precipitaciones de ambas estaciones. Además, debido a que los valores del coeficiente de correlación  $r$  son superiores a 0,9, el período 1982-2015 se considera homogéneo. Finalmente, una vez validada la información, los datos que faltan se completan utilizando las ecuaciones obtenidas en las regresiones lineales.

### 3.2 Estimación de las temperaturas de referencia

Las estaciones Sigsig y Ricaurte no miden la variable de temperatura. Al calcular las temperaturas de referencia de las isotermas mensuales de Ecuador, se observó que las temperaturas medias anuales en las estaciones de Sigsig y Ricaurte eran de 14,6°C y 15,5°C, respectivamente.

### 3.3 Estimación de la cantidad de luz solar

La Figura 4 muestra las horas mínimas y máximas de sol para el mes de enero. Las horas de luz solar alcanzan los valores máximos en el área de elevación más alta de la cuenca del lado suroeste, disminuyendo a un valor mínimo en el área de elevación más baja al noreste. Este análisis muestra una diferencia de aproximadamente una media hora de luz solar en enero en la cuenca.



**Figura 4.** Estimación de horas de luz solar en el mes de enero.

Los resultados de la Figura 5 se comparan con las horas ideales mencionadas por la FAO (Allen, 2006), alcanzando una diferencia media de 0,09 horas y una  $r$  óptima de 0,91, que se produjo porque estas horas ideales se calculan para una latitud de 2°, y las interpolaciones son necesarias debido a la ubicación del área de estudio.

### 3.4 Cálculo del balance hídrico

#### 3.4.1 Determinación de precipitación mensual y temperatura promedio

Con los isoyetas de la microcuenca de chaquilcay, las precipitaciones mensuales oscilaron entre 24,1 a

102,5 milímetros, y la precipitación anual promedio fue de 843,4 milímetros; esta precipitación disminuye hacia la parte del este de la cuenca. Mientras tanto, en las isotermas se demostró que la temperatura media anual es de 16,7°C.

**Tabla 4.** Prueba de trazado en la serie anual de la temperatura.

Estación	NA	NS	Homogeneidad
Gualaceo	17	14	SI
Paute	17	15	SI

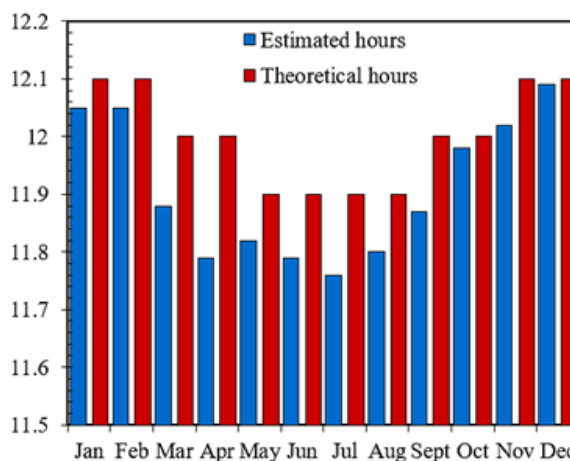
#### 3.4.2 Cálculo de la evapotranspiración potencial ( $ET_0$ )

$ET_0$  tuvo un rango mensual entre 55,7 y 70,8 mm, y se estimó que el  $ET_0$  anual para la microcuenca de Chaquilcay fue de 748,8 mm/año. Estas estimaciones de Thornthwaite concuerdan en cierta medida con Contreras S., (2015), ya que cuando la información meteorológica es insuficiente el autor recomienda el uso de métodos ajustables para la cuenca. Del Toro Guerrero, Kretzschmar e Hinojosa Corona, (2014) también indican que la técnica Thornthwaite, debido a su simplicidad, es una de las técnicas más usadas a nivel mundial, especialmente en áreas de climas húmedos ya que arroja resultados confiables.

#### 3.4.3 Análisis del balance hídrico para cada microcuenca

El balance hídrico de la microcuenca de Chaquilcay cubre los periodos de sequía ( $PP < ET_0$ ) de enero y parte del período de junio a septiembre, con una precipitación mensual de 24,1 a 59,1 mm, siendo agosto el mes más seco. La temporada húmeda ( $PP > ET_0$ ) corresponde a los meses de febrero a mayo y de octubre a diciembre con un rango de precipitación de 72,5 a 102,5 mm. En la estación seca hay un déficit hídrico, mientras que en el mes más húmedo las precipitaciones superan los 18,7 mm, observándose excedentes de agua, siendo abril el mes de mayor aporte con 41,8 mm de exceso, como se muestra en la Tabla 5. Este comportamiento hídrico tiene cierta similitud con los resultados obtenidos por Carchi G., (2015), en la zona baja de la cuenca

del río Machángara, donde los meses de disponibilidad de agua son equivalentes a la microcuenca de Chaquilcay. Ambos lugares pertenecen a la cuenca del río Paute, y la metodología utilizada en la investigación corresponde a Thornthwaite (1948).



**Figura 5.** Comparación entre horas estimadas y horas ideales de luz solar.

Por otro parte, los meses de mayor  $ET_0$  ocurren en enero y diciembre, mientras que los que tienen la menor evapotranspiración corresponden de junio a septiembre. En general, los valores de evapotranspiración para la microcuenca varían de 55,77 mm a 70,8 mm al mes. La Figura 6 muestra que la  $E_{Tr}$  es igual a  $ET_0$  en los meses de febrero a principios de junio y de octubre a diciembre. Sánchez, (2010) afirma que los escenarios óptimos de humedad producen esta igualdad.

**Tabla 5.** Balance mensual de agua de la microcuenca Chaquilcay [mm/mes].

	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Suma
P <sup>1</sup>	59,1	86,8	104,8	102,5	72,5	44,9	32,7	24,1	49,3	90,1	87,2	89,7	843,7
ET <sub>0</sub> <sup>2</sup>	68,5	60,7	65,0	60,6	62,1	57,5	55,7	57,1	58,5	66,2	66,2	70,8	748,8
P - ET <sub>0</sub> <sup>3</sup>	-9,4	26,1	39,8	41,9	10,4	-12,6	-23	-33	-9,2	23,9	21	18,9	94,8
Almacenamiento <sup>4</sup>	0	18,7	18,7	18,7	18,7	6,1	0	0	0	18,7	18,7	18,7	130,9
ETr <sup>5</sup>	59,1	60,7	65	60,6	62,1	57,5	38,8	24,1	49,3	66,2	66,2	70,8	680,4
Exceso <sup>6</sup>	0	7,4	39,8	41,9	10,4	0	0	0	0	5,2	21	18,9	139,4

<sup>1</sup> P (precipitación promedio mensual)

<sup>2</sup> ET<sub>0</sub> (evapotranspiración potencial)

<sup>3</sup> P - ET<sub>0</sub> (diferencia entre precipitación promedio mensual y evapotranspiración potencial)

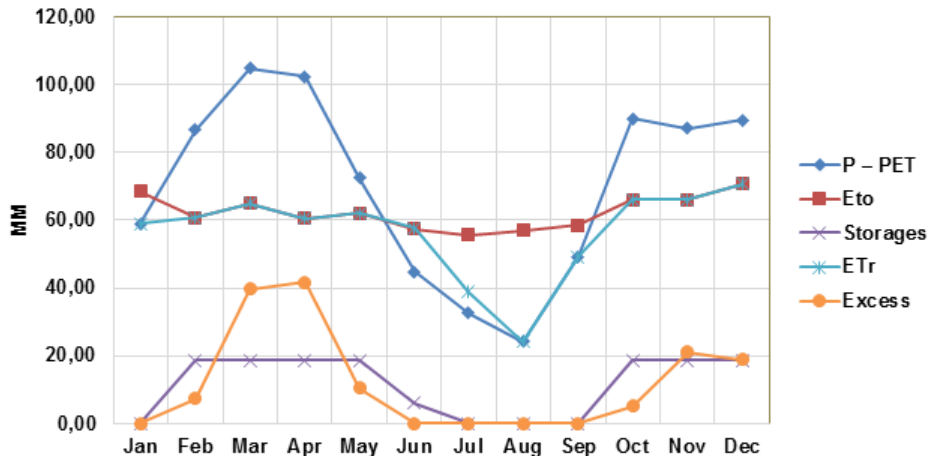
<sup>4</sup> Almacenamientos (agua acumulada en el suelo al final del mes)

<sup>5</sup> ETr (evapotranspiración real)

<sup>6</sup> Exceso (excedente de agua, después de satisfacer las necesidades de evapotranspiración y agua en el suelo a la capacidad de campo)

Finalmente, la distribución espacial del balance hídrico se obtuvo como se muestra en la Figura 7. Estos mapas evidencian que hay un mayor déficit hídrico en relación con las otras áreas de estudio en la estación seca, en la parte norte de la microcuenca. Se espera que, mediante el análisis de esta distribución, las áreas con mayor déficit correspondan a los

niveles más bajos de la microcuenca (drenaje), lugar donde la temperatura desempeña un papel importante, porque aumenta en los niveles inferiores y disminuye hacia los niveles más altos. Por lo tanto, los procesos de evapotranspiración aumentan a temperaturas más elevadas.



**Figura 6.** Representación del balance hídrico mensual en la microcuenca de Chaquilcay.

## 4 Conclusiones

En el estudio sobre la microcuenca de Chaquirá, se observó que la información de INAMHI presentaba dos limitaciones importantes. En primer lugar, había pocos datos meteorológicos, y, en segundo lugar, la calidad de la información era deficiente porque no contaban con registros durante todo el período 1982-2015, causando una discontinuidad en

la información. Al aplicar los tratamientos estadísticos, se calcularon los datos faltantes y se obtuvo la aprobación por la prueba de trazado y la alta linealidad por curva de doble masa. En total, 86 datos mensuales se corrigieron en el total de 33 años utilizados para los estudios.

A través de las preguntas planteadas inicialmente, el análisis del balance hídrico permitió el estudio del comportamiento de los procesos hidrológicos y

el efecto que se produce en el rendimiento del agua, definiendo así las estaciones secas y húmedas. Durante la estación seca, los déficits de agua ocurren en enero, junio, julio, agosto y septiembre, mientras que los meses restantes satisfacen las demandas de la evapotranspiración, siendo abril el mes de mayor precipitación con 102,5 milímetros.

De igual forma, el escurrimiento superficial anual

generado en la microcuenca fue de 144,5 mm, lo que significa que hay un volumen de agua recolectada de 3,022  $Hm^3$ . Dada la escasez de información, la presente investigación representa una primera estimación del balance hídrico, proporcionando información importante para la gestión y planificación de los recursos hídricos.

**Tabla 6.** Regresión lineal de la relación entre las estaciones de precipitación y una estación asociada utilizada como predictor para completar los registros que faltan de la serie temporal en las estaciones analizadas.

Mes	Estación asociada ("y")	Estación predictora ("x")	Ecuación	r	Grado de correlación de Chaddock	Información completada <sup>1</sup>
Enero	M0138	M0139	$y = 0.5721x + 12.838$	0.78	Buena	1
	M0139	M0138	$y = 1.0731x + 11.935$	0.79	Buena	1
Febrero	M0138	M0139	$y = 0.5224x + 25.954$	0.59	Regular	1
	M0139	M0138	$y = 0.6704x + 32.928$	0.68	Regular	1
Marzo	M0138	M0139	$y = 0.7373x + 25.311$	0.78	Buena	1
	M0139	M0138	$y = 0.8253x + 16.803$	0.78	Buena	1
Abril	M0138	M0139	$y = 0.3022x + 43.302$	0.43	Baja	1
	M0139	M0426	$y = 0.3817x + 57.789$	0.3	Baja	1
Mayo	M0138	M0139	$y = 0.7796x + 14.038$	0.7	Buena	1
	M0139	M0138	$y = 0.623x + 24.954$	0.7	Buena	1
Junio	M0138	M0139	$y = 0.857x + 14.181$	0.75	Buena	1
	M0139	M0138	$y = 0.6487x + 10.327$	0.75	Buena	1
Julio	M0138	M0426	$y = 0.7218x + 25.394$	0.64	Regular	1
	M0139	M0426	$y = 0.5604x + 22.627$	0.44	Baja	1
	M0138	M0139	$y = 0.3045x + 24.903$	0.39	Baja	3
Agosto	M0139	M0138	$y = 0.5065x + 10.637$	0.4	Baja	2
	M0424	M0139	$y = 0.3275x + 40.305$	0.24	Muy baja	1
	M0138	M0426	$y = 0.2303x + 24.41$	0.44	Baja	3
Septiembre	M0139	M0138	$y = 0.4902x + 28.624$	0.31	Baja	2
	M0424	M0138	$y = 0.4065x + 38.051$	0.28	Muy baja	2
	M0138	M0139	$y = 0.6783x + 19.359$	0.63	Regular	3
Octubre	M0139	M0138	$y = 0.5096x + 46.768$	0.6	Regular	5
	M0424	M0138	$y = 0.4072x + 20.646$	0.55	Regular	3
	M0138	M0426	$y = 0.4469x + 35.788$	0.49	Baja	3
Noviembre	M0139	M0426	$y = 0.5184x + 45.556$	0.55	Regular	7
	M0424	M0426	$y = 0.2042x + 29.338$	0.37	Baja	5
	M0138	M0139	$y = 0.3604x + 46.855$	0.53	Regular	5
Diciembre	M0139	M0426	$y = 0.9257x - 2.9361$	0.83	Buena	12
	M0424	M0426	$y = 0.4034x + 18.5$	0.73	Buena	12
	M0426	M0424	$y = 1.3278x + 20.806$	0.74	Buena	4
					<b>Total</b>	<b>86</b>

<sup>1</sup> número de datos mensuales completados en la serie temporal analizada.

**Figura 7.** Evaluación espacial del balance hídrico (BM) obtenida con ArcGIS, utilizando la serie de precipitación y los valores de evapotranspiración media mensual ( $P - ET_0$ ).







## EDAD AL PRIMER PARTO E INDICADORES DE EFICIENCIA EN VACAS LECHERAS CON DIFERENTE POTENCIALIDAD PRODUCTIVIDAD EN SISTEMAS A PASTOREO

### AGE AT THE FIRST CALVING AND EFFICIENCY INDICATORS IN DAIRY COWS WITH DIFFERENT PRODUCTIVE POTENTIAL IN GRAZING SYSTEMS

Pablo Roberto Marini<sup>1,2,3</sup> y Ricardo José Di Masso<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Cátedra de Producción de Bovinos de Leche. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Rosario. Argentina

<sup>2</sup> Centro Latinoamericano de Estudios de Problemáticas Lecheras (CLEPL). Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Argentina

<sup>3</sup> Carrera del Investigador Científico CIC-UNR, Universidad Nacional de Rosario, Argentina

\*Autor para correspondencia: pmarini@unr.edu.ar

Manuscrito recibido el 15 de agosto de 2018. Aceptado, tras revisión, el 11 de febrero de 2019. Publicado el 1 de marzo de 2019.

#### Resumen

El objetivo del presente trabajo fue analizar la relación entre la edad al primer parto con la producción láctea e indicadores reproductivos en vacas lecheras, con diferente potencial productivo. Se utilizaron datos retrospectivos de 260 vacas de raza Holstein biotipo Americano-Canadiense con información desde su nacimiento hasta finalizar la lactancia, recolectados entre los años 1992-2012, en el tambo cabaña perteneciente a la Escuela Agrotécnica Gral. San Martín dependiente de la Universidad Nacional de Rosario, ubicado en la localidad de Casilda, Departamento Caseros, provincia de Santa Fe, Argentina. Los animales se dividieron en dos categorías: vacas puras (n=103) y vacas con registro de cría (n=157). Cada una de las vacas pertenecientes a cada uno de los grupos mencionados se caracterizó en función de los valores de dos indicadores reproductivos: edad al primer parto en días e intervalo, parto concepción en días y dos indicadores productivos: producción de leche ajustada a 305 días de lactancia en litros y número de partos. No hubo diferencias significativas entre grupos en su precocidad. Las vacas puras presentaron mayor producción ( $t = 4,493; P < 0,0001$ ) mientras que las vacas con registro de cría fueron más fértiles ( $t = 2,039; P = 0,043$ ). Los grupos no difirieron en el número de partos. Las diferencias en el comportamiento de las vacas puras y las vacas con registro de cría con diferente potencialidad productivo ponen en discusión el objetivo de ejercer presión para lograr un primer parto a los 24 meses como propuesta generalizada en los sistemas a pastoreo.

**Palabras clave:** Producción de leche, reproducción, longevidad, eficiencia.

#### Abstract

The objective of this study was to analyze the relationship between age at first calving with dairy production and reproductive indicators in dairy cows with different productive potential. Retrospective data of 260 Holstein American-Canadian biotype cows with information from birth to the end of lactation, collected from 1992 to 2012 in the dairy farm belonging to the agro-technical school Gral. San Martín, National University of Rosario, were used. The farm is located in the city of Casilda, province of Santa Fe, Argentina. Cows were divided into two categories: pure cows ( $n = 103$ ) and cows with breeding records ( $n = 157$ ). Each cow belonging to each of the aforementioned groups was characterized according to the values of two reproductive indicators: age at first calving in days and calving-conception interval in days and two productive indicators: milk production adjusted to 305 days of lactation in liters, and number of calving. There were no significant differences between groups in age at first calving. The pure cows presented higher production ( $t = 4,493, P < 0,0001$ ) while the cows with breeding record were more fertile ( $t = 2,039, P = 0,043$ ). Groups did not differ in the number of calving. Differences in the behavior of pure cows and cows with breeding records with different productive potential puts into discussion the objective of exerting pressure to achieve a first delivery at 24 months as a generalized proposal in the grazing systems.

**Keywords:** Milk production, reproduction, longevity, efficiency.

---

Forma sugerida de citar: Pablo Roberto Marini y Ricardo José Di Masso (2019). Edad al primer parto e indicadores de eficiencia en vacas lecheras con diferente potencialidad productiva en sistemas a pastoreo. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol. 29(1):84-96. <http://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.07>.

---

IDs Orcid:

Pablo Roberto Marini: <http://orcid.org/0000-0003-0826-0387>

Ricardo José Di Masso: <https://orcid.org/0000-0003-4873-5156>

## 1 Introducción

La edad al primer parto es un indicador del tiempo que tarda un animal en alcanzar su madurez sexual y reproducirse por primera vez (Hare, Norman y Wright, 2006); la misma puede verse influenciada por el tamaño corporal y el inicio de la actividad hormonal del sistema reproductivo (Moore y col., 1991). Aunque se considera que la edad a la pubertad no está determinada por un peso corporal en particular, sí lo está por un orden indeterminado de condiciones fisiológicas que resultan de un peso dado (Grajales, Hernández y Prieto, 2006). En los sistemas productivos en pastoreo, la relación peso corporal-inicio de la actividad reproductiva se hace más extrema (Marini, Charmandarian y Di Masso, 2007). Debido a la corta vida productiva de las vacas lecheras (Novaira y col., 2018; Seegers y col., 1998), se requiere de una eficiente crianza de las vaquillonas destinadas a reemplazar a las vacas descartadas. Las etapas de cría y recria de esas vaquillonas son períodos improductivos, en donde el ingreso por venta de las vacas descartadas sólo aporta al mantenimiento de la alimentación de la vaca que ingresa a producción, por lo que los gastos de las etapas previas no se recuperan. La crianza de las hembras de reposición dura al menos dos años (Hare, Norman y Wright, 2006) lapso que, en la actualidad, equivale a casi la mitad de la vida útil de las vacas lecheras. En este contexto, aumentar la longevidad de las vacas permitiría diluir el impacto de la etapa no productiva (cría y recria) con una mayor productividad (Grandl y col., 2016).

A este contexto se suma que la recria de vaquillonas es una inversión que no genera retorno hasta después de un parto o una venta y es por esto que se le presta atención en los primeros meses de vida de la ternera (Pieroni, 2014). Es importante evaluar las implicaciones económicas que tiene esta situación sobre la empresa lechera, donde una categoría totalmente improductiva se mantiene en el sistema por mayor tiempo. La vaquillona de reposición representa aproximadamente entre el 15 y 20% de los costos operativos del tambo y se considera como el tercer costo después de la alimentación y la mano de obra en nuestros establecimientos lecheros (Berra, 1998). Marini, Charmandarian y Oyarzabal, (2001) en base a registros de 1 282 vacas de primera lactancia provenientes de cinco establecimientos lecheros en sistemas a pastoreo con diferentes niveles de suplementación observaron que la edad al pri-

mer parto no afectó en forma significativa los valores de dos indicadores productivos (producción de leche y duración de la lactancia) y cuatro indicadores reproductivos (intervalo parto primer celo, intervalo parto primer servicio, intervalo parto concepción y número de servicios por preñez). De hecho, la tasa de reemplazo anual es alta en la mayoría de los países y el número promedio de lactaciones en el momento del refugo es generalmente bajo, alrededor de tres en Francia y de similares valores en Perú (Seegers y col., 1998; Orrego, Delgado y Echevarría, 2003). Hadley, Wolf y Harsh, (2006) observaron una tasa de sacrificio promedio que varía entre 30% y 40% en hatos lecheros de los Estados Unidos, cuando la tasa óptima de sacrificio a nivel de rebaño debe variar de 19% a 29%. El objetivo del presente trabajo fue analizar la relación entre la edad al primer parto con la producción láctea e indicadores reproductivos en vacas lecheras de primera lactancia, con diferente potencial productivo y mantenidas en sistemas a pastoreo.

## 2 Materiales y métodos

Se utilizaron datos retrospectivos correspondientes a las lactancias de 260 vacas primíparas de raza Holstein biotipo Americano-Canadiense con información desde su nacimiento hasta finalizar la lactancia, recolectados entre los años 1992-2012 en el tambo cabaña perteneciente a la Escuela Agrotécnica Gral. San Martín dependiente de la Universidad Nacional de Rosario. El mismo se encuentra ubicado en la localidad de Casilda, Departamento Caseros, provincia de Santa Fe, Argentina ( $33^{\circ}2'39''$  de latitud sur,  $61^{\circ}10'5''$  de longitud oeste), área que cuenta con control lechero de la Sociedad Rural de Totoras, Entidad Oficial N°13 y presenta las siguientes características: (1) utiliza exclusivamente vacas de la raza Holstein biotipo Americano-Canadiense, (2) la alimentación es básicamente a pastoreo (praderas de alfalfa) con suplementación (grano de maíz, silo de maíz y rollos) suministrada en diferentes proporciones de acuerdo a la disponibilidad estacional de las praderas de alfalfa, (3) se cumple con un control ginecológico periódico, (4) se realiza control lechero oficial, (5) se encuentra libre de brucelosis, tuberculosis, campilobacteriosis y tricomoniasis; con control de leptospirosis, rino-traqueitis infecciosa bovina y diarrea viral bovina, (7) se insemina artificialmente con semen de origen

americano y canadiense. En el lapso relevado, todas las vacas se manejaron en las mismas instalaciones de ordeño. Los animales se dividieron en dos categorías: vacas puras (VP) (n=103) y vacas con registro de cría (VRC) (n=157). La diferencia entre ambas se basa en que las primeras se inseminan siempre con semen de toros probados, mientras que dicha práctica no se mantiene de manera constante en el caso de las segundas. Para alcanzar la condición de vaca pura se requieren siete generaciones con padres probados, lo que implica que las integrantes del grupo de vacas con registro de cría están en distintos momentos de ese camino para lograrlo.

Durante el período objeto de esta evaluación las vacas consumieron forrajes bajo pastoreo directo (pasturas polifíticas y verdes anuales de invierno y de verano) o conservados (silo de planta entera de maíz y de sorgo, henos de praderas) y concentrados (granos de maíz y de sorgo). El ambiente climático durante el mismo fue muy variable, tanto en precipitaciones como en la combinación de temperatura y humedad relativa del ambiente. Cada una de las vacas pertenecientes a cada uno de los dos grupos mencionados se caracterizó en función de los valores de dos indicadores reproductivos: edad al primer parto en días (EPP) y el intervalo parto-

concepción en días (IPC), y dos indicadores productivos: producción de leche ajustada a 305 días de lactancia en litros (PL) y longevidad (número de partos, NP). Las vacas de cada grupo se dividieron en cuatro subgrupos por su edad al primer parto, tomando como criterio los valores del cuartil de primer orden, la mediana y el cuartil de tercer orden. El efecto del grupo de pertenencia sobre cada una de las variables se evaluó con un análisis de la varianza a un criterio de clasificación, seguido de la prueba *t* de Student a excepción de la supervivencia (número de partos) para la cual se utilizó el análisis de la varianza por rangos de Kruskal-Wallis y la prueba de comparaciones múltiples de Dunn.

Para el análisis entre cuartiles se utilizó un análisis de la varianza a un criterio de clasificación, seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, a excepción de la supervivencia (número de partos) para la cual se utilizó el análisis de la varianza por rangos de Kruskal-Wallis y la prueba de comparaciones múltiples de Dunn. Las asociaciones entre variables se cuantificaron a partir del cálculo del coeficiente de correlación lineal producto-momento de Pearson o del coeficiente de correlación no paramétrico de Spearman según correspondiera.

**Tabla 1.** Indicadores productivo-reproductivos en vacas lecheras con diferente potencial de producción en sistemas a pastoreo.

	Vacas puras	Vacas con registro de cría
<sup>1</sup> Precocidad	964,9 ± 15,54	980,4 ± 15,47
<sup>1</sup> Producción	5835 ± 138,3	5134 ± 87,9
<sup>1</sup> Fertilidad	196,3 ± 9,08	172,9 ± 7,14
<sup>2</sup> Supervivencia	3 (1 – 8)	3 (1 – 10)

<sup>1</sup> Valores: media aritmética ± error estándar. Prueba *t* de Student para datos independientes. Precocidad: Edad al primer parto en días, Producción: litros totales al finalizar la primera lactancia ajustada a 305 días. Fertilidad: intervalo parto-concepción.

<sup>2</sup> Valores: mediana (rango). Prueba *U* de Mann-Whitney. Supervivencia: número de partos en su vida productiva.

### 3 Resultados

La Tabla 1, muestra ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre grupos en su precocidad ( $t = 0,675; P = 0,500$ ). Las vacas puras presentaron mayor producción de leche ( $t = 4,493; P < 0,0001$ ) mientras que las vacas con registro de cría fueron más fértiles ( $t = 2,039; P = 0,043$ ). Los grupos no difirieron en su supervivencia ( $U = 7264; P =$

0,159), aunque se observaron vacas con mayor número total de partos en comparación con aquellas con registro de cría. La Tabla 2 muestra las diferencias generadas al categorizar a las vacas de ambos grupos por cuartiles de acuerdo a su edad al primer parto. Las vacas ubicadas en el primer cuartil con una edad cercana a los 25 meses presentaron valores óptimos de precocidad. Aquellas ubicadas en los

**Tabla 2.** Edad al primer parto (días) de vacas lecheras con diferente potencial de producción, discriminadas en cuartiles.

Vacac puras			
Cuartil 1	Cuartil 2	Cuartil 3	Cuartil 4
771,8 ± 17,27 <sup>a</sup>	920,0 ± 5,88 <sup>b</sup>	1009,0 ± 5,82 <sup>c</sup>	1166 ± 18,71 <sup>d</sup>
Vacac con registro de cría			
Cuartil 1	Cuartil 2	Cuartil 3	Cuartil 4
768,4 ± 11,68 <sup>a</sup>	895,5 ± 4,58 <sup>b</sup>	1009,0 ± 6,52 <sup>c</sup>	1250 ± 20,97 <sup>d</sup>

VP:  $n = 26$  vacac por grupo [ $F = 153,7; P < 0,0001$ ].

VRC:  $n = 39$  vacac por grupo [ $F = 263,9; P < 0,0001$ ].

Todos los valores corresponden a la media aritmética ± error estándar.

a,b,c,d Valores con diferente letra difieren al menos al 0,05.

cuartiles restantes (segundo cuartil - VP: 30 meses y VRC: 29 meses; tercer cuartil - VP y VRC: 33 meses y cuarto cuartil - VP: 38 meses y VRC: 41 meses al primer parto se encuentran progresivamente cada vez más lejos del valor de 24 meses considerado óptimo.

Los resultados de la Tabla 3 ponen en evidencia la ausencia de diferencias estadísticamente significati-

vas ( $p > 0,05$ ) entre cuartiles, en la producción de leche ajustada a 305 días, en ambos tipos de vacac. En ninguno de los dos casos la máxima producción coincidió con las vacac más precoces (Cuartil 1). En el caso de las VP la mayor producción se presenta en el Cuartil 2, mientras que en las VRC lo hace en el Cuartil 3.

**Tabla 3.** Producción de leche ajustada a 305 días en la primera lactancia de vacac con diferente potencial de producción discriminadas en cuartiles por su edad al primer parto.

Vacac puras			
Cuartil 1	Cuartil 2	Cuartil 3	Cuartil 4
5287 ± 246,9	6175 ± 324,8	5783 ± 218,6	6103 ± 285,9
Vacac con registro de cría			
Cuartil 1	Cuartil 2	Cuartil 3	Cuartil 4
4887 ± 195,3	5137 ± 156,2	5426 ± 186,4	5086 ± 158,3

VP:  $n = 26$  vacac por grupo [ $F = 2,226; P = 0,090$ ].

VRC:  $n = 39$  vacac por grupo [ $F = 1,614; P = 0,1883$ ].

Todos los valores corresponden a la media aritmética ± error estándar.

**Tabla 4.** Intervalo parto-concepción (días) de vacac lecheras con diferente potencial de producción, discriminadas en cuartiles por su edad al primer parto.

Vacac puras			
Cuartil 1	Cuartil 2	Cuartil 3	Cuartil 4
199,0 ± 19,90	189,5 ± 15,01	213,5 ± 19,39	182,8 ± 18,47
Vacac con registro de cría			
Cuartil 1	Cuartil 2	Cuartil 3	Cuartil 4
217 ± 16,69 <sup>a</sup>	159,6 ± 12,37 <sup>b</sup>	161,2 ± 13,50 <sup>b</sup>	154,3 ± 12,28 <sup>b</sup>

VP:  $n = 26$  vacac por grupo [ $F = 0,529; P = 0,664$ ].

VRC:  $n = 39$  vacac por grupo [ $F = 4,531; P = 0,0045$ ].

Todos los valores corresponden a la media aritmética ± error estándar.

a,b Valores con diferente letra difieren al menos al 0,05.

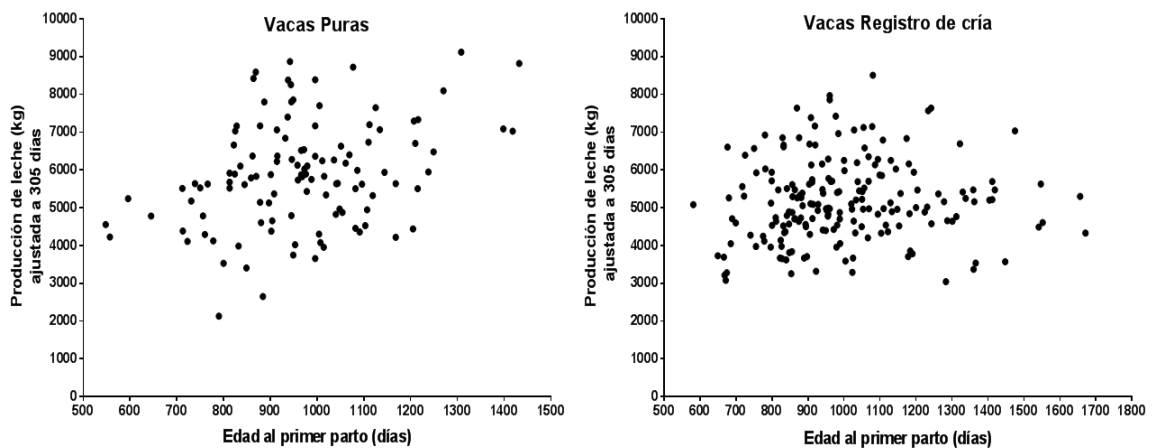
Los valores de la Tabla 4 muestran que, en el caso de las vacas puras, no existen diferencias significativas entre cuartiles en el valor promedio del intervalo parto-concepción. A excepción del Cuartil 1, los valores del indicador en las vacas con registro de cría son menores a los observados en las vacas puras. En ambos grupos de vacas, e independientemente de su precocidad, los valores del intervalo parto-concepción están lejos del óptimo de 82 días requerido para obtener un parto al año. Los resultados de la Tabla 5 muestran ausencia de diferencias significativas entre cuartiles de precoci-

dad, en el número de partos de las vacas tanto puras como con registro de cría. Los valores del indicador de supervivencia en el sistema son similares para ambos grupos de vacas y ponen de manifiesto una reposición del 33% en la mayoría de los cuartiles. La Figura 1 muestra una correlación positiva y significativa ( $r = 0,346; P = 0,0002$ ), entre la edad al primer parto y la producción de leche en las vacas puras, asociación que no alcanzó significado estadístico ( $r = 0,078; P = 0,282$ ) en el caso de las vacas con registro de cría.

**Tabla 5.** Número de partos de vacas lecheras con diferente potencial de producción, discriminadas en cuartiles por su edad al primer parto.

Vacas puras			
Cuartil 1	Cuartil 2	Cuartil 3	Cuartil 4
3(2-5)	2,5(2-4)	3(2-5)	3(1,5-5,5)
Vacas con registro de cría			
Cuartil 1	Cuartil 2	Cuartil 3	Cuartil 4
4(2-5)	3(2-5)	3(2-4)	3(2-5)

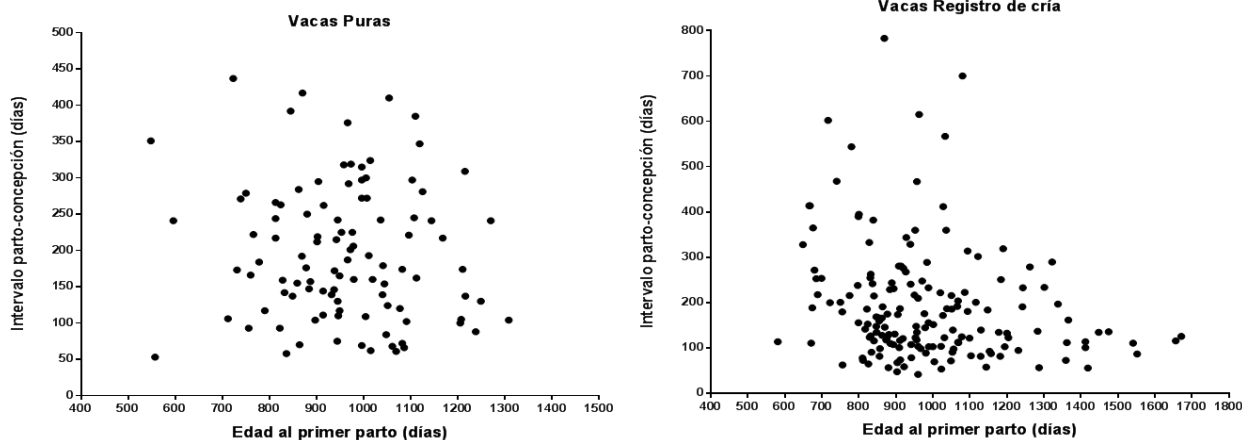
VP:  $n = 26$  vacas por grupo [Estadística de  $KW = 2,651; P = 0,449$ ].  
 VRC:  $n = 39$  vacas por grupo [Estadística de  $KW = 2,515; P = 0,473$ ].  
 Todos los valores corresponden a la mediana (rango intercuartílico).



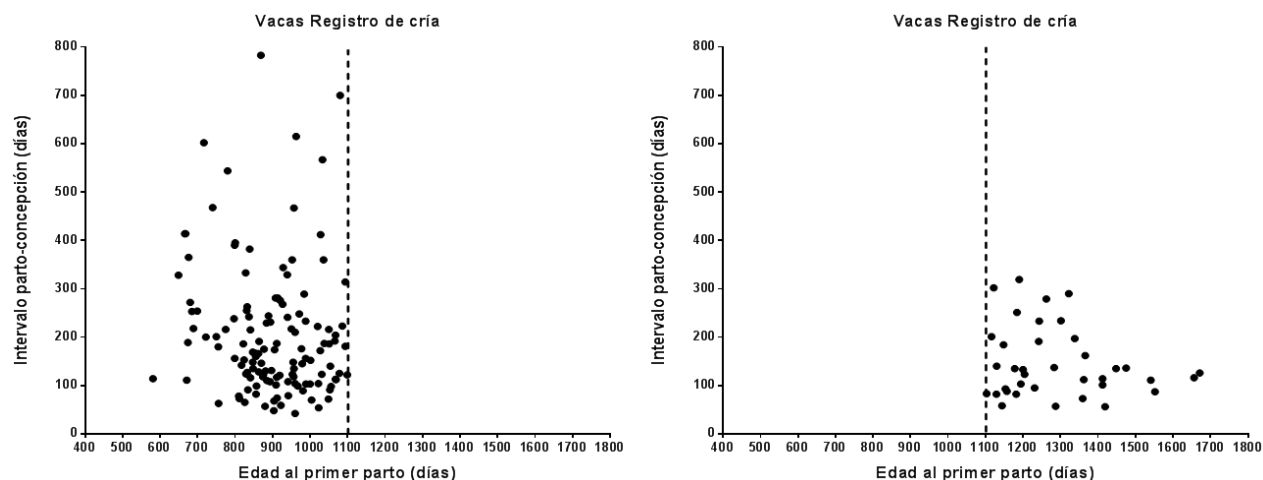
**Figura 1.** Asociación entre la edad al primer parto y la producción de leche ajustada a 305 días en dos grupos de vacas Holstein con diferente potencial de producción en sistemas a pastoreo.

La Figura 2 muestra ausencia de asociación ( $r = -0,093; P = 0,353$ ), entre la edad al primer parto y el intervalo parto-concepción en las vacas puras, mientras que en el caso de las vacas con registro

de cría ambas variables se asocian en forma negativa ( $r = -0,230$ ) y estadísticamente significativa ( $P = 0,0028$ ).



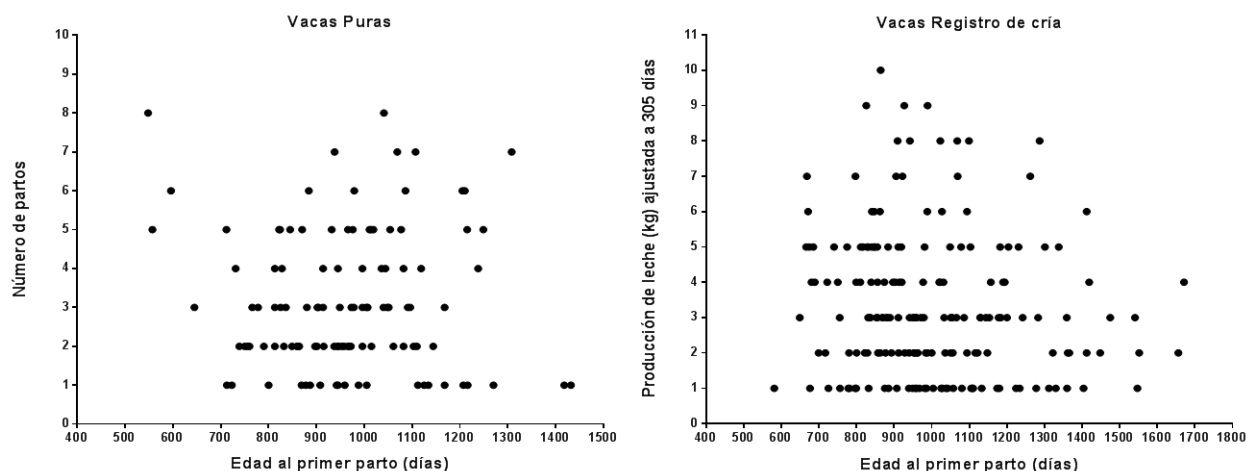
**Figura 2.** Asociación entre la edad al primer parto e intervalo parto-concepción en dos grupos de vacas Holstein con diferente potencial de producción en sistemas a pastoreo.



**Figura 3.** Asociación entre la edad al primer parto e intervalo parto-concepción en dos grupos ( $\leq 1100$  días y  $\geq 1100$  días) e intervalo parto concepción de vacas Holstein con registro de cría en sistemas a pastoreo.

En el caso de las vacas con registro de cría, estas pueden identificarse dos grupos de animales (Figura 3); aquellos cuya edad al primer parto es menor a 1100 días ( $n = 129$ ) en los que la asociación es no significativa ( $r = -0,130; P = 0,141$ ) y que muestra una gran dispersión en el valor del intervalo parto-concepción, y un segundo grupo, con edades al primer parto superiores a los 1100 días ( $n = 37$ ) en los que la asociación tampoco es estadísticamente sig-

nificativa ( $r = -0,189; P = 0,263$ ), pero los valores del intervalo parto-concepción muestran menor variación. El grupo de VCR con EPP  $<1100$  días ( $n = 129$ ) tiene valores de EPP:  $900 \pm 115$  días y de IPC:  $206 \pm 137$  días con un coeficiente de variación para IPC del 66,2%. Por su parte, el Grupo de VRC con EPP  $>1100$  días ( $n = 37$ ) tiene valores de EPP:  $1279 \pm 147$  días y de IPC:  $147 \pm 73$  días con CV IPC = 49,8%.



**Figura 4.** Asociación entre la edad al primer parto y número de partos en dos grupos de vacas Holstein con diferente potencial de producción en sistemas a pastoreo.

La Figura 4 resume el comportamiento del número de partos como indicador de supervivencia y la edad al primer parto. En las VP la asociación no fue estadísticamente significativa ( $r_s = 0,030; P = 0,746$ ), mientras que en el caso de las VRC la misma fue marginalmente significativa ( $r_s = -0,138; P = 0,057$ ) y de signo negativo, es decir que, a mayor edad al primer parto menor número de partos.

## 4 Discusión

Los altos costos, la escala y la eficiencia de producción en los sistemas lecheros requieren en la actualidad un seguimiento riguroso de la vaquillona de reposición para asegurar el logro de márgenes aceptables de rentabilidad. La inversión del futuro, en este tipo de establecimientos, es la vaquillona de reposición. El manejo adecuado de la misma en las etapas de cría y recria, adaptado a cada sistema de producción y con un manejo sanitario programado según región, escala e intensificación del sistema son factores esenciales a considerar. Los dos grupos de vacas comparados en este trabajo no se diferenciaron en forma significativa en la edad promedio al primer parto, cuyo valor se encuentra muy por encima del óptimo deseable de 24 meses (Hare, Norman y Wright, 2006). Los valores relevados para esta variable son mayores que los informados por otros autores (Pirlo, Miglior y Speroni, 2000; Salazar-Carranza y col., 2013), pero simi-

lares a los reportados por García Bouissou y Gens, (1997) y Snyder, (2006). Las producciones de leche de ambos grupos coinciden con los datos informados en algunas publicaciones (Glauber, 2007), aunque son menores a los 6 500 litros y 7 500 litros obtenidos por otros (Krupic y col., 2015; Romano, Salas y Maiztegui, 2016), a nivel local y para las mismas condiciones de manejo. Se observaron diferencias significativas en los valores promedio del intervalo parto-concepción; los mismos fueron superiores a los  $133 \pm 9$  días promedio informados por Krupic y col., (2015), y mostraron una tendencia en las VRC a ser más fértiles que las VP.

En cuanto a la longitud de vida productiva no se observaron diferencias significativas, coincidiendo el número de partos con el número promedio de 2,6 a 3,3 pariciones, informado en vacas con alto rendimiento productivo en los Estados Unidos y Alemania (Hare, Norman y Wright, 2006; Knaus, 2009; Frana y col., 2014). La consideración conjunta de estas variables indicaría que, en promedio, estas vacas llegaron al primer parto a una edad avanzada con una moderada producción de leche, con dificultades para quedar preñadas luego del primer parto y con una disminución en la longitud de su vida productiva.

La categorización de ambos tipos de vacas en cuartiles de precocidad permitió comparar el desempeño de cuatro grupos de animales con diferencias en la edad al primer parto. En este sentido, los resultados muestran que sólo el 25 % de las vaquillonas llegan a su primer parto a una edad cercana al ópti-

mo de 24 meses, con una diferencia de 13 – 15 meses entre las categorías extremas. Estos resultados, ponen en evidencia lo dificultoso que resulta cumplir en los sistemas a pastoreo con ciertos requisitos que son propios de otros sistemas productivos, sin una evaluación crítica previa de la factibilidad de llegar a la edad considerada óptima para el primer parto. En estos sistemas productivos puede verse afectado el tamaño del cuerpo y el inicio de la actividad hormonal del sistema reproductivo (Grajales, Hernández y Prieto, 2006). Indudablemente, en los sistemas a pastoreo existen factores ya sea desconocidos, o bien conocidos pero inmanejables en condiciones de manejo extensivo, que limitan de manera concluyente la posibilidad de cumplimentar etapas predeterminadas para sistemas productivos intensivos.

Heinrichs, (1993) sugirió para ganado Holstein una edad al primer parto de 23 a 24 meses. Gill y Allaire, (1976), por su parte, indicaron que para obtener un buen rendimiento durante toda la vida productiva el primer parto debería ocurrir entre los 22,5 a 23,5 meses. Estos objetivos, propios de otros ámbitos (sistemas intensivos), son los que se plantean para los sistemas a pastoreo. Sin embargo, García Bouissou y Gens, (1997) propuso, en base a diferentes opiniones, tanto de asesores como de productores, que la edad óptima al primer parto de vacas lecheras en sistemas a pastoreo debería tener un rango entre 22 y 27 meses de edad. Más allá que los sistemas de cría y recria se han modificado y se han intensificado desde el punto de vista de la alimentación, el límite superior de 27 meses del rango propuesto representa un valor más cercano a la realidad de los sistemas a pastoreo. Tal vez, el planteo para los sistemas a pastoreo, dista de la posibilidad real de cumplir con dicho objetivo. Duplessis y col., (2015) reportan que, en Quebec, el primer parto ocurre en promedio a los 27 meses, mientras que el objetivo es de 23 a 24,5 meses para maximizar la rentabilidad del rebaño.

La edad de las vaquillonas Holstein al primer parto generalmente varió entre los 24 y los 25 meses a lo largo de las últimas décadas (Mourits y col., 2000). Como el primer parto a los 24 meses de edad se está convirtiendo en un objetivo común y generalizado, es dable presuponer que la edad del primer parto continuará disminuyendo en el corto plazo. En estudios realizados con animales Jersey y Holstein de establecimientos especializados de Costa Rica (Castillo-Badilla y col., 2013; Salazar-Carranza y

col., 2013) se determinó que la edad al primer parto ejerce una influencia significativa sobre los índices productivos y sobre la longevidad dentro del hato. Snyder, (2006) informó, en base a datos de la Asociación de Criadores de Holando Argentino, que la edad promedio al primer parto para las hembras de esta raza, para el período 1997 - 2007, era de 32 meses. Los sistemas lecheros en Argentina tienden a intensificarse, con un mayor confinamiento de los animales, y la búsqueda de un aumento de los litros de leche producidos por vaca con estabilización del consumo de materia seca (Frossasco y col., 2017). Sin embargo, en la llanura pampeana, el clima templado y las características de los suelos permiten disponer de una base forrajera de buena calidad a lo largo de todo el año, con los altibajos considerados propios de cada una de las estaciones (Molinuevo, 1998), apta para el desarrollo de sistemas de producción a pastoreo imponiendo, de alguna manera, un límite a las exigencias de crecimiento permanente en aras de cumplir objetivos productivos propios de otros sistemas.

Las vacas evaluadas en este trabajo no mostraron diferencias significativas entre cuartiles de precocidad en la producción de leche ajustada a 305 días. Ello implica que la edad a su primer parto no influyó en la producción de su primera lactancia. A este respecto cabe agregar que los valores de producción de leche están por debajo de los valores habituales de la zona y que la mayor producción no se registró en las vacas más precoces. En las puras esa mayor producción se dio en aquellas pertenecientes al Cuartil 2, mientras que en las vacas con registro de cría en el Cuartil 3, remarcando la discrepancia entre la precocidad pretendida y la precocidad recomendable para estos sistemas. Autores como Van Amburgh y col., (1994) y Hoffman y col., (1996), sugieren que la edad al parto puede ser reducida a los 22 meses sin influencias negativas en la producción de leche y la salud animal. Vitullo, Sarramone y Dick, (2016) no observaron asociación entre la edad al primer parto y la producción de leche, en coincidencia con lo informado en este trabajo para las vacas con registro de cría. Otros autores, por el contrario, concluyen que la producción de leche es mayor a medida que se atrasa la edad al parto (Castillo-Badilla y col., 2013; Salazar-Carranza y col., 2013), resultados que coinciden con lo encontrado en el caso de las vacas puras.

Lasa, (2015) observó una relación importante entre la producción de leche en la primera lactancia y la

precocidad reproductiva, con un aumento de la producción con partos entre los 18 y hasta los 26 meses y un descenso posterior a medida que la edad al primer parto aumentaba. En relación con el reingreso de la vaca de primera parición a la actividad reproductiva, no se observaron diferencias significativas entre cuartiles de precocidad en el intervalo parto-concepción en el caso de las vacas puras, pero sí en aquellas con registro de cría entre las más precoces -cuartil 1- y el resto de las categorías. Dicha diferencia indica que, para este grupo de vacas, un inicio temprano de la primera lactancia afecta el comportamiento reproductivo inmediato. El efecto de la edad al primer parto sobre los parámetros reproductivos, tales como servicio por concepción o intervalo parto-concepción, no han sido ampliamente discutidos en la literatura (Castillo-Badilla y col., 2016). No obstante, sí se ha relacionado la menor edad al primer parto con la presentación de partos distócicos, muy probablemente debido al escaso desarrollo corporal de las terneras (Ettema y Santos, 2004).

Por otro lado, se ha observado que la edad al primer parto pareciera no tener efecto sobre los indicadores reproductivos (Marini, Charmandarian y Di Masso, 2007), observación que se confirma en el grupo de vacas puras en el cual no hay asociación entre la edad al primer parto y el intervalo parto-concepción, contrariamente a lo encontrado por Castillo-Badilla y col., (2016) que sí se observa en las vacas con registro de cría. En este último grupo, a mayor edad al primer parto menor intervalo parto-concepción. Algo interesante que mostró el grupo de vacas con registro de cría es que dentro del mismo pudieron identificarse dos grupos de animales, aquellos cuya edad al primer parto es menor a 36 meses en los que asociación es no significativa y muestra una gran dispersión en el valor del intervalo parto-concepción, y un segundo grupo, con edades al primer parto superiores a los 36 meses en los que la asociación tampoco fue estadísticamente significativa, pero los valores del intervalo parto-concepción muestran menor variación.

Este comportamiento puede explicarse si se toma en cuenta que luego del parto, los requerimientos del primer grupo incluyen producción, crecimiento y gestación, mientras que en los del segundo grupo sólo participan producción y gestación. Una de las posibles relaciones ventajosas de la edad al primer parto con las variables reproductivas es que su disminución podría aumentar el número de terneros

por vaca, pero, tal disminución podría traer aparejada una mayor dificultad en el parto con la consecuente reducción en la viabilidad de los terneros y un aumento de su susceptibilidad a agentes infecciosos debido a una reducida absorción de inmunoglobulinas (Pirlo, Miglior y Speroni, 2000). La reducción de la edad al primer parto, además, conllevaría una reducción de la fertilidad, con aumento de los costos asociados a la reproducción, especialmente al intervalo entre partos y al descarte prematuro de animales valiosos (Moore y col., 1991). En contraste, la edad al primer parto no presentó efecto significativo sobre el intervalo parto concepción en vacas Jersey, coincidente con lo reportado para animales en condiciones de pastoreo, en donde no se observó efecto marcado de la edad al primer parto sobre los indicadores reproductivos (García Bouissou y Gens, 1997; Marini, Charmandarian y Di Masso, 2007). Otros autores, indican que las vaquillonas con mayor producción muestran un deterioro en su capacidad de reiniciar la actividad reproductiva luego del primer parto (Kim y Suh, 2003; Marini, Charmandarian y Di Masso, 2007).

De igual manera, Roche y col., (2013) asociaron alteraciones en el postparto con una alta producción de leche, especialmente en vacas que paren a edades entre 24 -28 meses y mayores a los 28 meses, lo cual podría indicar una alta predisposición de las vacas con una producción superior a presentar desordenes postparto. No se observaron diferencias significativas entre los cuartiles en el número de partos. Los valores de este indicador de longevidad fueron similares para ambos grupos de vacas, con una reposición del 33 % en la mayoría de los cuartiles. En el caso de las vacas puras no se observó asociación entre la edad al primer parto y el número de partos mientras que, en aquellas con registro de cría, dicha asociación fue significativa ( $p \leq 0,05$ ) y mostró que a mayor edad al primer parto fue menor el número total de partos. El efecto de la edad al primer parto sobre la longitud de vida productiva tampoco ha sido ampliamente discutido, Casanova y col., (2011) analizaron el efecto de la edad al primer parto y observaron que vacas que parieron por primera vez a una edad avanzada -40 meses- presentaron un riesgo 23 % superior de ser descartadas que vacas que lo hicieron a una edad de 30 meses. Sewalem, Kistemaker y Van Doormaal, (2003) observaron en la población Holstein de Canadá, que a medida que aumentaba la edad al primer parto se incrementaba el riesgo de eliminación. Castillo-Badilla y col.,

(2016) mostraron resultados confirmatorios de informes previos, según los cuales aquellas hembras con edad al primer parto menores a los 23 meses presentaron mayor longevidad dentro del hato en coincidencia con Cooke y col., (2013) y Zavadilová, Štípková y col., (2013). Vukasinovic, Moll y Casanova, (2001) informaron un mayor riesgo para las vacas que paren muy temprano y como así también, y especialmente, para las que paren muy tarde.

## 5 Conclusión

Las relaciones entre edad al primer parto con la producción láctea y con indicadores reproductivos y de longevidad en vacas lecheras de primera lactancia en sistemas a pastoreo resulta compleja; en tanto en este tipo de sistemas no es posible asegurar que los requerimientos de los animales serán cubiertos con el mismo grado de ajuste que se logra en sistemas intensivos. Las diferencias en el comportamiento de las vacas puras y las vacas con registro de cría con diferente potencialidad productiva, pone en discusión el objetivo de ejercer presión para lograr un primer parto a los 24 meses como propuesta generalizada en los sistemas a pastoreo.

## Referencias

- Berra, G. (1998). «Recría de vaquillonas en el tambo». En: *Revista de Medicina Veterinaria* 79.3, págs. 237-242.
- Casanova, D. y col. (2011). «Análisis de la longevidad funcional de la raza Holando argentino». En: *Sitio Argentino de Producción Animal* 13.51, 21-29. Online: <https://bit.ly/2EeKZ8X>.
- Castillo-Badilla, G. y col. (2016). «Efecto de la edad al primer parto sobre parámetros reproductivos en la primera lactancia de vacas Holstein y Jersey de Costa Rica». En: *Ciencias Veterinarias* 33.1, 33-45. Online: <https://bit.ly/2EdCKKk>.
- Castillo-Badilla, Gloriana y col. (2013). «Efecto de la edad al primer parto sobre parámetros productivos en vacas Jersey de Costa Rica.» En: *Agroonomía Mesoamericana* 24.1, 177-187. Online: <https://bit.ly/2T21ddX>.
- Cooke, J. y col. (2013). «Association between growth rates, age at first calving and subsequent fertility, milk production and survival in Holstein-Friesian heifers». En: *Open Journal of Animal Sciences* 3.1, 1-12. Online: <https://bit.ly/2ByAX0H>.
- Duplessis, M. y col. (2015). «Weight, height, and relative-reliability indicators as a management tool for reducing age at first breeding and calving of dairy heifers». En: *Journal of dairy science* 98.3, 2063-2073. Online: <https://bit.ly/2WZUFeK>.
- Ettema, J.F. y J.E. Santos (2004). «Impact of age at calving on lactation, reproduction, health, and income in first-parity Holsteins on commercial farms». En: *Journal of dairy science* 87.8, 2730-2742. Online: <https://bit.ly/2GJBG2o>.
- Frana, E. y col. (2014). «Causas de descartes en vacas lecheras». En: *XV Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas*. Ed. por Facultad de Ciencias Veterinarias. UNR, págs. 129-130.
- Frossasco, G. y col. (2017). *Evaluación de distintos sistemas lecheros intensivos*. Inf. téc. Área Producción Animal EEA INTA Manfredi. Online: <https://bit.ly/2GvCI2T>.
- García Bouissou, R. y M. Gens (1997). «Edad al primer parto en vaquillonas Holstein. Relaciones con el comportamiento productivo y reproductivo». En: *Memorias del IV Simposio Lechero de Tandil*. Ed. por Estudio Ganadero Pergamino. Argentina., págs. 33-38.
- Gill, G.S. y F.R. Allaire (1976). «Relationship of age at first calving, days open, days dry, and herd life to a profit function for dairy cattle». En: *Journal of Dairy Science* 59.6, 1131-1139. Online: <https://bit.ly/2V1Iqg8>.
- Glauber, C.E. (2007). «El manejo de la vaquillona de reposición en el rodeo lechero, una introducción. Revisión.» En: *Veterinaria argentina* 24.235, 366-370. Online: <https://bit.ly/2SaA1VC>.
- Grajales, H., A. Hernández y E. Prieto (2006). «Edad y peso a la pubertad y su relación con la eficiencia reproductiva de grupos raciales bovinos en el trópico colombiano». En: *Livestock Research for Rural Development* 18.10, Online: <https://bit.ly/2U7wVmS>.
- Grandl, Florian y col. (2016). «Biological implications of longevity in dairy cows: 1. Changes in feed intake, feeding behavior, and digestion with age». En: *Journal of dairy science* 99.5, 3457-3471. Online: <https://bit.ly/2toQhZa>.
- Hadley, G.L., C.A. Wolf y S.B. Harsh (2006). «Dairy cattle culling patterns, explanations, and implications». En: *Journal of dairy science* 89.6, 2286-2296. Online: <https://bit.ly/2BOSv95>.



- Hare, E., H. Norman y J. Wright (2006). «Trends in calving ages and calving intervals for dairy cattle breeds in the United States». En: *Journal of dairy science* 89.1, 365-370. Online: <https://bit.ly/2BF55wr>.
- Heinrichs, A.J. (1993). «Raising dairy replacements to meet the needs of the 21st century». En: *Journal of Dairy Science* 76.10, 3179-3187. Online: <https://bit.ly/2EciR6b>.
- Hoffman, P.C. y col. (1996). «Effect of accelerated postpubertal growth and early calving on lactation performance of primiparous Holstein heifers». En: *Journal of dairy science* 79.11, 2024-2031. Online: <https://bit.ly/2TRO1p1>.
- Kim, I.H. y G.H. Suh (2003). «Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in Holstein dairy cows». En: *Theriogenology* 60.8, 1445-1456. Online: <https://bit.ly/2EeeJmf>.
- Knaus, Wilhelm (2009). «Dairy cows trapped between performance demands and adaptability». En: *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89.7, 1107-1114. Online: <https://bit.ly/2BHWtA5>.
- Krupic, M.L. y col. (2015). «Hip height measurements, production and reproduction in adult dairy cows in Argentina grazing systems». En: *Asian J Agric Food Sci* 3, 109-112. Online: <https://bit.ly/2SF7BYT>.
- Lasa, D. (2015). «Comportamiento productivo y reproductivo de la población de bovinos Holando Argentino en las cuencas lecheras de la República Argentina.» Tesina. pp:46. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA.
- Marini, P. R., A. Charmandarian y R. J. Di Masso (2007). «Desempeño productivo y reproductivo de vacas de diferentes edades al primer parto en sistemas a pastoreo». En: *Sitio Argentino de Producción Animal. APPA-ALPA*, 1-4. Online: <http://www.produccionbibrangedash.animal.com.ar/>.
- Marini, P.R., A. Charmandarian y M.I. Oyarzabal (2001). «Indicadores productivos y reproductivos de vacas de diferentes edades al primer parto en sistemas a pastoreo». En: *ALPA Com* 9, págs. 345-348.
- Molinuevo, H.A. (1998). «Selección de bovinos para sistemas de producción en pastoreo». En: *Rev. Arg. Prod. Anim.* Vol. 18. 3-4, págs. 227-245.
- Moore, R.K. y col. (1991). «Relationships between age and body weight at calving and production in first lactation Ayrshires and Holsteins». En: *Journal of Dairy Science* 74.1, 269-278. Online: <https://bit.ly/2SR4rRn>.
- Mourits, M.C. y col. (2000). «Optimization of dairy heifer management decisions based on production conditions of Pennsylvania». En: *Journal of dairy science* 83.9, 1989-1997. Online: <https://bit.ly/2X5yFiy>.
- Novaira, B. y col. (2018). «Predicción del Comportamiento Productivo de Vacas Lecheras en Sistemas a Pastoreo.» En: *1 Congreso Internacional Ciencia y Tecnología Agropecuaria – Ecuador*, págs. 187-189.
- Orrego, Jorge, Alfredo Delgado y Luisa Echevarría (2003). «Vida productiva y principales causas de descarte de vacas Holstein en la cuenca de Lima». En: *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 14.1, 68-73. Online: <https://bit.ly/2IdwXIC>.
- Pieroni, G. A. (2014). *Curso Producción Bovinos de Leche. Recría de vaquillonas en el tambo*. Inf. téc. pp6. Online: <https://bit.ly/2SGzgZH>: Vetifarma.
- Pirlo, G., F. Miglior y M. Speroni (2000). «Effect of age at first calving on production traits and on difference between milk yield returns and rearing costs in Italian Holsteins». En: *Journal of dairy science* 83.3, 603-608. Online: <https://bit.ly/2X9qm5h>.
- Roche, John R. y col. (2013). «Assessing and managing body condition score for the prevention of metabolic disease in dairy cows». En: *Veterinary Clinics: Food Animal Practice* 29.2, 323-336. Online: <https://bit.ly/2GuI920>.
- Romano, G., M. S. Salas y J. A. Maiztegui (2016). «Efecto de la estación y número de parto sobre la producción total de leche a 305 días de lactancia, en vacas Holando Argentino». En: *XVII Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas. IV Jornada Latinoamericana. II Jornadas de Ciencia y Tecnología. I Reunión Transdisciplinaria en Ciencias Agropecuarias*. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias - UNR, 511-512. Online: <https://fveter.unr.edu.ar/jornadas/>.
- Salazar-Carranza, Mauren y col. (2013). «Edad al primer parto en vacas Holstein de lechería especializada en Costa Rica.» En: *Agronomía Mesoamericana*, 233-243. Online: <https://bit.ly/2TZR4va>.

- Seegers, H. y col. (1998). «Reasons for culling in French Holstein cows». En: *Preventive veterinary medicine* 36.4, 257-271. Online: <https://bit.ly/2GtmxDc>.
- Sewalem, Asheber, G.J. Kistemaker y Brian Van Doormaal (2003). «Genetic analysis of herd life in Canadian dairy cattle on a lactation basis using the survival kit». En: *Interbull Bulletin* 31, 73. Online: <https://bit.ly/2GKI2yA>.
- Snyder, M. (2006). *La cría de vaquillonas en el negocio del tambo*. Producir XXI 14: 43-49. Online: [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar).
- Van Amburgh, M.E. y col. (1994). «Effect of prepubertal growth rate in Holstein heifers on first lactation milk yield». En: *J. Dairy Sci* 77.Suppl 1, pág. 185.
- Vitullo, M., C. G. Sarramone y A. Dick (2016). «Análisis de distintas variables productivas y reproductivas, en relación con la edad al parto en vaquillonas Holando Argentino (Holstein)». Tesis de grado. Online: <https://bit.ly/2TSIWwA>. Facultad de Ciencias Veterinarias -UNCPBA.
- Vukasinovic, N., J. Moll y L. Casanova (2001). «Implementation of a routine genetic evaluation for longevity based on survival analysis techniques in dairy cattle populations in Switzerland». En: *Journal of Dairy Science* 84.9, 2073-2080. Online: <https://bit.ly/2GNeIrm>.
- Zavadilová, L., M. Štípková y col. (2013). «Effect of age at first calving on longevity and fertility traits for Holstein cattle». En: *Czech J. Anim. Sci* 58.2, 47-57. Online: <https://bit.ly/2TYxUGp>.



# ESTUDIO EN EL ECUADOR DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN PARA EL CONTEO TOTAL DE BACTERIAS POR CITOMETRÍA DE FLUJO DE LECHE CRUDA BOVINA

## A STUDY IN ECUADOR OF THE CALIBRATION CURVE FOR TOTAL BACTERIAL COUNT BY FLOW CYTOMETRY OF RAW BOVINE MILK

Rocio Contero<sup>1</sup>, Elena Liceth Aquino<sup>1</sup>, Paola Elizabeth Simbaña<sup>1</sup>, Connie Gallardo<sup>2</sup> y Rachel Bueno<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dairy Research Group, Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador.

<sup>2</sup> Department of Veterinary Medicine and Animal Science, Universidad Científica del Sur, Perú

<sup>3</sup> Faculty of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, Brazil

\*Autor para correspondencia: [rcontero@ups.edu.ec](mailto:rcontero@ups.edu.ec)

Manuscrito recibido el 24 de diciembre de 2018. Aceptado, tras revisión, el 26 de febrero de 2019. Publicado el 1 de marzo de 2019.

### Resumen

El análisis del conteo total de bacterias (CBT) como parámetro de la calidad higiénica en leche cruda es uno de los más requeridos mundialmente por las industrias y entidades de vigilancia de la inocuidad de alimentos. Este análisis se realiza tradicionalmente por el método referencial del conteo en placas expresado en UFC/mL, sin embargo, el método alternativo por citometría de flujo actualmente, se muestra como un método confiable y más rápido, que permite determinar las poblaciones bacterianas a través del Conteo Individual de Bacterias (IBC/ml). El objetivo del presente estudio fue determinar la ecuación de regresión y correlación entre ambos métodos debido a que éstos pueden variar en cada país en función de las actividades de manejo del ganado durante el ordeño. Para su evaluación en Ecuador, fueron utilizadas 357 muestras de leche con rangos entre 100000 a 1,5 millones de UFC/mL provenientes de dos pisos altitudinales: Zona 1 (Z1) (> 3000 msnm) y Zona 2 (Z2) (1050 msnm). Los análisis fueron realizados bajo ambos métodos simultáneamente, (máximo de desviación de  $\pm 1$  h) y siguiendo las recomendaciones de la IDF/ISO-196 y la norma AOAC 986,33. Los resultados mostraron una alta correlación entre los métodos ( $r = 0,91$ ) y al no encontrar diferencias estadísticas significativas para el efecto de las zonas (Z1 y Z2), el mismo no fue considerado, sugiriendo el uso de una única ecuación de regresión lineal.

**Palabras clave:** CBT, IBC, Bactoscan, citometría, calidad de leche.

### Abstract

The total bacteria count (TBC) analysis, as a parameter of hygienic quality in raw milk, is one of the most requested analysis by dairy industries and food safety organizations. This analysis is done by the reference method of plate count expressed as colony-forming unit per milliliter (CFU/mL). However, the alternative method by flow cytometry currently is a reliable and faster method than the reference method of Individual Bacteria Count per milliliter (IBC/mL). The aim of the study was to determine the linear regression equation and correlation between the reference method and the alternative method by flow cytometry. Because the activities of livestock management during milking are different in each country, a total of 357 milk samples with a range from 100000 to 1,5 millions of UFC/mL from two altitudinal floors: Z1 (> 3000 masl) and Z2 (1050 masl) were done in Ecuador. Both methods were analyzed at the same time, (maximum deviation of  $\pm 1$  h), following the recommendations of the *IDF/ISO* – 196 and the *AOAC* 986.33 standard. The results showed a high correlation between the two methods ( $r = 0,91$ ) and since there were no statistic differences for the effect of Zones 1 and 2, it was not considered, suggesting the use of a unique linear regression equation.

**Keywords:** CBT, IBC, Bactoscan, cytometry, quality milk.

Forma sugerida de citar: Contero, R., Aquino, E.L., Simbaña, P.E., Gallardo, C. y Bueno, R. (2019). Estudio en el Ecuador de la curva de calibración para el conteo total de bacterias por citometría de flujo de leche cruda bovina. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*. Vol. 29(1):97-104. <http://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.08>.

IDs Orcid:

Rocio Contero: <https://orcid.org/0000-0001-5335-1283>

Elena Liceth Aquino: <https://orcid.org/0000-0003-2827-5674>

Paola Elizabeth Simbaña: <https://orcid.org/0000-0002-8977-455X>

Connie Gallardo: <https://orcid.org/0000-0002-8070-8767>

Rachel Bueno: <https://orcid.org/0000-0002-0555-1480>

## 1 Introducción

La producción de leche bovina tiene una función importante en el ámbito económico y social del Ecuador. El incremento en la producción en los últimos 15 años se ha visto favorecida, entre otros factores, por el establecimiento de industrias con nuevas tecnologías, formación de asociaciones de productores y diferentes posibilidades de financiamiento (Cuenca, 2015; CEPAL, 2017). Actualmente, la producción total del país se estima en 5,5 millones de litros de leche por día, con el 73 % proveniente de la región central del país (INEC, 2014) y su principal destino es el abastecimiento del mercado interno.

La leche, por su composición nutricional, destaca como un alimento completo que contiene proteínas, vitaminas, lípidos y minerales con beneficios biológicos importantes en la etapa de crecimiento y en el mantenimiento óseo del cuerpo (Micinski, 2013; Pereira, 2014). La globalización se presenta como el principal responsable para el aumento del consumo de leche y derivados, influenciado por cambios en los patrones alimenticios, el crecimiento poblacional y la prioridad de la sociedad actual, de disponer de alimentos nutritivos y sanos (Primary Industries, 2015; CEPAL, 2017). En países de América Latina se tiene una previsión de aumento del consumo del 1,6 % para leche fluida y 2,8 % para otros derivados lácteos (Hoddinott, Headey y Dereje, 2015; CEPAL, 2017).

Ecuador ofrece un gran potencial para expandir la oferta de alimentos pecuarios como leche y derivados debido a sus recursos naturales (Requielme y Bonifaz, 2012; Cuenca, 2015) y el control de la calidad esencial para garantizar la inocuidad de los alimentos comercializados. Siguiendo la recomendación de organismos internacionales, las entidades vinculadas al control de la salud pública en el Ecuador, han establecido normativas de vigilancia en todas las etapas de producción de la leche, desde la producción, ordeño, procesamiento hasta que llegue al consumidor (FAO e IDF, 2011; INEN, 2012; MAGAP, 2008; MAGAP, 2013).

El conteo total de bacterias (CTB) es el método más utilizado para caracterizar la calidad microbiológica o población de bacterias en los alimentos. El método no diferencia los tipos de bacterias, pero es útil para obtener una información general de la higiene de los productos y las condiciones del proceso (Silva, 2010; Sampaio, 2015).

Para su producción, la industria requiere leche con

conteos bacteriales bajos alrededor de 100000 a 300 000 UFC/ml (Belli, 2013; Botaro, Gameiro y Santos, 2013; MAGAP, 2013), dado que algunas esporas, enzimas y metabolitos bacteriales pueden sobrevivir a procesos térmicos y afectar las características sensoriales de los productos alimenticios como el sabor, textura o reducción de su vida útil (Barbano, Ma y Santos, 2006; Silva, 2010; Gopal, 2015). Además, los altos conteos de bacterias en leche cruda pueden ser alertas de deficiencias en la higiene y desinfección en las áreas de producción y procedimientos de ordeño, en materiales o equipos; así como errores en el control de la temperatura de almacenamiento y la calidad microbiológica del agua utilizada, entre otras (Matsubara, 2011; Ruiz-Cortés y col., 2012; Almeida, 2016; Reyes, 2017).

El conteo en placas microbiológicas es el método de referencia para el análisis del CTB. Su resultado se expresa como unidad formadora de colonias (UFC/mL) y determina la cantidad de bacterias mesófilas presentes en la leche cruda. A pesar de la importancia del análisis para la industria láctea resulta poco práctico, teniendo en cuenta que los resultados se obtienen a las 48 horas de incubada la muestra (Silva, 2010; Cassoli, 2016).

La búsqueda de métodos analíticos alternativos que simplifiquen los procedimientos de laboratorio y aceleren la entrega de resultados ha exigido el desarrollo de tecnologías confiables como la citometría de flujo, la cual permite el conteo de poblaciones bacterianas a través del Conteo Individual de Bacterias (IBC/mL) basadas en la dispersión de luz y fluorescencia de un marcador de ADN bacterial. La citometría de flujo tiene, además, la ventaja de que no requiere la preparación de medios de cultivo, reduciendo la manipulación de muestras de leche y el tiempo de entrega de resultados (Evangelista, 2008; Araujo, 2009. Silva, 2010; Jatobá, 2014; Numthuan, 2017). Este método electrónico es utilizado en el equipo Bactoscan (Foss Analytical Instruments).

El uso de métodos analíticos alternativos requiere el estudio comparativo con métodos referenciales, al igual que la definición de una ecuación de regresión lineal. En países de la Unión Europea, para la aplicación de este método se ha adoptado una sola ecuación de conversión por convención, pero en otros países, como los de América del Sur, se utiliza una ecuación por cada nación (Botaro, Gameiro y Santos, 2013; Cassoli, 2016).

También las regulaciones para los límites máximos permisibles de CBT en leche cruda son diferentes

en cada país. Así, en la Unión Europea los valores oscilan entre 100 000 a 500 000 UFC /ml, imponiéndose penalizaciones económicas para leches con conteos superiores (Botaro, Gameiro y Santos, 2013). En el Ecuador, desde el año 2008, el gobierno determinó los requisitos técnicos para el pago por calidad de leche cruda, donde estableció la necesidad de realizar análisis de laboratorio de la materia prima del conteo total de bacterias, antes que pueda ser comercializada y procesada en la industria (INEN, 2012; MAGAP, 2013).

El objetivo del presente estudio fue determinar la ecuación de regresión lineal y correlación entre el método de referencia por conteo en placas expresado en UFC/mL y la técnica de citometría de flujo expresada en IBC/mL, para la determinación del conteo total de bacterias (CBT) en leche cruda, que permita establecer la curva de calibración entre ambos métodos para la evaluación de la calidad microbiológica de leche cruda bovina en el Ecuador.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Recolección de muestras

Se colectaron 357 muestras de leche para este estudio, entre los años 2013 y 2014, en los meses de enero, febrero, marzo, mayo, septiembre, octubre, noviembre y diciembre. Las muestras fueron colectadas de tanques de refrigeración de productores organizados (49%) y de tanques de refrigeración de productores individuales (51%).

Todos los productores de leche estaban localizados en la región central del país, en el sector de la provincia del Pichincha (0°5'14" N y 78°6'12" O); dentro de esta región fueron considerados dos pisos altitudinales, uno en Cayambe (Z1), ubicado a > 3000 msnm, y otro en San Miguel de los Bancos (Z2), a 1050 msnm. Z1 presentó una temperatura anual promedio entre 8 – 15°C y una humedad relativa del 65%; y Z2 presentó una temperatura promedio de 18 – 24°C y una humedad relativa del 85% (Laboratorio de Sistemas de Información Geográfica-SIG-Universidad Salesiana Ecuador, 2018).

Durante la colecta de muestras de leche se siguieron los procedimientos de referencia, utilizando frascos estériles de 50ml y conservante Azidiol. Las muestras fueron transportadas en refrigeración a 4 – 7°C al Laboratorio de Calidad de Leche de la Universidad Politécnica Salesiana.

### 2.2 Análisis de laboratorio

El conteo en placa fue realizado de acuerdo con el procedimiento de referencia del Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización y la Organización Internacional de Estandarización (INEN y ISO, 2014), utilizando 1ml de muestra de leche (previa homogenización) diluido en 9ml de agua estéril peptonada al 0,1% con diluciones seriadas (10 – 1 a 10 – 5). Finalmente, 1000µl fueron sembrados en placas Petrifilm para conteos de aerobios (3 M, Saint Paul, MN, USA) por duplicado e incubados a 32°C (±1°C) × 48 h (± 3 h) según referencia de AOAC 986.33 para productos lácteos. Para el resultado total fueron seleccionadas placas que tenían entre 25 a 250 colonias de bacterias. Los resultados están expresados como UFC/mL (Cassoli, 2007; Silva, 2010). Todas las muestras fueron analizadas dentro del período de las 48 h de realizada la colecta (INEN, 2006; Cassoli, 2016) y por ambos métodos, analizados al mismo tiempo (máximo de desviación de ±1 h) según la norma IDF/ISO-196.

El método alternativo por análisis del IBC fue realizado utilizando la citometría de flujo, con equipo Bactoscan FC (Foss Analytical Instruments) con capacidad de análisis de 50 muestras/hora. Su principio analítico se basa en la adición de bromuro de etidio (una sustancia colorante) que se intercala en el ADN y ARN bacterial. La muestra inyectada pasa a través de una cámara de flujo donde el sistema óptico detecta partículas teñidas por emisión de fluorescencia. Además de la sustancia colorante, se requiere una solución tampón (buffer) con enzimas proteolíticas. La intensidad y la altura de la emisión de fluorescencia son los parámetros selectivos para la identificación de las bacterias de interés. Los resultados fueron expresados en IBC/ml (Jatobá, 2014; Numthum, 2017).

### 2.3 Análisis estadístico

En el análisis estadístico fue utilizado el programa SAS versión 9.3 (Statistical Analysis System). Para la verificación de la distribución normal de los datos todos los resultados, tanto de UFC/mL como IBC/mL, fueron transformados en logaritmos de base 10. La regresión lineal fue evaluada para verificar la correlación entre el método referencial y el método alternativo. El método de referencia fue considerado como variable dependiente y el método alternativo por citometría de flujo como variable independiente. El modelo lineal propuesto fue

$Y = ax + b$ . Donde  $Y$  es la variable dependiente en  $\log$  (UFC),  $x$  es la variable independiente en  $\log$  (IBC),  $a$  es la pendiente de la curva,  $b$  el intercepto o coeficiente lineal. Adicionalmente, debido a las

diferencias en las condiciones ambientales de temperatura y humedad relativa, los resultados de las zonas Z1 y Z2 fueron analizados por separado.

**Tabla 1.** Distribución de las muestras de leche de acuerdo con los niveles de conteo total de bacterias. n indica el número de muestras.

Clasificación	Conteo total de bacterias (UFC/ml)	n	%
Bajo	< 100000	233	65,3
Medio	100000 – 500000	68	19,1
Alto	500000 – 1'000000	35	9,8
Muy alto	> 1'000000	21	5,9

### 3 Resultados y Discusión

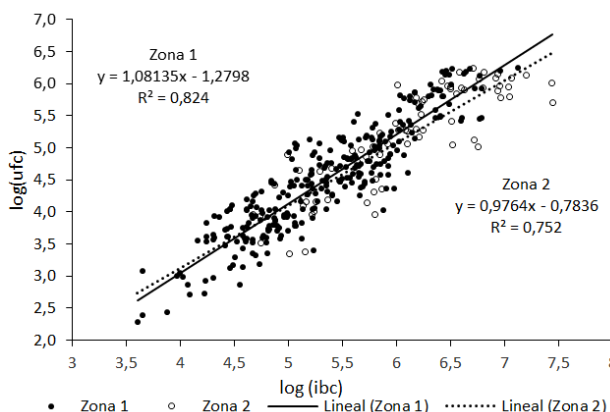
Para este estudio, la distribución de muestras de mesófilos aerobios se presenta en la Tabla 1. De un total de 357 muestras de leche analizadas, 34,7% indicaron presencia de bacterias entre los rangos de clasificación de medio a muy alto. El 65,3% correspondió a rangos menores a los 100000 UFC/ml. Las muestras provinieron de ganado con un mayor porcentaje de vacas Holstein, Brown Swiss y Jersey presentes en las zonas evaluadas (Requelme y Bonifaz, 2012) y para cada una de ellas fue analizada la

correlación y ecuación de regresión lineal.

$$\text{Zona 1: } \log(UFC) = \log(IBC) * 1,08135 + 1,2798 \quad (1)$$

$$\text{Zona 2: } \log(UFC) = \log(IBC) * 0,9764 + 0,7836 \quad (2)$$

En la Figura 1 se muestra el análisis de regresión para el método alternativo expresado en  $\log(UFC)$  frente al método alternativo  $\log(IBC)$  para cada zona investigada; 80% ( $n = 286$ ) de las muestras analizadas correspondieron a Z1 y 20% ( $n = 71$ ) a Z2.



**Figura 1.** Distribución y línea de regresión en  $\log(IBC/mL)$  y  $\log(UFC/mL)$  para la zona 1 y zona 2.

En el análisis de residuos no se encontraron muestras consideradas atípicas en la población de estudio, ni patrones que indicasen heterogeneidad

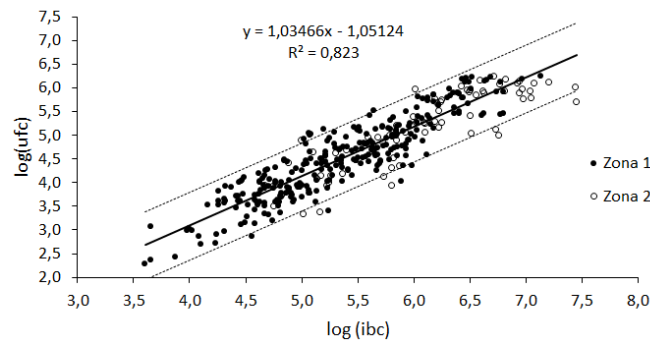
de diferencia. Con referencia al coeficiente de variación que sugiere la calidad de los datos, los resultados obtenidos en este estudio fueron inferiores al

10%, sugiriendo que los métodos son reproducibles y confiables para el análisis microbiológico realizado (Sampaio, 2015). La probabilidad de que los conteos en cada una de las técnicas tengan un nivel de significación del 95% se determinó con el valor de  $p$ ; se concluyó que no había diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre las técnicas en estudio.

El efecto de las zonas Z1 y Z2 no fue considerado en el método de análisis debido a que las diferencias observadas no fueron significativas estadísticamente (Figura 2). Así, fue definida una única ecuación:  $\log(UFC) = \log(IBC) * 1,03466 - 1,05124$ .

Los estudios realizados por Cassoli, (2007) indicaron la importancia de considerar la citometría de flujo como método alternativo para el conteo de bacterias en leche y la determinación de la calidad higiénica en la leche cruda antes de su comercialización. Un conteo elevado de microorganismos mesó-

filos aeróbicos puede estar relacionado con diferentes fuentes de contaminación al momento del ordeño y transporte de la leche, así como con variaciones en la temperatura de almacenamiento (Matsubara, 2011; Martins, 2017). La normativa ecuatoriana para mesófilos aerobios define un límite máximo de 1,5 millones de UFC/mL; sin embargo, las regulaciones industriales penalizan al productor en el pago por litro de leche para conteos superiores a 300000 UFC/mL. Los conteos superiores a 700000 UFC/mL fueron observados en el 6,1% al 10% de muestras de leche provenientes de tanques de refrigeración de asociaciones de productores (Almeida, 2014; Neppas, 2014), demostrando la necesidad de mayor control en la higiene durante el ordeño. De ahí la importancia de definir una ecuación de correlación con rangos entre 100000 y 1,5 millones de UFC/mL.



**Figura 2.** Distribución, línea de regresión e intervalo de predicción (95%)  $\log(IBC/mL)$  y  $\log(UFC/mL)$ .

Aunque en países como Noruega, Canadá y Reino Unido se ha adoptado la expresión de resultados como IBC/mL directamente (sin conversión) a UFC/mL, el método de referencia en las normativas internacionales y nacionales exige su expresión como UFC/mL (ISO, 2006; Cassoli, 2007). La transformación de los resultados analíticos obtenidos por equipos de conteo electrónico basados en la citometría de flujo también se utiliza en otros países, junto con el uso de la curva de calibración y regresión lineal, como Brasil, Uruguay y Colombia (INEN, 2012; Ruiz-Cortés y col., 2012; Cassoli, 2016). En este estudio, el análisis estadístico mostró una correlación significativa entre la técnica estándar y la técnica de citometría de flujo ( $r = 0,91$ ), resultado

similar al de trabajos previos que reportan un valor entre 0,80 a 0,93 (Cassoli, 2007; Jatobá, 2014). Sampaio, (2015) indicaron que la correlación entre ambos métodos puede ser afectada por el tamaño, la forma de las células bacterianas o su forma de agrupación.

La implementación de sistemas de gestión y control de calidad entre laboratorios permite actualmente comparar ecuaciones y verificar discrepancias. Además, otra ventaja importante de la citometría de flujo es el precio de este análisis: en el Ecuador representa una diferencia de 3 a 4 veces menor en comparación al precio del método referencial, posicionándolo como una herramienta útil en los programas de monitoreo y control de calidad de alta demanda.

## 4 Conclusiones

Ya que la demanda por análisis de muestras de leche en Ecuador es cada vez frecuente y no se observaron diferencias significativas para las zonas (> 2900 msnm y 1050 msnm) como las evaluadas en este estudio, es posible utilizar una única ecuación de regresión lineal para la determinación del CBT por el método alternativo de citometría de flujo utilizando el equipo Bactoscan FC.

## Agradecimiento

Los autores agradecen a los productores de leche por su colaboración.

## Referencias


- Almeida, D.I.A. (2014). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de California Mastitis test e identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche en la comunidad San Pablo Urco, Olmedo - Cayambe-Ecuador*. Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2H3mle4>: Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador.
- Almeida, T (2016). «Efeito da temperatura e do tempo de armazenamento de amostras de leite cru nos resultados das análises eletrônicas». En: *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 68.5, 1316-1324. Online: <https://bit.ly/2NKSE1Y>.
- Araujo, V. M. (2009). «Avaliação da metodologia no infravermelho com Transformada de Fourier para análises do pH e ponto de congelamento em leite bovino. Tesis Mestrado em Agronomia.» Tesis de mtría. Online: <https://bit.ly/2C6Pdhu>: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.
- Barbano, D. M., Y. Ma y M. V. Santos (2006). «Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life». En: *Journal of Dairy Science* 89, 14-19. Online: <https://bit.ly/2Uo8O3T>.
- Belli, P. (2013). «Microbiological survey of milk and dairy products from a small scale dairy processing unit in Maroua (Cameroon)». En: *Food Control* 32.2, 366-370. Online: <https://bit.ly/2TkOgg4>.
- Botaro, B. G., A. H. Gameiro y M. V. Santos (2013). «Quality based payment program and milk quality in dairy cooperatives of Southern Brazil: An econometric analysis». En: *Scientia Agricola* 70, 21-26. Online: <https://bit.ly/2TFDY9T>.
- CEPAL FAO, IICA (2017). *Perpectivas de la agricultura y del desarrollo rural en las Américas: una mirada hacia América Latina 2017-2018*. Inf. téc. 41-61. Online: <https://bit.ly/2yhtW5g>. Comisión Económica para América Latina y el Caribe, Organizacin de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José.
- Cassoli, L. D. (2007). «Correlation study between standard plate count and flow cytometry for determination of raw milk total bacterial count». En: *International Journal of Dairy Technology* 60.1, 44-48. Online: <https://bit.ly/2NL87z2>.
- (2016). «Do different standard plate counting (IDF/ISSO or AOAC) methods interfere in the conversion of individual bacteria counts to colony forming units in raw milk?». En: *Journal of Applied Microbiology* 121.4, 1052-1058. Online: <https://bit.ly/2tTeAPb>.
- Cuenca, F. (2015). «Environmental Protection and agricultural food production assessment of storage, quality, and value chains parameters in southern Ecuador milk production: a rural areas approach. Thesis of Master.» Tesis de mtría. Online: <https://bit.ly/2EF0hmk>: University of Hohenheim, Stuttgart, Alemania.
- Evangelista, D. (2008). «Comparação entre metodos de referencia e eletrónico por citometria de fluxo na contagem bacteriana total (CBT) e de celulas somaticas (CCS) em leite submetido a diferentes tratamentos termicos. Tesis Master em Ciencia Animal.» Tesis de mtría. Online: <https://bit.ly/2tXendH>: Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.
- FAO e IDF. (2011). *Guide to good dairy farming practice, Guide to good dairy arming practice*. Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2HoIwum>: Food, Agriculture Organization of the United Nations e International Dairy Federation.
- Gopal, N. (2015). «The prevalence and control of Bacillus and related spore-forming bacteria in the dairy industry». En: *Frontiers in Microbiology* 6, 118. Online: <https://bit.ly/2VMW3Af>.
- Hoddinott, J., D. Headey y M. 2015. Dereje (2015). «Cows, Missing Milk Markets, and Nutrition in Rural Ethiopia». En: *Journal of Development Studies*. Routledge 51.8, 958-975. Online: <https://bit.ly/2TjcWpf>.
- INEC (2014). *Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua ESPAC- 2014*. Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2Uwl7uI>: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. Quito, Ecuador.
- INEN y ISO (2014). *Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Técnicas de recuento de colonias a 30°C*. Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2U4n4PET>: Instituto Ecuatoriano de Normalización e Internatio-

- nal Organization for Standardization. NTE 4833. Quito, Ecuador.
- INEN (2006). *Norma Técnica Ecuatoriana. NTE INEN 1529: 5. Control microbiológico de los alimentos: determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos rep.* Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2VKqrzZ>: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito, Ecuador.
- (2012). *Norma Técnica Ecuatoriana. Leche cruda. Requisitos.* NTE INEN 9:2012. Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2TvY7PA>: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito-Ecuador.
- ISO (2006). *Milk Enumeration of somatic cells Part 2. Guidance on the operation of fluoro - opto- electronic.* Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2tT6u9e>: International Organization for Standardization.
- Jatobá, R (2014). «Estabelecimento de uma curva de calibração para o equipo Bactcount para monitoramento da qualidade do leite cru refrigerado. Tese de Mestre em Zootecnia.» Tesis de maestría. Online: [urlhttps://bit.ly/2Un232c](https://bit.ly/2Un232c): Universidade Federal Rural de Pernambuco. Brasil.
- MAGAP (2008). *Reglamento para normar el pago por calidad de la leche y sanidad animal. Decreto Ejecutivo No 1042.* Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2UpcVwu>: Ministerio de Agricultura, Ganadería Acuacultura y Pesca MAGAP. Quito, Ecuador.
- (2013). *Acuerdo ministerial para el pago del litro de leche cruda en finca o centro de acopio.* Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2TlnxzZ>: Ministerio de Agricultura, Ganadería Acuacultura y Pesca - MAGAP. Quito, Ecuador.
- Martins, C. (2017). «Efficacy of a high free iodine barrier teat disinfectant for the prevention of naturally occurring new intramammary infections and clinical mastitis in dairy cows». En: *Journal of Dairy Science. American Dairy Science Association* 100, 110. Online: <https://bit.ly/2Hj8AXZ>.
- Matsubara, M. (2011). «Good practices in milking to reduce microbiological contamination of milk in agreste of Pernambuco.» en: *Semina: Ciências Agrárias.* 32, 277-286. Online: <https://bit.ly/2ETZuzh>.
- Micinski, J. (2013). «Characteristics of cows milk proteins including allergenic properties and methods for its reduction». En: *Polish Annals of Medicine. Varsvia,* 20.1, 69-76. Online: <https://bit.ly/2VKzhZJ>.
- Neppas, E. (2014). *Sistematización y análisis del proceso de gestión de la calidad de la leche del centro de acopio: El progreso de Cariacu del Cantón Cayambe.* Inf. téc. Online: <https://bit.ly/2ISRRgu>: Facultad de Ingeniería Agropecuaria. Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador.
- Numthum, S. (2017). «Method development for the analysis of total bacterial count in raw milk using near-infrared spectroscopy». En: *Journal of Food Safety* 37.3, 1-7. Online: <https://bit.ly/2VGDopo>.
- Pereira, P. C. (2014). «Milk nutritional composition and its role in human health». En: *Nutrition. London: Elsevier* 30.6, 619-627. online: <https://bit.ly/2TlkpUW>.
- Primary Industries, Ministry for (2015). *Experiences of buying, selling and consuming raw milk: survey report, MPI, New Zealand. Information Paper.* Inf. téc. 4. Online: <https://bit.ly/2ERBRre>: Ministry for Primary Industries.
- Requelme, N. y N. Bonifaz (2012). «Caracterización de sistemas de producción lechera de Ecuador.» En: *La Granja* 15, 55-69. Online: <https://bit.ly/2TFJfOJ>.
- Reyes, J. (2017). «Influence of milking method, disinfection and herd management practices on bulk tank milk somatic cell counts in tropical dairy herds in Colombia». En: *The Veterinay Journal. Elsevier Ltd* 220, 34-39. Online: <https://bit.ly/2UjAAOO>.
- Ruiz-Cortés, T. y col. (2012). «Factors that affect colony forming units in bulk milk of north Antioquia-Colombia dairy farms». En: *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica* 15.1, 147-155. Online: <https://bit.ly/2tV32ep>.
- Sampaio, V. (2015). «Influencia de diferentes tipos de micro-organismos na contagem bacteriana total por citometria de fluxo do leite cru refrigerado.» En: *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária* 67.2, 607-612. Online: <https://bit.ly/2TDhfec>.
- Silva, N. (2010). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água.* São Paulo: Varela, São Paulo. Online: <https://bit.ly/2C7MfZT>.



## ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE LOS ANTIOXIDANTES DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L) EN EL ALMACENAMIENTO

### STUDY OF THE STABILITY OF THE ANTIOXIDANTS OF THE FLOR DE JAMAICA'S WINE (*Hibiscus sabdariffa* L) UNDER STORAGE

Cristina López<sup>1</sup> , Carlos González Gallardo<sup>2\*</sup> , M.J. Guerrero Ochoa<sup>1</sup> ,  
Gabriel Mariño<sup>3</sup> , Belén Jácome<sup>4</sup> , Elena Beltrán Sinchiguano<sup>5</sup> 

<sup>1</sup> Ingeniera de Alimentos, Universidad Tecnológica Equinoccial, Centro de Investigación de Alimentos- CIAL, Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias, Quito, Ecuador

<sup>2\*</sup> Máster Universitario en Calidad de Alimentos de Origen Animal, Universidad Tecnológica Equinoccial, Centro de Investigación de Alimentos- CIAL, Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias, Quito, Ecuador

<sup>3</sup> Máster Universitario en Nanociencia y Nanotecnología, Universidad Tecnológica Equinoccial, Centro de Investigación de Alimentos- CIAL, Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias, Quito, Ecuador

<sup>4</sup> Magíster en Dirección de Operaciones y Seguridad Industrial, Universidad Tecnológica Equinoccial, Centro de Investigación de Alimentos- CIAL, Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias, Quito, Ecuador

<sup>5</sup> Magíster en Ciencia de los Alimentos, Universidad Tecnológica Equinoccial, Centro de Investigación de Alimentos- CIAL, Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias, Quito, Ecuador

\*Autor para correspondencia: [carlosgonzalez@ute.edu.ec](mailto:carlosgonzalez@ute.edu.ec)

Manuscrito recibido el 8 de julio de 2018. Aceptado, tras revisión, el 18 de enero de 2019. Publicado el 1 de marzo de 2019.

#### Resumen

Se ha determinado que la Flor de Jamaica es rica en compuestos fenólicos principalmente antocianinas y flavonoides como la delfinidina-3-sambubiosido, delfinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido, cianidina-3-sambubiosido, quercetina y kaempferol. El objetivo de este trabajo fue estudiar la estabilidad de los antioxidantes del vino de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) durante su almacenamiento. Para ello, el vino fue almacenado a una temperatura ambiente de 20°C y a temperatura de refrigeración de 6°C. A los 0, 7 y 14 días se determinó las características fisicoquímicas, turbidez, color, el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante. Con respecto a las características fisicoquímicas (sólidos solubles, pH y acidez titulable) el vino no presentó diferencias entre muestras almacenadas en ambiente y refrigeración. El color de todas las muestras presento altos de absorbancias en un rango de 515 y 520nm representativo de los pigmentos de color rojo, que corresponden a una alta concentración de antocianinas. La estabilidad del contenido de polifenoles no presentó diferencias significativas durante su almacenamiento, pero en refrigeración tuvieron un contenido fenólico menor, y menor porcentaje de inhibición del radical ABTS para las muestras sometidas a refrigeración. El almacenamiento del vino de flor de Jamaica a temperatura ambiente presenta mayor capacidad antioxidante, inhibiendo los radicales libres y disminuyendo la oxidación de compuestos fenólicos presentes en el vino,

alargando su vida útil.

**Palabras clave:** antioxidante, ABTS, polifenol, vino, Flor de Jamaica.

---

### Abstract

Flower of Jamaica is rich in phenolic compounds mainly anthocyanins and flavonoids such as delphinidin-3-sambubioside, delphinidin-3-glucoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-sambubioside, quercetin and kaempferol. The objective of this work was to study the stability of the antioxidants of the wine of Jamaica flower (*Hibiscus sabdariffa* L) during its storage. For this, the wine was stored at an ambient temperature of 20°C and at a refrigeration temperature of 6°C. At 0, 7 and 14 days the physicochemical characteristics, turbidity, color, polyphenol content and antioxidant capacity were determined. Regarding the physicochemical characteristics (soluble solids, pH and titratable acidity) the wine did not present differences between samples stored in the environment and refrigeration. The color of all the samples showed high absorbances in a range between 515 and 520nm representative of the pigments that reflect the red color, which correspond to a high concentration of anthocyanins. The stability of the polyphenol content did not show significant differences during storage, however the samples subjected to refrigeration had a lower phenolic content and a lower inhibition percentage of the ABTS radical. Consequently, the storage of Jamaica flower wine at room temperature presents greater antioxidant capacity, inhibiting free radicals and decreasing the oxidation of phenolic compounds present in wine, extending its shelf life.

**Keywords:** antioxidant, ABTS, polyphenol, wine, Jamaica flower.

---

Forma sugerida de citar: López, C., González, C., Guerrero, M.J., Mariño, G., Jácome, B. y Beltrán, E. (2019). Estudio de la estabilidad de los antioxidantes del vino de Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) en el almacenamiento. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 29(1):105-118. <http://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.09>.

---

#### IDs Orcid:

Cristina López: <https://orcid.org/0000-0002-6865-4014>

Carlos González Gallardo: <https://orcid.org/0000-0001-5400-9439>

M.J. Guerrero Ochoa: <https://orcid.org/0000-0002-4603-6098>

Gabriel Mariño: <https://orcid.org/0000-0003-1656-1438>

Belén Jácome: <https://orcid.org/0000-0002-5939-4660>

Elena Beltrán Sinchiguano: <https://orcid.org/0000-0001-6146-5301>

## 1 Introducción

En la actualidad se han incrementado los estudios de alimentos que contienen compuestos bioactivos, entre estos los antioxidantes, al ser moléculas capaces de interactuar con especies reactivas de oxígeno (ERO) que incluyen iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos (Usoh y col., 2005) las cuales son altamente reactivas al tener en su estructura una capa externa con uno o dos electrones de valencia no apareados. Estos niveles elevados de radicales libres en las células son generadores de daños en las proteínas y lípidos de la membrana celular y en los ácidos nucleicos por lo que se estrecha directamente con enfermedades carcinogénicas (Ferretti y col., 2010) mutagénicas, Alzheimer (Andzi Barhé y Feuya Tchouya, 2016) diabetes, hipertensión, obesidad y otros síntomas metabólicos (Chen y col., 2013). Las moléculas antioxidantes transfieren electrones a la capa externa con electrones no emparejados de los radicales libres logrando estabilidad, siendo capaces de transferir sus electrones evitando el efecto dañino en la célula, ejerciendo un mecanismo quelante y secuestrando a las ERO (Sáya-go Ayerdi y Goñi, 2010). La flor de Jamaica ha sido una de las especies más estudiadas por su alto contenido de moléculas antioxidantes como vitamina E y C, compuestos fenólicos, ácidos polifenólicos, flavonoides y antocianinas (Cid-Ortega y Guerrero-Beltrán, 2012). Estas propiedades le confieren a esta flor efectos anticancerígenos, cardioprotectores, diuréticos, antiinflamatorios, antimicrobianos (Martínez Flórez y col., 2002) ejerciendo una acción protectora del daño celular y peroxidación de lípidos (Galicia Flores y col., 2008).

Estudios realizados con extractos de cálices y flor de Jamaica han determinado que en los tejidos de estas estructuras existe una alta concentración de antioxidantes fenólicos de tipo no-flavonoide y flavonoides simples o polimerizados (Da-Costa Rocha y col., 2014). Dentro del grupo de los flavonoides se identifican 5 subtipos de acuerdo a sus características estructurales: flavonas, flavonoles, flavanonas y antocianidinas (Martínez Flórez y col., 2002). Entre los compuestos polifenólicos flavonoides presentes en los cálices y hojas de flor de Jamaica se encuentra la Naringenina perteneciente a la clase de las flavonas, la catequina, galato de galocatequina, galato de epicatequina y la galocatequina de los flavanoles y la luteolina, tilirosido, sabdaritrin hidroxiflavona de la clase de flavonas (Galicia Flores

y col., 2008; Da-Costa Rocha y col., 2014; Chen y col., 2013; Sindi, Marshall y Morgan, 2014). Así mismo los cálices de flor de Jamaica han demostrado contener un alto porcentaje de antocianinas en sus tejidos estructurales identificando a la denominada crisanteína y cianidina-3-sambubiosido o gopicianina (Da-Costa Rocha y col., 2014). Estas antocianinas son pigmentos naturales solubles en agua y que están presentes en algunos tejidos vegetales, siendo estos los responsables de las coloraciones rojas, azules y púrpuras; la producción de este compuesto se da en la maduración y se aloja dentro de las vacuolas en las células vegetales (Yang y col., 2011).

Dentro del Ecuador, la producción de la flor de Jamaica se ha extendido en la región Amazónica debido a sus condiciones óptimas de temperatura que oscilan entre los 15°C y 38°C convirtiéndose en una alternativa del desarrollo económico sustentable de su población (Meza Chavarría, 2012); sin embargo, al ser un producto con baja industrialización ya que se comercializa a granel y al no existir estudios de la obtención de productos en base a esta materia prima que brinda compuestos bioactivos, la presente investigación tuvo como objetivo estudiar la estabilidad de los antioxidantes del vino de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) durante su almacenamiento, con la finalidad de incrementar la producción de subproductos.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Elaboración de vino

Para la elaboración del vino se utilizó flor de Jamaica procedente del cantón Macas, Provincia de Morona Santiago. Una vez realizados los análisis físicos-químicos y microbiológicos establecidos por la Norma Mexicana NMX-FF-115-SCFI-2010 (NMX, 2010) para productos agrícolas destinados al consumo humano: Flor (cáliz) de Jamaica, se procedió a realizar el mosto a partir del cáliz con una relación 1 : 3 (cálices de jamaica:agua) hasta llegar a un mosto de 23°Brix con un pH de 3 – 3,6; la fermentación se realizó durante 29 días bajo condiciones de anaerobiosis a una temperatura de 21°C ± 1°C. Posteriormente, el vino se sometió a un proceso de decantación natural durante 6 días, tiempo en el que se tomaron muestras diarias en las cuales se analizaron sólidos solubles (° Brix), pH, acidez titulable y turbidez.

## 2.2 Tratamientos

Las condiciones de almacenamiento del vino de flor de Jamaica fue durante 14 días y se dividieron en dos grupos: (temperatura ambiente  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y temperatura de refrigeración  $6^{\circ}\text{C}$ ), posteriormente, se tomaron muestras de cada grupo durante los días 0, 7 y 14, siguiendo el diseño escalonado de Gacula para estudios de vida útil, utilizando un solo lote de producto (o lotes replicados) donde se ponen a prueba las muestras al momento cero, y se toman muestras a intervalos determinados por la expectativa de la probabilidad de supervivencia (Kilcast y Subramaniam, 2000). Después se congelaron las muestras y una vez culminada la etapa de almacenamiento se midió el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante.

## 2.3 Métodos de análisis

Los análisis se realizaron de acuerdo a los Métodos Oficiales de AOAC: para sólidos solubles (AOAC, 2005b)932,12 , pH (AOAC, 2012) 960,19, acidez titulable (AOAC, 2005a) 962,12. La turbidez se midió conforme al Método Internacional OIV-MA-AS2-08 (OIV, 2009), y para determinar la intensidad del color de vino se utilizó el Método Glories descrito en (OIV, 2014)-MA-BS-26, utilizando un espectrofotómetro cuyas mediciones de absorbancia se realizaron en rangos de 380 y 780nm. El contenido de polifenoles se determinó bajo el protocolo de Folin-Ciocalteus descrito en Zhen y col., (2016) y la capacidad antioxidante se realizó mediante el método espectrofotométrico descrito por Chen y col., (2013) y Re y col., (1999) basado en la decoloración del radical ABTS.

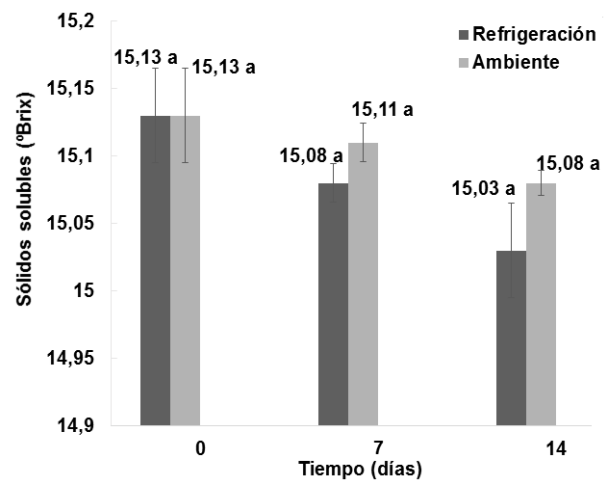
## 2.4 Diseño experimental

En este estudio se utilizó un diseño experimental completamente al azar en donde los resultados obtenidos fueron procesados con un análisis de varianza ANOVA y las medias fueron comparadas mediante una prueba de Tukey (HSD) con un nivel de confianza del 95 %.

## 3 Resultados y discusión

### 3.1 Análisis de sólidos solubles ( $^{\circ}\text{Brix}$ )

Como se muestra en la Figura 1, el efecto del almacenamiento del vino de flor de Jamaica bajo dos condiciones de temperatura al transcurso de 14 días no fue significativo ( $p > 0,05$ ) respecto a la cantidad de sólidos solubles ( $^{\circ}\text{Brix}$ ).



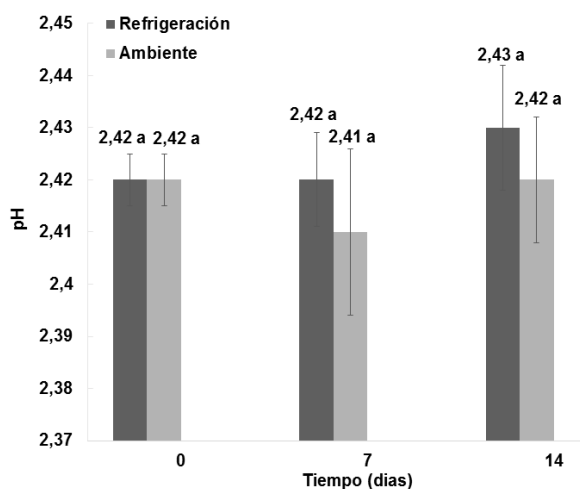
**Figura 1.** Comportamiento de la cantidad de sólidos solubles ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días.  $n = 2 \pm$  Desviación estándar. Letras diferentes entre las medias indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a  $p < 0,05$ .

Se puede observar que la cantidad de sólidos solubles en el día 0 de almacenamiento fue de  $15,13 \pm 0,035^{\circ}\text{Brix}$ . Al transcurrir 7 días de almacenamiento a temperatura ambiente hubo una ligera disminución a  $15,11 \pm 0,014^{\circ}\text{Brix}$ , y finalmente a los 14 días no existió un cambio significativo disminuyendo a  $15,08 \pm 0,009^{\circ}\text{Brix}$ . Un comportamiento similar se detectó bajo condiciones de almacenamiento a temperatura de refrigeración, puesto que al transcurrir 7 días hubo una ligera disminución a  $15,08 \pm 0,014^{\circ}\text{Brix}$ , y a los 14 días fue  $15,03 \pm 0,035^{\circ}\text{Brix}$ . En el análisis físico-químico realizado por Mounigan y Badrie, (2007), al someter al vino de flor de Jamaica a condiciones de almacenamiento a  $23^{\circ}\text{C}$  durante 8 semanas no se registraron diferencias significativas en la cantidad de sólidos solubles entre las muestras, las cuales fueron medidas cada 30 días, dando como resultados a las 4 semanas de almacenamiento un valor de  $10,22^{\circ}\text{Brix}$ , y a las 8 semanas  $10,17^{\circ}\text{Brix}$ .

Por lo tanto, se puede evidenciar que la cantidad de sólidos solubles en el vino de flor de Jamaica no sufre cambios significativos en el transcurso del tiempo bajo condiciones ambientales o de refrigeración durante el almacenamiento. La estabilidad de los sólidos solubles se debe a que de acuerdo con Blouin y Peynaud, (2003) las levaduras y bacterias presentes en el vino se destruyen debido a un adecuado sulfitado y que puede continuar con el consumo lento de sustrato. Por otro lado, la ligera disminución sin diferencia significativa en la cantidad de sólidos solubles puede deberse a que a pesar de que el vino atravesó por un proceso de decantación previo, durante el tiempo de almacenamiento en reposo el vino continúa decantándose lentamente, sedimentando ciertos taninos glicosilados que pueden llevarse consigo a cristales de azúcares hacia el fondo de la botella, provocando una ligera disminución en los ° Brix (Blouin y Peynaud, 2003; Mijares y Sáez, 2007; Bujan, 2002).

### 3.2 Análisis de pH

Como se muestra en la Figura 2, el efecto del almacenamiento del vino de flor de Jamaica bajo dos condiciones de temperatura al transcurso de 14 días no fue significativo ( $p > 0,05$ ) respecto al pH.



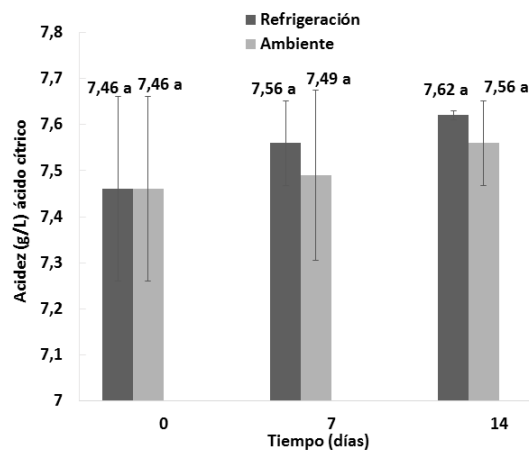
**Figura 2.** Comportamiento del pH en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días.  $n = 2 \pm$  Desviación estándar. Letras diferentes entre las medias indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a  $p < 0,05$ .

Se puede observar que en el día 0 de almacenamiento, el nivel de pH es de  $2,42 \pm 0,005$  y no pre-

senta diferencias significativas en el transcurso de los 14 días bajo dos condiciones distintas de almacenamiento, en donde las muestras de ambiente alcanzan un pH de  $2,42 \pm 0,012$  y las de refrigeración un pH de  $2,43 \pm 0,012$ . A diferencia del comportamiento registrado por Mounigan y Badrie, (2007), en el cual el proceso de almacenamiento empieza con un pH de 2,61, al transcurso de 4 semanas disminuyó a un pH de 2,43 y finalmente a las 8 semanas se observó un aumento del pH de 2,77. En los dos estudios de almacenamiento realizados con vino de flor de Jamaica, los valores de pH coinciden dentro del nivel recomendado por Jackson, (2011) y Reeves, (2010), quienes describen que los pH inferiores a 3,5 son favorables para el mantenimiento de la vida útil puesto a que aumentan el poder antiséptico y la capacidad antioxidante del sulfitado, proporcionan a los vinos un sabor fresco, reducen el pardeamiento, se enriquece la intensidad colorante y el tono, y se minimiza la concentración de la forma fenólica más fácilmente oxidable de los polifenoles.

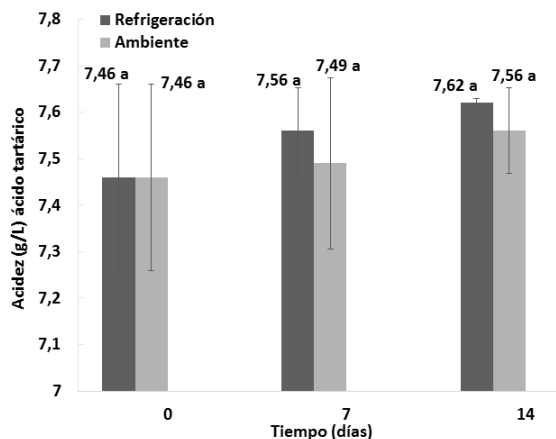
### 3.3 Análisis de acidez titulable

Como se muestra en las Figuras 3 y 4, el efecto del almacenamiento del vino de flor de Jamaica bajo dos condiciones de temperatura al transcurso de 14 días no fue significativo ( $P > 0,05$ ) respecto a la acidez titulable en relación al ácido cítrico y al ácido tartárico.



**Figura 3.** Comportamiento de la acidez titulable respecto al ácido cítrico en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días.  $n = 2 \pm$  Desviación estándar. Letras diferentes entre las medias indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a  $p < 0,05$ .

Los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante el transcurso de 14 días no presentaron diferencias significativas respecto a las cantidades de ácido cítrico y tartárico presentes. Las muestras iniciaron el proceso de almacenamiento en refrigeración con una acidez titulable de 7,46 g/L de ácido cítrico y 8,74 g/L de ácido tartárico, y culminaron a los 14 días con una acidez de 7,62 g/L de ácido cítrico y 8,94 g/L de ácido tartárico. Para el caso de las muestras sometidas a condiciones ambientales, iniciaron el almacenamiento con una acidez de 7,46 g/L de ácido cítrico y 8,74 g/L de ácido tartárico, y culminaron a los 14 días con una acidez de 7,56 g/L de ácido cítrico y 8,86 g/L de ácido tartárico. De manera similar, Mounigan y Badrie, (2007) en su estudio de almacenamiento de vino de flor de Jamaica no reportaron diferencias significativas respecto a la acidez titulable con relación al ácido cítrico durante el periodo de 8 semanas de almacenamiento, debido a que sus muestras iniciaron con una acidez 4,2 g/L de ácido cítrico, y concluyeron a las 8 semanas con una acidez de 4,8 g/L de ácido cítrico.



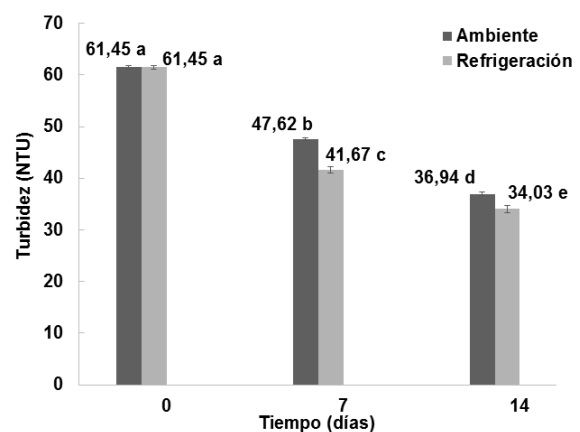
**Figura 4.** Comportamiento de la acidez titulable respecto al ácido tartárico en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días.  $n = 2 \pm$  Desviación estándar. Letras diferentes entre las medias indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a  $p < 0,05$ .

De acuerdo con Jackson, (2011), la vida útil de todos los vinos se ve reforzada por un contenido de ácido deseable y un nivel de pH bajo, puesto a que a un nivel de acidez bajo favorece la oxidación de los compuestos fenólicos y la presencia del estado más fácilmente oxidado del fenolato, además tiene una gran influencia en la degradación de los ésteres

frutales. Cuando la acidez del vino es indeseablemente baja, se puede ajustar hacia arriba mediante la adición de ácido tartárico o ácido cítrico, puesto a que son constituyentes naturales de las frutas, pero principalmente debido a que estos ácidos no son metabolizados adecuadamente por la mayoría de las bacterias, reduciendo así la probabilidad de deterioro microbiano.

### 3.4 Análisis de turbidez

Como se muestra en las Figura 5, el efecto del almacenamiento del vino de flor de Jamaica bajo dos condiciones de temperatura al transcurso de 14 días si fue significativo ( $p < 0,05$ ) con respecto a la turbidez.



**Figura 5.** Comportamiento de la turbidez (NTU) en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días.  $n = 2 \pm$  Desviación estándar. Letras diferentes entre las medias indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a  $p < 0,05$ .

Se puede observar que las muestras de vino ingresaron a la etapa de almacenamiento con una turbidez de  $61,45 \pm 0,3$  NTU. Para el caso de las muestras que fueron sometidas a temperatura de ambiente a  $21^\circ\text{C}$ , la turbidez disminuyó notablemente hacia el día 7, alcanzando  $47,62 \pm 0,2$  NTU, y reduciéndose hasta en un 39,88% hasta el día 14 en el que se reportó  $36,94 \pm 0,3$  NTU. Para el caso de las muestras que fueron sometidas a temperatura de refrigeración a  $6^\circ\text{C}$ , la turbidez disminuyó más en comparación a los vinos almacenados en ambiente, puesto que hacia el día 7 llegaron a  $41,67 \pm 0,6$  NTU, y reduciéndose hasta en un 44,62% hasta el día 14, en el que se reportó  $34,03 \pm 0,7$  NTU. Las

muestras de vino sometidas a condiciones de refrigeración, tuvieron una mejor respuesta respecto al descenso de los valores de turbidez en el transcurso de los 14 días de almacenamiento, esto de acuerdo a Blouin y Peynaud, (2003), quienes describen que el efecto clarificante, ya sea por decantación o por floculación con colas, es más intenso cuando se produce a bajas temperaturas, o a temperaturas de refrigeración.

Sin embargo, durante el almacenamiento en reposo, los vinos a pesar de haber sido clarificados en un proceso previo de decantación, continúan sedimen-

tándose en las botellas. La turbidez generalmente se debe a la presencia de las neblinas de flavonoles, taninos, cristales finos de quercetina y de ácido elálgico (Jackson, 2011), que son polifenoles importantes en el vino y que continúan decantándose a lo largo del tiempo; por este motivo, las muestras sometidas a dos condiciones de almacenamiento tuvieron una disminución notoria en la turbidez, lo cual es favorable sensorialmente para los vinos, puesto a que adquieren propiedades de transparencia y limpidez (Blouin y Peynaud, 2003; Mijares y Sáez, 2007).

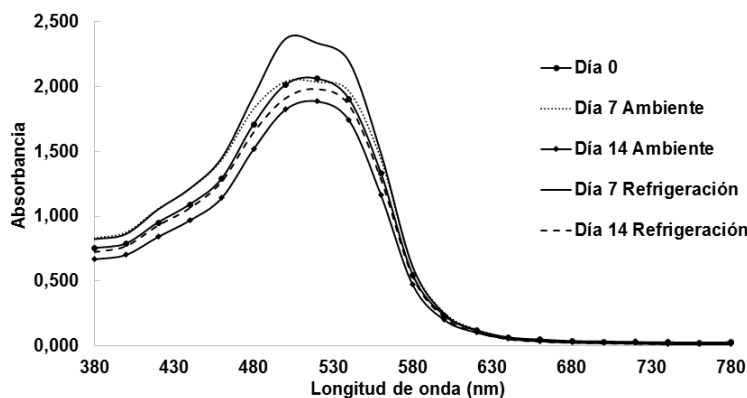


Figura 6. Comportamiento de las absorbancias de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días.

### 3.5 Análisis de color

En la Figura 6 se observan las medias de las mediciones de absorbancia obtenidas mediante espectrofotometría, a través del barrido del espectro electromagnético (380 a 780 nm) de las muestras de vino sometidas a diferentes condiciones de almacenamiento. Se pudo comprobar que todas las muestras tienen el mayor valor de absorbancia entre 500 y 520 nm, ubicando la región del color rojo. Mariño y col., (2017), en su estudio de color en vino de mora de castilla (*Rubus glaucus benth*) reporta un comportamiento similar de las absorbancias, situándose en un rango entre 515 y 520 nm. De acuerdo con Jackson, (2011) y Reeves, (2010), los resultados de ambos estudios arrojan resultados similares puesto a que tanto la flor de Jamaica como la mora de castilla son materias primas ricas en antocianinas y otros compuestos fenólicos responsables de la pigmentación roja en los vinos.

Así mismo, el método de Glories permitió determinar: la intensidad colorante (IC), el tono (T), el

porcentaje de amarillo, el porcentaje de rojo y el porcentaje de azul en las muestras de vino sometidas a dos condiciones distintas de almacenamiento.

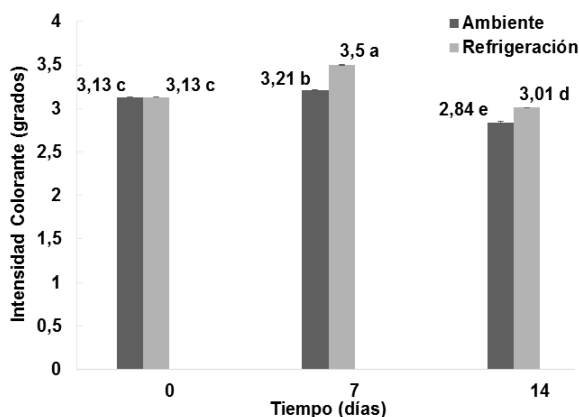
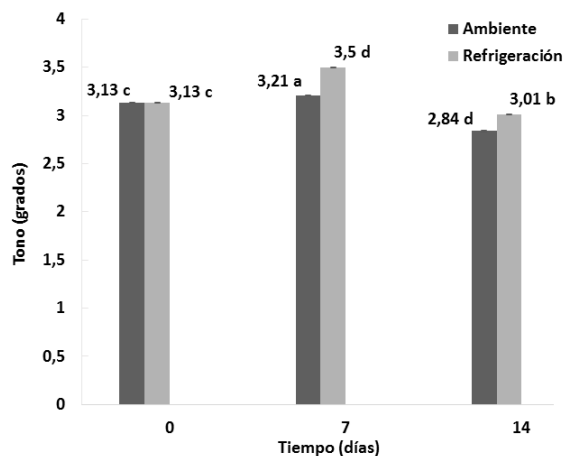


Figura 7. Comportamiento de la intensidad colorante en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días.  $n = 2 \pm$  Desviación estándar. Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a  $p < 0,05$ .

La intensidad colorante es una característica cromática relacionada con la luminosidad. En la Figura 7 se puede observar que el efecto del almacenamiento del vino de flor de Jamaica bajo dos condiciones de temperatura al transcurso de 14 días si fue significativo ( $p < 0,05$ ) respecto a la intensidad colorante. El vino sometido a condiciones de almacenamiento en refrigeración durante 7 días presentó el valor más alto  $3,5 \pm 0,005$  IC, sufriendo una ligera disminución en el día 14 a  $3,01 \pm 0,001$  IC. Para el caso del vino sometido a condiciones de almacenamiento ambientales al día 7, éste presentó un valor bajo de  $3,21 \pm 0,005$  IC, disminuyendo finalmente al día 14 a  $2,84 \pm 0,009$  IC. De acuerdo con Jackson, (2011), las temperaturas bajas o de refrigeración evitan el desarrollo de las reacciones de Maillard que pueden generar compuestos que afectan a la luminosidad del vino. Por otro lado, ralentizan la oxidación de los compuestos fenólicos flavonoides; especialmente las catequinas en quinonas, que pueden modificar las propiedades cromáticas y generar pigmentos de colores parduzcos que brinden opacidad al vino. Es por este motivo que los vinos almacenados a temperaturas de refrigeración presentan valores más altos de intensidad colorante, respecto a las muestras almacenadas a temperatura ambiente.



**Figura 8.** Comportamiento de la tonalidad en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días.  $n = 2 \pm$  Desviación estándar. Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a  $p < 0,05$ .

El matiz o tono (T) es el factor de calidad del color y corresponde a la longitud de onda dominante (amarillo, rojo, azul) que caracteriza la tonalidad

del vino (García Barceló, 1990) y expresa la variación cualitativa del color en la muestra (Iñiguez y col., 1995). En la Figura 8 se puede observar que el efecto del almacenamiento del vino de flor de Jamaica bajo dos condiciones de temperatura al transcurso de 14 días si fue significativo ( $p < 0,05$ ) respecto a la tonalidad. Las muestras de vino iniciaron el proceso de almacenamiento con una tonalidad de  $0,46^\circ \pm 0,004$ ; las muestras sometidas a condiciones de almacenamiento en refrigeración sufrieron ligeras variaciones en el tono, culminando en el día 14 con un valor de  $0,47^\circ \pm 0,001$ . Las muestras sometidas a condiciones de almacenamiento en ambiente mostraron una variación más significativa, siendo la del día 7 la más elevada con un valor de  $0,52^\circ \pm 0,002$  para T, este valor superior del tono está estrechamente relacionado con el elevado porcentaje de rojo como que se puede observar en la Figura 9 en esta muestra.

Los componentes polifenólicos son las principales sustancias en los vinos que absorben las radiaciones y por lo tanto son las responsables de los colores que reflejan (Iñiguez y col., 1995). En la Figura 9 se pueden observar los diferentes porcentajes de pigmentos amarillos, rojos y azules presentes en las muestras de vino sometidas a dos condiciones de almacenamiento. Todos los vinos coinciden con un porcentaje elevado de color rojo de alrededor del 65%. De acuerdo con Da-Costa Rocha y col., (2014), la flor de Jamaica es rica en antocianinas principalmente en delfinidina-3-sambubiosido, delfinidina-3-glucósido y cianidina-3-glucósido, que corresponden a cationes flavílicos y a un valor de pH entre 1 y 3, y son los responsables de reflejar el color rojo. En la Figura 9 también se puede observar que todos los vinos bajo condiciones de estudio tienen un contenido de alrededor de 30% de amarillo, concordante a lo descrito por Galicia Flores y col., (2008), quienes reportan que la flor de Jamaica es rica en compuestos fenólicos como Quercetina, Quercetina-3-glucósido, Quercetina-3-rutinosa y Kaempferol, y que de acuerdo a Jackson, (2011), son responsables de reflejar el color amarillo. Además, se observa que todas las muestras tienen colores inferiores a los anteriores de cerca de 4% de azul; según Yang y col., (2011), ciertas antocianinas del grupo quinonoides presentes en la flor de Jamaica son las responsables de reflejar el color azul.

Las variaciones significativas ( $p < 0,05$ ) respecto a los porcentajes de colores amarillo, rojo y azul en las muestras de vino sometidas a diferentes condi-

ciones de almacenamiento durante 14 días, concuerdan con lo descrito por Jackson, (2011). Quien, en su estudio de color en vinos asevera que cambios de color durante el almacenamiento se consideran normales, y no contribuyen a la reducción de la vida útil del producto. Reeves, (2010), describe que durante el almacenamiento los complejos glicosila-

dos formados por las antocianinas pueden romperse, quedando susceptibles a la oxidación que genera una degradación del color y que muchas otras reacciones bioquímicas sucedidas durante esta etapa generan una gama de pigmentos que le dan características específicas a cada vino.

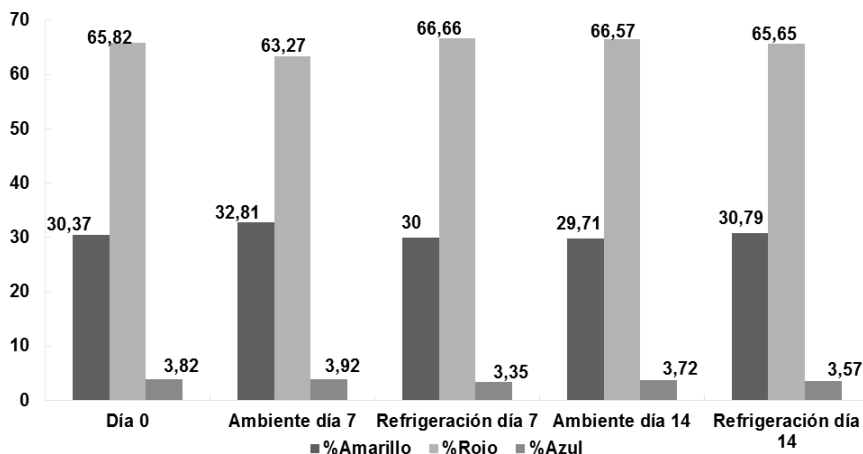


Figura 9. Comportamiento de la cantidad de pigmentos en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días.

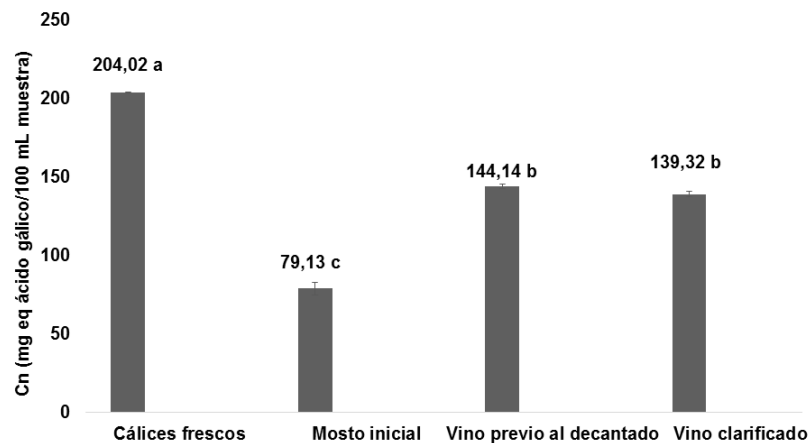
### 3.6 Análisis de Contenido de Polifenoles

#### 3.6.1 Contenido de Polifenoles durante el proceso de vinificación y decantación del vino de flor de Jamaica

En la Figura 10 se observa la evolución significativa del contenido de polifenoles desde la materia prima hasta la clarificación del vino. El contenido de polifenoles en los cálices frescos de flor de Jamaica fue de  $204,02 \pm 0,4$  mg equ. ácido gálico/100 g muestra dando un valor similar a los reportados por Zhen y col., (2016) y Sindi, Marshall y Morgan, (2014) de 189,8 mg equ. ácido gálico/100 g y 216,7 mg equ. ácido gálico/100 g, respectivamente. Las diferencias de estos valores se debe por el método de extracción utilizado por los autores Zhen y Sindi, quienes emplearon soluciones extractoras de metanol/agua 70% v/v, además de la variedad de flor de Jamaica utilizada en cada estudio y su grado de maduración. El mosto inicial corregido presentó un valor inferior al del contenido de polifenoles de los cálices frescos de  $79,13 \pm 3,9$  mg equ. ácido gálico/100 mL en la muestra, esto se debe al 70% de

contenido de agua que posee el mosto.

Después del proceso de vinificación, la cantidad de polifenoles obtenidos en el vino es significativamente superior al del mosto inicial, dando un valor de  $144,14 \pm 1,5$  mg equ. ácido gálico/100 mL en la muestra. Este aumento notorio del contenido fenólico despues de la vinificación es similar al estudio comparativo de la composición fenólica de la uva y del vino realizado por Flanzky, (2003). Además de que en la etapa fermentativa se generan otros compuestos fenólicos resultantes de la evolución de los polifenoles nativos de la materia prima utilizada para la elaboración del vino (Pérez Jiménez y col., 2010; Hidalgo T., 2011). Una vez obtenido el vino clarificado se presentó un valor de  $139,32 \pm 1,6$  mg equ. ácido gálico/100 mL por muestra, sin mostrar diferencia significativa en comparación con el vino previo a la decantación; este descenso de contenido de polifenoles es normal de acuerdo con lo descrito por Blouin y Peynaud, (2003), debido a que durante el proceso de decantación, los taninos eliminados durante la clarificación es escasa pero es variable en concentraciones desde 50 a 300 mg/L.

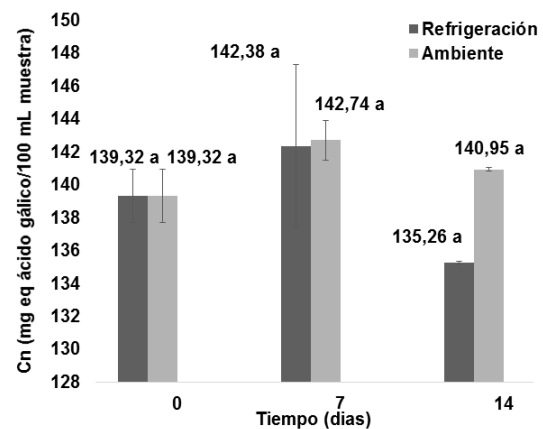


**Figura 10.** Comportamiento del contenido de polifenoles desde la materia prima hasta los procesos de vinificación y decantación.  $n = 2 \pm$  Desviación estándar. Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a  $p < 0,05$ .

### 3.6.2 Estudio de la estabilidad del contenido de polifenoles durante el proceso de almacenamiento de vino de flor de Jamaica

En el día 0 el contenido de polifenoles totales fue de  $139,32 \pm 1,6$  mg equ. ácido gálico/100 mL (Figura 11) y no presentó diferencias significativas respecto a los valores obtenidos durante el transcurso de los 14 días de estudio bajo dos condiciones de temperatura, por lo que se observa que la cantidad de compuestos fenólicos presentes en las muestras de vino permanecieron estables a pesar del transcurso del tiempo y de las temperaturas de almacenamiento. Estudios realizados afirman que la flor de Jamaica tiene un importante contenido fenólico, entre el cual se identifican principalmente los flavonoides y antocianinas, responsables del color de tinto del vino (Camussoni y Carnevali, 2004; Da-Costa Rocha y col., 2014; Chen y col., 2013; Zhen y col., 2016).

A pesar de no existir una diferencia significativa entre las dos temperaturas ni en el tiempo de almacenamiento, en la Figura 11 se observa que las muestras sometidas a refrigeración tienen un contenido fenólico ligeramente menor en comparación a las muestras sometidas a temperatura ambiente, lo que explica que el vino durante el almacenamiento se encuentra decantándose constantemente y la temperatura de refrigeración favorece a la sedimentación de las moléculas grandes polimerizadas de taninos (Blouin y Peynaud, 2003; Jackson, 2011).



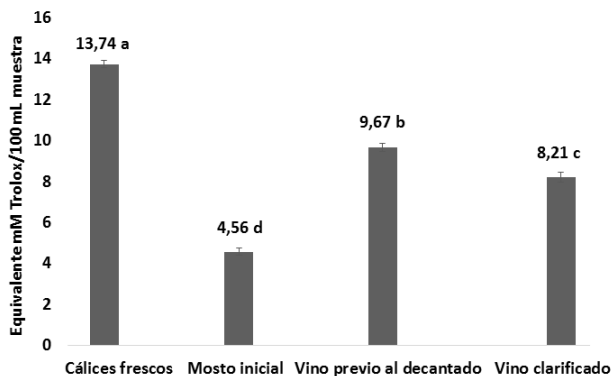
**Figura 11.** Comportamiento del contenido de polifenoles en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días.  $n = 2 \pm$  Desviación estándar. Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a  $p < 0,05$ .

## 3.7 Análisis de la Capacidad Antioxidante

### 3.7.1 Capacidad antioxidante durante los procesos de vinificación y decantación del vino de flor de Jamaica

La Figura 12 indica las diferencias significativas que hubo en la capacidad antioxidante durante el proceso de elaboración del vino; en los extractos de los cálices frescos de flor de Jamaica la capacidad antioxidante fue de  $13,74 \pm 0,1$  Equiv mM Trolox/100 g por muestra, similar al reportado por Zhen y col.,

(2016) de 15,25 Equiv mM Trolox/100 g, y superior al reportado por Sáyago Ayerdi y Goñi, (2010) de 9,08 Equiv mM Trolox/100 g. La diferencia entre estos valores puede deberse al método de extracción, ya que la actividad antioxidante depende de la concentración del extracto, y las mejores respuestas obtenidas dependen de los disolventes aplicados (Kuskoski y col., 2005).

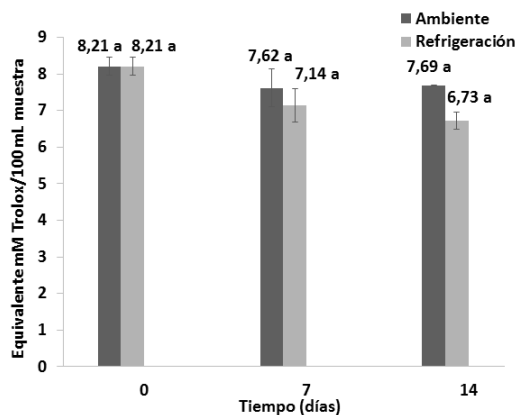


**Figura 12.** Comportamiento de la capacidad antioxidante desde la materia prima hasta los procesos de vinificación y decantación.  $n = 2 \pm$  Desviación estándar. Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a  $p < 0,05$ .

En el mosto se observa que existió una disminución en la capacidad antioxidante presentando valores de  $4,56 \pm 0,1$  Equiv mM Trolox /100 mL por muestra. En el estudio de comparación de actividad antioxidante en vinos tintos y blancos de determinó que existe una correlación directa entre los polifenoles totales y la actividad antioxidante (Vinson y Hontz, 1995), motivo por el cual se explica que el mosto inicial al contener una cantidad de polifenoles totales baja también tuvo una capacidad antioxidante baja (Figura 12), ya que existe una relación lineal entre los polifenoles totales y el valor de la capacidad de captar radicales libres o actividad antioxidante (Avalos Llano, Sgroppo y Avanza, 2003). En la etapa de vinificación, la capacidad antioxidante aumenta a 9,670,2 Equiv mM Trolox/100 mL por muestra, aumento que está relacionado con el incremento del contenido fenólico después de la fermentación (Flanzy, 2003; Hidalgo T., 2011). Finalmente, la actividad antioxidante en el vino clarificado fue de  $8,21 \pm 0,2$  Equiv mM Trolox/100 mL muestra. Este descenso en la actividad antioxidante es normal ya que durante la decantación se va perdiendo taninos y otros polifenoles polimerizados (Blouin y Peynaud, 2003).

### 3.7.2 Estudio de la estabilidad de la capacidad antioxidante durante el proceso de almacenamiento del vino de flor de Jamaica

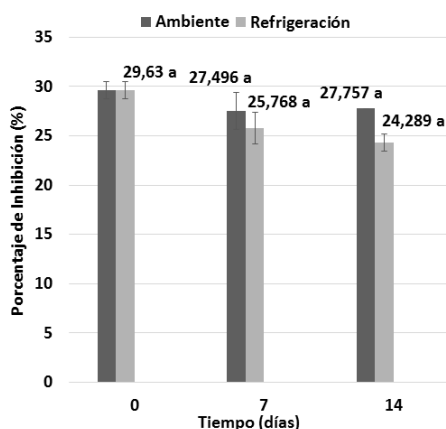
La capacidad antioxidante del vino de flor de Jamaica no presenta diferencias significativas entre las muestras y el tiempo, sin embargo las muestras sometidas a refrigeración tienen una capacidad antioxidante ligeramente menor en comparación a las muestras sometidas a temperatura ambiente (Figura 13), lo que se explica debido a que el fenómeno de sedimentación de los taninos sucede más rápido a temperaturas de refrigeración (Blouin y Peynaud, 2003).



**Figura 13.** Comportamiento de la capacidad antioxidante de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días.  $n = 2 \pm$  Desviación estándar. Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a  $p < 0,05$ .

Así mismo en el análisis estadístico realizado para la determinación del porcentaje de inhibición del radical ABTS (Figura 14), se observaron las diferencias entre las temperaturas de almacenamiento, es por ello que las muestras sometidas a refrigeración tuvieron un porcentaje de inhibición ligeramente menor en comparación a las muestras sometidas a temperatura ambiente, lo que explica que el porcentaje de inhibición está estrechamente relacionado a la disminución de la capacidad antioxidante en las muestras. El porcentaje de inhibición de los antioxidantes contenidos en los vinos de flor de Jamaica presentaron valores similares a los vinos de uva del estudio de la evaluación de la actividad antioxidante sometidos a distintos tiempos de envejecimiento; donde se reportan valores promedio de 2,44 Equiv mM Trolox/100 mL y un porcentaje de inhibición de 10,59 % para el vino Oporto, 45,04 % para el vino

Barbera Malbec, 15,93 Equiv mM Trolox/100 mL y un porcentaje de inhibición de 77,71 % para el vino Cabernet-Sauvignon, 16,45 Equiv mM Trolox/100 mL y un porcentaje de inhibición 80,28 % para el vino Merlot (Jáuregui y col., 2007). De acuerdo con estas comparaciones, se puede determinar que los vinos de flor de Jamaica sometidos al estudio de estabilidad durante el almacenamiento bajo dos condiciones de temperatura tienen, en general, una capacidad antioxidante y un porcentaje de inhibición de radicales libres intermedios, en comparación a los vinos de uva.



**Figura 14.** Comportamiento del porcentaje de inhibición del radical ABTS de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días.  $n = 2 \pm$  Desviación estándar. Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a  $p < 0,05$ .

## 4 Conclusiones

La cantidad de sólidos solubles, el pH y la acidez titulable tanto para el ácido cítrico como para el ácido tartárico del vino se mantuvo estable tanto en la condición de refrigeración, como en la condición a temperatura ambiente durante los 14 días de almacenamiento gracias al adecuado sulfitado que recibieron todas las muestras de vino que eliminó la presencia de microorganismos, manteniendo su dulzura y favoreciendo la oxidación de los compuestos fenólicos y la presencia del estado más fácilmente oxidado del fenolato.

Respecto al análisis de turbidez, si se encontraron diferencias significativas entre las dos condiciones de almacenamiento, siendo las muestras de vino sometidas a refrigeración durante 14 días las que presentaron una velocidad de decantación más alta que

las muestras sometidas al ambiente. Con respecto al barrido espectrofotométrico, se concluye que todas las muestras sometidas a dos condiciones de almacenamiento durante 14 días presentaron sus niveles más altos de absorbancias en un rango entre 515 y 520 nm representativo de los pigmentos que reflejan el color rojo, los cuales corresponden a una alta concentración de antocianinas. El método de Glories permitió identificar una diferencia significativa entre las muestras sometidas a refrigeración, que tuvieron valores más elevados de intensidad colorante y de tono que las muestras sometidas al ambiente durante 14 días, ya que a temperatura de refrigeración se evita el desarrollo de las reacciones de Maillard que pueden generar compuestos que afectan la luminosidad del vino, y se ralentiza la oxidación de compuestos fenólicos como los flavonoides que pueden modificar sus características cromáticas. Por otro lado, todas las muestras de vino coinciden con un porcentaje elevado de color rojo de alrededor del 65 % que confirman que la flor de Jamaica es rica en antocianinas principalmente en delfinidina-3-sambubiosido, delfinidina-3-glucósido y cianidina-3-glucósido, que corresponden a cationes flavílicos y a un valor de pH entre 1 y 3, son responsables de reflejar el color rojo. Además todos los vinos tienen un contenido considerable de alrededor de 30 % de amarillo, el cual es generado por polifenoles que reflejan este color como la quercetina, quercetina-3-glucósido, quercetina-3-rutinosa y kaempferol.

La estabilidad y capacidad antioxidante del vino de flor de Jamaica es mayor a temperatura ambiente disminuyendo la probabilidad de oxidación de compuestos fenólicos presentes en el vino. El contenido de polifenoles está directa y linealmente relacionado con la capacidad antioxidante, lo cual es favorable para el mantenimiento de la vida útil del vino de Flor de Jamaica. De acuerdo con las referencias consultadas, el contenido de polifenoles, la capacidad antioxidante y el porcentaje de inhibición de EROS del vino de flor de Jamaica es intermedio entre los valores reportados en los distintos tipos de vinos de uva.

## Referencias

AOAC (2005a). «Official Methods of Analysis: Acidity (titratable) of wine». En: Quantitative Chemistry. American Society of Enologists-AOAC.








- (2005b). «Official Methods of Analysis: Solids (soluble) in fruits and fruits products Method 932.12.» En: Quantitative Chemistry. American Society of Enologists-AOAC.
- (2012). «Official Methods of Analysis: pH of wine.» En: Quantitative Chemistry. American Society of Enologists-AOAC.
- Andzi Barhé, T. y G.R. Feuya Tchouya (2016). «Comparative study of the anti-oxidant activity of the total polyphenols extracted from *Hibiscus Sabdariffa* L., *Glycine max* L. Merr., yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals». En: *Arabian Journal of Chemistry* 9.1, 1 -8. Online: <https://bit.ly/2Gob1Je>.
- Avalos Llano, Karina R., Sonia C. Sgroppo y Jorge R. Avanza (2003). «Actividad antioxidante y contenido en fenoles totales en vinos de origen nacional». En: *FACENA* 19, 11-19. Online: <https://bit.ly/2UV6r8q>.
- Blouin, J. y E. Peynaud (2003). *Enología práctica: conocimiento y elaboración del vino*. 4ta. Barcelona: Mundi-Prensa. Online: <https://bit.ly/2N4nCl3>.
- Bujan, J. (2002). *Guía de la nueva cultura del vino: Introducción y práctica*. 1ra. Barcelona: Freixenet.
- Camussoni, Georgina y Evangelina Carnevali (2004). «Determinación comparativa del contenido de polifenoles en vinos tintos de origen argentino». En: *Invenio* 7.13, 151-159. Online: <https://bit.ly/2TMqIN8>.
- Chen, Jing-Hsien y col. (2013). «*Hibiscus sabdariffa* leaf polyphenolic extract inhibits LDL oxidation and foam cell formation involving up-regulation of *LXR $\alpha$ /ABCA1* pathway». En: *Food Chemistry* 141.1, 397 -406. Online: <https://bit.ly/2DvhBtu>.
- Cid-Ortega, S. y J. A. Guerrero-Beltrán (2012). «Propiedades funcionales de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)» En: *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 6.2, págs. 47-63.
- Da-Costa Rocha, Inês y col. (2014). «*Hibiscus sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review». En: *Food Chemistry* 165, 424 -443. Online: <https://bit.ly/2S0oQyE>.
- Ferretti, Gianna y col. (2010). «Cherry Antioxidants: From Farm to Table». En: *Molecules* 15.10, 6993-7005. Online: <https://bit.ly/2GkZbQ9>.
- Flanzy, Claude (2003). *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. Ed. por Antonio López Gómez, José Macho Quevedo y Antonio Madrid Vicente. 2da. Madrid: Mundi-Prensa.
- Galicia Flores, L. A. y col. (2008). «Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada». En: *Revista Chapingo. Serie horticultura* 14.2, 121 -129. Online: <https://bit.ly/2Stp2LT>.
- García Barceló, J. (1990). *Técnicas Analíticas para vinos*. 1ra. Barcelona: GAB System. Online: <https://bit.ly/2UUwz37>.
- Hidalgo T., José (2011). *Tratado de Enología*. Tomo I. 2da. Vol. I. Madrid: Mundi-Prensa.
- Iñiguez, M. y col. (1995). «Estudio de color de los vinos tintos de la D.O.C. Rioja». En: *Dialnet* 7, 167-186. Online: <https://bit.ly/2GCJAdW>.
- Jackson, R. S. (2011). «Food and Beverage Stability and Shelf Life». En: ed. por D. Kilcast y P. (Eds.) Subramaniam. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. UK: Ltd. Oxford. Cap. Shelf life of wine, págs. 540-570.
- Jáuregui, Ana María Muñoz y col. (2007). «Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú». En: *Revista de la Sociedad Química del Perú* 73.1, 30 -40. Online: <https://bit.ly/2E5uX1d>.
- Kilcast, David y Persis Subramaniam (2000). *The Stability and Shelf-Life of Food*. 1st. Boston: Woodhead Publishing.
- Kuskoski, Marta E. y col. (2005). «Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos». En: *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas 25.4, 726 -732. Online: <https://bit.ly/2DvSu9W>.
- Mariño, G. y col. (2017). «Uso de bentonita sódica como pretratamiento a la microfiltración tangencial de vino de mora de Castilla *Rubus glaucus* Benth». En: *Enfoque UTE* 8.5, 53 -66. Online: <https://bit.ly/2IaNP2V>.
- Martínez Flórez, S. y col. (2002). «Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes». En: *Nutrición Hospitalaria* 17.6, 271-278. Online: <https://bit.ly/2BAIU6u>.
- Meza Chavarría, P. (2012). *Guía: flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) e (*Hibiscus cruentus* Bertol)*. Asociación para el Desarrollo Eco-Sostenible (ADEES). Online: <https://bit.ly/2N09Obx>.
- Mijares, M. I. y J. A. Sáez (2007). *El Vino: de la cepa a la copa*. 4ta. Madrid: Mundi-Prensa. Online: <https://bit.ly/2Ib2CKG>.
- Mounigan, P. y N. Badrie (2007). «Physicochemical and sensory quality of wines from red sorrel/roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces: effects of pretreatments of pectolase and temperatu-

- re/time.» En: *International Journal of Food Science & Technology* 42.4, 469-475. Online: <https://bit.ly/2E5IvJL>.
- NMX (2010). *Productos agrícolas destinados para consumo humano-Flor (cáliz) de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.)-Especificaciones y métodos de prueba*. Norma Mexicana, NMX-FF-115-SCFI-2010. Online: <https://bit.ly/2GCQHTD>. Mexico.
- OIV (2009). *Compendium of International Methods of Analysis: Wine turbidity. Method OIV-MA-AS2-08*. OIV. International organisation of vine y wine. Online:<https://bit.ly/2NC7ZF6>.
- (2014). *Compendium of international Methods of Analysis of spirituous beverages of vitivinicultural origin: Measurement of colour intensity*. OIV. International organisation of vine y wine. Online:<https://bit.ly/2E8Ovlj>.
- Pérez Jiménez, Jara y col. (2010). «Systematic Analysis of the Content of 502 Polyphenols in 452 Foods and Beverages: An Application of the Phenol-Explorer Database». En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58.8, 4959-4969. Online: <https://bit.ly/2tj2EWF>.
- Re, Roberta y col. (1999). «Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay». En: *Free Radical Biology and Medicine* 26.9, 1231 -1237. Online: <https://bit.ly/2DxocU7>.
- Reeves, Malcolm J. (2010). «Food Packaging and Shelf Life. A Practical Guide». En: ed. por Gordon L. Robertson. CRC Press, Taylor & Francis Group. Cap. Packaging and the Shelf Life of Wine, 231-259. Online:<https://bit.ly/2DwRHFM>.
- Sáyago Ayerdi, Sonia G. e Isabel Goñi (2010). «*Hibiscus sabdariffa* L: Fuente de fibra antioxidante». En: *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 60.1, Online:<https://bit.ly/2TNEaka>.
- Sindi, Heba A., Lisa J. Marshall y Michael R.A. Morgan (2014). «Comparative chemical and biochemical analysis of extracts of *Hibiscus sabdariffa*». En: *Food Chemistry* 164, 23 -29. Online:<https://bit.ly/2Byuxi6>.
- Usuh, I.F. y col. (2005). «Antioxidant Actions of Dried Flower Extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. On Sodium Arsenite - Induced Oxidative Stress in Rats». En: *Pakistan Journal of Nutrition* 4.3, 135-141. Online:<https://bit.ly/2WZK43F>.
- Vinson, Joe A. y Barbara A. Hontz (1995). «Phenol Antioxidant Index: Comparative Antioxidant Effectiveness of Red and White Wines». En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43.2, 401-403. Online:<https://bit.ly/2TTgric>.
- Yang, M. y col. (2011). «Food Matrix Affecting Anthocyanin Bioavailability: Review». En: *Current Medicinal Chemistry* 18.2, 291-300. Online: <https://bit.ly/2GJF6SC>.
- Zhen, Jing y col. (2016). «Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of *Hibiscus sabdariffa* leaves». En: *Food Chemistry* 190, 673 -680. Online: <https://bit.ly/2TMSzgc>.



# EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EXTRACTOS ORGÁNICOS DE *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss SOBRE *Staphylococcus Aureus*, *Klebsiella Pneumoniae* Y *Escherichia Coli*

## MICROBIOLOGICAL EVALUATION AND CHEMICAL COMPOSITION OF ORGANIC EXTRACTS FROM *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss ON *Staphylococcus Aureus*, *Klebsiella Pneumoniae* AND *Escherichia Coli*

Mónica Espadero<sup>\*1</sup> , Hernán Avilés<sup>2</sup> , Lilia Armijos<sup>3</sup> , Luis Ávila<sup>3</sup> , Lidia  
Idrovo<sup>2</sup> , María Idrovo<sup>2</sup>  y Christian Oyola<sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Laboratorio de Ciencias de la Vida, Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador.

<sup>2</sup> Carrera de Biotecnología, Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador.

<sup>3</sup> Departamento de Investigación, Jatun Yachay Wasi, Colta, Ecuador.

\*Autor para correspondencia: [mespadero@ups.edu.ec](mailto:mespadero@ups.edu.ec)

Manuscrito recibido el 13 de diciembre de 2018. Aceptado, tras revisión, el 18 de febrero de 2019. Publicado el 1 de marzo de 2019.

### Resumen

*Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch Garcke) Boiss. es una especie vegetal perteneciente a la familia *Euphorbiaceae*, forma parte de las más diversas del continente americano, y es empleada en múltiples tratamientos en medicina ancestral. En el presente estudio se analizaron los compuestos orgánicos extraídos de las hojas de la planta. Se estableció la descripción y clasificación taxonómica de la especie vegetal. Para el estudio fitoquímico se analizaron los fenoles, taninos, saponinas, cumarinas, lactonas y flavonoides, observándose resultados positivos para cada compuesto químico. La caracterización química mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de Masas GC-MS, mostró 36,66 % de lanosterol, 12,25 %  $\beta$ -sitosterol, 5,11 % 3- $\beta$ -colest-4-en-3-ol, 4,73 % ácido hexadecanoico como elementos mayoritarios. El ensayo microbiológico de extractos etanólicos mostró un porcentaje de inhibición del 44 % sobre *Klebsiella pneumoniae* (ATCC70693) y 43 % en *Escherichia coli* (ATCC10536) con una CMI de 30  $\mu$ l/ml para cada cepa, y se observó un resultado negativo de inhibición para *Staphylococcus aureus* (ATCC24213). Los extractos orgánicos de *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch Garcke) Boiss. presentaron actividad antimicrobiana pudiéndose observar su potencial uso como agentes antimicrobianos.

**Palabras clave:** Antimicrobiano, extracto orgánico, GC-MS, *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch Garcke) Boiss.

---

**Abstract**

*Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch Garcke) Boiss. a plant species belonging to the *Euphorbiaceae* family, is one of the most diverse of the American continent, and is used in multiple treatments in ancestral medicine. In the present study, organic compounds extracted from the leaves of the plant were analyzed. The description and taxonomic classification of the plant was established. For the phytochemical study, phenols, tannins, saponins, coumarins, lactones and flavonoids were analyzed, and positive results were observed for each chemical compound with the exception of alkaloid compounds. The chemical characterization by gas chromatography coupled to mass spectrometry GC-MS, showed 36,66% lanosterol, 12,25%  $\beta$ -sitosterol, 5,11% 3- $\beta$ -cholest-4-en-3-ol, 4,73% hexadecanoic acid as major elements. The microbiological assay of ethanolic extracts showed a 44% inhibition percentage on *Klebsiella pneumoniae* (ATCC70693) and 43% on *Escherichia coli* (ATCC10536) with an MIC of 30  $\mu$ l/ml for each strain, and a negative inhibition result was observed for *Staphylococcus aureus* (ATCC24213). The organic extracts of *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch Garcke) Boiss. presented antimicrobial activity being able to observe their potential use as antimicrobial agents.

**Keywords:** Antimicrobial, organic extract, GC-MS, *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch Garcke) Boiss.

---

Forma sugerida de citar: Espadero, M., Avilés, H., Armijos, L., Ávila, L., Idrovo, L., Idrovo, M. y Oyola, C. (2019). Evaluación microbiológica y composición química de extractos orgánicos de *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss sobre *Staphylococcus Aureus*, *Klebsiella Pneumoniae* y *Escherichia Coli*. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 29(1):119-129. <http://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.10>.

---

## IDs Orcid:

Mónica Espadero: <https://orcid.org/0000-0002-2608-9387>

Hernán Avilés: <https://orcid.org/0000-0002-0671-4928>

Lilia Armijos: <https://orcid.org/0000-0003-0802-3701>

Luis Ávila: <https://orcid.org/0000-0001-6576-2696>

Lidia Idrovo: <https://orcid.org/0000-0001-9875-9477>

María Idrovo: <https://orcid.org/0000-0001-9711-0916>

Christian Oyola: <https://orcid.org/0000-0003-2289-5688>

## 1 Introducción

En la población ecuatoriana, el uso de plantas con fines terapéuticos está estrechamente ligado a tradiciones culturales. Actualmente, la etnobotánica ha despertado una conciencia de cambio en las generaciones científicas y académicas, y estudios realizados por Coy, Gómez y Castiblanco, (2016), describen la importancia medicinal, la taxonomía y los usos etnobotánicos de especies del género *Euphorbiaceae*. La familia Euphorbiaceae comprende alrededor de 8100 especies; es común en países tropicales, y forma parte de las familias más diversas entre las Magnolophytas, después de las Orchidaceas, Asteráceas, Fabáceas, Poáceas y Rubiáceas (Ogbulie y col., 2007; Zegarra, 2015). Esta familia es una de las Angiospermas con más diversidad en cuanto a su hábitat y morfología, varían en tamaño desde los árboles como el *Havea* con gran altura hasta plantas más pequeñas como los cactus (Al-Mughrabi, 2003; Coy, Gómez y Castiblanco, 2016). Según estudios etnobotánicos realizados por Mwine y Van Damme, (2011) y Oyerma y col., (2010) la familia Euphorbiaceae es empleada con fines medicinales, como la especie *Hura crepitans L.*, que se caracteriza por poseer características astringentes.

En la medicina ancestral, el uso de especies de la familia Euphorbiaceae es variado, pudiendo utilizarse en dermatología, como fungicida y antimicrobiano, para tratamiento de enfermedades gastrointestinales, y enfermedades bacterianas como la gonorrea (Azuaje y col., 2017). Estudios realizados por Sabandar y col., (2013) sobre el género *Jatropha* han descrito su uso en enfermedades de la piel, como infecciones e inflamaciones.

*Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss. es una planta fanerógama, y se multiplica de forma asexual mediante estacas (Giraldo, Ríos y Polanco, 2015). Estudios realizados por Flores Martínez y col., (2012) indican que su siembra se realiza cuando la Luna inicia sus fases (Luna creciente o Luna llena), debido a una mayor incidencia de los campos magnéticos sobre el sistema radicular de la planta, y en función a cada fase lunar, la influencia sobre los tallos y su follaje será mayor hasta el desarrollo final de su inflorescencia. Una vez concluida esta etapa, se realiza la cosecha en luna llena, ya que las partes que conforman la planta se encontraran con un mayor porcentaje de cada uno de sus compuestos químicos constituyentes, pudiéndose emplear potencialmente en medicina tradicional (Torres, 2012).

Las investigaciones y aportes realizados en Ecuador sobre *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss. con respecto a sus propiedades medicinales son escasos. Estudios realizados por Bittner y col., (2001) mostraron que *Euphorbia peplus*, *Euphorbia lactiflua*, *Euphorbia portulacoides* y *Euphorbia serpens* poseen actividad antimicrobiana, siendo un indicativo para que *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss. tenga compuestos químicos con propiedades similares referente a las especies descritas.

En este estudio se propuso relacionar las propiedades terapéuticas propias del extracto con la actividad biológica contra agentes microbianos (Zampini, Cudmani e Isla, 2007), es por ello que se utilizaron diferentes técnicas para el análisis fitoquímico y la actividad antimicrobiana (López Ramosa y col., 2016), sobre *Staphylococcus aureus* (ATCC24213), *Klebsiella pneumoniae*(ATCC70693) y *Escherichia coli*(ATCC10536). En el presente estudio se analizaron los compuestos presentes en *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss. siguiendo los estudios de Suzuki y col., (2006), dando las pautas necesarias para el aprovechamiento de esta especie vegetal que crece en Ecuador, para su posterior uso en medicina ancestral.

## 2 Materiales y métodos

La identificación taxonómica de la especie se lo realizó el 9 de agosto del 2017 por medio de un curador del Herbario de la Universidad del Azuay, en Cuenca, Ecuador.



Figura 1. Planta *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss. con Flor

## 2.1 Recolección de material vegetal

Se recolectaron las hojas de la planta *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch Garcke) Boiss. en el Cantón Cuenca, Provincia del Azuay, Ecuador (Long: -79.0093518 Lat: -289014096), mediante el uso de tijeras de podar Stanley Steel, posteriormente fueron recolectadas en recipientes de Isopropileno y transportadas a los Laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana.

## 2.2 Obtención de extractos

Las hojas frescas de *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss. fueron secadas a 60°C por un periodo de ocho (8) días, y mediante presión mecánica se pudieron obtener partículas finas. La cantidad de materia vegetal que se utilizó fue de 50g para extracto seco como para extracto fresco. Posteriormente, se obtuvo 10ml de extracto mediante maceración con etanol absoluto, eliminando el solvente utilizando un evaporador rotativo TECNAL TR-211 (Hernández Ocura y col., 2014; González Villa, 2004; Muhammad Abubakar, 2009).

## 2.3 Análisis fitoquímico

Se realizó la determinación y presencia de fenoles y taninos, saponinas, cumarinas y lactonas, flavonoides, quinonas y alcaloides en el extracto obtenido según López Ramos y col., (2017).

## 2.4 Cromatografía de gases-espectrometría de masas GC-MS

Se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent modelo GC-6890 acoplado a un espectrómetro de masas cuadrupolar HP 5973N. La inyección de la muestra se realizó por el modo "split" con una relación 1:10 (Parrales, Reyes y Pine Tobar, 2012), siendo la temperatura del inyector 280°C. Se trabajó con una temperatura inicial de 80°C, incrementándose hasta 310°C, seguido de un proceso isotérmico de 20mn (García Luján y col., 2010). El volumen final de inyección fue de 1 µl. Los componentes de la muestra se fraccionaron en la columna HP-5MS. El tiempo total de elución fue de 100 minutos, operado por ionización electrónica a 70eV con un rango de masas de 35 – 700uma. Como gas portador se utilizó helio a un flujo de 0,8ml/min.

## 2.5 Estudio microbiológico

Se utilizó la técnica de la difusión en agar empleando discos, basados en los lineamientos y protocolos establecidos por Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Existe un fundamento en la relación entre la concentración del antibiótico a utilizar y la formación de halos de inhibición que éste produce sobre la superficie de la placa que contiene el medio de cultivo (Ramírez, Castillo y Vargas, 2013). Se utilizó extracto de hoja seca y extracto de hoja fresca en concentraciones de extracto puro (100%), 80/20 y 50/50 etanol-agua.

## 2.6 Evaluación de actividad antimicrobiana

Se pesó 0,03g del extracto crudo y se solubilizó con 1ml de Dimetilsulfóxido (DMSO) de grado analítico para lograr una concentración de 30mg/ml. Para la activación de los microorganismos: *Staphylococcus aureus* (ATCC24213), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC70693) y *Escherichia coli* (ATCC10536), se aislaron las bacterias en agar nutritivo de marca Acumedia, preparado según especificaciones de la casa matriz y esterilizada en autoclave a 121°C y 1 atmósfera durante 15 min.

El procedimiento se realizó mediante la técnica de agotamiento de la muestra por estría, en cajas petri, incubadas durante 18 – 24 horas a 37°C. Concluido el tiempo de incubación, con ayuda de un asa bacteriológica estéril, se tomaron de 3 a 5 colonias morfológicamente similares y se suspendieron en una solución salina NaCl al 0,9% hasta alcanzar la turbidez comparable con el patrón 0,5 de McFarland, de manera cualitativa.

Para el ensayo de actividad antibacteriana se empleó agar Muller-Hilton de marca Difco<sup>TM</sup>, este fue colocado en cajas petri, las cuales fueron impregnadas con 100µl/caja con la suspensión ajustada de cada bacteria indicadora, también se emplearon discos estériles de 6mm de diámetro, humedecidos con 10µl de extracto diluido; como control positivo se usó cloranfenicol en concentración de 100µl/ml y como control negativo se empleó DMSO. Seguidamente las cajas petri se incubaron a 37°C por 24 horas; cada uno de los ensayos se realizó por triplicado (Hammer, Carson y Riley, 1999).

El porcentaje de inhibición se calculó mediante la fórmula (1), teniendo como referencia la medición

del diámetro de la zona de inhibición del control positivo y la medición del halo de los extractos testeados (Corzo Barragán, 2012). Donde  $\phi$  halo extracto, es el diámetro del halo formado por el disco que

contiene el extracto;  $\phi$  halo blanco, es el diámetro del halo formado por el disco del control negativo y  $\phi$  halo control positivo, es el diámetro del halo formado por el disco con el control positivo.

$$\% \text{Inhibición} = \frac{(\phi \text{halo extracto} - \phi \text{halo blanco})}{(\phi \text{halo control positivo} - \phi \text{halo blanco})} \times 100 \quad (1)$$

## 2.7 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

La concentración mínima inhibitoria (CMI), se aplicó para determinar la menor concentración de cada uno de los extractos que inhibe el crecimiento de las bacterias. El punto final (CMI) se considera la menor concentración de compuesto frente a la cual el microorganismo ensayado no presenta desarrollo visible (Cruz, Rodríguez y Rodríguez, 2010). La CMI, fue evaluada solo para extractos que evidenciaron inhibición frente a las bacterias de referencia, y se realizó por el método de dilución en agar TSB (marca Acumedia), en donde se incorporó el extracto a evaluar en el medio con agar. La técnica fue realizada en micro placas con fondo plano de 24 pocillos, en las cuales se dispusieron diferentes volúmenes de solución de los extractos en cada pocillo y se realizaron micro diluciones con el medio de cultivo.

Las concentraciones probadas fueron  $30\mu\text{l/ml}$ ,  $15\mu\text{l/ml}$ ,  $7,5\mu\text{l/ml}$ ,  $3,75\mu\text{l/ml}$ ,  $1,875\mu\text{l/ml}$  y

$0,9375\mu\text{l/ml}$  para *K. pneumoniae*, y desde  $60\mu\text{l/ml}$  para *E. coli*. En cada pozo se sembraron  $2\mu\text{l}$  de *Klebsiella pneumoniae* (ATCC70693) y *Escherichia coli* (ATCC10536) a una concentración de  $1,5 \times 10^6$  UFC/ml, comparables al tubo 0,5 en la escala de turbidez de McFarland. Después de 24 horas de incubación a  $37^\circ\text{C}$ , las microplacas se examinaron visualmente.

## 3 Resultados

La cantidad obtenida de extracto seco fue de  $14,82\text{ml}$  y de extracto fresco  $20,44\text{ml}$ . En la tabla 1 se muestra el tamizaje fitoquímico correspondiente al extracto obtenido a partir de *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch Garcke) Boiss. y solución de etanol al 100%. En la Tabla 2 se recogen los resultados de la presencia de Alcaloides en el extracto analizado. El análisis de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas GC-MS, pudo evidenciar los resultados expuestos en la Tabla 3.

**Tabla 1.** Resultados de tamizaje fitoquímico.

Componentes	Resultados
Ensayo de Fenoles y Taninos	Positivo
Ensayo de Cumarinas y Lactonas	Positivo
Ensayo de Quinonas	Positivo
Ensayo de Saponinas	Positivo
Ensayo de Catequinas	Positivo

**Tabla 2.** Resultados de Ensayo de Alcaloides

Ensayo	Resultados
Ensayo de Dragendorff	Negativo
Ensayo de Wagner	Negativo
Ensayo de Mayer	Negativo

**Tabla 3.** Resultados de Ensayo de Cromatografía de masas.

No.	Tr	AbundanciaRelativa %	Compuesto
1	5722	0,92	Ácido benzoico
2	6623	0,52	Glicerol
3	21499	1,46	Éster etílico del ácido hexadecanoico
4	22547	4,73	Ácido hexadecanoico
5	24905	10,40	3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecenol
6	25417	0,81	Ácido- 9,12- octadecenoico
7	25529	2,26	Ácido – $\alpha$ -linoleico
8	26006	1,20	Ácido octadecanoico
9	38944	5,49	Desconocido
10	40298	36,66	Lanosterol
11	40852	13,72	Lanosterol (isómero)
12	41213	12,15	$\beta$ -sitosterol
13	41608	2,91	$\beta$ -amirina
14	41872	1,66	Cicloartenol
15	42248	5,11	3- $\beta$ -colest-4-en-3-ol

\*Tr: Tiempo de retención en columna.

El análisis antibacteriano frente a los microorganismos aislados: *Staphylococcus aureus* (ATCC24213), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC70693) y *Escherichia coli* (ATCC10536), se muestra en la tabla 4. El estudio fue realizado en base al extracto obtenido de hojas frescas y secas en solución etanólica, dando como resultado que las hojas secas

presentan mayor actividad antimicrobiana frente al extracto de hojas frescas. Los extractos estudiados presentaron inhibición frente a *Klebsiella pneumoniae* (ATCC70693) y *Escherichia coli* (ATCC10536) siendo negativo para *Staphylococcus aureus* (ATCC24213), teniendo mejores resultados en los extractos de hojas secas.

**Tabla 4.** Resultados ante la prueba de actividad antimicrobiana del extracto etanólico.

		100.00 %	80/20	50/50
Staphylococcus aureus (ATCC 24213)	SECO	(-)	(-)	(-)
	FRESCO	(-)	(-)	(-)
Klebsiella pneumoniae (ATCC 70693)	SECO	(+)	(+)	(-)
	FRESCO	(+)	(-)	(-)
Escherichia coli	SECO	(+)	(+)	(-)
	FRESCO	(+)	(-)	(-)

(+) Resultado positivo, (-) Resultado negativo.

En las figuras 3 y 4, se expone de manera porcentual la inhibición del extracto frente a los microorganismos empleados, calculado de acuerdo con el halo de inhibición y teniendo como referencia el control positivo. Siguiendo el protocolo propuesto por Corzo Barragán, (2012), se determinó la CMI a

las 24 horas correspondientes al tiempo de observación, teniendo en consideración que la inhibición se realiza en una concentración de  $30\mu\text{l/ml}$  en ambos estudios. En las Figuras 4 y 5, se presentan los resultados obtenidos de CMI frente a *K. pneumoniae* y *E. coli* respectivamente.

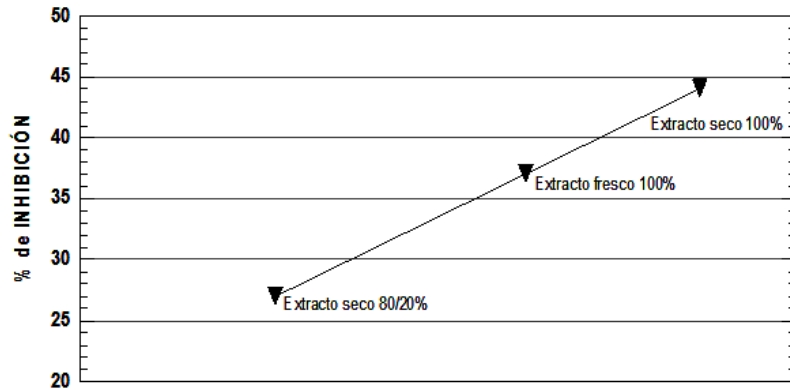


Figura 2. Porcentaje de inhibición de los extractos etanólicos frente a *Klebsiella pneumoniae*.

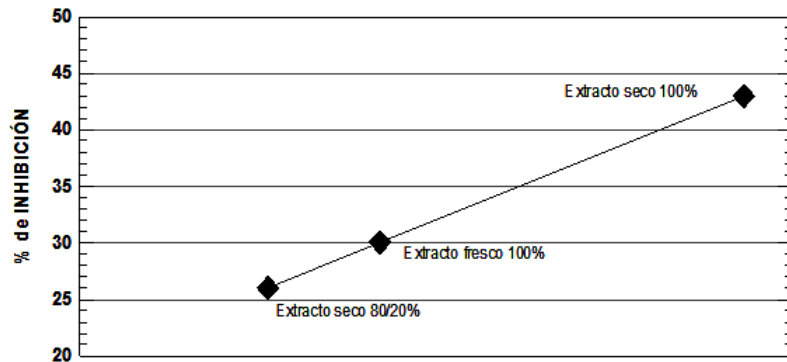


Figura 3. Porcentaje de inhibición de los extractos etanólicos frente a la *Escherichia coli*.

## 4 Discusión

El extracto alcohólico de hojas secas y frescas de *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss. confirmó la presencia de fenoles, taninos, cumarinas y lactonas, quinonas, saponinas y catequinas, dando control positivo al análisis fitoquímico correspondiente y mostrando similitud con los estudios realizados por Gutiérrez Gaitén y col., (2011), donde lactonas, fenoles, cumarinas y taninos fueron aisladas a partir de extractos hexánicos y de extracto de acetato de etilo. Por otro lado, en el "Estudio fitoquímico de las hojas de la especie vegetal *Croton schiedeanus* (Euphorbiaceae)" realizado por Chiappe, (2015), se pudo evidenciar la presencia de metabolitos se-

cundarios de tipo carotenoide, fenólico, flavonoide y alcaloide, lo que está de acuerdo con la quimio taxonomía de la familia y el género.

No se detectó la presencia de alcaloides en este estudio con relación a varias especies estudiadas del género, cuyo resultado ha sido positivo, como en Bittner y col., (2001), quienes expresan que se aislaron alcaloides del tipo morfina y aporfina. Gomes y col., (2017), realizaron un estudio sobre "Características fisicoquímicas y efecto citotóxico del extracto metanólico de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae)", donde el análisis físico-químico realizado mediante TLC, HPLC, FT-IR y UV-Vis, reveló la presencia de flavonoides y la ausencia de alcaloides, cumarinas, saponinas y taninos condensados.

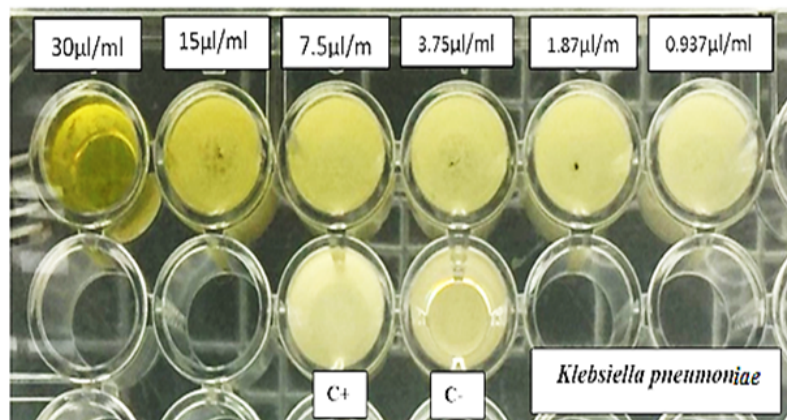


Figura 4. Resultado de la concentración mínima inhibitoria frente a *Klebsiella pneumoniae*.

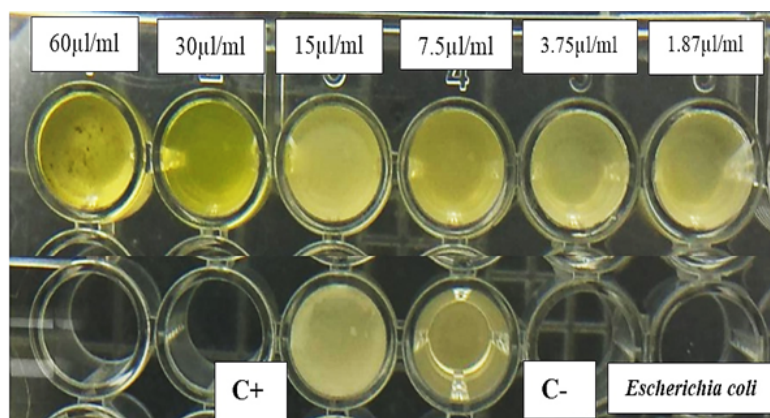


Figura 5. Resultado de la concentración mínima inhibitoria frente a *Escherichia coli*.

GC-MS es un método muy robusto para el análisis de las moléculas químicas presentes en una especie vegetal, pudiendo establecer sus compuestos mayoritarios así como posibles marcadores químicos para la especie de interés (Valdéz, Delgado y Ramírez, 2018). Con respecto al análisis de GC-MS de *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss., se pudo identificar la presencia de ácido benzoico 0,92 %, glicerol 0,52 %, éter etílico del ácido hexadecanoico 1,46 %, ácido hexadecanoico 4,73 %, 3,7; 11,15-tetrametil-2-hexadecanol 10,40 %, ácido-9,12-octadecenoico 0,81 %, ácido- $\alpha$ -linoleico 2,26 %, ácido octadecanoico 1,20 %, lanosterol 36,66 %, lanosterol (isómero) 13,72 %,  $\beta$ -sitosterol 12,15 %,  $\beta$ -amirina 2,91 %, cicloartenol 1,66 %, 3- $\beta$ -colest-4-en-3-ol 5,11 %, siendo el Lanosterol con 36,66 % el compuesto mayoritario.

Rodríguez Pava, Zarate Sanabria y Sánchez Leal, (2017), en "Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas contra la importancia clínica de patógenos en Colombia", concluyen que los flavonoides y quinonas poseen propiedades antibacterianas importantes, que al contacto con *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* han mostrado actividad sobre dichas cepas, siendo nula para *Staphylococcus aureus* (ATCC24213) en este estudio. En estudios realizados por Alvarez y Toso, (2018), sobre la especie *Euphorbia peplus* mostraron resultados positivos para actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, mientras que *Euphorbia serpens* es efectivo contra *E. coli* y *S. aureus*; guardando similitud con los resultados obtenidos en este estudio donde se observó bioactividad del extracto al 100% sobre *Escherichia coli*. Corzo Barragán, (2012) y Ogbulie y

col., (2007), muestran que la familia de las *Euphorbiaceas* posee actividad antimicrobiana, pudiéndose observar dicha actividad sobre *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* en el presente estudio.

## 5 Conclusión

El lanosterol es un compuesto triterpénico tetracíclico que integra mayoritariamente los extractos orgánicos de *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss. que se desarrolla en la región Andina del Ecuador, y que podrían ser utilizados como marcadores químicos de la especie estudiada. Los extractos orgánicos son compuestos generalmente seguros para su uso en farmacología y cosmetología, donde su actividad antimicrobiana frente a *E. coli* y *K. pneumoniae*, demuestran su potencial uso como agente antimicrobiano y para su empleo en la medicina ancestral.

## Agradecimientos

Se agradece a Danilo Minga Ochoa, taxónomo curador del Herbario de la Universidad del Azuay, quien brindó su apoyo para la identificación de la planta. Al departamento de Biotecnología de la Universidad Politécnica Salesiana, Sede Cuenca; Laboratorios de Ciencias de la Vida por el apoyo brindado en el desarrollo de este proyecto y al Ms.C. Adrián Valdez, miembro de grupo de investigación INVIAM por la lectura crítica del artículo.

## Referencias

- Al-Mughrabi, Khalil I. (2003). «Antimicrobial activity of extracts from leaves, stems and flowers of *Euphorbia macroclada* against plant pathogenic fungi». En: *Phytopathologia mediterranea* 42.3, 245-250. Online: <https://bit.ly/2H0a4X7>.
- Alvarez, Hebe L. y Ricardo E. Toso (2018). «Actividad antimicrobiana, larvicida, antiviral y citotóxica de especies medicinales nativas del género *Euphorbia*, *E. collina* Phil. y *E. serpens* HBK caracterización de los metabolitos bioactivos». En: *Ciencia Veterinaria* 17.2, 53-54. Online: <https://bit.ly/2U1NHEb>.
- Azuaje, Mariangel y col. (2017). «Actividad antifúngica in vitro de extractos de *Hura crepitans* L.(*Euphorbiaceae*) frente a *Candida albicans* Mariangel Azuaje, Silvana Villarreal, Luis Rojas Fermín, Clara Díaz, María Rodríguez». En: *Avances en Biomedicina* 6.3, 197-202. Online: <https://bit.ly/2GUrSCJ>.
- Bittner, M. y col. (2001). «Estudio químico de especies de la familia *euphorbiaceae* en Chile». En: *Boletín de la Sociedad Chilena de Química* 46.4, 419-431. Online: <https://bit.ly/2BLTAy2>.
- Chiappe, Andrea C. (2015). «Estudio fitoquímico de las hojas de la especie vegetal *Croton schiedeanus* (*Euphorbiaceae*)». Tesis doct. Universidad Nacional de Colombia, Online: <https://bit.ly/2GY0Omk>.
- Corzo Barragán, Diana C. (2012). «Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico». En: *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas* 43.3, 81-86. Online: <https://bit.ly/2QQi9Pj>.
- Coy, Andrés, Diana Gómez y Fabio Andrés Castiblanco (2016). «Importancia medicinal del género *Croton* (*Euphorbiaceae*)». En: *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 21.2, 234-247. Online: <https://bit.ly/2DVsz10>.
- Cruz, Anastasia C., Natalia Rodríguez y Carlos E. Rodríguez (2010). «Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*». En: *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica* 13.2, 117-124. Online: <https://bit.ly/2GWLfle>.
- Flores Martínez, L. y col. (2012). «Influencia de las fases lunares sobre el rendimiento del maíz (*Zea Mays* Variedad NB6)». En: *Ciencia e Interculturalidad* 10.1, 132-148. Online: <https://bit.ly/2GBZRRj>.
- García Luján, Concepción y col. (2010). «Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales». En: *Química Viva* 9.2, 86-96. Online: <https://bit.ly/2GBxnXH>.
- Giraldo, Luz A., Héctor Fabio Ríos y Manuel F. Polanco (2015). «Efecto de dos enraizadores en tres especies forestales promisorias para la recuperación de suelos». En: *Revista de Investigación Agraria y Ambiental (RIAA)* 1.1, 41-47. Online: <https://bit.ly/2Nik6nz>.
- Gomes, J&essica de Andrade y col. (2017). «Physicochemical characteristics and cytotoxic effect of the methanolic extract of *Croton heliotropiifolius*». En: *Journal of Natural Products* 2017, 1-10. Online: <https://doi.org/10.1155/2017/1234567>.

- lius Kunth (Euphorbiaceae)». En: *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 11.28, 321-326. Online: <https://bit.ly/2BHEaLd>.
- González Villa, Ángela A. (2004). «Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas». Tesis doct. Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales, Online: <https://bit.ly/2SU05d1>.
- Gutiérrez Gaitén, Yamilet I. y col. (2011). «Caracterización química por cromatografía de gases/espectrometría de masas de dos extractos obtenidos de *Phyllanthus orbicularis* HBK». En: *Revista Cubana de Farmacia* 45.3, 405-413. Online: <https://bit.ly/2GFbd76>.
- Hammer, Katherine A., Christine F. Carson y Thomas V. Riley (1999). «Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts». En: *Journal of applied microbiology* 86.6, 985-990. Online: <https://bit.ly/2T6Z7cv>.
- Hernández Ocura, L. y col. (2014). «Potencial Farmacológico de Triterpenos Presentes en Fracciones SólidoLíquido de *Euphorbia hyssopifolia* L.» En: *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila* 6.11, 22-27. Online: <https://bit.ly/2EIZHLb>.
- López Ramos, R. y col. (2017). «ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO Y EVALUACIÓN DE CAPACIDAD NUTRACÉUTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Croton incanus*». En: *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* 2, 278-282. Online: <https://bit.ly/2tBtY2p>.
- López Ramosa, Ricardo Guadalupe y col. (2016). «ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR Y EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE HOJA DE *Solanum elaeagnifolium*». En: *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos* 1.1, 226-231. Online: <https://bit.ly/2tyoA0g>.
- Muhammad Abubakar, El-Mahmood (2009). «Antibacterial activity of crude extracts of *Euphorbia hirta* against some bacteria associated with enteric infections». En: *Journal of Medicinal Plants Research* 3.7, 498-505. Online: <https://bit.ly/2BNWBhp>.
- Mwine, Julius T. y Patrick Van Damme (2011). «Why do Euphorbiaceae tick as medicinal plants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features». En: *Journal of Medicinal Plants Research* 5.5, 652-662. Online: <https://bit.ly/2E2OfmE>.
- Ogbulie, J. N. y col. (2007). «Antibacterial activities and toxicological potentials of crude ethanolic extracts of *Euphorbia hirta*». En: *African Journal of Biotechnology* 6.13, 1545. Online: <https://bit.ly/2tA7kYc>.
- Oyerma, C. y col. (2010). «Medicinal plants of Erute county, Lira district, Uganda with particular reference to their conservation». En: *African journal of ecology* 48.2, 285-298. Online: <https://bit.ly/2TaJ914>.
- Parrales, Adriana, Miguel Reyes y William Pine Tobar (2012). «Cromatografía del Gas Natural». ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL, Online: <https://bit.ly/2NkpYfS>.
- Ramírez, Lucía C., Adriana Castillo y Andrea Vargas (2013). «Evaluación del potencial antibacteriano in vitro de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas». En: *NOVA Publicación en Ciencias Biomédicas* 11.19, 51-63. Online: <https://bit.ly/2DZL2Ed>.
- Rodríguez Pava, Cristian Nicolás, Andrés Gabriel Zarate Sanabria y Ligia Consuelo Sánchez Leal (2017). «Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia». En: *Nova* 15.27, 119-129. Online: <https://bit.ly/2TeuyBE>.
- Sabandar, Carla W. y col. (2013). «Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): a review». En: *Phytochemistry* 85, 7-29. Online: <https://bit.ly/2SPly6N>.
- Suzuki, Masashi y col. (2006). «Lanosterol synthase in dicotyledonous plants». En: *Plant and Cell Physiology* 47.5, 565-571. Online: <https://bit.ly/2tz7LIM>.
- Torres, Alex (2012). «INFLUENCIA DE LA LUNA EN LA AGRICULTURA». UNIVERSIDAD DE CUENCA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPPECUARIAS, Online: <https://bit.ly/2NmofXj>.
- Valdéz, Adrián, Ernesto Delgado y Jorge Ramírez (2018). «Actividad adulticida y composición química del aceite esencial de hojas de *Lantana camara* sobre *Drosophila melanogaster*». En: *Masakana* 9.1, 21-30. Online: <https://bit.ly/2SOdaV0>.
- Zampini, Iris Catiana, Norma Cudmani y María Inés Isla (2007). «Actividad antimicrobiana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibiótico resistentes». En: 41.3, 385-393. Online: <https://bit.ly/2GD3k1O>.

Zegarra, Rosario (2015). «Las especies de la familia euphorbiaceae en la provincia de Tacna: estudio biosistemático». En: *CIENCIA & DESARROLLO* 19, 44-48. Online: <https://bit.ly/2GDSBo0>.