



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE  
HIDALGO**

**ÁREA ACADÉMICA DE QUÍMICA**

**TESIS**

**CARACTERIZACIÓN DE SEMILLAS DE *OPUNTIAS* SPP Y LA  
BIOADSORCIÓN DE MANGANESO Y CADMIO**

Que para obtener el Título de Licenciado en Química de Alimentos

Presenta:

**NOÉ TREJO GARCÍA**

**DIRECTOR: DR. FRANCISCO PRIETO GARCÍA**

**ABRIL 2011**

**QA**  
QUÍMICA EN ALIMENTOS

---



Parte de este trabajo fue presentado en el

**X SIMPOSIO INTERNACIONAL Y V CONGRESO  
NACIONAL DE AGRICULTURA SOSTENIBLE**



## ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
<b>I Introducción</b>	2
1.1. Justificación	3
<b>II Antecedentes</b>	4
2.1. Las <i>Opuntias</i>	5
2.1.1. <i>Opuntia matudae</i> Sheinvar	8
2.1.2. <i>Cylindropuntia imbricata</i> (Haw.) F.M. Kanut.	10
2.1.3. <i>Opuntia heliabravoana</i> Sheinvar	13
2.1.4. <i>Opuntia joconostle</i> F.A.C. Weber.	15
2.1.5. <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller.	17
2.2. Importancia económica de las <i>Opuntias</i> .	19
2.3. Estados que cultivan <i>Opuntias</i> en nuestro país	21
2.4. Ciclo vegetativo de las <i>Opuntias</i>	24
<b>III Hipótesis</b>	25
<b>IV Objetivo</b>	26
4.1. Objetivo general	26
4.2. Objetivos específicos	26

<b>V</b>	<b>Metodología</b>	<b>27</b>
5.1.	Caracterización fisicoquímica de las biomasas	27
5.2.	Análisis físicos	27
5.2.1.	Determinación de humedad	27
5.2.2.	Determinación de cenizas	28
5.2.3.	Determinación de densidad por peso hectolitro (DPHL)	29
5.2.4.	Determinación de densidad por peso de mil granos (DPMG)	29
5.2.5.	Determinación de densidad por índice de flotación (DIF)	29
5.2.6.	Determinación de dureza por abrasión (DPA)	30
5.2.7.	Determinación de volumen unitario (VU)	30
5.3.	Análisis proximal	30
5.3.1.	Determinación de grasas	31
5.3.2.	Determinación de proteínas	32
5.3.3.	Determinación de carbohidratos	33
5.3.4.	Determinación de azúcares	33
5.3.5.	Determinación de fibras totales	34
5.3.6.	Determinación del contenido de metales	35
5.4.	Análisis y distribución del tamaño de partículas	35
5.5.	Análisis por microscopia electrónica de barrido	35
5.6.	Acondicionamiento de los bioadsorbentes. Determinación del tiempo de contacto y la cinética de adsorción	36
5.7.	Proceso de eliminación de iones $Mn^{2+}$ y $Cd^{2+}$ por bioadsorción	37

<b>VI</b>	<b>Resultados y discusión</b>	<b>38</b>
6.1.	Resultados de los análisis físicos	38
6.1.1.	Densidad, dureza y volumen de semillas	41
6.2.	Resultados del análisis proximal	44
6.2.1.	Resultados de humedad, cenizas, grasas, fibra bruta, proteína y carbohidratos.	44
6.2.2.	Resultados del análisis de metales	48
6.3.	Análisis de tamaño de partículas.	53
6.4.	Análisis por microscopía electrónica de barrido.	56
6.5.	Proceso de bioadsorción de Mn y Cd.	61
<b>VII</b>	<b>Conclusiones y recomendaciones</b>	<b>70</b>
<b>VIII</b>	<b>Referencias bibliográficas</b>	<b>73</b>

## I. INTRODUCCIÓN

Los minerales son componentes naturales del suelo, además de que son utilizados como micronutrientes por los seres vivos, sin embargo cuando la concentración de estos micronutrientes en el medio ambiente supera los límites comienza a alterar el equilibrio biológico. Esta alteración suele ser producto de las actividades industriales como la minería la industria de transformación de metales, además de la aplicación de agroquímicos. La presencia de metales pesados se encuentra en estados disueltos, en forma de iónicos y disponibles para los distintos sistemas biológicos. Entre los más perjudiciales se encuentran Pb, Cr, Hg, Mn, Cd, entre otros, que son altamente tóxicos a todas las concentraciones (Díaz *et al.*, 2003). Se han desarrollado muy variadas técnicas para la eliminación de estos metales pesados en aguas residuales como son la precipitación, la oxidación/reducción, la filtración, los procesos electroquímicos, la separación por membrana y evaporación, entre otras (Martínez, 2002). Es factible además, el empleo de técnicas de adsorción de metales sobre sustratos naturales, como las zeolitas, o sobre absorbentes sintéticos (no naturales) como las resinas de intercambio iónico.

Por otro lado, la familia de las cactáceas está integrada por alrededor de 2000 especies distribuidas en el Continente Americano, desde Canadá hasta la Patagonia (Bravo Hollis H. y Scheinvar Léia 1995), aunque han sido introducidas y se han adaptado en lugares de clima desértico o muy secos, otros en lugares de clima seco y cálido de países de otros continentes como los del Mediterráneo (en Europa y Asia), Australia y África.

La cubierta vegetal de las regiones de clima árido y semiárido de México es tan variada, desde el punto de vista fisonómico que diversos autores (por ejemplo, Muller en 1947; Shereve 1951; Rzedowsky 1957b, 1966, Miranda y Hernández en 1963 reconocieron y denominaron para esta parte del país una serie de tipos de vegetación caracterizados por su aspecto sobresaliente.

Las condiciones geográficas de México, con su tan particular relieve, variados tipos de suelo y la presencia del Trópico de Cáncer en su territorio, han favorecido la diversificación de estas plantas, dando lugar a endemismos en zonas de gran riqueza biológica y en otras muy restringidas. Pueden mencionarse las regiones de Tehuacan–Cuicatlán, y el Valle de Mezquital en el centro del país; el Altiplano Potosino hacia el norte y la región de Tehuantepec hacia el sur (tomado de <http://espanol.geocities.com>, nov-2010).

Entre otros usos de las cactáceas, podemos referir que la mayoría de los nopales mexicanos son ampliamente utilizados como alimento humano y como forraje, principalmente por sus cladodios y frutos (joconoxtle s y tunas); las pitayas (frutos del género *Stenocereus*) y pitahayas (frutos del género *Hylocereus*), también forman parte de la dieta del hombre y de muchos animales (tomado de <http://www.botanical-online.com>, noviembre 2010).

En lugares áridos y ventosos se utilizan para fijar el suelo y prevenir la erosión de las lluvias que normalmente se producen de forma torrencial en algunas épocas del año. Este uso se hace muy adecuado en los cultivos que se llevan a cabo en forma de terrazas (tomado de <http://www.botanical-online.com>, noviembre, 2010).

### **1.1 Justificación**

El manganeso (Mn) y el cadmio (Cd) son metales pesados tóxicos y pueden ser liberados al medio ambiente directamente por descargas de aguas residuales o por deposición de polvos desde la atmósfera. Posteriormente llegan a precipitarse e incorporarse a la cadena alimenticia a través de las aguas u otras vías, hasta llegar al hombre. Por ello, es de vital importancia la búsqueda de nuevas técnicas y métodos para lograr su eliminación, particularmente de aguas residuales, con vistas a minimizar los daños que puedan causar a la salud de los seres vivos.

## II. ANTECEDENTES

Existen varios métodos para llevar a cabo la eliminación de metales pesados presentes en soluciones acuosas, por una parte existen los métodos fisicoquímicos que consisten en la precipitación química, oxidación, tratamiento electroquímico, filtración intercambio iónico y tecnología de membranas, las cuales han sido utilizadas ampliamente para remover metales pesados en aguas residuales de las industrias. Estos procesos suelen resultar costosos y se ha cuestionado su efectividad cuando se trata de soluciones acuosas en el orden de 1-100 mg/L (Volesky 1990; Volesky, 1999).

Debido a la limitación que implica la aplicación de métodos fisicoquímicos para el tratamiento de metales tóxicos se ha optado por la aplicación de materiales de origen biológico los cuales además de su bajo costo poseen una alta bioadsorción de metales pesados. Entre estos biomateriales se encuentran; bacterias, hongos, levaduras y algas, los cuales debido a su composición química (carbohidratos), poseen porcentajes de captación de los iones, metálicos relativamente altos. Por medio de procesos pasivos como bioadsorción, que es dependiente del grado de afinidad entre las especies metálicas o sus formas iónicas y los sitios de unión en la estructura molecular de la pared celular, y se puede recuperar el metal y reutilizar el bioadsorbente (Martínez, 2002).

La aplicación de la bioadsorción en la purificación de aguas residuales presenta un gran potencial, pues las biomasas se pueden obtener fácilmente en grandes cantidades, son económicas, reutilizables, y es posible emplear dos o más de manera simultánea y remover selectivamente diferentes iones metálicos (Acosta *et al.*, 2007). Se ha utilizado el carbón activado como biomasa para remover el Cd (II) en solución acuosa como el carbón activado obtenido de la mazorca de maíz y la corteza de *Pinus pinaste* (Acosta *et al.*, 2007)

Se ha demostrado que las algas marinas son más eficientes para la remoción de metales pesados cuando están muertas que cuando están vivas, como *Sargassum spp.*



y *Ascophyllum* spp. y éstas han dado buenos resultados como biosorbentes llegando a remociones superiores al 90% del metal de interés en procesos *batch* y continuos. Se analizó el proceso de biosorción en *batch* con hierro, manganeso y cromo, se obtuvieron porcentajes de remoción de 96, 98, 85% respectivamente (Díaz *et al.*, 2003).

Otro método para eliminar Cadmio en aguas residuales es utilizando una cepa modificada genéticamente de *Escherichia coli* con el gen de la metalotioneina 1 de ratón. Se mostró que la bacteria nativa por sí sola remueve el 50% de la concentración presente en un medio contaminado artificialmente, mientras que la bacteria modificada genéticamente sin inducir remueve el 80% de la concentración original de cadmio (Dávila-Reyes *et al.*, 2004).

## **2.1. Las *Opuntias***

Admiradas por sus atractivas flores, sus extravagantes formas o sus erizadas espinas, han sido ampliamente explotadas en jardinería, lo que ha llevado a muchas de ellas a encontrarse al borde de la extinción (tomado de <http://www.botanical-online.com>). Un número importante de estas plantas son endémicas de México (aquellas que solo se encuentran en cierta región geográfica y que son originarios de ella) y su desaparición significa la pérdida total, a nivel mundial.

Los géneros y especies reconocidas para la familia de cactáceas, y en particular los representados en México se muestran en la tabla 2.1. (tomado de <http://espanol.geocities.com>). La familia de las cactáceas incluye aproximadamente 2000 especies que se encuentran en lugares de clima desértico, como América Central y América del Sur. El nopal es el nombre común que reciben las cactáceas del género *Opuntia*; este género y su familia son originarios de América, se carece de fósiles de éstas cactáceas y se piensa que la familia derivó de las portulacáceas. Su origen podría localizarse en México, porque en este país existe el mayor número de géneros e individuos y porque, al contar con un buen relieve, se ha favorecido la diversidad de estas plantas. La mayoría de ellas son utilizadas como alimento humano por sus frutos

y hojas; así mismo, forman parte de la dieta de muchos animales (Prieto-García *et al.*, 2010).

**Tabla 2.1. Géneros y especies reconocidas para la familia de las cactáceas y los representados en México.**

1. <i>Acanthocereus</i>	10 especies, 5 en México, 3 endémicas
2. <i>Aporocactus</i>	2 – 3 especies, endémicas de México.
3. <i>Ariocarpus</i>	6 especies, todas presentes en México
4. <i>Astrophytum</i>	6 especies, todas en México, endémicas
5. <i>Cephalocereus</i>	4 – 6 especies, todas en México, endémicas
6. <i>Coryphanta</i>	56 especies todas en México, endémicas
7. <i>Echinocactus</i>	6 especies, todas en México, endémicas
8. <i>Echinocereus</i>	45 especies, 43 en México, 33 endémicas
9. <i>Ferocactus</i>	23 especies, todas en México. endémicas
10. <i>Hylocereus</i>	16 especies, 4 en México, 2 endémicas
11. <i>Lophophora</i>	2 especies, ambas en México, endémicas
12. <i>Mammillaria</i>	Cerca de 200 especies, con alto grado de endemismo
13. <i>Mitrocereus</i>	Género monotípico, endémico de México
14. <i>Myrtillocactus</i>	4 especies, 3 endémicas de México
15. <i>Neobuxbaumia</i>	8 especies, todas endémicas de México
16. <i>Nopalea</i>	7 – 8 especies, 6 endémicas de México
17. <i>Opuntia</i>	200 especies, 100 en México
18. <i>Pachycereus</i>	8 especies, todas endémicas de México
19. <i>Peniocereus</i>	20 especies, 17 en México, 15 endémica
20. <i>Pereskia</i>	6 especies, 5 endémicas de México
21. <i>Pilocereus</i>	35 especies, 11 en México
22. <i>Polaskia</i>	2 especies, endémicas de México
23. <i>Selenicereus</i>	29 especies, 17 en México, 12 endémicas
24. <i>Stenocactus</i> ( <i>Echinofossulocactus</i> )	10 especies, todas endémicas de México
25. <i>Stenocereus</i>	20 especies, 20 en México, 17 endémicas

El nopal (*Opuntia* spp.) ha representado, para los mexicanos, uno de los bióticos de mayor significado cultural, porque se utiliza como alimento, ya sea como verdura o como fruto, bebida alcohólica, dulce, producto industrial, entre otros. En algunos países América el nopal ha desempeñado un papel muy importante; en Perú se aprovecha en el cultivo de la cochinilla, y en la zona norte de México, como forraje; en muchos sitios de San Luís Potosí y Zacatecas se suele someter el jugo de tuna, fruto del nopal, a procesos de deshidratación para obtener productos diversos como miel de tuna, cuajado de tuna y queso de tuna.

Por eso, el nopal ha adquirido gran importancia actualmente; en la industria se utiliza como anticorrosivo, colorante y caucho (Granados, Castañeda., et 1991). Muchos estados del país dependen del nopal tunero para la subsistencia, y gran cantidad de familias se dedican a cultivarlo y otras a recolectarlo. Al fruto de sabor dulce se le conoce como tuna y al de sabor agrio como joconoxtle (Granados, Castañeda,al 1991). Los estados de México e Hidalgo tienen alto prestigio en cuanto a la calidad de su tuna, la cual proviene de *Opuntia amyclaea* y *Opuntia ficus-indica*, *Opuntia streptacantha* y *Opuntia leucotricha*; esta tuna se exporta a Estados Unidos, Canadá y Japón (Granados et Castañeda, 1991).

El nopal es una planta con gran capacidad de adaptación al medio, que efectúa mediante modificaciones morfológicas como diferencias en espinas, etc. La composición química de las cenizas de las cactáceas varía según su especie. Los componentes principales son el calcio y el potasio, pero también se encuentra algo de magnesio, sílice, sodio y pequeñas cantidades de hierro, aluminio y manganeso (Granados et Castañeda, 1991). El nopal puede funcionar desde el punto de vista nutricional, pero puede llegar a ser tóxico por su contenido de nitratos. Los nutrimentos del nopal varían con la época del año y cambian con los factores ambientales a que están expuestos, como el suelo, la precipitación, la temperatura y la duración del día (Granados et Castañeda, 1991).

Al analizar dos tipos de nopales se encontraron productos fermentables, los cuales son (Granados *et* Castañeda, 1991):

- *Opuntia tormentosa*: azúcares, polisacáridos, pentosas, carbonatos, hexosas polisacáridos, pentozanas.
- *Opuntia robusta*: disacáridos, monosacáridos y hexosas.

### 2.1.1. *Opuntia matudae* Sheinvar sp. (Tomado de Scheinvar y colaboradores 2009)

**Nombre común:** joconoxtle cuaresmiño, joconoxtle colorado con espinas o tuna ácida, joconextle barrilillo, joconoxtle chapeadito. Habita en suelos desérticos (figura 2.1.)

**Tronco:** planta arborescente de 2-3 m de altura, bien definido como de 20 cm.



Figura 2.1. *Opuntia matudae*. Plantas con diferentes colores de frutos

**Aréolas:** en 13-14 series espiraladas, distantes en 2 cm entre sí. Fielto grisáceo-negrusco. Gloquídios de 2-3 mm de largo, castaño-rosados.

**Flor:** de 5-7 cm de largo y 8 cm de diámetro en la antesis, pulpa ácida, rosada con manchas rojas, pasando con el tiempo a rosado y rojo, ligeramente perfumada. Se encuentra silvestre en varios lugares del altiplano mexicano.

**Grano de polen:** poliédrico, periporado, suprareticulado, de 174-160  $\mu\text{m}$  de diámetro, poros 6-8, con membrana escabrosa, exina de ca. 11 $\mu\text{m}$  de espesor, endexina mucho más delgada que la ectexina.

**Fruto:** elipsoide de 2.5-4 cm de largo y 1.5-2.5 cm de ancho, externamente verde-purpúreo y pulpa rosa-rojiza, con cicatriz umbilical profunda; Aréolas sin espinas, con lana grisácea y gloquídios castaño-rojizos. Fruto comestible que aparece en Marzo.

**Semillas:** discoides, de 4 mm de largo, 3 mm de ancho y 2 mm de espesor, blanquecinas con tonos rosados; arilo lateral de ancho irregular, bien marcado; taza del hilo lateral, poco profunda. En la figura 2.2 se puede observar la forma física de estas semillas.



**Figura 2.2. Semillas de *Opuntia matudae* Sheinvar sp.**

**Usos:** se utiliza como condimento en la cocina mexicana, como planta comestible, y para la elaboración de platillos, mermeladas y dulces.

**2.1.2 *Cylindropuntia imbricata* (Haw.) F.M. Knuth. (tomado de Scheinvar L, Filardo kerstupp y colaboradores 2009).**

**Nombres comunes:** Cholla (en Chihuahua), coyonoxtle (en Durango), el fruto: joconoxtle . Crece en selvas bajas y llega a formar verdaderas “Nopaleras” (figura 2.3 a y b).

**Tronco:** corto bien formado, leñoso, con ramas verticiladas casi horizontales, de 20 cm de largo y 3 cm de ancho.

**Areolas:** amarillentas, retrobarbadas, caducas con facilidad.

**Flores:** dispuestas hacia la extremidad de las ramas, de 3.8-6 cm de largo y diámetro en la anthesis. Pericarpelo obcónico, de casi 2 cm de largo, con tubérculos prominentes, uniformemente repartidos; aréolas con escama basal tubulada, de 1-1.4 cm de largo, de color verde claro con el ápice rojizo, con lana, glóquidas amarillentas, caducas con facilidad; espinas 3-8, desiguales, pajizas, recubiertas de vaina papirácea de igual color; espinas setosas escasas, hasta de 2 cm de largo. Segmentos exteriores del perianto abobados a anchamente oblongos, ápice apiculado, margen ondulado, bordes casi enteros o finamente dentados, dispuestos en 2 series espiraladas, de 1-2-1.5 cm de largo y ca. 1.1. cm de ancho en la parte superior, amarillo-verdosos con tintes purpúreos, más claros en los bordes, y en la parte mediana verde-amarillentos.

Segmentos interiores escasos, oblanceolados a angostamente obovados, con el ápice escotado y redondeado, a veces mucronado, margen lacerado hacia el ápice finamente dentado, de 1.2-2.2 cm de largo y ca. 0.5 cm de ancho en la parte superior, purpúreos a rosado. Estambres con filamentos rectos a introrsos, de 1 cm de largo, purpúreo. Estilo cilíndrico, ligeramente angostado en la base, de 1.4-1.7 cm de largo y de 3-5 mm de ancho, purpúreo con la base más clara, lóbulos del estigma 6-8, de 6 mm de largo, amarillentos.



Figura 2.3. a) *C. imbricata* (Haw.) F.M. Knuth. DC, tronco



Figura 2.3. b) *Cylindropuntia imbricata* (Haw.) F.M. Knuth. DC, frutos inmaduros y maduros.

**Grano de polen:** es esférico, tectado, de 130-135  $\mu\text{m}$  de diámetro, con 10-12 poros, exina de 6  $\mu\text{m}$  de grosor, la ectexina mucho más gruesa que la endexina.

**Fruto:** semicarnoso, ácido, subgloboso, elipsoide u obovoide, de 3-4 mm de largo o de diámetro, a veces mayor, amarillo-verdoso, con paredes más anchas que la cavidad que contiene las semillas, recubierto de tubérculos imbricados, a veces prominentes, con aréolas provistas de lana amarillenta, glóquidias cortas, sin espinas, a veces prolífico formando longas cadenas de decenas de frutos.

**Semillas:** abundantes, discoides a piriformes, bien formadas, ligeramente anguladas, de 3-5-5 mm de largo o de diámetro y 1.5-2 mm de espesor; arilo angulado o redondeado. En la figura 2.4 se puede observar la forma física de estas semillas.



**Figura 2.4. Semillas *C. imbricata***

**Usos:** Principalmente se usa como combustible en la población rural, las plantas vivas como setos vivos, los frutos se comen como verdura y guisados. También lo usan como forraje. Debido a sus ramas y troncos se aprovechan para manufacturar muebles rústicos. Además se usa como medicamento, la tuna entera calma la tos, alivia dolor de garganta y se usa como anti-inflamatorio. Su aprovechamiento es regulado por las normas NOM-005-RECNAT-1997 Y NOM-007-RECNAT-1997.



**2.1.3 *Opuntia heliabraovana* Scheinvar (tomado de Scheinvar y colaboradores 2009).**

**Nombres comunes:** joconoxtle blanco; nopal chaparro; duraznillo blanco (figura 2.5).



**Figura 2.5. *O. heliabraovana* Scheinvar. Pachuca, Hidalgo.**

**Aréolas:** hundidas, 18-21 series espiraladas, las inferiores dispuestas transversalmente, distantes 0.8 a 2 cm entre sí, de 2-3 mm de diámetro, con fieltro de color crema hasta gris-negruczo; gloquídeos amarillos, de 2-4 mm de largo.

**Flor:** de unos 6 cm de diámetro en anthesis; pericarpelo casi globoso, de 2.5-3.2 cm de largo x 2.5-2.8 cm de ancho, con aréolas dispuestas en 8 series de espirales, color verde-amarillento con ancha estría central rojiza en los segmentos exteriores. Segmentos interiores amarillos pasando al segundo día a color salmón. Filamentos y

anteras amarillas. Estilo amarillo con tintes rosados; lóbulos del estigma 10, verdes, 5 mm de largo.

**Granos de polen:** esférico, periporado, supreticulado, con diámetro que varía de 34-40  $\mu\text{m}$ , poros 10 o más, distribuidos homogéneamente sobre la superficie del grano, con un diámetro de 12-20  $\mu\text{m}$ , exina de 7.5-10  $\mu\text{m}$  de grosor, con ectexina generalmente más gruesa que la endexina.

**Fruto:** globoso, como de 3 cm de diámetro, umbilicado, verde-amarillento, con manchas de color salmón cuando maduros. Espinas ausentes; gloquidios amarillos abundantes (figura 2.6).



**Figura 2.6. *O. heliabravoana* Scheinvar. Cladodio característico con frutos amarillos. Pachuca, Hidalgo**

**Semilla:** globosa, angulada, de 2.5 a 3 mm de diámetro; arilo lateral bien formado, angosto; hasta 90 en un solo fruto. En la figura 2.7 se puede observa la forma física de estas semillas.



**Figura 2.7 Semillas *Opuntia heliobaovana* Sheinvar**

**Usos:** Usada como cerca viva, la tuna agria (joconoxtle F.A.C. Weber) se utiliza como condimento en los frijoles y mole de olla. Los cladodios chamuscados sirven de forraje. El tallo sirve como antorcha, su llama es muy larga, es usada para prender el fuego nuevo al final de cada siglo de 52 años.

**2.1.4. *Opuntia joconoxtle* F.A.C. Weber (tomado de Scheinvar y colaboradores 2009).**

**Nombre común:** joconoxtle; joconoxtle F.A.C. Weber blanco; joconostle cenizo; joconoxtle de burro; nopal tempranillo; tuna joconoxtle (figura 2.8).

**Aréolas:** en 7-9 (-12) series espiraladas, angostamente piriformes, de 2-3 mm de largo y 1-2 mm de ancho, con fieltro corto, negruzco.

**Flor:** amarilla, de 6.5-8 cm de largo; pericarpelo obovado, de ca. 3.8 cm de largo y 2.3 cm de ancho, con aréolas dispuestas en 8 series espiraladas, distantes 3 mm entre sí, con escama basal crasa; segmentos exteriores del perianto deltoides, el ápice acuminado y bordes dentados, amarillo-verdosos con amplia estría mediana purpúrea,; segmentos interiores amarillo claros; estambres alcanzan 1/3 inferior del perianto,

filamentos y anteras blancos; estilo cuneiforme, de. 2 cm de largo, blanco en la base y rosado en la parte superior, lóbulos del estigma 5, papilosos, de ca. 4 mm de largo, amarillo claro verdosos con estría mediana rosada.



**Figura. 2.8.** *O. joconoxtle* F.A.C. Weber. Cladodio con botones florales y una flor en anthesis, vista exterior. Valle del Mezquital, Hidalgo.

**Fruto:** subgloboso, a veces piriforme, de 2-4 cm de diámetro o de largo, con la cicatriz floral ligeramente hundida a hundida, estriada, cáscara muy delgada, verde pasando a rosa rojizo cuando madura; aréolas muy chicas, dispuestas en 6 series espiraladas, piriformes, distantes 1 cm entre sí y la series distantes 1.5 cm entre sí, lana marrón, espinas ausentes; pulpa muy ácida, ligeramente perfumada, blanco rosada y rosa rojizo alrededor de las semillas. Cámara ovárica céntrica, de 2 x 3 cm.

**Semillas:** rosadas, anguladas, de 1.5 mm de diámetro; arilo lateral de desigual ancho, con un mucrón característico; taza del hilo lateral subasal. En la figura 2.9 se puede observar la forma física de estas semillas.



**Figura 2.9. Semillas *Opuntia joconoxtle* F.A.C. Weber**

**Usos:** en San Luis Potosí, en el municipio de Mexquitic, Paso Blanco, se utiliza esta planta en gárgaras como remedio para el dolor de garganta e inflamación de las anginas.

#### **2.1.5 *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. (tomado de Scheinvar y colaboradores 2009).**

**Nombre común:** La especie sin espinas, conocida comúnmente como “nopalito” es originaria de las zonas áridas y semiáridas de México (figura 2.10).

**Flores:** de 7 a 10 cm de diámetro y como de 6 a 8 cm de largo; los segmentos exteriores del perianto son ovados hasta ampliamente cuneados abovados, amarillos con la porción media rojiza o verdosa; los segmentos interiores del perianto son angostamente abovados hasta angostamente cuneados, truncados hasta redondeados, enteros mucronados o dentículos, amarillos hasta anaranjados; pericaperlo con algunas espinas pequeñas, caducas. En la figura 2.11 se puede observar la forma física de estas semillas.



**Figura 2.10.** *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, areolas



**Figura 2.11.** Semilla *Opuntia ficus-indica*

**Frutos:** en baya, espinosos, de hasta 9 cm. comestibles (higos chumbos). Natural de México, cultivada y naturalizada en los terraplenes cálidos junto al mar.

**Usos:** Principalmente por sus frutos fueron fundamentales durante los viajes de los colonizadores hispanos como fuente de alimento y para evitar el escorbuto.

## **2.2. Importancia económica de las *Opuntias*.**

La producción de *Opuntias* en México puede clasificarse en tres tipos: nopaleras silvestres, de huertos familiares y plantaciones.

La producción en nopaleras, en su gran mayoría silvestres, se estima en 3 millones de hectáreas, distribuidas en 15 estados del país, en donde son fuente de forraje para el ganado lechero. También se usa como abasto para su procesado industrial, siendo empacado en salmuera o escabeche por diversas empresas, para mercado de exportación o nacional.

La producción de nopales en huertos familiares y plantaciones se da únicamente para autoconsumo y venta en los mercados de pueblos y ciudades.

La producción de nopales en plantaciones apareció en los años cincuenta, debido a que la demanda de nopal creció en forma importante, junto con las ciudades y el incremento poblacional.

En nuestro país el nopal tiene varios usos (Arias, 1994):

a) Como FRUTA, la tuna, es de más aceptación en el mercado mexicano que el nopal, además se exporta a países como E.U.A. y en cantidades menores a Canadá, Japón, y a Europa.

b) Como VERDURA, el nopalito está ligado a nuestra alimentación desde antes de conquista, se preparan diversos platillos con ellos, desde una ensalada hasta los famosos tacos de chicharrón con nopales, no puede faltar en los tlacoyos, en las sopas o en distintos guisados originarios principalmente del Distrito Federal, como los "romeritos" que se disfrutaban en Navidad o en Semana Santa.

c) Como FORRAJE, en las épocas de sequía sirve como alimento principal del ganado.

- d) Como CERCO, se usa el nopal espinoso para limitar huertos familiares, este método es muy antiguo y hasta la fecha se sigue utilizando.
- e) Como SUBSTRATO, en el uso de la grana cochinilla otra técnica que se usa desde el México Prehispánico. Hay que tomar en cuenta que esta tinta no se toma directamente del nopal sino del pequeño gusano que habita en el nopal, que luego de machacarlo lo que sobra se usa como tinte.
- f) Como PLANTA MEDICINAL, se ha comprobado que el consumo de nopalito y de la tuna ácida controla los niveles de azúcar y de colesterol en la sangre, se usa también como fibra para mejorar el proceso digestivo (González, 1984).
- g) Como PLANTA INDUSTRIALIZADA, en México se procesa el nopalito enlatado en salmuera y en escabeche, y la tuna como licor como dulce.
- h) Como BASE para COSMETICOS, se usa para la fabricación de shampoos, pinturas, cremas, tintes para el cabello, etc.
- i) Como CONSERVADOR DEL SUELO, frena la desertificación, también impide la erosión del suelo.
- j) Como MEDIO para COMBATIR la CONTAMINACIÓN, el nopal al presentar fisiología tipo CAM consume CO<sub>2</sub> por las noches en grandes cantidades.
- k) En YOGURT como alimento, un grupo de productoras de nopal de Apaseo el Alto se unieron para producir, industrializar y comercializar el nopal.

La *Opuntia ficus-indica* es sin duda la más importante entre las cactáceas utilizadas en agricultura (figura 2.10). Se cultiva desde épocas prehispánicas y en la actualidad está adquiriendo gran importancia en las zonas tropicales áridas de todo el mundo. Otras dos o tres especies afines a *O. ficus-indica* se cultivan en menor grado. De ellas se consumen las frutas, los tallos como forraje y también para criar la cochinilla de la grana. En la dieta de los mexicanos es habitual utilizar los tallos jóvenes como verdura (figura 2.12).





**Figura 2.12. *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, frutos recolectados.**

### **2.3. Estados que cultivan Opuntias en nuestro país.**

Las *Opuntias* son cultivadas en al menos nueve de los 32 estados que conforman el país (Arias, 1994):

- **DISTRITO FEDERAL:** Se cultiva el nopal desde antes de la conquista en el mismo lugar, ahora conocido por el nombre de Milpa Alta. Este municipio es el mayor productor de nopal en nuestro país. En esta región se calculan unas 27,000 plantas de nopal por hectárea tomando en cuenta que son alrededor de unas 7,500 ha. Milpa Alta está a una altura de 2,420 metros sobre en nivel del mar, con una precipitación anual de 756.1 mm y una temperatura alrededor de 15.9° C.
- **MORELOS:** En este estado el productor más importante es el municipio de Tlanepantla con cerca de 350 hectáreas y 450 productores de nopalito. Su altura es de 2,042 msnm, y con una temperatura de 18° C.
- **PUEBLA:** En ella hay dos entidades nopaleras; la primera comprende entre los municipios Atlixco y Cholula, la segunda esta en el municipio de Acatzingo, en estas

entidades se cultiva el nopal Trueno. La primera zona está a una altura de 2,000 msnm y su temperatura promedio es de 17° C, con unas precipitaciones de 808 mm. La segunda zona tiene una altura de 2,200 msnm, con una precipitación anual de 757 mm y una temperatura de 17 grados centígrados.

- MICHUACÁN: La producción de nopalito no está concentrada en un sólo lugar sino que se expande por todo el estado. Sin embargo, sobresale Uruapan que se encuentra al sur del estado, con 250 ha. En ella se cultiva en un 90% el nopal blanco y en un 10% el nopal negro o verde. La región tiene una altura de 1300 msnm, con una precipitación de 1,200 mm y una temperatura de 20° C.
- GUANAJUATO: En este estado al igual que en Michoacán se produce el nopalito en muchas pequeñas áreas esparcidas por todo el estado, pero cuenta con una entidad llamada Valtierra que tiene aproximadamente 250 Ha, en ella y en todo el estado se cultiva el nopal pelón, el de hule o el nopal negro. Esta región se encuentra a una altura de 1,720 msnm con una precipitación de 680 mm y una temperatura de 17.7° C.
- BAJA CALIFORNIA: Es la excepción de los estados del norte, pues es el único en producir nopal y no consumirlo. En este estado se produce nopal por dos razones: La primera es para exportarlo a los E.U.A. para el consumo de las personas que emigran a este país y la segunda es para ser distribuidos a los grandes núcleos de población estadounidense de origen mexicano que consume nopalito en el estado de California. En esta región se produce nopalito en cuatro municipios: Mexicali, Tijuana, Ensenada, y Tecate.
- JALISCO: Son pequeñas zonas nopaleras, la más importante se encuentra cerca del lago de Chapala, su altura es de 1,550 msnm, con una precipitación anual de 880 mm y una temperatura de 20° C.
- OAXACA: Aquí la producción de nopal se concentra en los valles del centro, encontrándose a una altura promedio de 1,550 msnm, con precipitaciones de 650 mm, y un clima de 20.5° C.
- QUERÉTARO: ocupaba, en 1996, el dieciséisavo lugar con una superficie sembrada de 35 hectáreas y una producción de 700 toneladas de nopal verdura. Cuenta con una región importante con las características de zona áridas y

semiáridas que es una superficie de 4,590 km<sup>2</sup> con una precipitación media anual de 400 a 500 mm y una temperatura media anual mayor a los 18° C. En esta zona se localiza la región de Cadereyta que abarca los municipios de Cadereyta de Montes, Colón, Peñamiller y Tolimán.

Las especies de las que se obtiene nopalito en nopaleras naturales y en huertos familiares son numerosas por lo que sólo se mencionan las más utilizadas (Bravo, 1978):

- MILPA ALTA. Es la especie más importante a nivel nacional, por la superficie cultivada y por el volumen de su producción que ocurre al mercado. Se clasifica como *Opuntia ficus-indica*, se cultiva en esta región en el D.F. y en el municipio de Tlanepantla en el estado de Morelos.
- COPENA VI y COPENA FI. Estas especies fueron desarrolladas por el Dr. Facundo Barrientos en el Colegio de Postgraduados, en los años setenta. La especie Copena VI tiene como características principales el carecer de espinas, presentar un color verde intenso, ser suculenta, de buen sabor y con poca acidez; ésta se cultiva en los estados de Hidalgo, México, Guanajuato y Baja California. La especie Copena VI fue seleccionada como especie forrajera, sin embargo, por producir una gran cantidad de nopalito sin espina, presentar poco mucílago y un color agradable, ha sido cultivada como nopalito en el estado de México, en Tlaxcala, en Puebla y en Baja California.
- BLANCO Y NEGRO. Estas especies se cultivan en los alrededores de Uruapan en Michoacán y además de establecerse en el mercado local, concurren a Guadalajara, Jalisco y de allí es enviada a sitios como Tijuana (González, 1984).
- TAMAZUNCHALE. En la sierra del sur de Tamazunchale en SLP, se cultiva esta especie que es del género *Nopalea*, presenta las pencas alargadas, una cutícula gruesa y pocas espinas.

Los estado de México e Hidalgo tienen gran prestigio debido a la calidad de su tuna, que proviene de *Opuntia amyclaea* y *Opuntia ficus-indica* (Alfajayucan y de castilla respectivamente) (Granados et Castañeda, 1991)

#### **2.4. Ciclo vegetativo de las *Opuntias*.**

La longevidad promedio de las plantaciones de *Opuntias* es de 5 a 7 años, alcanzando algunas veces hasta 10 años con buenos rendimientos. La producción de *Opuntias* se inicia a los 3 meses de plantado. Un cultivo en plena producción se inicia aproximadamente al año. Con prácticas constantes de cultivo, se pueden alcanzar de 80 a 90 t/año.

La parte comestible del nopal son los rebrotes tiernos, los cuales pueden ser aprovechados a los 8 ó 10 días de haber brotado. Generalmente la mayor producción se registra en la temporada de lluvias de junio a septiembre; sin embargo es también la época en que se tiene la mayor susceptibilidad a las plagas y enfermedades, por lo que se deben de dar los cuidados necesarios. Una vez establecido el nopal, se adapta a condiciones o áreas disturbadas, aunque requieren de labores y cuidados para lograr buenos resultados en cuanto a rendimientos de verdura y duración de la plantación.

El nopal se reproduce mediante la multiplicación vegetativa o asexual, es decir, mediante la plantación de pencas o fracciones de pencas o cladodios. Se deben utilizar de preferencia las pencas que tengan pocas espinas, que contengan gran cantidad de agua y poca fibra. En otras especies como el nopal tunero, la reproducción puede ser sexual o por semilla aunque es muy poco común esta forma de reproducción para cualquier especie de nopal. De aquí se deriva que las semillas de las *Opuntias* no tienen otra utilidad.

Una planta adulta produce un promedio de 200 frutos/año, infiriéndose que en 1 ha bien manejada, con una densidad de 1.000 plantas/ha, puede brindar una producción de 300,000 frutos/ha, a los 2 a 3 años de edad. La madurez de los frutos se inicia de 4 a 5 meses de la brotación o floración. Se caracteriza por el cambio de coloración de la pulpa, madurando ésta antes que la cáscara.

### III. HIPÓTESIS

Las semillas de *Opuntia heliabravoana* Sheinvar, *O. cylindropuntia imbricanta*, *O. matudae* sp., *O. joconoxtle* y *O. ficus-indica*, pulverizadas o molidas, en condiciones de activación ácida o básica, producen una bioadsorción favorable capaz de reducir las concentraciones de iones de manganeso y cadmio en medios acuosos.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1. Objetivos generales

- Caracterizar fisicoquímicamente las semillas de *Opuntias* de las especies *Cylindropuntia imbricata* (Haw.) F.M. Knuth, *Opuntia matudae* Sheinvar sp., *Opuntia heliabraovana* Sheinvar, *Opuntia joconoxtle* F.A.C. Weber y *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller.
- Evaluar la capacidad de sorción en el equilibrio de semillas de *Opuntias* de las especies *Cylindropuntia imbricata* (Haw.) F.M. Knuth, *Opuntia matudae* Sheinvar sp., *Opuntia heliabraovana* Sheinvar, *Opuntia joconoxtle* F.A.C. Weber y *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller, cultivadas en el Estado de Hidalgo, en forma de gránulos, en medio ácido, para remover iones de  $Mn^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  en solución acuosa.

### 4.2. Objetivos específicos

- Caracterizar los materiales adsorbentes (biomasas) antes de las activaciones ácidas a partir de los polvos (análisis físicos y proximales).
- Caracterizar los materiales adsorbentes (biomasas) antes y después del contacto con los iones metálicos mediante técnicas espectroscópicas y microscópicas. Determinar tiempos de contacto.
- Optimizar los parámetros para el acondicionamiento de las biomasas, como pH, temperatura y tamaño de partícula.
- Determinar las cinéticas de bioadsorción considerando el tiempo de contacto mínimo requerido por las biomasas para la óptima bioadsorción de los iones metálicos.
- Determinar los porcentajes de eficacia en la eliminación de iones Mn y Cd en medios acuosos y evaluar las posibilidades de regeneración de las biomasas; en su caso.

## V. METODOLOGIA

### 5.1 Caracterización fisicoquímica de las biomasas

Las semillas de las diferentes especies de *Opuntia* que serán el objeto de estudio son: *Cylindropuntia imbricada*, *Opuntia matudae* Sheinvar , *Opuntia heliabravoana* Sheinvar, *Opuntia joconoxtle* F.A.C. Weber, *Opuntia ficus-indica* cultivadas en el Estado de Hidalgo, todas ellas previamente molidas en forma de polvos o granulados, serán sometidas a evaluaciones de caracterización. La molienda se realizó en un molino de laboratorio

### 5.2 Análisis físicos

A las semillas, antes de la molienda, se realizarán los siguientes análisis físicos según se reporta (Prieto *et al.*, 2006).

- Contenido de humedad: gravimétrico (AOAC, 1995 b)
- Contenido de ceniza: sequedad, incineración, y gravimetría (AOAC, 1990)
- Densidad por peso Hectolitro (NMX-FF-043-SCFI-2003)
- Densidad por peso mil granos (Camacho *et al.*, 2001)
- Índice de flotación (Pérez, 2005)
- Dureza por abrasión (NMX-FF-043-SCFI-2003)
- Determinación de volumen unitario (Pérez, 2005)

#### 5.2.1. Determinación de Humedad

Esta prueba se basa en la pérdida de agua que sufre la muestra al ser calentada hasta peso constante. El método utilizado fue el 925.10 de la AOAC (1995 b). Para la medición, se utilizaron charolas de aluminio previamente puestas a peso constante. Se pesaron 3g de la muestra, la cual fue calentada  $130^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  en una estufa por 16 h. Transcurrido este tiempo las charolas se enfriaron a temperatura ambiente en un

deseCADador hasta peso constante y fueron pesadas. El porcentaje de humedad se calculó bajo la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_1 - P_2}{m} \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

Donde:

P1 = peso de la charola con muestra antes de ser secada (g)

P2 = peso de la charola con muestra después de secada (g)

m = peso de la muestra (g)

### **5.2.2. Determinación de Cenizas**

El material mineral se cuantificó incinerado la muestra hasta la obtención de un residuo inorgánico correspondiente a la fracción de las cenizas de la muestra. Se determinó de acuerdo al método 923.03 de la AOAC (1990) a partir de 3 g de muestra incinerada en una mufla Fisher Scientific a una temperatura de 550°C hasta que se obtuvieron cenizas color grisáceo o blanco uniforme sin que se presentaran manchas negras. Los crisoles se dejaron enfriar en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente. Con la siguiente fórmula se determinó el contenido de cenizas:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_1 - P_2}{m} \times 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

P1 = peso del crisol con muestra después de la incineración (g)

P2 = peso del crisol a peso constante (g)

m = peso de la muestra (g)



### 5.2.3. Determinación de densidad por peso hectolitro (DPHL)

Para la determinación de la densidad por peso hectolitro se realizó el procedimiento establecido en la NMX-FF-043-SCFI-2003, que si bien es referida para semillas de otro tipo como las de cereales, sirvió como método de referencia. Para ello se pesó una probeta de 50 mL vacía, luego se llenó de forma rasante con las semillas de cada una de las especies en estudio y se volvió a pesar, se tomando la diferencia de pesada. El cálculo se realizó de la siguiente manera:

$$DPHL = \frac{(P_2 - P_1) * 1000}{50} \quad \text{Ec. 3}$$

Donde:

P2= Peso de la probeta llena de semillas (g)

P1= Peso de la probeta vacía (g)

1000= Conversión a Litros

### 5.2.4. Determinación de densidad por peso de mil granos (DPMG)

Según Camacho y colaboradores (Camacho *et al.*, 2001) una forma de evaluar la densidad es estimando el peso de 1000 granos de semilla. Para esto se toman al azar 50 piezas de semillas de cada una de las especies en estudio y se pesan en un vaso de precipitado previamente tarado. El peso neto de las 50 semillas se multiplica simplemente por el factor 20.

### 5.2.5. Determinación de densidad por índice de flotación (DIF)

De forma similar al apartado anterior se procede a determinar la densidad por índice de flotación. Esto consiste en colocar en un vaso de precipitado de 100 mL de capacidad, al que se le han adicionado 50 mL de agua destilada, cien piezas o semillas de las

especies de *Opuntias*, tomadas al azar. Se agitan de forma circular por unos treinta segundos y se deja en reposo por otros sesenta segundos. Al término se cuentan los granos o número de semillas que quedan flotando en la superficie del agua contenida en el vaso (Pérez, 2005).

#### **5.2.6. Determinación de dureza por abrasión (DPA)**

Se escogieron unos diez granos o semillas de cada especie y cada semilla fue desplazada ejerciendo la presión de los dedos por cinco veces a lo largo (23 cm.) de un papel de lija N° 100. Cada grano o semilla fue pesado antes y después del desplazamiento (Pérez, 2005). La dureza por abrasión de esta forma se expresa como porcentaje de peso perdido y se calcula a partir de:

$$DPA = \frac{Pi - Pf}{Pi} * 100 \quad \text{Ec. 4}$$

Donde:

Pi= Peso inicial de cada grano o semilla (g)

Pf= Peso final luego de pasar 5 veces por el papel de lija (g)

#### **5.2.7. Determinación de volumen unitario (VU)**

El volumen de cada especie de semilla fue determinado por mediciones del largo, ancho y alto (tridimensional) con ayuda de un Vernier y expresando los resultados en mm<sup>3</sup> (Pérez, 2005)

### **5.3. Análisis proximal**

Las muestras de las semillas de *Opuntias* ya pulverizadas, se sometieron a las siguientes determinaciones fisicoquímicas:

- Contenido de grasas totales: método de extracción en equipo Soxhlet (AOAC, 1995 b).
- Contenido de proteínas: método Kjeldahl para determinación de nitrógeno (AOAC, 1995 b).
- Contenido de carbohidratos totales: método de cálculo por diferencia (Pere, 1999; Blanco *et al.*; 2000).
- Contenido de azúcares: método de azúcares reductores totales, directos y sacarosa (Ödön *et Tirso*, 1985; BOE, 1988).
- Contenido de fibra total o fibra bruta y contenido de fibra soluble e insoluble (AOAC, 1995 b).
- Contenido de elementos metálicos: sodio, potasio, calcio, magnesio, aluminio, zinc, cadmio, cromo, plomo, mercurio y arsénico: método de espectroscopía de absorción y/o emisión atómica, posterior a una mineralización total (AOAC, 1995 b).

### 5.3.1. Determinación de grasas

La extracción de sustancias grasas de las muestras se llevó a cabo por calentamiento continuo a reflujo con solventes como el éter etílico o éter de petróleo. Así por medio de la volatilización y condensación del éter sobre la muestra se produce un lavado continuo logrando extraer todo el material soluble en él. Para esta determinación se utilizaron 5 g de muestra seca y éter etílico anhidro como solvente, basándose en el procedimiento Soxhlet 920.39 AOAC (1999). El periodo de extracción fue de 4 horas. Se determinó el porcentaje de grasas con la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Grasa} = \frac{P_1 - P_2}{m} \times 100 \quad \text{Ec. 5}$$

Donde:

P1 = peso del matraz después de la extracción (g)

P2 = peso del matraz antes de la extracción (g)

m = peso de la muestra (g)

### 5.3.2. Determinación de proteínas

El método empleado fue el 46.10 de la AACC (2001) por medio del método Kjeldahl. La muestra de 0.2 g, con 0.7 g de sulfato de potasio y 0.1 g de sulfato de cobre se sometió a una digestión con 20 mL de ácido sulfúrico concentrado en un digestor Kjeldahl 80 ESEVE, esta reacción convirtió el nitrógeno orgánico e inorgánico en nitrógeno amoniacal. Después de 4 horas de digestión, cuando las muestras tenían un color transparente se sacaron. Se adicionó 60 mL de agua destilada aproximadamente a cada muestra para evitar que el sulfato de cobre precipitara. La destilación se llevó a cabo en un destilador utilizando NaOH al 30 % para liberar el amoniaco. Se destiló la muestra utilizando 50 mL de solución de ácido bórico para recibir el destilado. Posteriormente se tituló con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.13 M. El contenido de proteína se calculó empleando la fórmula siguiente:

$$\% \text{ Proteína} = \frac{V \times N \times PM \times 100 \times f}{1000 \times P_o} \quad \text{Ec. 6}$$

Donde:

V = volumen gastado de ácido

N = normalidad del ácido

PM= peso molecular del nitrógeno (14.007 g/mol)

f = factor de conversión (6.25) (Egan *et al.* 1991)

Po = peso de la muestra

### 6.3.3. Determinación de carbohidratos

Se obtuvo el contenido de estos constituyentes por diferencia de porcentajes de todos los constituyentes con respecto al cien por ciento.

$$\% \text{ CHT} = 100 - \sum A \quad \text{Ec. 7}$$

donde:

CHT= Carbohidratos totales

$\sum A$  = Suma de los porcentajes obtenidos de humedad, cenizas, grasa, proteína y fibra dietética total

Paralelamente algunos autores señalan (Blanco *et al.*, 2000) la posibilidad de estimar de forma aproximada el contenido de almidones totales a partir del siguiente cálculo de:

$$\% \text{ Almidones totales} = \% \text{ CHT} - \% \text{ ART} \quad \text{Ec. 8}$$

Donde:

CHT= Carbohidratos totales

ART= Azúcares reductores totales

### 5.3.4. Determinación de azúcares

Se utilizó la técnica de azúcares de reducción (método de Schoorl), reconocida y aprobada actualmente por la AAFCO bajo el método 80-68 (AAFCO, 1996). El método de Schoorl mide la cantidad de azúcares de reducción totales (ART) basado en el principio de reacción con el reactivo Fehling A y B, siguiendo el procedimiento descrito, y se procede a los cálculos a partir de la expresión:

$$\%ART = \frac{250.100.98.mg \text{ ART}}{200.Va.1000.P} \quad \text{Ec. 9}$$

Donde:

200 = mL para la ejecución del análisis

250 = mL de aforo

Va = Volumen de alícuota para la valoración en mL

mg ART = mg de azúcares reductores totales encontrados por tabla

P = Peso de muestra en gramos

1000 = conversión de gramos a miligramos

### 5.3.5. Determinación de fibras totales

La determinación de fibra se realizó con las muestras desengrasadas. La determinación se llevó a cabo bajo las condiciones del método 962.09 AOAC (1995 b). Con este método se determinó como fibra dietética total, la pérdida de peso por incineración que experimentó el residuo seco remanente después de la digestión de la muestra en un equipo de digestión, con soluciones de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1.25% y NaOH al 1.25%. La fórmula utilizada para obtener el porcentaje de fibra fue la siguiente:

$$\% \text{ Fibra} = \frac{P_1 - P_2}{m} \times 100 \quad \text{Ec. 10}$$

Donde:

P1 = peso del crisol con residuo después del secado (g)

P2 = peso del crisol con residuo después del calcinado (g)

m = peso de la muestra (g)

### **5.3.6. Determinación del contenido de metales**

Los elementos a determinar fueron: calcio, potasio, sodio, magnesio, zinc, aluminio, cadmio, cromo, plomo, mercurio y arsénico. Primero se realizó una digestión de 0.5 g de muestra seca con 10 mL de ácido nítrico en un horno de microondas, con control de temperatura a 200°C y 300 Psi de presión, calentando durante 10 minutos. La materia orgánica es degradada por oxidación quedando finalmente una matriz de ácido nítrico. Posteriormente el ácido nítrico que disolvió todos los metales al atacar la muestra con él a alta temperatura y presión, así todos los metales pasan a la disolución. Las determinaciones de elementos metálicos se realizó por espectroscopía de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP) en un equipo de la Perkin Elmer modelo Óptima 3000XL.

### **5.4. Análisis y distribución del tamaño de partículas**

Se analizó además, la distribución y tamaño de partículas de almidones contenidos en las cinco especies de semillas mediante una separación, previa molienda y suspensión en agua fría y posterior centrifugación a 3600 rpm; los sólidos sedimentados (almidones no solubles en agua fría) se resuspendieron en agua desionizada y se llevaron a un equipo analizador de tamaño de partículas por difracción de rayos láser LS 13-320 de la Beckman Coulter (Prieto *et al.*, 2005).

### **5.5. Análisis por microscopía electrónica de barrido**

Se evaluó la morfología de las partículas mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), en un equipo de la firma Jeol, modelo JSM-6300. Las muestras de semillas fueron cortadas en dirección perpendicular a su plano y en dirección transversal, en tres réplicas por cada especie (Pérez, 2005); fracciones del endospermo extraído a una parte de ellas fueron llevadas a polvo en morteros de ágata, suspendidas en alcohol y

separadas por centrifugación. Tanto los cortes de semillas como las fracciones en polvo, fueron colocadas en portamuestra y recubiertas previamente con oro en un equipo de metalización por evaporación marca DESK II. El recubrimiento se realizó bajo vacío de 20 mTorr y corriente de 20 mA por espacio de 1 minuto. Se trabajó la MEB a 2.5 kV y a iguales distancias de trabajo y 2000X aumentos.

#### **5.6. Acondicionamiento de los biosorbentes. Determinación del tiempo de contacto y la cinética de adsorción.**

Para el acondicionamiento de los polvos de semillas de cada especie se procedió a obtenerlos en calidad de polvos con tamaños de partículas entre 50-100 micras a través de tamizados en mallas de la marca Tyller y molidos en micromolino de laboratorio. Se sometieron a proceso de activación y para ello fueron sumergidos en una disolución ácida de HCl 1.00 M, con agitación a 100 rpm y a temperatura ambiente durante 1 hora.

Se filtraron a vacío y se lavaron con agua destilada sobre el propio filtro, se secaron a temperatura ambiente, inicialmente al aire y posteriormente en desecadoras con silica gel. Después se pulverizaron los grumos formados y se reservan para pruebas de biosorción.

Para determinar el tiempo de contacto se realizó la prueba de cinética de sorción, colocando una fracción de los polvos de las semillas de cada variante de *Opuntias* previamente activadas, en soluciones conteniendo concentraciones iguales de los iones  $Mn^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  a niveles de  $1.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  a pH 4, 6 y 8 (pH de las aguas residuales) a 25 °C. Es decir, se colocaron 10 mL de la solución con el analito en un tubo de ensaye, adicionándose 0.10 g del material adsorbente (relación 100:1) y se mezcló la solución con el adsorbato y el adsorbente a 50 rpm a diferentes tiempos (1, 2, 5, 15, 24, 48, 72, 96 horas) y se cuantificó la concentración de  $Mn^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  remanentes en las aguas mediante análisis químico espectroscópico. Las lecturas se realizaron en un



espectrofotómetro de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP) Perkin Elmer modelo Óptima 3000XL.

### 5.7. Proceso de eliminación de iones $Mn^{2+}$ y $Cd^{2+}$ por bioadsorción

Para evaluar la eficiencia de la eliminación de los iones  $Mn^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  en las columnas empacadas con los polvos de semillas de *Opuntias* activadas, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de eficiencia} = 100 - \left[ \frac{[Me^{n+}]_F}{[Me^{n+}]_I} \right] \cdot 100$$

Donde:

$[Me^{n+}]_F$ : es la concentración de catión metálico final remanente después del proceso de depuración.

$[Me^{n+}]_I$ : es la concentración inicial de cationes presente en la muestra contaminada.

Una vez obtenidas las condiciones experimentales óptimas para la eliminación de iones  $Mn^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  de las soluciones acuosas, para la cuantificación se llevó a cabo el monitoreo de los metales pesados retenidos en las biomasas según el tratamiento aplicado en los materiales adsorbentes y de los experimentos confirmatorios.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Resultados de los análisis físicos

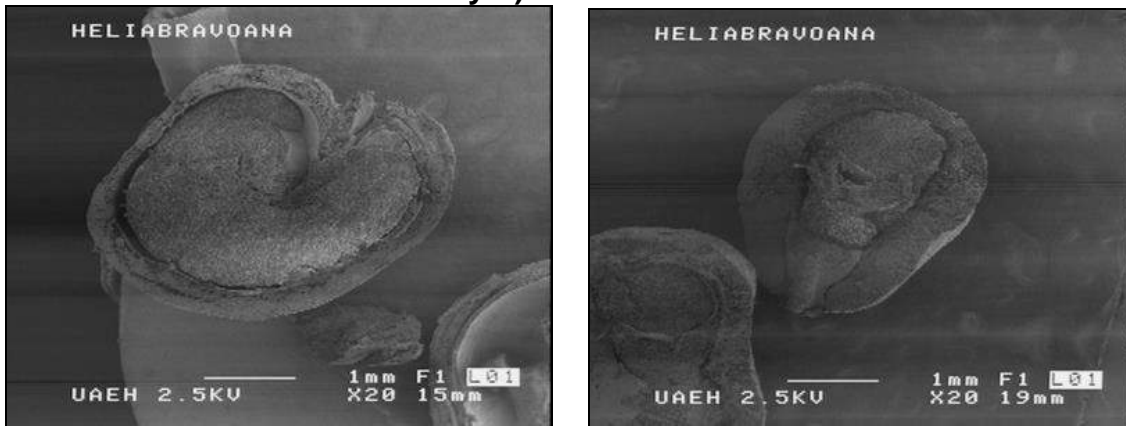
Los primeros resultados de los análisis físicos se obtuvieron por observación visual al microscopio al evaluar las semillas de cada especie de *Opuntias*, secas y limpias (figura 6.1), en un corte longitudinal y un corte transversal. Así se obtuvo un criterio de evaluación del tamaño de las semillas, espesor de sus pericarpios y el endospermo.



**Figura 6.1. Fotografía de las semilla de *Opuntias*.**

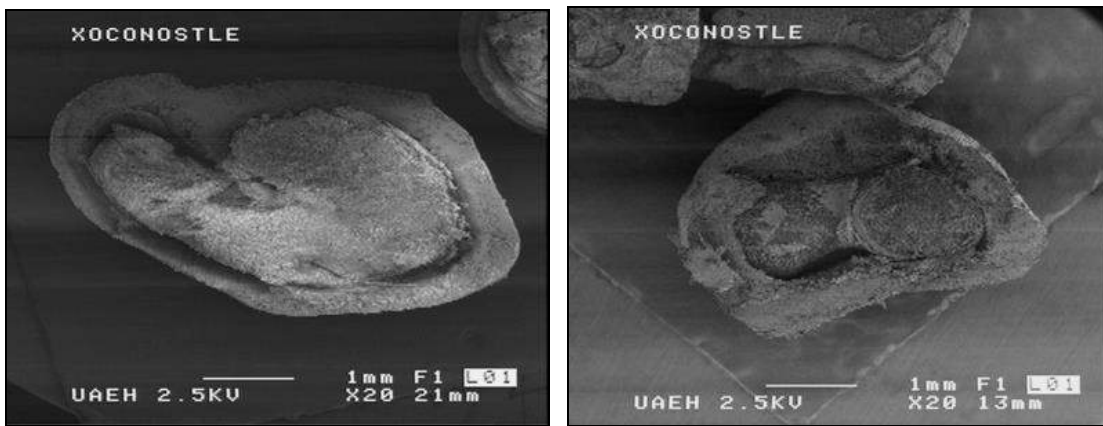
En las figuras 6.2 a la 6.6 se pueden apreciar las microfotografías obtenidas, de las diferentes especies en estudio.

Figura 6.2. Microfotografía de la semilla de *O. heliabravoana* a) Corte longitudinal y b) Corte transversal



a)

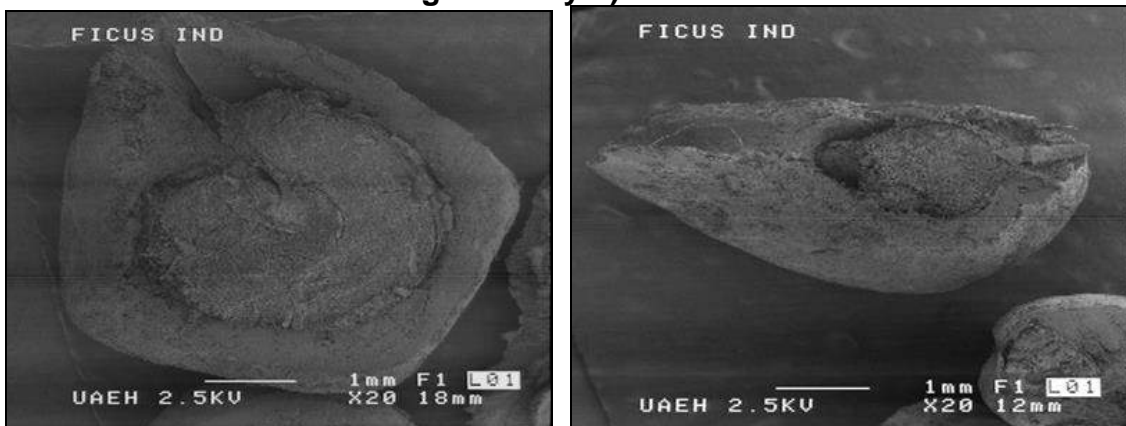
b)



a)

b)

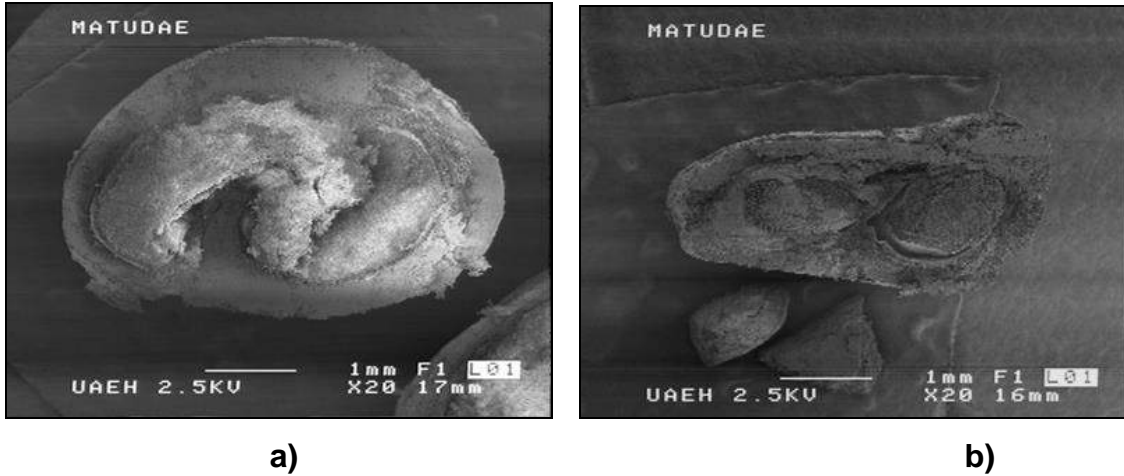
Figura 6.3. Microfotografía de la semilla de *O. joconostle* F.A.C. Weber. a) Corte longitudinal y b) Corte transversal



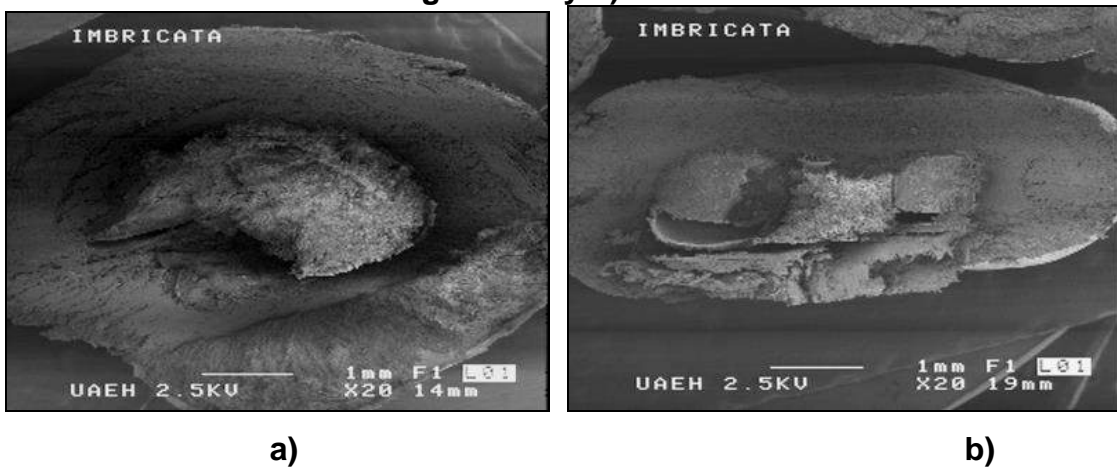
a)

b)

Figura 6.4. Microfotografía de la semilla de *O. ficus*. a) Corte longitudinal y b) Corte transversal



**Figura 6.5 Microfotografía de la semilla de *O. matudae* Scheinvar. a) Corte longitudinal y b) Corte transversal**



**Figura 6.6. Microfotografía de la semilla de *C. imbricata*. a) Corte longitudinal y b) Corte transversal**

Como se aprecia en cuanto a las dimensiones y tamaño en el corte longitudinal, la semilla más grande es la de la especie *C. imbricata*, seguidas en orden decreciente por las especies *O. ficus-indica*, *O. joconoxtle*, *O. matudae* y *O. helabravoana*. Por su parte, el espesor del pericarpio (cáscara) es más grueso en la especie *C. imbricata*, seguido en orden igualmente decreciente de las especies *O. ficus-indica*, *O. matudae*, *O. joconoxtle* y *O. helabravoana*. Se puede notar que al mismo tiempo, el pericarpio más rugoso y de apariencia más fibroso corresponde también al de la especie *C. imbricata*. Esto puede ser indicativo de ser una semilla relativamente blanda. En cuanto a la observación de los endospermos, se puede hacer notar que esta especie presenta poco volumen y no muy compacto, lo cual indicaría poco peso específico.

Desde el punto de vista físico son diferentes en sus formas, sobre todo si se observan los cortes longitudinales (figuras 6.2 a - 6.6. a). Esto puede ser una contribución a los métodos de clasificación taxonómica de las especies.

Por su parte la especie *O. heliabravoana* siendo la más pequeña muestra un endospermo relativamente voluminoso y compacto lo que deberá representar un elevado peso específico.

### **6.1.1. Densidad, dureza y volumen de semillas**

Los resultados de los análisis de caracterización física se muestran en la tabla 6.1. Podemos apreciar que los mayores valores de densidad por peso hectolitro (DPH) se encuentran en la especie *O. heliabravoana* y se corresponde con los valores de mayor dureza o resistencia a la abrasión, así como el menor volumen de la semilla, en correspondencia con lo observado en las microfotografías.

Esto es indicativo que en efecto, su estructura es más sólida y compacta, lo que sugiere la idea además de que es poco porosa. Por otra parte, la especie *O. joconoxtle* presentó el mayor valor de densidad por peso de mil granos (DPMG) y se corresponde a la menor resistencia a la abrasión y a la menor densidad por índice de flotación (DIF), esto indica que sus semillas son más blandas, más pesadas en sus masas relativas y poco porosas dado el bajo valor de la DIF.

La especie *O. ficus-indica* es la menos pesada (bajos valores de DPH y DPMG), es blanda y aparentemente es de las más porosas de todas las especies estudiadas y una de las de mayor volumen relativo.

**Tabla 6.1. Evaluación de parámetros físicos de los granos o semillas de las cinco especies de *Opuntias* en estudio. Desviación estándar de las mediciones y % de Coeficiente de variabilidad.**

<b>Especie</b>	<b>DPH (kg/HL)</b>	<b>DPMG (g/1000)</b>	<b>DIF</b>	<b>DzaA</b>	<b>Vol (mm<sup>3</sup>)</b>
<b><i>O. heliabravoana</i></b>					
<b>Media</b>	65.29	17.03	14.80	15.93	12.13
<b>Desv. Est.</b>	8.48	0.25	1.88	1.24	1.08
<b>% CV</b>	1.30	1.48	12.72	10.83	8.89
<b><i>O. joconoxtle</i></b>					
<b>Media</b>	64.22	29.19	16.80	7.42	19.16
<b>Desv. Est.</b>	9.09	1.33	0.99	1.02	0.99
<b>% CV</b>	1.42	4.55	14.61	13.71	5.14
<b><i>O. ficus-indica</i></b>					
<b>Media</b>	54.97	13.43	23.21	7.59	28.70
<b>Desv. Est.</b>	1.33	0.05	2.02	0.40	3.26
<b>% CV</b>	4.77	6.89	8.71	5.31	11.36
<b><i>O. matudae</i></b>					
<b>Media</b>	64.05	25.446	18.20	15.46	17.90
<b>Desv. Est.</b>	12.302	0.237	6.40	4.76	1.90
<b>% CV</b>	1.92	0.93	8.48	9.85	10.66
<b><i>C. imbricata</i></b>					
<b>Media</b>	55.51	25.478	49.60	11.64	31.20
<b>Desv. Est.</b>	5.597	1.321	4.63	2.75	4.50
<b>% CV</b>	1.01	3.72	9.34	13.65	14.39

DPH: Densidad Peso Hectolitro (kg/HL)

DPMG: Densidad peso mil granos (g/1000 granos)

DIF: Densidad por índice de flotación (% granos flotantes)

DzaA: Dureza por abrasión (% peso perdido por abrasión)

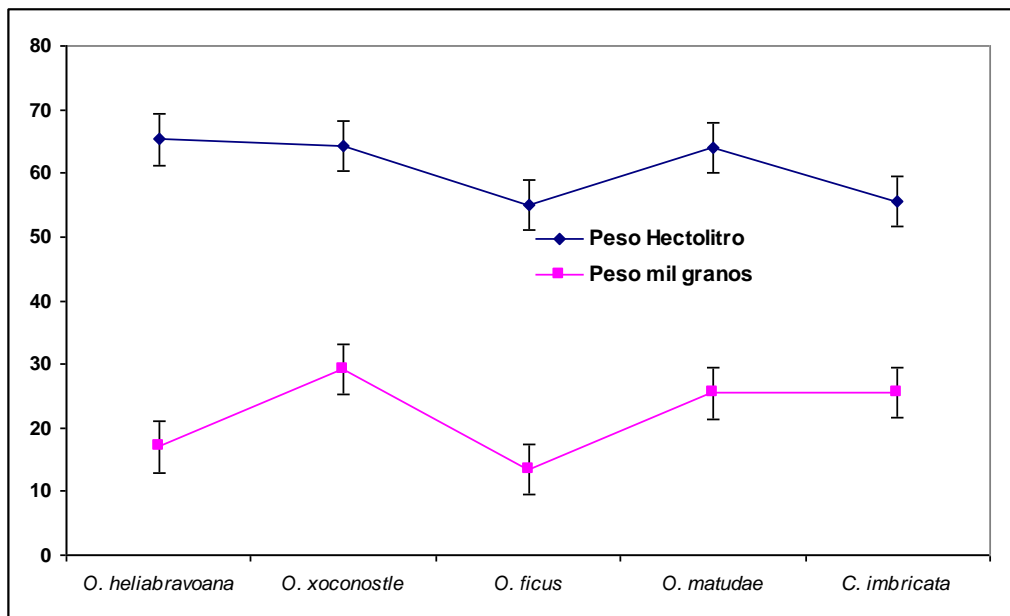
Vol: Volumen del grano (mm<sup>3</sup>)

Con relación a la DPH se puede señalar que las especies estudiadas *O. heliabravoana*, *O. joconoxtle* y *O. matudae* resultaron similares, con valores superiores a 64.0 kg/HL en tanto las especies *O. ficus-indica* y *C. imbricata* presentaron valores de 55.0 kg/HL aproximadamente. En México no existe una norma que establezca un valor relativo para estos parámetros en estas semillas, pero si se compara con lo establecido por la NMX-FF-043-SCFI-2003 para los granos de cebada de seis hileras y que es de 56 kg/HL, se puede inferir por simple analogía que se encuentran dentro de los rangos admisibles.

En cuanto a DPMG las especies *O. joconoxtle*, *O. imbricata* y *O. matudae* presentaron valores a 25-30 g/1000 granos y las dos restantes, con valores menores de 15-20 g/1000 granos. El peso mil granos en la cebada suele variar de 20-50 g según criterios de algunos autores (Tscheuschner, 2001); en general para muchos granos y semillas estos son valores normales, en este caso los valores de DPMG encontrados en las especies de las semillas en estudio resultan ligeramente más bajos.

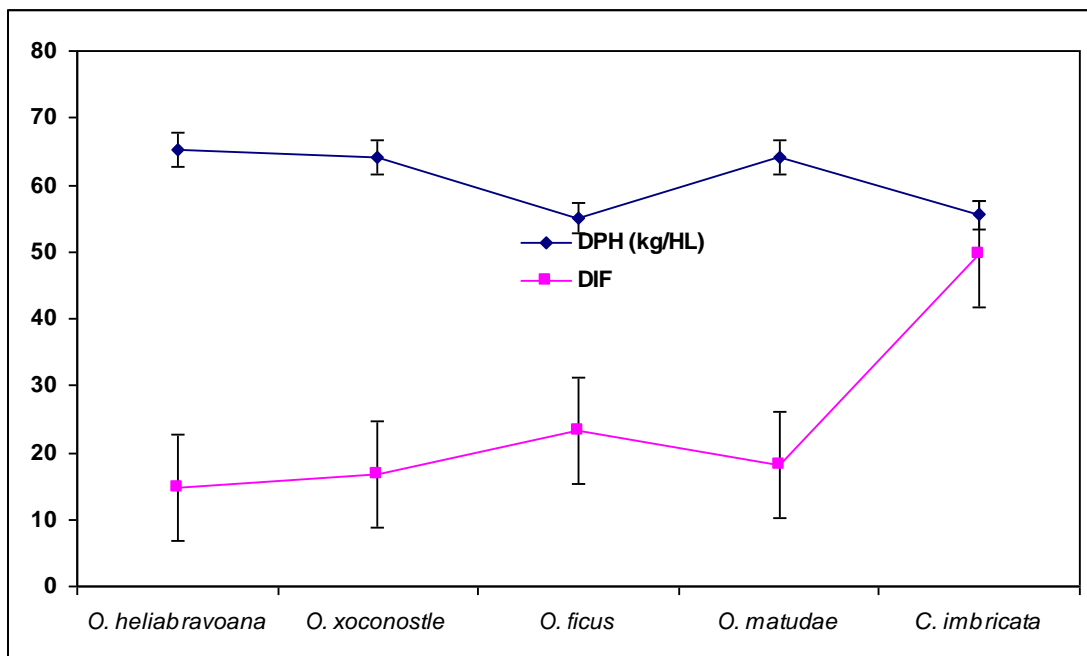
Un valor menor del índice de flotación (DIF) indica que en el endospermo de las semillas existen menos poros de aire o huecos, lo cual las hace mas compactas y sólidas y esto, ayuda a disminuir el número de granos flotantes (Sharp, 1997). Este es el caso de la especie *O. heliabravoana*.

Una gráfica comparativa de los valores de DPH y DPMG se indica en la figura 6.7.a, en la que se puede apreciar la relación o correspondencia antes mencionada.



**Figura 6.7. a) Gráfica comparativa de los valores de densidad de las especies de semillas medidas por DPH vs DPMG.**

Así mismo se muestra la relación entre DPH y DIF (figura 6.7.b).



**Figura 6.7. b) Gráfica comparativa de los valores de densidad de las especies de semillas medidas por DPH vs DIF**

## 6.2. Resultados del análisis proximal

El análisis proximal o sistema analítico Weende se emplea en todo el mundo para hacer descripciones de los alimentos y conocer sus componentes químicos mayoritarios (Matissek *et al*, 1998). En este trabajo se utiliza este sistema sobre la base de que es importante saber la composición de macro nutrientes de las semillas de *Opuntias*, que permitan alcanzar un posible uso o aplicación en alimentos.

### 6.2.1. Resultados de humedad, cenizas, grasas, fibra bruta, proteína y carbohidratos.

Los resultados del análisis proximal, se muestran en la tabla 6.2. Los resultados de carbohidratos totales (% CHT) fueron obtenidos por diferencia a partir de la ecuación 7 (Pere, 1999; Blanco *et al.*, 2000). Paralelamente algunos autores (Blanco *et al.*, 2000)



señalan la posibilidad de estimar de forma aproximada los contenidos en los porcentajes de almidones totales a partir del cálculo de la ecuación 8 (ver metodología).

Las cinco especies presentan niveles similares en humedad (entre 1.92-4.09%) y contenido de cenizas (entre 0.92-1.03%), este último parámetro asociado a los niveles de metales que pueden contener. Las especies estudiadas, al tener un contenido de humedad muy bajos, implican que pueden ser menos propensas a deteriorarse.

La pequeña variación observada en los contenidos de cenizas (relativamente bajos), como material inorgánico, entre las especies de semillas puede estar influenciada por la composición del suelo en el cual fueron cultivadas cada una de ellas, los fertilizantes utilizados y otros factores ambientales (Dendy *et* Dobraszcyk, 2004; Serna, 2001).

Así mismo, los contenidos en fibra bruta total y carbohidratos (CH) las hacen similares (entre 2.56-3.52% y 72.62-82.25%, respectivamente). Las cinco especies presentan significativos porcentajes en grasas, destacándose por los más altos valores la especie *O. joconoxtle* ; esto puede ser indicativo de que por altos contenidos en CH y grasas pudieran servir para elaborar algún complemento alimenticio, siempre y cuando se evalúen los tipos de grasas y no afecten. Por sus bajos contenidos proteicos no serían interesantes como alimento, a menos de que sean enriquecidos.

**Tabla 6.2. Resultados de los análisis proximales expresados en porcentaje (%). Entre paréntesis se muestran los resultados de la desviación estándar.**

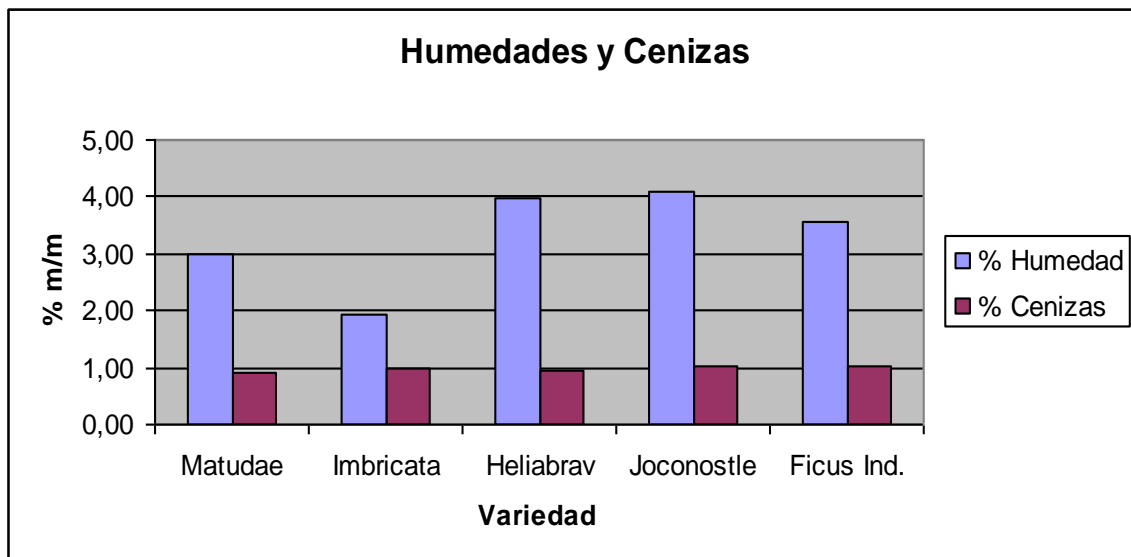
Cultivo	Humedad	Cenizas	Grasa	F. bruta total	Proteínas	CHOS
<i>O. matudae</i>	3.01 (0.52)	0.92 (0.07)	10.39 (0.33)	3.47 (0.13)	1.69 (0.11)	79.51 (0.37)
<i>C. imbricata</i>	1.92 (0.14)	0.98 (0.10)	10.78 (0.74)	3.52 (0.37)	0.55 (0.08)	82.25 (1.06)
<i>O.heliabravoana</i>	3.97 (0.02)	0.95 (0.06)	16.99 (0.57)	3.02 (0.11)	2.10 (0.09)	72.97 (0.80)
<i>O. joconoxtle</i>	4.09 (0.19)	1.03 (0.11)	19.24 (0.45)	2.56 (0.22)	0.64 (0.02)	72.62 (0.76)
<i>O. ficus-indica.</i>	3.55 (0.09)	1.01 (0.08)	17.22 (0.46)	2.66 (0.14)	0.97 (0.01)	74.68 (0.56)

Con respecto a las grasas, algunos autores señalan que los contenidos de lípidos se encuentran presentes principalmente en el germen y la capa de aleurona del grano (Callejo, 2002; Andersson *et al.*, 1999).

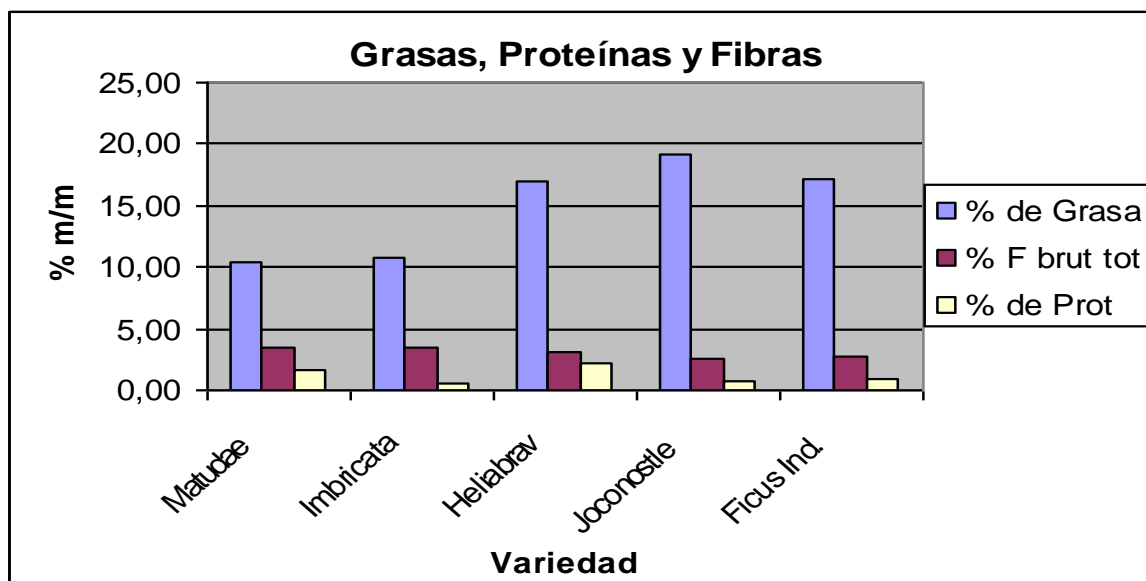
De manera gráfica comparativa se muestran los contenidos de humedad y cenizas, así como los contenidos de grasas, proteínas y fibra bruta total (figura 6.8. a y b, respectivamente).

Los lípidos presentes en las semillas pueden servir como estabilizadores o desestabilizadores de formadores de espumas; cuando los lípidos están unidos a las proteínas tienden a estabilizar y mejorar la espuma, pero cuando se encuentran libres pueden disminuir la espuma (Hough, 1990).

Los contenidos de proteínas en las especies de semillas, varían entre 0.55 y 2.10%, unas 2-6 veces menos que en los granos de cereales; son valores bajos como valor alimentario. Esto es debido a la fuerte interacción entre el genotipo y las condiciones ambientales que prevalecen durante el desarrollo y maduración del fruto y con ello la semilla.



a)



b)

**Figura 6.8. Gráfica comparativa de los valores de: a) humedad y cenizas, b) grasas, proteínas y fibras de las especies de semillas.**

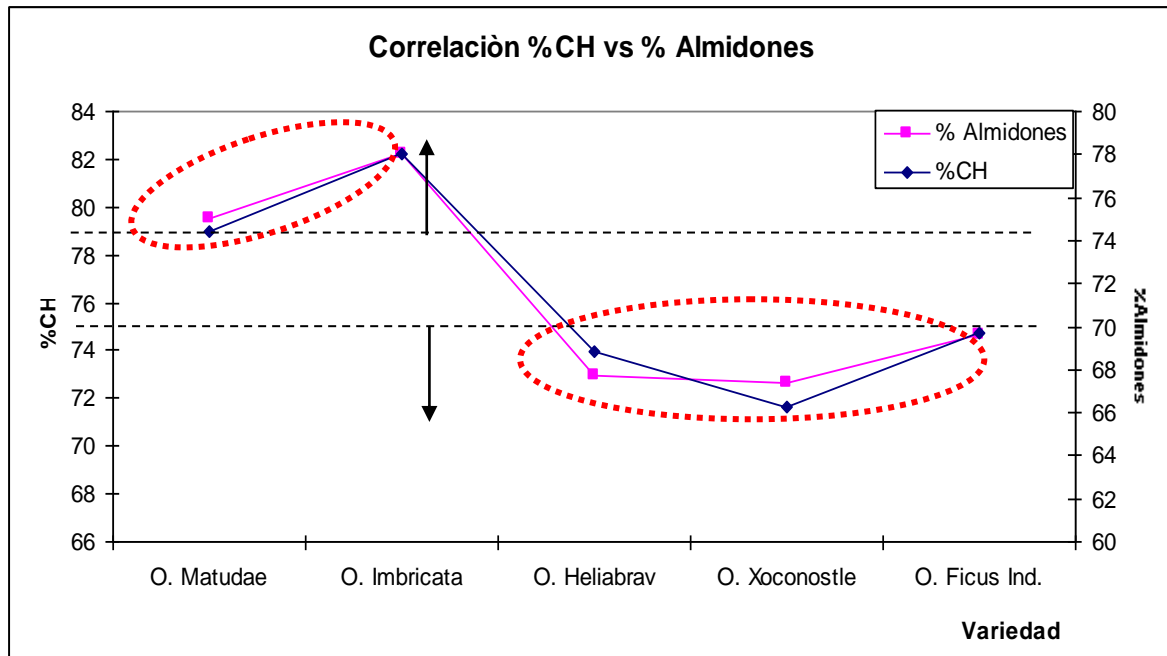
A partir de los carbohidratos totales y por los análisis de azúcares reductores y sacarosa, se estimó los contenidos de almidones (Blanco *et al.*, 2000), utilizando la expresión (2). En la tabla 6.3 se observan los resultados.

**Tabla 6.3. Resultados de los análisis proximales. Azúcares y almidones. Entre paréntesis se muestran los resultados de la desviación estándar**

Cultivo	%CHOS	% Az Red	% Sacarosa	% Almidones
<i>O. matudae</i>	79.51 (0.37)	4.25 (0.04)	0.87 (0.01)	74.39 (0.42)
<i>C. imbricata</i>	82.25 (1.06)	3.52 ((0.10)	0.72 (0.02)	78.01 (1.19)
<i>O. heliabrav</i>	72.97 (0.80)	3.42 (0.01)	0.7 (0.02)	68.85 (0.83)
<i>O. joconostle</i>	72.62 (0.76)	5.3 (0.49)	1.08 (0.07)	66.24 (1.32)
<i>O. ficus-indica</i>	74.68 (0.56)	4.16 (0.13)	0.85 (0.02)	69.67 (0.71)

La estimación de los contenidos de almidones es admisible por cuanto de manera gráfica se puede observar en la figura 6.9. la excelente correlación lineal entre % CHOS y % de almidones.

Por los contenidos en almidones y azúcares podrían señalarse dos agrupaciones como las reflejadas en la figura anterior; las especies con más de 75 % de almidones y de carbohidratos (*O. matudae* y *C. imbricata*) y las especies con contenidos menores de 75% (las restantes).



**Figura 6.9. Correlación de contenidos de CHO'S y almidones en especies de semillas.**

Los más altos valores de azúcares y sacarosa los presentó la especie *O. joconoxtle*, lo cual es concurrente con el hecho de que esta especie se utilice para el consumo fundamentalmente en dulces o elaboración de postres. Son también importantes los contenidos de almidones que se aprecian en las cinco especies.

### 6.2.2. Resultados del análisis de metales

Los resultados de concentraciones totales de metales bioacumulados inicialmente en las semillas de las cinco especies estudiadas se muestran en la tabla 6.4. Con relación a elementos esenciales como el calcio, magnesio y el potasio, se obtuvo los niveles más elevados como suma de éstos, en las especies *O. heliabravoana* y *O. ficus-indica*. En general estos tres elementos constituyen entre el 97.15% y 98.50% del total de

metales encontrados en las semillas de las cinco especies evaluadas; todo ello pudiera ser una evidencia de estos cultivos han sido cosechados en suelos calcáreos (predominio de dolomitas) sobre todo en la especie *O. joconoxtle* en la que se obtuvo más bajo calcio con respecto a las otras dos; sus elevados contenidos de magnesio reflejan suelos dolomíticos (Martínez, 2002).

**Tabla 6.4. Contenidos de metales y elementos tóxicos en las semillas estudiadas.**

Metales	mg/Kg				
	<i>O. matudae</i>	<i>C. imbricata</i>	<i>O. heliabravoana</i>	<i>O. joconoxtle</i>	<i>O. ficus-indica</i>
Al	5.373	7.187	7.317	5.555	2.484
Cd	<0.0026	<0.0026	<0.0026	<0.0026	<0.0026
Ca	362.950	345.840	809.820	251.490	736.44
Cr	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	8,012
Pb	42.290	45.229	70.791	43.996	21.346
Mg	2096.398	1938.458	2159.458	2990.760	1431.201
K	174.696	265.018	283.228	178.556	239.723
Na	3.294	6.057	4.701	3.314	3.627
Zn	<0.0014	15.496	<0.0014	<0.0014	<0.0014
As	0.652	0.864	1.561	1.259	0.608
Hg	<0.0024	<0.0024	<0.0024	<0.0024	<0.0024
<b>Totales</b>	<b>2685.65</b>	<b>2624.15</b>	<b>3336.88</b>	<b>3474.93</b>	<b>2443.44</b>
<b>% Total</b>	<b>0.27</b>	<b>0.26</b>	<b>0.33</b>	<b>0.35</b>	<b>0.24</b>

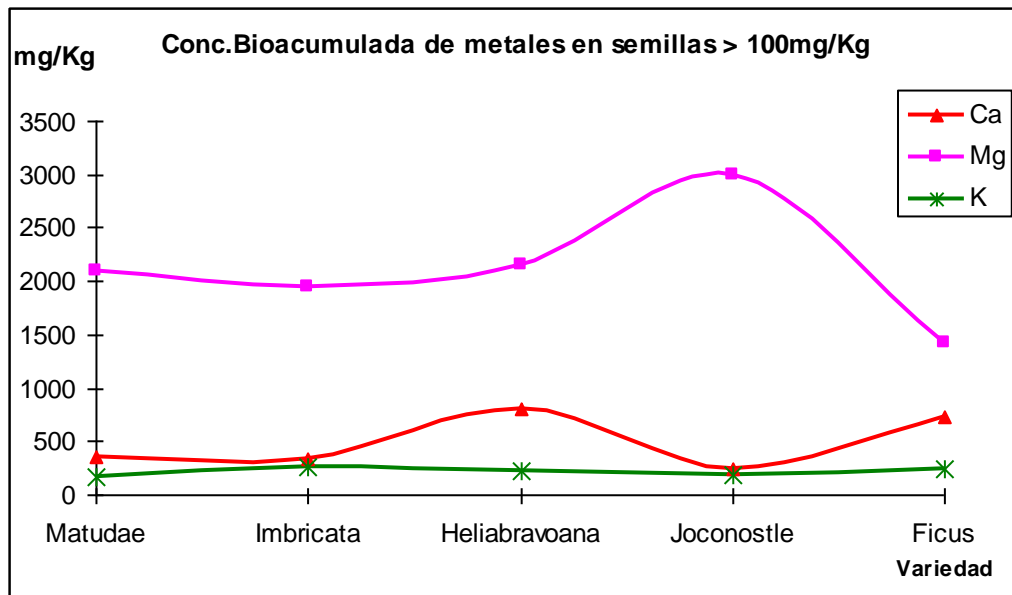
El calcio es un elemento esencial para el crecimiento de meristemas y particularmente para el crecimiento y funcionamiento apropiado de los ápices radicales de las plantas. Tiene la función de impedir daños a la membrana celular, evitando el escape de sustancias intracelulares, cumpliendo un papel estructural al mantener la integridad de la membrana (Heppler *et* Wayne, 1985).

El magnesio por otra parte, es absorbido y traslocado en la planta como ión divalente; forma parte del sistema enzimático y activa funciones metabólicas. Es constituyente estructural de las proteínas, sin embargo en este estudio, podría decirse que por los bajos índices de proteínas encontrados en las especies de semillas evaluadas, no debe estar el magnesio necesariamente vinculado a la estructuración de las mismas, sino tal

vez su principal función esté ligada a la evolución de oxígeno en la fotosíntesis (Salisbury *et* Ross, 1992).

Los tipos de suelo donde fueron cultivados estas *Opuntias*, con seguridad, tienen mayores cantidades de dolomita como fuente de calcio y magnesio que los suelos francamente arenosos en los cuales se suelen cultivar por requerir menores niveles de regadío (Bornemisza, 1982).

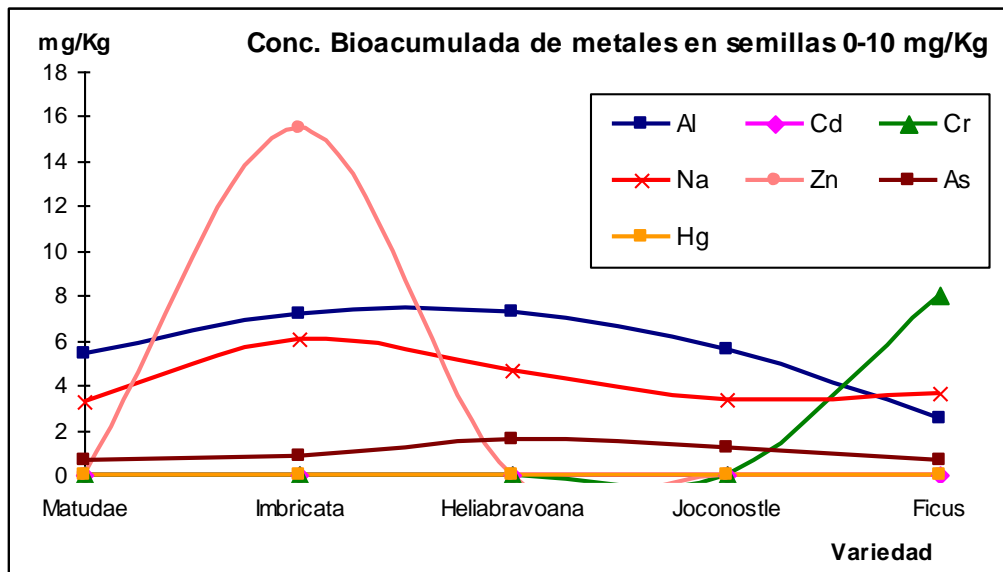
En una gráfica a escala se observa la concentración de los elementos esenciales y mayoritarios (figura 6.10). Destacan los máximos contenidos en magnesio en las semillas de la especie *O. joconostle* en contra posición con los mínimos valores de calcio. Por su parte las semillas de la especie *O. heliabravoana* presentan los máximos contenidos en calcio y ocupa el segundo lugar en contenidos de magnesio.



**Figura 6.10 Gráfica de bioacumulación de metales esenciales en las especies de semillas.**

Por los contenidos de oligoelementos como el aluminio y el sodio (figura 6.11) se debe destacar que en todas las especies están presentes notándose que resulta ligeramente más elevado el Al que el Na, con la excepción de la especie *O. ficus-indica* donde el Na

resultó relativamente más elevado que el Al. Por su parte el zinc, no fue detectado en ninguna muestra, lo que puede indicar un déficit de este elemento en estos suelos (Peterson *et al.*, 1980; Martínez, 2002), con la excepción de la especie *C. imbricata* donde su contenido es elevado lo que puede asociarse a la aplicación de algún tipo de fertilizante en esos suelos. Los contenidos de Al y Na son comparables con los valores de suelos calcáreos con presencia de arcillas (Richard, 1973).



**Figura 6.11. Gráfica de bioacumulación de oligoelementos y metales tóxicos en las especies de semillas.**

El sodio estimula el crecimiento a través del alargamiento celular y puede sustituir al potasio como un soluto osmóticamente activo. El potasio es uno de los elementos esenciales en la nutrición de la planta y uno de los tres que se encuentra en pequeñas cantidades en los suelos, limitando el rendimiento de los cultivos. Altas concentraciones de potasio se requieren para la conformación activa de muchas enzimas que participan en el metabolismo. Concentraciones abundantes de potasio son necesarias para neutralizar los aniones solubles y macromoleculares del citoplasma, que tiene pocos cationes orgánicos. De ésta forma contribuye en gran medida con el potencial osmótico (Larcher, 1995). Es por esta razón que el potasio se encuentra en mayor concentración

que el resto de los minerales considerados como oligoelementos en las semillas evaluadas.

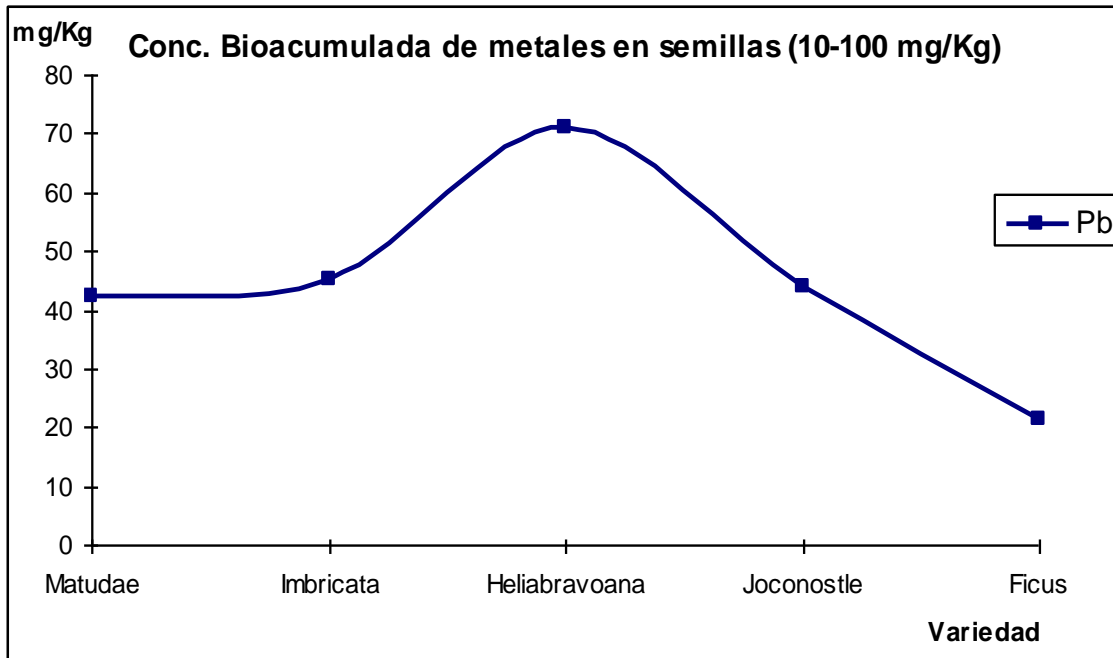
Por otra parte, es importante señalar que las plantas pueden acumular elementos traza que son tóxicos, sin embargo, su capacidad de acumulación es limitada, por lo que se consideran como los reservorios intermedios a través de los cuales estos elementos son transferidos desde sus fuentes primarias a otros organismos (Pérez *et al*, 2004).

Se puede observar la ausencia de elementos tóxicos tales como cadmio y mercurio (figura 6.11); con referencia al cromo sólo se observó presencia en la especie *O. ficus-indica* en valores por debajo de los permitidos en granos de semillas (por ejemplo para cereales como el trigo o el sorgo) que tienen alguna función comestible (Serna, 2001).

Con respecto a los contenidos de arsénico debe señalarse que a pesar que en México no existe una normatividad que especifique contenidos permisibles de este elemento en productos con alguna función alimentaria o simplemente en granos o semillas de frutos, puede hacerse referencia a una normatividad Argentina que establece que un grano se considera contaminado con arsénico si sus contenidos rebasan 0.2 mg/kg en base seca (Kabata *et* Pendias, 2000; O'Neill, 1990). Con base a esta norma puede señalarse que en todos los casos los contenidos de As en las semillas de las diferentes especies, exceden a esta norma en 3 a 7 veces; esto podría ser una invalidante para que a partir de estas semillas pueda elaborarse algún producto alimenticio con valor agregado (Galvao *et* Corey, 1989).

Sin embargo, los contenidos observados en plomo si se consideran elevados por lo cual es de esperar que en otras partes del fruto (pulpa y corteza) que son consumibles y forman parte de la dieta tradicional mexicana, sean aún más significativos y peligrosos (figura 6.12). Las normas mexicanas (NMX-FF-043-SCFI-2003) y la Comisión del Codex Alimentarius fijan como límite máximo 0.05 mg/100g de plomo en general para alimentos (FAO/OMS, 2001) y el límite máximo que marca la Unión Europea en granos de cereales es de 0.02 mg/100 g (<http://www.mcx.es/plaguicidas/metalpesaUE.asp>).

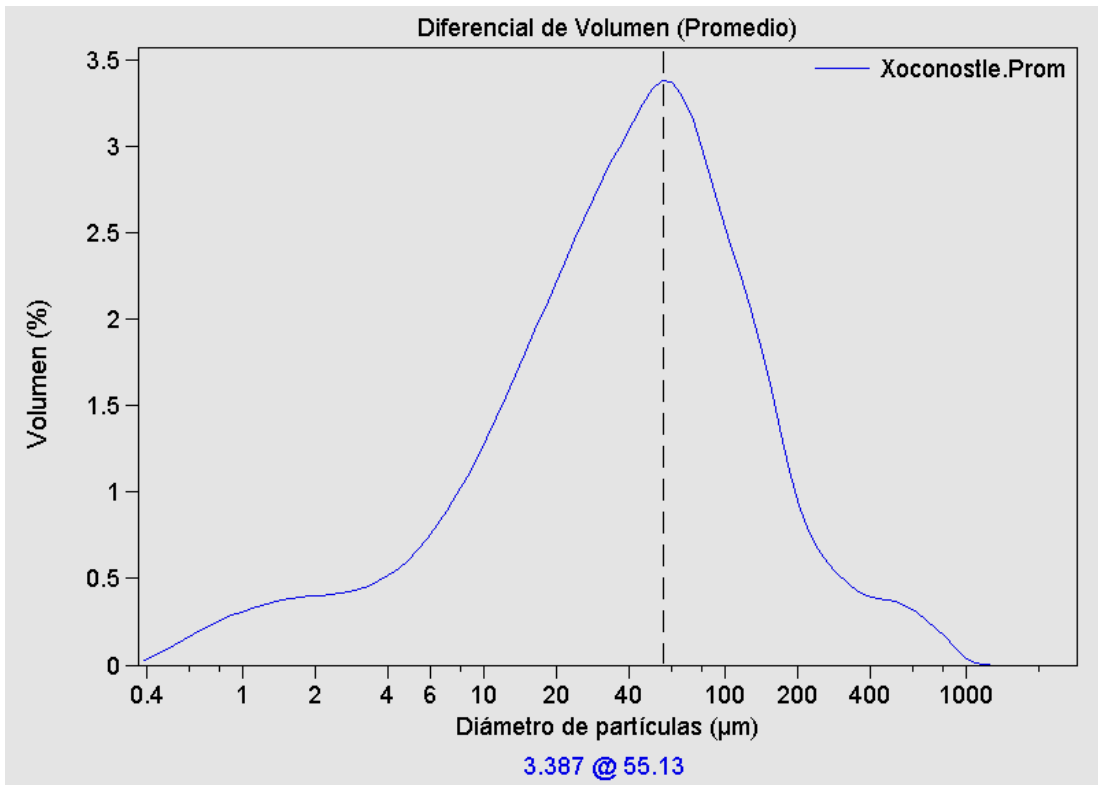




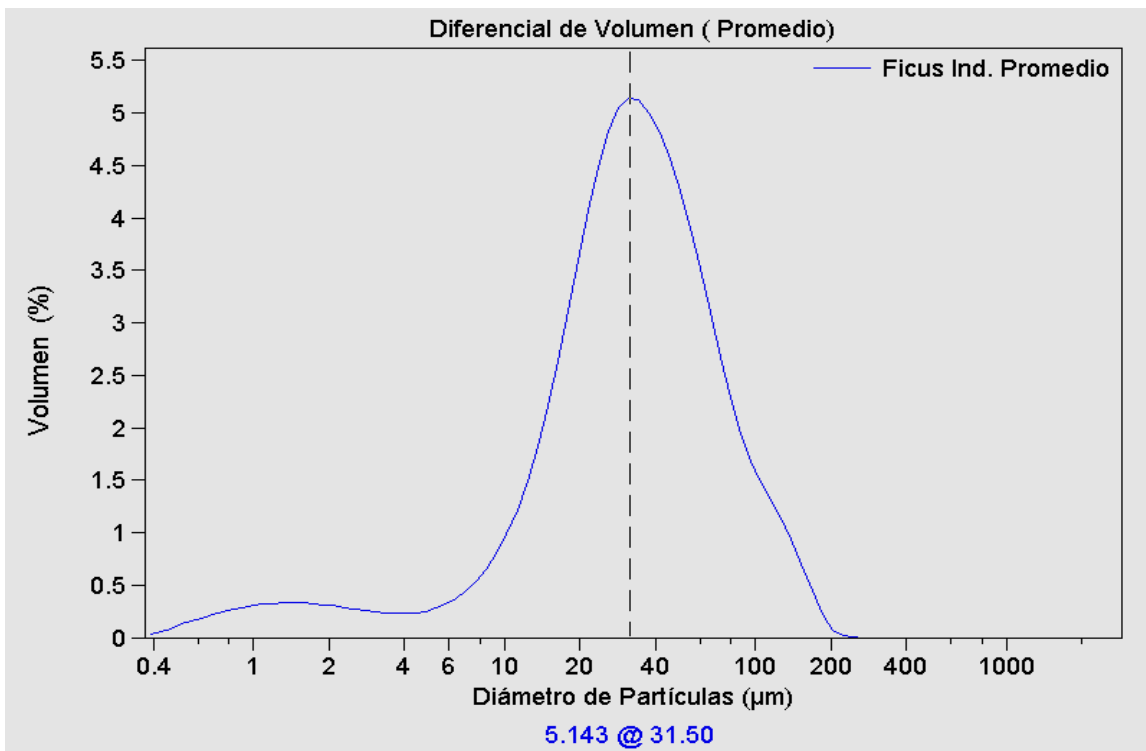
**Figura 6.12. Gráfica de bioacumulación de plomo en las especies de semillas.**

### 6.3. Análisis de tamaño de partículas.

De los resultados del análisis de tamaño y distribución de partículas se puede observar en las figuras 6.13 a, b, c, d y e, que resaltan por sus tamaños promedios y que varían entre 23.81 y 55.13  $\mu\text{m}$ . En este sentido se observa que la especie *O. joconostle* es la de mayores tamaños y la *O. heliabravoana* la de diámetros más pequeños, sin embargo ambas presentan una gran variabilidad en distribución de tamaños en comparación con la especie *O. ficus-indica* o la especie *O. imbricata* (ver también tabla 6.5).

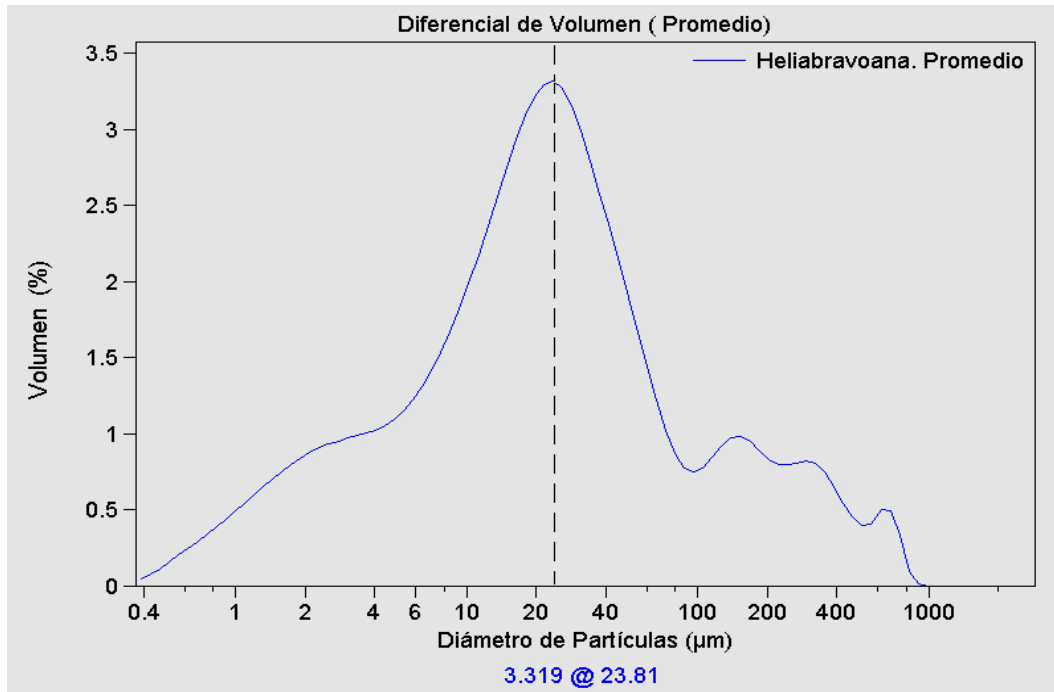


a)

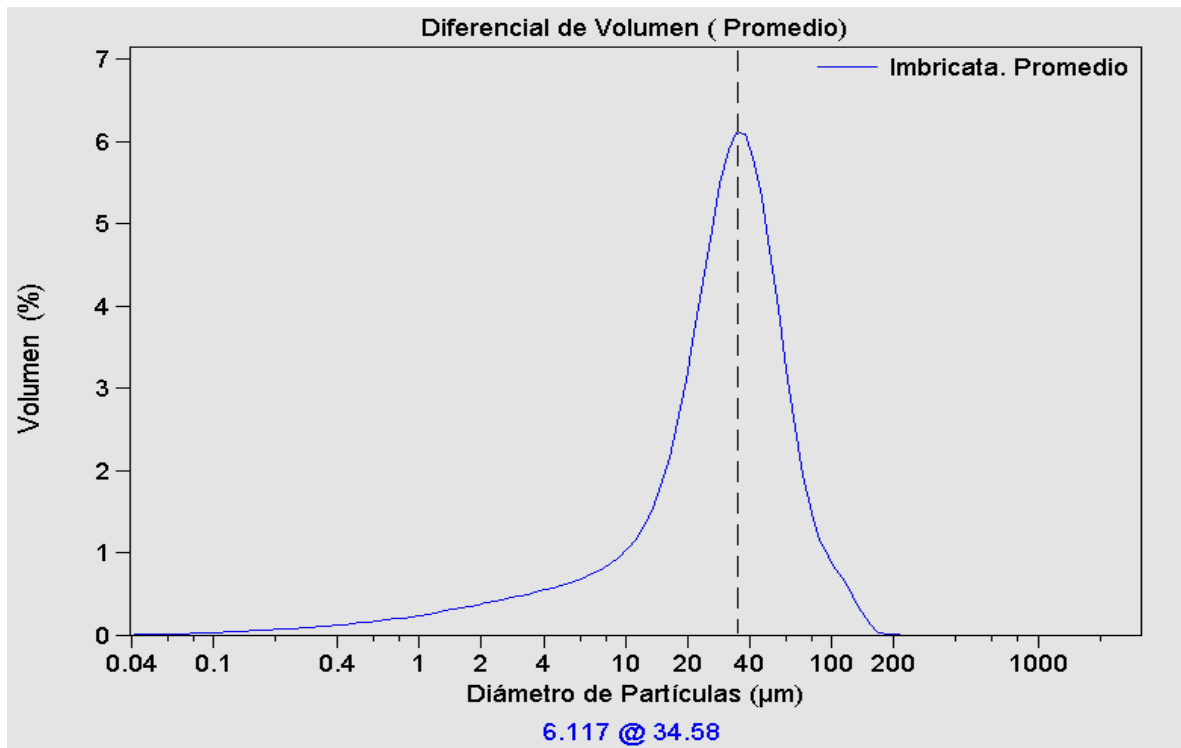


b)

Figura 6.13. Distribución y tamaños de partículas. a) *O. joconostle*, b) *O. ficus-indica*.

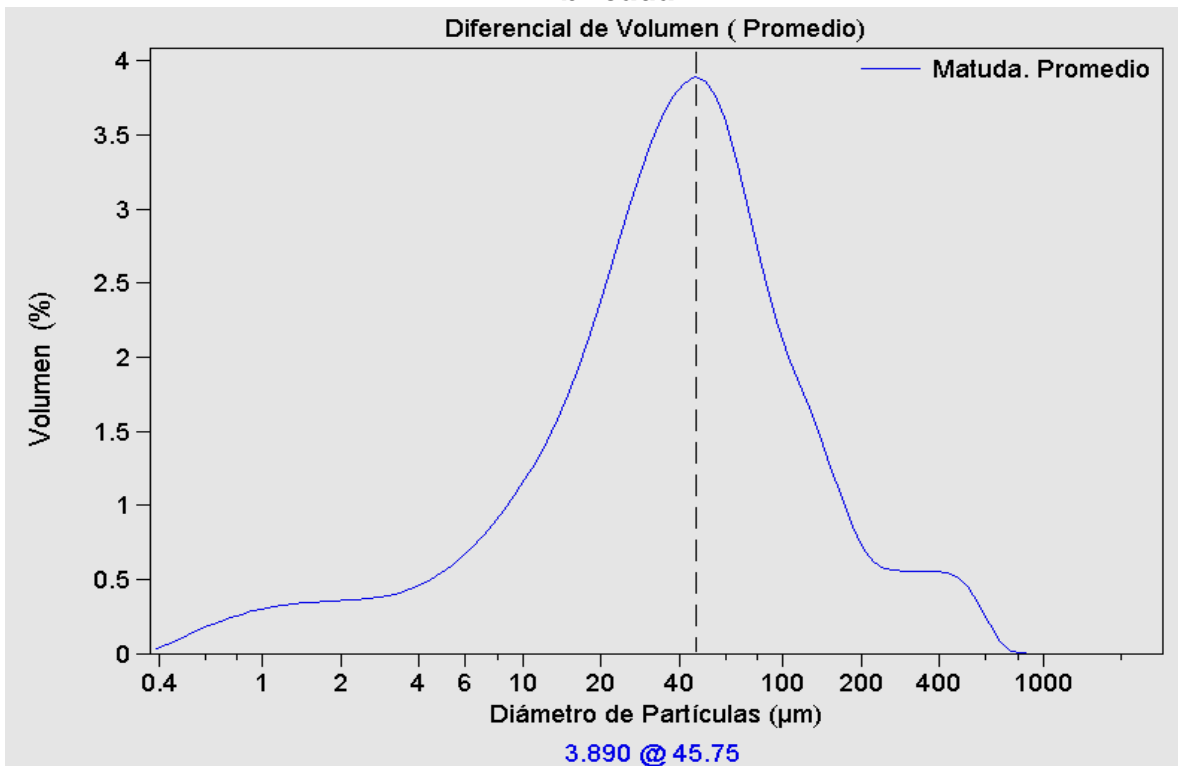


c).



d)

Figura 6.13. Distribución y tamaños de partículas. c) *O. heliabravoana*, d) *O. imbricata*



e)

Figura 6.13. Distribución y tamaños de partículas., e) *O. matudae*.

Tabla 6.5. Distribución y tamaños de partículas promedios.

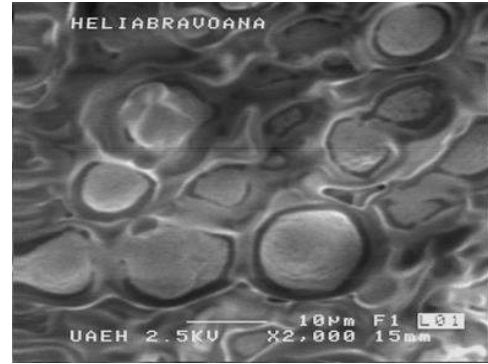
Tamaños de Partículas				
Cultivo	Tam Part (µm)	%<0.452 (µm)	Desde (µm)	Hasta (µm)
<i>O. heliabravoana</i>	23.810	0.540	0.102	863.900
<i>O. xoconostle</i>	55.130	0.086	0.412	1143.000
<i>O ficus-indica</i>	31.500	0.092	0.410	234.000
<i>O. matudae</i>	45.750	0.435	0.422	872.500
<i>C. imbricata</i>	34.580	0.099	0.166	189.500

#### 6.4. Análisis por Microscopía Electrónica de Barrido.

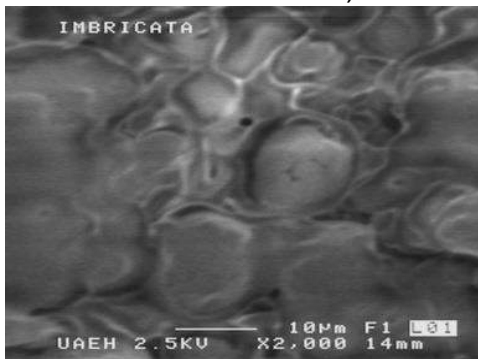
La morfología de las partículas que se muestran en la figura 6.14 a, b, c, d y e, corresponde a las partículas observadas al microscopio en los cortes longitudinales en las semillas de las especies *O. heliabravoana*, *C. imbricata*, *O. joconoxtle* y *O. matudae* respectivamente.



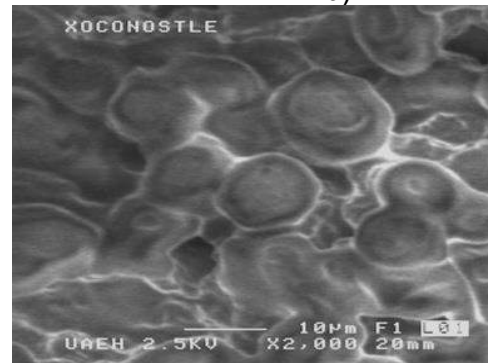
a)



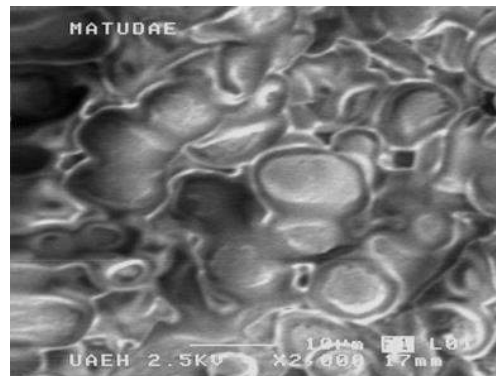
b)



c)



d)

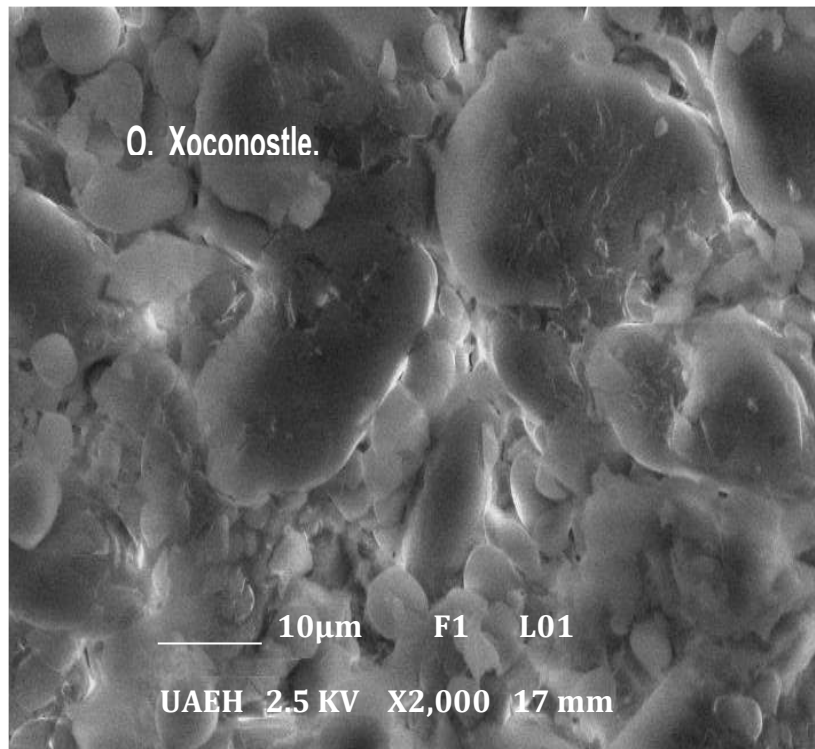


e)

**Figura 6.14. Morfología del endospermo de las semillas de Opuntias. a) *O. ficus-indica*, b) *O. heliabravoana*, c) *C. imbricata*, d) *O. joconoxtle* y e) *O. matudae*.**

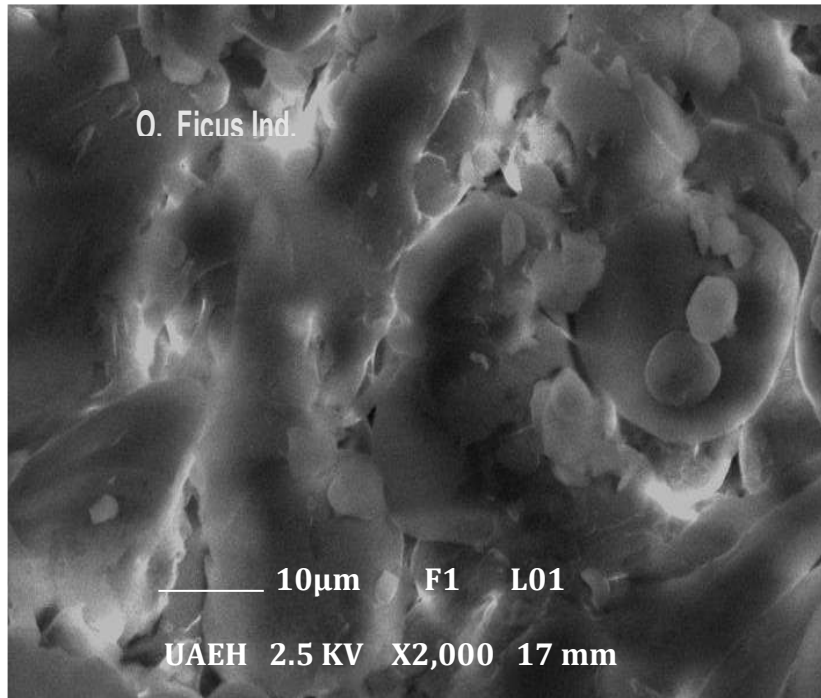
Se puede observar la presencia de gránulos de almidón formando agregados o agrupaciones y todas ellas se asemejan entre sí de alguna manera y que sólo en el caso de la especie de *O. ficus-indica* se puede notar alguna diferencia del resto de las especies.

Al realizar las extracciones de los almidones de cada una de las especies en evaluación, con agua fría y posterior separación por centrifugación y resuspensión de los almidones en alcohol etílico, se lograron separar de los materiales fibrosos. Los sólidos así separados fueron los analizados en distribución y tamaño de partículas y posteriormente por MEB. En la figura 6.15 a, b, c, d y e, se hacen notar que los tamaños de las partículas encontrados anteriormente (analyzer de distribución y tamaños), son similares a los que señalan las microfotografías.

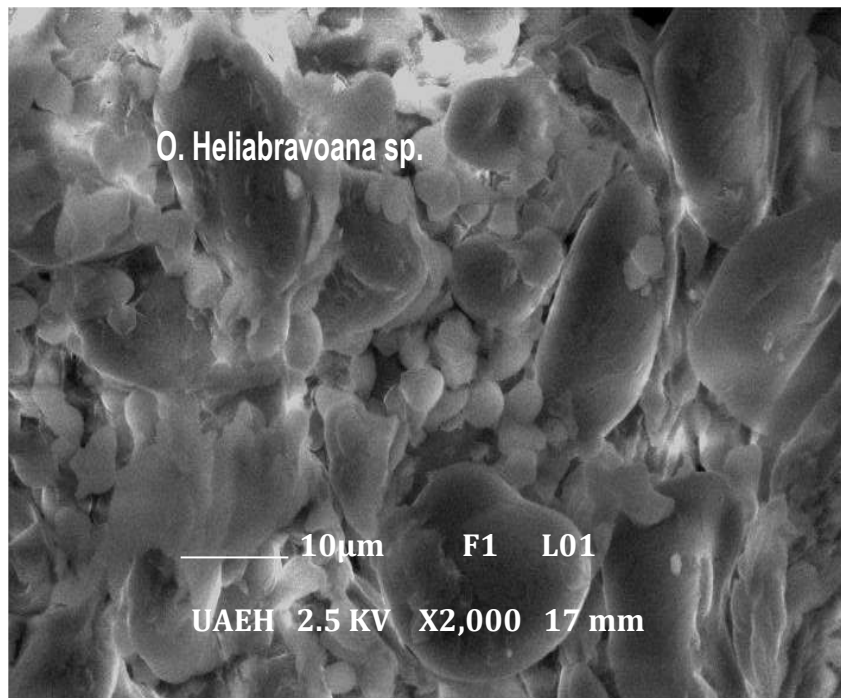


a)

**Figura 6.15. Microfotografía que muestra la morfología de los gránulos de almidón contenidos en el endospermo de las semillas en estudio. a) *O. joconostle***

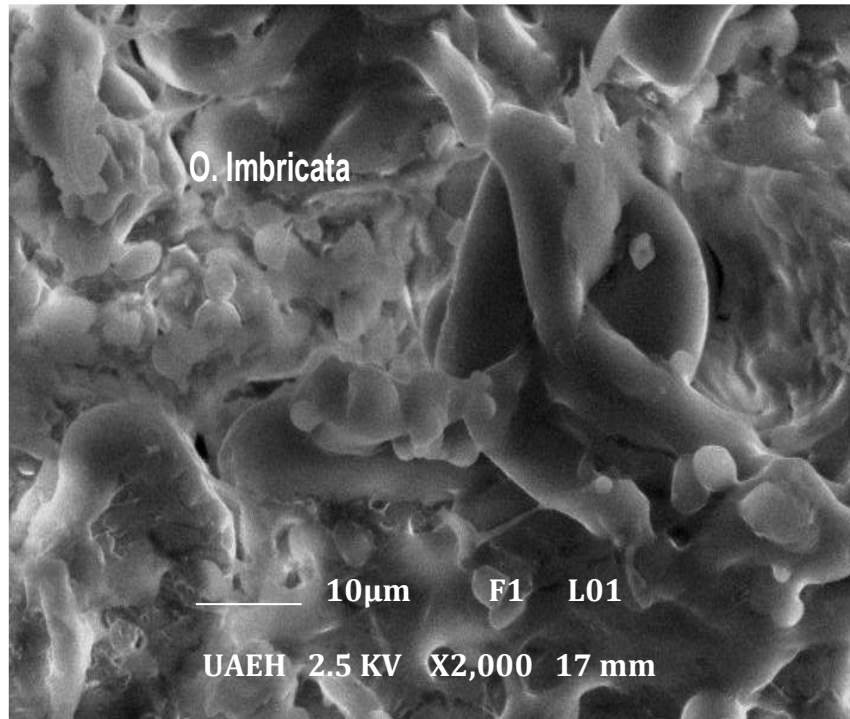


b)

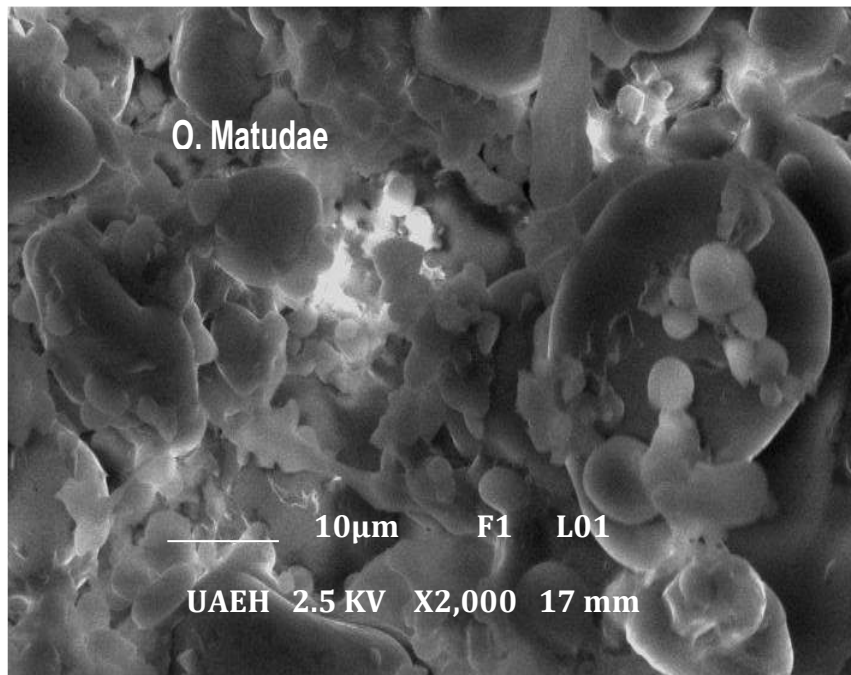


c)

**Figura 6.15. Microfotografía que muestra la morfología de los gránulos de almidón contenidos en el endospermo de las semillas en estudio. b) *O. ficus-indica*, c) *O. heliabravoana***



d)



e)

**Figura 6.15. Microfotografía que muestra la morfología de los gránulos de almidón contenidos en el endospermo de las semillas en estudio. d) *C. imbricata*, e) *O. matudae*.**



Se aprecia en las microfotografías que existen dos tipos de poblaciones de gránulos: pequeños y grandes. Se puede observar claramente las estructuras filamentosas, presentes en las tres especies, las cuales están asociadas a presencia de fibras que se arrastran en la extracción.

### 6.5. Proceso de bioadsorción de Mn y Cd.

A partir de las semillas de las especies de *Opuntias* molidas y activadas en HCL como se indicó en el apartado 6.6, se realizaron los ensayos de bioadsorción. Para ello, primero se determinó el tiempo de contacto. En la figura 6.16 a y b, se observan las curvas de calibrado correspondientes para Cadmio y Manganese con las cuales se determinaron las concentraciones en las disoluciones. En la figura 6.17 a y b se puede observar que para los tres valores de pH el tiempo de contacto óptimo es de 18 horas tanto para el Cadmio como para el Manganese y es a pH 4 donde se produce la máxima adsorción, disminuyendo la concentración de la solución de respectivos iones.

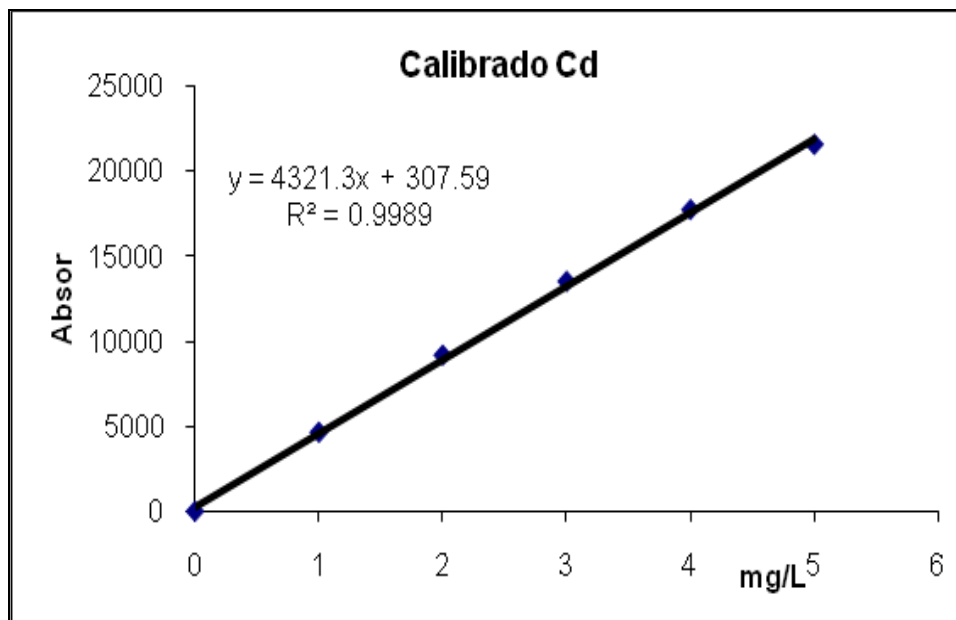


Figura 6.16. A) Curva de calibrado para el Cadmio

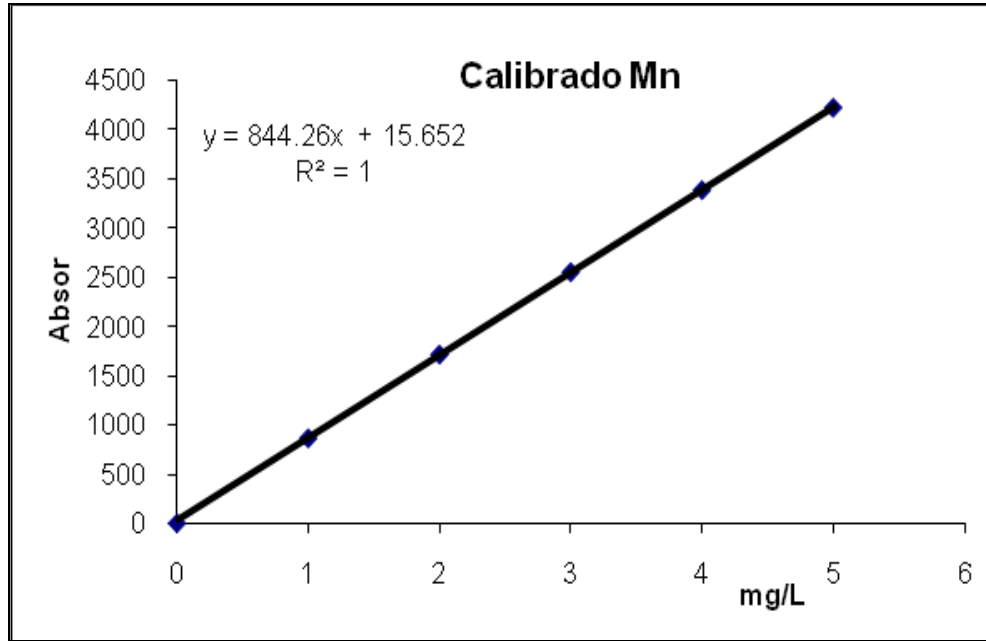


Figura 6.16. B) Curva de calibrado para el Manganeseo

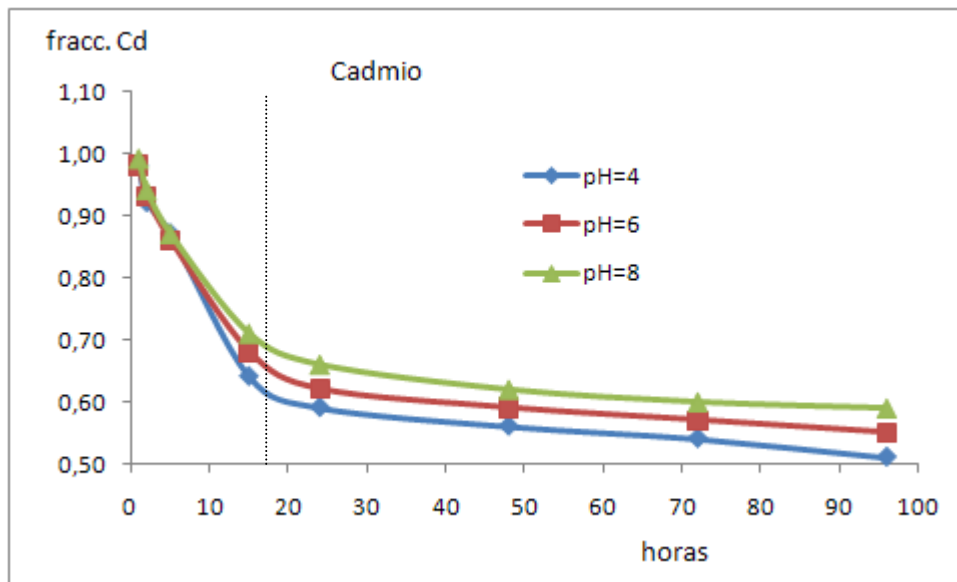
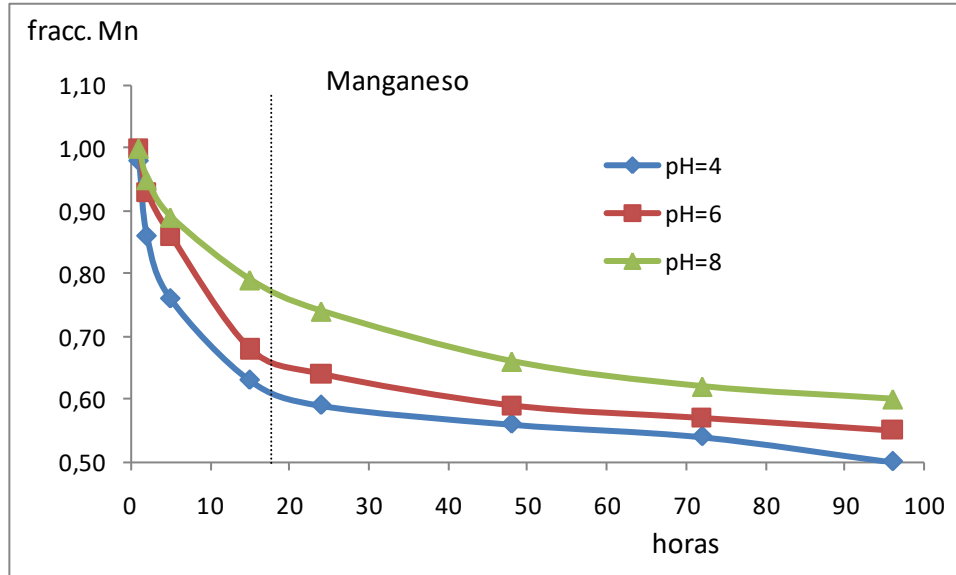


Figura 6.17. Cinética de adsorción para determinar tiempo de contacto. A) Cadmio



**Figura 6.17. Cinética de adsorción para determinar tiempo de contacto. B) Manganeseo**

Para evaluar la eficiencia de la eliminación de los iones  $Mn^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  en las columnas empacadas con los polvos de semillas de *Opuntias* activadas, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de eficiencia} = 100 - \left[ \frac{[Me^{n+}]_F}{[Me^{n+}]_I} \right] \cdot 100$$

Donde:

$[Me^{n+}]_F$ : es la concentración de catión metálico final remanente después del proceso de depuración.

$[Me^{n+}]_I$ : es la concentración inicial de cationes presente en la muestra contaminada.

En la figura 6.18 se muestra el montaje de las columnas.

Los resultados encontrados se observan en las figuras 6.19 y 6.20 para manganeso y cadmio respectivamente. En esta parte del trabajo no se evaluó la especie *O. joconoxtle* por cuanto no se dispuso de suficiente material. Partiendo de disoluciones conteniendo  $Mn^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  a concentraciones iniciales de 0.50 mg/L, se alcanzaron para el

manganeso eficiencias entre 86.3% y 92.8% (figura 7.19). La máxima eficiencia la presentó la especie *O. ficus-indica*, superando el 80% de eficiencia a partir de la segunda fracción de aguas contaminada que pasa por la columna empacada. Se entiende por fracción de agua pasada por la columna al paso de 100 mL de disolución conteniendo los iones a través del empaque de 25 mL de las semillas en polvo del empaque.



**Figura 6.18. Columnas empacadas con semillas de las especies de *Opuntias* en estudio.**

Se alcanzó el máximo luego de seis fracciones, a partir de ahí comenzó a disminuir la eficiencia indicando la saturación en términos de bioadsorción de  $Mn^{2+}$  (figura 6.19). Las restantes especies demoraron entre 3 y 4 fracciones para alcanzar el 80% de eficiencia pero además, como la especie *O. heliabravoana*, alcanza el 86 % de eficiencia en la 4 fracción e inmediatamente cae su eficiencia. Para el cadmio por su parte (figura 6.20), se pudo apreciar en primera instancia eficiencias entre 51.8% y 66.3%, mucho más bajas que para el manganeso, lo cual es indicativo de la menor afinidad por parte de

estas especies de *Opuntias* hacia este elemento. En este caso fueron las especies *O. matudae* y *C. imbricata* las que mejores resultados mostraron.

Para todos los casos se evaluaron hasta 9 fracciones de disoluciones, es decir hasta 900 ml pasados a través de las columnas empacadas. Los valores mostrados corresponden a los promedios de tres réplicas.

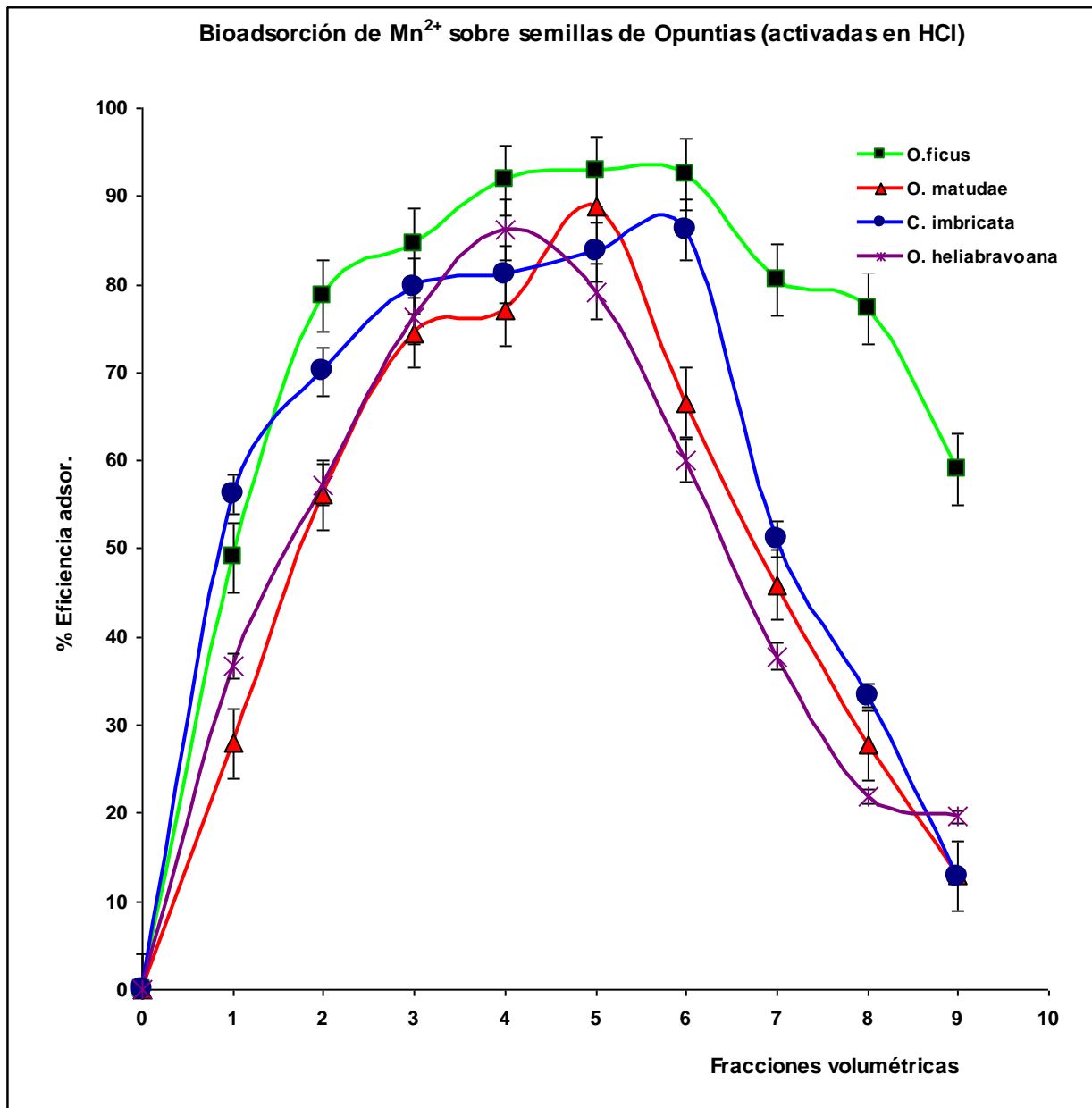


Figura 6.19. Porcentajes de eficiencia de eliminación de Manganeso en el medio acuoso por especies de *Opuntias* (activadas en medio ácido) estudiadas.

Comparando los niveles de  $Mn^{2+}$  y  $Cd^{2+}$  se hace notar que todas las especies retienen mucho más  $Mn^{2+}$  que  $Cd^{2+}$ , desde 358.5 mg/kg hasta 401.0 mg/kg y desde 267.7 mg/kg hasta 371.9 mg/kg, respectivamente. Es la especie *O. heliabravoana* la que menos retiene de ambos metales. En la figura 6.21 se observan estas características.

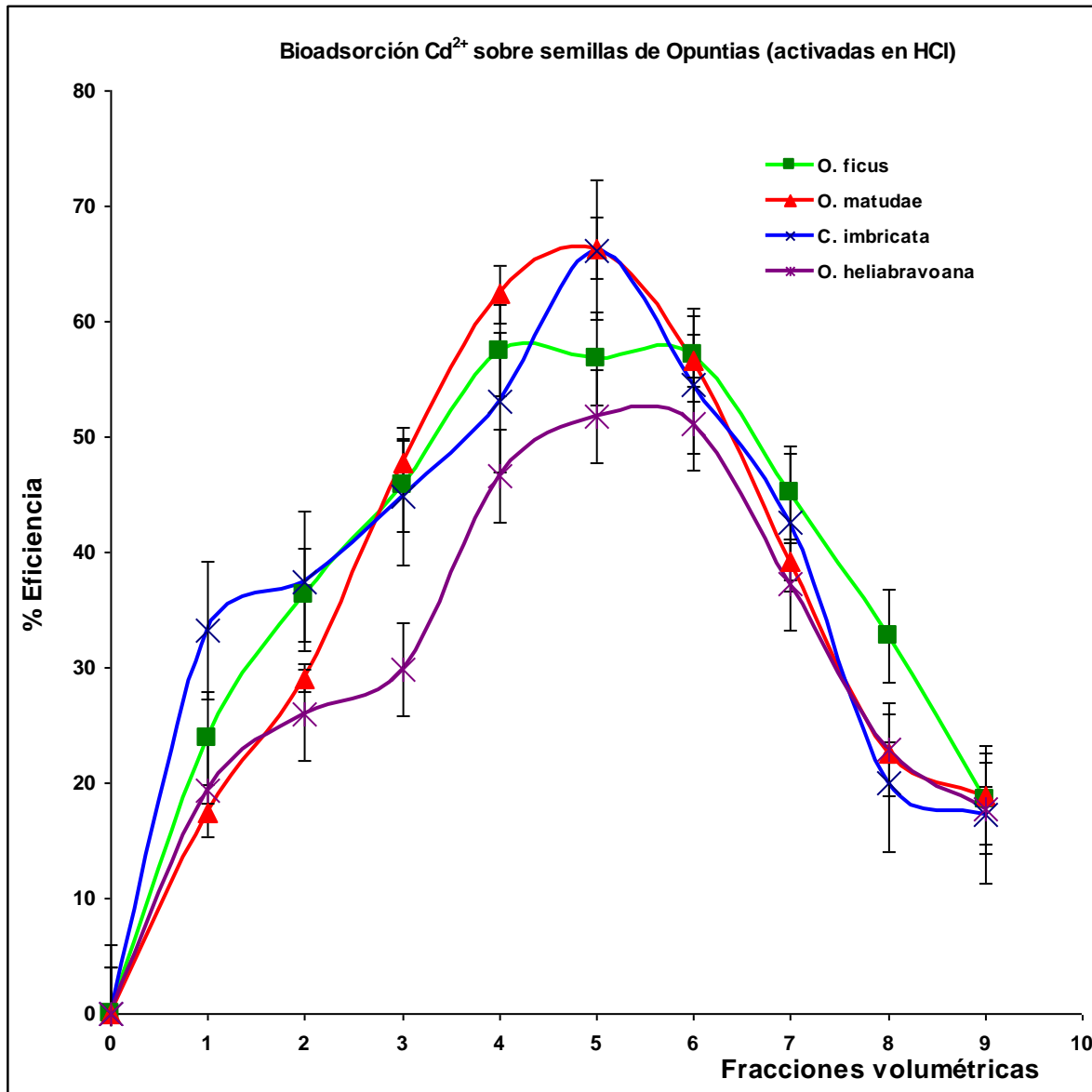


Figura 6.20. Porcentajes de eficiencia de eliminación de Cadmio en el medio acuoso por especies de *Opuntias* (activadas en medio ácido) estudiadas.

Posteriormente se evaluó el proceso de desorción de los metales desde las columnas saturadas. Para ella se les hizo pasar una solución de HCL 0.50 M y las fracciones de salida se evaluaron cada 50 mL de elución. Los resultados finales arrojaron la practicamente imposibilidad de regenerar estas biomاسas, es decir es prácticamente muy difícil poder eluir los metales una vez que han sido adsorbidos. En las figuras 6.22 y 6.23 se muestran los resultados para manganeso y cadmio respectivamente.

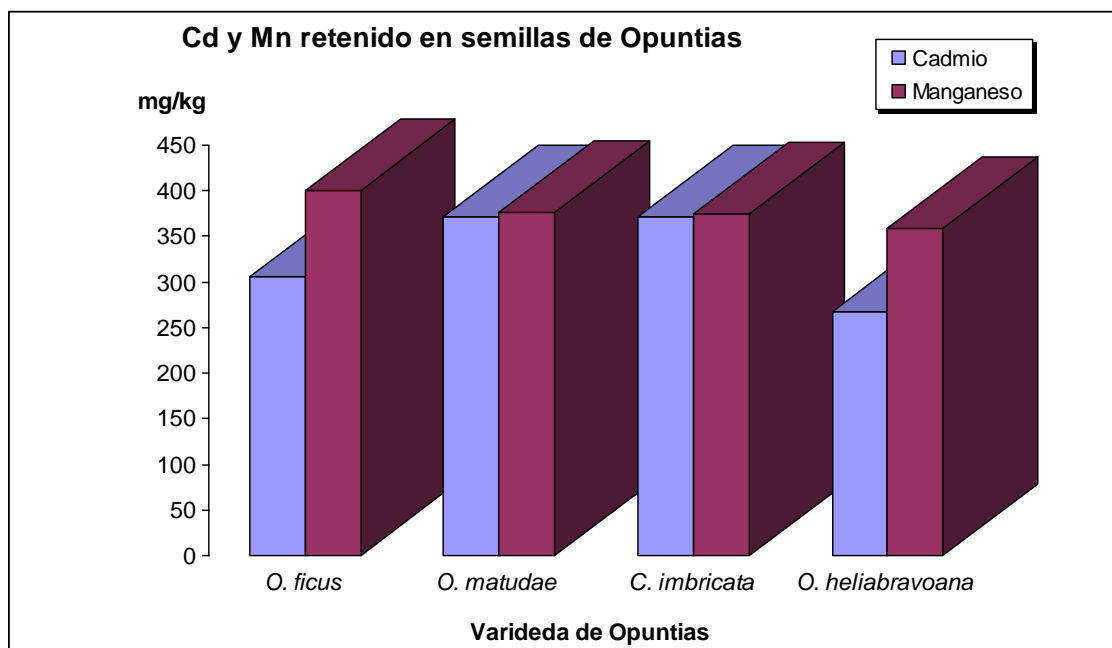


Figura 6.21. Comparación de Cd y Mn retenido por especies de *Opuntias*

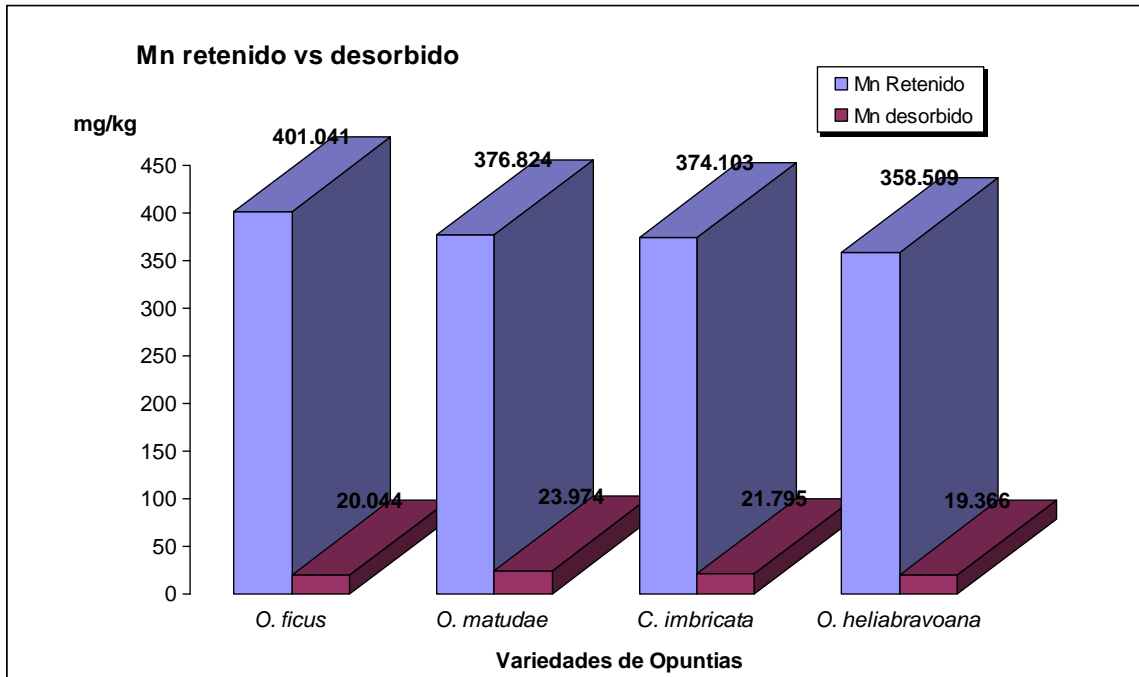


Figura 6.22. Comparación de los procesos de adsorción y desorción sobre especies de *Opuntias* para el Mn en disolución

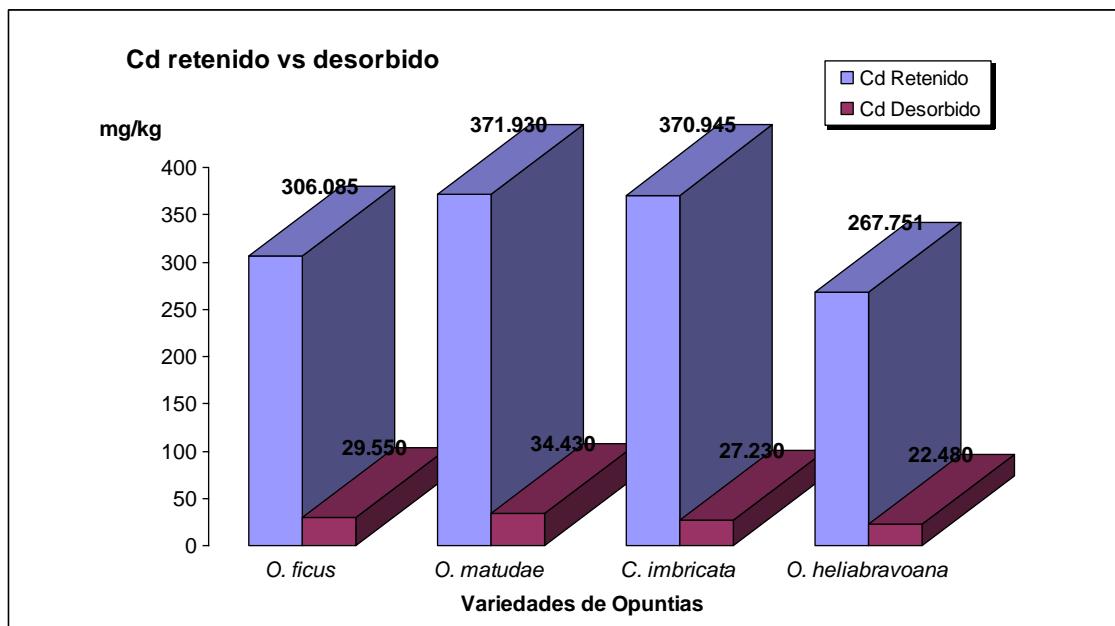


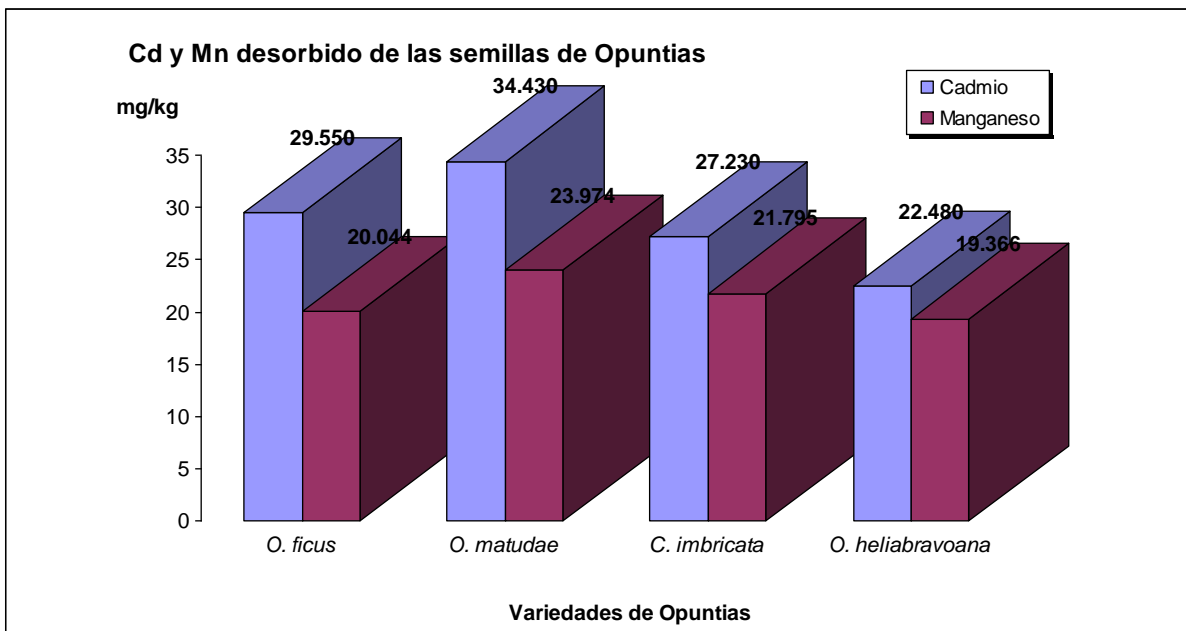
Figura 6.23. Comparación de los procesos de adsorción y desorción sobre especies de *Opuntias* para el Cd en disolución



Tal y como lo indican las figura 6.22 y 6.23, se puede notar que entre el 93 y el 95% de Mn queda retenido en la biomasa y por su parte entre el 90 y el 93% del Cd. Resulta curioso resaltar que en cantidades físicas se desorbe relativamente más Cd que Mn y es la especie *O. matudae* la que mas desorbe de ambos metales (figura 6.24). La especie que menos desorbe se corresponde con la menos adsorbe, en este caso *O. heliabravoana*.

Al correlacionar esta característica con los resultados de metales bioacumulados inicialmente (tabla 6.4) se puede notar que es la especie *O. heliabravoana* la que más alta concentración de metales ya traía de origen bioacumulados.

De forma análoga se puede decir que las especies que más adsorben metales (*O. matudae* y *C. imbricata*) se corresponden con las especies que más altas concentraciones mostraron en carbohidratos y en particular almidones (entre 74 y 78%).



**Figura 6.24. Comparación de los niveles de desorción de Mn y Cd por especies de *Opuntias***

De igual manera los más altos niveles de metales adsorbidos se corresponden con las especies que menores contenidos de grasas presentaron.

## 8. CONCLUSIONES

De todo este estudio se ha podido arribar a las siguientes conclusiones:

- Sobre los resultados de los análisis físicos
  1. Las dimensiones y tamaños (corte longitudinal) de las semillas en orden decreciente fue *C. imbricata*, *O. ficus-indica*, *O. joconoxtle* , *O. matudae* y *O. heliabravoana*.
  2. El espesor del pericarpio (cáscara) fue en orden igualmente decreciente por especies *C. Imbricata*, *O. ficus-indica*, *O. matudae*, *O. joconoxtle* y *O. helabravoana*. El más rugoso y de apariencia más fibrosa corresponde a la especie *C. imbricata*.
  3. De la observación de los endospermos, la especie *C. imbricata* presentó poco volumen, no muy compacto lo que puede indicar bajo peso específico.
  4. La especie *O. heliabravoana*, la más pequeña, mostró un endospermo relativamente voluminoso y compacto lo que representa un elevado peso específico.
  5. Correspondió a la especie *O. heliabravoana* los mayores valores de DPH, mayor dureza o resistencia a la abrasión, así como el menor volumen de la semilla. Indica la estructura más sólida y compacta, sugiere la idea de ser poco porosa.
  6. La especie *O. joconoxtle* presentó el mayor valor de DPMG, menor resistencia a la abrasión y menor DIF, indica semillas más blandas, más pesadas y poco porosas.
  
- Sobre los resultados del análisis proximal
  1. Las cinco especies presentaron niveles similares en humedad y contenido de cenizas, clasificados como bajos.
  2. Por los contenidos en fibra bruta total y carbohidratos las hacen similares.

3. Las cinco especies presentan significativos porcentajes en grasas, destacándose por los más altos valores la especie *O. joconoxtle*.
  4. Los contenidos de proteínas resultaron bajos por lo que no las hacen de interés en la industria alimentaria, salvo por sus altos contenidos en grasas, carbohidratos y almidones.
  5. Por los contenidos en almidones y azúcares podrían señalarse dos agrupaciones: las especies con más de 75% de almidones y de carbohidratos (*O. matudae* y *C. imbricata*) y las especies con contenidos menores de 75% (las restantes).
- Sobre los resultados del análisis de metales
    1. Elementos esenciales como calcio, magnesio y potasio, se encontraron en altos los niveles. En general estos tres elementos constituyen entre el 97.15% y 98.50% del total de metales.
    2. Por los contenidos de oligoelementos como aluminio y sodio, se encontraron dentro de los límites normales para plantas verdes, para el caso del zinc sólo fue detectado en la especie *C. Imbricata*, lo que indica un déficit de este elemento en los restantes suelos.
    3. Se observó la ausencia de elementos tóxicos tales como cadmio y mercurio.
    4. Por los contenidos de arsénico se pueden considerar como contaminadas ya que sus contenidos rebasan 0.2 mg/kg en base seca. También los contenidos en plomo se consideran elevados. Serían una invalidante para que a partir de estas semillas pueda elaborarse algún producto alimenticio.
  - Sobre los resultados de tamaños de partículas y microscopía electrónica
    1. Los tamaños promedios de partículas variaron entre 23.81 y 55.13  $\mu\text{m}$ .

2. Se observó presencia de gránulos de almidón formando agregados o agrupaciones y todas ellas semejantes entre sí.
- Sobre el proceso de adsorción de Mn y Cd
    1. De las especies en estudio se puede concluir que muestran mayor selectividad por bioadsorber Mn que Cd
    2. Se alcanzaron para el manganeso eficiencias de bioadsorción entre 86.3% y 92.8% y para el cadmio eficiencias entre 51.8% y 66.3%, mucho más bajas que para el manganeso.
    3. La máxima eficiencia la presentó la especie *O. ficus-indica* seguido de la especie *O. matudae* para el Mn en tanto que para el Cd la especie *O. matudae*, seguida de la especie *C. Imbricata*.
    4. El proceso de desorción resulta inviable en todos los casos por lo cual se concluye que estas biomasas no son regenerables en el caso de los metales Mn y Cd.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AACC. (2001). Approved Methods of American Association of Cereal Chemists. 10 Th edition. Vol. II. Method 42-10.
2. AAFCO. (1996). Association of American Feed Control Officials. Official Publication. pp. 230.
3. Acosta I., Moztezuma-Zárate M.G., Cárdenas J.F. y Gutiérrez C. (2007) Bioadsorción de Cadmio (II) en Solución Acuosa por Biomásas Fúngicas, *Información Tecnológica* 18(1):9-14.
4. Andersson, A. A. M., Cajsa, E., Andersson, R., Regnér, S. and Aman, P. (1999). Chemical and physical characteristics of different barley samples. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79. pp. 979-981.
5. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. (1995). Volumen I. Edited by Kenneth Herlich. p. 78-79, 237, 247, 272.
6. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. (1995). Volumen II. Edited by Kenneth Herlich. p. 777-778, 1110.
7. Arias M. S. (1994). Las cactáceas como un recurso valioso. Memoria del encuentro Internacional sobre el Impacto de la Biotecnología en el Desarrollo Sustentable. OEA/SEP/DGETA, Aguascalientes, México. pp. 98-106
8. Blanco, M. A.; Montero, M de los A.; Fernández, M.(2000). Composición química de productos alimenticios derivados de trigo y maíz elaborados en Costa Rica. *Revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición. ALAN.* Vol. 50, N° 1, Caracas, Venezuela. p.62-74.
9. BOE (1988). Orden de 27 de abril de 1988 por la que se aprueban los métodos oficiales de análisis de zumos
10. Bornemisza, E. (1982). Introducción a la Química de Suelos. O.E.A., Washington. pp. 74.
11. Bravo-Hollins H. (1978). Las cactáceas de México. Vol. 1 Segunda edición. Universidad Autónoma de México, México 743 p

12. Bravo Hollins H. y Sheinvar Léia (1995). El interesante mundo de las cactáceas. Primera edición. Fondo de cultura económica ISBN 968-16-4360-7. Impreso en México página 9.
13. Callejo, G. M. J. (2002). Industrias de cereales y derivados. Ediciones Mundi – Prensa. Madrid. pp. 21-23, 25-36, 169-175.
14. Camacho, R. N.; Díaz, G. M.; Santillo, H. M.; Velásquez, M. O. (2001). Productos de cereales y leguminosas. Manual de prácticas. Facultad de Química. UNAM, México, DF, p.1-12; 40-46.
15. Dávila-Reyes H., Garza-González M., Cantú-Cárdenas M. y Balderas-Rentería I. (2004) Clonación molecular del gen de la metalotioneína I de ratón *Escherichia coli* y su aplicación en la remoción de metales pesados, Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición, 1(10).
16. Dendy, D. A. V. y Dobraszczyk, B. J. (2004). Cereales y productos derivados, Química y tecnología. Ed. Acribia. Zaragoza, España. pp. 403-421.
17. Díaz A., Arias J., Gelves G., Maldonado A., Leverde D., Pedraza J. y Escalante H. (2003) Biosorción de Fe, Al y Mn de drenajes ácidos de amina de carbón empleando algas marinas *Sargassum* sp., en procesos continuos, Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia 1(30):34-48.
18. Egan, H., Kirk, R., & Sawyer, R. (1991). Análisis Químico de Alimentos de Pearson, 4ta edición, Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V., México, p. 13-17, 19-39.
19. FAO/OMS (2001). Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Comisión del Codex Alimentarius. ALINORM 01/14, 2-7 de Julio, 24º Periodo de sesiones. Ginebra. pp. 2.
20. Galvao, L. A. C.; G. Corey. (1989). Arsénico. Serie Vigilancia 3. Ed. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud, pp. 70
21. González, E. M. (1984). Las plantas medicinales de Durango. Inventario básico. CIIDIR-IPN. Unidad Durango. 115 pp.
22. Granados-Sánchez D. y Castañeda-Pérez A. D. (1991) En: El nopal. Historia, fisiología, genética e importancia frutícola. 1era Edición, Trillas 5-136.

23. Heppler, P. K. y Wayne, R.O. (1985). Calcium and plant development. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 36. pp. 397-439.
24. Hough, J. S. (1990). *Biotecnología de la cerveza y de la malta*. Ed. Acribia. Zaragoza, España. pp. 10-13.
25. Kabata-Pendias, A.; Pendias H. (2000). *Trace elements in Soils and Plants*, CRC Press LLC, Third Edition, USA, p. 27.
26. Larcher, W. (1995). *Physiological Plant Ecology*. Springer Verlag. Berlin. pp. 506.
27. Martínez, H. F. (2002). Estudio de la acumulación de los metales pesados en cultivos de secano, en el distrito de riego 03 del valle del Mezquital. 2002. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
28. Matissek, R., Schnepel, F. N. y Steiner, G. (1998). *Análisis de los alimentos*. Ed. Acribia. Zaragoza, España. pp. 1 y 229-232
29. Norma Oficial Mexicana. (1997). NOM-005-RECNAT-1997. Que establece los procedimientos, criterios y especificaciones para realizar el aprovechamiento, transporte y almacenamiento de cortezas, tallos y plantas completas de vegetación forestal.
30. Norma oficial Mexicana. (1997). NOM-007-RECNAT-1997. Que establece los procedimientos, criterios y especificaciones para realizar el aprovechamiento, transporte y almacenamiento de ramas, hojas o pencas, flores, frutos y semillas.
31. Norma Mexicana. (2003). NMX-FF-043-SCFI-2003. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano- cereal- cebada maltera (*Hordeum vulgare* L.; *Hordeum distichum* L.). Especificaciones y métodos de prueba.
32. Ödön, I. V.; Tirso, W. S. (1985). *Química de los Alimentos*. Tomo I. La Habana. Editorial Pueblo y Educación, p. 285, 305, 346.
33. O'Neill, P. (1990). Arsenic. *Heavy Metals in Soils*. Part. B. Alloway, ed. London: Blackie Press.
34. Pere Durán. (1999). *Analíticos en Alimentaria. Métodos oficiales de Análisis. Cereales, derivados de cereales y cerveza*. Editora PANREAC QUÍMICA, p. 1-88.

35. Pérez, E. (2005). Estudio comparativo de composición química de semillas de *O. imbricata*, *O. matudae*, *O. heliabravoana*, *O. joconoxtle* y *O. ficus indica*. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. p. 54.
36. Pérez, C. L., Moreno, G. A. M. y Gonzáles, P. J. (2004). Índices de acumulación de metales pesados en granos y hojas de trigo. *Schironia*, No 3, Julio. Madrid, España. pp. 5.
37. Peterson, P.; Girling, C. (1980). Other Trace Metals. Impact of Heavy Metal Pollution on Plants. Volume 1: Effects of Trace Metals on Plant Function, N. Lepp, ed. London: Applied Science Publishers.
38. Prieto, J. M.; Méndez, M. A. M.; Román, A. D. G.; Prieto, F. (2005). Estudio comparativo de características físicoquímicas de cereales Kellogg's. *Rev Chil Nutr* Vol. 32, N°1, p. 34-43.
39. Prieto-García F., Filardo-Kerstup S., Román-Gutierrez A.D., Méndez-Marzo M.A y Pérez-Cruz E. (2006) Caracterización física y química de semillas de Opuntias (*Opuntia* spp.) cultivados en el estado de Hidalgo, México, *Bioagro* 18(3):163-169.
40. Prieto-García F., Filardo-Kerstup S., Román-Gutierrez A.D., Méndez-Marzo M.A y Pérez-Cruz E. (2010) Evaluación histoquímica de semillas de *opuntias* (*C. imbricata* sp. y *O. matudae* sp.) cultivados en el estado de Hidalgo, México, *Revista Peruana de Biología* (En prensa).
41. Rzedowsky J. (1994) *Vegetación de México* sexta reimpresión. Editorial Limusa Noriega editores. ISBN 968-18-0002-8. página 151
42. Richard, L.A. (1973). Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. *Manual de Agricultura #60*. ed. Limusa. México DF, México, 16-18.
43. Salisbury, F. B. y Ross, C. W. (1992). *Plant Physiology*. Wadsworth Publishing. Co. California. pp. 682.
44. Serna, S. S. R. (2001). Química e industrialización de los cereales. AGT Editor. México, D. F. pp. 3-23, 47-73 y 79-89.
45. Sharp, P. F. (1997). Wheat and flour studies, IX. Density of wheat of influenced by freezing, stage of development, and moisture content. *Cereal Chemistry*, 4. pp. 14-46.



46. Sheinvar Léia, Filardo K. Santiago, Olalde Parra Gabriel, Zavaleta Beckler Patricia. (2009). Dos especies mexicanas productoras de *xoconostle*, *Opuntia* ssp, *Cylindropuntia imbricata* (Cactaceae) Primera edición. Universidad Nacional Autónoma de México Instituto de Biología, Universidad autónoma del Estado de Hidalgo Centro de investigaciones químicas, Universidad autónoma metropolitana Unidad Xochimilco. ISBN 978-607-2-00058-2.
47. Tscheuschner, H. D. (2001). Fundamentos de tecnología de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. pp. 14.
48. Volesky, B. (1999) Biosorption Of Cd And Cu By Different Types Of Sargassum biomass. In: AMILS, R. and BALLESTER, A. eds. Biohydrometallurgy and the Environment towards the mining of 21st century (part B): International Biohydrometallurgy Symposium-Proceedings. Amsterdam, Elsevier. pp. 473-482.
49. Volesky, B. (1990). Removal and recovery of heavy metals by biosorption. In: *Biosorption of heavy metals*. Boston, USA, CRC press, p. 7-43.

#### **Sitios de internet**

50. <http://www.botanical-online.com/familiacactaceascast.htm>. 2006
51. <http://espanol.geocities.com/pmayen/base4.html>. 2006.
52. <http://www.mcx.es/plaguicidas/matalpesaUE.asp>