



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**COMPARACIÓN DEL CONTENIDO DE FRACCIONES DE PROTEÍNA
EN DISTINTA ETAPA FENOLOGICA DE DOS VARIEDADES DE SOYA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

ROCÍO BERROCAL OLVERA



MÉXICO, CDMX

2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: SANDOVAL GUILLEN BERTHA JULIETA
VOCAL: Profesor: MIRANDA MARTINEZ INES
SECRETARIO: Profesor: CASTREJÓN PINEDA FRANCISCO ALEJANDRO
1er. SUPLENTE: Profesor: SANCHEZ SALAZAR BRENDA
2° SUPLENTE: Profesor: VEGA PEREZ ADRIANA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA, DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL Y BIOQUÍMICA, FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

ASESOR DEL TEMA:

MC. FRANCISCO ALEJANDRO CASTREJÓN PINEDA

SUPERVISOR TÉCNICO:

Q.A. ÁGUEDA GARCÍA PÉREZ

SUSTENTANTE:

ROCÍO BERROCAL OLVERA

DEDICATORIA

Gracias Oscar Berrocal y Rocío Olvera por su amor, su dedicación, su paciencia, sus consejos, por siempre confiar en mis sueños y creer en mí. Por anhelar siempre lo mejor para mi vida. Gracias por motivarme cada día, por guiarme y siempre estar a mi lado. Recuerden que mis logros se los debo a ustedes, entre los que se incluye este. ¡Los amo!

Gracias mi Faus y mi Brigit, por su cariño y amor. Mi Faus eres la ausencia más presente en mi vida. ¡Te extraño con todo mi corazón!

A mi hermano Carlos por tantas risas, ten en cuenta que mis logros son tuyos. ¡Te adoro mucho!

Gracias por impulsarme, por motivarme cada día, por estar en los momentos y situaciones más tormentosa. ¡Te amo Panchis!

Gracias Lyla y Ginger por llenar mi vida de ladridos y por amarme más que a ustedes mismas.

Tío Genaro, gracias por sus enseñanzas, sin duda alguna la mejor herencia que me dejo. ¡Si se pudo!

A mi familia, porque han estado presentes siempre y mucho más cuando los he necesitado. Son ustedes mi mano derecha.

Cristy y Dora, por adoptarme como una hija, gracias por cada uno de sus consejos, apoyo y cariño.

Gracias a mis amigos por ser parte de mi aprendizaje y acompañarme en todo momento.

Tere, Ague, Ladis, Paty y Martin han sido un apoyo dentro y fuera del laboratorio, gracias por tantas enseñanzas y ayuda.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de estudiar en esta gran institución.

A la Facultad de Química por brindarme los conocimientos que serán útiles en mi vida profesional y darme amistades que sin su apoyo no hubiera sido lo mismo.

Al Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM por recibirme y darme las facilidades para trabajar en sus instalaciones y utilizar equipos del laboratorio para este proyecto.

Al MC. Francisco Alejandro Castrejón Pineda por sus enseñanzas, por su apoyo incondicional, por ser la persona que confió en mí y mis capacidades para este proyecto. Gracias por todo el cariño, consejos y confianza que me brindo.

A la Q.A. Águeda García Pérez por permitirme trabajar en el laboratorio, por sus enseñanzas, consejos y su apoyo.

Al Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO) y al MC. Jesús Salmerón Erdosay por darme las herramientas para hacer este proyecto.

A mis sinodales, Q.F.B. Bertha Julieta Sandoval Guillen y M.E. Inés Miranda Martínez, por su tiempo para corregir mi tesis.

Al Dr. René Rosiles Martínez por compartir sus conocimientos, enseñanza y consejos.

A quienes han sido parte de este proyecto y me apoyaron en este proceso.

ÍNDICE

1.	Introducción.....	1
1.1	Justificación.	9
1.2	Hipótesis.....	10
1.3	Objetivos.	11
1.3.1	Objetivo general.	11
1.3.2	Objetivos específicos.	11
2.	Antecedentes.	12
2.1	Leguminosas.	12
2.2	Soya (Glycine max).....	13
2.2.1	Producción de Soya	14
2.2.2	Características nutricionales de la soya.	16
2.2.3	Etapas fenológicas de la soya.....	18
2.2.4	Factores que afectan las etapas fenológicas de la soya.	19
2.2.5	Morfología de la soya	20
2.3	Determinación del contenido de proteína en los alimentos.	27
2.4	Análisis químico proximal (A.Q.P).....	27
2.4.1	Determinación de humedad.	29
2.4.2	Determinación de extracto etéreo.....	29
2.4.3	Determinación de Cenizas	29
2.4.4	Determinación de Fibra cruda	30
2.4.5	Determinación de Proteína Bruta (PB)	31
2.5	Determinación de las fracciones de proteína	32
2.6	Determinación de las fracciones de la fibra.	34
2.6.1	Determinación de Fibra Detergente Neutra.	34
2.6.2	Determinación de Fibra Detergente Ácida	34
3.	Material y métodos.....	35
3.1	Metodología.	35
3.2	Análisis Químico Proximal (A.Q.P.)	41
3.2.1	Determinación de humedad	41
3.2.2	Determinación de extracto etéreo.....	42

3.2.3	Determinación de Cenizas	43
3.2.4	Determinación de Fibra cruda	44
3.2.5	Proteína Bruta	46
3.2.5.1	Digestión.....	47
3.2.5.2	Destilación.....	49
3.2.5.3	Titulación	50
3.3	Análisis para determinar las fracciones de la proteína.....	51
3.3.1	Determinación de Fibra Detergente Neutro (FDN) y PB en FDN (PFDN)	51
3.3.2	Determinación de Fibra Detergente Ácido (FDA) Y PB EN FDA (PFDA)	52
3.3.3	Proteína Insoluble (PI)	53
3.3.4	Proteína soluble verdadera (PVS)	54
3.4	Análisis estadístico	55
4.	Resultados y Discusión.	58
4.1	Resultados del análisis químico proximal en grano maduro.	58
4.2	Resultados de la evaluación de las fracciones de la proteína en los componentes del grano de Soya.	59
4.3	Resultados de la evaluación de fracciones de la proteína en grano maduro y forraje en 100% de floración.....	64
4.4	Resultados de la evaluación de las fracciones de proteína, incluida la unida al residuo de FDN y FDA, en dos genotipos de soya y tres etapas fenológicas.	67
4.5	Resultados de la evaluación de las fracciones de proteína (A, B1, B2, B3 y C) en dos genotipos de soya y tres etapas fenológicas.	71
5.	CONCLUSIONES.....	77
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	79

Índice de cuadros

Cuadro 1. Descripción de las muestras analizadas.....	36
Cuadro 2. Análisis Químico Proximal de cuatro genotipos de Soya en la etapa grano maduro.....	59
Cuadro 3. Determinación de fracciones de proteína en los componentes del grano de soya.....	61
Cuadro 4. Fracciones de la proteína en grano maduro de soya y forraje en 100% floración.	65
En cuanto al contenido de PB, el grano maduro registró mayor cantidad de proteína ($P < 0.05$), tanto en el genotipo Ojo de tigre como en Valente, comparado con forraje en etapa 100 % floración o forraje en etapa ejote tierno.	67
Cuadro 5. Efecto de la etapa fenológica en dos genotipos de soya sobre las fracciones de la proteína y la proteína unidad al residuo FDN (PFDN) y FDA (PFDA).....	68
Cuadro 6. Resultado de la evaluación de las fracciones de la proteína (A, B1, B2, B3 y C) en dos genotipos de soya y tres etapas fenológicas.....	72

Índice de figuras

Figura 1. Etapas de desarrollo de la soya. Fuente: Ciampitti, I. (2017). Crecimiento y desarrollo del cultivo de soya [Figura]. Recuperado de https://bookstore.ksre.ksu.edu/Category.aspx?id=2&catId=286&Page=3	5
Figura 2. Composición, degradación ruminal y digestión intestinal de las fracciones proteicas.	8
Figura 3. Producción mundial de soya en los últimos diez años. Fuente: SADER, 2019.....	15
Figura 4. Principales países importadores de soya, en los últimos diez años. Fuente: SADER, 2019.	16
Figura 5. Planta de soya. Berrocal, R. (2019).	20
Figura 6. Semilla de la variedad Ojo de tigre y Valente, respectivamente. Berrocal, R. (2019).....	21
Figura 7. Raíz de soya. Berrocal, R. (2019).	22
Figura 8. Inicio de floración en soya. Berrocal, R. (2019).	24
Figura 9. Etapa de grano maduro en soya. Berrocal, R. (2019).	26
Figura 10. Localización del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero	35
Figura 11. Deshidratación de muestras a $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Berrocal, R. (2019). ..	38
Figura 12. Molino Willey	40
Figura 13. Extracto Etéreo. Berrocal, R. (2022).	43
Figura 14. Cenizas de variedades Salcer, Alvina y Valente. Berrocal, R. (2022).....	45
Figura 16. Digestor conectado a trampa. Berrocal, R. (2019).	47
Figura 17. Termino de la digestión. Berrocal, R. (2019).	48
Figura 18. Destilador. Berrocal, R. (2019).....	50

1. Introducción.

Las leguminosas son alimentos altamente proteicos que contienen menor cantidad de hidratos de carbono (almidón, carbohidratos estructurales integrados en la fibra) y lípidos. Sin embargo, en su composición además de los nutrimentos poseen sustancias anti nutricionales, por ejemplo, el factor anti trípico presente en el grano de soya crudo, sin tratamiento alguno (Church *et al.*, 2006). Por esa razón, con el fin de mejorar el aprovechamiento nutritivo las leguminosas son sometidas a diferentes procedimientos tecnológicos (Rodríguez y Simón, 2008).

También, las leguminosas contienen una amplia variedad de metabolitos secundarios como triterpenos, esteroides, saponinas, aminoácidos no proteicos, azúcares reductores, isoflavonas y lignanos (Colina *et al.*, 2017) algunos de ellos tóxicos, por lo que se pueden considerar como plantas de cierto riesgo cuando se consumen sin haber sido sometidas a procesos de cocción u otros tratamientos que eleven la temperatura, los cuáles eliminan los factores tóxicos o anti nutricionales que generalmente son termolábiles (Badui, 2013).

Una de las leguminosas de distribución e importancia mundial es la soya [*Glycine max* L.] un cultivo anual de verano, de clima caluroso y húmedo. Sus vainas contienen tres o más semillas que se utilizan de forma industrial para la extracción del aceite, dejando un subproducto o residuo denominado pasta de soya, rica en proteínas, carbohidratos solubles o estructurales y elementos minerales utilizados para la alimentación humana y animal. Gracias a esas propiedades nutritivas debidas principalmente a sus proteínas, en las últimas décadas ha habido gran desarrollo científico y tecnológico para el aprovechamiento integral de las proteínas de la soya. Como ocurre con la mayoría de los alimentos provenientes del campo, su composición química depende de muchos

factores, entre ellos: el genotipo de la semilla, el tipo de suelo, la irrigación, la fertilización, la temperatura ambiental, etc. Se conocen algunas variedades cuyo contenido de proteínas es mayor, pero a expensas de la grasa y de los hidratos de carbono, así como del rendimiento por hectárea (Granados *et al.*, 2020).

Por sus diversas propiedades funcionales, la soya y sus derivados se utilizan ampliamente en la elaboración de muchos alimentos, tanto para uso humano como animal. Las proteínas de la soya son de buena calidad, algo deficientes en metionina y cisteína, por lo cual, en las dietas para los animales su perfil de aminoácidos se complementa con el del maíz, que contiene estos aminoácidos azufrados, sin embargo, dicho cereal es deficiente en lisina y triptófano (Perkins, 1995).

La soya es la principal leguminosa que se cultiva en el mundo, el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) estima que la Producción Mundial de Soya 2021/2022 sería de 350.72 millones de toneladas. La producción de soya del año pasado fue de 367.76 millones de toneladas. Los 350.72 millones de toneladas estimados para este año podrían significar una reducción de 17.04 millones de toneladas o 4.63 % en la producción de soya alrededor del mundo.

En 2020 la producción de soya en México fue de 246,019 toneladas (superior 5.7 % en comparación con 2019), las cuales fueron obtenidas de 156,979 hectáreas cosechadas (representando 7.5 % más), por lo que el rendimiento promedio nacional quedó en 1.6 toneladas por hectárea (-1.7 %) (USDA., 2021).

Por su elevado contenido de lípidos (20 – 23 %) y proteína (40 %), el grano de soya es una de las principales oleaginosas de las cuales se obtiene aceite en México. El contenido de aceite se encuentra entre el 20 al 22 % del grano (Schrimshaw, 2007; Bressanni *et al.*, 1967), esa

producción de aceite genera un subproducto denominado pasta de soya, el cual manifiesta elevada cantidad de proteína (48 – 50 %) cuando no contiene cascarilla y principalmente se utiliza en la alimentación de aves y cerdos. Por otra parte, cuando el grano de soya es procesado junto con la cascarilla, la pasta de soya resultante es excelente fuente de proteína, pero con menor cantidad (40 – 44 %) y elevada cantidad de fibra (16 % fibra detergente ácido) por lo que se utiliza principalmente en la alimentación de rumiantes (Pond *et al.*, 2006).

La producción de una cantidad elevada de grano de soya por planta puede ser aproximadamente entre 50 y 200 granos y por hectárea 4000 y 5000 kg/ha. La superficie sembrada en México en 2020 fue de 165,539 hectáreas, de las cuales fueron afectadas por plagas y siniestros de exceso de humedad o sequía, 8,560 hectáreas (García *et al.*, 2009).

Debido a que es un excelente alimento pero puede contener compuestos secundarios que disminuyen su producción y valor nutritivo, por esa razón se busca que en los programas de mejoramiento genético se considere la obtención de genotipos específicamente productivos para cada una de las regiones donde se cultiva la soya, además, tengan mejor calidad de semilla (variedades de testa dura que impida el daño por humedad, insectos y con resistencia y/o tolerancia al ataque de hongos y bacterias), y con un alto contenido de proteínas; de esa forma, ofrecer a los productores de soya semillas de alta calidad, para cultivos de grano o forraje de soya en el país (Sánchez, 2019; Reyes, 2020). En ese sentido, Profesores-Investigadores del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO) e Investigadores del Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ), establecieron una línea de investigación mediante mutagénesis radioinducida utilizaron radiaciones gamma de Co 60 en semillas de soya (Salmerón y Cervantes, 2004), como una herramienta para acelerar la modificación genética, lo cual

anteriormente fue comprobado por Jawerth (2017) en arroz, y por Lui *et al.* (2004) y Wang *et al.* (2003) en soya, no obstante, en los genotipos producidos, además de seleccionar aquellos que presentan mejores características agronómicas, deben ser evaluadas las características de su valor nutritivo, a través de los análisis de su composición química nutrimental y el contenido de compuestos secundarios.

Además, la producción de grano de soya ha generado genotipos que rinden gran cantidad de forraje, los cuales dependiendo de la etapa fenológica en que se cosechen, presentan cambios en su composición química nutrimental, que puede ser aprovechada por los rumiantes como un buen heno o paja de frijol soya. Sin embargo, son escasos los estudios sobre el valor nutritivo que manifiestan esas variedades forrajeras, el cual depende de la etapa fenológica en que se realiza el corte de la planta.

Una etapa fenológica está delimitada por dos fases fenológicas sucesivas. Dentro de ciertas etapas se presentan períodos críticos, que son el intervalo breve durante el cual la planta presenta la máxima sensibilidad a determinado evento meteorológico, de manera que las oscilaciones en los valores de este evento se reflejan en el rendimiento del cultivo; estos periodos críticos se presentan generalmente poco antes o después de las fases, durante dos o tres semanas. El comienzo y fin de las fases y etapas sirven como medio para juzgar la rapidez del desarrollo de las plantas.

En el ciclo de vida de una célula, órgano, planta o cultivo transcurren dos tipos de procesos simultáneos e interdependientes: el crecimiento y el desarrollo (Figura 1). Mientras que el crecimiento involucra aumento de tamaño (área, volumen, masa), el desarrollo es la sucesión progresiva de estados diferenciados fisiológica y/o morfológicamente (Sadras *et al.*, 2000).

En la planta de soya, como en la mayoría de las plantas, su desarrollo vegetativo está entre la emergencia y la aparición de la primera flor, en general se ha calculado que dura entre seis y ocho semanas. Su tamaño definitivo y la cantidad total de posiciones florales dependen en gran parte de su longitud, la variedad, la ubicación de la planta y de las condiciones ambientales predominantes durante ese período. La temperatura y la humedad tienen efecto significativo sobre la cantidad de flores de cada racimo (Scott y Aldrich, 1975).

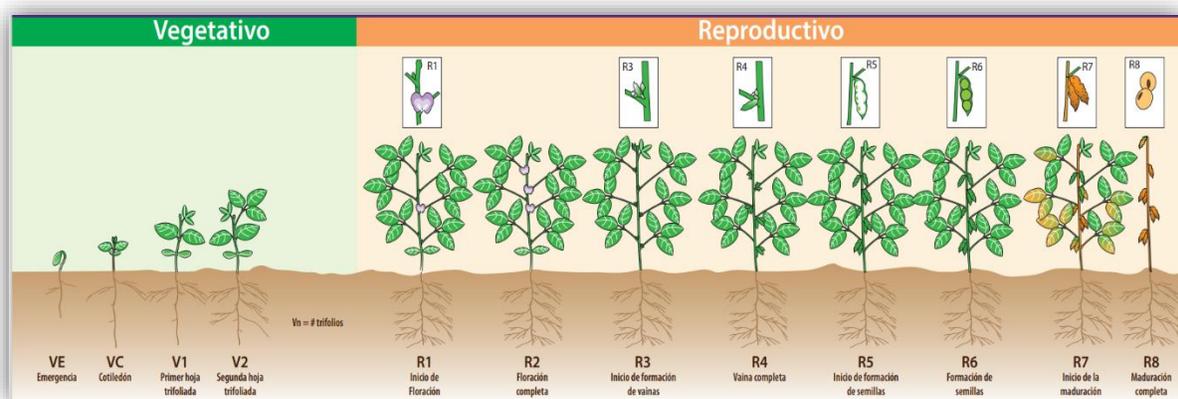


Figura 1. Etapas de desarrollo de la soja. Fuente: Ciampitti, I. (2017). Crecimiento y desarrollo del cultivo de soja [Figura]. Recuperado de <https://bookstore.ksre.ksu.edu/Category.aspx?id=2&catId=286&Page=3>

La función de las proteínas en los cotiledones de las leguminosas es servir de reserva para la germinación y el crecimiento de la planta. Los ácidos nucleicos se encuentran en muy baja concentración y, cuando la determinación de las proteínas se realiza por el método de Kjeldahl, se cuantifica el nitrógeno total y se multiplica por el factor de conversión (6.25), el cual presupone que en todas las proteínas el N corresponde al 16 % de su molécula ($100 \text{ g de proteína} / 16 \text{ de nitrógeno} = 6.25 \text{ g de proteína/g de N}$) (Badui, 2013).

El análisis químico proximal de los alimentos comprende métodos de análisis fisicoquímicos que permiten identificar y cuantificar los nutrimentos que componen a un alimento, como son humedad, cenizas, proteína, grasa e hidratos de carbono estructurales contenidos en la fibra dietética o fibra bruta y por diferencia los carbohidratos solubles (Ortíz, 2006). A pesar de que el análisis químico proximal es utilizado para definir la composición general de los alimentos, algunos de los métodos empleados pueden presentar algunas desventajas. Por ejemplo, el método para cuantificar proteína bruta no distingue la proteína verdadera de otras fuentes de nitrógeno tales como ácidos nucleicos, urea y otros compuestos nitrogenados relacionados tales como aminos o amidas, por tanto, cuantifica el nitrógeno total y no solo el nitrógeno proteico, además, es un procedimiento largo en el cual durante la digestión se producen vapores tóxicos, requiere el uso de catalizadores caros o tóxicos y considera el 16 % de N para todas las proteínas, lo cual no es así (Iturbe y Sandoval, 2011).

Por otra parte, en ese mismo análisis el método de fibra cruda se desarrolló para la determinación del material indigestible en alimentos y forrajes (Zumbado, 2020). La fibra corresponde a los carbohidratos insolubles presentes en la pared celular vegetal que es una estructura altamente organizada, su composición está formada por celulosa, hemicelulosa y el polímero fenólico lignina. La composición y porcentajes de esos polímeros varía entre las especies de plantas, incluso de una misma planta, de acuerdo con la edad, el tejido y la etapa de crecimiento (Quiroz y Folch, 2011). Sin embargo, la determinación de fibra bruta tiene la desventaja de que no mide cantidades totales de celulosa y lignina en la muestra, además, la hemicelulosa, pectina y los hidrocoloides son solubilizados, sin ser reportados como fibra. Por tal motivo, dicho análisis se debe complementar con la determinación del contenido real de

carbohidratos estructurales insolubles a través del análisis de VanSoest, que determina la fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y las fracciones de Celulosa, Hemicelulosa, Lignina y cenizas insolubles, en la FDA (Vansoest *et al.*, 1991). Actualmente con el análisis de la fibra detergente ácida (FDA) y fibra detergente neutra (FDN), el contenido de fibra se puede dividir en paredes celulares menos digeribles (compuestas por hemicelulosa, celulosa y lignina) y en contenido celular (CC) principalmente digerible (compuesto por proteína, almidón y azúcares). La fibra detergente neutra es un buen indicador del volumen real de fibra y, en consecuencia, de la ingesta de forraje; mientras que la fibra detergente ácida es un buen indicador de la digestibilidad y, en consecuencia, de la ingesta energética.

En la actualidad, una de las caracterizaciones de las fracciones que integran la proteína de los alimentos, se hace a través del sistema de carbohidratos y proteínas neta (CNCPS, por sus siglas en inglés) desarrollado en la Universidad de Cornell (Rusell *et al.*, 1993), y se utiliza para satisfacer las necesidades de los carbohidratos y proteína metabolizable requerida por el ganado. Dentro de tales fracciones de la proteína se identifican tres fracciones nitrogenadas que son: Fracción A, el nitrógeno no proteico que es utilizado exclusivamente en forma de NH_3 por las bacterias del rumen para su transformación en proteína microbiana, que al ser digerida en el intestino proporciona al rumiante una parte importante de los aminoácidos que necesita; Fracción B que corresponde a proteína verdadera potencialmente degradable y Fracción C que es la proteína no degradable e indigestible en el intestino, por estar ligada a la fibra detergente ácido (principalmente a la lignina contenida en esta) (Figura 2). A su vez, la fracción B se subdivide en tres, las cuales se caracterizan por su diferente ritmo de degradación: Fracción B1, proteína verdadera rápidamente degradable en rumen; Fracción B2,

proteína verdadera de lenta degradación en rumen, y Fracción B3, proteína verdadera no degradable en rumen y digestible en intestino (Sniffen *et al.*, 1993; Licitra *et al.*, 1996).

Fracción	Composición	Degradabilidad ruminal (% h)	Digestibilidad intestinal (%)
A	NH ₃ , NO ₃ , péptidos AA	Instantáneo	Ninguno llega al intestino
B1	Globulinas Algunas albúminas	200-300	100
B2	La mayoría de las albúminas Glutelinas	5-15%	100
B3	Prolaminas Proteínas de la extensina Proteínas desnaturalizadas	0.1-1.5	80
C	Productos de Maillard N ligado a la lignina	0	0

Figura 2. Composición, degradación ruminal y digestión intestinal de las fracciones proteicas.

1.1 Justificación.

En la actualidad la soya es un alimento que tiene gran importancia para la alimentación humana y animal, ésta presenta distinta composición nutrimental acorde a la etapa fenológica en la que se encuentra. Existe información de esa composición en algunos genotipos producidos en los distintos campos experimentales del país, no obstante, en esas instituciones se generan continuamente nuevos genotipos y/o variedades que presentan mejoramiento de su composición nutrimental, en los cuales la caracterización de los principios nutritivos se realiza con base en el análisis químico proximal, sin embargo, la investigación que se hace sobre el contenido de fracciones de la fibra y de la proteína, en los nuevos genotipos de soya, es escasa. Por lo anterior, se planteó realizar el presente estudio con el objetivo de evaluar el efecto de dos genotipos de soya: Valente y Ojo de tigre, generados a partir de la variedad ISAAEG – BM2 sometida a un proceso de irradiación recurrente con rayos Gamma de Co 60 de semilla R4M10, y tres etapas fenológicas: 100 % floración (R2), ejote tierno (R4) y grano maduro (R8), sobre el contenido de PB según el análisis químico proximal; y las fracciones de la proteína propuestas por el sistema CNCPS de la Universidad de Cornell.

1.2 Hipótesis.

Hipótesis nula: La cantidad de proteína bruta y fracciones de proteína será similar en los genotipos de soya (*Glycine max*): Ojo de tigre, Valente, Alvina, Salcer, y en las etapas fenológicas: 100 % de floración, ejote tierno o grano maduro, de la planta de soya.

Hipótesis alterna: La cantidad de proteína bruta y fracciones de proteína, será diferente en al menos uno de los genotipos de soya (*Glycine max*): Ojo de tigre, Valente, Alvina, Salcer, o en las etapas fenológicas: 100 % de floración, ejote tierno o grano maduro, de la planta de soya.

1.3 Objetivos.

1.3.1 Objetivo general.

- Evaluar el efecto del genotipo de soya (Ojo de tigre, Valente, Alvina y Salcer) y el efecto de tres etapas fenológicas (hojas en 100 % de floración, hojas en ejote tierno y grano maduro), así como la interacción de estos factores, sobre el contenido de fracciones de proteína y proteína bruta (PB).

1.3.2 Objetivos específicos.

- Analizar el contenido de proteína bruta (PB), proteína insoluble (PIIns), proteína verdadera soluble (PVS), proteína ligada al residuo insoluble en detergente neutro (PFDN) y proteína ligada al residuo insoluble en detergente ácido (PFDA), en los genotipos de soya: Ojo de tigre, Valente, alvina y Salcer; en las etapas fenológicas: hojas en 100 % de floración, hojas en ejote tierno y grano maduro.
- Estimar las fracciones de proteína A, B1, B2, B3 y C en los genotipos de soya y en las tres etapas fenológicas: hojas en 100 % de floración, hojas en ejote tierno y grano maduro.
- Evaluar el efecto del genotipo de soya y efecto de tres etapas fenológicas: hojas en 100 % de floración, hojas en ejote tierno y grano maduro, así como su interacción, sobre el contenido de proteína bruta y fracciones de la proteína según la metodología del CNCPS.

2. Antecedentes.

2.1 Leguminosas.

Leguminosa es una palabra que proviene del latín *legumen* que indica fruto alargado o en espiral (fruto en "legumbre" o "vaina") que contiene varias semillas dispuestas en fila. Las leguminosas, desde el punto de vista botánico, pertenecen a la familia *Fabaceae*, cuyas especies presentan la característica común de producir vainas (Amóros, 2000).

Las semillas de las leguminosas se diferencian por el color, forma, tamaño y grosor del tegumento (testa), pero la mayoría de estas tienen una estructura similar, y cuando madura tienen tres partes estructurales principales: cubierta, cotiledón y embrión. La composición de éstas estructuras en las semillas de soya es: 8 % tegumento o cubierta, 90 % cotiledones y 2 % embrión (Amorós, 2000).

Las legumbres son el tercer grupo de plantas más abundantes del planeta, de distribución global y cuyo origen se consume hace alrededor de 90 millones de años. Entre sus características más notables, las leguminosas tienen capacidad de fijación biológica del nitrógeno (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2016).

La composición nutricional media del grano en las leguminosas destaca por la fracción de almidón y proteína, como las más abundantes respecto al total de los componentes. El valor nutritivo de las leguminosas se debe primeramente a su contenido proteico, a la vez que son fuente importante de carbohidratos, algunos de absorción lenta como el almidón y otros no digeribles como los componentes de la fibra, cuyos efectos beneficiosos son debidos principalmente a sus propiedades físicoquímicas. Por otro lado, presentan un bajo contenido en lípidos, excepto en el caso de leguminosas con semillas oleaginosas, como la soya (*Glycine max*), en la

que los lípidos están mayoritariamente constituidos por ácidos grasos poliinsaturados (Zulet y Martínez, 2001).

2.2 Soya (*Glycine max*)

La soya, denominada en otros países "soja" o frijol de soya (*Glycine max*) pertenece a la familia de las leguminosas, aunque por su elevado contenido de aceite se incluye también con las oleaginosas, junto con la canola, el algodón, el girasol, la aceituna y el cacahuate (Badui, 2013).

Millones de personas alrededor del mundo comen carne, huevos y productos lácteos que provienen de animales alimentados con soya, y para la alimentación del humano es constituyente de distinto tipo de leche, pastas y subproductos de soya que se encuentran en incontables alimentos procesados. La planta (*Glycine max*) crece bajo muchas condiciones ambientales, tiene el potencial de jugar un rol clave para enfrentar el desafío de la seguridad alimentaria mundial ya que crece rápidamente y es altamente nutritiva (WWF,2015).

Como ocurre con la mayoría de los alimentos provenientes del campo, su composición química depende de muchos factores, entre ellos, el genotipo de la semilla, el tipo de suelo, la irrigación, la fertilización, la temperatura ambiental, etc.; se conocen algunas variedades cuyo contenido de proteínas es mayor, pero a expensas de la grasa y de los hidratos de carbono, así como del rendimiento por hectárea (Badui, 2013).

De acuerdo con datos de la Asociación Americana de Soya (ASA), se calcula que existen más de 3,000 variedades de esta semilla en todo el mundo, que se diferencian de acuerdo al uso que se les dé. A nivel mundial se conocen más de 500 variedades de soya, las cuales tienen características muy diferentes entre sí. Se tienen detectadas semillas consideradas como precoces, las cuales alcanzan la maduración de sus

granos antes de los cinco meses después de haberse sembrado, este tipo de semillas son ideales para las zonas templadas de Europa y América, tan solo para México se estiman más de 100 variedades.

Este grano es uno de los de mayor demanda por parte de las industrias aceiteras, sin embargo, el desempeño del cultivo en Centroamérica está poco desarrollado, debido a que se utilizan bajos niveles de insumos durante todas las fases del cultivo (fertilizantes, herbicidas, etc.) y en su producción se utilizan métodos tradicionales de producción (ArgenBio, 2007).

La producción de soya en la República Mexicana es insuficiente para satisfacer las necesidades del consumo humano y animal. Se estima que México en 2019/2020 necesitó de la producción mundial de soya 341.8 millones de ton, 6.2 % superior que el año previo; así mismo, se estiman inventarios mundiales a finales de 2019/2020 en 101.7 millones de ton, 14 % superior a los del año previo. En Julio de 2019 se importaron 648,7 miles de toneladas de soya; las cuales provinieron de Estados Unidos y Brasil. Las importaciones de soya se realizan a través de diferentes aduanas, siendo las principales: Piedras Negras, Coah., Veracruz, Ver., Progreso, Yuc. y N. Laredo, Tamps. (SADER, 2019).

2.2.1 Producción de Soya

Como se muestra en la Figura 3, la producción mundial de soya se ha incrementado en el transcurso de los últimos 10 años en 39.1 %, a una tasa media de crecimiento anual (TMCA) de 3.1 %; mientras que el consumo ha crecido a una tasa superior; en diez años creció 40.6 %, a una TMCA de 3.9 %. Se estima que en el año 2019/2020 se obtenga una producción de 347.0 miles de toneladas, 4.4 % inferior a la obtenida en el año previo, y la más alta en los últimos diez años (SADER, 2019).

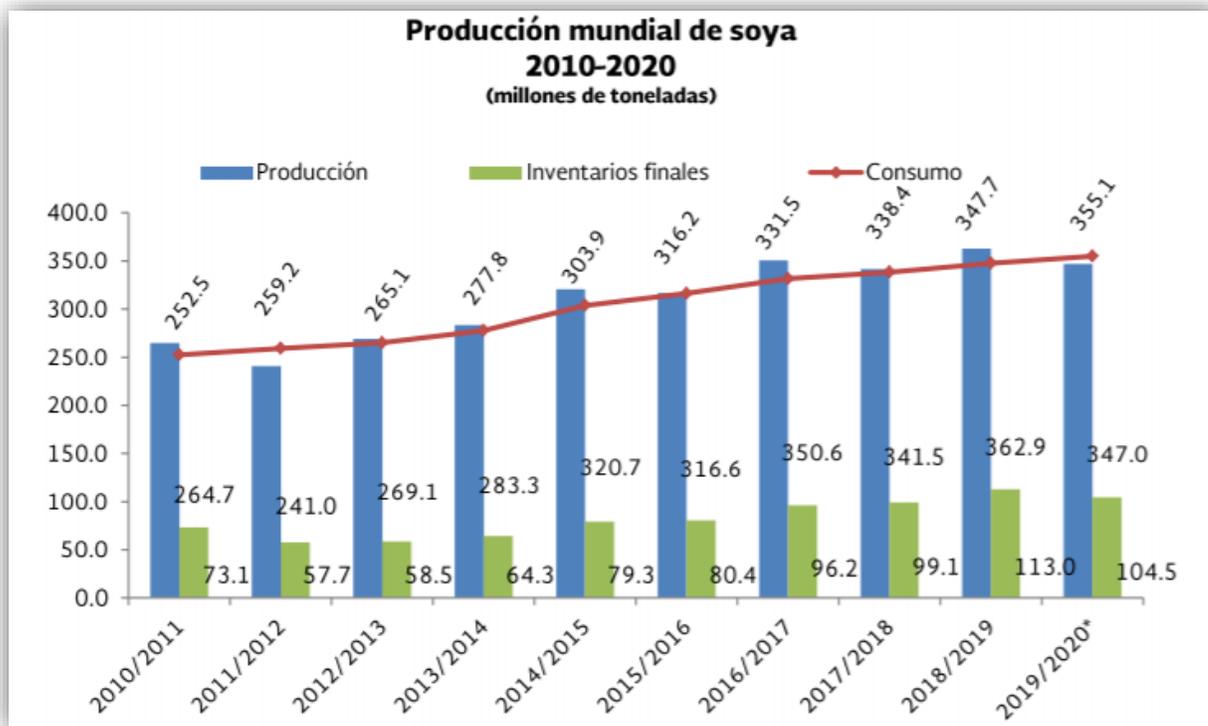


Figura 3. Producción mundial de soya en los últimos diez años. Fuente: SADER, 2019.

En la Figura 4, se indica que México es el tercer importador de soya; sus importaciones han crecido 65.8 % en los últimos diez años, a una tasa media de crecimiento anual de 5.8 % en los últimos diez años (SADER, 2019).

Más de la mitad de la producción de soya durante Primavera/verano 2018 se concentró en los estados de Tamaulipas, Campeche, San Luis Potosí y Sinaloa, entre otros y durante Otoño-Invierno 2018/2019 los primeros estados productores son Tamaulipas, Yucatán, Campeche, entre otros (SADER, 2019).

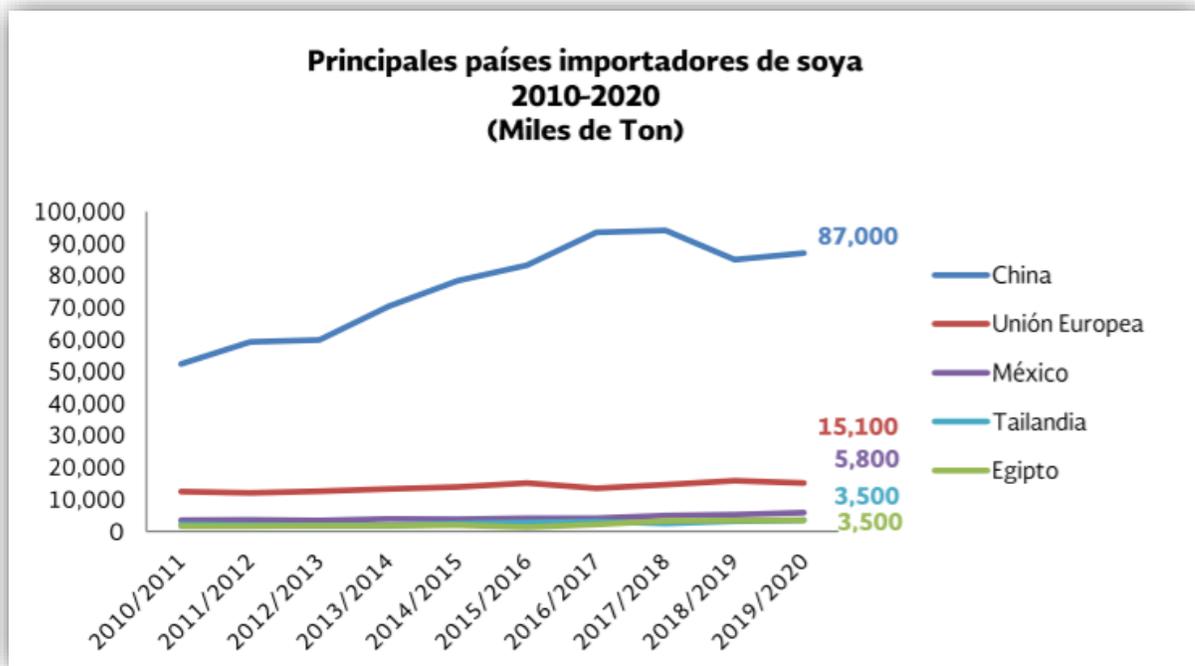


Figura 4. Principales países importadores de soya, en los últimos diez años. Fuente: SADER, 2019.

2.2.2 Características nutricionales de la soya.

Como alimento, la soya se considera como el vegetal que mejor sustituye a la carne, a la leche y al huevo, por ello es un producto que tiene una gran funcionalidad, ya que en semillas o bien elaborado en sus diversos derivados, la hacen tener una ventaja más que se suma a su valor proteínico (ASERCA, 1993).

La semilla de soya se considera como oleaginosa debido a que tiene un alto contenido de grasa (20 %), además contiene también proteína (40 %), hidratos de carbono (25 %), agua (10 %) y cenizas (5 %). Desde un punto de vista alimenticio y comercial sus principales componentes son la proteína y la grasa (De Luna, 2007).

Estudios realizados por la Asociación Americana de Soya (ASA) e investigadores como Waaijbergen (1985), Nolan (1985), Buitrago, Portella y Eusse (1992), han demostrado que el grano integral de soya, para ser utilizado en las dietas de los animales, debe ser sometido a un proceso térmico, el cual destruye los factores anti nutricionales presentes en el grano recién cultivado y permite aprovechar al máximo su potencial de energía y proteína (Valencia y Garzón, 2004).

Se resalta la importancia de la soya en la alimentación animal al permitir la formulación de dietas con suficiente disponibilidad de energía, aminoácidos y ácidos grasos esenciales, haciendo posible satisfacer las necesidades nutricionales de aves y cerdos, exigentes en alta calidad nutricional y elevada densidad energética y proteica. Las características nutricionales del grano de soya son distintas de acuerdo con los principales métodos de industrialización a través de la cocción, tostado y extrusión. Se destacan las ventajas comparativas de la soya en la elaboración de dietas para animales y se evalúa en forma tostada y extruida, en raciones para cerdos en crecimiento y engorde. Se señala el contenido de proteína, aminoácidos, energía y fibra del grano de soya, frente a otras fuentes de origen vegetal (Garzón, 1999).

La harina de soya es el producto de menor procesamiento ya que simplemente se elabora con la molienda de la pasta desgrasada o del frijol descascarillado. Desde el momento en el que nada se remueve, excepto la cáscara o la grasa, su contenido de proteína es ligeramente más elevado comparado con el de la materia prima inicial. El concentrado de proteína se elabora mediante la extracción en fase alcohol-agua o por lixiviación en medio ácido, de la harina desgrasada. El proceso remueve los carbohidratos solubles y el producto resultante contiene alrededor de 70 % de proteína. El aislado de proteína se produce con la extracción

alcalina de la harina seguida por la precipitación en un pH ácido, el producto obtenido es más refinado debido a la remoción de carbohidratos solubles e insolubles, su contenido de proteína es de 90 % (De Luna, 2007).

Por otro lado, la producción pecuaria nacional de los rumiantes para abasto (bovinos y ovinos, principalmente) es afectada, entre otras cosas, por el comportamiento estacional de la producción de forrajes, además de los escasos recursos y tecnología que permiten un manejo adecuado de los alimentos que estos consumen. La información que existe en México sobre los recursos forrajeros es limitada y la poca información disponible es muy variable, depende en gran medida de la fuente o el fin de su uso. La alimentación, en términos generales, representa entre el 50 % y 70 % de los costos de producción de las unidades de producción pecuaria. Diversos estudios han demostrado que la utilización del forraje de soya con alta calidad nutricional es la vía más económica de nutrir a los rumiantes, debido, entre otras cosas, a que no es altamente demandado por otras especies (Hernández, 2009).

2.2.3 Etapas fenológicas de la soya.

Una etapa fenológica se define como la aparición, transformación o desaparición de ciertos rasgos o los cambios morfológicos periódicos que experimentan los vegetales, influenciados por el ambiente (Wancomo, 2010).

La soya es una especie que presenta características fisiológicas, condicionantes de su manejo y utilización, que la diferencian del resto de los cultivos más difundidos a nivel nacional y mundial. Entre sus principales características se pueden mencionar: una importante respuesta fotoperiódica, una alta plasticidad reproductiva y la producción

de semillas con elevados contenidos de proteína y aceite. Para obtener óptimos rendimientos es necesario un adecuado conocimiento del desarrollo y crecimiento del cultivo, y la cuantificación de la influencia de los principales factores genéticos y ambientales que lo afectan. Lo mencionado posibilita una adecuada elección de cultivares y la aplicación de las prácticas de manejo más convenientes para cada ambiente (Morán-Caicedo *et al.*, 2019).

2.2.4 Factores que afectan las etapas fenológicas de la soya.

La fenología son los cambios externos visibles del proceso de desarrollo de la planta, los cuales son el resultado de las condiciones ambientales, cuyo seguimiento es una tarea muy importante para agrónomos y agricultores, puesto que ello servirá para efectuar futuras programaciones de las labores culturales, riego, control de plagas y enfermedades; asimismo le permite evaluar la marcha de la campaña agrícola y tener una idea concreta sobre los posibles rendimientos de sus cultivos, mediante pronósticos de cosecha, puesto que el estado del cultivo es el mejor indicador del rendimiento (Mujica, 1988).

Una etapa fenológica está delimitada por dos fases fenológicas sucesivas. Dentro de ciertas etapas se presentan períodos críticos, que son el intervalo breve durante el cual la planta presenta la máxima sensibilidad a determinado evento meteorológico, de manera que las oscilaciones en los valores de este evento se reflejan en el rendimiento del cultivo; estos se presentan generalmente poco antes o después de las fases, durante dos o tres semanas. El comienzo y fin de las fases y etapas sirven como medio para juzgar la rapidez del desarrollo de las plantas (Yzarra y López, 2001).

2.2.5 Morfología de la soya.

El crecimiento de la planta de soya es un proceso fisiológico que comprende un ciclo completo desde la germinación hasta la maduración del grano. Es una planta herbácea anual (Figura 5), de siembra en primavera-verano, cuyo ciclo vegetativo oscila de tres a siete meses y de 40 a



Figura 5. Planta de soya. Berrocal, R. (2019).

100 cm de envergadura, poco o muy ramificada (generalmente de 1 a 4) dependiendo de la variedad y condiciones ambientales (INIAP, 1996; CORPOICA, 2006).

La semilla de soya contiene proteínas y aceite, así como elevadas concentraciones de lisina, aminoácido que es limitado en la mayor parte de las proteínas de origen vegetal. En algunas variedades mejoradas presentan alrededor del 40-42 % de proteína y del 20-22 % en aceite.

La semilla consiste en un embrión protegido por una fina cubierta llamada pericarpio, ésta cubierta protege al embrión contra hongos y bacterias, antes y después de la siembra. El embrión está formado por la radícula, hipocótilo y epicótilo.

Los cotiledones son carnosos y representan la casi totalidad del volumen y peso de la semilla, suministran nutrientes a la plántula durante las primeras etapas de desarrollo, que comprende aproximadamente dos semanas.

La radícula más adelante se constituye en la raíz primaria. El hipocótilo impulsa a los cotiledones hacia la superficie exterior y el epicótilo es la parte que luego va a construir el tallo.

La forma de la semilla varía desde la casi esférica hasta la achatada y alargada. Generalmente, las semillas tienen un perfil ovalado y su peso oscila entre 20 y 40 mg, pero casi todas las variedades que se cultivan actualmente producen semillas que pesan entre 120 y 200 mg. Algunas variedades presentan una mancha negra que corresponde al hilo de la semilla (Figura 6).

A la madurez, las vainas generalmente tienen 2-3 semillas, pero pueden contener hasta 5. Las vainas son pubescentes y se encuentran distribuidas a lo largo del tallo o ramas que también lo son, al igual que las hojas (IICA, 2004; INIAP, 1996; Espinoza, 2015).

La radícula emerge de una hendidura en la cubierta seminal, cerca del micrópilo y comienza a crecer hacia abajo uno o dos días después de la siembra formando la raíz principal. Luego se inicia el desarrollo de raíces



Figura 6. Semilla de la variedad Ojo de tigre y Valente, respectivamente. Berrocal, R. (2019)

secundarias, para posteriormente emerger de éstas las raíces terciarias. De la parte inferior del hipocótilo brotan raíces adventicias.

Posteriormente, nacen los pelos radicales cerca de la punta de la raíz principal y de otras raíces jóvenes. El crecimiento de las raíces es continuo hasta el período de llenado de las semillas, luego comienza a declinar, para finalmente cesar poco antes que la semilla alcance su madurez fisiológica (INIAP, 1996).

En las raíces (Figura 7), pueden formarse nódulos de bacterias fijadoras de nitrógeno (*Rhizobium japonicum*), en asociación simbiótica con la planta. *Rhizobium japonicum* infecta en contacto con las raíces de la planta, forma unas protuberancias llamadas "nódulos". Dentro de éstos, están las bacterias que toman el nitrógeno preferentemente del aire y lo convierten en un pequeño depósito de este elemento, que es rápidamente aprovechado por la planta para su propia nutrición y crecimiento. Para



Figura 7. Raíz de soya. Berrocal, R. (2019).

realizar la fijación del nitrógeno atmosférico en orgánico, *Rhizobium japonicum* necesita energía que se la suministra la planta en forma de carbohidratos.

Un “nódulo” cuando está sano y activo presenta en su interior un color rojo-rosado, en caso contrario su color es verde o blanco. El tamaño y número de nódulos depende de varios factores, entre ellos, el suministro de inoculante, características del suelo, luz y genotipo de la soya (INIAP, 1996; CORPOICA, 2006).

El tallo es rígido y erecto, adquiere alturas variables, de 0.4 a 1.5 metros, según variedades y condiciones de cultivo. Suele ser ramificado. La raíz principal puede alcanzar hasta un metro de profundidad, aunque lo normal es que no sobrepase los 40-50 cm. Cuando las condiciones de profundidad, humedad y temperatura del suelo son ideales, la plántula emerge a los cinco días de haber sido sembrada.

En la unión del tallo principal con las hojas se forman las yemas axilares. Éstas pueden dar origen a ramas o a racimos de flores. Por lo general, la floración se inicia en el cuarto nudo y está controlada por el fotoperíodo, la temperatura y el genotipo (CORPOICA, 2006; INIAP, 1996; Espinoza, 2015).

Las hojas primarias o unifoliadas son opuestas y están insertadas en el nudo inmediatamente superior a los cotiledones. Las restantes hojas, tanto del tallo principal como de las ramificaciones son trifoliadas (ocasionalmente algunas tienen cuatro o cinco folíolos) y dispuestas en formas alternas. La forma de los folíolos varía entre ovalada a lanceolada, siendo la más frecuente entre las variedades comerciales la ovalada. En cuanto al color de los folíolos, estos dependen de la variedad, edad del cultivo y condiciones ambientales. Los folíolos de las hojas trifoliadas maduras generalmente varían de 4 a 20 cm de longitud y de 3 a 10 cm

de ancho. Los foliolos presentan bordes enteros. Las hojas son de color verde característico que se torna amarillo en la madurez, quedando las plantas sin hojas (INIAP, 1996).

La floración de un cultivo de soya depende de la variedad, temperatura y el fotoperíodo. El número de flores por racimo puede ir de 5 a 10. La flor de la soya (Figura 8) mide de 6 a 7 mm de longitud, es autógama y la polinización cruzada no sobrepasa el 1 %. La flor tiene un cáliz tubular y una corola de cinco pétalos, los cuales son de color blanco, púrpura o combinadas (blanco con púrpura), el color de la flor está relacionado con el color del hipocótilo, de tal manera que plantas con flores blancas tendrán hipocótilos verdes y plantas con flores púrpuras poseerán un hipocótilo de color púrpura. El pétalo más grande denominado "estandarte" se encuentra en la parte posterior. Dos pétalos laterales denominados "alas" y dos delanteros forman la estructura denominada "quilla". La flor cuenta con un ovario (2 a 5 óvulos), diez estambres (nueve soldados y uno libre) y un pistilo. Por ser una flor completa y dada su estructura, la soya se auto fecunda, aunque puede existir un 0.5 % de polinización cruzada (CORPOICA, 2006).



Figura 8. Inicio de floración en soya. Berrocal, R. (2019).

El fruto es una vaina o legumbre, que pierde su color verde a medida que se presenta la madurez y dependiendo de la variedad, su color puede ser: amarillo claro, amarillo grisáceo, castaño o negro. La forma de las vainas puede ser recta o ligeramente curvada. La longitud varía de 2 a 7 cm con un diámetro de 1 a 2.5 cm y el número de semillas de 1 a 5 por vaina. Las variedades comerciales de soya presentan vainas con 1, 2 ó 3 semillas, las cuales son generalmente indehiscentes.

Los tallos, hojas y vainas están cubiertos por finos pelos o pubescencia, y cuando la planta está seca, pueden tomar un color gris o de diferentes tonalidades de castaño o marrón; pueden ser escasas o abundantes y también encrespadas, erectas o con pelillos recortados. La pubescencia de la mayoría de las variedades comerciales es casi erecta (INIAP, 1996).

En este estudio se analizaron tres etapas fenológicas: 100 % de floración, ejote tierno y grano maduro.

100 % de floración: Cuando se presenta una flor abierta en todos los tallos principales. Las flores miden entre 6 y 7 mm de largo y su color puede ser blanca o con distintos tonos de púrpura. La floración comienza en la parte media del tallo principal. Plantas determinadas comienzan a florecer en uno de los cuatro nudos superiores, y la floración continúa hacia arriba y hacia abajo del tallo.

Formación de ejote tierno: Esta etapa corresponde a la emergencia de vainas en uno de los cuatro nudos superiores del tallo principal, en esa etapa contienen semillas de 3 mm de largo. En esa etapa no es raro encontrar vainas formándose, flores marchitas, flores abiertas y botones florales en la misma planta. La formación de vainas se inicia en los nudos inferiores. La planta logra la máxima altura, número de nudos y área foliar. Se incrementa el ritmo de fijación de nitrógeno, llegando al

máximo, para luego disminuir marcadamente. Las semillas inician un período rápido de acumulación de materia seca y nutrientes.

Grano maduro: Luego de la maduración se necesitan cinco a diez días de tiempo seco (baja humedad relativa ambiente), para que las semillas reduzcan su humedad a menos del 15 %, en esa etapa las vainas han llegado a su maduración completa (Figura 9), donde el 95 % de las vainas han tomado el color maduro (Ciampitti, 2017; Toledo, 2006).



Figura 9. Etapa de grano maduro en soya. Berrocal, R. (2019).

2.3 Determinación del contenido de proteína en los alimentos.

El término proteína fue utilizado por vez primera por el químico alemán Gerardus Mulder, en 1838 (Mariano y Rodrigues, 2011), para nombrar a un grupo específico de sustancias muy abundantes en todas las plantas y animales. La palabra "proteína" se deriva del término griego "protos" que significa lo primero, ya que estas sustancias son consideradas como las más importantes de los tejidos vegetales y animales (García, 1993).

Las proteínas son un grupo de biopolímeros constituidos de aminoácidos que exhiben una amplia gama de estructuras y funciones. Cada tipo de proteína tiene una estructura particular definida por su secuencia de aminoácidos, la cual está determinada genéticamente (Boyer, 2000; Delolme, 1999; García, 1993).

Las primeras determinaciones de la proteína de los alimentos para animales, denominadas proteína cruda, se efectuaron a través de la técnica de Kjeldahl, la cual se incluyó como uno de 5 procesos analíticos que en conjunto integraron el análisis químico proximal, propuesto por la estación experimental de Weende, Alemania, a partir de 1860, para realizar la caracterización de la composición nutrimental de los alimentos (Church *et al.*, 2006).

2.4 Análisis químico proximal (A.Q.P)

Los datos de composición química de los alimentos se obtienen principalmente con base en el llamado Análisis Proximal, principalmente en el caso de alimentos balanceados (Mora, 2007). Aun en la actualidad, el análisis químico de uso común para la evaluación nutritiva de los alimentos es el método proximal de Weende. Este fracciona un alimento en porcentaje de: humedad (HUM) y por diferencia a 100 el porcentaje de materia seca (MS), proteína cruda sinónimo de proteína bruta (PC),

extracto etéreo (EE) sinónimo de grasa bruta, cenizas, fibra cruda (FC) sinónimo de fibra bruta y extracto libre de nitrógeno (incorrectamente denominado así ya que no se determina mediante una extracción, sino por la diferencia entre porcentaje de MS y la suma (%PC+%EE+%cenizas+%FC), por lo que su nombre correcto es porcentaje de elementos libres de N.

En el análisis proximal se somete una cantidad de peso conocido de la muestra de alimento, a calentamiento (50-55 °C) por varias horas con el objetivo de determinar su porcentaje de humedad. Posteriormente otra parte de la muestra (deshidratada y molida a tamaño de partícula aproximado de 1 mm), se incinera a 500-600 °C para obtener, por diferencia, el contenido de materia inorgánica total (también denominado cenizas). En otra parte de la muestra se determina proteína bruta (PB), que no es más que una determinación del nitrógeno total liberado por un proceso de digestión química, multiplicado por el factor de 6.25 (valor que se obtiene al asumir que, en promedio, 100 g de proteína contienen 16 g de nitrógeno). Además, otra parte de la muestra se somete a una extracción con disolvente orgánico (éter) que arrastra los lípidos simples y pigmentos, dejando un residuo llamado extracto etéreo (EE) o grasa cruda, que comprende los aceites, las grasas y otros materiales liposolubles como los pigmentos. Otra parte del material sobrante se expone a una digestión ácida, seguida de una alcalina, quedando un residuo que se denomina fibra cruda.

Al restar del 100 % de la muestra el porcentaje de humedad, de materia mineral, de proteína bruta, de extracto etéreo y de fibra cruda, se obtienen por diferencia los elementos libres de nitrógeno (ELN), que supuestamente abarca principalmente a los carbohidratos solubles (almidones, pectinas, etc.) del alimento.

2.4.1 Determinación de humedad.

La humedad se determina por el método de desecación en estufa, ésta determinación se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporización del agua (AOAC 934.01, 1990).

El agua es un nutrimento que el animal necesita en cantidades relativamente grandes. Sin embargo, el agua no contribuye al valor nutritivo de un alimento, excepto en condiciones especialmente de aridez. Por lo contrario, diluye el contenido de nutrimentos sólidos y los hace más susceptibles de sufrir fenómenos de descomposición por enzimas tisulares, bacterianas o de hongos (Tejeda, 1992).

2.4.2 Determinación de extracto etéreo

Se cuantifica utilizando el equipo de Soxhlet, el cual es una extracción semicontinua con un disolvente orgánico (AOAC 920.39, 1990).

Los aceites y grasas presentes en la muestra seca se extraen para cuantificarse con un disolvente orgánico, éter etílico o de petróleo. Por éste método se extraen también otras sustancias solubles en estos disolventes, tales como ceras y pigmentos. En el caso de forrajes verdes ricos en clorofila y pigmentos, por lo que el método descrito sobreestima el contenido de grasa (Tejeda, 1992).

2.4.3 Determinación de Cenizas

Se determina por calcinación en mufla a 500-600 °C, el procedimiento se basa en la combustión de la materia orgánica quedando solamente la materia inorgánica en la muestra (AOAC 942.05, 1990).

Las cenizas son el residuo de la calcinación de la muestra o sea la eliminación de la materia orgánica y el agua. Nutricionalmente esta fracción es demasiado cruda y carece de importancia, ya que no indica que elementos minerales la componen, y en qué proporción se encuentran. Sin embargo, es el punto de partida de la determinación de minerales específicos, además, es muy útil en la identificación de la adulteración de los alimentos con materiales inorgánicos, por lo que se sigue utilizando en el control de calidad de cada alimento (Tejeda, 1992).

2.4.4 Determinación de Fibra cruda

Esta determinación se realiza sometiendo primeramente la muestra de alimento a una digestión ácida (ácido sulfúrico al 1.25 %) por 30 min. Posteriormente el residuo se somete a una segunda digestión, esta vez alcalina (hidróxido de sodio al 1.25 %) por otros 30 min. Finalmente, el residuo se filtra utilizando papel filtro de peso conocido, en un embudo Büchner de cerámica (AOAC 962.09, 1990). El residuo corresponde a la fibra cruda del alimento que contiene una mezcla heterogénea de glúcidos estructurales de la pared celular de los vegetales (celulosa y hemicelulosa) y otros materiales como lignina, esencialmente indigeribles por animales de estómago simple, pero disponibles (los dos primeros) como fuente de ácidos grasos (energía) para los rumiantes. Sin embargo, se ha probado que la combinación de las dos digestiones disuelve hasta el 80 % de la hemicelulosa, del 20-50 % de la celulosa y del 50-90 % de la lignina presente en la muestra, lo que subestima el contenido de la fibra cruda (Goering y VanSoest 1967; Adenskog, 1977) y produce sobreestimación del aporte de energía, ya que la fibra no determinada se cuantifica en los ELN y a estos se les confiere mayor digestibilidad y aporte de energía.

2.4.5 Determinación de Proteína Bruta (PB)

Dado que el elemento característico de las proteínas es el nitrógeno, los métodos de cuantificación de proteínas se basan esencialmente en la determinación del contenido de nitrógeno de la muestra, suponiendo que todo el nitrógeno proviene de proteína. Cuando la muestra contiene nitrógeno de otras fuentes como urea, frecuentemente adicionada en raciones para rumiantes, o aminos y amidas, provenientes de la descomposición de proteína, el método de Kjeldahl sobreestima el contenido de proteínas. Esa es la principal desventaja del porcentaje de PB, ya que no determina que porcentaje de N corresponde a nitrógeno no proteico (NNP).

Además, como ya se mencionó anteriormente, este principio químico se determina a través del método de Kjeldahl, en una unidad de digestión de la materia orgánica y destilación del contenido total de N, por lo que se basa en la determinación del contenido porcentual de Nitrógeno que se multiplica por el factor 6.25 (asumiendo que toda la proteína contiene 16 % de N, lo cual no es verdadero en todos los casos) y con el resultado se estima el contenido de PB en los productos alimenticios (AOAC 954.01, 1990). Por lo indicado anteriormente, otra desventaja del método es que no especifica la cantidad porcentaje que corresponde a proteína verdadera. Por las desventajas anteriormente descritas que presenta la determinación de PB, actualmente es importante cuantificar la proteína verdadera lo cual es posible a través de la determinación del proceso denominado: fracciones de proteína que será descrito a continuación.

2.5 Determinación de las fracciones de proteína

Hasta 1980, el valor estimado de proteína aportada por los alimentos para rumiantes se expresó como proteína bruta o cruda (N total X 6.25), proteína degradable en el rumen (PDR) y proteína no degradable en rumen (PNDR), proteína digestible en intestino (PDI) y en el tracto digestivo total (PD). Esto fue suficiente para balancear las dietas de rumiantes con una producción moderada. Cuando surgió la necesidad de utilizar más eficientemente el potencial productivo de los rumiantes, fue necesario conocer, estimar y cuantificar la degradación de la proteína dentro del sistema digestivo de distintas especies. De esta manera, la investigación llevó al fraccionamiento de la proteína con base en su solubilidad y degradabilidad, obteniendo diferentes fracciones en el alimento, según la cantidad de degradación ruminal o escape de las fracciones consumidas hacia la digestión intestinal o hacia la excreción. Así, se generó la nomenclatura de fracciones de la proteína utilizada por los investigadores de la Universidad de Cornell en los Estados Unidos de América (EUA), en el sistema de proteína metabolizable también conocido como CNCPS (por sus siglas de inglés: sistema de carbohidratos netos y proteína metabolizable) (Avilés, 2011; Guada, 1996).

Según lo descrito por Sniffen *et al* (1992) en el sistema CNCPS se distinguen las siguientes fracciones:

Fracción A: Nitrógeno no proteico, que se compone de nitratos, nitritos, amidas y aminas. Se transforma totalmente a amoniaco en el rumen; además se recicla nitrógeno por la saliva y las venas ruminales cuya cuantía se estima como el 15 % del nitrógeno ingerido. Se degrada siempre de forma completa e instantánea. Como ejemplo de fuente proteica compuesta totalmente por esta fracción, tenemos la urea que es

la principal fuente de nitrógeno no proteico (NNP) disponible, de origen externo o dietario.

Fracción B1: Es la proteína soluble verdadera, 100 % y rápidamente fermentable en el rumen, fuente de aminoácidos para los microorganismos ruminales, cuya concentración es baja en las gramíneas, pero alta en las leguminosas.

Fracción B2: Proteína verdadera insoluble no ligada a la FDN cuya utilización ruminal es del 70-85 %; el resto pasa al intestino delgado donde es completamente digerida. La proteína B2 fermenta lento en el rumen, fuente directa de nitrógeno para las bacterias ruminales y para el animal, con bajo contenido en las gramíneas, alto en algunas leguminosas y muy alto en pastas de oleaginosas y harinas de pescado y carne.

Fracción B3: Proteína verdadera ligada a la FDN; cuya utilización ruminal es del 10-25 %, y al abandonar el rumen por acción enzimática (pepsina, tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidasa y amino péptidos); pasa al intestino delgado donde las proteasas intestinales digieren el 80 % de esta proteína. No es fermentable en el rumen, pero si digestible en el intestino, por lo que también se denomina fuente de proteína sobre paso para el animal; es muy baja en las gramíneas, y muy alta en pasta de oleaginosas y harinas de carne y pescado. También puede hallarse en cantidades apreciables en semillas y frutos leguminosos.

Fracción C: Proteína verdadera ligada a la FDA; no fermentable y no digestible en intestino delgado en ninguna circunstancia. Es la proteína ligada a lignina de la pared celular de las plantas, y es el nitrógeno no utilizable y excretado en las heces. Su concentración aumenta con la maduración del vegetal y puede ser alto en pasta de oleaginosas, y harinas proteicas de origen animal sobre calentadas o mal procesadas (Arreaza *et al.*, 2005; Ruíz, 1990; Ramírez, 2017).

2.6 Determinación de las fracciones de la fibra.

2.6.1 Determinación de Fibra Detergente Neutra.

Los carbohidratos insolubles (estructurales) presentes en las *paredes celulares* de los alimentos, se determinan en el análisis propuesto por VanSoest denominado Fibra Detergente Neutra (FDN) e incluye principalmente celulosa y hemicelulosa, además de pequeña cantidad de lignina (no carbohidrato), constituyente de las paredes celulares de una muestra de alimento, su cantidad es mucho mayor en los forrajes cuando están completamente maduros, aunque todos los alimentos la presentan. Para determinar la FDN se somete a una muestra del alimento a la acción de un detergente neutro en ebullición, durante una hora. El residuo que se recoge teóricamente es la cantidad de celulosa, hemicelulosa y lignina que contienen las paredes celulares de dicho alimento (Caravaca, 2003).

2.6.2 Determinación de Fibra Detergente Ácida

La fracción Fibra Detergente Ácido o lignocelulosa (FDA), como su nombre indica, determina el contenido de celulosa, lignina y cenizas insolubles en FDA, en la muestra analizada. Aporta información sobre la parte de hemicelulosa y celulosa no lignificada y, por tanto, que pueden ser degradadas por los microorganismos existentes en el retículo rumen de los animales rumiantes y herbívoros. Para obtenerla se realiza una hidrólisis en ebullición con un detergente ácido, durante una hora, sobre una muestra, o bien sobre el residuo de FDN (Caravaca, 2003).

3. Material y métodos.

3.1 Metodología.

La fase de campo del presente estudio se realizó en las parcelas agrícolas del Centro de Estudios Profesionales del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, localizado en el Km 14.5 de la carretera Iguala – Cocula, Gro. Geográficamente se encuentra a 18° 16´ latitud norte y 99° 39´ longitud oeste del meridiano de Greenwich, a 640 msnm de altitud, el clima es tropical seco (Köppen modificado por García 1973) con precipitación media anual de 797 mm, temperatura máxima y mínima de 40 y 10 °C, respectivamente. El suelo es vertisol de textura arcillosa color negro con una profundidad de 80 cm de capa arable (Figura 10).



Figura 10. Localización del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero

Las semillas de los genotipos de soya (*Glycine max*): Ojo de tigre, Salcer, Alvina y Valente, se sembraron el 6 de mayo de 2019 en un diseño de

parcelas divididas con cuatro repeticiones. En cada parcela de 6 m de ancho por 8 m de largo, se establecieron 8 surcos y de los cuatro surcos centrales de la parcela, se obtuvieron al azar muestras de 8 plantas en las siguientes etapas fenológicas (Cuadro 1):

Cuadro 1. Descripción de las muestras analizadas.

Variedad	Etapas fenológicas	Tipo de muestra que se analizará
Ojo de tigre	Grano maduro (6/06/2019)	Grano integral, cascarilla, grano sin cascarilla
	Inicio floración (20/08/2019)	Hojas (foliolos + peciolos)
	Ejote tierno (12/09/2019)	Hojas (foliolos + peciolos)
Valente	Grano maduro (6/06/2019)	Grano integral, cascarilla, grano sin cascarilla
	Inicio floración (20/08/2019)	Hojas (foliolos + peciolos)
	Ejote tierno (12/09/2019)	Hojas (foliolos + peciolos)
Salcer	Grano maduro (6/06/2019)	Grano integral, cascarilla, grano sin cascarilla
	Inicio floración (20/08/2019)	Hojas (foliolos + peciolos)
	Ejote tierno (12/09/2019)	Hojas (foliolos + peciolos)
Alvina	Grano maduro (6/06/2019)	Grano integral, cascarilla, grano sin cascarilla
	Inicio floración (20/08/2019)	Hojas (foliolos + peciolos)
	Ejote tierno (12/09/2019)	Hojas (foliolos + peciolos)

El material genético original del cual se obtuvieron los genotipos evaluados en este estudio, fue la variedad ISSAEG-BM₂ desarrolladas para zonas tropicales; la cual presenta las siguientes características generales: la altura de la planta es aproximadamente 56 cm, que se obtienen en 70 días cuando llega al estado de ejote, la madurez de grano se alcanza generalmente a los 100 días, el peso de 100 semillas maduras de 18 g, presenta un rendimiento de grano de 1.5 t ha⁻¹, contiene 38 % de proteína en semilla madura, 17 % de contenido de aceite, es tolerante a la sequía y al desgrane, muy resistente a nematodos y enfermedades foliares, manifiesta las siguientes características organolépticas especiales: agradable al paladar y al olfato. Es la única en que el sabor desagradable se ha suprimido y no requiere un proceso correctivo sofisticado (Banafunzi y Mena, 1980).

El material genético utilizado en este trabajo fue obtenido por Salmerón y Cervantes (2004) mediante un proceso de irradiación recurrente con rayos Gamma de Co 60 de semilla R₄M₁₀ de la variedad ISSAEG – BM₂ a partir del ciclo 14 establecido en el ciclo otoño-invierno (1997) donde se sembraron las 369 líneas L₃ y 184 líneas L₁₀ en R₄M₁₁. Realizaron selección durante el 100 % de floración y en la madurez fisiológica. Entre estas, se seleccionaron líneas que se clasificaron según sus características, en la siguiente forma:

Para producción de forraje y grano: 14 líneas L₃ y 4 líneas L₁₀

Para producción de grano. Estas a su vez se clasificaron como:

- a) Consumo humano: 33 líneas L₃
- b) Uso industrial. 13 líneas L₁₀

La preparación del terreno se realizó en forma mecánica con dos barbechos, un rastreo y un surcado a 0.81 m. La siembra se realizó en

forma manual el día 27 de junio de 2019, depositando la semilla a chorrillo quedando así establecidas las parcelas en una sola hilera. Dos días después, se aplicó un sellador (Sencor®; 35 mL en 15 L de agua). Cada variedad se sembró en una parcela diferente. Se realizaron dos aplicaciones de fertilizante foliar + quelatos de hierro (sulfato ferroso 50 g/15 L agua) en las siguientes fechas; 24 de julio y 13 de agosto, el control de maleza fue manual.

Se tomaron cuatro plantas por genotipo y etapa fenológica del interior de cada parcela, se cortaron utilizando unas tijeras de jardín desde la base del tallo (solo biomasa aérea) inmediatamente después del corte fueron pesados todos los componentes para determinar el porcentaje de cada componente en la planta completa, posteriormente se juntaron las cuatro



Figura 11. Deshidratación de muestras a $50^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Berrocal, R. (2019).

plantas de cada genotipo y etapa fenológica previamente identificadas para llevarlas al laboratorio de Zootecnia en el CEP-CSAEGro donde se separaron los componentes de cada planta como lo son; hojas, tallos, flores y en su caso ejote tierno de manera manual para su posterior deshidratación en una estufa de aire forzado a $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta llevarlas a un peso constante (Figura 11).

Para la fase de análisis químicos, las muestras de grano maduro, hojas en etapa fenológica 100 % de floración y hojas en etapa de ejote tierno, completamente deshidratadas, se molieron primero en molino de mano, esto para después pasarlas al molino Willey en malla 40 y evitar que se dificultara al momento de pasar por las cuchillas y la malla del molino Willey (Figura 12).

Una vez molidas todas las muestras se introdujeron en bolsas de plástico previamente identificadas, y fueron almacenadas en un lugar seguro, seco y lejos de los rayos del sol para evitar cualquier alteración en su composición química.

Posteriormente se trasladaron al laboratorio de Bromatología de la FMVZ-UNAM, donde el grano maduro se separó de la vaina, posteriormente el grano se metió a deshidratar a temperatura de $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 h para determinar la materia seca (MS). Después se hidrató durante 24 horas para luego secarlo nuevamente y separar la cascarilla del grano. Las muestras de grano maduro, 100 % floración y ejote tierno, se molieron en un molino Thomas Wiley con criba de 1 mm. Una vez teniendo las muestras molidas e identificadas, se procedió a determinar en el grano y en el forraje de las otras dos etapas fenológicas, en los genotipos Valente y Ojo de tigre, la proteína bruta (PB) mediante el método de (954.01, AOAC). Además, se analizó el contenido porcentual de proteína insoluble y en la parte soluble se determinó el porcentaje de proteína soluble

verdadera (Krishnamoorthy *et al.*, 1982). Además, se analizó la proteína presente en el residuo de fibra detergente ácida y proteína en el residuo de fibra detergente neutro (VanSchoest *et al.*, 1991). Con los resultados obtenidos en los análisis descritos antes, se calcularon las fracciones de la proteína; A, B1, B2, B3 y C, utilizando el protocolo propuesto por Licitra *et al.*, (1996).



Figura 12. Molino Willey

Así mismo, en el Laboratorio de Bromatología de la FMVZ-UNAM se realizó la determinación del Análisis Químico Proximal (A.Q.P.) para las muestras de grano maduro de las variedades Ojo de tigre, Valente, Salcer y Alvina.

3.2 Análisis Químico Proximal (A.Q.P.)

Cada procedimiento descrito a continuación se realizó por duplicado.

3.2.1 Determinación de humedad

Se pesó en balanza una tara y se registró el peso. Luego se pesó en balanza la tara adicionada de una cantidad de muestra significativa con humedad parcial adquirida durante el almacenamiento, y se registró el peso. Se introdujo en el horno por 24 horas a una temperatura de 55 °C. Después de las 24 horas, se dejó enfriar la tara con la muestra deshidratada, se colocaron en un desecador por 20 min, se pesó y finalmente se registraron los datos.

El porcentaje de humedad se determinó por diferencia entre el peso de la muestra inicial y su peso luego de secarlos en estufa a una temperatura de 55°C durante 24 horas hasta que alcanzaron peso constante.

$$\%Humedad = \left(\frac{(Tara + MF) - (T + MD)}{(Tara + MF) - Tara} \right) \times 100$$

Donde:

Tara= peso en gramos del recipiente deshidratado o tara vacía.

Tara + MF= peso en gramos de la tara deshidratada adicionada con la muestra fresca.

T + MD = peso en gramos de la tara con la muestra deshidratada.

La porción de una muestra que no corresponde a la humedad y donde se concentran los nutrientes es conocida como Materia Seca y se obtuvo de la siguiente manera:

$$\%Materia\ seca = \%100 - \%Humedad$$

3.2.2 Determinación de extracto etéreo.

Previamente la muestra debe estar deshidratada a 55 °C. Se pone un papel dentro de un cartucho de celulosa previamente identificado. Se colocaron los cartuchos de celulosa en horno a una temperatura de 55 °C. Después de 24 horas, se retiraron del horno los cartuchos dejándolos enfriar por 20 min en un desecador. La muestra deshidratada se pesó y colocó dentro del cartucho de celulosa. Se encendió el aparato de Soxhlet y en matraces de bola se colocaron 200 mL de éter etílico y se pusieron a la sección de extracción del Soxhlet los cartuchos, de tal forma que el paso del disolvente fuera rápido (Figura 13) y no se tuvieran fugas del disolvente.

La extracción tuvo una duración de 4 horas, una vez pasado ese tiempo se retiraron los cartuchos con ayuda de unas pinzas de disección largas y se dejaron secar los cartuchos en la campana de extracción.

Los cartuchos ya sin olor a éter se colocaron en el horno a 55 °C y después de 60 min se registraron sus pesos. El contenido porcentual de extracto etéreo, se calculó por medio de la siguiente fórmula:

$$\%Grasa\ total(BH) = \left(\frac{(PCS + GM) - (PC + M)}{GM} \right) \times \%MS$$

Donde:

PCS= peso en gramos del cartucho vacío.

GM= gramos de muestra colocada dentro del cartucho vacío.

PC+M= peso en gramos del cartucho con la muestra desengrasada.

%MS= porcentaje de materia seca.



Figura 13. Extracto Etéreo. Berrocal, R. (2022).

3.2.3 Determinación de Cenizas

Se colocaron los crisoles de porcelana limpios en el horno a una temperatura de 55 °C por 24 horas.

Se pesó 2 gramos de muestra deshidratada y se añadió en los crisoles ya identificados, se calcinaron por 4 horas en mufla precalentada a 600 °C.

Transcurrido el tiempo se dejó enfriar los crisoles y se colocaron de nuevo en el horno a 55 °C por 24 horas (Figura 14).

Después de 24 horas en la estufa los crisoles con las cenizas se pusieron en un desecador por 20 min, se pesaron y registraron los datos.

El porcentaje de cenizas se calculó por medio de la siguiente fórmula:

$$\%Cenizas (BH) = \left(\frac{(P.C. + C) - P.C.S.}{g} \right) \times \%MS$$

Donde:

BH=Base Húmeda.

P.C.+C= peso en gramos del crisol con cenizas.

P.C. S= peso en gramos del crisol a peso constante sin cenizas.

g= peso en gramos de la muestra.

% MS= porcentaje de Materia Seca.

3.2.4 Determinación de Fibra cruda

Se pesó un gramo de la muestra desengrasada y se colocó en vasos Berzelius de 350 mL y se agregó 100 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 1.25 %. En una parrilla de calentamiento se colocaron los vasos con sus correspondientes refrigerantes, se pusieron en ebullición durante 30 min, el tiempo se tomó cuando empezó la ebullición. Pasados los 30 min los vasos se retiraron de la platina y se les agregó agua de la llave hasta

alcanzar 300 mL. Se filtró el residuo en rodaja de papel de celulosa de filtración rápida, usando vacío en el embudo Büchner, el residuo se enjuago con agua de la llave caliente. El residuo se separó de la rodaja con solución de sosa al 1.25 %, se colocó de nuevo en su vaso correspondiente, la solución de hidróxido de sodio al 1.25 % se agregó hasta que la rodaja quedó totalmente limpia.

El volumen de los vasos con la solución de hidróxido de sodio al 1.25 %, se llevó de nuevo hasta 100 mL, los vasos se colocaron de nuevo en la platina, se pusieron a ebullición por un periodo de 30 min.



Figura 14. Cenizas de variedades Salcer, Alvina y Valente. Berrocal, R. (2022).

Se retiraron los vasos y de inmediato se llevaron al equipo de filtrado a través del embudo Büchner, una vez filtrada la muestra en una rodaja de peso conocido, se retiró todo el residuo y se enjuago el vaso con agua caliente de la llave. Las rodajas con residuo fibroso se doblaron y colocaron en el horno a 55 °C, durante 24 horas. Pasado este tiempo las

rodajas se dejaron enfriar en un desecador por 20 min, se pesaron y registraron las cantidades.

Con los datos el porcentaje de fibra se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\%Fibra\ Cruda\ (BH) = \%MS - (\%EE + \%Cen) - \left(\frac{(PR + M) - PRS}{GM} \right)$$

Donde:

%MS= porcentaje de materia seca.

%EE= porcentaje de extracto etéreo.

%Cen= el porcentaje de cenizas.

PR+M= peso de gramos de la rodaja con el residuo de fibra.

PRS= peso en gramos de la rodaja sola.

GM= gramos de muestra utilizada para la determinación.

3.2.5 Proteína Bruta

En 1883, Johan Kjeldahl desarrolló el método analítico para nitrógeno enlazado orgánicamente que lleva su nombre (Connors, 1981).

Se caracteriza por el uso de ácido sulfúrico concentrado en ebullición que efectúa la destrucción oxidativa de la materia orgánica de la muestra y la reducción del nitrógeno orgánico a amoníaco, el amonio es retenido como bisulfato de amonio y puede ser determinado por destilación alcalina y titulación (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1997).

El nitrógeno total de la muestra se determina por destrucción de la materia orgánica con ácido sulfúrico y destilación del amoníaco así originado, que se valora con ácido clorhídrico (Holasek y Flaschka, 2012).

Este método consta de tres etapas: digestión, destilación y titulación.

3.2.5.1 Digestión.

Se pesó un gramo de muestra, y se colocaron en un tubo de digestión donde también se añadió de 15-20 mL de ácido sulfúrico concentrado y la mezcla catalizadora que contiene sulfato de cobre (CuSO_4) y sulfato de potasio (K_2SO_4) para aumentar el punto de ebullición del ácido sulfúrico y aumentar la velocidad y eficiencia del procedimiento de digestión. El objetivo de la etapa de digestión es romper los enlaces de nitrógeno de la muestra para convertir el nitrógeno unido orgánicamente en iones amonio (NH_4^+).



Figura 15. Digestor conectado a trampa. Berrocal, R. (2019).

Se colocaron los tubos en el digestor el cual alcanzó una temperatura entre 350-380 °C. Con el calentamiento de los tubos, se carbonizo la muestra formando una espuma negra ya que el carbono contenido en la muestra es oxidado y el dióxido de carbono se desprende. El digestor se conectó con un sistema de extracción de gases (Figura 15) que contiene hidróxido de sodio (NaOH) al 40 % con el fin de neutralizar los vapores ácidos que se generan. Aproximadamente después de una a dos horas se visualizó un líquido claro de color azul o verde esmeralda transparente, ya que el nitrógeno es transformado en sulfato de amonio indicándonos el término de la reacción (Figura 16).

Al finalizar la digestión se colocaron los tubos en gradillas y usando guantes, se retiran los tubos de digestión dejando que se enfríen a temperatura ambiente por 15-20 min, con el fin de parar la producción de los vapores ácidos y, posteriormente, se llevan al destilador de nitrógeno (Figura 17).

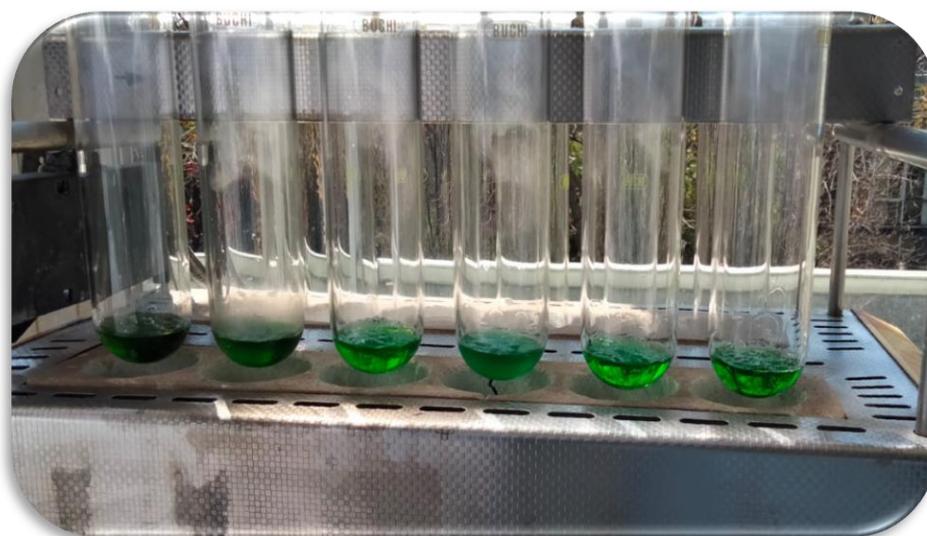


Figura 16. Termino de la digestión. Berrocal, R. (2019).

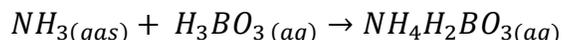
3.2.5.2 Destilación.

En la etapa de destilación, los iones amonio (NH_4^+) se convierten en amoniaco (NH_3) mediante la adición de un álcali (NaOH). Los tubos con la muestra digerida se colocaron en el destilador y en la salida del condensador del equipo se colocó un matraz Erlenmeyer de 250 mL vacíos y rotulados (Figura 18).

El amoniaco (NH_3) es arrastrado al vaso receptor por medio de una corriente de vapor de agua. El destilador automáticamente añade hidróxido de sodio al 50 % para neutralizar el pH de la muestra, y convertir el NH_4^+ en NH_3^- , la corriente de vapor de agua arrastra el NH_3 formado.



Así el NH_3 condensa para que finalmente el NH_3 se captura en 50 mL de ácido bórico al 4 %. Cuando el NH_3 reacciona con el ácido bórico, la solución vira de rojo violeta a verde (pH 4.4- 5.8) debido al cambio del indicador al pasar la forma ácida a la forma básica.



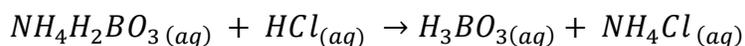
Al finalizar esta etapa, se retira con ayuda de pinzas el tubo de digestión, y por separado el matraz, para comenzar la etapa de titulación.



Figura 17. Destilador. Berrocal, R. (2019).

3.2.5.3 Titulación

Finalmente, en la etapa de titulación, se cuantifico la cantidad de borato de amonio que se formó en la etapa de destilación. Se colocó en una bureta de 50 mL ácido clorhídrico (HCl) 0.1 equivalentes/ L., el cual se utilizó para titular el borato de amonio hasta alcanzar el punto de equivalencia detectado con el cambio de coloración, lo que altero su coloración de verde a morado-rosa, cuando esta coloración se identificó, la titulación se finalizó. Así, se registró en cada muestra el volumen gastado del ácido clorhídrico para regresar a la solución de borato de amonio a ácido bórico, que se puede expresar con la siguiente ecuación:



La cantidad de N contenido en la muestra se determinó con la siguiente ecuación:

$$\%Nitrógeno (BH) = \frac{(ml\ HCl_{utilizados})(6.25)(N\ HCl)(0.014)}{g\ muestra} \times \%MS$$

Donde:

mL HCl= mililitros de HCl 0.1 gastados en la titulación – los gastados en el blanco.

6.25= el porcentaje de proteína en una muestra, calculado como porcentaje de nitrógeno multiplicado por 6.25 (100/16).

0.014= microequivalente de nitrógeno (14/100).

N HCl= Concentración del HCl en (eq/L).

g muestra= gramos de muestra.

%MS= porcentaje de materia seca obtenida.

3.3 Análisis para determinar las fracciones de la proteína.

Previamente a la determinación de las fracciones de la proteína se requieren determinar la fibra detergente neutro y la fibra detergente ácido, como sigue:

3.3.1 Determinación de Fibra Detergente Neutro (FDN) y PB en FDN (PFDN)

Se pesó 0.25 gramos de muestra y se colocó en tubos de ensaye a los cuales se les añadió 25 mL de la solución detergente neutro compuesto de Lauril sulfato de sodio USP, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) sal

disódica, borato de sodio decahidratado, fosfato de sodio dibásico anhidro y trietilenglicol.

Se colocaron a una freidora a una temperatura de 95-100 °C y se dejaron en ebullición constante por una hora. Después, se filtró la muestra al vacío en matraz Kitasato, enjuagando el residuo con agua destilada y acetona. El filtrado de la muestra se efectuó con una rodaja vacía de papel filtro grueso de peso conocido. La rodaja más el residuo después de la filtración, se colocaron en el horno a 55 °C por 24 horas, pasando este tiempo se sacaron las rodajas del horno y se pusieron en un desecador por 20 min. Se pesaron y registraron los datos.

La fórmula para calcular el porcentaje de FDN en la siguiente:

$$\% FDN = \frac{PM - P}{m} \times 100$$

Donde:

PM= peso en gramos del papel filtro seco con muestra después del tratamiento.

P= peso en gramos del papel filtro seco.

m= peso en gramos de la muestra seca.

Posteriormente, el residuo con la rodaja se utilizó para determinar N por el método de Kjeldahl (954.01, AOAC).

3.3.2 Determinación de Fibra Detergente Ácido (FDA) Y PB EN FDA (PFDA)

Se pesó 0.25 gramos de muestra y se colocó en tubos de ensaye a los cuales se les añadió 25 mL de la solución detergente ácido compuesto de ácido sulfúrico y Cetil trimetil bromuro de amoniaco. Los tubos con la

muestra y el detergente ácido se colocaron en una freidora a una temperatura de 95-100 °C y se dejaron en ebullición constante por una hora. Después, se filtró la muestra al vacío en matraz Kitasato, enjuagando el residuo con agua destilada y acetona. El filtrado de la muestra se efectuó con una rodaja vacía de papel filtro grueso de peso conocido. La rodaja más el residuo después de la filtración, una vez que se evaporó completamente la acetona, se colocó en el horno a 55 °C por 24 horas, pasando este tiempo se sacan las rodajas del horno y se pusieron en un desecador por 20 min. Se pesaron y registraron los datos.

La fórmula para calcular el porcentaje de FDA es la siguiente:

$$\% FDA = \frac{PM - P}{m} \times 100$$

Donde:

PM= peso en gramos del papel filtro seco con muestra después del tratamiento.

P= peso en gramos del papel filtro seco.

m= peso en gramos de la muestra seca.

Posteriormente, el residuo con la rodaja se utilizó para determinar N por el método de Kjeldahl (954.01, AOAC).

3.3.3 Proteína Insoluble (PI)

Para la determinación de nitrógeno insoluble, se pesó 0.5 g de muestra y se colocó en tubo de ensayo, se adicionó 5 mL de alcohol terbutílico al 10 %, 5 mL de buffer borato-fosfato (pH=6.8) y se agitó la solución con

ayuda de un agitador tipo vórtex en intervalos de 5 min durante una hora. Se filtró en el papel de Whatman 54 el contenido del tubo en un matraz Erlenmeyer.

Se enjuagó con 50 mL de borato y 250 mL de agua destilada, tanto el tubo de ensaye como la rodaja de papel filtro. Se recuperó la solución para utilizarla en la determinación de proteína soluble verdadera.

El papel filtro con el residuo insoluble se utilizó para determinar N por el método de Kjeldahl (954.01, AOAC)

3.3.4 Proteína soluble verdadera (PVS)

Una vez recuperada la solución, en un vaso de precipitado de 250 mL se colocaron 70 mL del filtrado obtenido en la técnica de N insoluble y soluble. Se agregó 1 mL de ácido clorhídrico al 50 % y se colocó en la platina de calentamiento.

Se dejó en ebullición durante 10 min, se agregó 25 mL de la solución de cobre al 6 % y se dejó en ebullición durante 10 min más, se agregó hidróxido de sodio al 1.25 % hasta que se observó la formación de un precipitado blanquecino.

Se retiró el vaso de la platina y se cubrió con el vidrio de reloj. Se dejó reposar 24 horas. Se filtró en la rodaja. El papel filtro con el residuo se digirió para determinar N por el método de Kjeldahl (954.01, AOAC).

Con los resultados de esas determinaciones se calcularon las fracciones de la proteína según el protocolo citado por Licitra *et al.* (1996), en la forma siguiente:

$$\text{Fracción A (\%)} = \text{PB (\%)} - \text{PINS (\%)} - \text{PVS (\%)}$$

Fracción B1 (%) = PVS (%)

Fracción B2 (%) = PINS (%) - PBFDN (%)

Fracción B3 (%) = PBFDN (%) - PBFDA (%)

Fracción C (%) = PBFDA (%)

Con estas fracciones se estimó la cantidad de proteína digestible (PD) a través de la siguiente fórmula: $PD = PB - C$.

3.4 Análisis estadístico

Según correspondió a análisis en los muestreos de planta completa, o de grano, y con base en los datos obtenidos mediante las técnicas especificadas, a partir de tales muestras analizadas, se determinaron como variables de respuesta las indicadas a continuación:

La concentración porcentual de los siguientes elementos del análisis químico proximal:

- proteína bruta (PB)
- fibra cruda (FC)
- extracto etéreo (EE)
- extracto libre de nitrógeno (ELN)
- cenizas (CE)

Así como de las paredes celulares

- fibra detergente neutro (FDN)
- fibra detergente ácido (FDA)

y, además, se determinó complementariamente

- materia seca (MS)

Para el caso del estudio de planta completa, y cada una de las anteriores variables de respuesta correspondientes, se consideró el análisis estadístico (paquete SAS V9.0) mediante un diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial AxB, donde el factor A correspondió a los genotipos, y el factor B a las etapas fenológicas. Se llevaron a cabo pruebas de comparación de medias con Tukey ($\alpha=0.05$).

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + e_{ijk}$$

Donde

Y_{ijk} = contenido porcentual de cada variable de respuesta.

μ = media general.

α_i = efecto del i-ésimo nivel del factor A (ecotipo).

β_j = efecto del j-ésimo nivel del factor B (etapa fenológica).

$\alpha\beta_{ij}$ = efecto de la interacción del factor A y el factor B.

e_{ijk} = error experimental.

En el caso del estudio de grano, con cada una de las anteriores variables de respuesta correspondientes, se realizó el análisis estadístico (paquete SAS V9.0) mediante un diseño experimental completamente al azar. Se efectuaron pruebas de comparación de medias, para genotipos, con Tukey ($\alpha=0.05$).

$$Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$$

Donde

Y_{ijk} = contenido porcentual de cada variable de respuesta.

μ = media general.

T_j = efecto del j-ésimo nivel del factor B (etapa fenológica).

e_{ij} = error experimental.

4. Resultados y Discusión.

4.1 Resultados del análisis químico proximal en grano maduro.

En el Cuadro 2 se muestran los resultados del análisis químico proximal en el laboratorio de bromatología del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la FMVZ-UNAM, correspondientes al grano maduro de los cuatro genotipos de soya estudiados.

Lamentablemente por el cierre de la UNAM y los laboratorios por los meses de la fase crítica de la pandemia COVID de marzo de 2020 a abril de 2022, no fue posible realizar el AQP en las cuatro repeticiones de todos los tratamientos evaluados. Sin embargo, se presentan los resultados del AQP de una muestra correspondiente al grano maduro de cada uno de los genotipos. Y más adelante se muestran los resultados de las fracciones de la proteína en dos de los genotipos que se alcanzaron a analizar completos.

En cuanto al contenido porcentual de humedad, la cantidad es pequeña porque corresponde a la humedad parcial que adquirieron las muestras (de la humedad relativa ambiente) durante su almacenamiento entre tanto que se completó el AQP. Se debe recordar (cómo se explicó en el capítulo de Material y Métodos de la presente tesis) que las muestras fueron deshidratadas previamente en el CEP CSAEGRO, Cocula, Gro.

En cuanto a los resultados del AQP (Cuadro 2), no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$) en cuanto al contenido de PB, EE, FB y ELN entre los genotipos de soya, excepto el contenido de cenizas, que fue mayor en el genotipo Ojo de tigre, en comparación con los otros tres genotipos.

Cuadro 2. Análisis Químico Proximal de cuatro genotipos de Soya en la etapa grano maduro.

Genotipo	Composición (%) en base seca						
	%Hum	%MS	PB	EE	Cen	FB	ELN
Valente	3.12 ^a ± 0.68	96.88 ^a ± 0.68	40.06 ^a ± 0.38	24.74 ^a ± 0.18	4.90 ^b ± 0.05	6.55 ^a ± 0.38	23.74 ^a ± 0.99
Salcer	2.46 ^a ± 0.06	97.54 ^a ± 0.06	39.01 ^a ± 0.24	24.61 ^a ± 0.44	4.99 ^b ± 0.01	6.68 ^a ± 0.33	24.71 ^a ± 1.01
Alvina	2.98 ^a ± 0.60	97.02 ^a ± 0.60	39.56 ^a ± 0.17	20.61 ^a ± 0.41	5.30 ^b ± 0.32	6.61 ^a ± 0.07	27.93 ^a ± 0.97
Ojo de tigre	4.23 ^a ± 0.49	95.77 ^a ± 0.35	38.58 ^a ± 0.53	22.80 ^a ± 2.35	6.31 ^a ± 0.21	3.16 ^a ± 1.06	27.12 ^a ± 3.15

^{a,b} literales distintas por columna indican diferencia (P<0.05); Hum= humedad; MS= materia seca; PB= proteína bruta; EE=Extracto etéreo; Cen= cenizas; FB=fibra cruda; ELN= elementos libres de nitrógeno

La composición del AQP en los cuatro genotipos del presente estudio fue similar a la reportada en soya integral, por los cuadros de composición de los alimentos del NCR (2021); además, la variación registrada en el contenido de EE y FB fue similar a la que Rani *et al.* (2008) atribuyeron a la distinta genética de los genotipos evaluados por aquellos investigadores en la Universidad Agrícola Haryana Hisar, India. Y similar también a la que obtuvieron al evaluar diversos genotipos Ogbemudia *et al.* (2017), en India, y Bayero *et al.* (2019), en Nigeria.

4.2 Resultados de la evaluación de las fracciones de la proteína en los componentes del grano de Soya.

Los resultados de fracciones de proteína en los componentes del grano de soya se muestran en el Cuadro 3. En los genotipos Ojo de tigre, Valente y Alvina, la PB fue menor en el grano entero (P<0.05) comparada con el grano sin cascarilla, en el genotipo Salcer la diferencia en cantidad de PB

no fue significativa ($P > 0.05$). La explicación es que en todos los genotipos la cantidad de PB en la cáscara del grano fue mucho menor ($P < 0.05$), por tal motivo, cuando se analizó el grano completo (cotiledones más cascarilla) el contenido de PB disminuyó. El contenido de PB en el grano sin cascarilla fue mayor ($P < 0.05$) en el genotipo Valente, comparado con el genotipo Ojo de tigre o Salcer, en cambio, en el genotipo Alvina la cantidad fue intermedia, entre el genotipo Valente y Ojo de tigre, sin embargo, esa cantidad fue superior a la registrada por el genotipo Salcer. Por lo anterior, Salcer fue el genotipo que registró menor cantidad de PB, y eso se vio reflejado en el contenido de PB de la cáscara, pero sólo en comparación de Valente, ya que el contenido de PB en la cascarilla de Salcer, fue similar ($P < 0.05$) al de la cáscara de Ojo de tigre y Alvina.

En cuanto al contenido de PB en el grano completo, otros estudios que han quedado resumidos en los cuadros de composición de los alimentos que muestra el NRC (2021), señalan un intervalo en el contenido de PB en grano entero entre 35.3 % y 43.8 %. Mientras que, en el grano sin cascarilla, la PB se reporta entre el 39.4 % y 45,6 % de acuerdo con Heuzé *et al.* (2017), y los porcentajes son similares a los de la presente investigación.

En el presente estudio (Cuadro 3), la variedad Valente registro 46.19 % de proteína bruta (PB) y fue la de mayor contenido, en cambio la menor cantidad de PB la manifestó la variedad Salcer (40.14 % PB). Por lo tanto, la PB registrada en los genotipos de soya en estudio tiene alto contenido proteico.

Cuadro 3. Determinación de fracciones de proteína en los componentes del grano de soya.

Genotipo	Componente	% PB	% PINS	% PVS	% NNP
Ojo de tigre	Grano	40.05 ^c	17.14 ^{a, b}	11.70 ^d	11.22 ^{a, b}
	Completo				
	Grano sin cáscara	43.75 ^b	17.58 ^{a, b}	16.62 ^a	9.57 ^b
Valente	Cáscara	11.35 ^{e, d}	7.79 ^e	2.71 ^e	0.85 ^c
	Grano	40.59 ^c	15 ^d	14.65 ^{b, c}	10.94 ^{a, b}
	Completo				
Alvina	Grano sin cáscara	46.19 ^a	16.98 ^{a, b, c}	16.19 ^{a, b}	13.03 ^a
	Cáscara	12.08 ^d	6.56 ^{e, f}	1.40 ^e	4.13 ^c
	Grano	39.68 ^c	16.52 ^{b, c}	13.59 ^c	9.58 ^b
Salcer	Completo				
	Grano sin cáscara	45.13 ^{a, b}	18.17 ^a	16.77 ^a	10.19 ^{a, b}
	Cáscara	11.23 ^{e, d}	7.17 ^{e, f}	1.05 ^e	3.01 ^c
Salcer	Grano	39.11 ^c	14.99 ^d	13.37 ^{c, d}	10.75 ^{a, b}
	Completo				
	Grano sin cáscara	40.14 ^c	15.74 ^{c, d}	13.47 ^{c, d}	10.93 ^{a, b}
	Cáscara	10.27 ^e	6.47 ^f	1.05 ^e	2.75 ^c

^{a, d, c, d, e} Distintas literales por columna indican diferencia (P<0.05); PB = proteína bruta; PINS=proteína insoluble; PVS= proteína verdadera soluble; NNP= proteína como nitrógeno no proteínico.

Actualmente la soya está considerada como la fuente proteica de mejor elección para la alimentación de cerdos y aves en crecimiento y finalización por su alto contenido proteico, alta digestibilidad, buen balance de aminoácidos, calidad consistente y bajos costos comparada con otras fuentes proteicas. Sin embargo, para que la proteína sea aprovechable para animales no rumiantes es necesario cocimiento o calentamiento del grano porque tiene inhibidores de tripsina. Algunos alimentos, como las leguminosas de grano crudas (soya, frijol, haba, garbanzo), contienen un factor que inhibe la acción de la tripsina. Su

consumo causa entonces una disminución en la digestión de las proteínas y por tanto una reducción en el crecimiento o la producción animal. Los inhibidores de tripsina son termolábiles, por lo que los procesos de extracción de aceite (como en el caso de la soya), de cocción (como en el caso del frijol consumido por el humano), o de empastillado o peletizado (que implica la aplicación de calor húmedo), destruyen total o parcialmente el factor (Brautigan, 1972). Las proteínas de soya como la de la mayoría de las leguminosas están compuestas por globulinas, aproximadamente 70 % del total de proteínas y un 30 % de albúminas que corresponden, entre otros, a factores antitripticos (Bowman Birk y Kunitz) (Dia *et al.*, 2012) y a la lectina (Palazolo *et al.*, 2016).

En la cáscara de soya la PB se reporta entre 9.5 % y 18.6 % (Heuzé *et al.* 2017). En el presente estudio, (Cuadro 3), la cáscara de soya registró mayor contenido en el genotipo Valente (12.08 %), y la menor cantidad de PB se obtuvo en el genotipo Salcer (10.27 %). Algunas investigaciones de Norteamérica (Heuzé *et al.*, 2017) han concluido que la cascarilla de soya es una excelente fuente de energía para suplementar forrajes de baja calidad. La cascarilla de soya es una buena fuente de fibra y se le atribuye un cierto efecto lactogénico derivado del mayor aporte de fibra digestible, lo cual aumenta la síntesis de lactosa. Sin embargo, suministrada a niveles altos puede ser limitante para asegurar un mayor crecimiento, especialmente en animales altamente productivos.

En cuanto al contenido de proteína insoluble (PINS) en los componentes del grano de soya, la mayor cantidad ($P < 0.05$) se registró en el grano sin cascarilla del genotipo Alvina y esa concentración (18.17 %) fue similar al grano completo y grano sin cáscara del genotipo Ojo de tigre y Valente. En cambio, el contenido de PINS fue superior en grano entero del mismo genotipo Alvina, en tanto que ésta última cantidad (16.51 % PINS) fue similar ($P > 0.05$) a la que presentó el grano sin cáscara del genotipo Ojo

de tigre, sin embargo, fue mayor al 14.99 % de PINS que registró el grano entero del genotipo Salcer. Con los datos anteriores es posible deducir que además de la diferencia en el contenido de PINS debida al genotipo de la soya, la PINS presente en la cáscara de soya también es determinante de la cantidad de PINS en el grano de soya integral. En el presente estudio, en todos los genotipos estudiados la cascarilla del grano fue la que registró el menor contenido de PINS, variando entre 6.47 % PINS, en el genotipo Salcer, y 7.78 % PINS en el genotipo Ojo de tigre. Con respecto a la PINS en el grano de soya de los genotipos evaluados en el presente estudio, los valores son similares a los que indica la literatura ya que al respecto FEDNA (2019) indica un porcentaje de solubilidad de la proteína en KOH entre 72 y 85 %.

En cuanto al contenido de proteína verdadera soluble (PVS) en los componentes del grano de soya, la mayor cantidad ($P < 0.05$) se registró en el grano sin cascarilla del genotipo Alvina, y esa concentración (16.77 %) fue similar al grano sin cáscara del genotipo Ojo de tigre, así como también al grano sin cáscara del genotipo Valente, sin embargo, fue mayor ($P < 0.05$) a la PVS que manifestó el grano completo del genotipo Valente mostrando un contenido de PVS intermedio que a la vez, fue superior a la PVS que registraron el grano completo del genotipo Alvina, grano completo y grano sin cascarilla del genotipo Salcer, y grano completo del genotipo Ojo de tigre, que fue el que registro la menor concentración de PVS dentro del grano de soya (11.96 % PVS). Ya que en lo que respecta al contenido de PVS en la cáscara de soya, los cuatro genotipos evaluados registraron la menor cantidad de PVS ($P < 0.05$) la cual varió entre 1.05 y 2.71 %. Los resultados del presente estudio en cuanto al grano de soya se refieren, son similares a los que señalan otras fuentes de información, que indican una solubilidad de la proteína en agua entre 12 y 30 % (FEDNA, 2019).

En cuanto al contenido de nitrógeno no proteínico (NNP) en los componentes del grano de soya, la mayor cantidad ($P < 0.05$) la registraron: el grano sin cáscara del genotipo Valente (13.02 % NNP) y grano completo del mismo genotipo, el grano completo del genotipo Ojo de tigre, grano sin cáscara del genotipo Alvina, grano completo y grano sin cáscara del genotipo Salcer, en cambio, grano completo del genotipo Ojo de tigre y del genotipo Alvina manifestaron una concentración de NNP intermedia (9.56 y 9.57 %). Es importante hacer notar que las cáscaras de los cuatro genotipos de soya, registraron la menor cantidad de NNP.

4.3 Resultados de la evaluación de fracciones de la proteína en grano maduro y forraje en 100% de floración.

En cuanto al contenido de PB, como se mencionó anteriormente, en etapa de grano maduro el genotipo Salcer manifestó menor contenido de PB en comparación con el genotipo Valente. Sin embargo, en el forraje de esos genotipos en etapa de 100 % floración el contenido de PB no manifiesta el mismo comportamiento, como puede apreciarse en el Cuadro 4. En etapa 100 % floración el forraje que registra menor contenido de PB ($P < 0.05$) es el genotipo Ojo de tigre, lo cual indica que al llegar a la madurez los genotipos de soya, al estar realizando fotosíntesis la planta para el llenado del grano, la cantidad de proteína que los genotipos almacenan en el grano, probablemente para la función de reproducción, es distinta en función de su información genética. En este estudio, bajo las condiciones de los factores de clima y suelo que intervienen en el cultivo de la soya, las plantas del genotipo Ojo de tigre, partiendo de 14.36 % de PB en la planta en 100 % floración, acumulan 40.04 % PB en la etapa de grano maduro, manifestándose poco más eficientes que el genotipo Salcer, ya que aun cuando la cantidad de PB en este último es

poco menor que la del genotipo Ojo de tigre, en grano maduro en realidad no difiere significativamente ($P > 0.05$).

Cuadro 4. Fracciones de la proteína en grano maduro de soya y forraje en 100% floración.

Etapa	Genotipo	% PB	% PINS	% PVS	% NNP
Grano Maduro	Ojo de tigre	40.05 ^{a, b}	17.14 ^a	11.70 ^b	11.22 ^a
	Valente	40.59 ^a	15.06 ^b	14.65 ^a	10.88 ^a
	Alvina	39.68 ^{a, b}	16.69 ^a	13.59 ^{a, b}	9.40 ^a
	Salcer	39.11 ^b	14.99 ^b	13.37 ^{a, b}	10.75 ^a
100% Floración	Ojo de tigre	14.37 ^d	11.24 ^c	2.46 ^c	0.67 ^b
	Valente	16.07 ^c	9.88 ^c	2.54 ^c	3.66 ^b
	Alvina	16.97 ^c	10.84 ^c	2.76 ^c	3.37 ^b
	Salcer	16.22 ^c	10.98 ^c	2.58 ^c	2.67 ^b

^{a,d,c,d,e} Laterales distintas por columna indican diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$)

En el presente estudio, los cuatro genotipos evaluados en etapa 100 % de floración, registraron menor cantidad de PB ($P < 0.05$) en esta etapa, comparados con la etapa de grano maduro, indicando la importancia de esta especie para la transformación y composición de los fotosintatos nitrogenados, que la soya deriva hacia el grano, lo cual refleja que es una excelente fuente de proteína y energía disponible para la alimentación humana y animal.

En cuanto a la variación en contenido de nitrógeno no proteínico (NNP) por efecto de la etapa: grano maduro y forraje en 100 % floración (Cuadro 4), se obtuvo que la concentración en el grano maduro en los cuatro genotipos evaluados fue superior ($P < 0.05$) a la registrada en el forraje en etapa 100 % floración, y no hubo diferencias entre los genotipos, dentro de cada etapa fenológica. Las cantidades de NNP en grano maduro

estuvieron dentro del intervalo que para el grano de soya señalan los cuadros de composición de los alimentos para bovinos (NRC, 2021).

De acuerdo con la literatura (Heuzé *et al.*, 2017) el forraje de soya contiene entre el 11% hasta el 22% de PB. Es importante recordar que el principal factor que influye en la calidad de forraje de la soya es la madurez en el momento de la cosecha, ya que la concentración de proteína disminuye durante la floración y aumenta durante la formación de vainas. Hay que tener cuidado en la utilización del forraje de soya en esta etapa, ya que puede causar timpanismo (aventazón o hinchazón) en los rumiantes. La indigestión (también llamada empaste) es una alteración digestiva y se puede producir con cualquier forraje que contenga poca fibra y alta proteína, provocando una rápida fermentación ruminal.

En cuanto a la modificación del contenido de PINS por efecto de la etapa grano maduro y forraje en 100 % floración, en grano maduro los genotipos Ojo de tigre y Alvina mostraron mayor cantidad y esta fue superior a la de los genotipos Valente y Salcer (Cuadro 4). Por otra parte, el contenido de PINS en etapa de grano maduro fue superior ($P < 0.05$) al que manifestaron todos los genotipos en etapa 100 % de floración. Lo anterior confirma que una mayor cantidad de la proteína sintetizada en ambas etapas, la soya la acumula como proteína insoluble en las paredes celulares y otros tejidos estructurales presentes en las células, tanto en el grano maduro como en el forraje en etapa 100 % floración. En el presente estudio, sin haber realizado la comparación estadística entre PINS y PVS, se observa que el contenido porcentual de PVS en los genotipos evaluados, fue inferior sobre todo en etapa 100 % floración. Otro aspecto importante es que la cantidad de PVS en grano maduro fue ligeramente inferior a la concentración de PINS, en esa misma etapa, apuntando a la importancia de determinar qué cantidad de PINS

realmente corresponde a proteína verdadera poco soluble, de la cual, muy poca cantidad se fermenta en el rumen, pero se digiere ampliamente en el intestino de los rumiantes. Dicha fracción se determina a través de la fracción B3, una parte de la cual, se muestra y discute en el apartado 4.5.

En cuanto al contenido de PVS por efecto de etapa fenológica, en grano maduro el genotipo Ojo de tigre registró menor cantidad ($P < 0.05$), pero solo comparado con el genotipo Valente, ya que los genotipos Alvina y Salcer manifestaron una concentración intermedia similar a la de los anteriores genotipos ($P > 0.05$). En cambio, la cantidad de PVS fue mucho menor en los cuatro genotipos en etapa 100 % floración, indicando que probablemente a partir de esa etapa, la soya empieza a transferir una buena cantidad de proteína fotosintetizada, hacia el crecimiento de los cotiledones y acumulación en el grano maduro

4.4 Resultados de la evaluación de las fracciones de proteína, incluida la unida al residuo de FDN y FDA, en dos genotipos de soya y tres etapas fenológicas.

En el Cuadro 5 se muestran los resultados del efecto de tres etapas fenológicas sobre las fracciones de proteína en dos genotipos de soya. Como se señaló anteriormente, debido al cierre del laboratorio, ocurrido durante la pandemia, solo fue posible evaluar la variación en las tres etapas fenológicas, en dos de los genotipos de soya: Ojo de tigre y Valente.

En cuanto al contenido de PB, el grano maduro registró mayor cantidad de proteína ($P < 0.05$), tanto en el genotipo Ojo de tigre como en Valente, comparado con forraje en etapa 100 % floración o forraje en etapa ejote tierno.

Cuadro 5. Efecto de la etapa fenológica en dos genotipos de soya sobre las fracciones de la proteína y la proteína unidad al residuo FDN (PFDN) y FDA (PFDA).

Etapa	Genotipo	% PB	% PINS	% PVS	% PFDN	% PFDA
Grano Maduro	Ojo de tigre	40.02 ^a	16.14 ^a	12.81 ^a	2.71 ^c	1.23 ^c
	Valente	40.24 ^a	15.57 ^a	15.17 ^a	2.54 ^c	1.31 ^c
100% Floración	Ojo de tigre	18.15 ^b	11.51 ^c	2.54 ^b	3.76 ^b	1.75 ^{b, c}
	Valente	18.59 ^b	13.56 ^b	2.41 ^b	4.55 ^a	2.01 ^b
Ejote tierno	Ojo de tigre	14.68 ^c	9.97 ^d	2.71 ^b	4.72 ^a	2.01 ^b
	Valente	13.56 ^d	9.40 ^d	2.36 ^b	4.90 ^a	3.67 ^a

^{a,d,c,d,e} Diferentes laterales entre tratamientos indica diferencia significativa, (P<0.05)

En cuanto al contenido de PB, el grano maduro registró mayor cantidad de proteína (P<0.05), tanto en el genotipo Ojo de tigre como en Valente, comparado con forraje en etapa 100 % floración o forraje en etapa ejote tierno. Las cantidades fueron similares entre sí, en ambos genotipos, excepto en la etapa ejote tierno, en la cual el genotipo Ojo de tigre registró mayor cantidad (14.67 % PB), comparado con el genotipo Valente (13.55 % PB). La disminución en la cantidad de PB registrada en el forraje conforme la planta avanza hacia la madurez del grano, confirma que después de las etapas fenológicas del desarrollo de la planta y el 100 % de floración, la planta de soya dirige mayor cantidad de la proteína fotosintetizada hacia la consolidación de los tejidos del grano. Por esa razón, en la etapa de ejote tierno el contenido de PB en el follaje disminuye (P<0.05) en comparación al que registra en la etapa previa y sobre todo en grano maduro.

En los resultados del contenido de PINS, la concentración de esta fracción en ambos genotipos analizados manifiesta un comportamiento similar al ocurrido en contenido de PB, la mayor cantidad de PINS se registró en grano maduro, y el contenido de PINS en el forraje en etapa 100 % floración desciende y manifiesta menor contenido ($P < 0.05$) en la etapa de ejote tierno.

Respecto al contenido de PVS, la concentración de esta fracción en ambos genotipos analizados manifiesta un comportamiento distinto al ocurrido en el contenido de PB, ya que aun cuando la mayor concentración de PVS se manifiesta en el grano maduro, el contenido de PVS tanto en el follaje de la etapa 100 % floración como en el de la etapa ejote tierno, fue similar ($P > 0.05$) en ambos genotipos, y no manifestó disminución al aumentar la madurez del grano. Probablemente la PVS es utilizada por las células de la planta en igual cantidad para las funciones vitales y no se remueve tanto al pasar de la etapa 100 % floración a la de ejote tierno, no obstante, como ocurrió en el caso de contenido de PB y PINS, la cantidad de PVS aumentó en los tejidos de ambos genotipos de soya, al llegar a la etapa de grano, debido posiblemente a la preparación de los cotiledones y el embrión para la reproducción.

Con respecto a los resultados de contenido de proteína unida al residuo fibra detergente neutro (PFDN), la cantidad fue mayor en ambos genotipos en la etapa ejote tierno, no obstante, en la etapa 100 % floración el contenido de PFDN fue mayor ($P < 0.05$) en el genotipo Valente comparado con Ojo de tigre en esta etapa. Posteriormente el contenido de PFDN fue menor en ambos genotipos, en la etapa grano maduro. Ese comportamiento es congruente con la proporción de cáscara en los tejidos presentes en el grano, y conviene que la proporción de cáscara con mayor contenido de paredes celulares presentes en la fibra, no aumente en el grano, lo mismo la proteína unida a esa fibra, ya que el incremento en

esa fracción proteínica unida a la fibra (PFDN), disminuye la disponibilidad y aprovechamiento de tal proteína por parte del humano y los animales no rumiantes. El hecho de que en el grano maduro haya menor cantidad de PFDN, es importante aún para el animal rumiante, ya que la diferencia entre la cantidad de PINS y PFDN equivale a la concentración de fracción B2, y representa la cantidad de proteína verdadera de lenta degradación que el rumiante puede utilizar como proteína aprovechable en rumen, y en el caso del grano de soya, es transformada por los microorganismos en proteína microbiana, la cual contiene una cantidad elevada de aminoácidos esenciales que el rumiante utiliza para aumentar su productividad.

En los resultados de la fracción de proteína unida al residuo fibra detergente ácido (PFDA), el genotipo Valente registró mayor cantidad en la etapa de ejote tierno. Por otra parte, la concentración fue menor ($P < 0.05$) en el genotipo Valente en etapa 100 % floración, y en genotipo Ojo de tigre en etapa de ejote tierno, mientras que el genotipo Ojo de tigre en etapa 100 % floración registró una concentración menor similar a la de los dos anteriores y ligeramente superior, pero similar ($P > 0.05$), a la que ambos genotipos registraron en la etapa grano maduro. En esta última etapa ambos genotipos registraron menor contenido de PFDA y como se mencionó anteriormente, en la discusión de los resultados del contenido de PFDN, es muy conveniente que los genotipos evaluados en esta investigación presentaran bajo contenido de PFDA en el grano maduro. La cantidad de PFDA corresponde a la fracción C, de las fracciones de la proteína según el CNCPS de la Universidad de Cornell, y se considera la proporción del contenido de PC que es completamente indigestible, tanto para el humano como para cualquiera de los animales domésticos (rumiantes y no rumiantes). Por esa razón, el hecho de que en los genotipos de soya la cantidad de PFDA sea pequeña, menor a las

otras fracciones en cualquiera de las etapas fenológicas evaluadas (excepto para la PVS en la etapa de ejote tierno), significa que los genotipos de soya evaluados depositan muy poca cantidad de la proteína sintetizada como proteína indigestible, y eso es muy relevante ya que la soya es un cultivo de importancia mundial debido a la cantidad de proteína aprovechable que aporta para la nutrición humana y animal.

4.5 Resultados de la evaluación de las fracciones de proteína (A, B1, B2, B3 y C) en dos genotipos de soya y tres etapas fenológicas.

En el Cuadro 6 se muestra la evaluación de las fracciones de proteína (A, B1, B2, B3 y C) en dos genotipos de soya y tres etapas fenológicas. Como fue indicado al describir la metodología de esta tesis, en el capítulo anterior, estas fracciones de la proteína se calculan con los resultados de las determinaciones discutidas en los párrafos anteriores.

En el Cuadro 6 se muestra la variación en el contenido de las fracciones de proteína por efecto del genotipo en tres etapas fenológicas de la soya, en los genotipos: Ojo de tigre y Valente. En la etapa fenológica grano maduro el contenido de fracción A es mayor ($P < 0.05$) en ambos genotipos de soya, comparativamente a la cantidad de fracción A registrada en las hojas de la planta, tanto en la etapa 100% floración como en ejote tierno. La cantidad de fracción A expresada como porcentaje de la proteína total se encuentra entre 13.2 y 27.6 % de la PB, en esas etapas (Figura 1).

Esa proporción es similar a la reportada en los cuadros de composición de los alimentos para ganado bovino (NRC, 2021). La proteína soluble es rápidamente degradable en el rumen y comprende la fracción A o nitrógeno no proteico, que en el rumen primeramente es convertido en amoníaco, después las bacterias transforman el amonio en radical amina

que introducen a diferentes cadenas carbonadas y de esa forma sintetizan los aminoácidos que requieren para la síntesis de su proteína microbiana.

Cuadro 6. Resultado de la evaluación de las fracciones de la proteína (A, B1, B2, B3 y C) en dos genotipos de soya y tres etapas fenológicas.

Etapa	Genotipo	% A	% B1	% B2	% B3	% C
Grano Maduro	Ojo de tigre	11.07 ^a	12.81 ^a	13.43 ^a	1.49 ^{c, d}	1.23 ^c
	Valente	9.5 ^a	15.17 ^a	13.03 ^a	1.23 ^d	1.31 ^c
100% Floración	Ojo de tigre	4.11 ^b	2.54 ^b	7.75 ^c	2.01 ^{b, c}	1.75 ^{b, c}
	Valente	2.63 ^b	2.41 ^b	9.01 ^b	2.54 ^{a, b}	2.01 ^b
Ejote tierno	Ojo de tigre	1.99 ^b	2.71 ^b	5.26 ^d	2.71 ^a	2.01 ^b
	Valente	1.79 ^b	2.36 ^b	4.51 ^d	1.23 ^d	3.67 ^a

^{a,d,c,d,e} Literal distinta por columna indica diferencia (P<0.05); A= nitrógeno no proteínico; B1= proteína verdadera rápidamente degradable; B2= proteína verdadera lentamente degradable; B3= proteína verdadera no degradable en rumen digestible en intestino, C= proteína completamente indigestible unida a la fracción FDA.

Esa proporción es similar a la reportada en los cuadros de composición de los alimentos para ganado bovino (NRC, 2021). La proteína soluble es rápidamente degradable en el rumen y comprende la fracción A o nitrógeno no proteico, que en el rumen primeramente es convertido en amoníaco, después las bacterias transforman el amonio en radical amina que introducen a diferentes cadenas carbonadas y de esa forma sintetizan los aminoácidos que requieren para la síntesis de su proteína microbiana. Cuando los microorganismos abandonan la porción del tracto fermentativo integrado por el rumen y retículo, debido a las contracciones de la cavidad fermentativa, los microorganismos son digeridos en el abomaso e intestino delgado por medio de las enzimas proteolíticas del animal, y ya como aminoácidos y dipéptidos, se absorben a través de la

mucosa intestinal y constituyen la fuente de aminoácidos para las funciones del metabolismo del rumiante.

Con respecto a la cantidad de fracción B1, la mayor cantidad la registraron ambos genotipos en la etapa de grano maduro ($P < 0.05$) en comparación con el follaje de las etapas 100 % floración y ejote tierno. Expresada como porcentaje de la proteína total la proporción de B1 en la etapa grano maduro estuvo entre 32.03 y 37.7 %, para el genotipo Ojo de tigre y Valente, respectivamente. En cambio, en esos mismos genotipos, pero en etapa 100 % floración y ejote tierno, la proporción de B1 como porcentaje de la proteína total estuvo dentro del intervalo 12.96 % para Valente en 100 % Floración y 18.46 % para Ojo de tigre en etapa de ejote tierno. En las etapas mencionadas cuyas características morfológicas se muestran en la Figura 1, las proporciones de fracción B1 son similares a las reportadas en los cuadros de composición de los alimentos para ganado bovino (NRC, 2021). Debido a que en la etapa de ejote tierno el contenido de PB es menor ($P < 0.05$) que el de la PB en 100 % floración, por esa razón, la proporción es un poco mayor en Ojo de tigre en etapa de ejote tierno, sin embargo, la cantidad de B1 es similar en las etapas anteriores al grano maduro. Se debe recordar que la fracción B se divide en B1, B2 y B3, cada una tiene diferente velocidad de degradación. La fracción B1 corresponde a proteína verdadera de rápida degradabilidad. La fracción B2 es de degradabilidad intermedia y la fracción B3 es de lenta degradabilidad.

En cuanto a los resultados de la fracción B2, la mayor cantidad de ésta ($P < 0.05$) se registró en la etapa grano maduro, una cantidad menor se manifestó en la etapa 100 % floración, y la menor cantidad de B2 se obtuvo sobre todo con el genotipo Valente, en la etapa de ejote tierno, comparada con el genotipo Ojo de tigre. En la etapa grano maduro, cuando la fracción B2 se expresó como porcentaje de la proteína total, la

proporción de B2 se situó entre 33.56 y 32.38 %, para el genotipo Ojo de tigre y Valente, respectivamente. En cambio, en esos mismos genotipos, pero en etapa 100 % floración y ejote tierno, la proporción de B2 como porcentaje de la proteína total estuvo, en 100 % Floración, dentro del intervalo 42.70 % para el genotipo Ojo de tigre y 48.47 % para el genotipo Valente; en cambio, en ejote tierno esa proporción estuvo entre 35.83 % para el genotipo Ojo de tigre y 33.26 % para el genotipo Valente, de manera que fue notorio (Figura 1) como la fracción B2 disminuyó a medida que la soya avanzó de la etapa 100 % floración a la etapa de grano maduro. Las proporciones de B2 indicadas en las tres etapas fenológicas, son similares a las reportadas en los cuadros de composición de los alimentos para ganado bovino (NRC, 2021).

En lo que respecta a los resultados obtenidos en el presente estudio en la fracción B3, la cantidad fue mayor ($P < 0.05$) en el genotipo Ojo de tigre en la etapa de ejote tierno, una cantidad similar registró el genotipo Valente, en la etapa 100 % floración, y en esa misma etapa el genotipo Ojo de tigre registró un contenido similar al del genotipo Valente, pero inferior al del genotipo Ojo de tigre en la etapa ejote tierno, así mismo, el genotipo Ojo de tigre manifestó una concentración todavía más baja que las anteriores en la etapa grano maduro. La concentración más baja de B3 ($P < 0.05$) se registró en el genotipo Valente, tanto en la etapa ejote tierno como de grano maduro. Cuando los resultados de la fracción B3 se expresaron como porcentaje de la proteína total, la mayor proporción se registró en el forraje, en la etapa 100 % floración el intervalo estuvo entre 11.07 % y 13.66 %, para los genotipos Ojo de tigre y Valente, respectivamente; en etapa ejote tierno el intervalo fue: 9.07 % y 18.46 %, para los genotipos Ojo de tigre y Valente, respectivamente. En la etapa grano maduro la proporción de B3 como porcentaje de la proteína total fue menor ($P < 0.05$) localizándose en el intervalo. 3.06 % y 3.72 % para

los genotipos: Valente y Ojo de tigre, respectivamente. Las proporciones de B2 indicadas en las tres etapas fenológicas, son similares a las reportadas en los cuadros de composición de los alimentos para ganado bovino (NRC, 2021). La fracción B3 se degrada en rumen solo en un 10-25 %, por lo que gran parte de esta proteína pasa al intestino, donde es digerida debido a la acción enzimática y se convierte en la fracción de mayor utilidad y eficiencia para los rumiantes (Sniffen *et al.*, 1992).

En los resultados obtenidos en la fracción C, la cantidad fue menor ($P < 0.05$) en el genotipo Valente en etapa 100 % floración, y en genotipo Ojo de tigre en etapa de ejote tierno, mientras que el genotipo Ojo de tigre, en etapa 100 % floración, registró una concentración menor similar a la de los dos anteriores y ligeramente superior, a la que ambos genotipos registraron en la etapa grano maduro. Cuando la cantidad de Fracción C se expresó como contenido porcentual de la proteína total (Figura 1). La mayor proporción se registró en las etapas de follaje, la proporción en la etapa 100 % floración manifestó un intervalo entre 9.64 % y 10.81 % para los genotipos Ojo de tigre y Valente, respectivamente; en tanto que en la etapa ejote tierno la proporción de fracción C se situó entre 13.69 % y 27.06 %, para los genotipos Ojo de tigre y Valente, respectivamente. Afortunadamente la proporción de fracción C fue menor en la etapa grano maduro, ya que solamente estuvo entre 3.07 % y 3.25 % de la PB, para los genotipos Ojo de tigre y Valente, respectivamente. Esas proporciones de fracción C descritas en las tres etapas fenológicas, son similares a las reportadas en los cuadros de composición de los alimentos para ganado bovino (NRC, 2021). Como se mencionó anteriormente esta fracción C corresponde a la proteína completamente indigestible de la soya, tanto para rumiantes como para no rumiantes, de modo que es muy importante que el grano maduro registre la menor cantidad. Como se mencionó antes, es importante que el grano de soya

sea sometido a calentamiento cuando se extrae el aceite, o cuando la harina es procesada mediante la extrusión, ya que el procesamiento elimina el inhibidor de tripsina, que es termolábil, y se favorece así el aprovechamiento de la proteína del grano de soya. Sin embargo, cuando en esos procesos hay sobrecalentamiento del grano, en esta fracción de proteína se incrementan los productos Maillard, que son altamente resistentes a la hidrólisis por las enzimas microbianas (Krishnamoorthy *et al.*, 1982), lo cual se detecta mediante la elevación en la fracción C de la proteína.

5. CONCLUSIONES.

- Los cuatro genotipos de soya en estudio tienen alto contenido proteico y el genotipo Salcer es el que registra menor cantidad de PB en los componentes del grano.
- Los genotipos Ojo de tigre y Valente registran mayor cantidad de PB en la etapa grano maduro, en comparación a la etapa 100% floración y ejote tierno.
- En los cuatro genotipos estudiados los valores de NNP son menores en la cáscara del grano en comparación a los cotiledones o el grano integral.
- La cantidad de NNP es superior en la etapa grano maduro en comparación con la etapa 100 % floración y no registra diferencia significativa entre genotipos.
- En los cuatro genotipos evaluados la etapa 100 % floración registra menor cantidad de PB, en comparación con la etapa grano maduro.
- En los genotipos evaluados la PVS es inferior a la PINS en las tres etapas fenológicas, y la diferencia es más notable en la etapa 100 % floración.
- En los genotipos evaluados la PB es inferior en la etapa ejote tierno comparada con la etapa 100 % floración y grano maduro, y una mayor cantidad de esa PB se encuentra unida a la FDN.
- En los genotipos evaluados las fracciones de proteína A, B1 y B2 son superiores en el grano maduro en comparación con las hojas en etapa 100 % floración o ejote verde.
- En la etapa ejote verde y 100 % floración las hojas registran mayor cantidad de fracción de proteína B3 y C, comparadas con el grano maduro.

- Los genotipos de soya evaluados depositan poca cantidad de la proteína fotosintetizada como proteína indigestible (fracción C).

Implicaciones:

- Por su aporte de fracciones de proteína los granos de soya de los genotipos: Ojo de tigre, Valente y Alvina, pueden tener mayor valor nutritivo para rumiantes, sin embargo, es necesaria su evaluación en una prueba de comportamiento productivo *in vivo*.
- Los aportes de fracciones de la proteína en las hojas (forraje) de soya en las etapas 100% floración y ejote tierno, aunque inferiores a los del grano maduro, son fuente de proteína superior a la que manifiestan la mayoría de los zacates tropicales (gramíneas), por lo que son buena alternativa de alimentación para el ganado cuando por algún evento meteorológico o plaga, la soya no alcanza a completar la etapa de grano maduro.

6. BIBLIOGRAFÍA.

1. Adenskog, G. (1977). *Which methods of fibre analysis "In Focus"*. June Tecator- Hoganas, Suecia.
2. Amorós, M.L.L. 2000. *Estudios de compuestos fenólicos en legumbres. Influencia de la variedad y del proceso de germinación*. Tesis Doctoral Universidad Autónoma de Madrid.
3. AOAC 920.39. (1990). *Fat (crude) or ether extract in animal feed*. 18th ed. AOAC International, Gaithersburg
4. AOAC 934.01. (1990). *Moisture in animal feed*. Drying in vacuo at 95-100°C. In: *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 15th edn. AOAC, Arlington, Virginia, p.69
5. AOAC 942.05. (1990). *Official Methods of Analysis*. Virginia, p1000-1050.
6. AOAC 962.09. (1990). *Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food*. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 15th edn. AOAC, Arlington, Virginia
7. Apoyo y Servicios a la Comercialización Agropecuaria (ASERCA). (1993). *La producción de soya en México*. [en línea]. Claridades Agropecuarias.1-10. Recuperado de: <https://info.aserca.gob.mx/claridades/revistas/007/ca007.pdf>
8. ArgenBio (Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la biotecnología). (2007). *Biotecnología cotidiana y en el mundo*. <http://www.argenbio.org/index.php?action=novedades¬e=399>

9. Arreaza, L., Sánchez, L., Medrano, J., Pardo, O., (2005). *Nutrición y alimentación de bovinos en el trópico bajo colombiano*. Colombia: Corpoica
10. Aviles, N.J.N. (2011). *Estudio de la digestibilidad in vivo de Cenchrus ciliaris con tres porciones de Gliricidia sepium henificado*. Tesis de licenciatura. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
11. Badui, S., (2013). *Química de Alimentos*. (5^{ta} ed.) México: Pearson Educación.
12. Banafunzi, N.M.S., Mena, A. Development of a new soybean variety for human consumption. J Am Oil Chem Soc 57,742A-745A (1980). <http://doi.org/10.1007/BF02662033>
13. Bayero, A.S, Datti, Y., Abdulhadi, M., Yahya, A.T., Salihu, I., Lado, U.A., Nura, T., Imrana, B., (2019). Proximate Composition and the Mineral Contents of Soya Beans (*Glycine max*) Available in Kano State, Nigeria. ChemSearch Journal of Nigeria. 10(2):62-65
14. Boyer, R. (2000). *Conceptos de bioquímica*. México: International Thomson.
15. Brautigan, I. (1972). *Nutrición animal*. EUNED: Costa Rica.
16. Bressani R, Viteri F, Elias LG, de Zaghi S, Alvarado J, Odeli AD. 1967. Protein quality of a soybean protein textured food in experimental animals and children. J Nutr. 93:349-360
17. Caravaca, F.P. (2003). *Bases de la producción animal*. Universidad de Sevilla: España. Recuperado de:

https://books.google.com.mx/books?id=YQxTe3v1GqkC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

18. Church DC, Pond WG, Pond KR. *Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales*. 2ª ed. Grupo Noriega Eds, Limusa-Wiley, México. 2006
19. Ciampitti, I.A. (2017). *Crecimiento y desarrollo del cultivo de soja*. Departamento de Agronomía, Kansas State University.
20. Colina, J., León, M., Castañeda, M., Matos, A. (2017). Composición química e indicadores de calidad del frijol de soja (*Glycine max*) integral procesado con vapor para la alimentación de aves y cerdos. Facultad de Ciencias Veterinarias: Organo Oficial de la sociedad Latinoamericana de Nutrición. Recuperado de: <https://ve.scielo.org/pdf/alan/v67n1/art07.pdf>
21. Connors, K. (1981). *Curso de análisis farmacéutico*. Editorial REVERTÉ: España.
22. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. (2006). *Soya (*Glycine max* (L.) Merrill) Alternativa para los sistemas de producción de la Orinoquia colombiana*. Colombia: CORPOICA.
23. De luna, A. (2007). *Composición y procesamiento de la soya para consumo humano*. Investigación y ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. 35-43.
24. Delolme, S. (1999). *La enseñanza en la UNED*. Costa Rica: EUNED.

25. Dia VP, Gomez T, Vernaza G, Berhow M, Chang YK, Gonzalez de Mejia E. 2012. Bowman-Birk and Kunitz *Protease Inhibitors among Antinutrients and Bioactives Modified by Germination and Hydrolysis in Brazilian Soybean Cultivar BRS 133*. *Agric. Food Chem.* 2012, 60: 7886–7894. <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf301926w>
26. Espinoza, S. E. (2015). *Evaluación Agronómica de materiales de soya (Glycinemax (L) Merril) en condiciones de Siembra Directa (SD) en la zona de Ventanas, Provincia de Los Ríos*. Tesis de Ingeniería Agropecuaria. Universidad católica de Santiago de Guayaquil: Ecuador.
27. FAO. *Cosecha de granos: Maíz, frijol y soya*. (2013). <http://www.fao.org/3/x5051s/x5051s05.htm#Oportunidad%20de%20lacosecha>
28. FEDNA. *Tablas de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos (4ª edición)*. C. de Blas, P. García-Rebollar, M. Gorrachategui y G.G. Mateos. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Noviembre, 2019. Madrid. ISBN: 978-8409156887. 604 p. Recuperado de: <http://fundacionfedna.org/ingredientes-para-piensos>
29. Garcia, F.; Ciampitti, I.; Baigorri, H., (2009). *Manual del Cultivo de Soja*. International Plant Nutrition Institute. Buenos Aires, Argentina.
30. García, P.A. (1993). *Fundamentos de nutrición*. Costa Rica: Universidad estatal a distancia.

31. Garzón, V. (1999). *La soya principal fuente de proteína en la alimentación de especies menores*. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/20.500.12324/19582>.
32. Goering, M.K. and P.J. Van Soest. (1967). *Forage Fiber Analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications)*. Agricultural Handbook No. 379, USDA, Washington DC.
33. Granados, J.I, Lona, J.A, Caudillo, N.A. (2020). *Aprovechamiento integral del frijol de soja para la producción y análisis de tofu: "Chipofu"*, Instituto Tecnológico Superiores de Guanajuato: Guanajuato, México.
34. Guada, J.A. (1996). *Características del sistema de Cornell (CNCPS) como modelo de valoración proteica y energética para rumiantes*. XII Curso de Especialización FEDNA, Madrid, 7. http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Sistema_Cornell.pdf
35. Hernández V. (2009). *El fenómeno económico y cultural del boom de la soja y el empresariado innovador. El fenómeno sojero y el empresariado innovador*. 1ª Edición. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/282172031_El_fenomeno_economico_y_cultural_del_boom_de_la_soja_y_el_empresariado_innovador
36. Heuzé V., Thiollet H., Tran G., Lessire M., Lebas F., (2017). *Cascaras de soja*. Feedipedia. Recuperado en: <https://www.feedipedia.org/node/719>

37. Holasek, A., Flaschka, H. (2012). *Métodos quelométricos y otros métodos volumétricos de análisis clínicos*. Editorial REVERTÉ: España. <https://books.google.com.mx/books?id=ViEuEAAAQBAJ&pg=PA90&dq=fundamento+metodo+kjeldahl+para+determinacion+proteinas&hl=es&sa=X&ved=2ahUKewja4eKv1Ij4AhXjoY4IHemTCVUQ6AF6BAgKEAI#v=onepage&q=fundamento%20metodo%20kjeldahl%20para%20determinacion%20proteinas&f=false>
38. IICA., 2004. *Cadena Agroalimentaria de la Soya*. Nicaragua: IICA.
39. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. (1996). *Manual del cultivo de soya*. Ecuador: INIAP.
40. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias. (2005). *Manual del cultivo de soya*. (2^{da} ed.) Ecuador: Editorial Raíces.
41. Iturbe, F., Sandoval, J. (2011) *Análisis de Alimentos. Fundamentos y Técnicas*. México: Facultad de Química, UNAM.
42. Jawerth, N. 2017. Bangladesh triples rice production with help of nuclear science. International Atomic Energy Agency (IAEA). In: <https://www.iaea.org/newscenter/news/bangladesh-triples-rice-production-with-help-of-nuclear-science>
43. Krishnamoorthy, U. C., T.V. Muscato, C. J. Sniffen, and P.J. Van Soest. (1982). *Nitrogen fractions in selected feedstuffs*. J. Dairy Sci. 85:217

44. Licitra, G., Hernández, T.M, and Van Soest, P.J. (1996). *Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds*. Anim. Feed Sci. Technol. 57: 347-158
45. Liu, L.; Van Zanten, L.; Shu, Q. Y. and Maluszynski, M. 2004. Officially released mutant varieties in China. Mutation Breeding Review. No. 14. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and FAO/IAEA Agriculture and Biotechnology Laboratory, Seibersdorf. Vienna, Austria.
46. Magallanes-Estala A, Díaz FA, Reyes RMA, Rosales RE, Alvarado CM, Silva SMM, Bustamante DC, Escobar HM. 2014. *Tecnología de producción en soya [Glycine max (L.) Merrill] para el norte de Tamaulipas*. 1a edición 2014. INIFAP. Clave: INIFAP/CIRNE/A-537. Folleto Técnico No. MX-0-310301-47-03-13-09-58. ISBN: 978-607-37-0247-8.
<http://www.inifapcirne.gob.mx/Biblioteca/Publicaciones/991.pdf>
47. Mariano, J., Rodrigues, G. (2011). Biología I. La estructura y las funciones de los seres vivos. México: Santillana.
48. Mora, I. (2007). *Nutrición animal*. Editorial Universidad Estatal a Distancia: Costa Rica.
https://books.google.com.mx/books?id=K5VL2Z5aQwC&pg=PA17&dq=análisis+químico+proximal&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwiXzfTpi4_2AhXBIkQIHQsIBPwQ6AF6BAgCEAI#v=onepage&q=análisis%20químico%20proximal&f=false
49. Morán-Caicedo I, Mejía GA, Beltrán CF. (2019). *Industrialización del cultivo de soya*, Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana.

<https://www.eumed.net/rev/oel/2019/11/industrializacion-cultivo-soya.html>

50. Mujica, A. (1988). *Parámetros genéticos e índices de selección en quinua (Chenopodium quinoa Willd.)*. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Centro de Genética: México.
51. NRC. National Academies of Sciences Engineering and Medicine. (2021). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 8th Ed. National Academies Press. <https://www.nap.edu/catalog/25806/nutrient-requirements-of-dairy-cattle-eighth-revised-edition>
52. Official Methods of Analysis. 15th ed. USA: Association of Official Analytical Chemists 1990, 920.39
53. Official Methods of Analysis. 15th ed. USA: Association of Official Analytical Chemists 1990, 942.05
54. Official Methods of Analysis. 15th ed. USA: Association of Official Analytical Chemists 1990, 954.01
55. Official Methods of Analysis. 15th ed. USA: Association of Official Analytical Chemists 1990, 962.09
56. Official Methods of Analysis. 15th ed. USA: Association of Official Analytical Chemists 1990, 934.01.
57. Ogbemudia, R. E, Nnadozie, B.C, Anuge, B. (2017). Mineral and Proximate Composition of Soya Bean. *Asian Journal of Physical and Chemical Sciences*. 4(3):1-6

58. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación. (1997). *Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición*. Universidad de Chile: Chile.
<https://www.fao.org/3/ah833s/Ah833s17.htm>
59. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2016), *Legumbres, semillas nutritivas para un futuro sostenible*. FAO.
60. Ortiz, S. (2006). *Determinación de la composición química proximal y fibra dietaria de 43 variedades criollas de maíz de 7 municipios del sureste del estado de Hidalgo*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo: Hidalgo.
61. Palazolo GG, Sobral PA, Wagner JR. 2016. *Impact of Sample Aging on Freeze-Thaw Stability of Oil-in-Water Emulsions Prepared with Soy Protein Isolates*. International Journal of Food Properties, 19 (10):2322-2337.
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2015.1126724>
62. Perkins, E. (1995). *Practical Handbook of soybean processing and utilization*. ScienceDirect, 29-38.
63. Pond WG, Bell WA. 2005. *Encyclopedia of animal science*. Ed. Marcel Dekker, New York, NY.
64. Quiroz, R., Folch, J. (2011). *Proteínas que remodelan y degradan la pared celular vegetal: perspectivas actuales*. Biotecnología Aplicada. 28: 194-204.

65. Ramírez, R.G. (2017). *Principios de Nutrición de rumiantes*. E.U: Palibrio
66. Rani M. H., M. Kamruzzaman, A. M. A. Ghanim, M. A. K. Azad and M. B. Akter (2008) Comparative effect of gamma and X-ray irradiations on some characters of rice seedlings of Ashfal and Binadhan-14. *Journal of Bioscience and Agriculture Research* 8: 739-745.
67. Reyes HA. 2020. SELECCIÓN DE LÍNEAS MUTANTES DE SOYA (R2M10) PARA CONSUMO HUMANO HILIMUM CAFÉ, DE CICLO AGRÍCOLA DE 100 DÍAS. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO). Cocula, Guerrero, México. 60 p.
68. Rodríguez, V.M., Simón, E. (2008). *Bases de la alimentación humana*. España: Netbibio, S.L.
69. Ruíz, M.E., Ruíz, A. (1990). *Nutrición de rumiantes*. Costa Rica: IICA.
70. Russell, JB, O'Connor, JD, Fox, DG, Van Soest, PJ, and Sniffen, CJ. (1992). *A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminant fermentation. II. Carbohydrate and protein availability. III. Cattle requirements and diet adequacy*. *J. Anim. Sci.* 70: 3551 - 3596.
71. Sadras, V. O.; M. Ferreiro; F. Gutheim y A. G. Kantolic. 2000. *Desarrollo fenológico y su respuesta a temperatura y fotoperíodo. Bases para el manejo del maíz, el girasol y la soja*. Editorial Médica Panamericana: Buenos Aires, pp. 29-60

72. Salmerón E., J. y Cervantes S., T. 2004. Nueva variedad de soya SALCER para producción de forraje y grano obtenida mediante mutagénesis. Memoria: XVII Reunión Científica Tecnológica Agropecuaria y Pesca. Villahermosa, Tabasco, México. p. 19-23.
73. Sánchez AXA. 2019. Selección de líneas mutantes R1M4 precoces de soya para consumo humano obtenidas mediante mutación inducida. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO). Cocula, Guerrero, México. 60 p.
74. Schrimshaw, N. S. 2007. Fifty-five-year personal experience with human nutrition world wide. *Ann Rev Nutr* ; 27:1-18.
75. Scott, W.O; Aldrich, R. Samuel. (1975). *Producción moderna de la soya*. Editorial: Hemisferio sur: Buenos aires
76. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), 2019. *Reporte del mercado de soya*. [https://www.cima.aserca.gob.mx/work/models/cima/pdf/cadena/2019/Reporte mercado soya 070819.pdf](https://www.cima.aserca.gob.mx/work/models/cima/pdf/cadena/2019/Reporte%20mercado%20soya%20070819.pdf)
77. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural, 2019. *Libera SADER variedades mejoradas de soya en el estado de Campeche*. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/libera-sader-variedades-mejoradas-de-soya-en-el-estado-de-campeche-207858>
78. Sniffen C. J., J. D. O'Connor, P. J. Van Soest, D. G. Fox, J. B. Russell. 1992. *A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability*. *J. Animal Science*,

Volume 70, Issue 11, Pages 3562–3577.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1459919/>

79. Tejeda, I. (1992). *Control de Calidad y análisis de alimentos para animales*. Sistema de Educación Continua en Producción Animal, A.C: México.
80. Toledo, R.E. (2006). *Etapas Fenológicas del Cultivo de Soja*. Cátedra de Cereales y Oleaginosas: Aguascalientes.
81. USDA., (2021). *Soybean Exports in 2021*. USDA: USA
82. Valencia, R.A., Garzón, V. (2004). *Potencialidades de la soya y usos en la alimentación humana y animal*. (2^{da} ed.). Colombia: Corpoica.
83. Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A., 1991. *Methods for dietary fiber, neutral-detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition*. J. Dairy Sci., 74: 3583-3597.
84. Wancomo, H., Ortiz, R. (2010). *Comportamiento fenológico de 23 accesiones de soya*. Pastos y Forrajes, Vol.33, No.4.
85. Wang, L. Z.; Wang, L.; Zhao, R. J.; Pei, Y. L.; Fu, Y.; Yan, Q. S. and Li, Q. 2003. Combining radiation mutation techniques with biotechnology for soybean breeding. Improvement of New and Traditional Industrial Crops by Induced Mutations and Related Biotechnology. p. 106-115. International Atomic Energy Agency IAEA. Plant breeding and Genetics Selection International Atomic Energy Agency. Vienna, Austria. In: <http://es.scribd.com/doc/27192786/Iaea-Tecd-1369>

86. World Wide Fund for Nature, 2015. *Crecimiento de la soja: impactos y soluciones*. Trad. S. Kernohan. Gland, CH. http://awsassets.panda.org/downloads/reporte_final_soja_esp_2.pdf
87. Yzarra, W.J., López, F.M. (2001). *Manual de observaciones fenológicas*. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología (SENAMHI): Perú
88. Zulet, M.A., Martínez, J.A. 2001. *Dieta Mediterránea: legumbres y colesterolemia*. Rev. Chil. Nutr., 28, 312-320.
89. Zumbado, H. (2020). *Análisis químico de los alimentos: Métodos clásico*. Editorial Universitaria: Cuba