

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS



EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ENMIENDA DE SUELOS SALINOS,
UTILIZANDO SUSTRATOS AGOTADOS POR EL CULTIVO DE *Pleurotus*
ostreatus Y CARACTERIZACIÓN DE CARGA ENZIMÁTICA.

T E S I S

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS
PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y
BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA

EDELYN LIDUVINA RAMÍREZ ESPINOZA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS

POSGRADO EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE ENMIENDA DE SUELOS SALINOS,
UTILIZANDO SUSTRATOS AGOTADOS POR EL CULTIVO DE *Pleurotus*
ostreatus Y SU CARACTERIZACIÓN DE CARGA ENZIMÁTICA

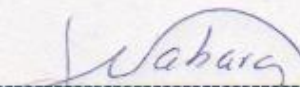
TESIS QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

EDELYN LIDUVINA RAMÍREZ ESPINOZA

Aprobada por:



Dra. Nahara Ernestina Ayala Sánchez
Directora de Tesis



Dra. Irma Esthela Soria Mercado

Sinodal



Dr. Daniel Claudio Martínez Carrera

Sinodal

Resumen

La agricultura se considera una de las actividades que más afectan al suelo. En climas mediterráneos como el de Ensenada es común la acumulación de sales. Existen tratamientos de recuperación de suelos físicos y químicos y en los últimos años se han estudiado a los Hongos de la Podredumbre Blanca por capacidad de degradar una amplia cantidad de compuestos por su falta de especificidad de sustrato. Por lo tanto, se realizó una evaluación de los efectos de sustratos de Paja de Trigo, Orujo de Uva y Hoja de Palma agotados por el cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre suelo ligeramente salino del Valle de Maneadero y se obtuvo que al aplicar estos sustratos hubo reducción de la conductividad eléctrica del suelo. Además se hizo una caracterización química de cada sustrato y se obtuvieron fragmentos repetidos en análisis de espectrometría de masas de P.M. 421, 413 y 367 y podría corresponder a Polieter poliol

Índice

1. Introducción ..	22
1.1. Agricultura	22
1.2. Salinidad en suelos	23
1.3. Mejoras de suelos salinos	24
1.3.1. Lixiviación.	25
1.3.2. Yeso orgánico	26
1.3.3. Materia orgánica.	27
1.4. Recuperación de suelos	27
1.5. Enzimas de Hongos de la Podredumbre Blanca (HPB)	.
.	29
1.6. <i>Pleurotus ssp.</i>	31
1.6.1. <i>P. ostreatus</i>	31
1.7. Desechos sólidos	31
2. Antecedentes	33
3. Objetivos	35
4. Materiales y Métodos	36
4.1. Área de Estudio	36
4.2. Determinación de salinidad de suelos agrícolas seleccionados	.
.	38
4.3. Determinación del grado de enmienda del suelo	39
4.4. Caracterización bromatológica de las formulaciones de sustrato antes y después de la fermentación	41
4.5. Determinación de componentes químicos en SDP	46
5. Resultados	49

5.1.	Salinidad de suelos agrícolas seleccionados	49
5.2.	Grado de enmienda del suelo	50
5.3.	Caracterización bromatológica de las formulaciones de sustrato antes y después de la fermentación	52
5.4.	Determinación de componentes químicos en SDP por Cromatografía Líquida y Espectrometría de Masas (LC/MS)	57
6.	Discusión	67
7.	Conclusiones.	73
8.	Referencias	75
9.	Anexos	81

Lista de Tablas

Tabla I. Conductividad eléctrica, voltaje, resistencia y deciSeimens de las 9 muestras analizadas	49
Tabla II. Crecimiento de <i>Pisum sativum</i> en los diferentes tratamientos. SDP = Sustrato Degradado por <i>Pleurotus</i>	50
Tabla III. Conductividad eléctrica (CE) antes y después del cultivo de <i>P. sativa</i> expresada en deciSeimens. SDP = Sustrato Degradado por <i>Pleurotus</i>	51
Tabla IV. Resultados del análisis bromatológicos de las formulaciones de sustrato antes y después de la fermentación en porcentajes (%)	52
Tabla V. Extracto de trigo en Acetato de Etilo. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del Cromatograma	57
Tabla VI. Extracto de trigo en Hexano. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma	58
Tabla VII. Extracto de trigo en Diclorometano. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma	59
Tabla VIII. Extracto de trigo en Éter etílico. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma	60

Tabla IX. Extracto de Uva en Acetato de Etilo. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del Cromatograma . . . 61

Tabla X. Extracto de Uva en Hexano. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del Cromatograma . . . 61

Tabla XI. Extracto de Uva en Diclorometano. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del Cromatograma . . . 62

Tabla XII. Extracto de Uva en Éter etílico. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma . . . 63

Tabla XIII. Extracto de Palma en Acetato de Etilo. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma . . . 64

Tabla XIV. Extracto de Palma en Hexano. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma . . . 64

Tabla XV. Extracto de Palma en Diclorometano. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma . . . 65

Tabla XVI. Extracto de Palma en Éter Etílico. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma	66
Tabla XVII. Clasificación de suelos realizada por el Laboratorio de Salinidad de Riverside, CA.	67
Tabla XVIII. Resultado de P con la prueba estadística t para dos muestras emparentadas	67
Tabla XIX. Sustrato Orujo de Uva. Bandas de absorción obtenidas mediante cromatografía de líquidos y los iones moleculares (M^+) obtenidos de cada banda mediante espectrometría de masas	69
Tabla XX. Resultados de corriente eléctrica de las 9 muestras colectadas en el Valle de Maneadero	81
Tabla XXI. Cálculos con las ecuaciones 1, 2 y 3 para obtener dS a partir de la Corriente Eléctrica (I)	82
Tabla XXII. Muestra las medidas de <i>P. sativum</i> diarias durante el periodo de prueba	82
Tabla XXII. Salinidad expresada en dS del suelo problema al finalizar el bioensayo con <i>P. sativum</i> . Al final se muestra el promedio para cada tratamiento	83
Tabla XXIV. Diferencia de concentración de salinidad expresada en dS al inicio y final del bioensayo	83

Tabla XXV. Indica los registros de pesos para el análisis de Humedad según la ecuación 4 83

Tabla XXVI. Indica los registros de pesos para el análisis de Materia Orgánica según la ecuación 5 84

Tabla XXVII. Indica los registros de pesos para el análisis de Nitrógeno según la ecuación 6 y la multiplicación por el factor 6.25 84

Lista de Figuras

Figura 1. Muestra el proceso de lavado de suelos a gran escala (Tomada de Ortiz-Bernad, <i>et al.</i> , 2007)	26
Figura 2. Mapa de Ensenada, B.C. El cuadro rojo indica el área de colecta de suelo, ubicado en el Valle de Maneadero	37
Figura 3. Inicio del proceso de germinación de <i>Pisum sativum</i> L.	40
Figura 4. Pozos con muestra problema y diferentes tratamientos	41
Figura 5. Digestor con muestra contenida en los matraces kjeldahl	43
Figura 6. Destilador micro kjeldahl	44
Figura 7. Proceso de titulación	45
Figura 8. Izquierda: Extracción de compuestos con acetato de etilo en un termoplato. Derecha: Rotaevaporador	46
Figura 9. Se muestran los cromatofolios de la Cromatografía en Capa Delgada del primer extracto de compuestos. Los carriles van de izquierda a derecha: Trigo, Orujo de Uva y Palma. Los solventes utilizados de izquierda a derecha son: Etanol, Metanol, Acetonitrilo y Acetato de Etilo	47
Figura 10. Espectrómetro Agilent 6530 Accurate-Mass Quadrupole Time-of-Flight (Q-TOF) LC/MS situado el Centro de Biología Marina y Biomedicina del Instituto de Oceanografía SCRIPPS	48
Figura 11. Comparación de los tratamientos en <i>P. sativum</i> en 24 días. En el eje de las X se muestran los días y en el eje de las Y el crecimiento en centímetros	51

Figura 12. Porcentaje de Humedad de sustratos de trigo natural, fermentado y agotado	53
Figura 13. Porcentaje de Humedad de los sustratos de Hoja de Palma natural, fermentada y agotada	53
Figura 14. Porcentaje de humedad del sustrato orujo de uva natural, fermentado y agotado	54
Figura 15. Porcentajes de contenido de materia orgánica para el sustrato trigo natural, fermentado y agotado	54
Figura 16. Contenido de materia orgánica para los sustratos palma natural, fermentado y agotado. Los resultados están expresados en porcentaje	55
Figura 17. Contenido de materia orgánica en los sustratos orujo de uva natural, fermentado y agotado. Los resultados están expresados en porcentaje	55
Figura 18. Porcentaje de nitrógeno contenido en los sustratos de trigo natural, fermentado y agotado	56
Figura 19. Porcentaje de nitrógeno en los sustratos de hoja de palma natural, fermentado y agotado	56
Figura 20. Porcentaje de nitrógeno contenido en los sustratos de orujo de uva natural, fermentado y agotado	57
Figura 21. Estructura del compuesto Polietterpoliol con peso molecular P.M. 455	70

Figura 22. Fragmento m/e 421 ($M^+ - 34$). Probablemente el fragmento desprendido corresponde a la pérdida de 2 iones ^-OH . . . 70

Figura 23. Fragmento m/e 413 ($M^+ - 42$). Probablemente se desprendió C_3H_6 y un protón se unió al Carbono cuaternario o al CH_2 que lo sustituye . . . 71

Figura 24. Fragmento m/e 367 ($M^+ - 46$) . . . 71

Figura 25. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos el eje de las Y la absorbancia . . . 86

Figura 26. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las X se muestra el tiempo retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad . . . 87

Figura 27. Espectro de masas para la banda 14.624 de la muestra Trigo con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 88

Figura 28. Espectro de masas para la banda 13.425 de la muestra Trigo con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 89

Figura 29. Espectro de masas para la banda 18.443 de la muestra Trigo con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 90

Figura 30. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra el tiempo retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción 91

Figura 31. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad 92

Figura 32. Espectro de masas para las bandas 13.428 y 13.441 de la muestra Trigo con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 93

Figura 33. Espectro de masas para las bandas 18.445 y 18.464 de la muestra Trigo con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 94

Figura 34. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción 95

Figura 35. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad 96

Figura 36. Espectro de masas para la banda 6.436 de la muestra Trigo con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa 97

Figura 37. Espectro de masas para las bandas 13.4405 y 13.4415 de la muestra Trigo con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la

relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa .
. 98

Figura 38. Espectro de masas para las bandas 14.6105 y 14.6265 de la muestra Trigo con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa .
. 99

Figura 39. Espectro de masas para las bandas 18.4875 y 18.475 de la muestra Trigo con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa 100

Figura 40. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Éter etílico. En el eje de las x se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad 101

Figura 41. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Éter etílico. En el eje de las x se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad 102

Figura 42. Espectro de masas para las bandas de 3.206 a 12.379 y 3.193 a 12.366379 de la muestra Trigo con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa 103

Figura 43. Espectro de masas para las bandas 13.5555 y 13.5565 de la muestra Trigo con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa .
. 104

Figura 44. Espectro de masas para las bandas 14.76 y 14.7615 de la muestra Trigo con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 105

Figura 45. Espectro de masas para las bandas 18.547 y 18.5325 de la muestra Trigo con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 106

Figura 46. Cromatograma de Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción 107

Figura 47. Cromatograma de Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las X el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad 108

Figura 48. Espectro de masas para las bandas 13.445 y 13.460 de la muestra Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 109

Figura 49. Espectro de masas para la banda 13.487 de la muestra Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 110

Figura 50. Espectro de masas para la banda 14.779 de la muestra Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 111

Figura 51. Espectro de masas para la banda 18.336 de la muestra Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 112

Figura 52. Cromatograma de extracto de Uva con el disolvente Hexano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción . . . 113

Figura 53. Cromatograma extracto de Uva con el disolvente Hexano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad . . . 114

Figura 54. Espectro de masas para las bandas 13.401 y 13.417 de la muestra Uva con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 115

Figura 55. Espectro de masas para la banda 14.686 de la muestra Uva con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 116

Figura 56. Espectro de masas para las bandas 14.742 y 14.756 de la muestra Uva con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 117

Figura 57. Espectro de masas para la banda 18.555 de la muestra Uva con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 118

Figura 58. Cromatograma de extracto de Uva con el disolvente Diclorometano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción 119

Figura 59. Cromatograma de extracto de Uva con el disolvente Diclorometano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y el la intensidad 120

Figura 60. Espectro de masas para las bandas 13.3455 y 13.3465 de la muestra Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa 121

Figura 61. Espectro de masas para las bandas 18.5425 y 18.5615 de la muestra Uva con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa 122

Figura 62. Cromatograma de extracto de Uva con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción 123

Figura 63. Cromatograma de Uva con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad 124

Figura 64. Espectro de masas para la banda 3.6355 de la muestra Uva con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa 125

Figura 65. Espectro de masas para las bandas 13.397 y 13.4185 de la muestra Uva con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 126

Figura 66. Espectro de masas para las bandas 14.925 y 14.925 de la muestra Uva con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 127

Figura 67. Espectro de masas para las bandas 18.317 y 18.302 de la muestra Uva con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 128

Figura 68. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción 129

Figura 69. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad 130

Figura 70. Espectro de masas para la banda 13.550 de la muestra Palma con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 131

Figura 71. Espectro de masas para la banda 18.610 de la muestra Palma con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . . 132

Figura 72. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción 133

Figura 73. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en mionutos y en el eje de las Y la intensidad 134

Figura 74. Espectro de masas para la banda 13.446 de la muestra Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa 135

Figura 75. Espectro de masas para las bandas 17.541 y 17.561 de la muestra Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa 136

Figura 76. Espectro de masas para las bandas 18.4715 y 18.4565 de la muestra Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa 137

Figura 77. Espectro de masas para las bandas 20.6665 y 20.683 de la muestra Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa 138

Figura 78. Espectro de masas para las bandas 21.5105 y 21.511 de la muestra Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa 139

Figura 79. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Diclorometano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción	140
Figura 80. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Diclorometano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad	141
Figura 81. Espectro de masas para las bandas 3.852 - 11.923 y 3.839 - 11.898 de la muestra Palma con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa	142
Figura 82. Espectro de masas para las bandas 13.5025 y 13.504 de la muestra Palma con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa	143
Figura 83. Espectro de masas para las bandas 18.523 y 18.5415 de la muestra Palma con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa	144
Figura 84. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Éter Etilico. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción	145
Figura 85. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Éter Etilico. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad	146

Figura 86. Espectro de masas para las bandas 13.4855 y 13.4865 de la muestra Palma con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa .

. 147

Figura 87. Espectro de masas para las bandas 14.969 y 14.984 de la muestra Palma con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa . . 148

Figura 88. Espectro de masas para las bandas 18.6225 y 18.6235 de la muestra Palma con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa .

. 149

1. Introducción

1.1. Agricultura.

La agricultura es el arte de cultivar la tierra para obtener de ella productos de diversas especies de plantas y variedades útiles, para alimentación humana y animales domésticos, mediante el uso de diversas prácticas agrícolas (Galván-Meraz, 2007). Esta práctica se considera una de las actividades antropogénicas que más alteran la calidad del suelo (van Diepeningen *et al.*, 2006 en Badalucco *et al.*, 2010) y junto con la industria, tienen resultados de producción perjudiciales, sobre todo por el uso de compuestos químicos (Pandey *et al.*, 2009).

En Baja California la superficie sembrada total es de 225,276 hectáreas y la cosechada 211,650 hectáreas (INEGI, 2008). Esto, representa 8'007,637 pesos en producción (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2009). En particular para Ensenada la superficie total sembrada es 59,303 hectáreas, de las cuales, se cosechan 48,808 hectáreas (INEGI, 2008).

La agricultura en muchas ocasiones puede verse amenazada por diversos parámetros. La mineralización de la materia orgánica, es uno de los problemas más comunes. En regiones de clima mediterráneo, como Ensenada, el aumento de temperatura promueve este proceso, dando como resultado una alta evaporización. Además, debido a las bajas lluvias, el suelo cosechado es degradado (Badalucco *et al.*, 2010).

El tipo de riego en zonas agrícolas también puede ocasionar degradación de los suelos y sobre todo, si se practica agricultura intensiva con riegos de aguas salinas, lo que afecta la fertilidad del suelo (Badalucco *et al.*, 2010).

1.2. Salinidad en suelos.

Los suelos se consideran salinos cuando la conductividad eléctrica (CE) del extracto saturado del suelo es más alto que 4 dS (deciSeimens)/m y se consideran suelos sódicos cuando el porcentaje cambiante del sodio (ESP) es mayor a 15% (Rowell, 1994). Los iones más comunes en suelos salinos son Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , Cl^- , SO_4^{2-} (Schofield *et al.*, 2001 en Walker & Bernal, 2006).

Las sales se acumulan en el suelo por la erosión de minerales, así como por actividades antropogénicas (Qadir, *et al.*, 2007). También se pueden acumular por la ascensión capilar de las sales en el suelo a partir de mantos freáticos en zonas costeras. El viento también puede contribuir a la contaminación salina por arrastre de partículas en suspensión.

En ecosistemas de pocos nutrientes, los rangos de mineralización de materia orgánica son bajos y por lo tanto la absorción y el suministro de nutrientes son de difusión limitada (Hobbie, 1992). Las plantas que crecen en estas zonas tienen características que les permiten tomar nutrientes en escasez, pero su tasa de crecimiento y su demanda de nutrientes es baja (Hobbie, 1992). Como consecuencia de lo anterior, cuando hay degradación de vegetación y aumento de salinidad en la tierra, se disminuye la productividad agrícola (Thrall *et al.*, 2005).

En Ensenada, la agricultura depende de irrigación, por su clima mediterráneo. El problema que se presenta es que la alta concentración de sales aumenta la presión osmótica en el suelo. Por lo tanto, el agua menos concentrada contenida en las células de las plantas, tiende a salir hacia la solución del suelo igualando la concentración de ambos lados (Berstein, 1961 en Ortiz-Bernad *et al.*, 2007), deshidratando la planta y por lo tanto, ocasionando su muerte (Ortiz-Bernad *et al.*, 2007).

1.3. Mejoras de suelos salinos.

Existen tratamiento de mejora físicos y químicos. Los más adecuados son los físicos ya que los tratamientos químicos presentan una disponibilidad restringida para muchos agricultores por su costo tan elevado al competir con el sector industrial y sobre todo porque dejan muchas impurezas (Qadir, *et al.*, 2007).

Existen métodos de contención, confinamiento y descontaminación. Dentro de los métodos de descontaminación se encuentran los tratamientos físico-químicos, biológicos, térmicos y mixtos (Ortiz-Bernad *et al.*, 2007).

Los métodos más utilizados para recuperación de suelos con problemas de salinidad son la lixiviación y la aplicación de yeso orgánico, que se ubican dentro de los métodos de descontaminación y confinamiento, respectivamente.

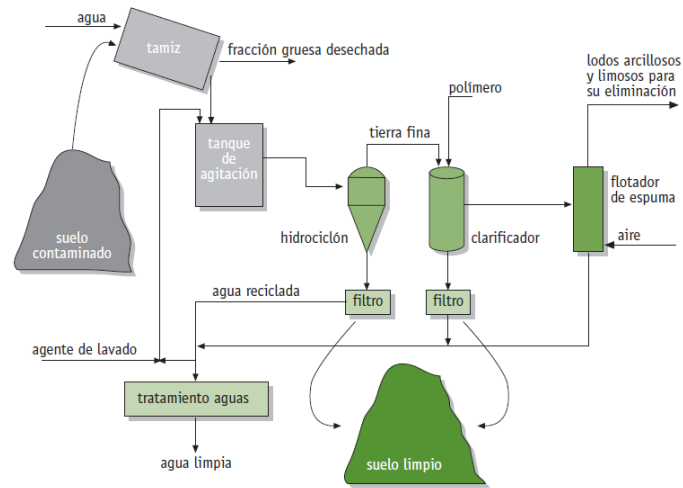
Se conocen 2 tipos de tratamiento según la forma en la que se apliquen. Se habla de un tratamiento *in situ*, cuando la mejora se aplica directamente en el lugar donde se localizan, estos requieren menos manejo, pero son más lentos y difíciles de llevar a la práctica, por la dificultad de poner en contacto íntimo a los agentes de descontaminación con toda la masa contaminada de suelo.

Los tratamientos *ex situ*, son aquellos que se realizan con excavación previa del suelo para su posterior tratamiento. Suelen ser más costosos, pero más rápidos y consiguen normalmente una recuperación más completa de la zona afectada (Ortiz-Bernad *et al.*, 2007).

1.3.1. Lixiviación.

La lixiviación o lavado de suelos, es un tratamiento *ex situ*. El suelo excavado es previamente separado pasándolo por un tamiz, por densidad o por gravedad para eliminar las partículas más gruesas, con poca capacidad de adsorción, de la fracción fina. Seguido a esto, es lavado con extractantes químicos que permiten expulsar y solubilizar contaminantes (van Benschoten *et al.*, 1997 en Ortiz-Bernad *et al.* 2007). Después del tratamiento químico, el suelo se vuelve a lavar con agua para eliminar los contaminantes y agentes extractantes residuales y se devuelve a su lugar de origen (Peters, 1999 en Ortiz-Bernad *et al.*, 2007) (Figura 1). La eficacia de esta técnica depende del grado de adsorción del contaminante, controlado por una serie de propiedades del suelo como el pH, la textura, la capacidad de intercambio catiónico, la mineralogía o el contenido en materia orgánica (Reed *et al.*, 1996 en Ortiz-Bernad *et al.*, 2007).

Figura 1. Muestra el proceso de lavado de suelos a gran escala (Tomada de Ortiz-Bernad, *et al.*, 2007).



Se reporta que el lavado de suelos se utiliza principalmente para suelos con contaminantes orgánicos semivolátiles, hidrocarburos derivados del petróleo y sustancias inorgánicas como cianuro y metales pesados, pero no es muy eficaz para remover compuestos orgánicos volátiles y pesticidas (Avogadro & Ragaini, 1994, en Ortiz-Bernad *et al.*, 2007).

1.3.2. Yeso orgánico.

Cuando el suelo es altamente sódico es inevitable el uso de yeso (Qadir, *et al.*, 2007). La aplicación de yeso en la superficie del suelo contrarresta la disminución de la calidad debido a irrigación. Incrementa la conductividad eléctrica y desplaza iones Na^+ con iones Ca^{2+} en sitios de intercambio iónico (Brinck & Frost, 2009). Además, mejora impedimentos físicos como encostrado y compactación (Gambaudo, 2006). Si el suelo presenta altos niveles de yeso, agregar más yeso no ayudará a reemplazar el sodio del suelo (Franzen, 2012).

Si los sulfatos contenidos son bajos, la aplicaciones de 48 toneladas de yeso por acre (0,404685642 ha), combinadas con mezclas adecuadas de suelo y drenaje, podrían mejorar el suelo. Si los sulfatos contenidos son altos, el cloruro de calcio en tasas aproximadas de 85% de consumo de yeso, combinado con adecuada mezcla de suelo y buen drenaje, podría mejorar el suelo (Franzen, 2012).

1.3.3. Materia orgánica.

La materia orgánica (MO) es cualquier residuo vegetal o animal que pase por un tamiz de 2 mm. Es un componente clave para el mantenimiento de las funciones del suelo y a la vez, lo protege de otros procesos de degradación. Su contenido en el suelo, condiciona muchas de sus propiedades. Su adición mejora la estructura, previniendo formación de costras y compactación, además desacelera la erosión hídrica (Felipó-Oriol, 2002).

La adición de material orgánico a suelos salinos o sódicos, acelera la lixiviación de Na^+ , disminuye el porcentaje de sodio cambiante y la conductividad eléctrica e incrementa la filtración y retención de agua y estabiliza los suelos (Lax *et al.*, 1994; Qadir *et al.*, 2001 en Walker & Bernal, 2006).

1.4. Recuperación de suelos.

La recuperación y la biorremediación de suelos son técnicas para descontaminar. La recuperación de suelos se refiere a la descontaminación de un área que se degrada de manera natural y la biorremediación a la

recuperación de un área afectada antropológicamente. Sus objetivos son reducir la contaminación a niveles indetectables, no tóxicos o niveles aceptables (Pointing, 2001).

Los tratamientos pueden disminuir la toxicidad de productos, mineralizar agentes contaminantes e inmovilizar el agente contaminador (Díaz, 2004).

Estas técnicas se consideran medidas benignas para el ambiente, eficientes y económicas para la remoción de contaminantes y restauración de sitios contaminados (Paul *et al.*, 2006). Se consideran tecnologías en desarrollo.

Una de las dificultades que presentan, es llevar la práctica al ambiente natural, que contiene diversos organismos no contemplados en los experimentos (Watanabe, 2001). Además que un problema ambiental no ocurre en condiciones idénticas. La mayoría de los trabajos de recuperación y biorremediación se llevan a cabo a escala comercial, utilizando procariotas y, recientemente, hongos de podredumbre blanca (HPB) (Pointing, 2001).

Estos hongos (HPB) son organismos del grupo de los basidiomicetos, que son capaces de degradar un amplio rango de contaminantes orgánicos (Asgher *et al.*, 2008). En los hongos de la podredumbre blanca se presentan varios mecanismos de deslignificación, pero todos tienen algo en común: dependen de la generación de radicales libres de lignina que, posteriormente, presentan reacciones degradantes espontáneas, esto debido a su inestabilidad química (Hammel, 1996). El nombre de este grupo en específico, deriva del aspecto blanquecino de la madera después de la degradación de lignina (Pointing, 2001). HPB pueden oxidar una gran cantidad de compuestos. Además, pueden incrementar el rango de sustratos de biodegradación de

contaminantes, ya que no tienen uno en específico, lo que no se consigue utilizando procariontes (Pointing, 2001).

1.5. Enzimas de Hongos de la Podredumbre Blanca (HPB).

Caracterizar la producción de enzimas es fundamental para el desarrollo de biotecnología. Principalmente para la degradación de agentes contaminantes orgánicos y tratamiento de desechos sólidos (Gao *et al.*, 2010).

Los HPB degradan lignina, usando enzimas extracelulares, que pertenecen a un sistema llamado Enzimas de Mineralización de Lignina (EML). Son enzimas carentes de especificidad de sustrato, lo cual les permite degradar una amplia gama de compuestos xenobióticos (Wesenberg *et al.*, 2003). Dentro de este grupo se encuentran enzimas que contienen peroxidasas: lignina peroxidasa (LiP) y manganeso peroxidasa (MnP) y los que contienen fenoloxidasas y cobre como lacasas (Lac) (Hammel, 1996, Asgher, 2008).

Las enzimas de mineralización de la lignina varían con relación al número de aminoácidos que poseen, masa molecular, grupo prostético, mediadores de bajo peso molecular, propiedades catalíticas y mecanismos de acción del tratamiento de diferentes contaminantes (Asgher, 2008).

Las Lignino Peroxidasas (LiP) tienen un peso molecular de 38 a 47 kDa y contienen un grupo hemo en el sitio activo y muestran el clásico mecanismo de las peroxidasas (Tien *et al.*, 1986). Su papel puede ser el de transformar los fragmentos de lignina que fueron inicialmente lanzados por MnP. LiP no son

esenciales para la degradación de lignina, de hecho algunos HPB no los sintetizan. LiP se usan para mineralizar una variedad de compuestos aromáticos recalcitrantes (como hidrocarburos poliaromáticos cíclicos de 3 y 4 anillos, bifenilos policlorados y tintes).

Las enzimas Manganese peroxidas (MnP) son las más comunes de las producidas por HPB (Wesenberg *et al.*, 2003). No son fuertes oxidantes y por lo tanto no atacan estructuras no-fenólicas recalcitrantes que predominan en la lignina (Hammel, 1996). Tienen peso molecular de 32 y 62.5 kDa (Hofrichter, 2002). Tienen la habilidad de oxidar y despolimerizar su sustrato natural, así como compuestos xenobióticos recalcitrantes como el nitroaminotolueno (Scheibner *et al.*, 1997; Van Aken *et al.*, 1999). Lacasas (Lac) son enzimas que contienen cobre. Tienen masa molecular de 60 a 390 kDa (Call and Mućke, 1997; Reinhammar, 1984). Catalizan la oxidación de cuatro electrones de una variedad de compuestos fenólicos y simultáneamente una reducción de cuatro electrones de oxígeno a agua (D'Souza *et al.*, 1996). Por otra parte, no solo oxidan ácidos fenólicos y metoxifenólicos, también los descarboxilan y atacan su grupo metoxi y algunas de ellas oxidan sustancias recalcitrantes como clorofenoles (Fahr *et al.*, 1999; Grey *et al.*, 1998; Ricotta *et al.*, 1996; Roy-Arcand and Archibald, 1991), PAHs (Majcherczyk *et al.*, 1998), estructuras relacionadas con lignina (Bourbonnais *et al.*, 1996; Boyle *et al.*, 1992), compuestos de organofósforo (Amitai *et al.*, 1998)

1.6. *Pleurotus ssp*

La producción de las setas *Pleurotus* en México comenzó en 1974 (Martínez-Carrera *et al.*, 1991 en Mora & Martínez-Carrera, 2007) y para 1997 se reportó que su producción fue de 1,825 toneladas por año (Sobal *et al.*, 1997 en Mora & Martínez-Carrera, 2007). En el 28.05% de los casos se emplean subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales para su producción (Mora & Martínez-Carrera, 2007). Se han registrado 32 sustratos donde se comprenden caña de azúcar, arroz, sorgo, trigo, entre otros (Mora & Martínez-Carrera, 2007).

1.6.1. *Pleurotus ostreatus*

El hongo-seta *P. ostreatus* (Jacq.ex Fr.) Kumm es el segundo más cultivado del mundo, después de *Agaricus bisporus* (J. E. Lange) Imbach. Tiene importancia económica y ecológica, además de propiedades medicinales (Sánchez, 2010). En comparación con otras especies, *P. ostreatus* crece en menos tiempo que otros hongos comestibles (Sánchez, 2010). También es el más eficiente para degradación de organofosfatos (Karas *et al.*, 2010).

1.7. Desechos sólidos.

Los residuos sólidos han constituido un grave problema por las implicaciones que se generan en su manejo, distribución y disposición final. En algunos lugares se destruyen por combustión, pero para evitar las emisiones de CO₂ a la atmósfera se están utilizando como compostaje. Se reporta que poseen elevado contenido de materia orgánica y humedad (Felipó-Orió, 2002).

En Ensenada se genera una gran cantidad de materia vegetal procedente de la poda periódica de la palmera abanico *Washingtonia filifera* (Linden ex Andre) H.Wendl. ex de Bary, la que actualmente no es reutilizada y por lo tanto es tirada directamente al vertedero municipal. Por otra parte, la industria vitivinícola regional genera una gran cantidad de orujo de uva que actualmente es reutilizado como abono orgánico de bajo costo. Estos sustratos tienen el potencial de servir de medio de cultivo para la producción de hongos comestibles y medicinales, así como la paja de trigo abundantemente disponible en la región. .

Por lo antes mencionado, el objetivo de este trabajo es verificar la factibilidad de utilizar sustratos agotados por el cultivo de un hongo de la podredumbre blanca, para disminuir la salinidad en suelos destinados a Agricultura. Se hizo una comparación entre técnicas de lixiviación y aplicación de yeso orgánico contra la adición residuos urbanos agotados por el cultivo de *Pleurotus ostreatus* de Orujo de Uva y Palmera abanico.

2. Antecedentes

En los últimos 100 años, se han utilizado varias actividades para mejorar los suelos salinos, como enmiendas químicas, labranza, intervención asistida de cultivos, enmiendas de riego y uso de corriente eléctrica (Qadir *et al.*, 2007). La aplicación de cada técnica, depende de las características del suelo y del contaminante, de la eficacia esperada de cada tratamiento, viabilidad económica y del tiempo estimado para su desarrollo (Reddy *et al.*, 1999).

Se ha demostrado que el uso de abono y estiércol vegetal puede mejorar el ambiente químico de suelos salinos. Esto, aumentando la capacidad de intercambio de iones, la solubilidad e intercambio de K^+ , lo que limita la entrada de Na^+ al complejo de intercambio iónico (Walker & Bernal, 2007).

Se han hecho investigaciones sobre la técnica de lixiviación para optimizar sus resultados y bajar sus costos, como son experimentos con lixiviación por goteo para áreas con acumulación salina y se ha visto que es igual de efectiva que la práctica convencional pero utiliza la mitad de agua (Burt & Isbell, 2005).

Se ha utilizado vinaza como insumo de nutrición vegetal y se ha encontrado que la concentración de potasio se eleva después de aplicar 500 kilogramos del producto por hectárea (Flores-Rodríguez, 2012).

Se ha propuesto utilizar el término biotransformación para referirse al proceso a través del cual un ser vivo modifica un compuesto sin llegar a mineralizarlo, ya que el término Biodegradación no indica la extensión en la que se ha alterado una molécula (Rosales, 2008).

Se han utilizado técnicas de recuperación de suelos utilizando microorganismos y recientemente se han implementado técnicas para el uso de plantas y hongos. Para tratamiento de diversos residuos se ha desarrollado dentro del ámbito biotecnológico el uso de hongos de la podredumbre blanca (Gao et al., 2010). *Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete chrysosporium* y *Trametes versicolor* han sido ampliamente estudiados para biorremediación de pesticidas y presentan resultados prometedores (Karas, et al., 2010). Son útiles para remediar compuestos recalcitrantes, como Hidrocarburos poliaromáticos (PAH) y también sirven como biorreactor para colorantes sintéticos (Pointing, 2001).

Algunas lacasas de los HPB se han utilizado en la industria del papel, bioblanqueo, degradación de hidrocarburos poliaromáticos, procesado de telas de mezclilla, en cuidado médico y personal, en la industria alimenticia, estabilización de vinos, como biosensor de anilina, oxígeno, fenol entre otras (Madhavi & Lele, 2009).

El subproducto de la cosecha de *Pleurotus ostreatus*, se ha utilizado como abono en la industria hortícola y floricultura, sustrato nematocida y sustrato para biorremediación *in situ* de agua y en suelo contaminado por hidrocarburos (Mora & Martínez-Carrera, 2007).

3. Objetivos

Objetivo general

- Evaluar la capacidad de enmienda de suelos salinos utilizando el sustrato residual del cultivo de *Pleurotus ostreatus*.

Objetivos específicos

- Determinar la salinidad de los suelos agrícolas del Valle de Maneadero.
- Determinar el grado de enmienda de suelos analizados con el proceso de mejora de suelos.
- Realizar una caracterización físico-química de las formulaciones de orujo de uva y palmera abanico, antes y después de la fermentación por *P. ostreatus*.
- Determinación de compuestos orgánicos obtenidos a partir de los residuos agrícolas y vegetales fermentados.

4. Materiales y Métodos

4.1. Área de Estudio

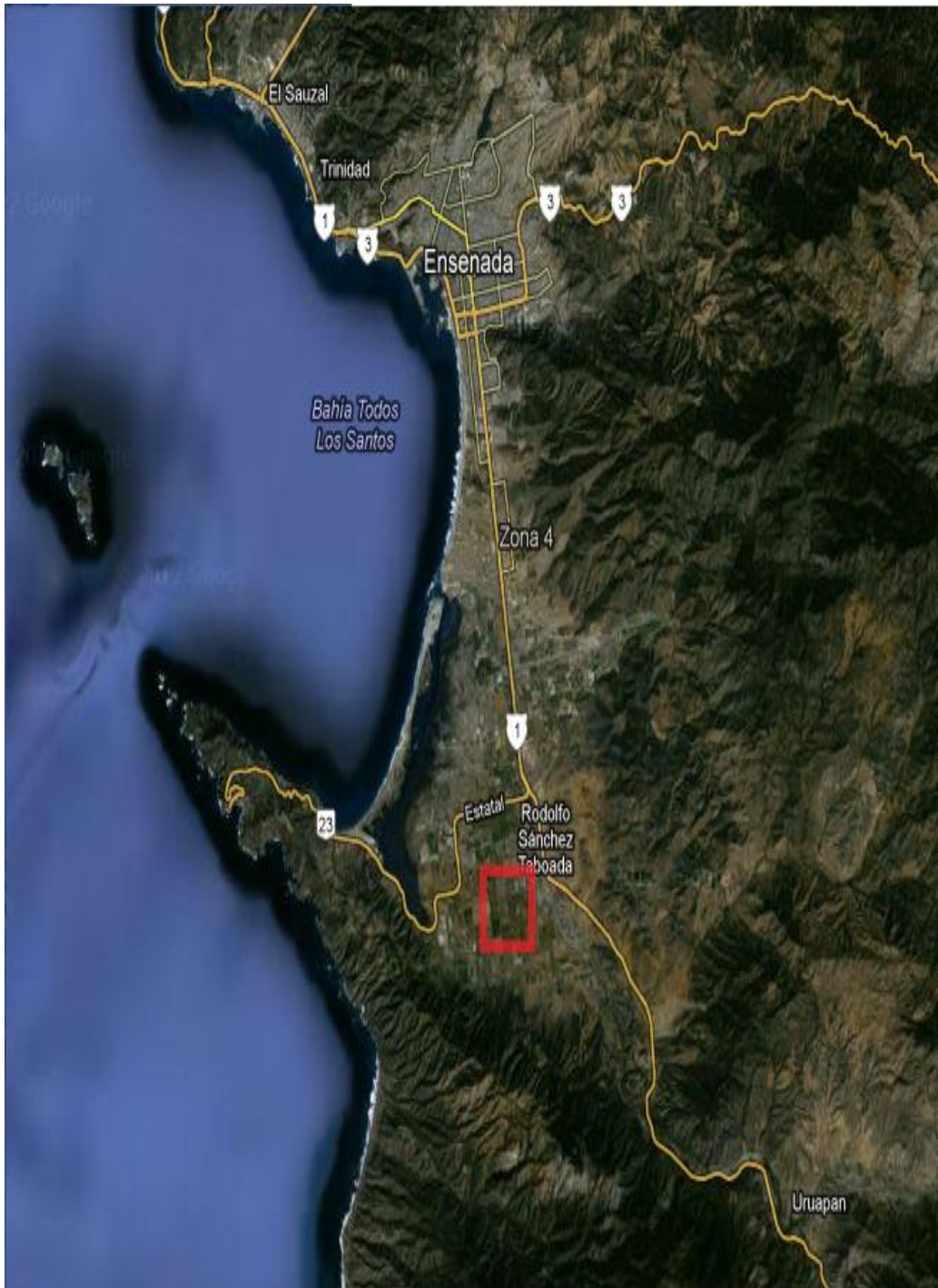
Ubicación. Maneadero se encuentra al sur del municipio de Ensenada, en las coordenadas 31° 33' 46" latitud norte y 116° 24' 42" longitud oeste (Figura 2) (<http://www.sfa.gob.mx>).

Fisiografía. Es un valle que tiene una altitud de 16.681 m (<http://www.sfa.gob.mx>).

Geomorfología. Su suelo dominante es Phaeozem (INEGI, 2009), que es originado de rocas sedimentarias como arenisca y conglomerado (Programa integral del agua, 2008).

Clima. Se considera seco templado, con un rango de precipitación de 100-500 mm y un rango de temperatura de 6-22°C (INEGI, 2009).

Figura 2. Mapa de Ensenada, B.C. El cuadro rojo indica el área de colecta de suelo, ubicado en el Valle de Maneadero.



4.2. Determinación de salinidad de suelos agrícolas seleccionados

Recolecta de la muestra. Se tomaron muestras del Valle de Maneadero fuera de temporada de lluvia y después de la preparación del terreno, para lograr mayor homogeneidad. No se muestrearon las periferias del terreno porque suele haber exceso o falta de fertilización. Se tomaron 9 muestras del suelo con 3 réplicas cada una y se llevaron a laboratorio.

Preparación de la muestra. Se secaron las muestras por separado durante 72 horas en un horno a 70°C. Una vez secas, se homogeneizaron haciéndose pasar por un tamiz de 1 mm. Se hizo una pasta con muestra procesada y agua destilada, tratando de eliminar los poros. A partir de esta pasta, se hicieron alícuotas.

Determinación de niveles de salinidad. Se midió la conductividad eléctrica en las alícuotas con un potenciómetro (voltímetro). Se le aplicó un voltaje de 4.5 V a cada alícuota y se tomó la lectura de la pantalla del potenciómetro. Para hacer los cálculos, se utilizó la ecuación de la Ley de Ohm que postula que la intensidad de la corriente es igual al voltaje dividido por la resistencia que oponen los cuerpos.

$$I = V / R$$

(1)

Donde: I = Es la intensidad de la corriente en amperes. Determinada por la lectura del potenciómetro.

V = Es el voltaje en voltios. En este caso, es una constante de 4.5 V.

R = Es la resistencia en Ohms (Ω).

Se despejó R para poder hacer los cálculos

$$R = V / I$$

(2)

Los resultados se obtienen en Ohms, para convertirlos en dS, se utilizó la siguiente ecuación:

$$dS = 1 / R$$

(3)

4.3. Determinación del grado de enmienda del suelo

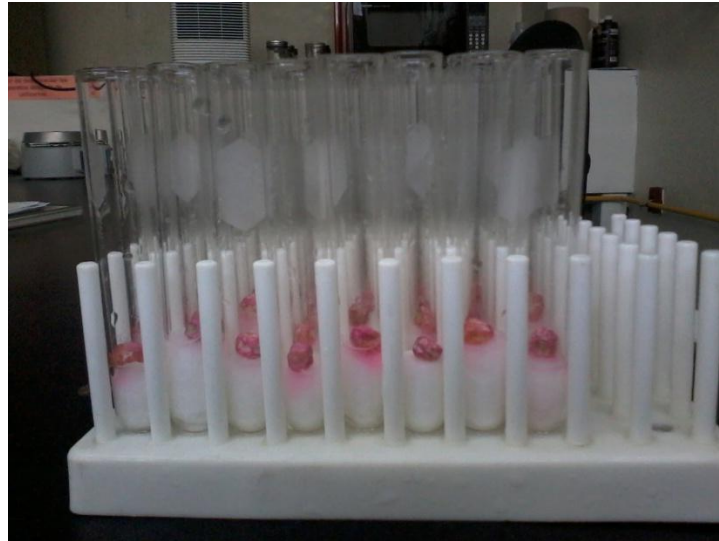
Una vez determinada la concentración de sales, se prepararon canastas con diferentes tratamientos para el suelo problema:

- Sustrato degradado por *Pleurotus*. Se mezcló la tierra problema con el remante de la fructificación de *Pleurotus ostreatus*
 - Paja de Trigo.
 - Orujo de uva. Debido a la compactación del orujo de uva, se mezcló con trigo en una proporción de 50% y 50%.
 - Hoja de Palma.
- Lixiviación
- Yeso orgánico
- Control

Se midió la conductividad eléctrica de cada pozo con tierra problema con su respectivo tratamiento. Se sembró un organismo moderadamente tolerante a

salinidad. Se seleccionó *Pisum sativum* L., propuesto por Blaylock (1994). Se hicieron germinar las semillas de chícharo en algodón con agua destilada. Cuando alcanzaron una medida de 3 cm, se trasplantaron a los diferentes tratamientos. Se hicieron 10 réplicas por tratamiento (Figura 3).

Figura 3. Inicio del proceso de germinación de *Pisum sativum* L.



Se colocaron las canastas en el invernadero de la Facultad de Ciencias. Diariamente se midió el tamaño del tallo y se reportó cuando salieron las primeras hojas e igualmente, se tomaron medidas. A los 24 días se dio como concluido el bioensayo, se midió nuevamente la conductividad eléctrica de cada pozo y se analizaron los resultados.

Figura 4. Pozos con muestra problema y diferentes tratamientos.



Se utilizó la prueba estadística “t para medias de dos muestras emparejadas” para verificar si los resultados de enmienda de salinidad fueron significativos.

4.4. Caracterización bromatológica de las formulaciones de sustrato antes y después de la fermentación

Se realizaron análisis bromatológicos de las distintas formulaciones del sustrato antes y después de ser fermentado con *P. ostreatus*. Estos estudios se realizaron en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad Autónoma de Zacatecas bajo la asesoría de M.C. Edgar Esparza Ibarra y M.C. Lucía Delgadillo Ruíz. Se analizó contenido de agua, materia orgánica y nitrógeno.

Humedad

Se secaron cajas petri por una hora a 65°C y se registró el peso. Se agregó una muestra diferente a cada caja, con 3 réplicas y se pesó nuevamente. Se

dejaron secar por 18 horas a la misma temperatura. Una vez secas, se volvieron a pesar. Se calculó el porcentaje de humedad con la ecuación:

$$\% \text{ Humedad} = [(P2-P1)/M] * 100$$

(4)

Donde:

P1= peso de la cápsula y la muestra seca en gramos

P2= peso de la cápsula y muestra húmeda en gramos

M= peso de la muestra húmeda en gramos

Cenizas o Materia orgánica

Se secaron crisoles por 1 hora dentro de la mufla y se tomó el peso. Se agregaron muestras diferentes a cada crisol, con 3 réplicas y se pesaron. Antes de meter la muestra a la mufla, se quemó en una parrilla sobre una malla de asbesto, para evitar la pérdida de ceniza. Una vez que se formaron brasas, se metió la muestra a la mufla a 400°C. Se sacaron una vez que las cenizas estuvieron completamente blancas. Se hicieron cálculos para la obtención de porcentaje de humedad con la ecuación:

$$\% \text{ Cenizas} = [(P2-P1)/ M] * 100$$

(5)

Donde: P1= peso del crisol vacío

P2= peso del crisol con las cenizas

M= peso del crisol con la muestra en gramos

Nitrógeno

Digestión

Se pesó 1 gramo de muestra y se vació en un matraz microkjeldahl. Se preparó un catalizador con 20 g de sulfato de sodio y 2 gramos de sulfato de calcio, se maceró y posteriormente se agregó 1 gramo al matraz. Se agregaron 7 ml de ácido sulfúrico concentrado y se puso en el digestor en la potencia 3 por 15 minutos (Figura 5). Después se subió a la potencia 7 y 15 minutos después, a la máxima potencia, hasta que la muestra cambió de color a azul-verde.

Figura 5. Digestor con muestra contenida en los matraces kjeldahl.



Destilación

Ya que cambió de color, se deja enfriar y sin abrir la llave de paso, se agrega la muestra al destilador (Figura 6). Se le dan 4 lavados de 5 ml de agua destilada cada uno. Se agrega a un vaso de precipitados 15 ml de ácido bórico al 2% y se completa un volumen de 50 ml con agua destilada. Se le agregan 3 gotas de indicador Shiro Tashiro (partes iguales de rojo de metilo y azul de metileno. Se coloca el vaso en la terminación del refrigerante. Se abre la llave de paso y se agregan poco a poco 30 ml de NaOH al 40%. Una vez que se tienen 150 ml de destilado, se quita el vaso de precipitados del refrigerante.

Figura 6. Destilador micro kjeldahl.



Titulación

La muestra destilada se titula con ácido sulfúrico 0.0935 N hasta que vire rosa (Figura 7).

Se realizaron los cálculos conforme a la norma oficial mexicana NMX-F-068-S-1980 con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de Nitrógeno} = [V \cdot N \cdot (0.014) \cdot 100] / m$$

(6)

Donde:

V = Volumen de ácido sulfúrico empleado en la titulación, en cm^3

N = Normalidad del ácido clorhídrico.

m = Masa de la muestra en gramos

0.014 = Miliequivalente del nitrógeno.

Multiplicando el por ciento de nitrógeno obtenido por el factor 6.25 se obtiene la cantidad de proteínas presentes.

Figura 7. Proceso de titulación.



4.5. Determinación de componentes químicos en SDP

Una vez que fructificaron los cultivos de *P. ostreatus*, el remanente se analizó para determinar su composición química.

Se pusieron en agitación con acetato de etilo cada uno de los sustratos agotados por 20 horas, aproximadamente, para extraer los compuestos. Se hicieron pasar por papel filtro y se concentraron a presión reducida en un rotaevaporador Heidolph Collegiate modelo WBEco (Figura 8). Debido a que quedó demasiado sólido en el frasco (vial), se realizó un segundo filtrado y se pusieron a concentrar las muestras en una estufa.

Figura 8. Izquierda: Extracción de compuestos con acetato de etilo en un termoplato. Derecha: Rotaevaporador.



Se agregaron unas gotas de acetato de etilo a cada vial para monitorear el contenido del extracto mediante cromatografía en capa delgada en cromatofolios de Gel de Sílice F254 de 0.2 mm de espesor. Se buscó la polaridad de separación de las muestras con diferentes disolventes: etanol, diclorometano, éter etílico, hexano, acetato de etilo, acetonitrilo y metanol. Una

vez que corrió el solvente sobre la placa, se observó en luz UV como agente cromogénico y se marcó el recorrido (Figura 9).

Posteriormente se reveló con sulfato cérico 1% y en ácido sulfúrico al 2 N.

Figura 9. Se muestran los cromatofolios de la Cromatografía en Capa Delgada del primer extracto de compuestos. Los carriles van de izquierda a derecha: Trigo, Orujo de Uva y Palma. Los solventes utilizados de izquierda a derecha son: Etanol, Metanol, Acetonitrilo y Acetato de Etilo.



Análisis Cromatografía Líquida y Espectrometría de Masas (LC/MS).

Las muestras fueron analizadas por cromatografía líquida con detector de masas de alta resolución (LC/MS) en un equipo Agilent 6530 Accurate-Mass Quadrupole Time-of-Flight de alta resolución (Figura 9). Se hicieron fracciones de .0001 g de los extractos de los compuestos y se analizaron en el Instituto de Oceanografía SCRIPPS de UCSD. Con la asesoría de PhD. Anindita Sarkar. Se obtuvo el cromatograma de cada muestra y cada banda fue analizada mediante su espectro de UV y comparada con una biblioteca. Además, se obtuvieron los espectros de masas para cada banda.

Figura 10. Espectrómetro Agilent 6530 Accurate-Mass Quadrupole Time-of-Flight (Q-TOF) LC/MS situado el Centro de Biología Marina y Biomedicina del Instituto de Oceanografía SCRIPPS.



Análisis de los espectros resultantes

Los espectros resultantes se analizaron en cuanto a sus iones moleculares y comparados con bases de datos existentes para determinar el tipo de compuesto presente en cada fracción.

El sustrato degradado por *Pleurotus* (SDP) se proporcionó por el Laboratorio de Micología Aplicada de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Autónoma de Baja California. El SDP es parte de los resultados del proyecto “Aprovechamiento de residuos agrícolas y vegetales para la obtención de productos de alto valor añadido y para la enmienda orgánica de suelos degradados”.

5. Resultados

5.1. Salinidad de suelos agrícolas seleccionados.

Los resultados de conductividad eléctrica para las 9 muestras de suelo, se encuentran en la tabla I. Se utilizó la ecuación 2 para obtener la resistencia de las muestras y los resultados en Ohms se convirtieron a dS con la ecuación 3.

Tabla I. Conductividad eléctrica, voltaje, resistencia y deciSeimens de las 9 muestras analizadas.

Muestra	Corriente (Amperes)	Voltaje (Voltios)	Resistencia (Ohms)	DeciSiems dS
1	12.525	4.5	0.35928144	2.78333333
2	12.045	4.5	0.373599	2.67666667
3	11.91	4.5	0.37783375	2.64666667
4	12.195	4.5	0.36900369	2.71
5	11.895	4.5	0.37831021	2.64333333
6	12.105	4.5	0.37174721	2.69
7	12.045	4.5	0.373599	2.67666667
8	12.495	4.5	0.36014406	2.77666667
9	12.495	4.5	0.36014406	2.77666667

5.2. Grado de enmienda del suelo.

Los resultados de los bioensayos se encuentran en la tabla II. Se presentan los promedios de las 10 réplicas.

Tabla II. Crecimiento de *Pisum sativum* en los diferentes tratamientos. SDP = Sustrato Degradado por *Pleurotus*.

Días	SDP TRIGO	SDP UVA	SDP TRIGO	Yeso orgánico	Control
1	1.55	1.53	1.59	1.52	1.44
2	1.55	1.53	1.59	1.52	1.45
3	1.63	1.89	1.59	1.58	1.51
4	1.7	2.23	1.64	1.65	1.59
5	1.7	2.61	1.64	1.69	1.61
6	1.77	3.04	1.74	1.76	1.69
7	1.86	3.46	1.74	1.83	1.72
8	2.03	3.94	1.81	1.92	1.78
9	2.29	4.43	2.01	2.09	1.99
10	2.67	4.94	2.21	2.34	2.2
11	3.06	5.38	2.48	2.62	2.5
12	3.46	5.76	2.78	3	2.69
13	4	6.35	3.12	3.42	3.04
14	4.61	6.92	3.49	3.89	3.39
15	5.27	7.5	3.97	4.51	3.85
16	5.85	8.12	4.33	5.16	4.33
17	6.54	8.78	4.83	5.74	4.8
18	7.23	9.45	5.35	6.38	5.35
19	7.85	10.08	5.86	7.13	5.88
20	8.61	10.74	6.37	7.74	6.38
21	9.34	11.3	6.87	8.45	6.91
22	10.1	11.94	7.38	9.2	7.42
23	10.86	12.52	7.93	9.89	7.95
24	11.61	12.97	8.45	10.6	8.48

(No se incluye el tratamiento Lixiviación porque el ensayo no tuvo éxito).

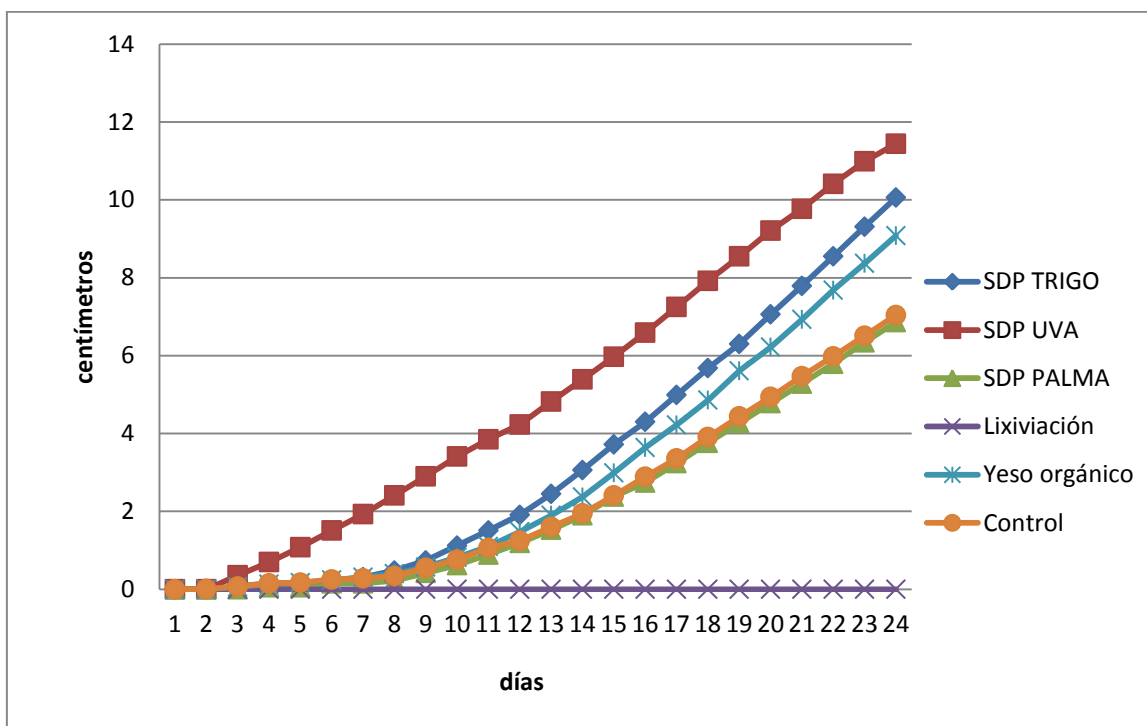
La salinidad registrada en el suelo problema antes y después del cultivo de *P. sativa* se encuentra en la tabla III.

Tabla III. Conductividad eléctrica (CE) antes y después del cultivo de *P. sativa* expresada en deciSeimens. SDP = Sustrato Degradado por *Pleurotus*.

Tratamiento	CE Inicial	CE Final	Diferencia
SDP Trigo	2.7	0.959	1.741
SDP Uva	2.7	0.91	1.79
SDP Palma	2.7	1.699	1.001
CaCO ₃	2.7	1.29	1.41
Lixiviación	2.7	2.671	0.029
Control	2.7	2.535	0.165

Se muestra en la siguiente gráfica el patrón de crecimiento de *Pisum sativum* en los diferentes tratamientos en un periodo de 24 días.

Figura 11. Comparación de los tratamientos en *P. sativum* en 24 días. En el eje de las X se muestran los días y en el eje de las Y el crecimiento en centímetros.



El tratamiento de SDP Uva tuvo un crecimiento constante y desde el inicio tuvo aumento de tamaño, a diferencia de los demás que tuvieron mayor tiempo de latencia. Además, es en el que se reportó un mayor crecimiento de la planta,

llegando a los 11 cm de altura. El tratamiento SDP Trigo reportó su mayor crecimiento en 10 cm. El tratamiento con yeso orgánico tuvo una tendencia de crecimiento parecida al del SDP Trigo, pero con menor tamaño. El tratamiento con SDP PALMA y el tratamiento control presentaron crecimiento similar, alcanzaron 7 cm de altura. El tratamiento de lixiviación no mostró crecimiento y al día 4, los organismos murieron.

5.3. Caracterización bromatológica de las formulaciones de sustrato antes y después de la fermentación.

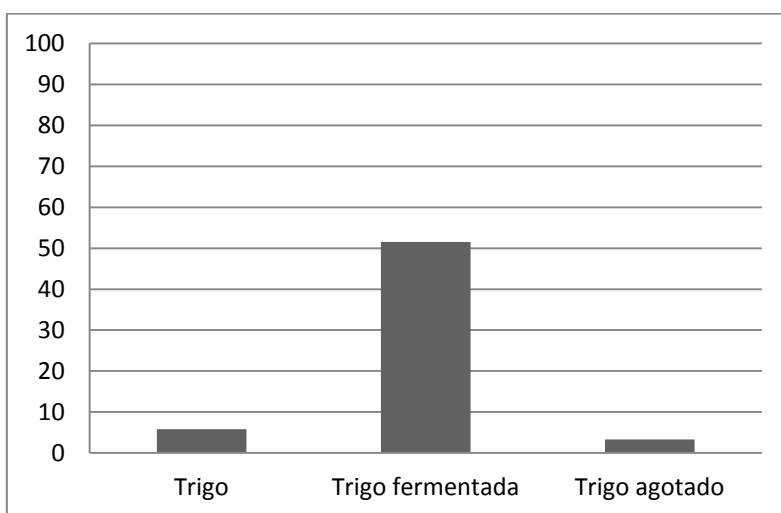
Los resultados de porcentaje de humedad, materia orgánica y nitrógeno se encuentran en la tabla IV. Se consideró el valor de la media aritmética de las réplicas de los ensayos.

Tabla IV. Resultados del análisis bromatológicos de las formulaciones de sustrato antes y después de la fermentación en porcentajes (%).

Sustrato	Humedad	Materia Orgánica	Nitrógeno
Trigo	5.838960658	92.86854442	0.04227672
Trigo fermentada	51.51471889	90.19256436	0.02454375
Trigo agotado	3.32141587	87.48787625	0.03892147
Orujo de uva	9.062532995	93.15662942	0.09858967
Orujo de uva fermentada	17.30310145	89.60040951	0.04376969
Orujo de uva agotado	6.74986632	85.65641233	0.07825047
Palma	5.900336466	93.56493703	0.14424363
Palma fermentada	84.42326795	93.78619044	0.12349423
Palma agotada	3.64239567	84.78827373	0.12995286

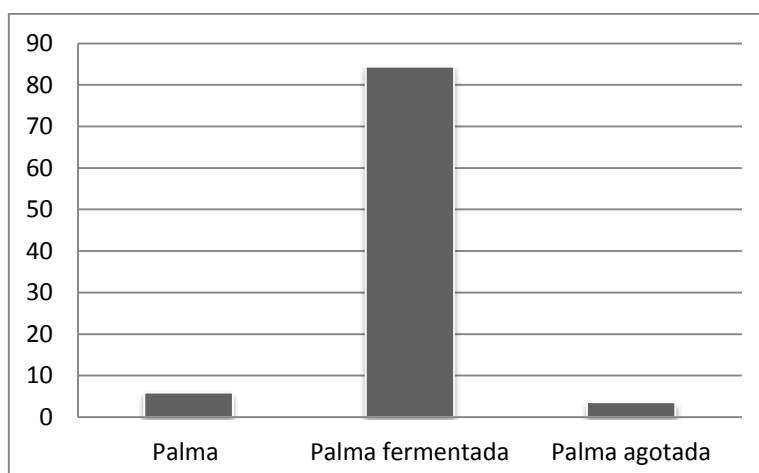
El análisis de humedad de trigo (Figura 12), muestra claramente como el sustrato fermentado adquirió gran porcentaje de humedad, subiendo del 5% a más de 50%.

Figura 12. Porcentaje de Humedad de sustratos de trigo natural, fermentado y agotado.



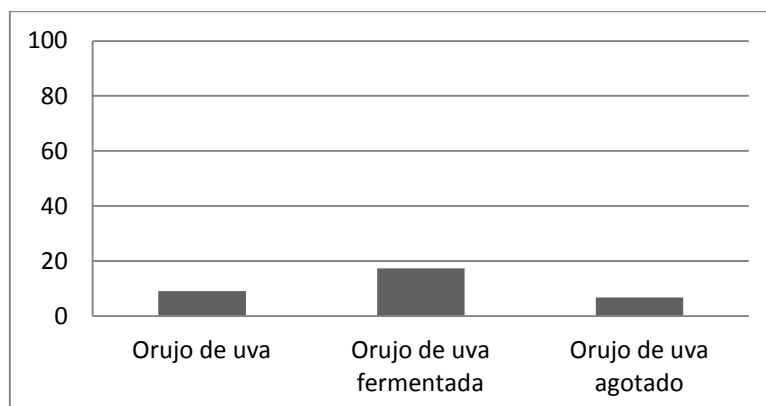
Los resultados de hoja de palma, plasmados en la figura 13, muestran que el sustrato fermentado es el que tuvo mayor porcentaje de humedad, inició en un 5%, sube a más de 80% y al final de la cosecha, regresa a un porcentaje de 5%.

Figura 13. Porcentaje de Humedad de los sustratos de Hoja de Palma natural, fermentada y agotada.



En los resultados de las pruebas de humedad en orujo de uva, en la figura 14 se muestra claramente que no hubo un aumento considerable, como en los otros ensayos de humedad, en el sustrato fermentado, aunque la tendencia es la misma.

Figura 14. Porcentaje de humedad del sustrato orujo de uva natural, fermentado y agotado.



Para obtener los resultados de materia orgánica fue necesario que mas muestras permanecieran en la mufla por 72 horas, hasta obtener cenizas completamente blancas. Los resultados obtenidos se muestren en las Figuras 15, 16 y 17.

Figura 15. Porcentajes de contenido de materia orgánica para el sustrato trigo natural, fermentado y agotado.

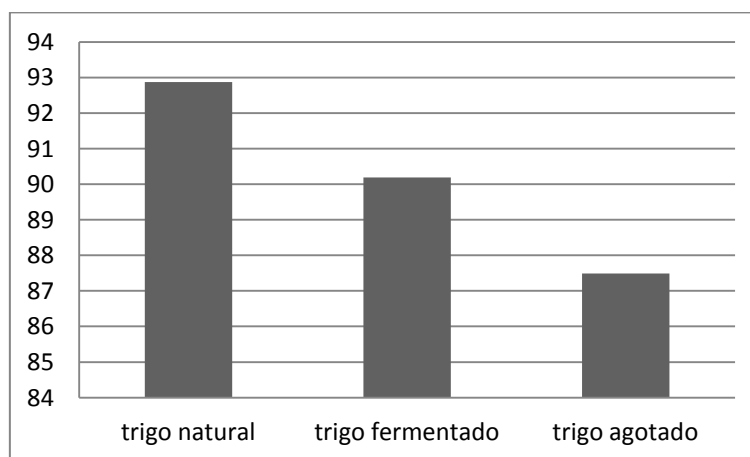


Figura 16. Contenido de materia orgánica para los sustratos palma natural, fermentado y agotado. Los resultados están expresados en porcentaje.

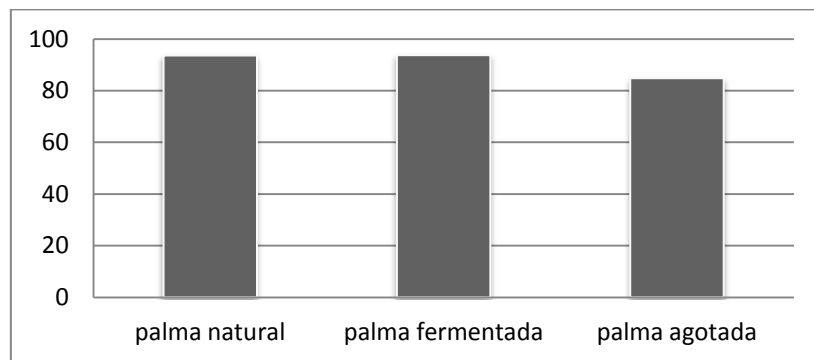
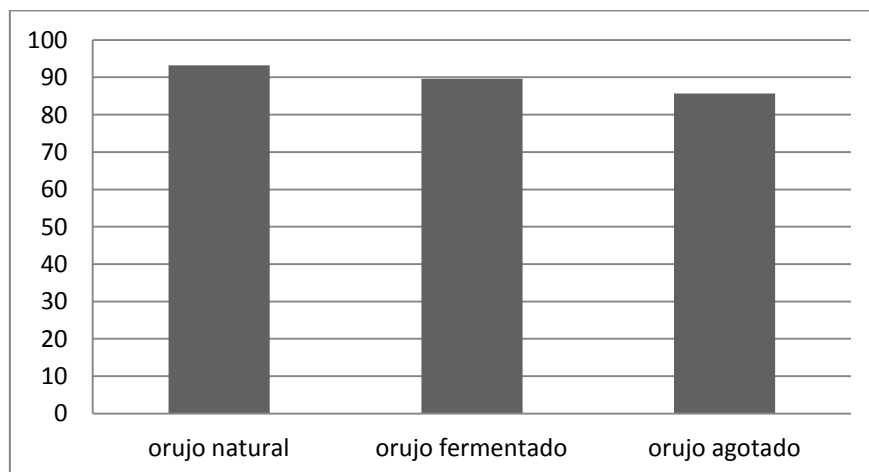


Figura 17. Contenido de materia orgánica en los sustratos orujo de uva natural, fermentado y agotado. Los resultados están expresados en porcentaje.



Los resultados de nitrógeno y por lo tanto de proteínas se expresan gráficamente en las figuras 18, 19 y 20.

Figura 18. Porcentaje de nitrógeno contenido en los sustratos de trigo natural, fermentado y agotado.

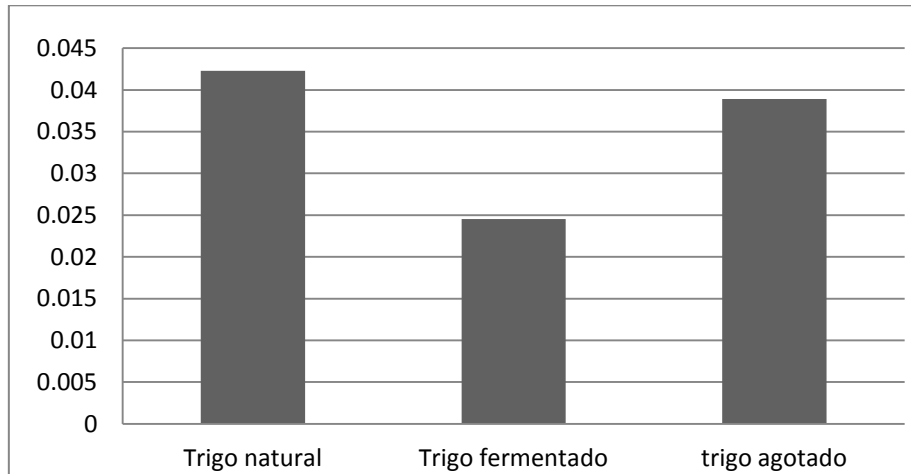


Figura 19. Porcentaje de nitrógeno en los sustratos de hoja de palma natural, fermentado y agotado.

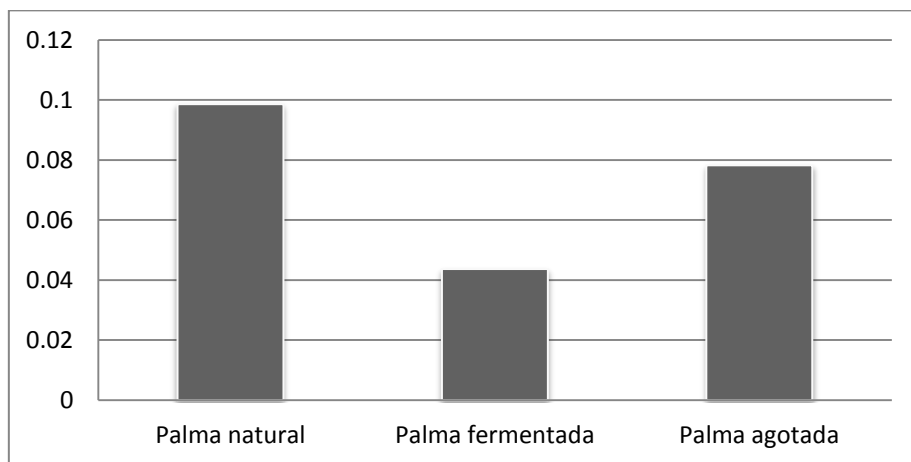
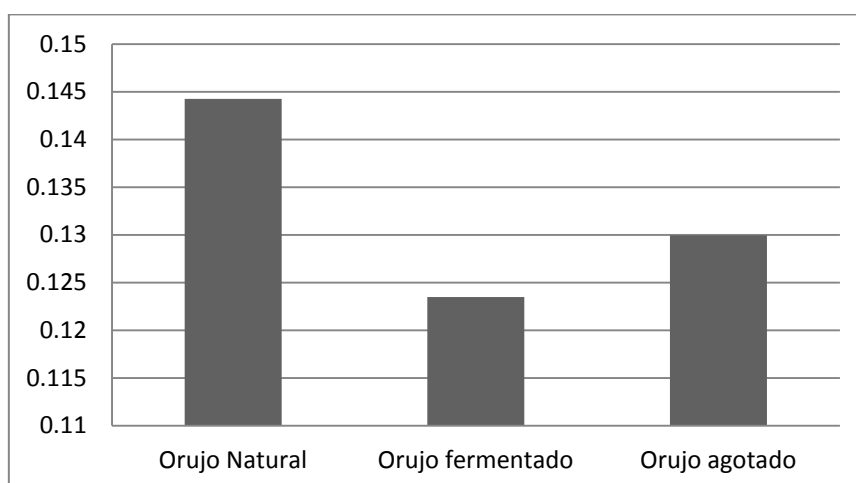


Figura 20. Porcentaje de nitrógeno contenido en los sustratos de orujo de uva natural, fermentado y agotado.



5.4. Determinación de componentes químicos en SDP por Cromatografía Líquida y Espectrometría de Masas (LC/MS).

Las bandas principales de cada cromatograma de los diferentes extractos se muestran en las tablas V a XVI. Se incluye una columna con el diferencial del fragmento en cuestión y el fragmento anterior.

Tabla V. Extracto de trigo en Acetato de Etilo. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma.

Trigo. Solvente: Acetato de Etilo				
Tiempo de retención (min.)	UV (nm)	m/e		
		Masa del fragmento	Diferencia con fragmento anterior	Posible fragmento
13.425		367.13485		
		177.07689	17.98611	H ₂ O, NH ₄
		154.94399	22.1329	Na
		126.02403	28.91996	C ₂ H ₅ , CHO
14.624	220-290	413.21265		
		391.10768	22.10497	Na
		369.18442	21.92326	Na

		283.15263	22.005	Na
		261.13086	22.02177	Na
		245.07846	16.0524	O
		217.10372	27.97474	C ₂ H ₃
		149.02269	28.06588	C ₂ H ₄ , CO
		128.95316	20.06953	HF
18.443		421.23556		
		321.1461	36.38076	HCl
		287.19614	33.94996	H ₂ S
		146.98434	35.04076	Cl
		120.97158	26.01276	CN

Tabla VI. Extracto de trigo en Hexano. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma.

Trigo. Solvente: Hexano				
Tiempo de retención (min.)	UV	m/e		
		Masa del fragmento	Diferencia con fragmento anterior	Posible fragmento
13.428		413.213		
		367.137	46.07569	NO ₂
		283.153	83.98412	C ₆ H ₁₁
13.441		367.136		
18.445		421.233		
18.464		413.214		

Tabla VII. Extracto de trigo en Diclorometano. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma.

Trigo. Solvente: Diclorometano				
Tiempo de retención (min.)	UV	m/e		
		Masa del fragmento	Diferencia con fragmento anterior	Posible fragmento
6.436		486.8389		
		455.2603	31.5786	CH ₂ OH, OCH ₃
		421.2338	25.61278	
		413.214	8.01975	
		369.1258	11.74911	
		325.1754	15.70708	CH ₃
13.4405		485.2692		
		455.2599	30.00923	
		421.2332	21.99007	
		413.2125	8.0207	
		399.3077	13.90484	CH
		367.137	4.02672	
		325.1628	16.10297	O
13.4415		413.2115		
		381.1859	32.02564	CH ₂ OH, OCH ₃
		367.1355	14.05043	CH ₃
		357.1456	9.9899	
		337.1577	19.98786	
14.6105	220-290	413.2127		
		391.1077	22.10499	Na
		369.1848	12.00586	
		413.2118		
		381.1934	32.01841	
14.6265	220-290	455.2592		
		421.2331	21.98986	Na
		413.2123	8.02083	
		369.1855	21.92174	Na
		349.1838	20.00169	HF
18.475		421.2325		
		413.2112	8.02124	

Tabla VIII. Extracto de trigo en Éter etílico. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma.

Trigo. Solvente: Éter Etílico				
Tiempo de retención (min.)	UV	m/e		
		Masa del fragmento	Diferencia con fragmento anterior	Posible fragmento
3.206 – 12.379		455.2598		
		421.2342	21.98962	Na
		413.214	8.02016	
		375.2505	15.85723	CH ₃
		369.1258	6.12468	
3.193 – 12.366		413.211		
13.5555		413.2128		
		367.1373	4.0264	
		325.1628	15.72015	CH ₃
13.5565		413.2123		
		367.1356	14.04924	
14.76	220-290	455.2593		
		413.2126	30.01071	
		391.1072	22.10547	Na
		369.1847	21.92244	Na
		325.1613	15.7211	CH ₃
14.7615	220-290	413.2114		
18.547		449.2875		
		421.2332	28.05429	C ₂ H ₄ , CO, N ₂
		413.2123	8.02093	
		399.2526	13.95971	CH ₂
		365.1377	34.11494	H ₂ S
		349.1839	15.95376	CH ₃
18.5325		449.286		
		421.2319	28.05409	C ₂ H ₄ , CO, N ₂
		413.2115	8.02045	
		349.1824	56.07654	C ₄ H ₈

Tabla IX. Extracto de Uva en Acetato de Etilo. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma.

Uva. Solvente: Acetato de Etilo				
Tiempo de retención (min.)	UV	m/e		
		Masa del fragmento	Diferencia con fragmento anterior	Posible fragmento
13.445		413.2127		
		367.1372	46.07545	NO ₂
		283.1527	83.98454	C ₆ H ₁₁
13.460		413.2127		
14.779		413.2128		
13.487		165.8154		
		128.9504	36.865	CH ₂ NH ₂ , NO
18.336		413.2119		
		261.1306	44.026	CO ₂ , C ₂ H ₄ NH ₂
		217.1044	44.02619	CO ₂ , C ₂ H ₄ NH ₂

Tabla X. Extracto de Uva en Hexano. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma.

Uva. Solvente: Hexano				
Tiempo de retención (min.)	UV	m/e		
		Masa del fragmento	Diferencia con fragmento anterior	Posible fragmento
13.401		413.2124		
		367.1371	46.07525	NO ₂
		283.1521	83.98501	C ₆ H ₁₁
		153.1383	130.01387	
13.417		413.2114		
14.686	220-290	413.2125		
		371.1642	42.04829	C ₃ H ₆
		245.0786	126.08562	
		149.023	96.05558	
14.742	220-290	413.2131		
		371.1648	42.04829	C ₃ H ₆
		245.0786	126.08621	

		149.0229	96.0557	
14.756	220-290	413.2122		
18.555	260-580	421.2334		
		261.1306	160.10279	
		217.1044	44.02621	CO ₂ ,C ₂ H ₄ NH ₂

Tabla XI. Extracto de Uva en Diclorometano. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma.

Uva. Solvente: Diclorometano				
Tiempo de retención (min.)	UV	m/e		
		Masa del fragmento	Diferencia con fragmento anterior	Posible fragmento
13.3455		455.2595		
		413.2128	30.01066	CH ₂ NH ₂ , NO
		391.1082	22.10453	Na
		367.1372	23.97101	
13.3465		413.2121		
		381.186	32.02615	
		367.1362	14.04979	CH ₂
18.5425		455.2596		
		421.2334	21.98997	Na
		413.2126	8.02083	
		391.1074	8.1461	CH ₂
		369.1858	21.92163	
18.5615		421.2334		
		413.2124	8.02091	

Tabla XII. Extracto de Uva en Éter etílico. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma.

Uva. Solvente: Éter etílico				
Tiempo de retención (min.)	UV	m/e		
		Masa del fragmento	Diferencia con fragmento anterior	Posible fragmento
3.6355		443.2236		
		421.2334	21.99022	Na
		413.2137	8.01964	
		375.2507	15.85689	O
		369.1258	6.1249	
		325.1898	17.96271	OH
13.397		443.2236		
		413.2128	30.01075	CH ₂ NH ₂ , NO
		391.1077	22.10509	Na
		367.137	23.97075	
		325.163	15.71987	O
13.4185		413.212		
		367.1356	46.07632	NO ₂
14.925	220-290	455.2593		
		413.2125	30.01062	CH ₂ NH ₂ , NO
		391.1075	22.10499	Na
		369.1844	21.9231	Na
		325.1611	44.02326	CO ₂
14.925	220-290	413.2112		
18.317		449.2879		
		421.2334	28.0545	C ₂ H ₄ , CO, N ₂
		413.2126	8.0208	
		391.1075	14.15437	CH ₂
		369.1859	21.92161	Na
		349.1839	20.00201	HF
18.302		449.2866		
		421.2321	28.05446	C ₂ H ₄ , CO, N ₂
		413.212	8.02007	
		349.1825	56.07793	C ₄ H ₈

Tabla XIII. Extracto de Palma en Acetato de Etilo. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma.

Palma. Solvente: Acetato de Etilo				
Tiempo de retención (min.)	UV	m/e		
		Masa del fragmento	Diferencia con fragmento anterior	Posible fragmento
13.550		413.2125		
		367.1371	46.0754	NO ₂
		283.1527	83.9844	C ₆ H ₁₁
18.610		421.2336		

Tabla XIV. Extracto de Palma en Hexano. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma.

Palma. Solvente: Hexano				
Tiempo de retención (min.)	UV	m/e		
		Masa del fragmento	Diferencia con fragmento anterior	Posible fragmento
13.446		413.2128		
		367.1371	46.07567	NO ₂
17.541		425.2876		
17.561		413.2124		
18.471		467.2981		
		449.2879	18.01028	H ₂ O, NH ₄
		421.2338	28.05406	C ₂ H ₄ , CO, N ₂
		413.2124	8.02136	
		369.1855	36.07627	HCl
18.4565		467.2971		
		449.2867	18.01039	H ₂ O, NH ₄
		413.2118	8.02134	
		349.1828	56.0779	C ₄ H ₈
20.6665		455.2592		
		421.2337	21.99128	Na
		413.2121	8.02164	
20.683		447.2715		
		413.2125	34.05899	H ₂ S
21.5105		455.2592		

		443.2229	12.03629	
		421.2335	21.98938	Na
		413.212	8.02151	
		349.1833	58.09342	C ₃ H ₆ NH ₂
21.511		413.2117		

Tabla XV. Extracto de Palma en Diclorometano. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma.

Palma. Solvente: Diclorometano				
Tiempo de retención (min.)	UV	m/e		
		Masa del fragmento	Diferencia con fragmento anterior	Posible fragmento
3.852-11.923		455.2602		
		421.2339	21.99002	Na
		413.2141	8.0198	
		375.2506	15.85743	CH ₃
		369.1261	6.12448	
		340.8827	18.32202	H ₂ O, NH ₄
3.839 – 11.898		413.2125		
13.5025		455.2596		
		413.213	30.01094	CH ₂ NH ₂ , NO
		391.1083	22.10468	Na
		367.1375	23.97081	
		325.1625	41.97497	C ₃ H ₅
13.504		413.2125		
		367.1355	46.07695	NO ₂
18.523		455.2594		
		421.2332	21.98997	Na
		413.2124	8.02077	
		399.2525	13.95988	CH ₂
		369.1855	30.06707	CH ₂ NH ₂ , NO
		349.1837	20.00177	HF
18.5415		421.2327	28.05335	C ₂ H ₄ , CO, N ₂
		413.211	8.02173	

Tabla XVI. Extracto de Palma en Éter Etilico. Se muestran las bandas principales de absorción en el Ultravioleta (UV) y la relación masa/carga (m/e) en Espectroscopía de Masas obtenidos del cromatograma.

Palma. Solvente: Éter etílico				
Tiempo de retención (min.)	UV	m/e		
		Masa del fragmento	fragmento - fragmento anterior	posible fragmento
13.4855		455.2599		
		413.2131	30.01054	CH ₂ NH ₂ , NO
		367.1373	46.07574	NO ₂
		325.1627	41.97464	C ₃ H ₅
13.4865		413.2121		
		367.1375	46.07461	NO ₂
14.969	220-290	455.2595	-88.12206	
		413.2128	30.0104	CH ₂ NH ₂ , NO
		391.1077	22.1051	Na
14.984	220-290	413.2121		
18.6225		455.2589		
		421.2332	21.98996	Na
		413.2123	8.02089	
		399.2526	13.95969	CH ₂
18.6235		421.2325		
		413.2119	8.02062	

6. Discusión

6.1. Salinidad de suelos agrícolas seleccionados

Al analizar los resultados obtenidos de la corriente eléctrica de las muestras, se observa que oscilan entre los 2.6 y 2.8 dS y al compararlos con las mediciones realizadas en el laboratorio de Salinidad de la Universidad de Riverside, CA. Las muestras se ubican en la clasificación de ligeramente salino.

Tabla XVII. Clasificación de suelos realizada por el Laboratorio de Salinidad de Riverside, CA.

Escala	Clasificación de suelos
0-2	Normales
2-4	Ligeramente salinos
4-8	Salinos
8-16	Fuertemente salinos
Mayor a 16	Extremadamente salinos

6.2. Grado de enmienda del suelo

La significancia estadística se encuentra en la tabla XVIII para cada tratamiento.

Tabla XVIII. Resultado de P con la prueba estadística t para dos muestras emparentadas.

Tratamiento	P
SDP Trigo	0.0000000000000214527570445258
SDP Uva	0.0000000000000053263853564807
SDP Palma	0.000000000000952884356253407
CaCO ₃	0.0000000000000508242152896079
Lixiviación	0.0893887339173695
Control	0.00000219168525007742

Con excepción del tratamiento de lixiviación, los tratamientos tuvieron una $P < 0.005$, lo que indica que su reducción de conductividad eléctrica es significativa. El tratamiento de lixiviación no fue significativo ($P = 0.089$) ya que no hubo actividad en estos pozos debido a que murieron los organismos de prueba.

6.3. Caracterización bromatológica de las formulaciones de sustrato antes y después de la fermentación

Los sustratos fermentados son los que mostraron un mayor porcentaje de humedad, esto puede deberse a que la fermentación con CaCO_3 ocasiona la retención de agua.

El contenido de nitrógeno, y por lo tanto proteico, aumentó una vez que fructificó el hongo. En el caso del SDP de Orujo de Uva, su aumento fue menor que los otros 2 sustratos, esto puede deberse a que no hubo cosecha óptima de *P. ostreatus* ya que el orujo de uva se compacta fácilmente y no permite la colonización adecuada.

6.4. Cromatografía Líquida y Espectrometría de Masas (LC/MS).

El sustrato trigo tuvo mejor patrón de separación con el solvente Diclorometano. El cromatograma arrojó un pico de gran absorción a los 14.5 min., así como bandas secundarias a los 6.436, 13.4405, 14.6105 y 18.4875 min. El espectro de masas de cada uno de estas bandas proporcionó iones moleculares (M^+) de 486.8389, 485.2692, 413.2127 y 455.2592, respectivamente. La absorción en el Ultravioleta correspondió a 220-290 nm.

El sustrato Orujo de Uva tuvo mejor patrón de separación con los solventes Acetato de Etilo, Hexano y Éter etílico. En el cromatograma se observa un pico a los 14.5 min. para cada solvente, pero con el solvente Acetato de Etilo se presenta una mayor intensidad. Las bandas principales y los M^+ para cada solvente se muestran en la siguiente tabla (XIX)

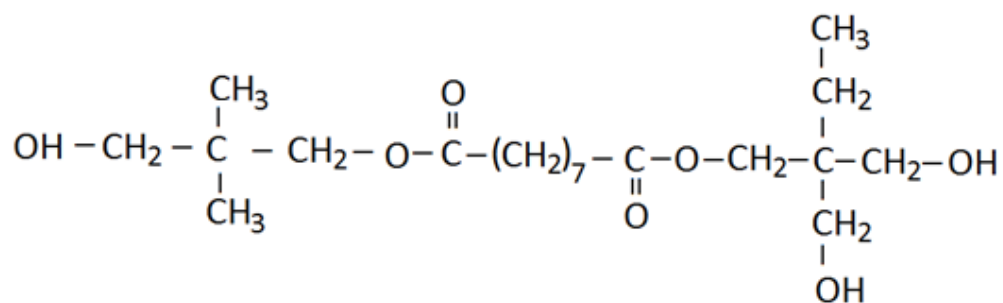
Tabla XIX. Sustrato Orujo de Uva. Bandas de absorción obtenidas mediante cromatografía de líquidos y los iones moleculares (M^+) obtenidos de cada banda mediante espectrometría de masas.

Solvente	Tiempo de retención (min.)	M^+
Acetato de Etilo	13.445	413.2127
	14.779	413.2128
	18.336	413.2119
Hexano	13.401	413.2124
	14.686	413.2131
	18.555	421.2334
Éter Etílico	3.6355	413.21374
	13.397	413.212
	14.925	455.2593
	18.317	449.2879

El sustrato Palma tuvo mejor patrón de separación con el solvente Éter Etílico. En los cromatogramas se observa un pico de absorción a los 14.5 min. que presenta absorción en el UV. También se observan 3 bandas principales en 13.4855, 14.969 y 18.6225 min. Los M^+ de cada banda son 455.2599, 455.2595 y 455.2589, respectivamente.

El patrón de fragmentación es el mismo en los 3 extractos de los 3 sustratos. Los 4 fragmentos más estables son los de peso molecular 455, 421, 413 y 367. Comparando con bases de datos existentes, la estructura identificada por su peso molecular de 455 podría ser Polieter polioliol (Figura 21).

Figura 21. Estructura del compuesto Polieterpoliol con peso molecular P.M. 455.



El patrón de fragmentación de este compuesto justifica el origen de las bandas más estables y más comunes presentes a lo largo de todas las separaciones independientemente del sustrato.

Figura 22. Fragmento m/e 421 ($M^+ - 34$). Probablemente el fragmento desprendido corresponde a la pérdida de 2 iones ^-OH .

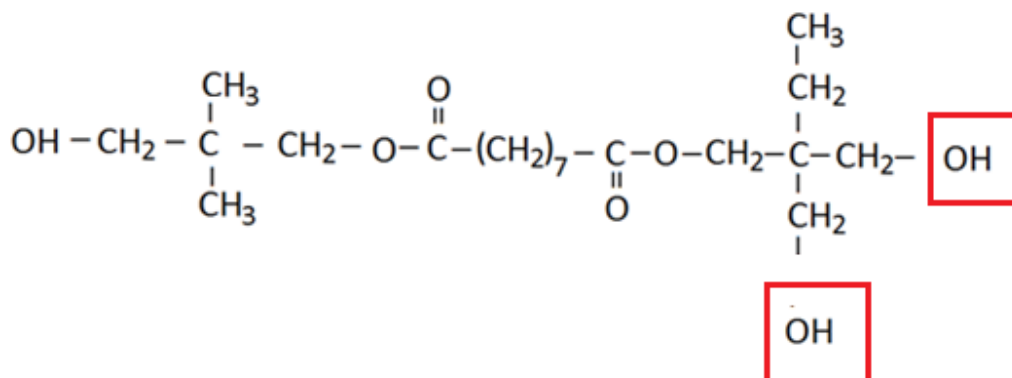


Figura 23. Fragmento m/e 413 ($M^+ - 42$). Probablemente se desprendió C_3H_6 y un protón se unió al Carbono cuaternario o al CH_2 que lo sustituye.

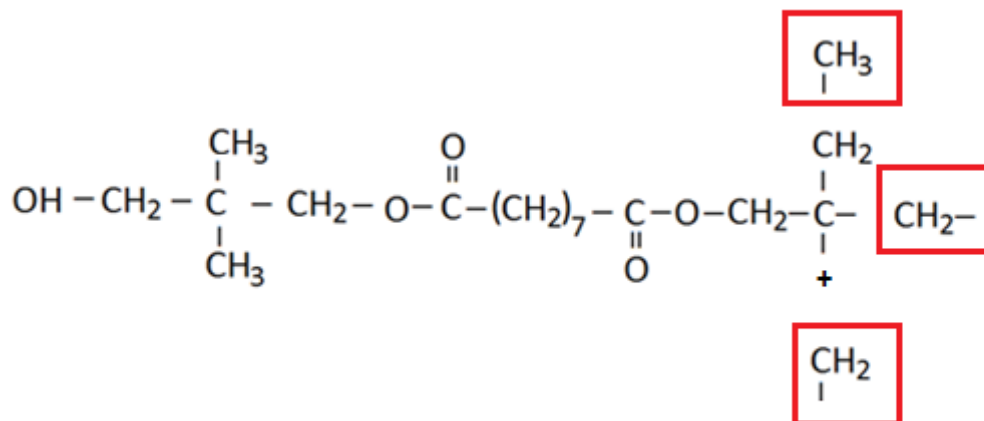
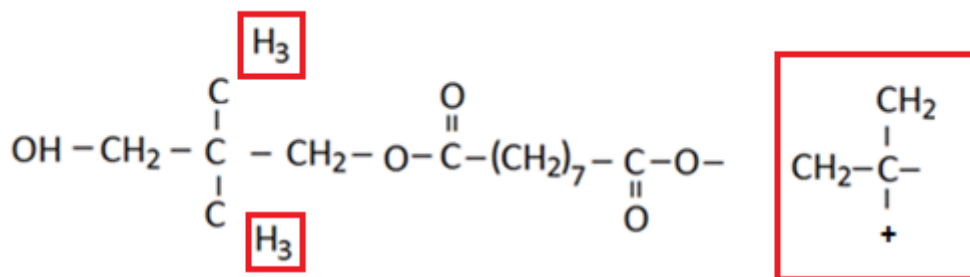


Figura 24. Fragmento m/e 367 (M⁺ - 46).



Al ser un análisis de extractos y no de compuestos puros, es de esperarse que no se obtenga un solo compuesto, sino mezcla de muchos compuestos. Por lo que al analizar detenidamente cada banda se observan otros fragmentos no tan repetitivos, pero sí estables, como es el fragmento en una m/e 180. Este podría corresponder a una unidad de manosa y si lo relacionamos con las estructuras esperadas en este trabajo, encontramos que las enzimas lacasas tienen un anillo de manosa en su estructura, por lo que eso podría ser el origen de este fragmento común en los espectros de masas.

Los espectros de UV en los 3 sustratos tienen absorbancias entre 200 y 900 nm y coincide con lo que reporta la literatura para la absorbancia de Lacasas de 280-600 nm (Madhavi & Lele, 2009). Comparado con las Tablas de espectroscopía UV/Vis de Prestsch *et al.* (2009), se indica que estos rangos de absorbancia pueden corresponder a grupos carbonilos.

7. Conclusiones

1. El tratamiento de Orujo de Uva disminuyó en mayor proporción la salinidad de los suelos problema.
2. Se encontraron diferencias significativas entre el tratamiento de Orujo de Uva y los que se usan frecuentemente en Agricultura.
3. El tratamiento con Palma no tuvo diferencias significativas con el experimento control.
4. El tratamiento de lixiviación no funcionó por la compactación de la muestra.
5. Las muestras colectadas en el Valle de Maneadero son clasificadas como “Ligeramente Salinas” y afectan a plantas estenotolerantes a solutos salinos.
6. Es necesario hacer más análisis con diferentes residuos de origen urbano para reciclar las propiedades que tienen y a la vez minimizar el impacto al ambiente.
7. Los sustratos agotados pierden agua y materia orgánica al final de la cosecha de *Pleurotus ostreatus*.
8. El contenido proteico del sustrato aumenta después de la cosecha de *Pleurotus ostreatus*, es decir, una vez que está agotado.
9. El solvente de mayor afinidad para separar Sustrato Degradado por *Pleurotus* de Trigo fue diclorometano, para Orujo de Uva el Acetato de Etilo y por último, el Sustrato Degradado por *Pleurotus* de Palma tuvo mejor separación con Éter Etílico.

10. El fragmento con peso molecular 455 se encontró en los 3 sustratos y podría corresponder a polieterpoliol.
11. Existen fragmentos estables de peso 180, que coincide con el peso molecular de la manosa

8. Referencias

Asgher, M. B., H.N.; Ashraf, M. & Legge, R.L. (2008). "Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white rot fungi and their enzyme system." Biodegradation **19**: 771–783.

Badalucco, L. R., M.; Colombo, C.; Palumbo, G.; Laudicina, V.A. & Gianfreda, L. (2010). "Reversing agricultura from intensive to sustainable improves soil quality in a semiarid South Italian soil." Biol Fertil Soils **46**: 481-489.

Blaylock, A. D. (1994). "Soil Salinity, Salt Tolerance, and Growth Potential of Horticultural and Landscape Plants
" Cooperative Extension Service, University of Wyoming: 4.

Brinck, E. F., C. (2009). "Evaluation of amendments used to prevent sodification of irrigated fields." Applied Geochemistry **24**(11): 2113-2122.

Burt, C. M. I., B. (2005). "Leaching of accumulated soil salinity under drip irrigation." American Society of Agricultural Engineers **48**(6): 8 pp.

D'Souza, T. M. B., K. & adinarayana-Reddy, C. (1996). "Isolation of Laccase Gene-Specific Sequences from White Rot and Brown Rot Fungi by PCR." Applied and Enviromental Microbiology **62**(10): 3739–3744.

Díaz, E. (2004). "Bacterial degradation of aromatic pollutants: a paradigm of metabolic versatility." International Microbiology **4**: 173–180.

Felipó-Oriol, M. T. (2002). "Utilización de materia orgánica residual urbana en la recuperación de suelos degradados." Agricultura y medio ambiente 10 pp.

Franzen, D. (2012). Managing saline soils in North Dakota, North Dakota State University: 12.

Galván-Meraz, F. J. (2007). Diccionario Ambiental y asignaturas afines. Jalisco, México, Mundi Prensa México, S.A. de C.V.: 304.

Gambaudo, S. (2006). "Calidad del yeso natural para uso agrícola." Información técnica cultivos de verano **106**: 4.

Gao, D. D., L.; Yang, J.; Wu, W. & Liang, H. (2010). "A critical review of the application of white rot fungus to environmental pollution control." Critical Reviews in Biotechnology **30**(1): 70-77.

Hammel, K. E. (1996). "Extracellular free radical biochemistry of ligninolytic fungi." New Journal of Chemistry **20**: 4.

Hirano, T. H., Y.; Watanabe, T. Kuwahara, M. (2000). "Degradation of Bisphenol A by the Lignin-Degrading Enzyme, Manganese Peroxidase,

Produced by White-rot Basidiomycete, *Pleurotus ostreatus*." Bioscience, Biotechnology and Biochemistry **64**(9): 1958-1962.

Hobbie, S. (1992). "Effects of plant species on nutrient cycling " TREE **7**(10): 4.

Karas, P. A. P., C.; Exarhou, K.; Ehalotis, C. & Karpouzas, D.G. (2010). "Potential for bioremediation of agro-industrial effluents with high loads of pesticides by selected fungi." Biodegradation **22**(1): 215-228.

Madhavi, V. L., S.S. (2009). "Laccase: Properties and applications." BioResources **4**(4): Pp. 1694-1717.

Mora, V. M. & Martínez-Carrera, D. (2007). Investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas sobre el cultivo de setas (*Pleurotus*) en México. El Cultivo de Setas *Pleurotus* spp. en México. J. E. Sánchez, D. Martínez-Carrera, G. Mata & H. Leal. México, D.F., ECOSUR: pp. 7-26.

Ortiz-Bernad, I. S.-G., J.; Dorado-Valiño, M. & Villar-Fernández, S. (2007). Técnicas de recuperación de suelos contaminados. Madrid, España, Universidad de Alcalá.

Pandey, J. C., A. & Rakesh, J. (2009). "Integrative approaches for assessing the ecological sustainability of in situ bioremediation." Microbiol Rev **33**: 324-375.

Paul, D. P., G.; Meier, C.; van der Meer, J.R. & Jain, R.K. (2006). "Bacterial community structure of a pesticide-contaminated site and assessment of changes induced in community structure during bioremediation." FEMS Microbiology Ecology **57**: 116–127.

Pointing, S. B. (2001). "Feasibility of bioremediation by white-rot fungi." Applied Microbiology and Biotechnology **57**: 20-33.

Pretsch, E. B., P & Badertscher, M. (2008). Structure determination of Organic compounds: Tables of Spectral Data. Berlin, Springer.

Qadir, M. O., J.D.; Schubert, S.; Noble, A.D. & Sahrawat, K.L. (2007). "Phytoremediation of sodic and saline-sodic soils." Advances in Agronomy **96**: 51.

Rowell, D. (1994). Soil science: methods & applications., Longman Scientific & Technical. Essex.

Sánchez, C. (2010). "Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms." Applied Microbiology and Biotechnology **85**: 1321–1337.

Thrall, P. H. M., D.A.; Jeavons, A.C.; Waayers, M.; Harvey, G.R.; Bagnall, D.J. & Brockwell, J. (2005). "Seed inoculation with effective root-nodule

bacteria enhances revegetation success." Journal of Applied Ecology **42**: Pp. 740–751.

Walker, D. J. B., M.P. (2006). "The effects of olive mill waste compost and poultry manure on the availability and plant uptake of nutrients in a highly saline soil." Bioresource Technology: 8.

Watanabe, K. (2001). "Microorganisms relevant to bioremediation." Current Opinion in Biotechnology **12**: 237–241.

Wesenberg, D. K., I. & Agathos, S.N. (2003). "White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents." Biotechnology Advances **22**: 161–187.

Sitios electrónicos

Departamento de Agricultura de estados Unidos.

http://www.ars.usda.gov/main/site_main.htm?modecode=53-10-20-00

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2008). Agropecuario y Aprovechamiento Forestal. México. <http://www.inegi.org.mx>

Programa integral del agua.

[http://www.imipens.org/IMIP_files/PROGRAMA%20INTEGRAL%20DEL%20AGUA%20%20DE%20ENSENADA\(PIAE\).pdf](http://www.imipens.org/IMIP_files/PROGRAMA%20INTEGRAL%20DEL%20AGUA%20%20DE%20ENSENADA(PIAE).pdf)

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2009). México. <http://www.sagarpa.gob.mx>

Sistema de información del manejo del agua de riego en Baja California.

<http://www.sfa.gob.mx>

US Salinity Laboratory. Agricultural Research Service.

www.ars.usda.gov/pwa/riverside/gebjsl

9. Anexos

Tabla XX. Resultados de corriente eléctrica de las 9 muestras colectadas en el Valle de Maneadero.

Muestra	Réplica	Corriente (I)	promedio
1	1	12.51	12.525
	2	12.555	
	3	12.51	
2	1	12.06	12.045
	2	12.06	
	3	12.015	
3	1	11.97	11.91
	2	11.88	
	3	11.88	
4	1	12.195	12.195
	2	12.195	
	3	12.195	
5	1	11.79	11.895
	2	11.97	
	3	11.925	
6	1	12.105	12.105
	2	12.105	
	3	12.105	
7	1	12.015	12.045
	2	12.06	
	3	12.06	
8	1	12.51	12.495
	2	12.51	
	3	12.465	
9	1	12.555	12.495
	2	12.465	
	3	12.465	

Tabla XXI. Cálculos con las ecuaciones 1, 2 y 3 para obtener dS a partir de la Corriente Eléctrica (I).

Muestra	I	V	Ohms	dS
1	12.525	4.5	0.35928144	2.78333333
2	12.045	4.5	0.373599	2.67666667

3	11.91	4.5	0.37783375	2.64666667
4	12.195	4.5	0.36900369	2.71
5	11.895	4.5	0.37831021	2.64333333
6	12.105	4.5	0.37174721	2.69
7	12.045	4.5	0.373599	2.67666667
8	12.495	4.5	0.36014406	2.77666667
9	12.495	4.5	0.36014406	2.77666667

Tabla XXII. Muestra las medidas de *P. sativum* diarias durante el periodo de prueba.

Días	SDP TRIGO	SDP UVA	SDP PALMA	Lixiviación	Yeso orgánico	Control
1	1.55	1.53	1.59	1.51	1.52	1.44
2	1.55	1.53	1.59	1.51	1.52	1.45
3	1.63	1.89	1.59	1.51	1.58	1.51
4	1.7	2.23	1.64	0	1.65	1.59
5	1.7	2.61	1.64	0	1.69	1.61
6	1.77	3.04	1.74	0	1.76	1.69
7	1.86	3.46	1.74	0	1.83	1.72
8	2.03	3.94	1.81	0	1.92	1.78
9	2.29	4.43	2.01	0	2.09	1.99
10	2.67	4.94	2.21	0	2.34	2.2
11	3.06	5.38	2.48	0	2.62	2.5
12	3.46	5.76	2.78	0	3	2.69
13	4	6.35	3.12	0	3.42	3.04
14	4.61	6.92	3.49	0	3.89	3.39
15	5.27	7.5	3.97	0	4.51	3.85
16	5.85	8.12	4.33	0	5.16	4.33
17	6.54	8.78	4.83	0	5.74	4.8
18	7.23	9.45	5.35	0	6.38	5.35
19	7.85	10.08	5.86	0	7.13	5.88
20	8.61	10.74	6.37	0	7.74	6.38
21	9.34	11.3	6.87	0	8.45	6.91
22	10.1	11.94	7.38	0	9.2	7.42
23	10.86	12.52	7.93	0	9.89	7.95
24	11.61	12.97	8.45	0	10.6	8.48

Tabla XXII. Salinidad expresada en dS del suelo problema al finalizar el bioensayo con *P. sativum*. Al final se muestra el promedio para cada tratamiento.

Muestras	SDP Trigo	SDP Uva	SDP Palma	CaCO₃	Lixiviación	Control
1	0.98866667	0.90066667	1.59888889	1.29933333	2.702	2.49888889

2	0.89977778	0.89977778	1.70022222	1.29977778	2.7	2.50111111
3	1.00044444	0.89933333	1.802	1.40422222	2.70155556	2.49911111
4	0.90022222	0.79911111	1.69933333	1.20088889	2.602	2.59755556
5	0.89933333	1.00066667	1.69133333	1.29911111	2.69955556	2.54777778
6	0.89977778	0.90088889	1.70044444	1.302	2.59755556	2.49022222
7	0.90066667	0.80066667	1.50066667	1.29955556	2.60488889	2.50177778
8	1.10022222	0.90155556	1.69822222	1.30022222	2.70177778	2.60466667
9	0.90111111	0.99822222	1.80266667	1.19955556	2.69844444	2.49977778
10	1.09844444	1.00133333	1.79911111	1.29933333	2.70288889	2.60488889
Promedios	0.959	0.910	1.699	1.290	2.671	2.535

Tabla XXIV. Diferencia de concentración de salinidad expresada en dS al inicio y final del bioensayo.

Sustrato	Inicial	Final	Diferencia
SDP Trigo	2.7	0.959	1.741
SDP Uva	2.7	0.91	1.79
SDP Palma	2.7	1.699	1.001
CACO3	2.7	1.29	1.41
Lixiviación	2.7	2.671	0.029
Control	2.7	2.535	0.165

Tabla XXV. Indica los registros de pesos para el análisis de Humedad según la ecuación 4.

Contenido	peso caja	P2	P1	P2-P1	% Humedad
Palma fermentada	39.27	60.05	42.41	17.64	84.889
Palma fermentada	41.22	61.79	44.52	17.27	83.957
Trigo fermentado	35.7	42.26	38.92	3.34	50.915
Trigo fermentada	37.52	44.14	40.69	3.45	52.115
Uva fermentada	34.84	44.93	43.22	1.71	16.947
Uva fermentada	36.14	46.22	44.44	1.78	17.659
Palma natural	41.02	46.12	45.83	0.29	5.686
Palma natural	39.11	44.18	43.87	0.31	6.114
Palma agotada	35.71	39.86	39.69	0.17	4.096
Palma agotada	37.52	44.42	44.2	0.22	3.188
Uva natural	34.85	53.33	51.88	1.45	7.846
Uva natural	36.15	53.37	51.6	1.77	10.279
Trigo natural	41.02	44.14	43.99	0.15	4.808
Trigo natural	39.12	44.36	44	0.36	6.870

Tabla XXVI. Indica los registros de pesos para el análisis de Materia Orgánica según la ecuación 5.

Muestra	P2	P1	P2-P1	% cenizas
Trigo Natural	22.4394	21.5053	0.9341	92.742
Trigo Natural	29.2358	28.2999	0.9359	92.995
Uva natural	21.9267	20.9663	0.9604	93.470
Uva natural	22.3551	21.4197	0.9354	92.844
Uva fermentada	23.4716	22.5578	0.9138	89.623
Uva fermentada	21.0388	20.1209	0.9179	89.577
Palma agotada	22.4781	21.6125	0.8656	84.672
Palma agotada	29.2756	28.4156	0.86	84.905
Palma fermentada	18.8576	17.913	0.9446	93.962
Palma fermentada	23.3211	22.3615	0.9596	93.610
Palma natural	29.3195	28.3332	0.9863	93.479
Palma natural	23.35602	22.3681	0.98792	93.651

Tabla XXVII. Indica los registros de pesos para el análisis de Nitrógeno según la ecuación 6 y la multiplicación por el factor 6.25.

Muestra	Volumen de H ₂ SO ₄	muestra (g)	% Nitrógeno	% Proteínas
Trigo natural	5.2	0.9998	0.007	0.043
Trigo natural	4.7	0.9998	0.006	0.038
Trigo natural	5.6	0.9999	0.007	0.046
Palma natural	13.7	0.9999	0.018	0.112
Palma natural		1	0.000	0.000
Palma natural	10.4	1	0.014	0.085
Orujo natural	17.5	1.0004	0.023	0.143
Orujo natural	17.5	1	0.023	0.143
Orujo natural	17.9	1	0.023	0.146
Trigo fermentado	2.6	1	0.003	0.021
Trigo fermentado	3.4	1	0.004	0.028

Palma fermentada	5.4	1	0.007	0.044
Palma fermentada	5.3	1	0.007	0.043
Orujo fermentado	11.9	1.0067	0.015	0.097
Orujo fermentado	18.4	1.0017	0.024	0.150
Palma agotada	9.6	1.0037	0.013	0.078
Palma agotada		1	0.000	0.000

Figura 25. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos el eje de las Y la absorbancia.

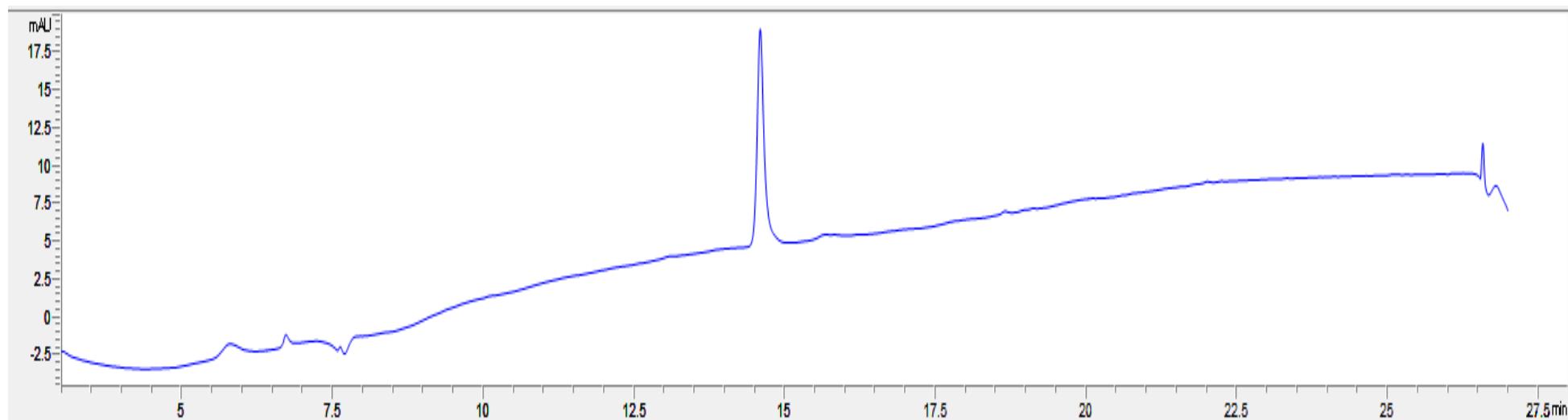


Figura 26. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las X se muestra el tiempo retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad.

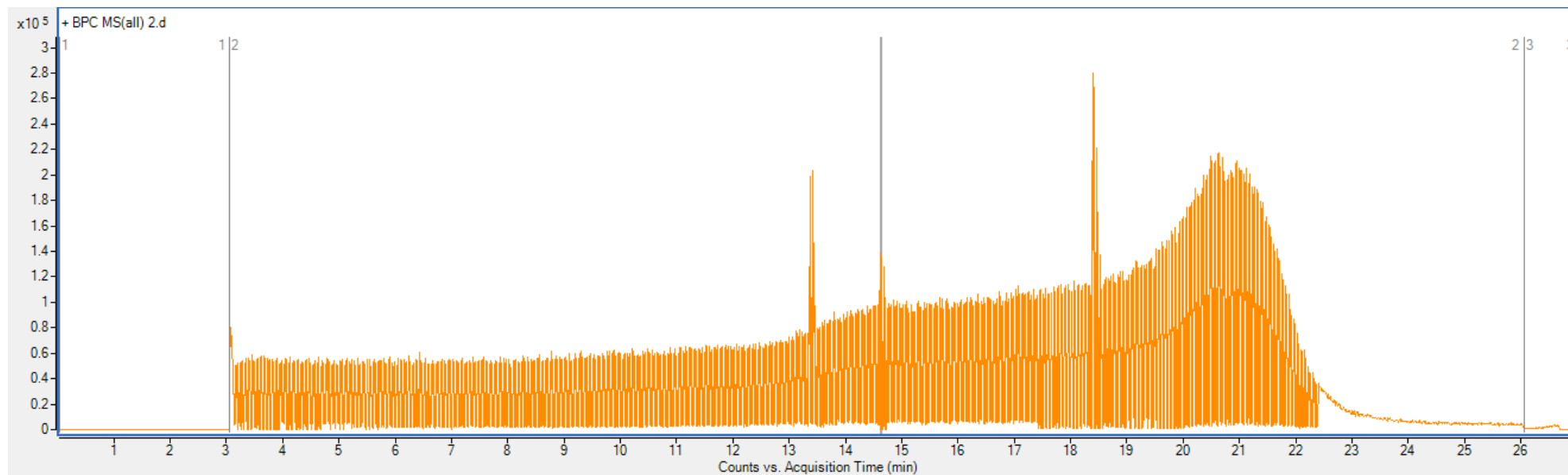


Figura 27. Espectro de masas para la banda 14.624 de la muestra Trigo con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

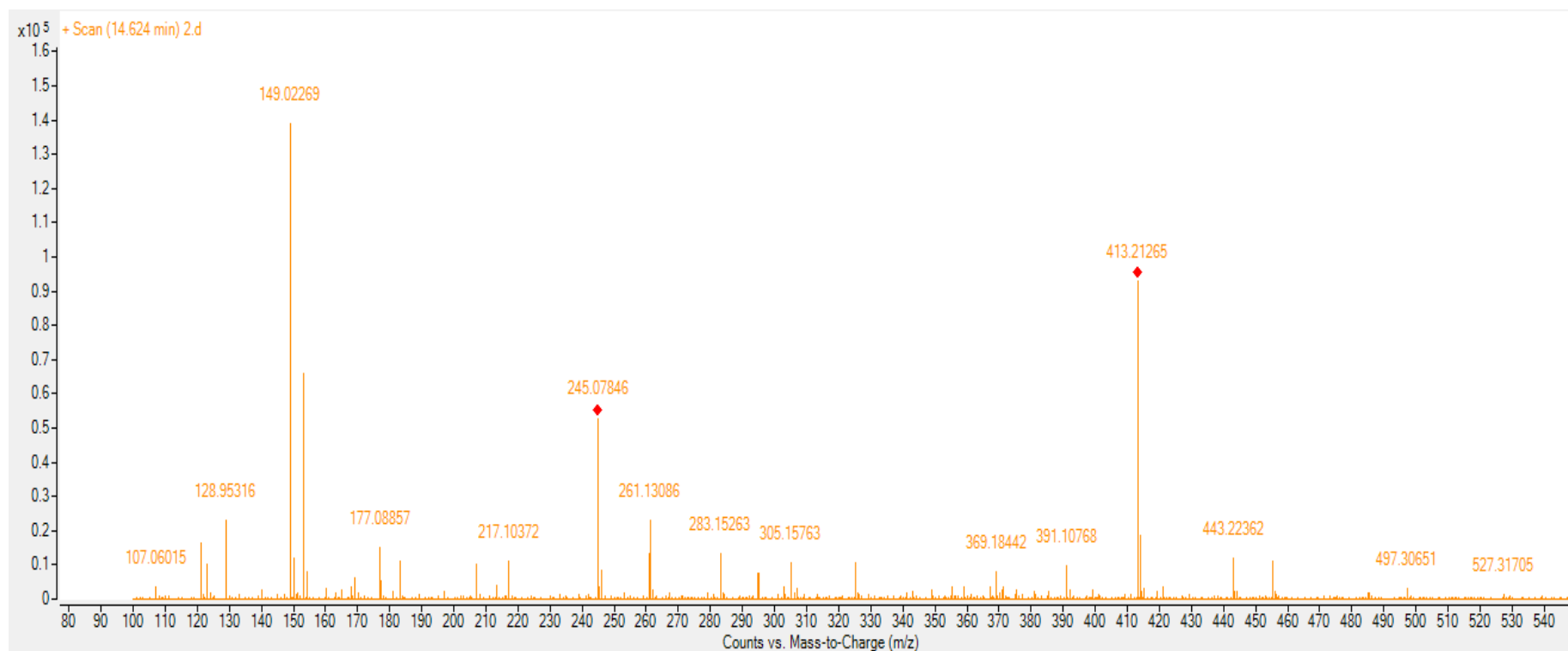


Figura 28. Espectro de masas para la banda 13.425 de la muestra Trigo con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

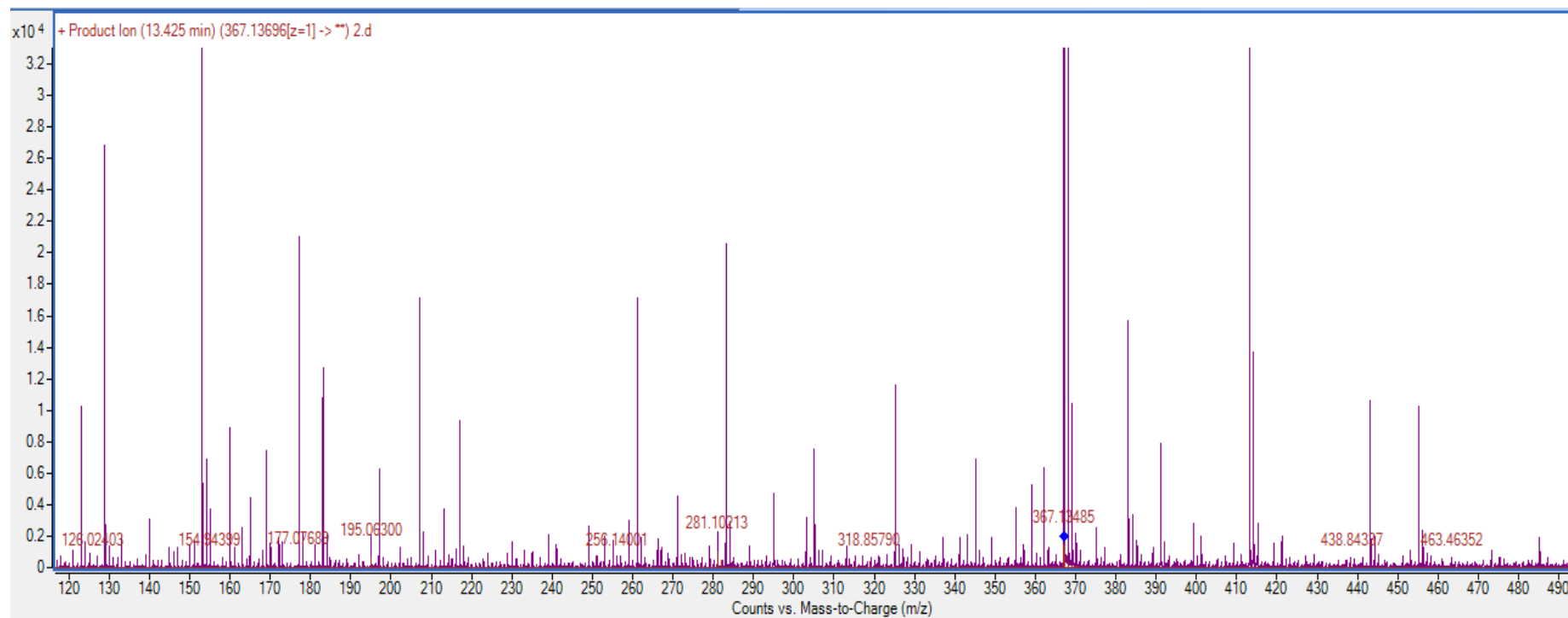


Figura 29. Espectro de masas para la banda 18.443 de la muestra Trigo con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

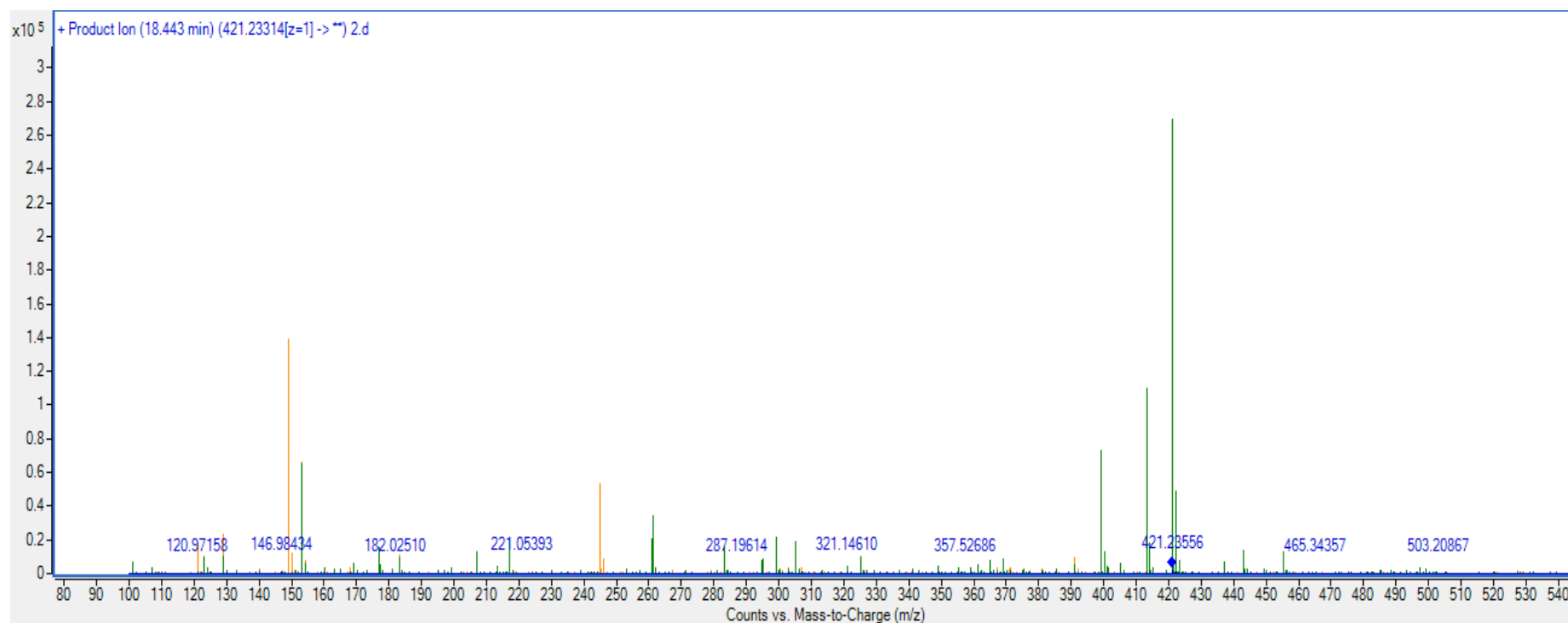


Figura 30. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra el tiempo retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción.

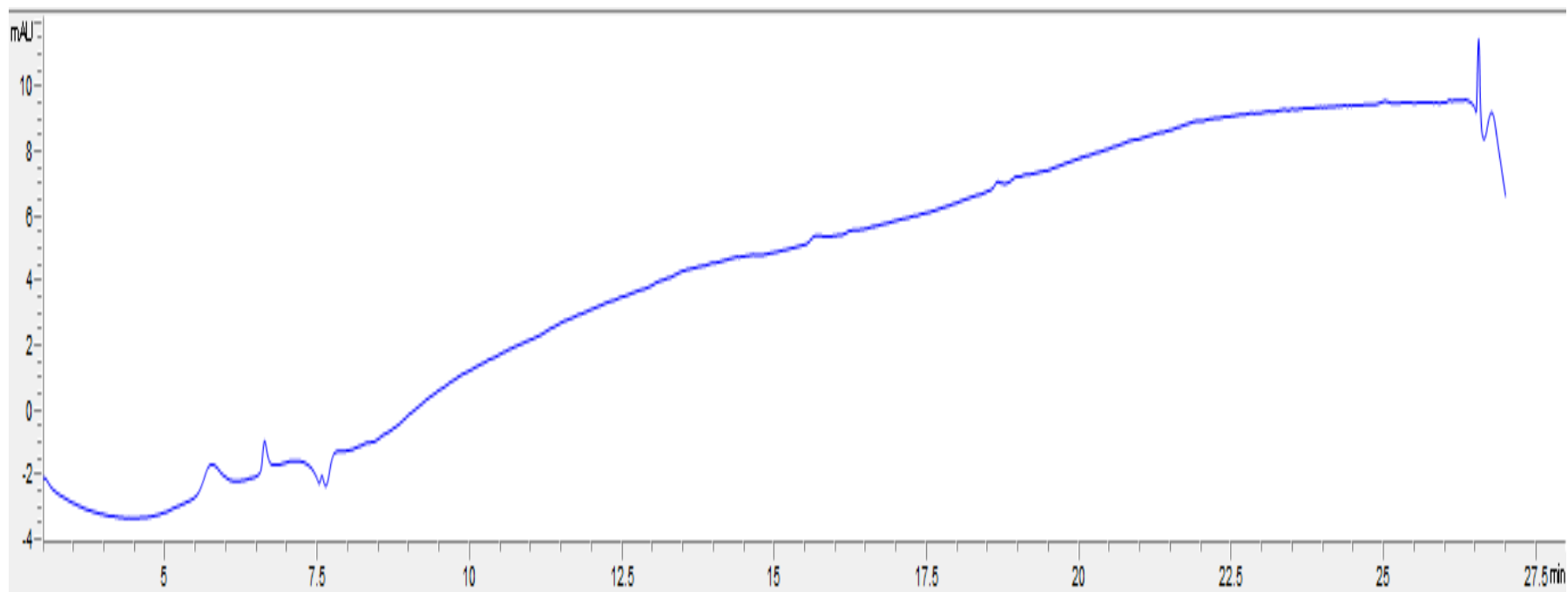


Figura 31. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad.

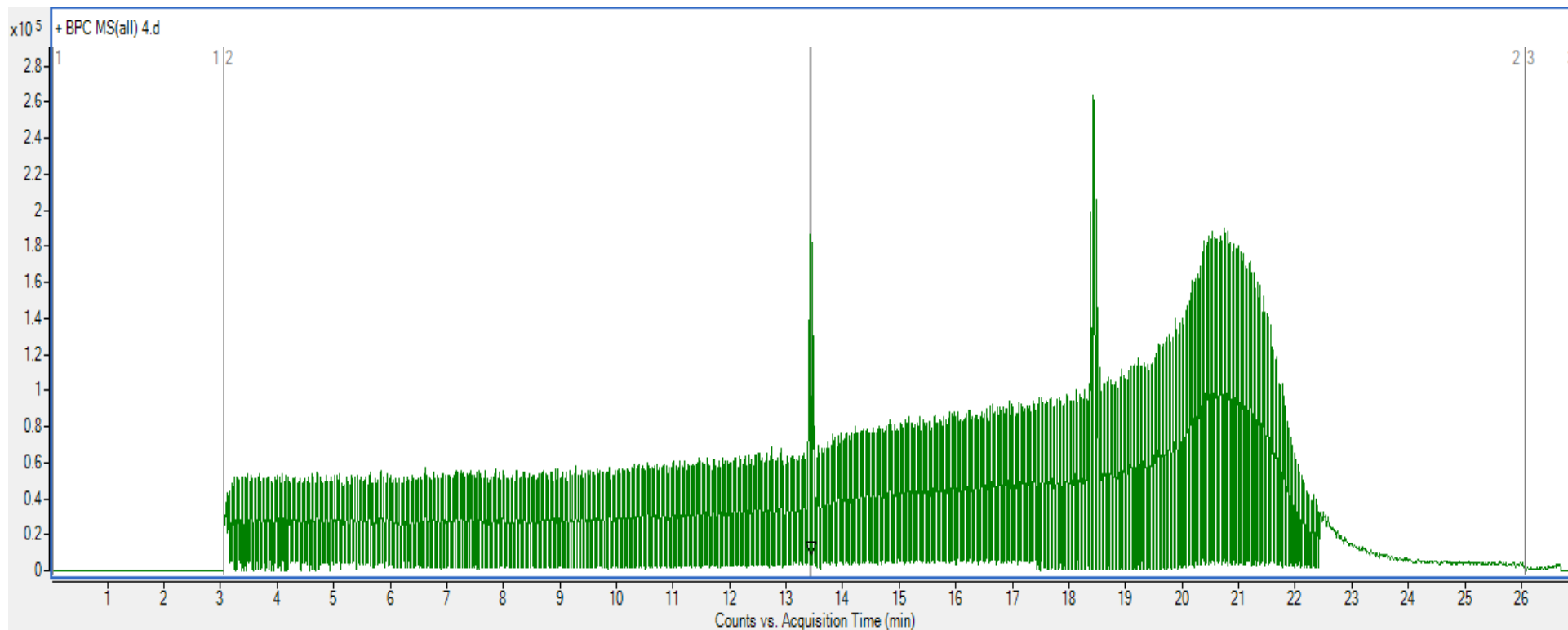


Figura 32. Espectro de masas para las bandas 13.428 y 13.441 de la muestra Trigo con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

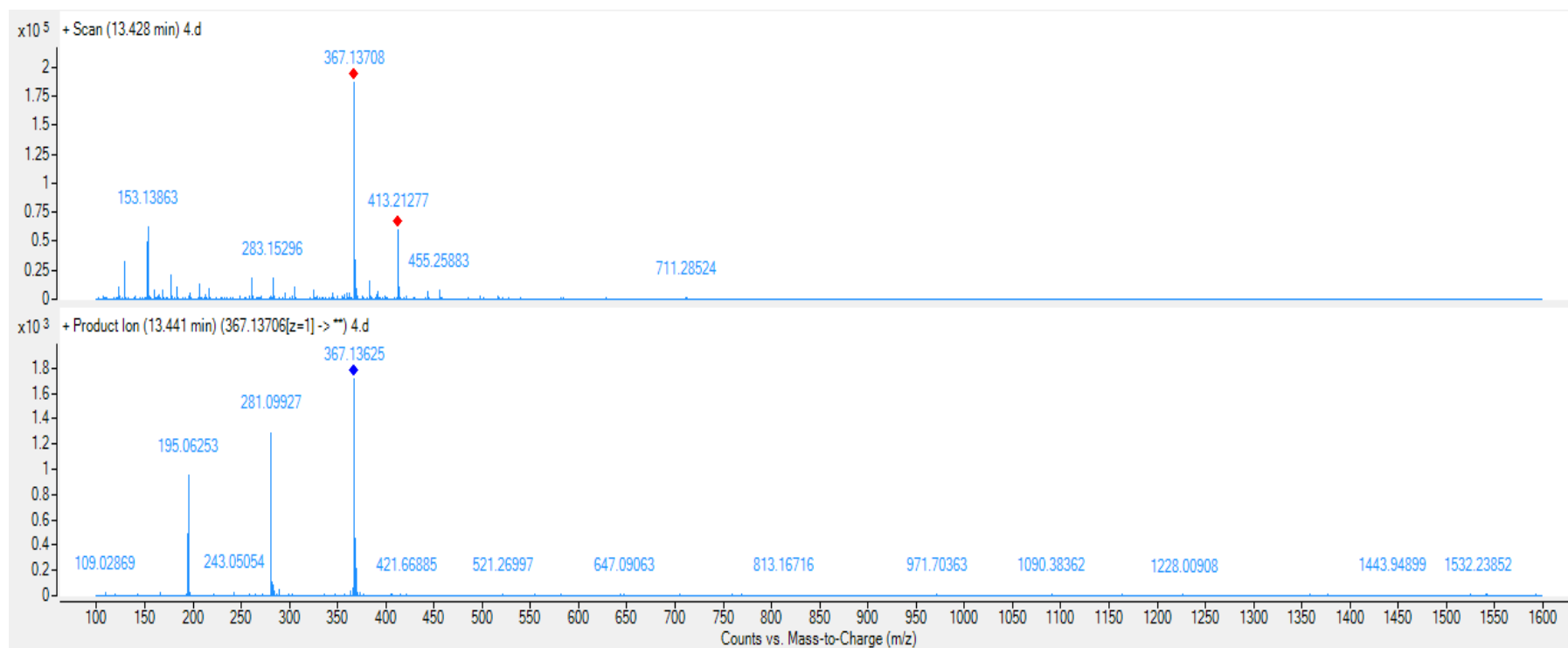


Figura 33. Espectro de masas para las bandas 18.445 y 18.464 de la muestra Trigo con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

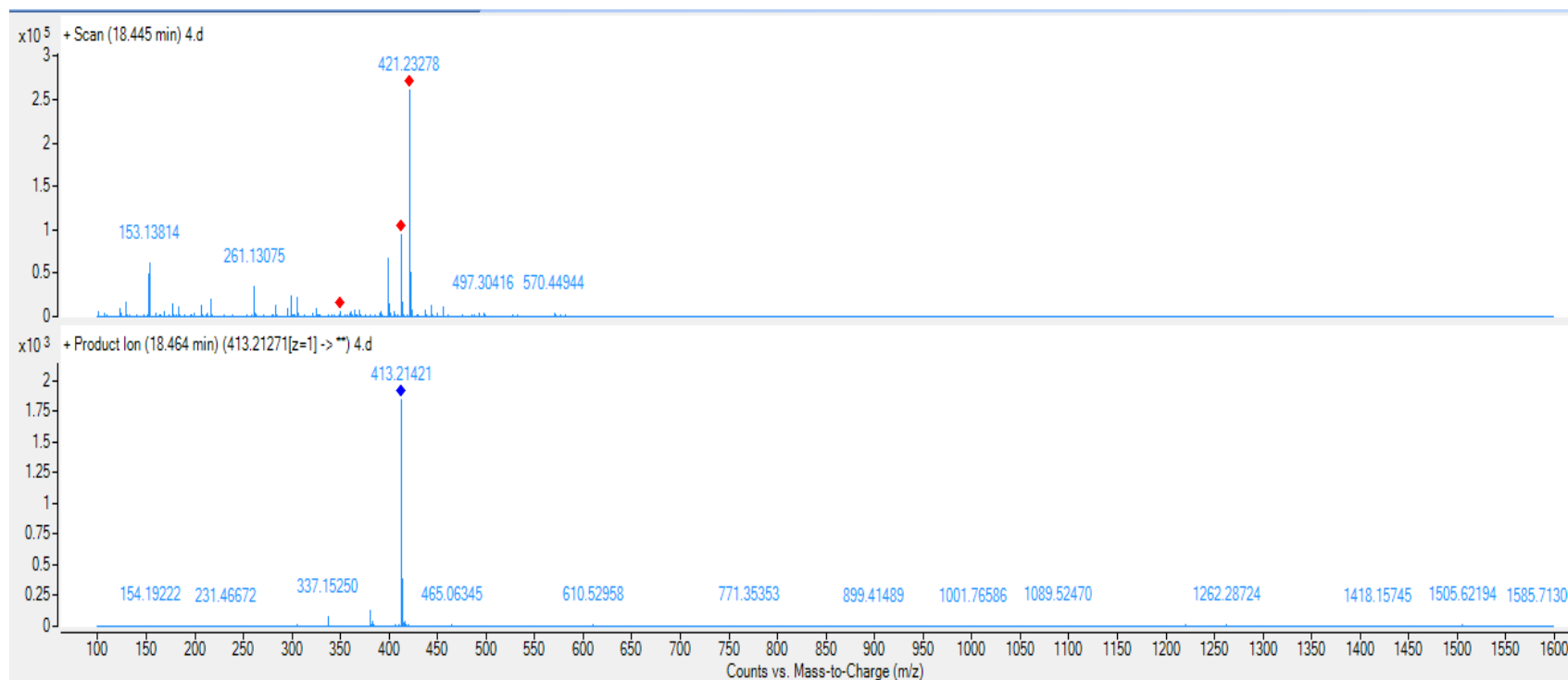


Figura 34. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción.

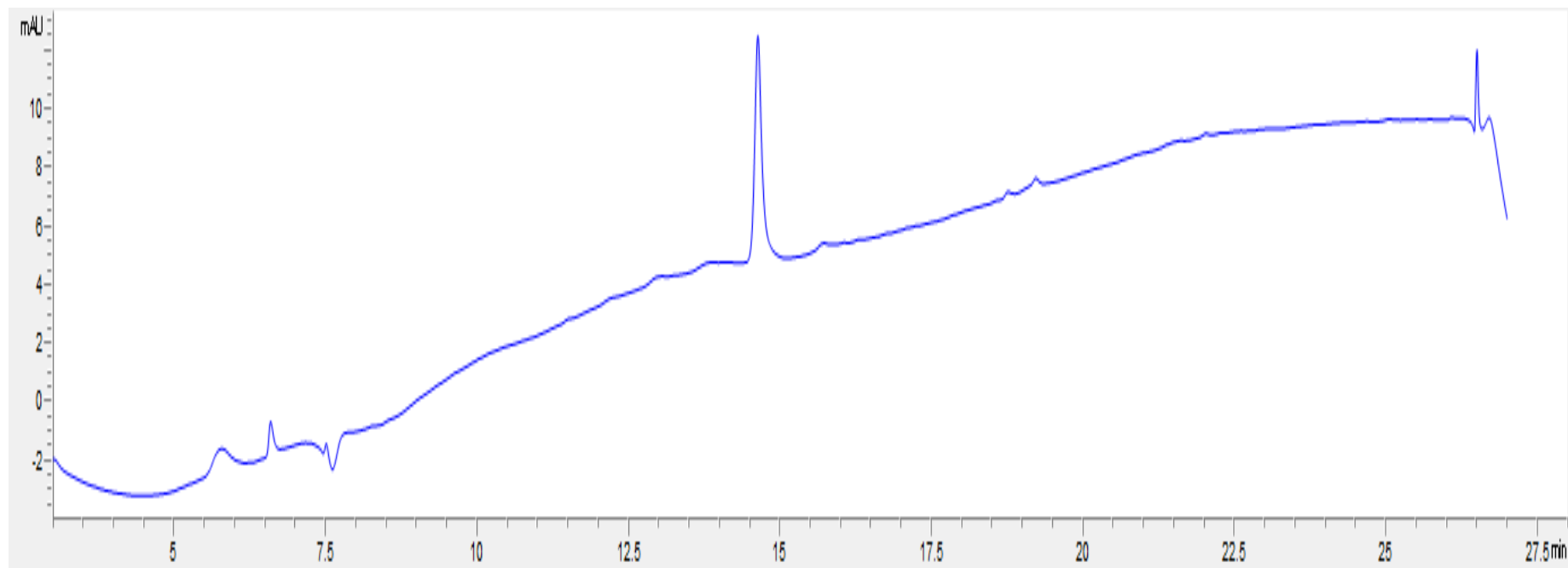


Figura 35. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad.

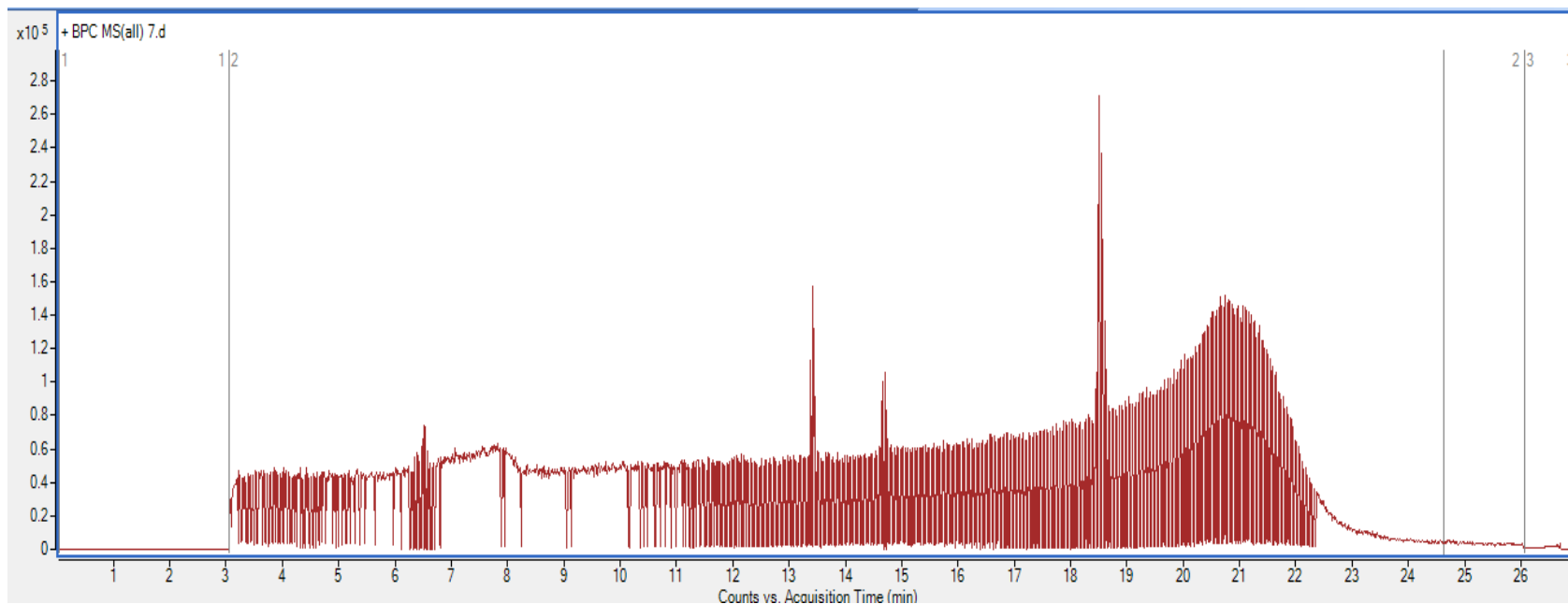


Figura 36. Espectro de masas para la banda 6.436 de la muestra Trigo con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

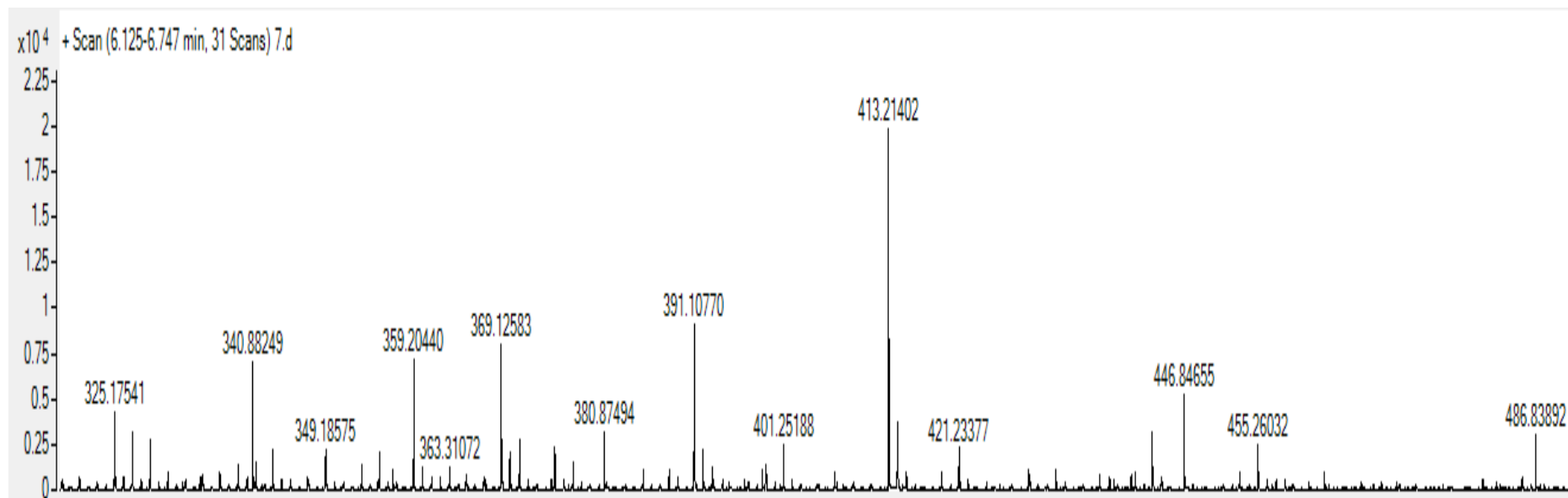


Figura 37. Espectro de masas para las bandas 13.4405 y 13.4415 de la muestra Trigo con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

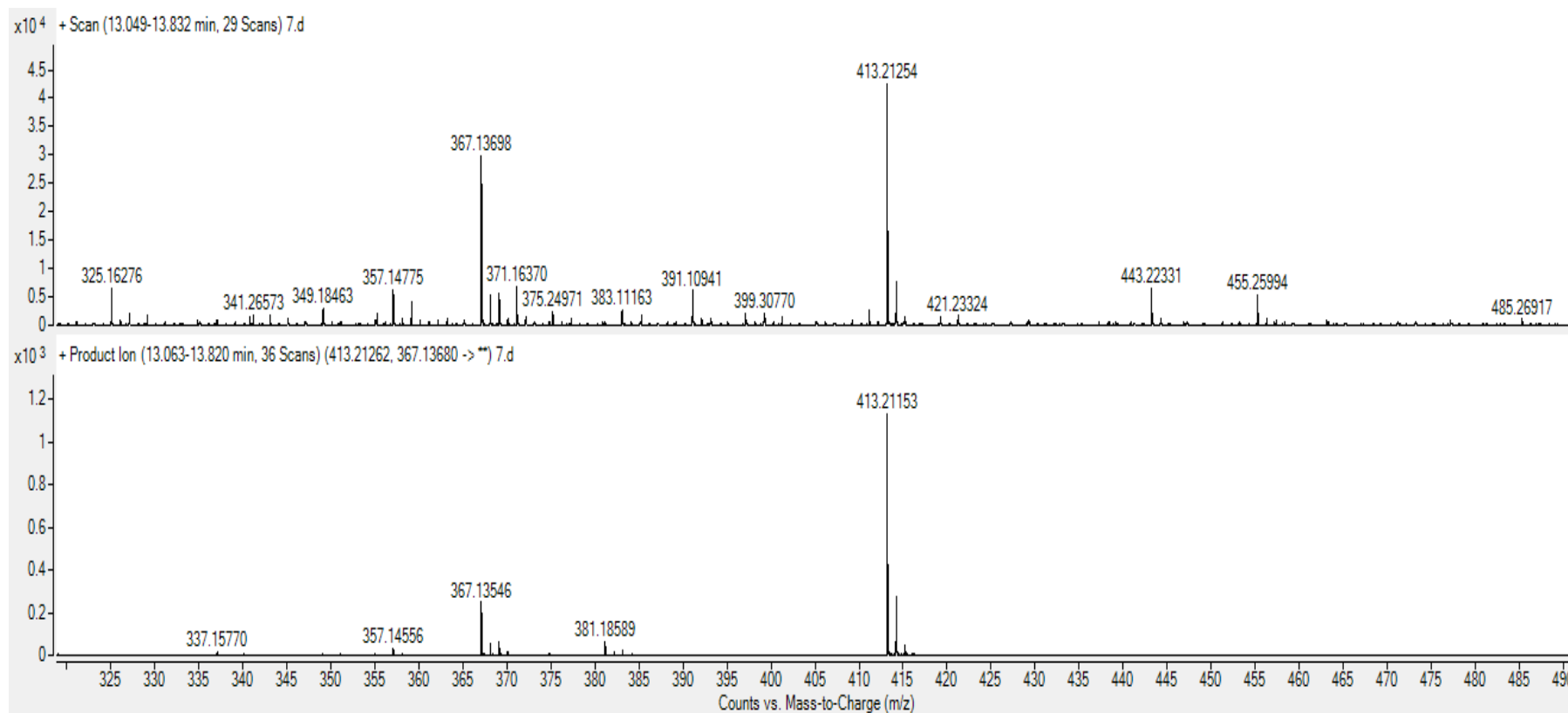


Figura 38. Espectro de masas para las bandas 14.6105 y 14.6265 de la muestra Trigo con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

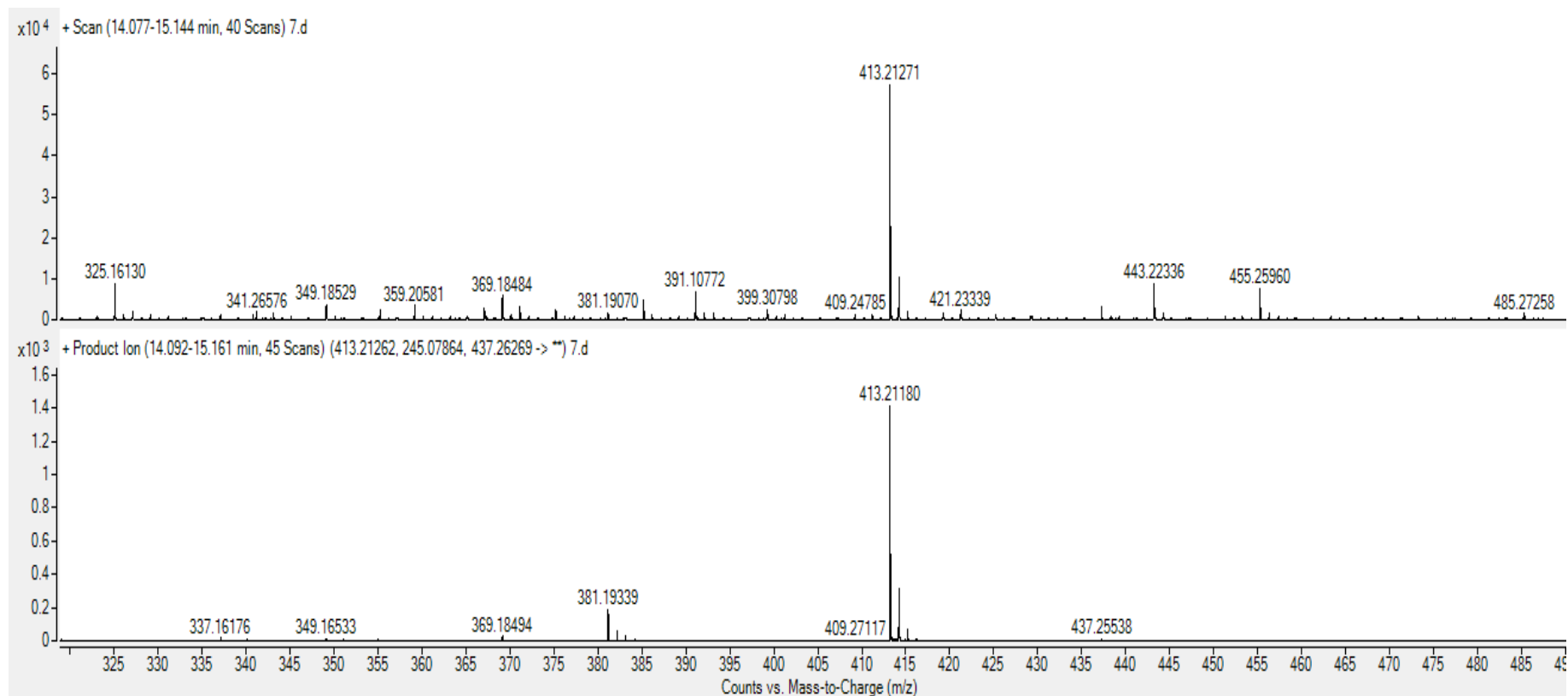


Figura 39. Espectro de masas para las bandas 18.4875 y 18.475 de la muestra Trigo con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

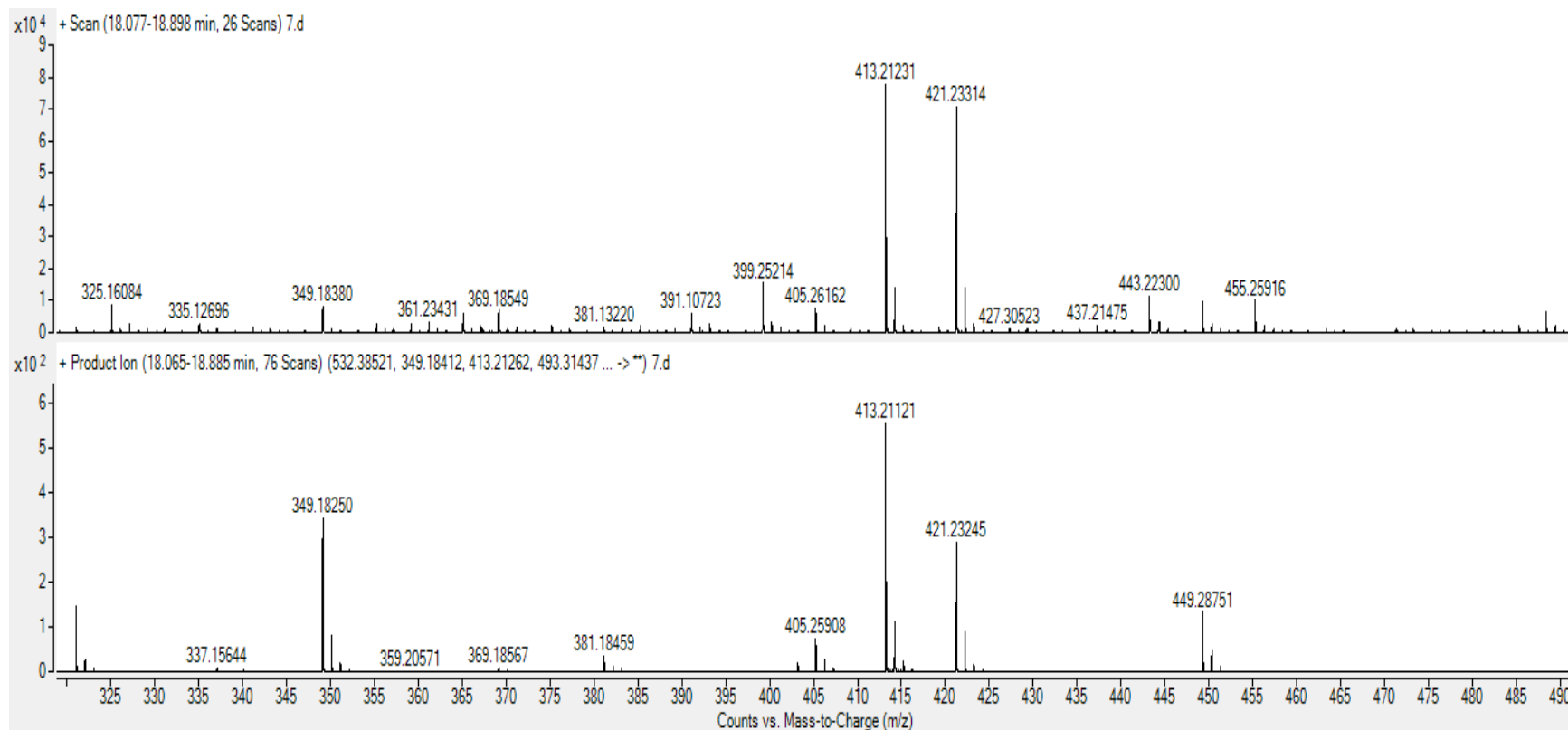


Figura 40. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Éter etílico. En el eje de las x se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad.

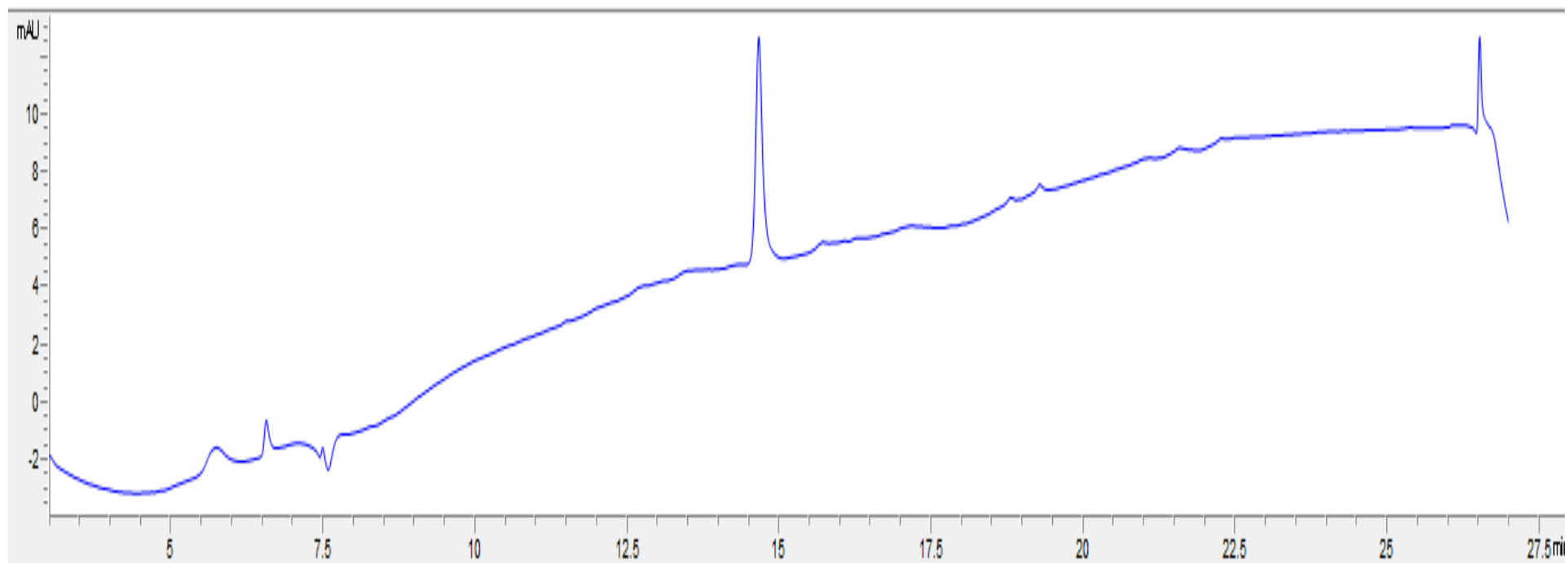


Figura 41. Cromatograma de extracto de Trigo con el disolvente Éter etílico. En el eje de las x se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad.

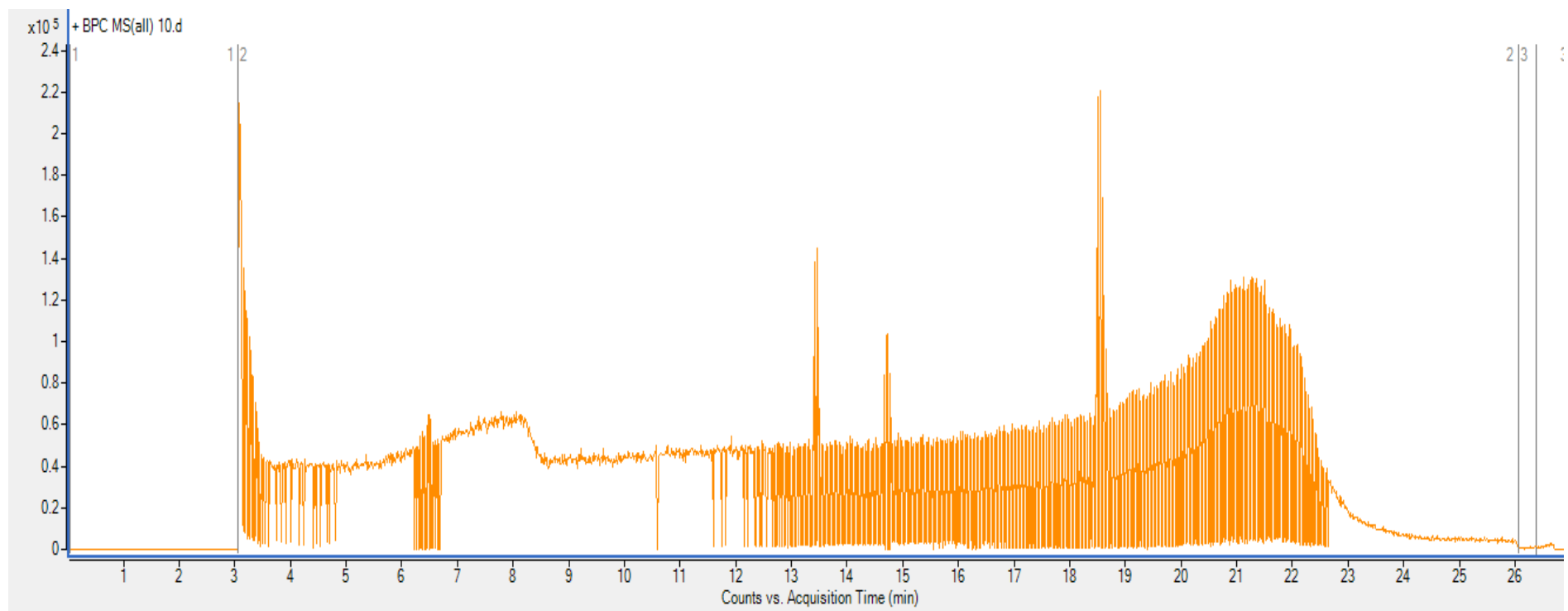


Figura 42. Espectro de masas para las bandas de 3.206 a 12.379 y 3.193 a 12.366379 de la muestra Trigo con el disolvente Éter Etilico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

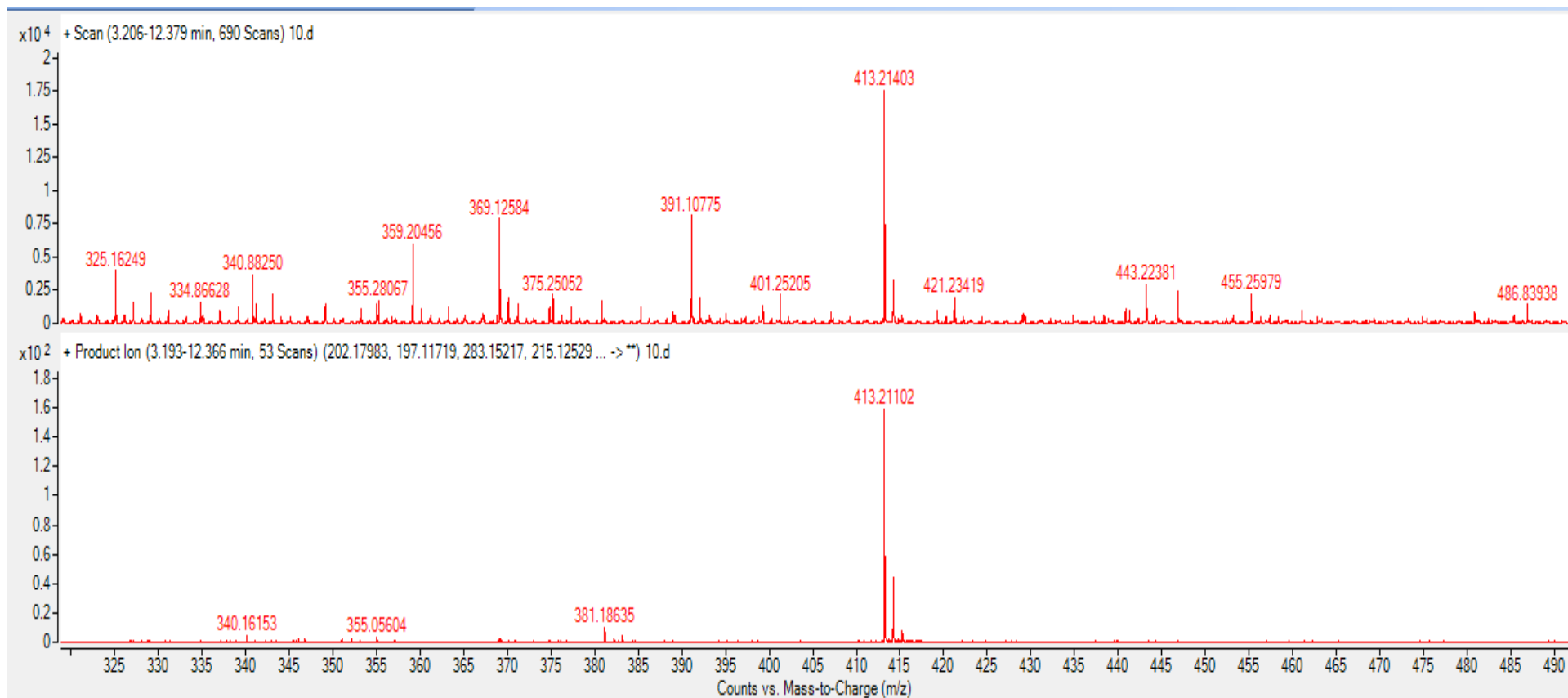


Figura 43. Espectro de masas para las bandas 13.5555 y 13.5565 de la muestra Trigo con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

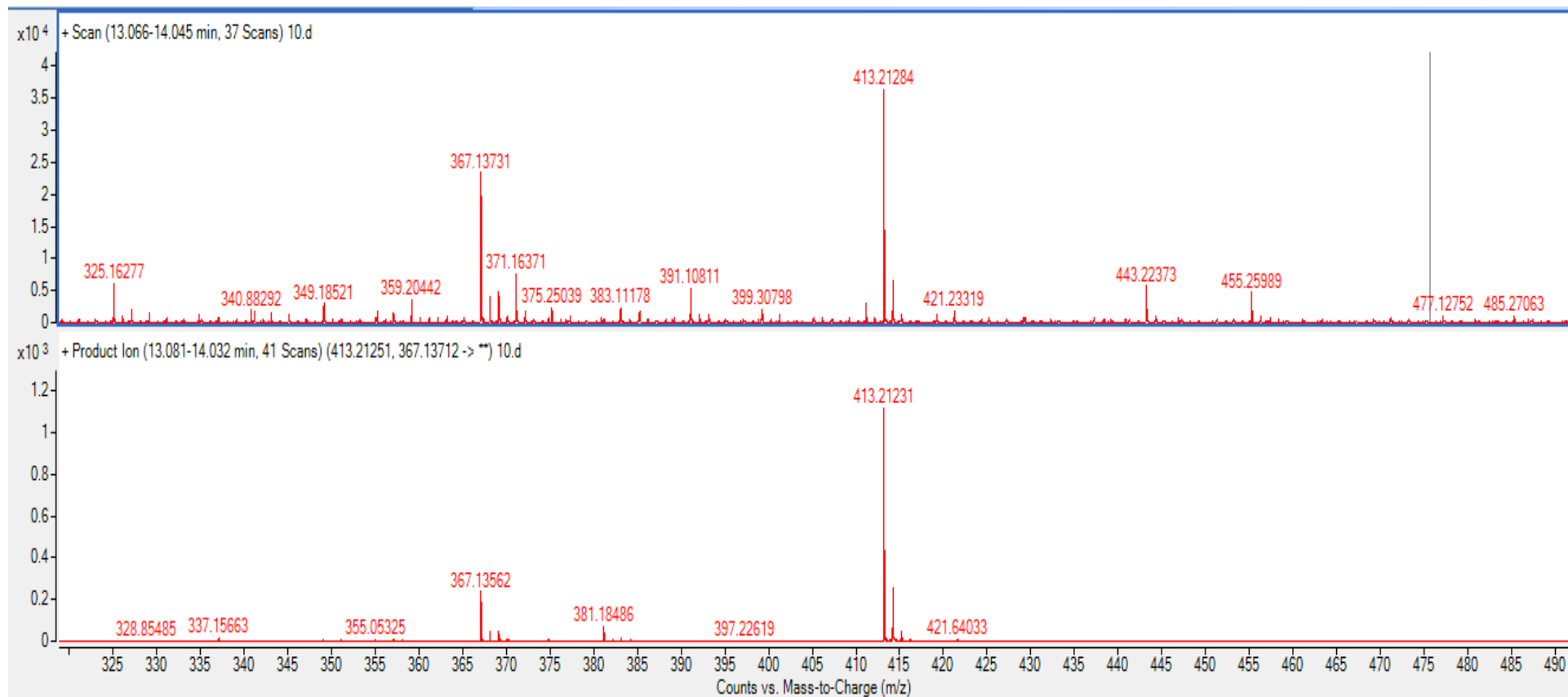


Figura 44. Espectro de masas para las bandas 14.76 y 14.7615 de la muestra Trigo con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

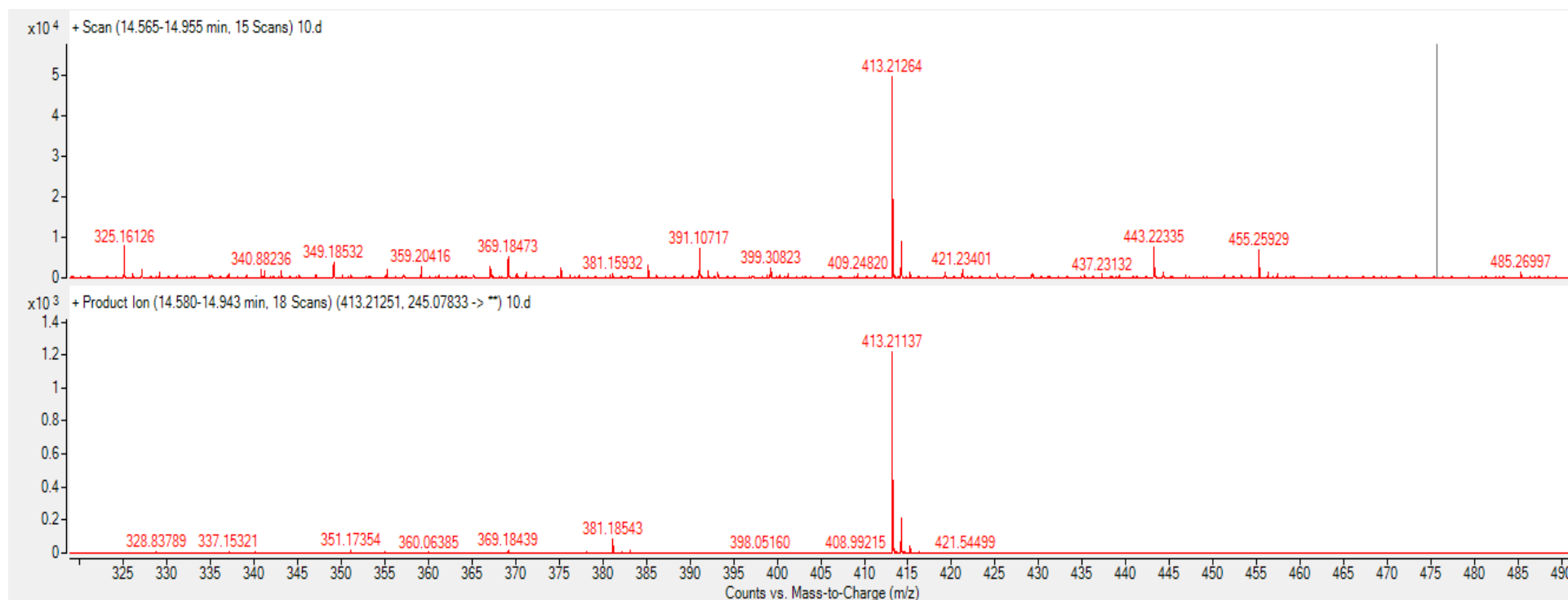


Figura 45. Espectro de masas para las bandas 18.547 y 18.5325 de la muestra Trigo con el disolvente Éter Etilico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

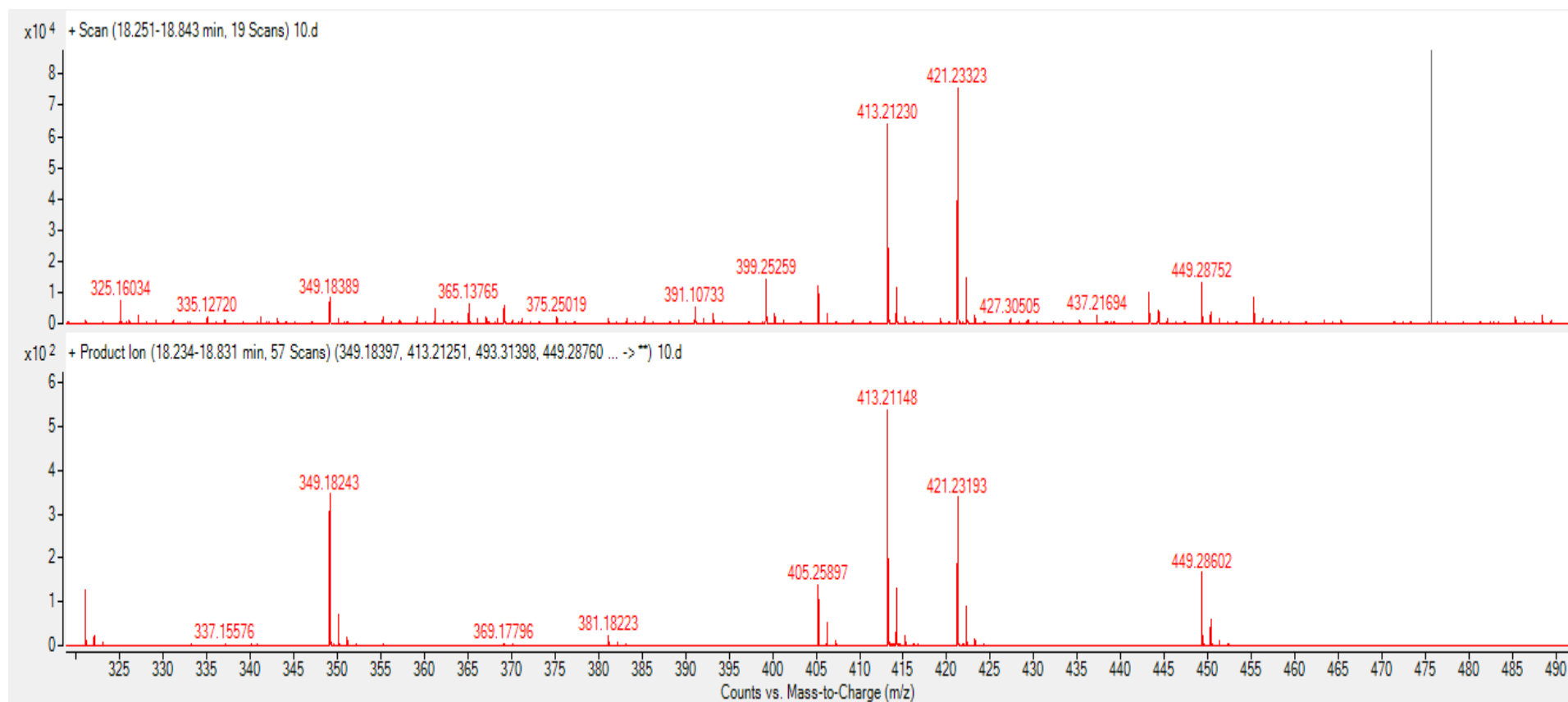


Figura 46. Cromatograma de Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción.

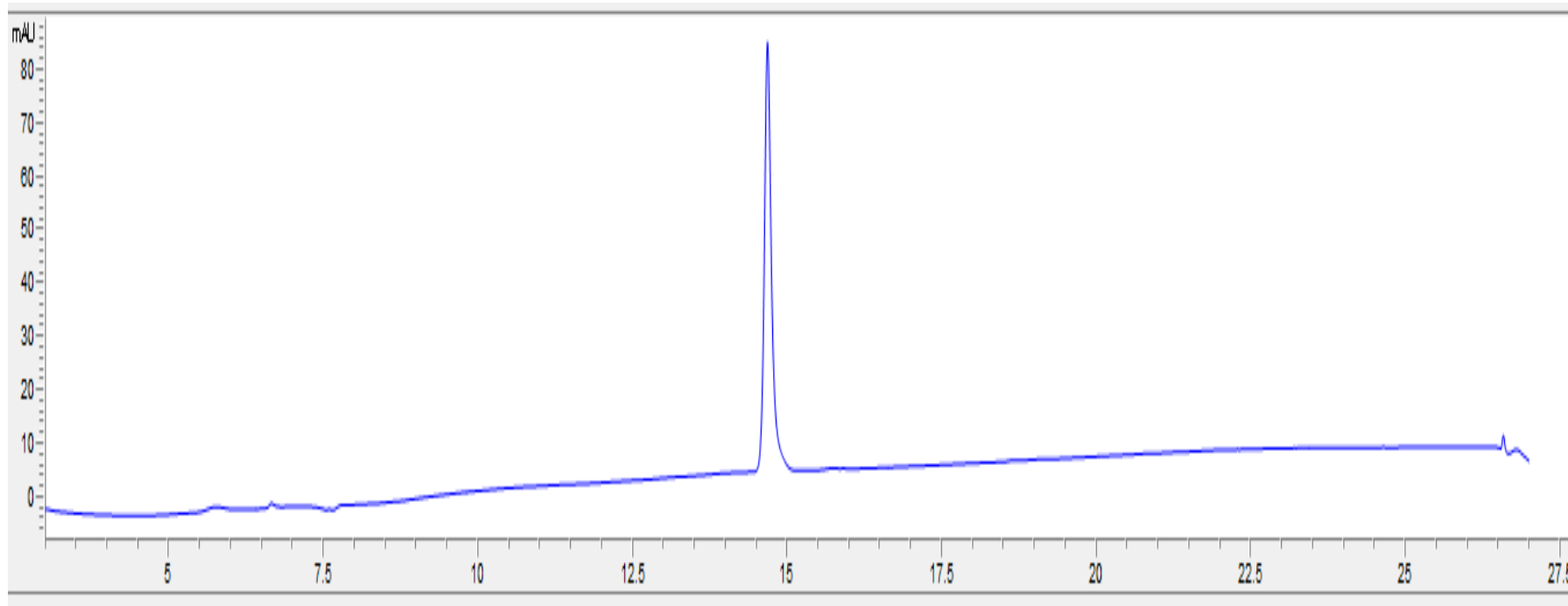


Figura 47. Cromatograma de Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las X el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad.

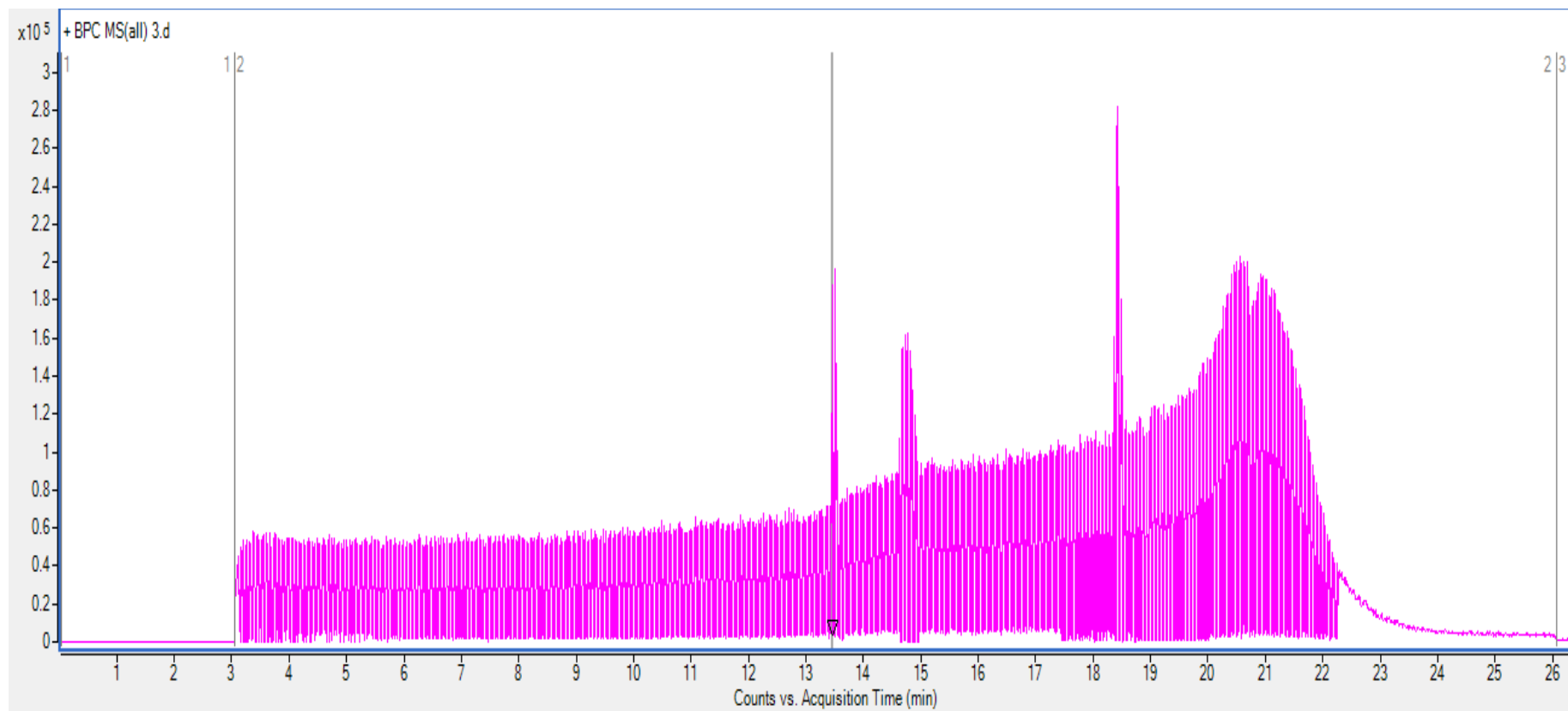


Figura 48. Espectro de masas para las bandas 13.445 y 13.460 de la muestra Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

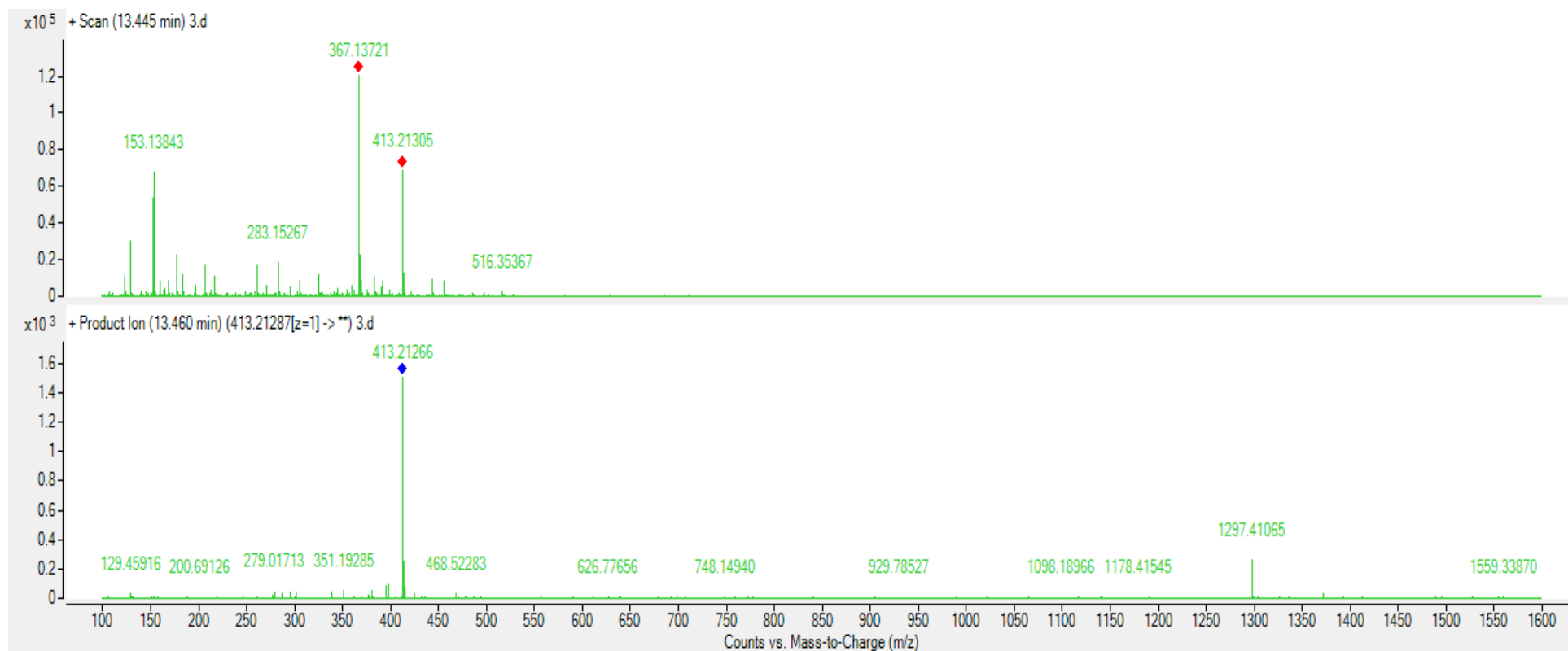


Figura 49. Espectro de masas para la banda 13.487 de la muestra Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

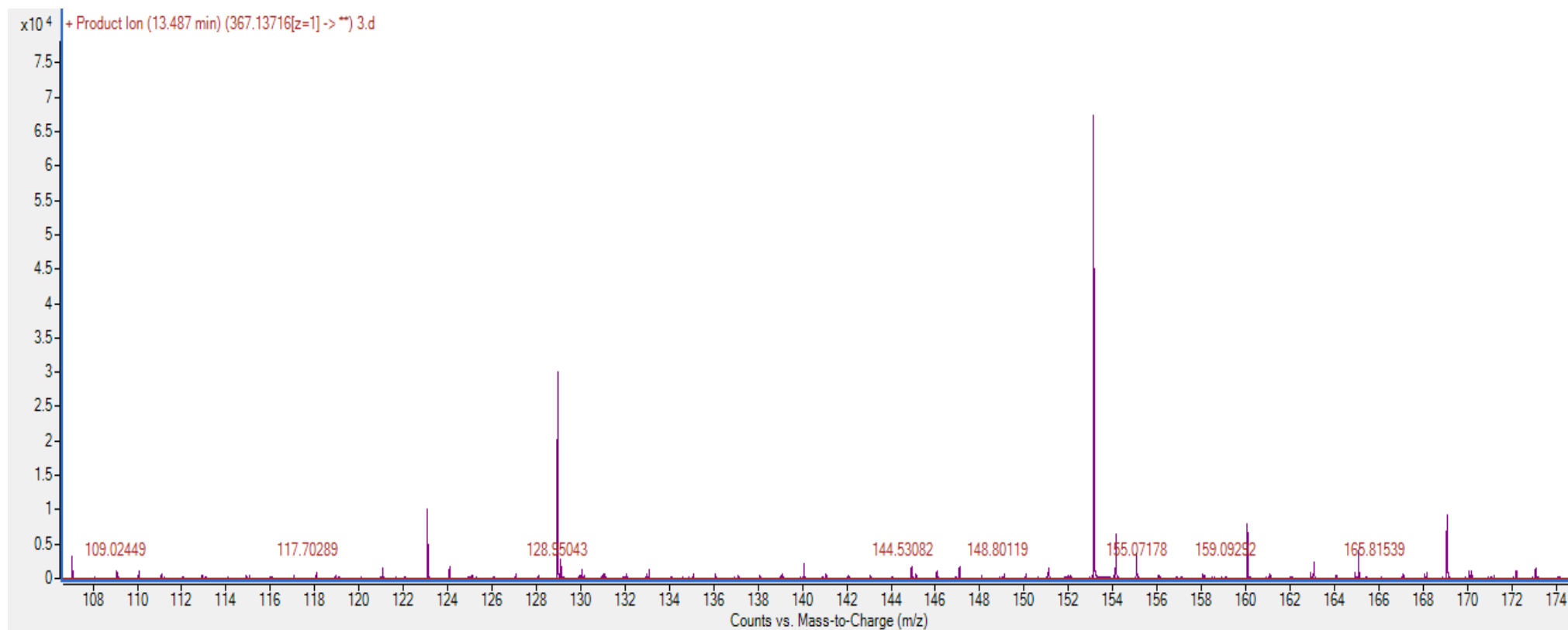


Figura 50. Espectro de masas para la banda 14.779 de la muestra Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

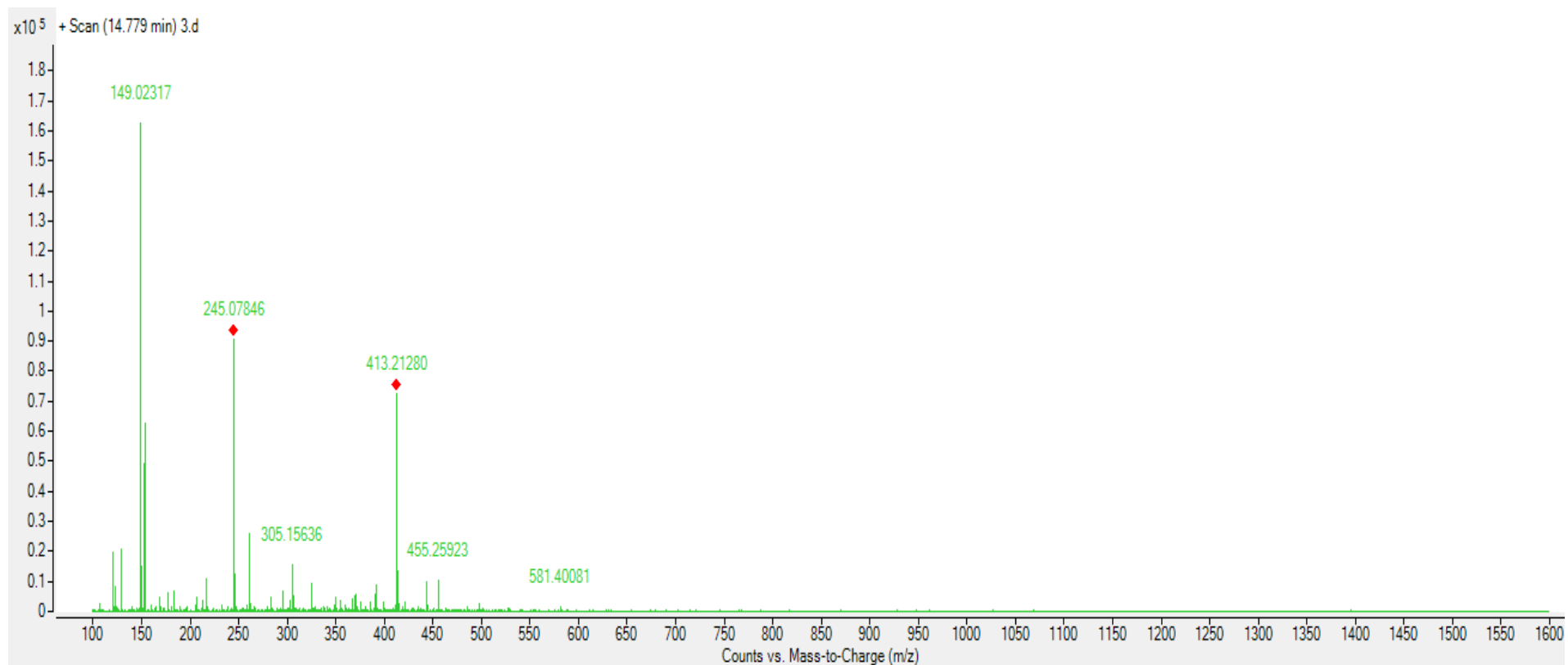


Figura 51. Espectro de masas para la banda 18.336 de la muestra Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

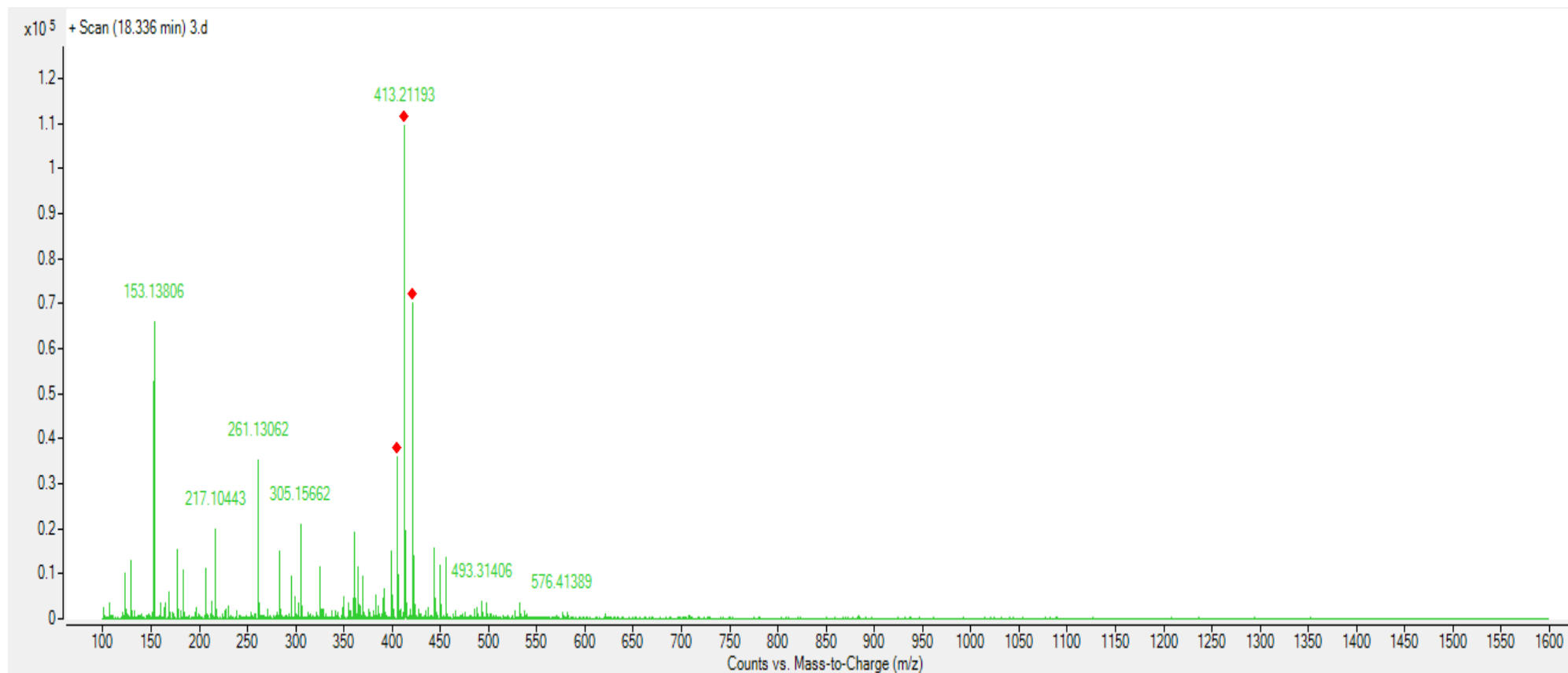


Figura 52. Cromatograma de extracto de Uva con el disolvente Hexano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción.

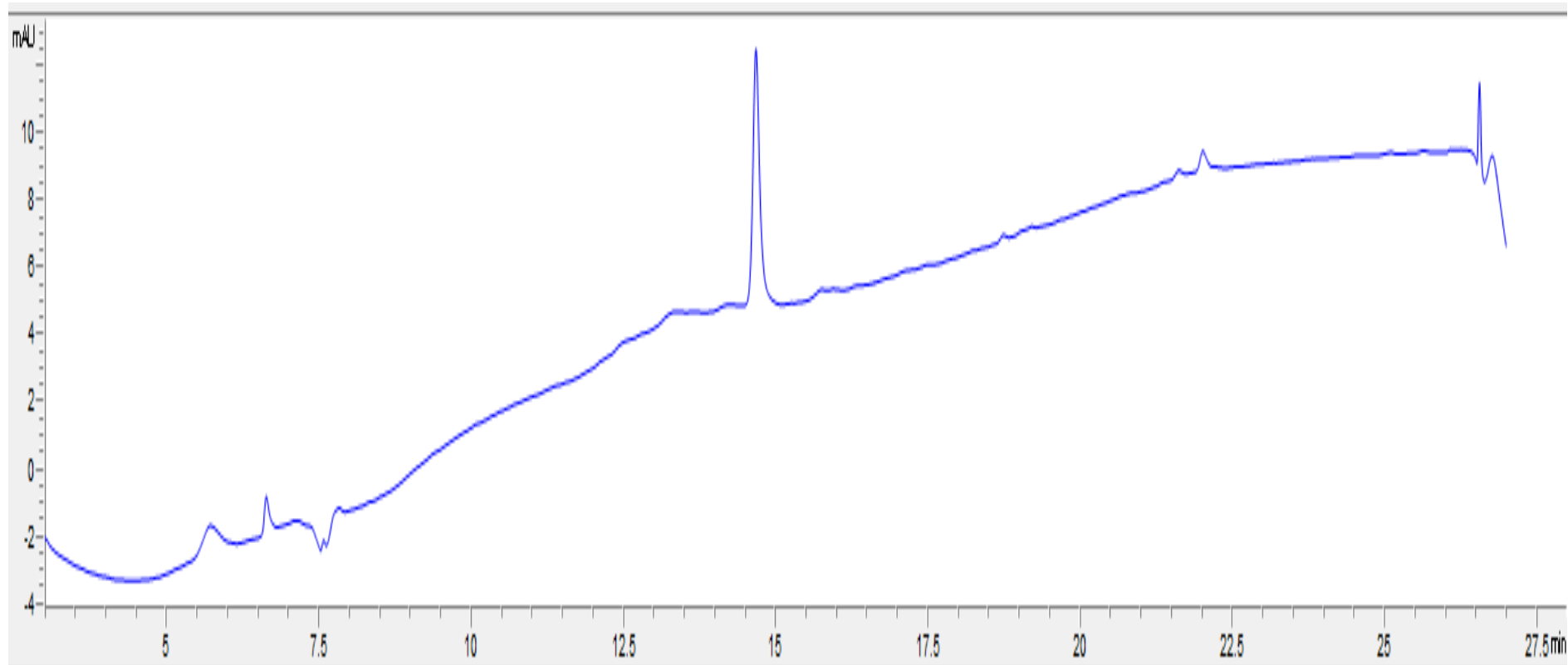


Figura 53. Cromatograma extracto de Uva con el disolvente Hexano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad.

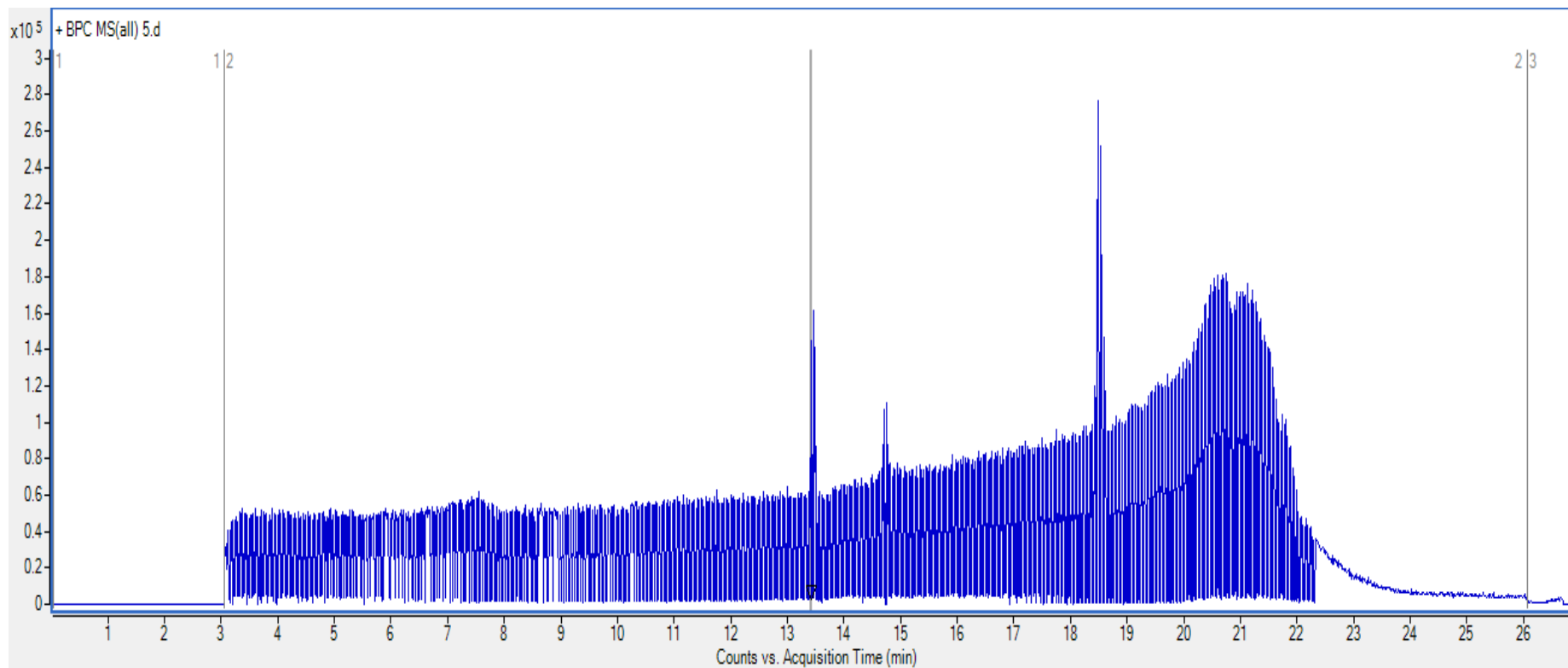


Figura 54. Espectro de masas para las bandas 13.401 y 13.417 de la muestra Uva con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

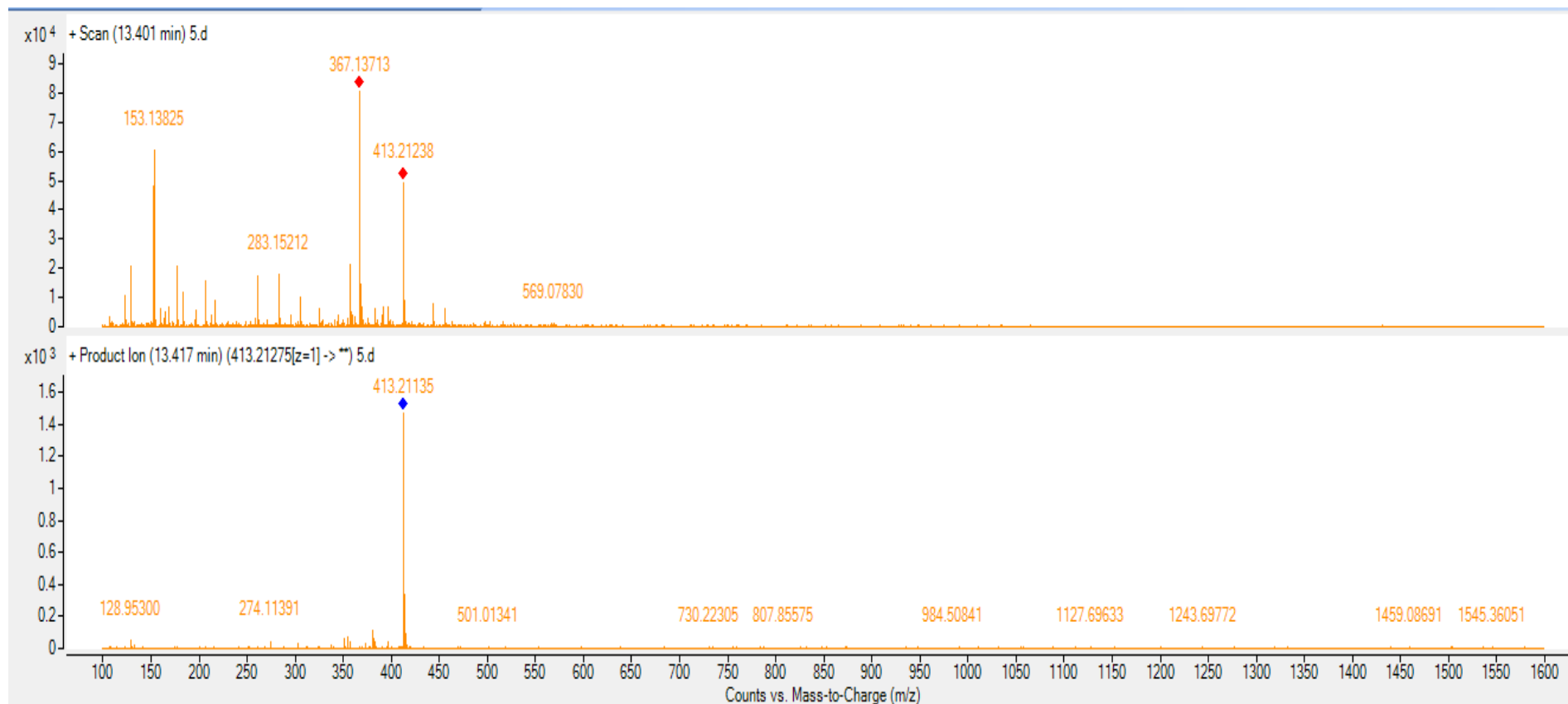


Figura 55. Espectro de masas para la banda 14.686 de la muestra Uva con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

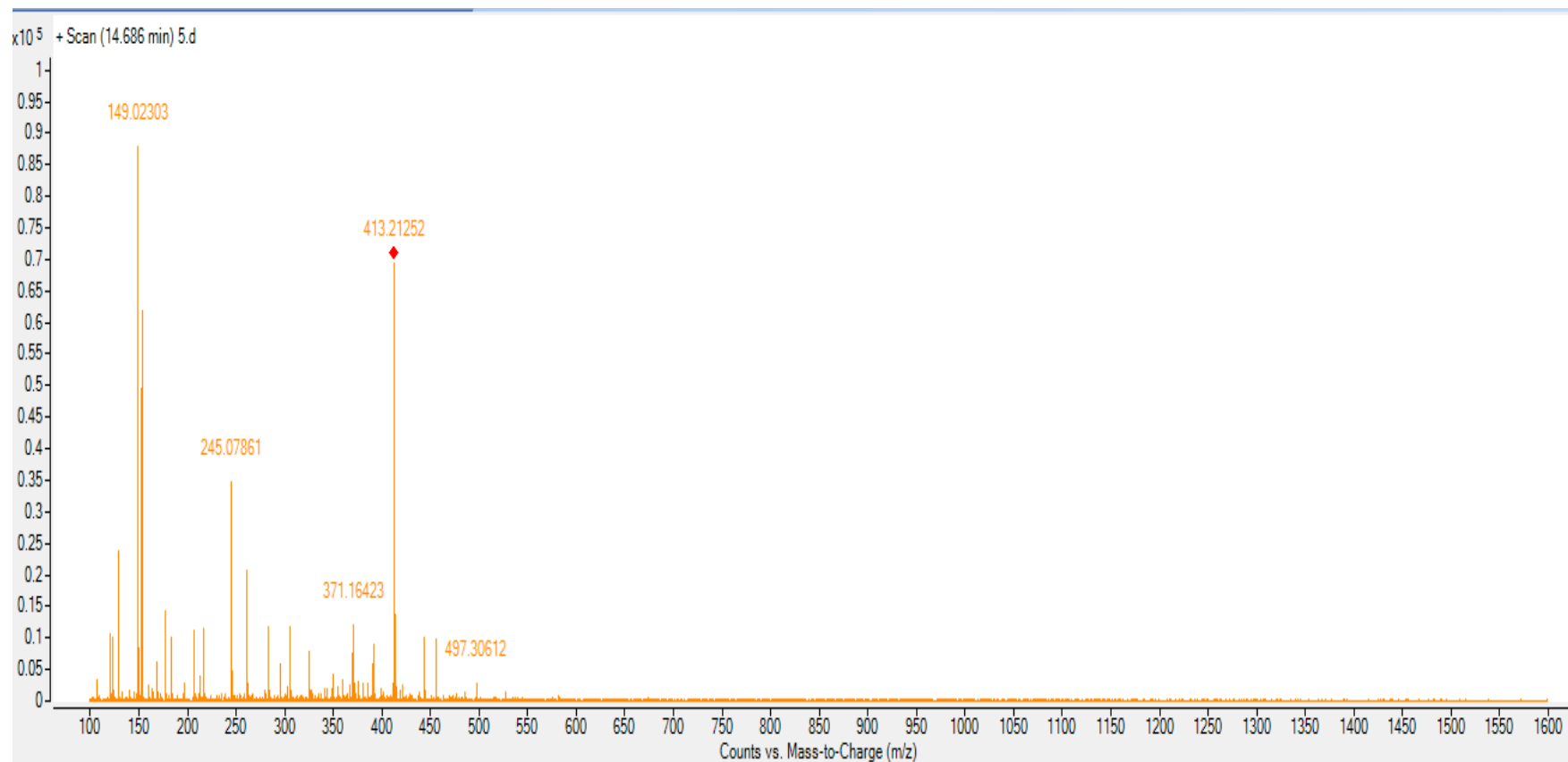


Figura 56. Espectro de masas para las bandas 14.742 y 14.756 de la muestra Uva con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

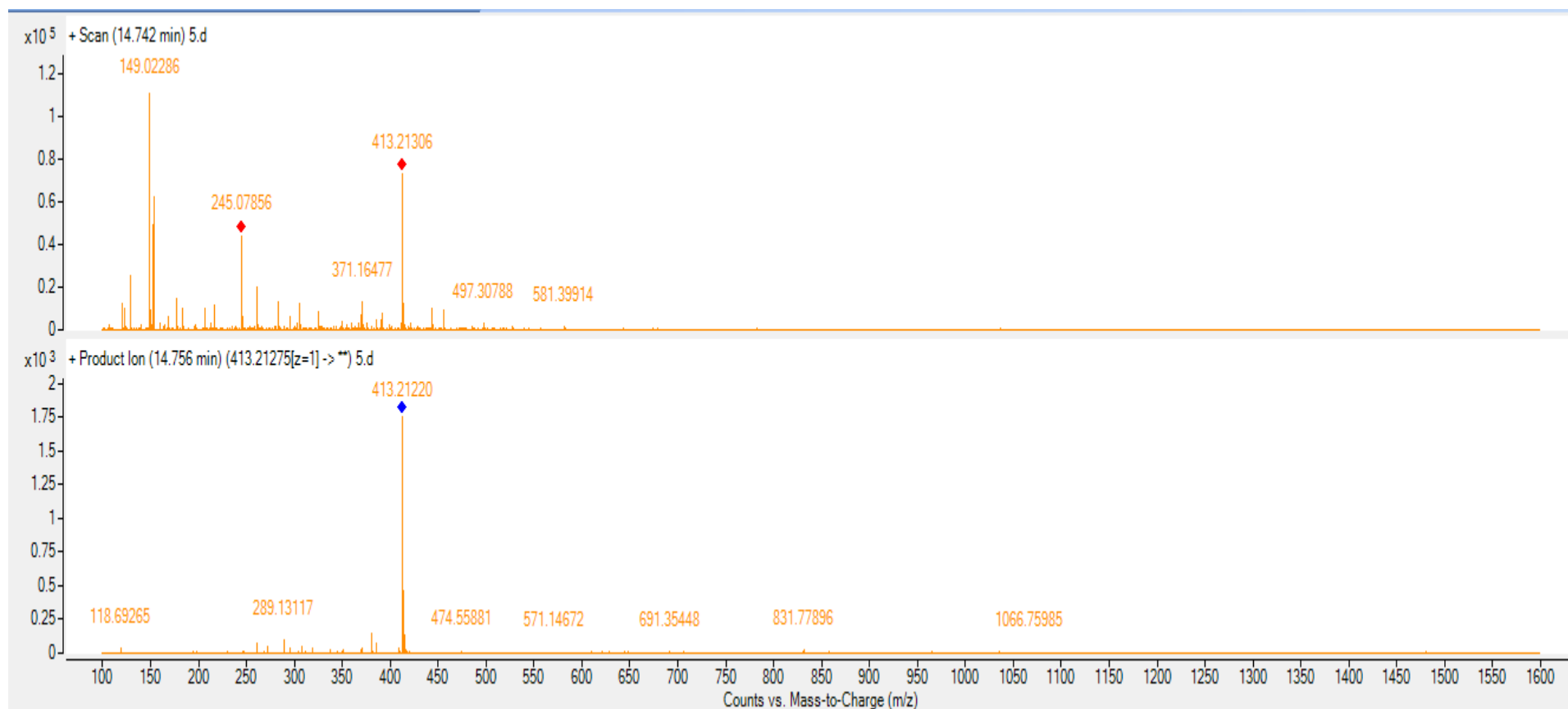


Figura 57. Espectro de masas para la banda 18.555 de la muestra Uva con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

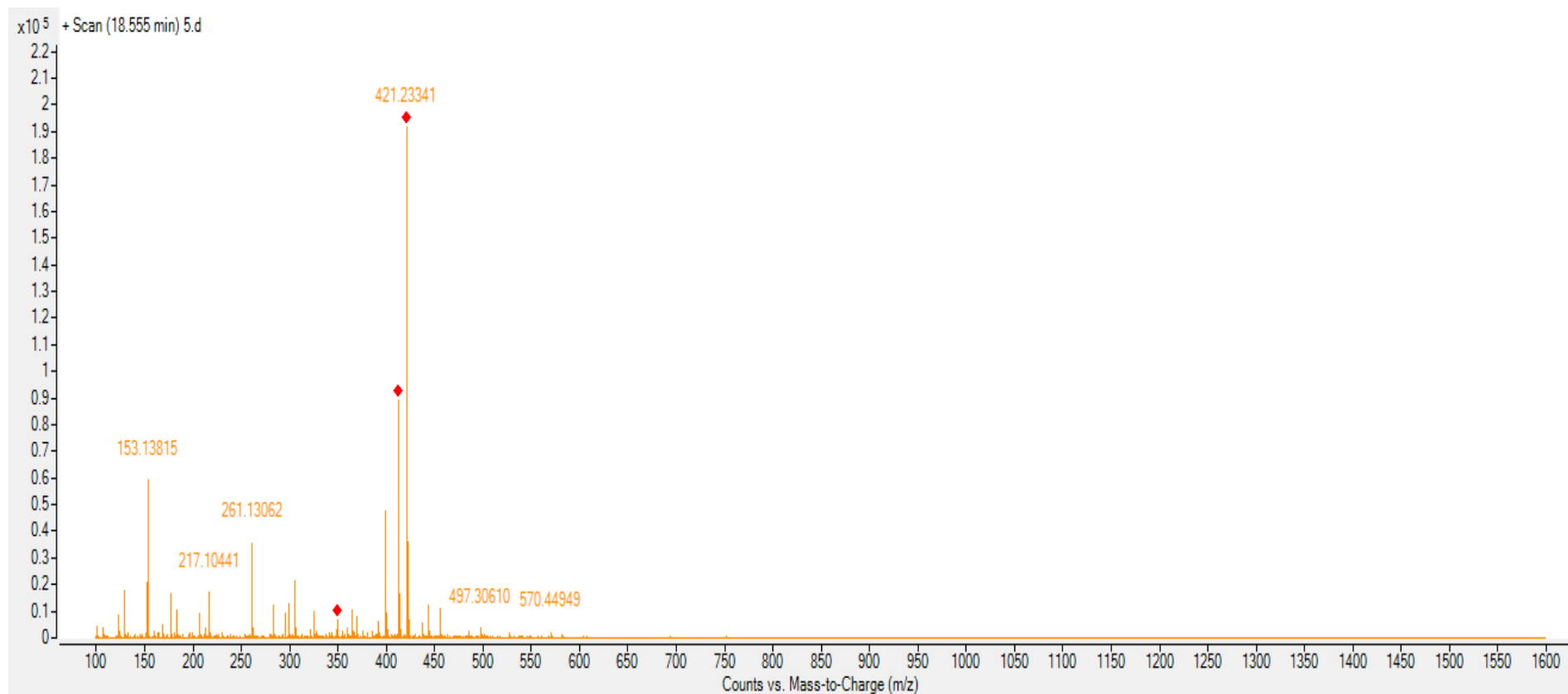


Figura 58. Cromatograma de extracto de Uva con el disolvente Diclorometano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción.

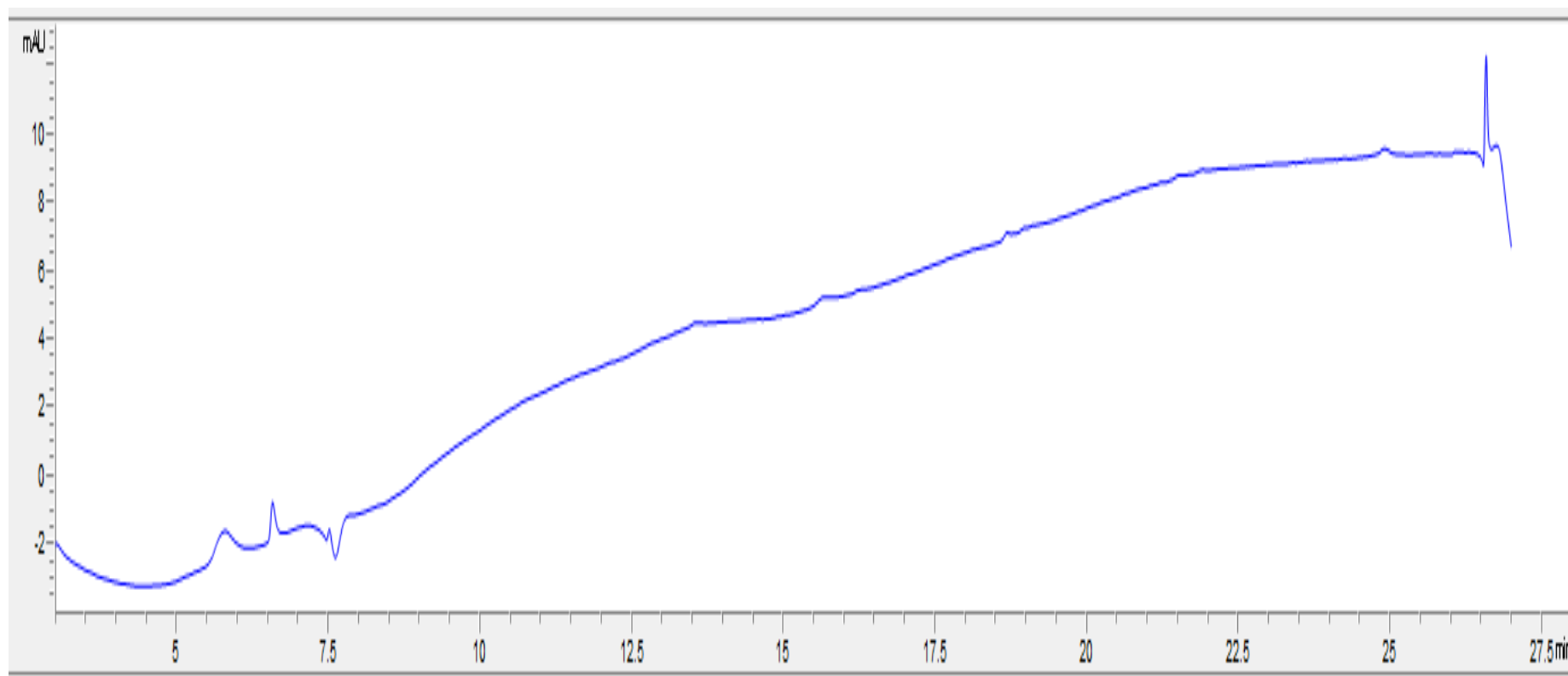


Figura 59. Cromatograma de extracto de Uva con el disolvente Diclorometano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y el la intensidad.

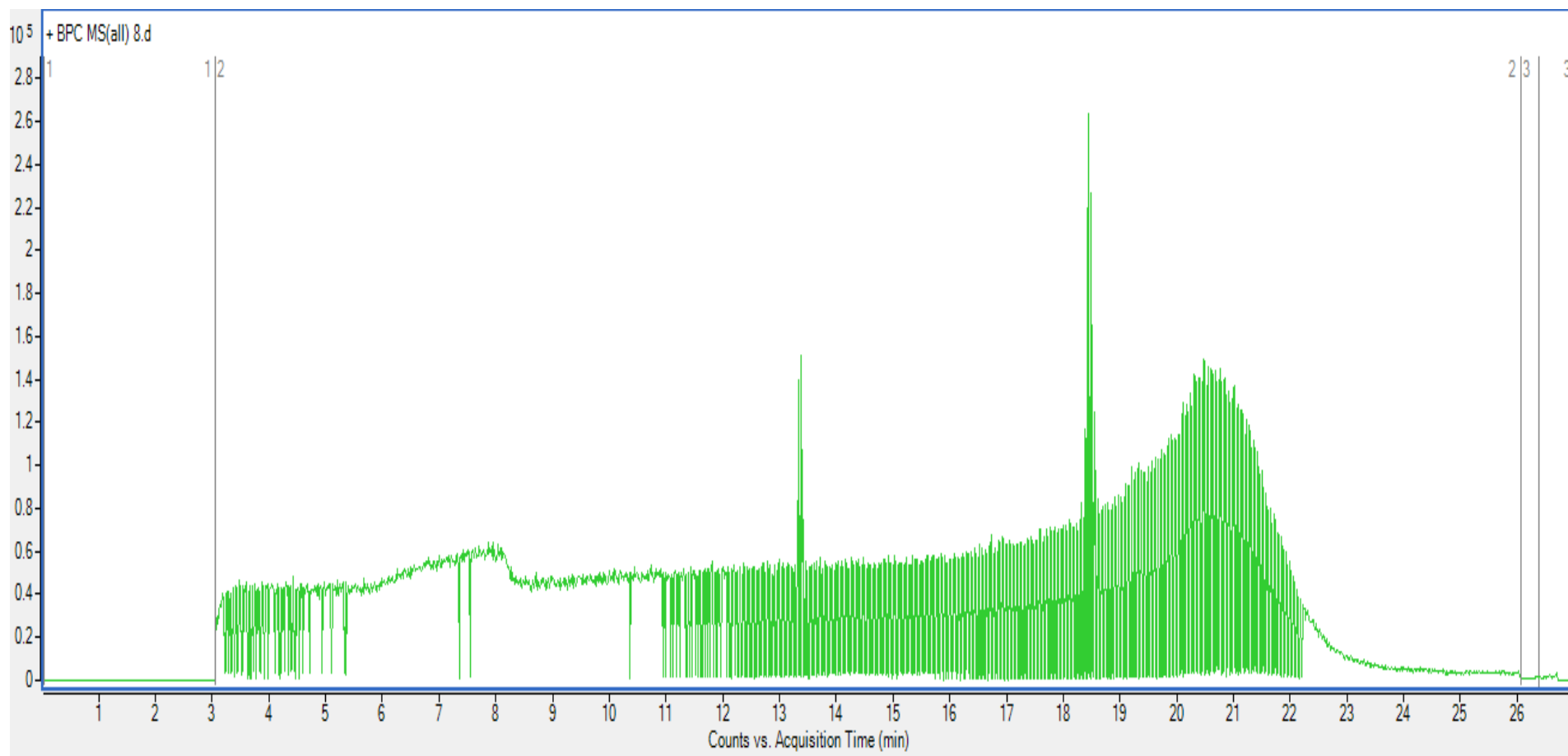


Figura 60. Espectro de masas para las bandas 13.3455 y 13.3465 de la muestra Uva con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

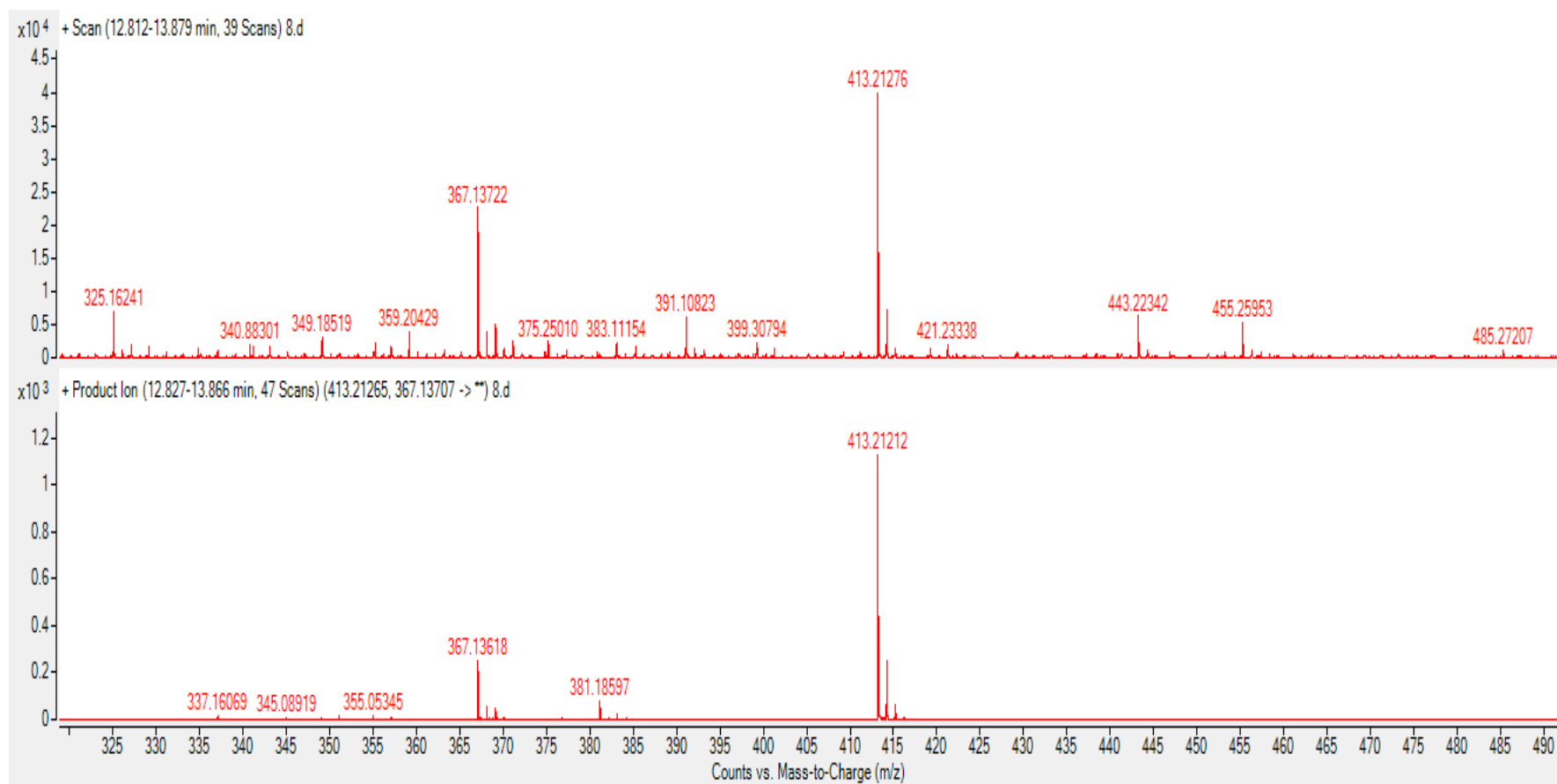


Figura 61. Espectro de masas para las bandas 18.5425 y 18.5615 de la muestra Uva con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

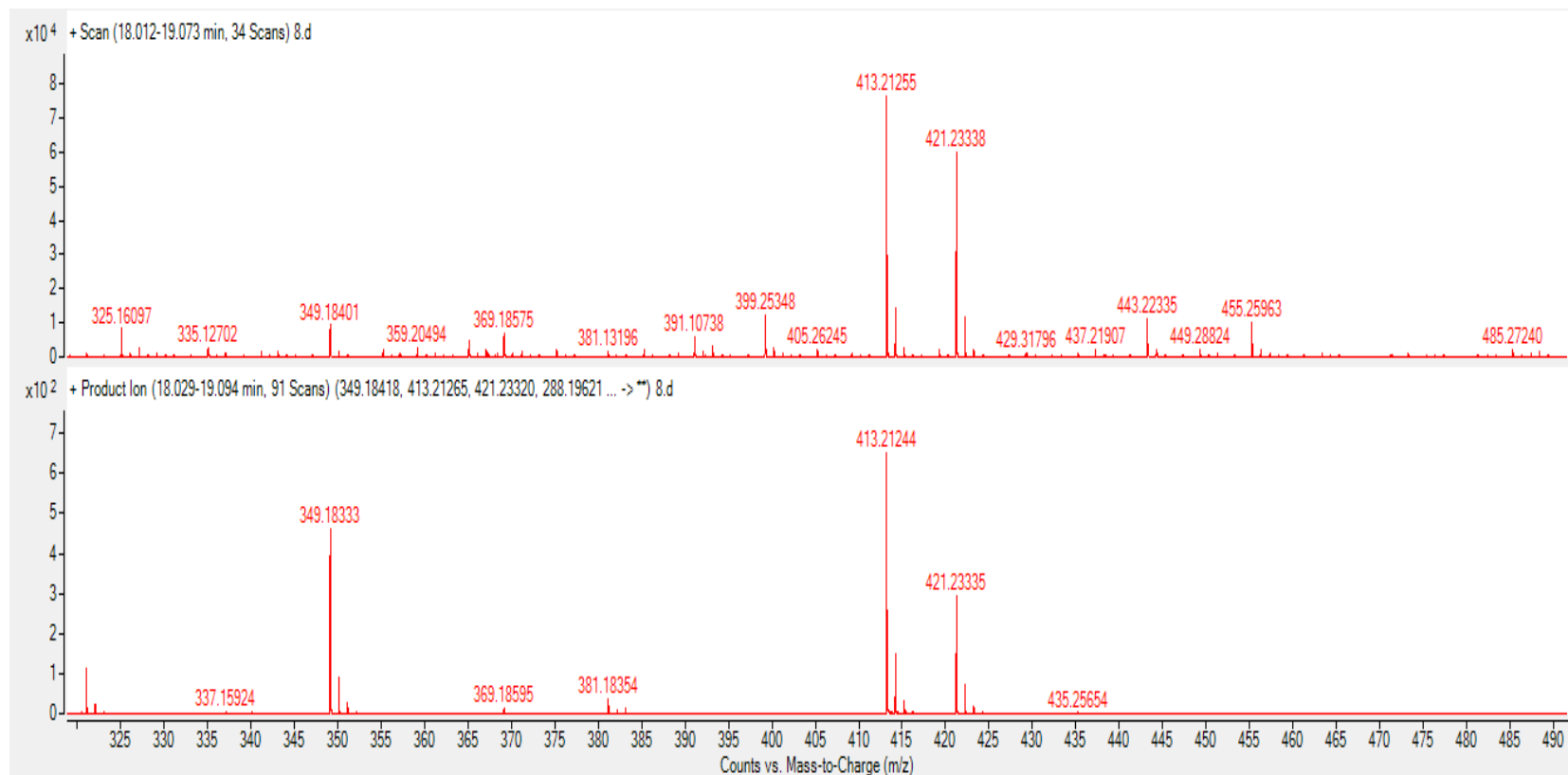


Figura 62. Cromatograma de extracto de Uva con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción.

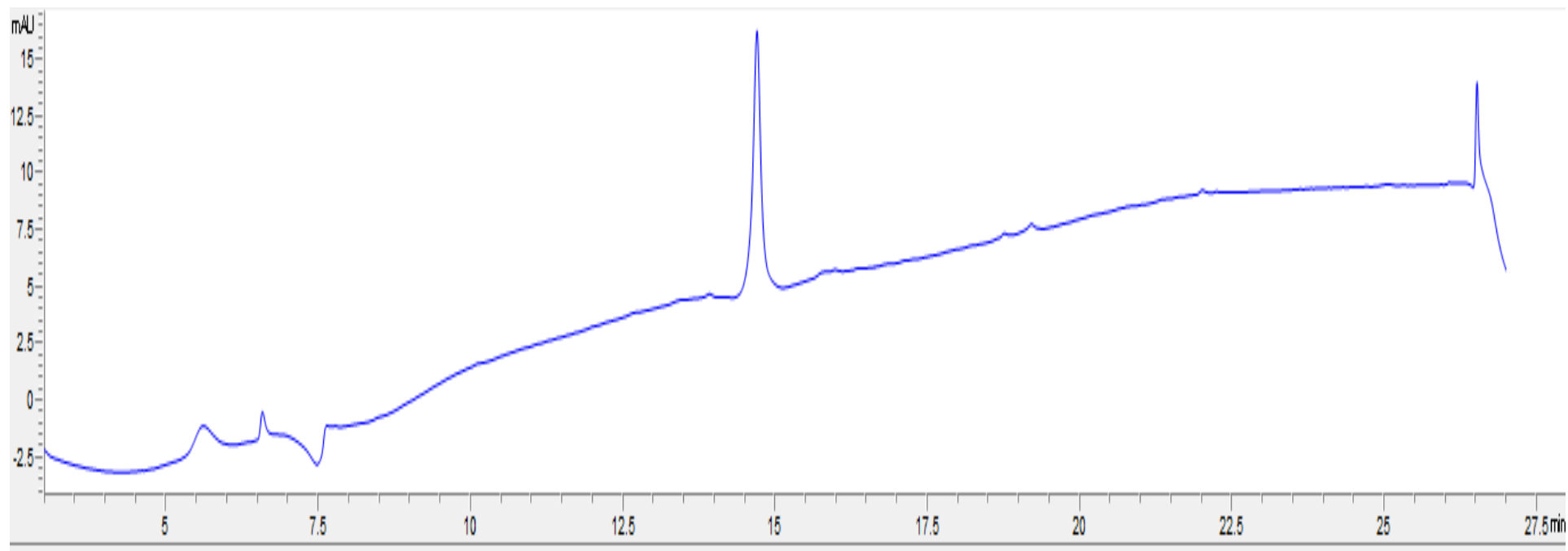


Figura 63. Cromatograma de Uva con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad.

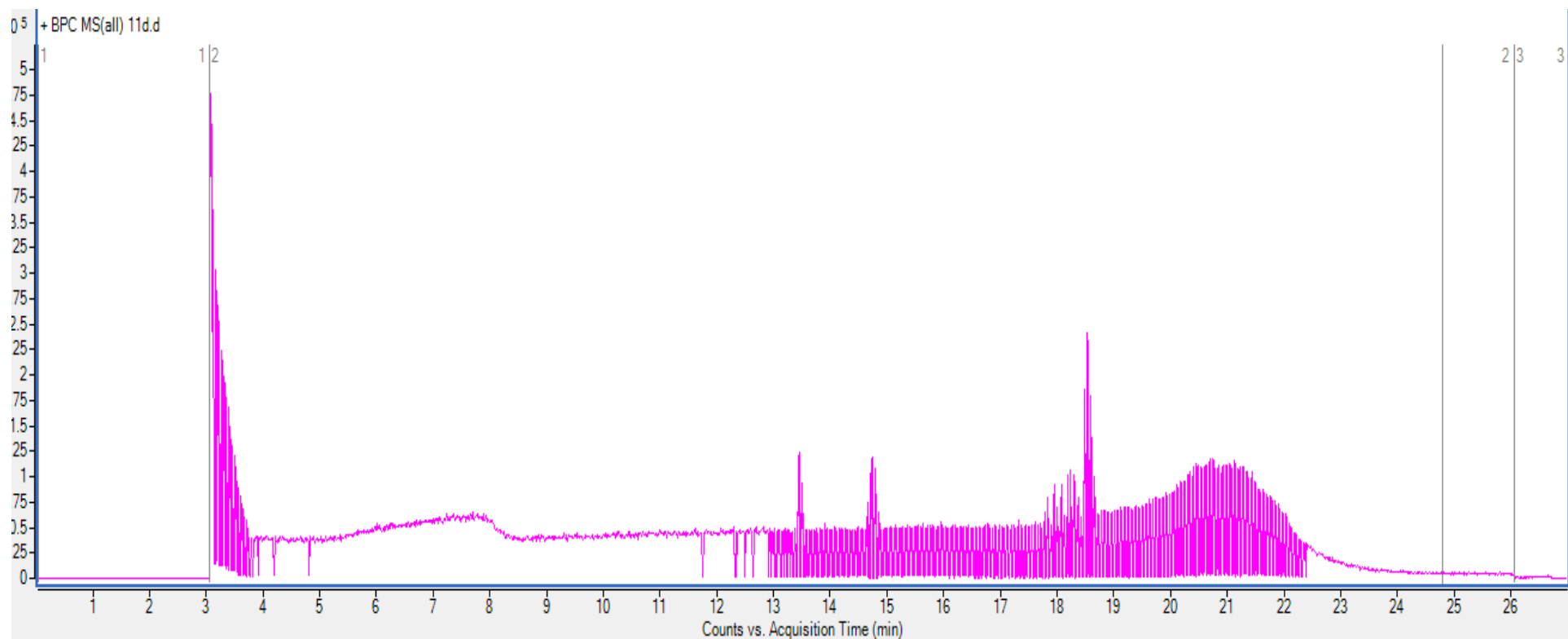


Figura 64. Espectro de masas para la banda 3.6355 de la muestra Uva con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

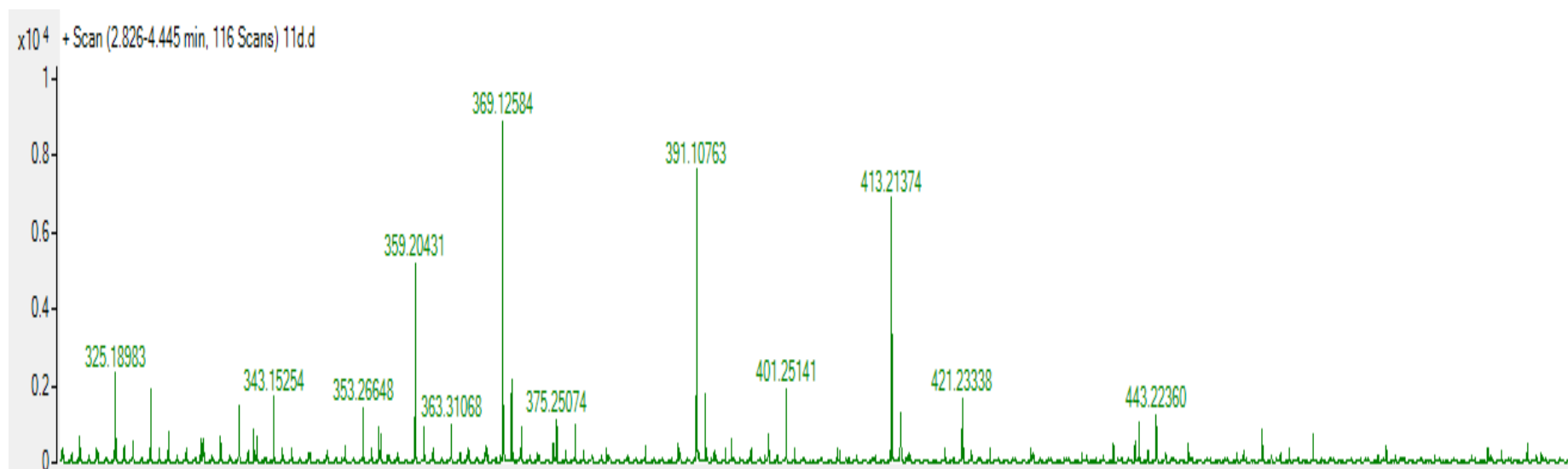


Figura 65. Espectro de masas para las bandas 13.397 y 13.4185 de la muestra Uva con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

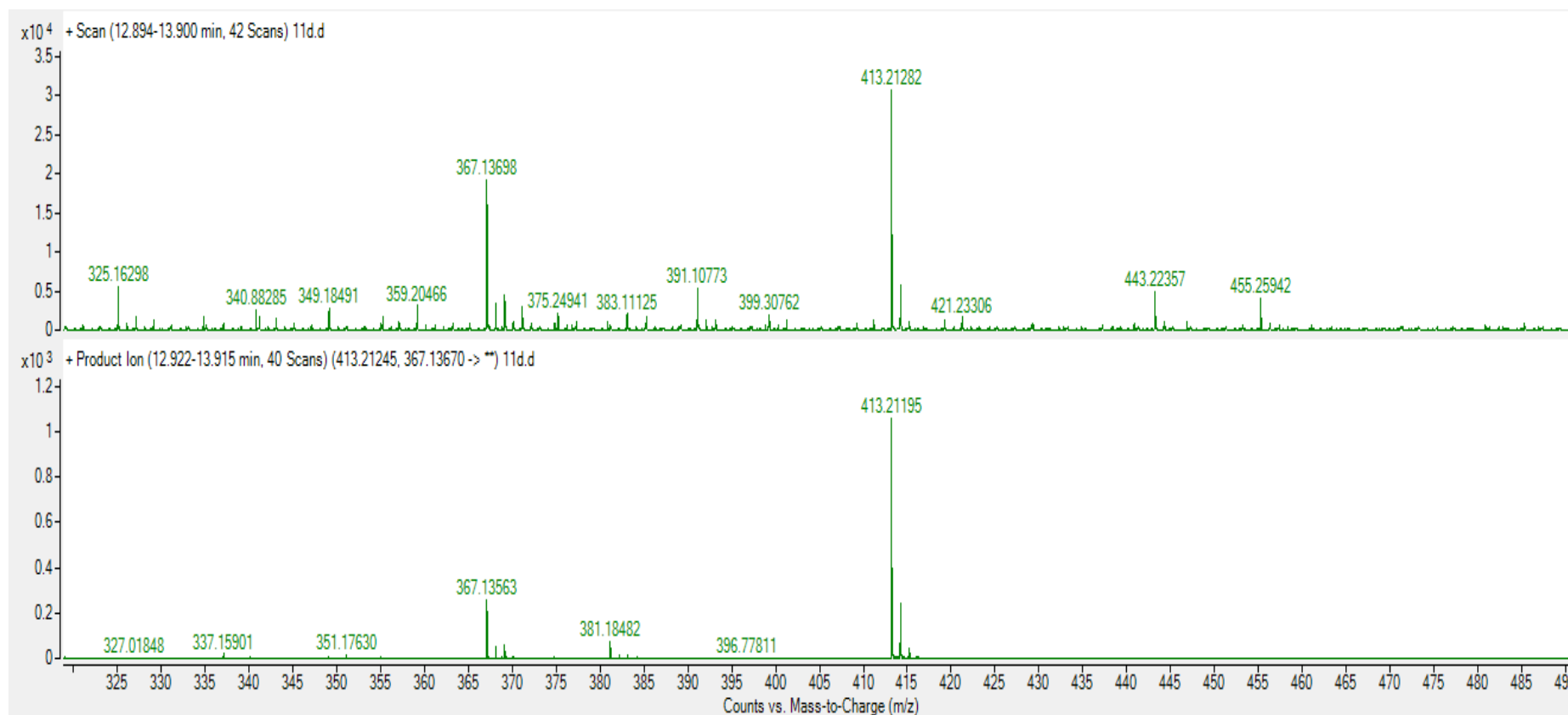


Figura 66. Espectro de masas para las bandas 14.925 y 14.925 de la muestra Uva con el disolvente Éter Etilico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

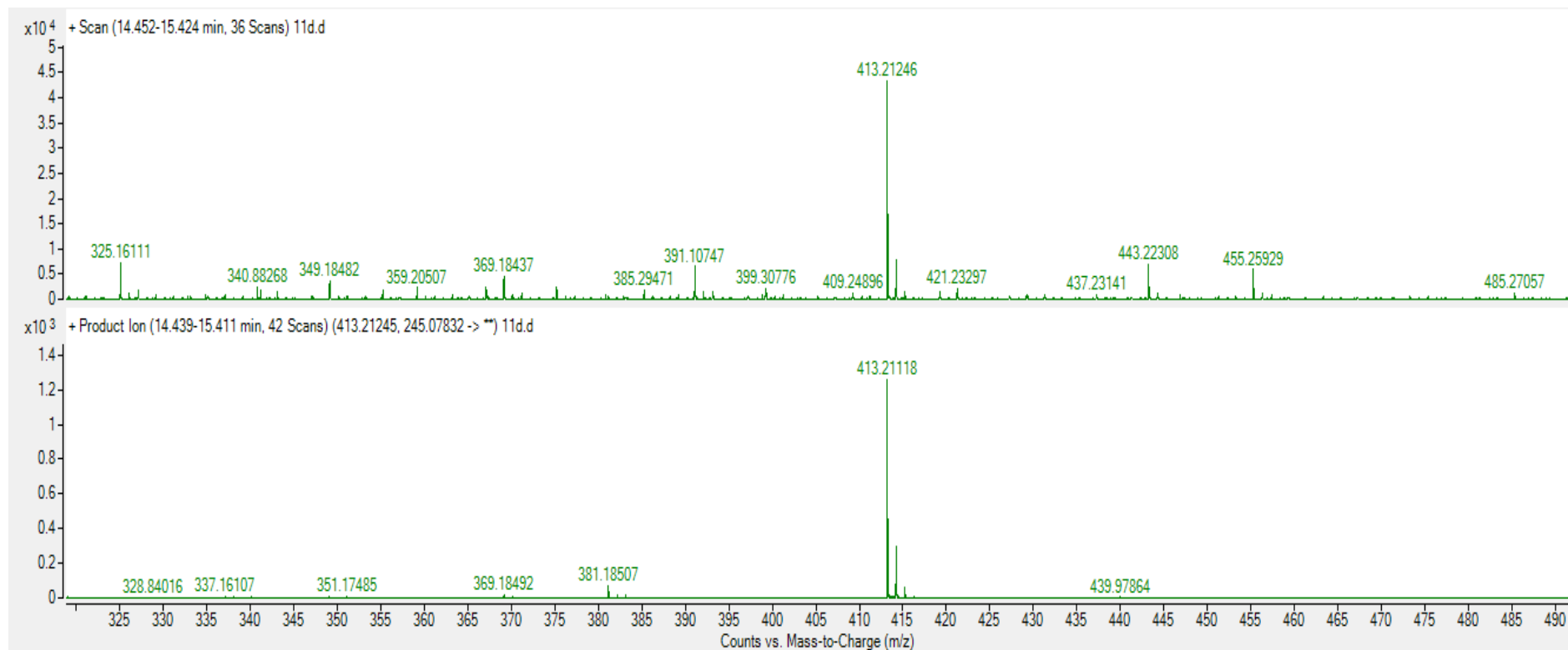


Figura 67. Espectro de masas para las bandas 18.317 y 18.302 de la muestra Uva con el disolvente Éter Etilico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

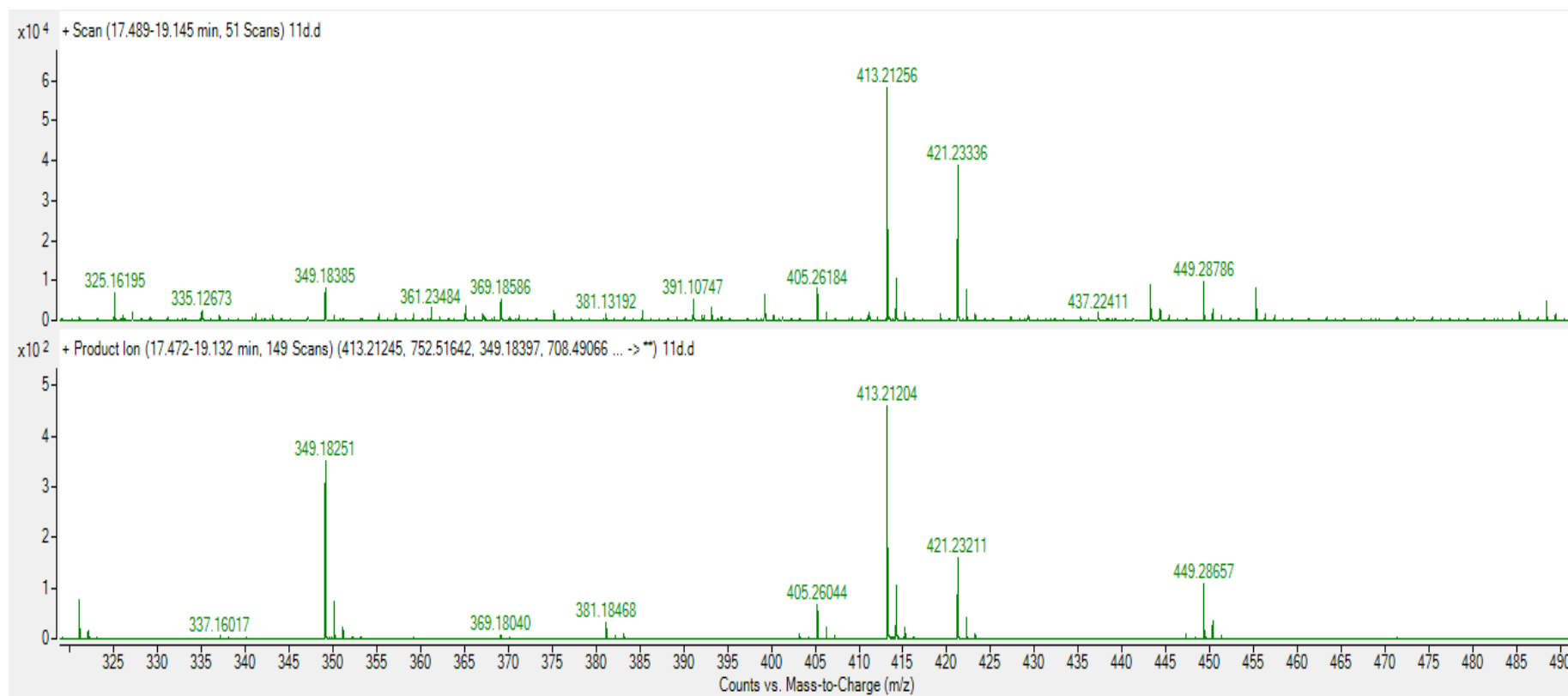


Figura 68. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción.

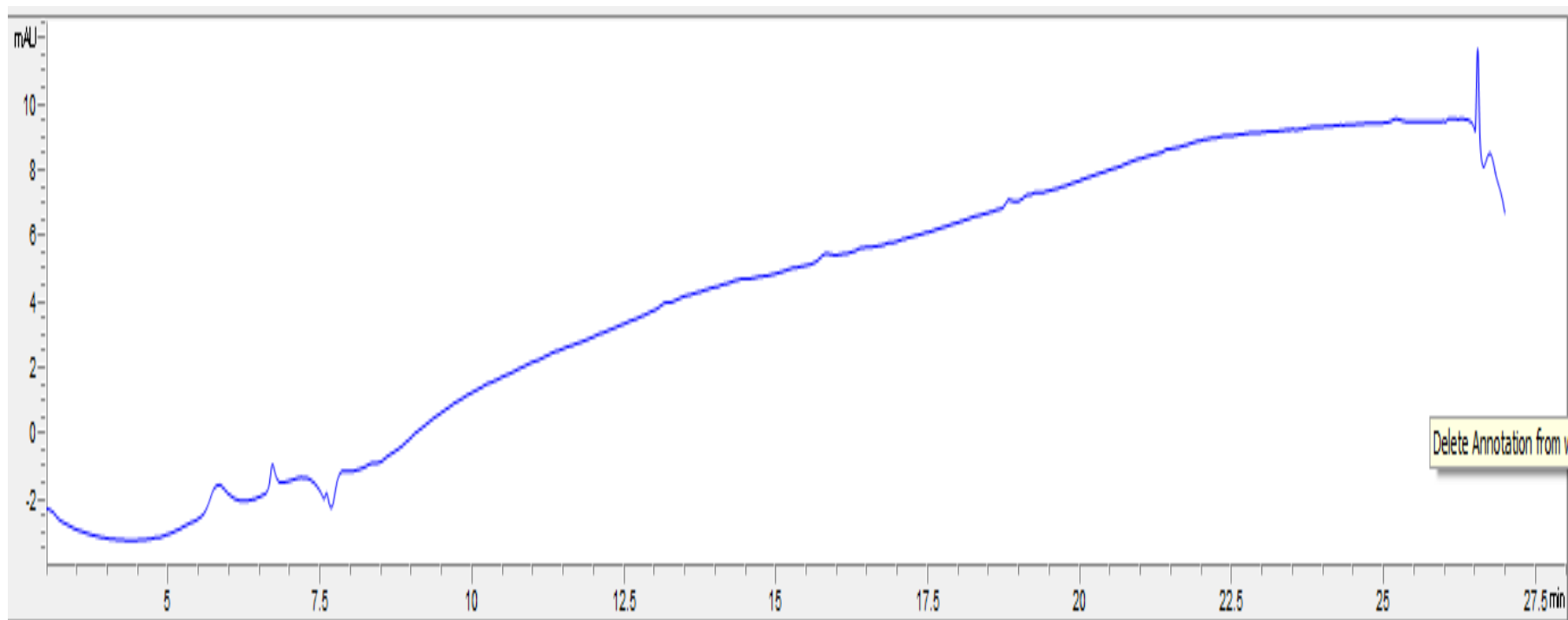


Figura 69. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad.

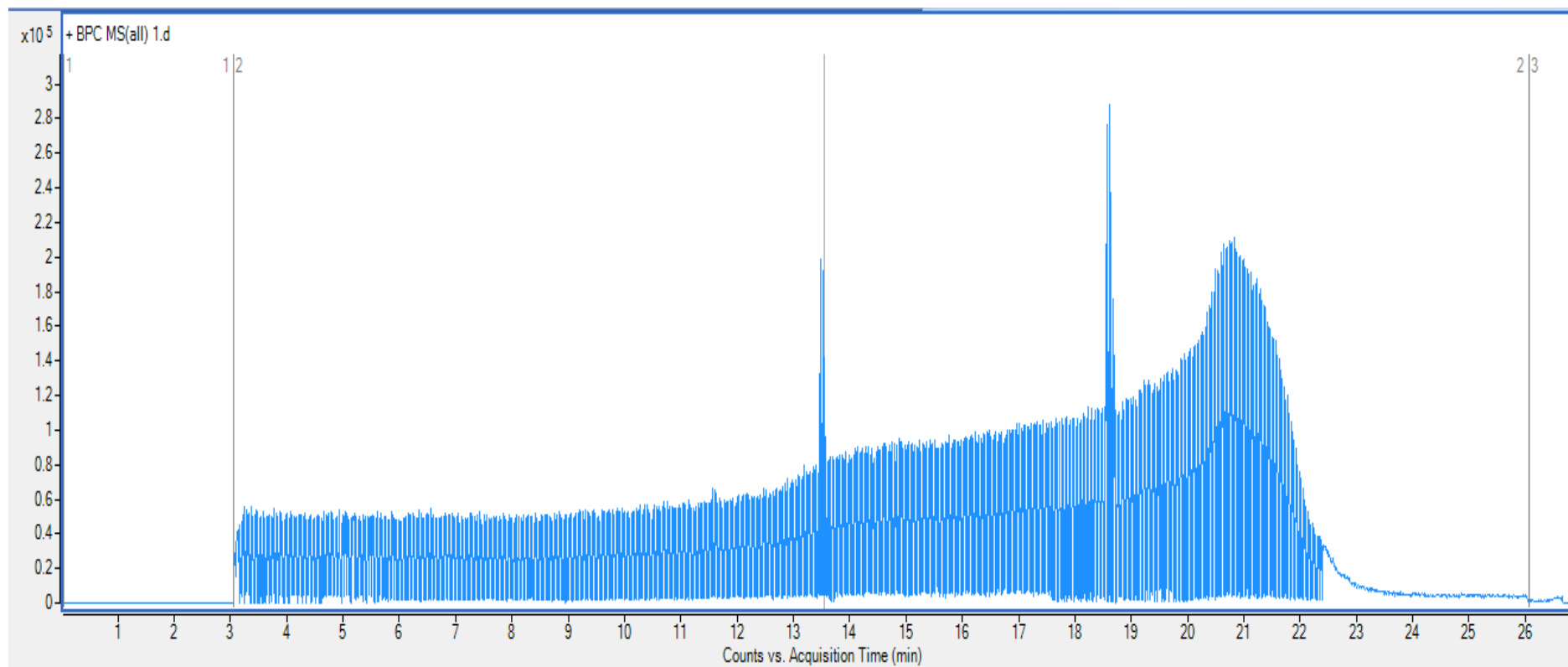


Figura 70. Espectro de masas para la banda 13.550 de la muestra Palma con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

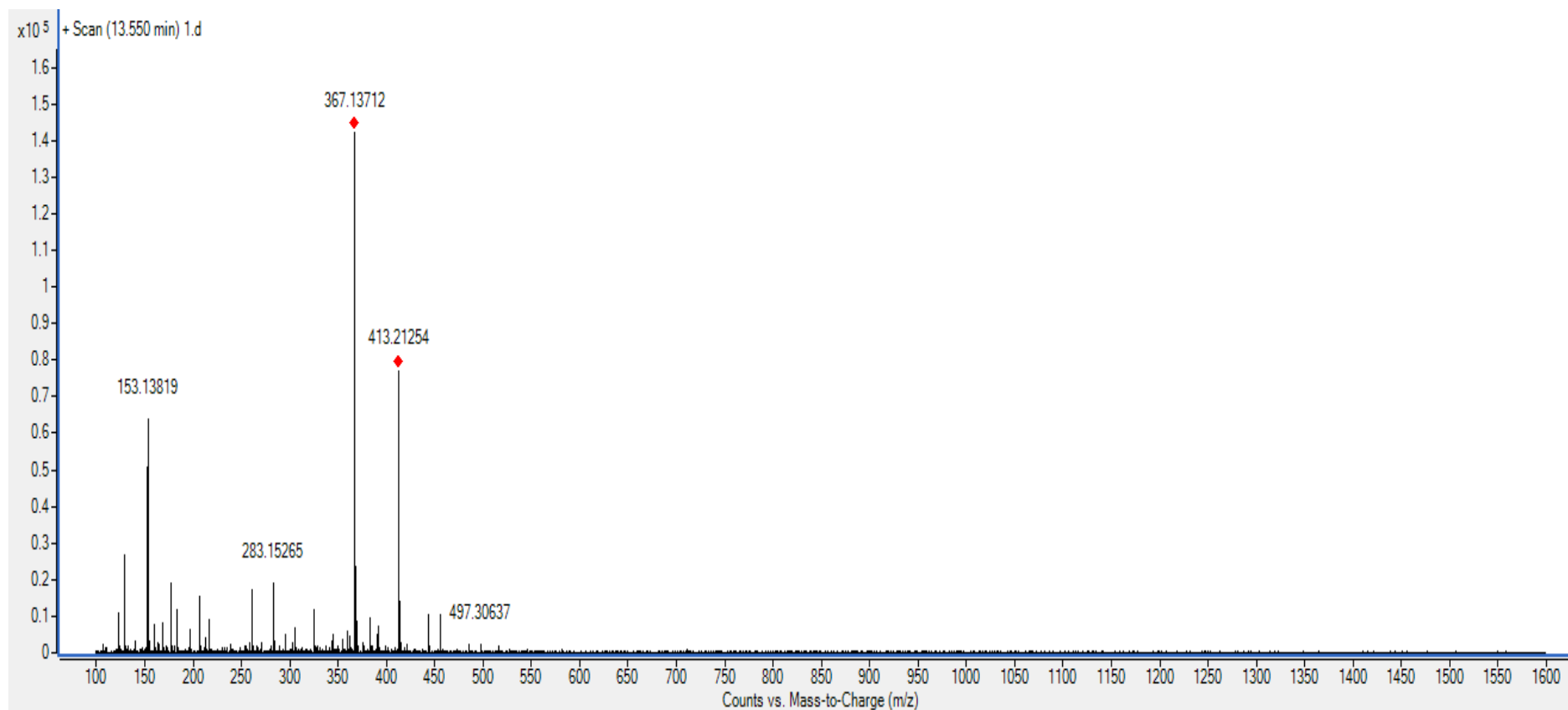


Figura 71. Espectro de masas para la banda 18.610 de la muestra Palma con el disolvente Acetato de Etilo. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

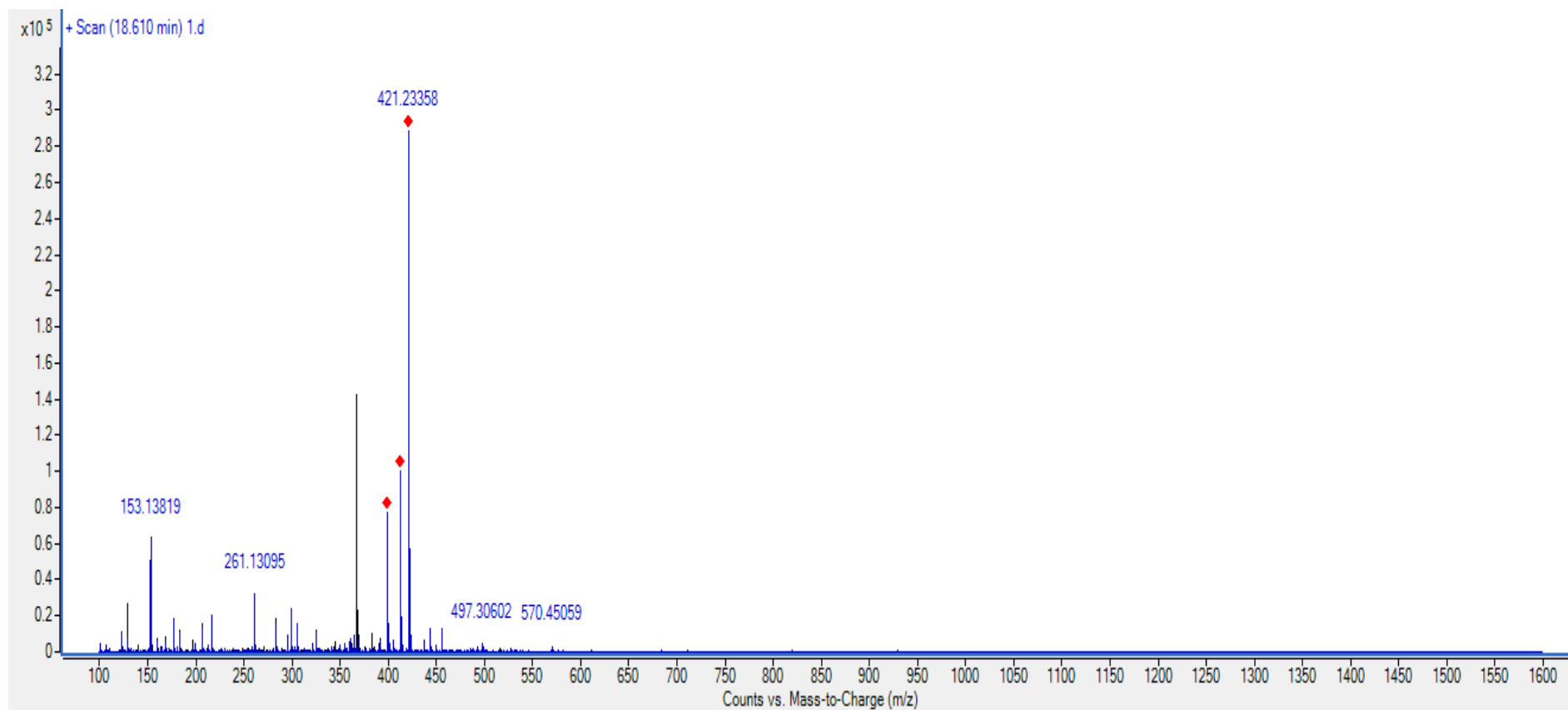


Figura 72. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción.

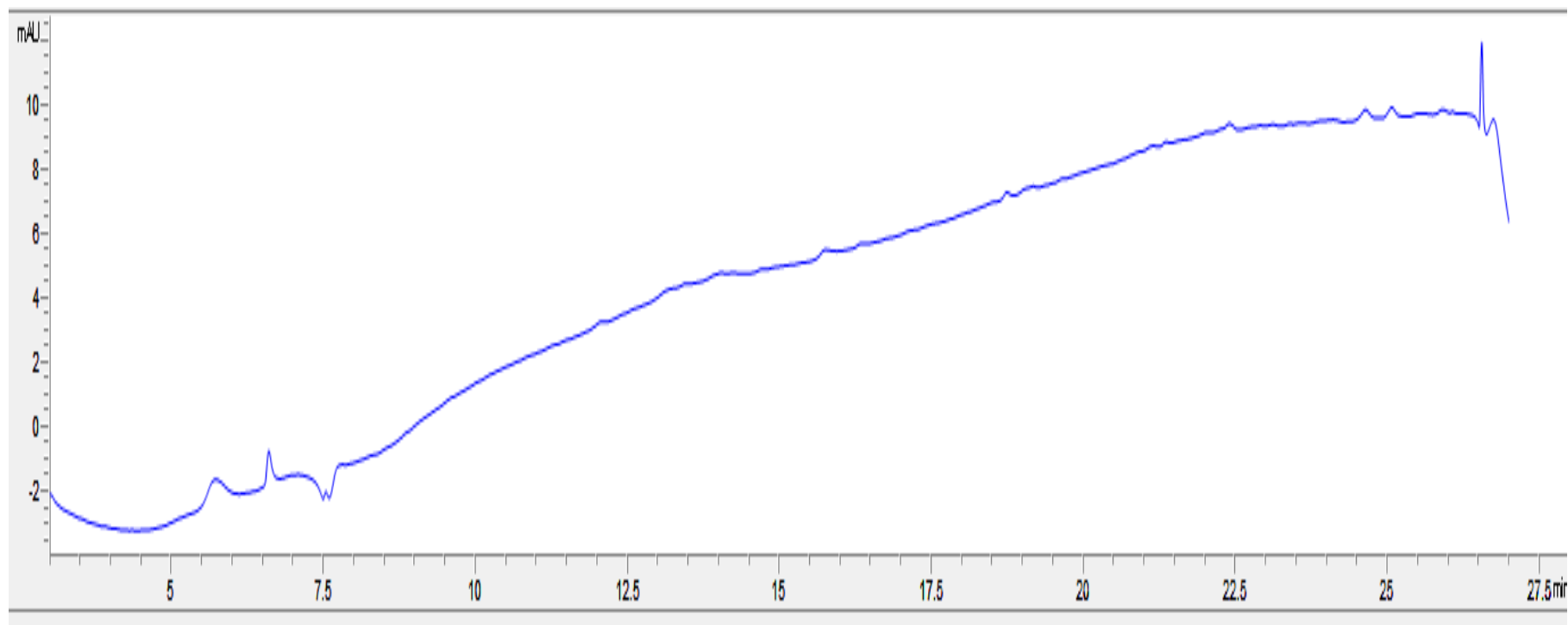


Figura 73. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad.

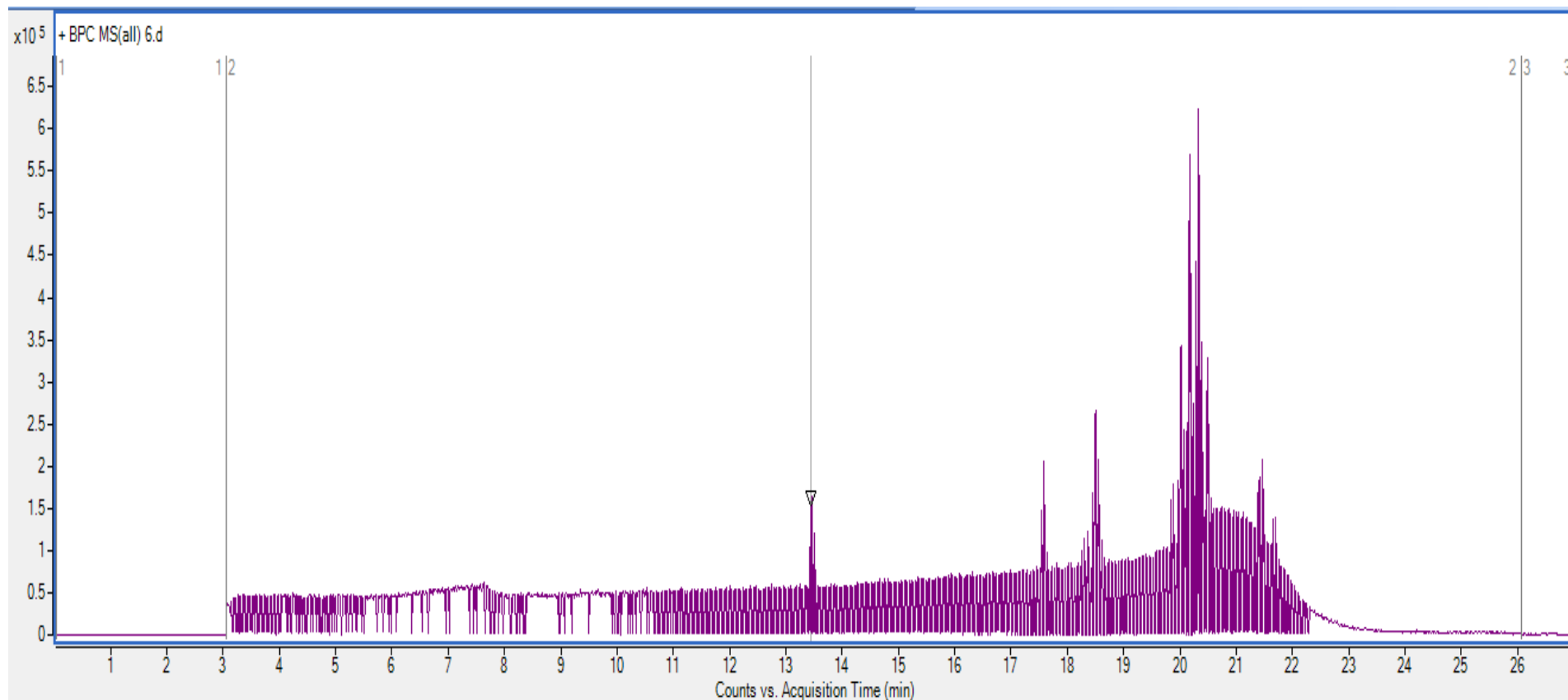


Figura 74. Espectro de masas para la banda 13.446 de la muestra Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

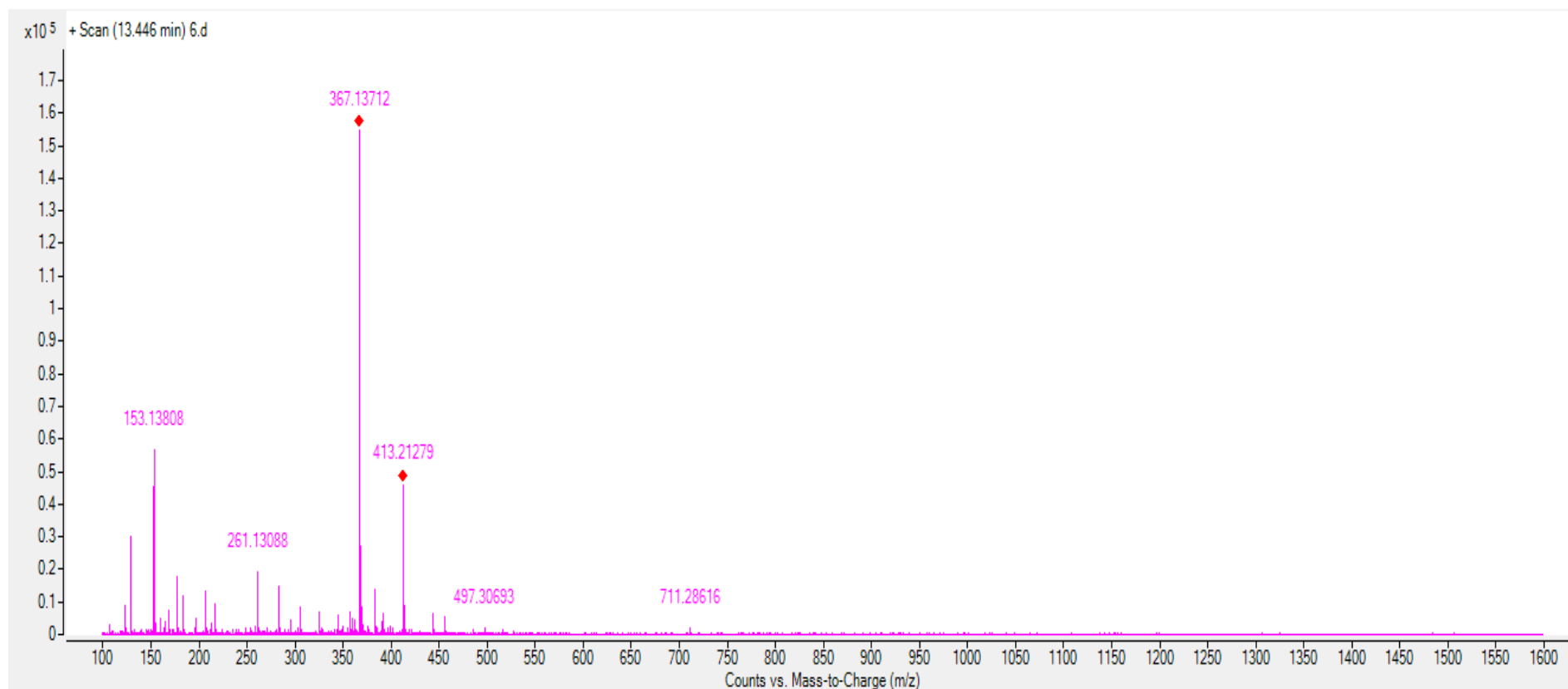


Figura 75. Espectro de masas para las bandas 17.541 y 17.561 de la muestra Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

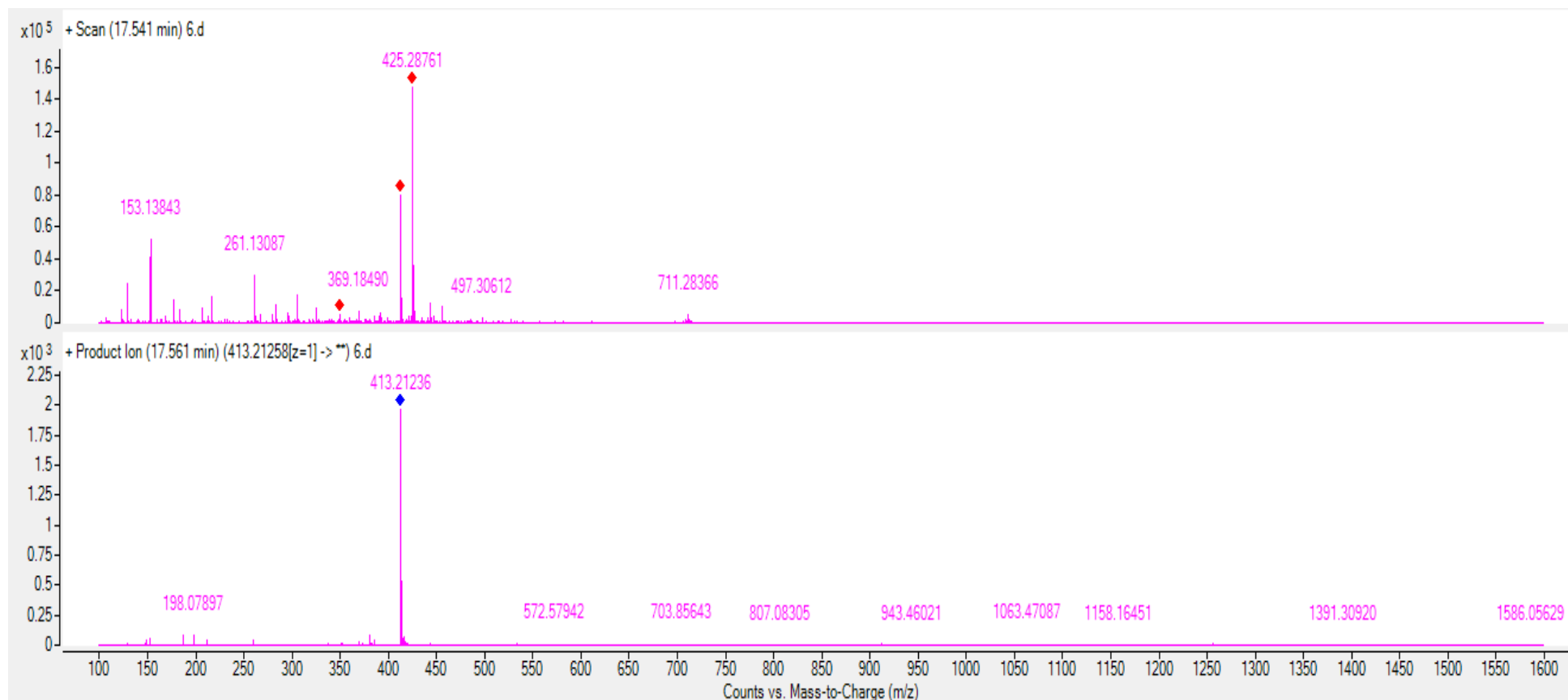


Figura 76. Espectro de masas para las bandas 18.4715 y 18.4565 de la muestra Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

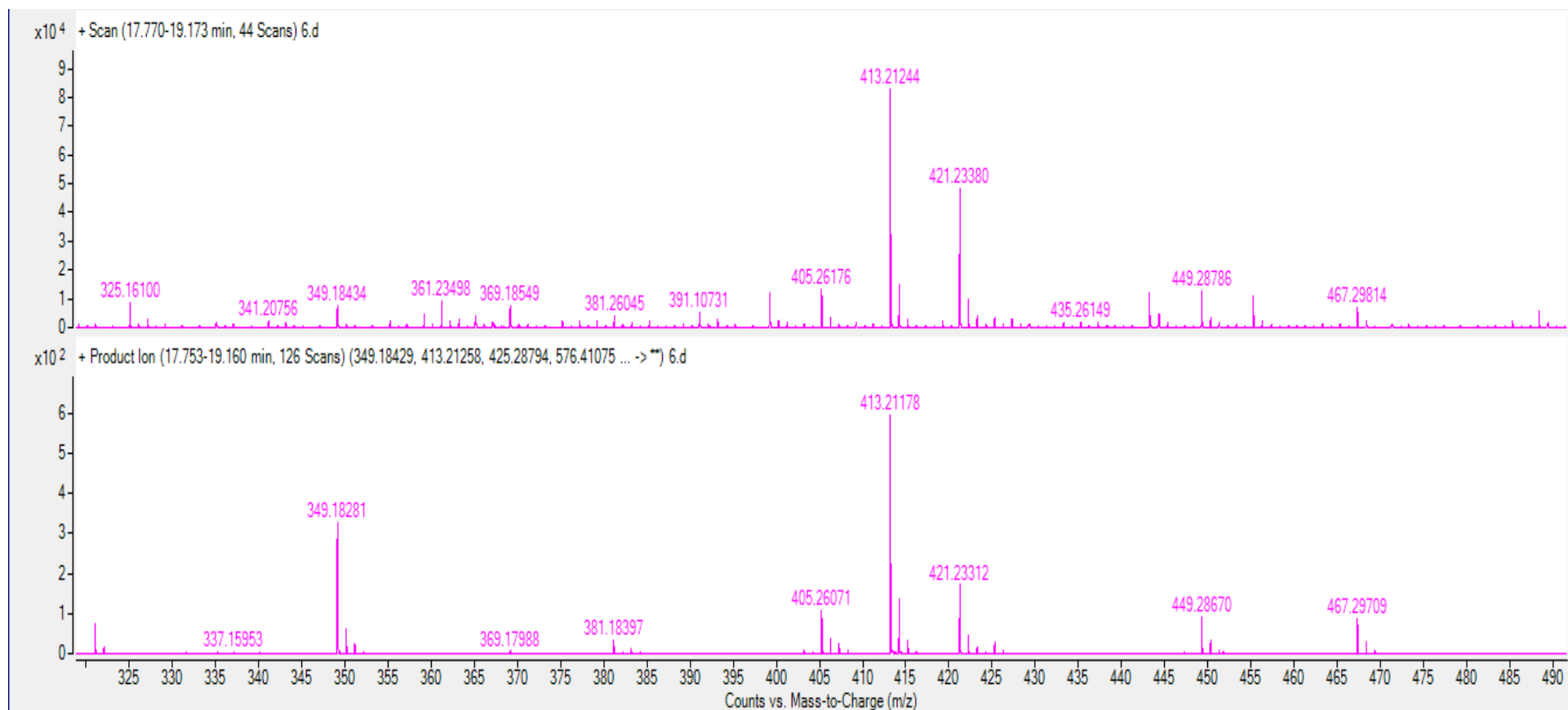


Figura 77. Espectro de masas para las bandas 20.6665 y 20.683 de la muestra Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

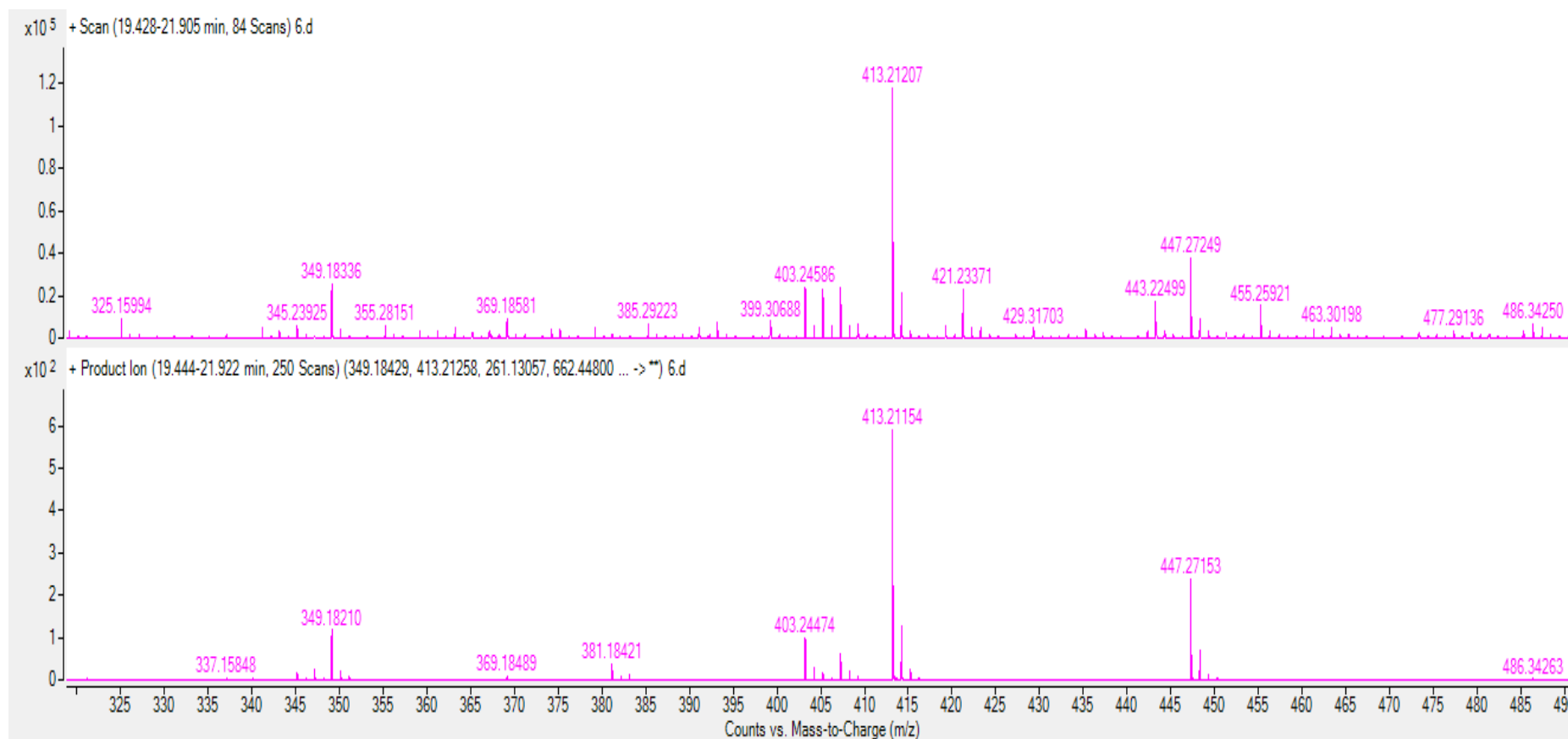


Figura 78. Espectro de masas para las bandas 21.5105 y 21.511 de la muestra Palma con el disolvente Hexano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

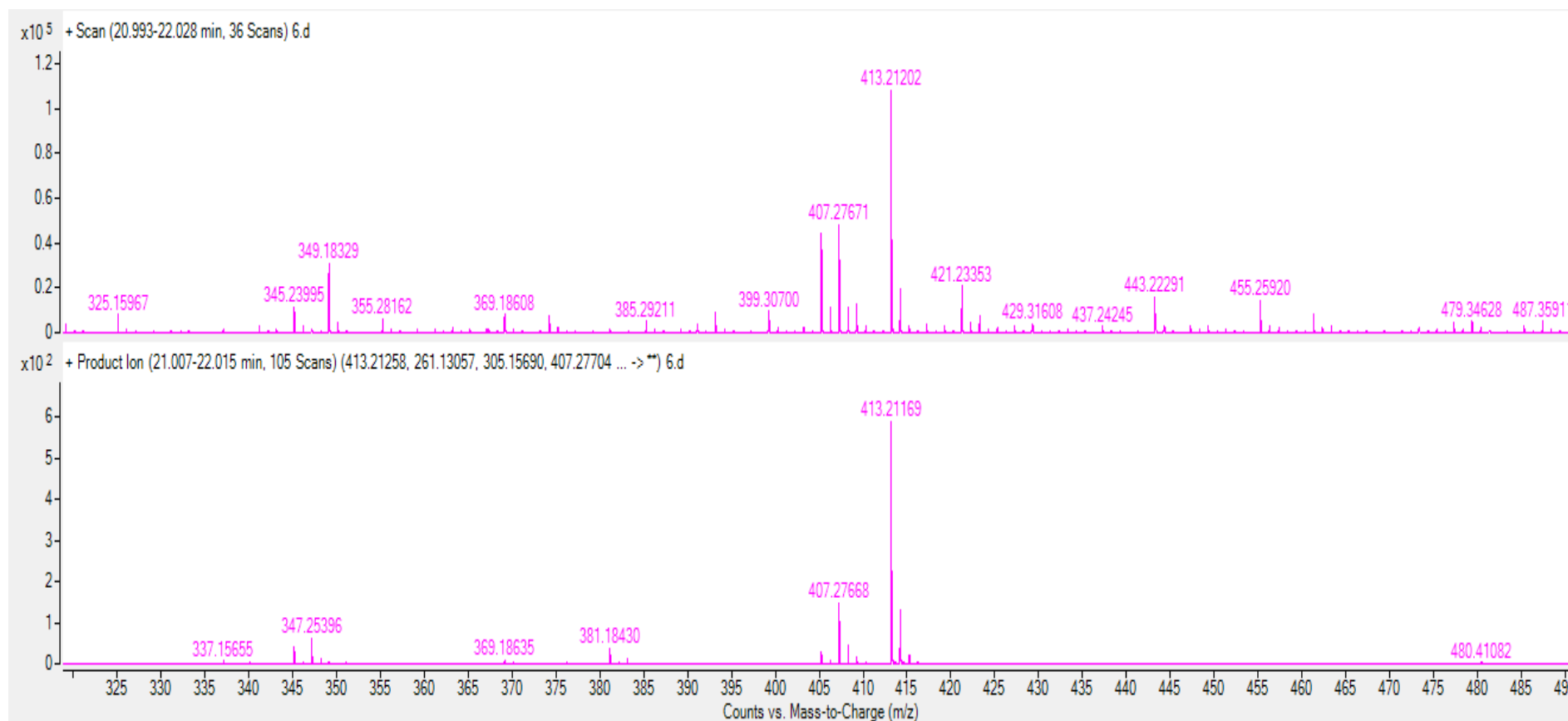


Figura 79. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Diclorometano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción.

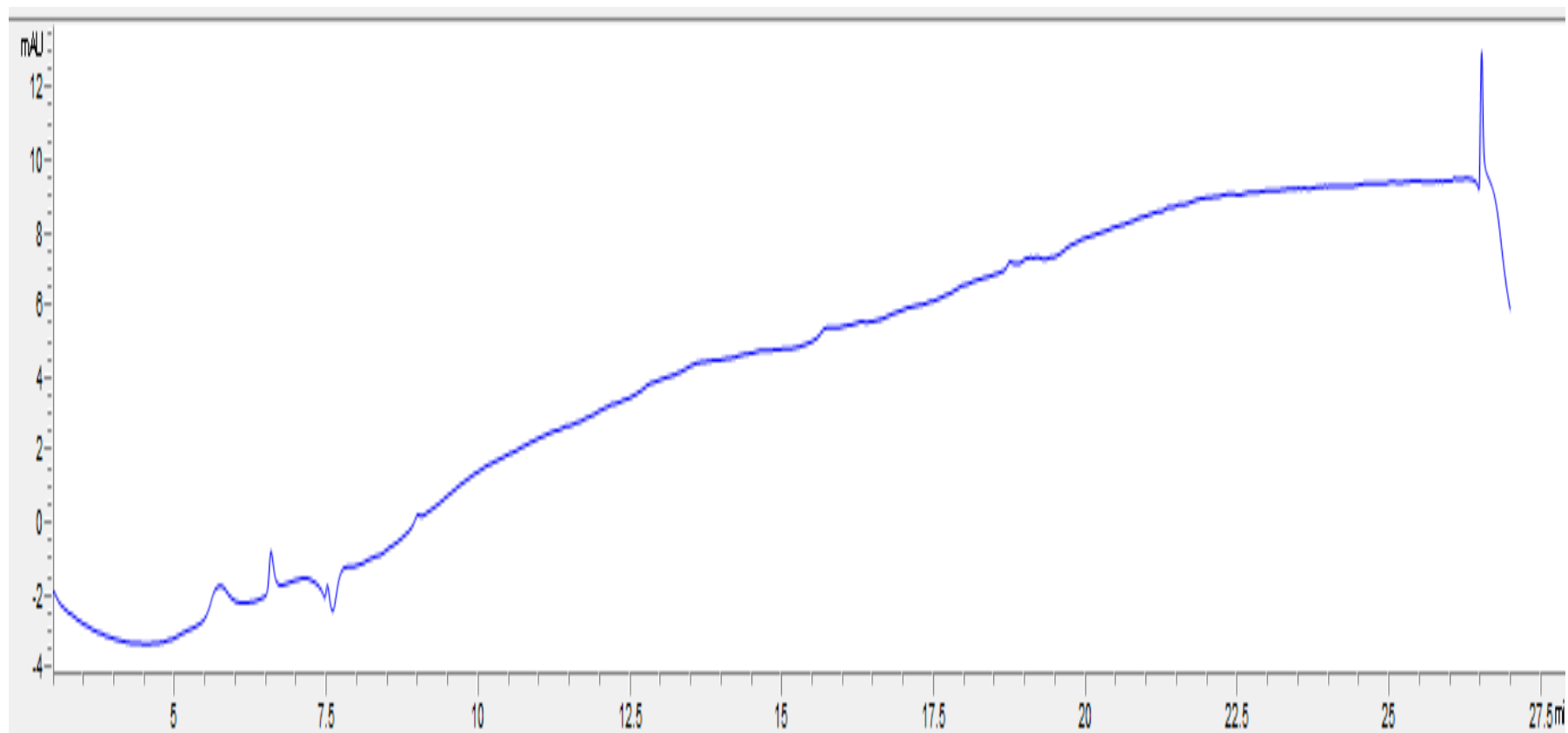


Figura 80. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Diclorometano. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad.

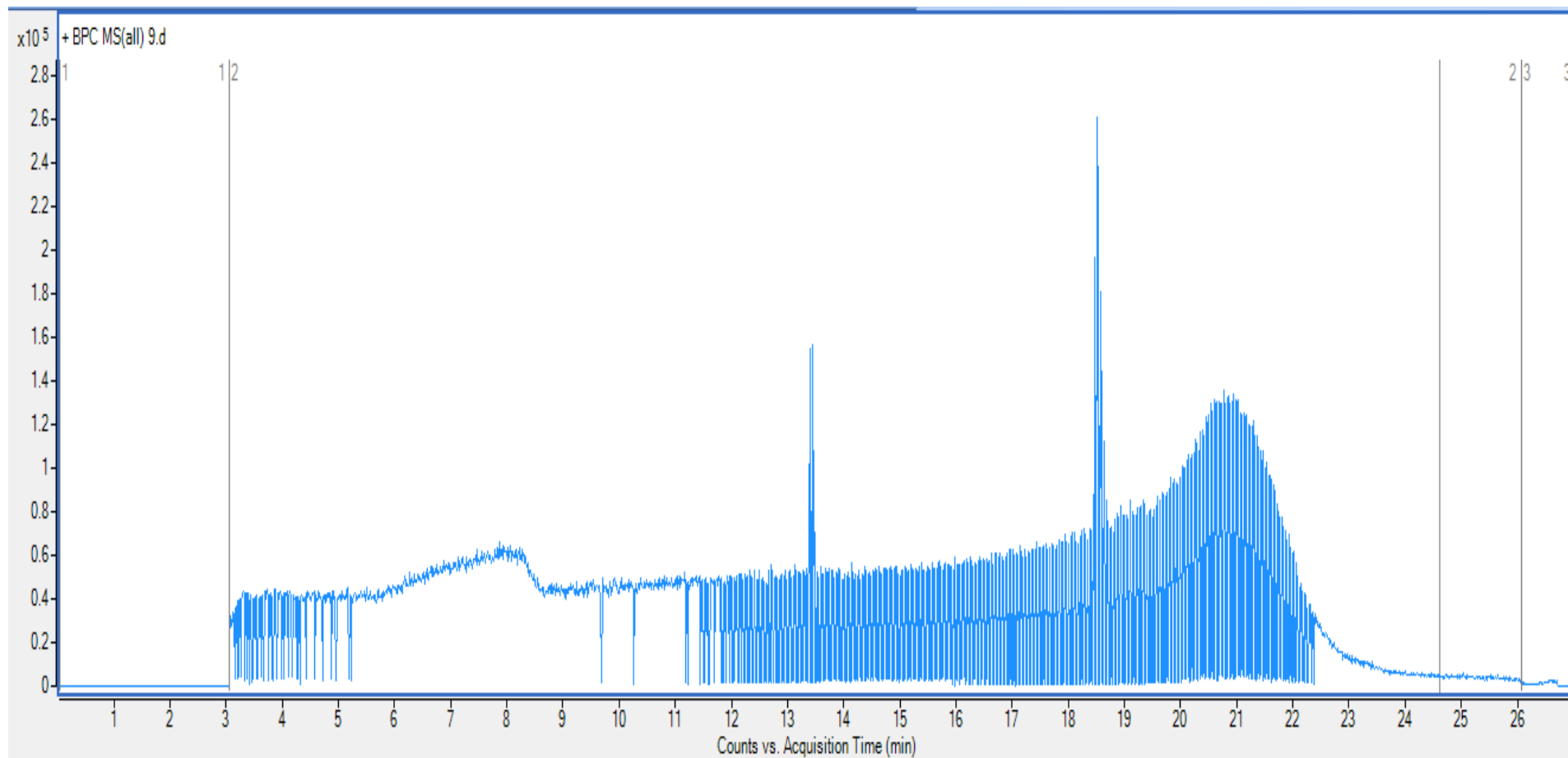


Figura 81. Espectro de masas para las bandas 3.852 - 11.923 y 3.839 - 11.898 de la muestra Palma con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

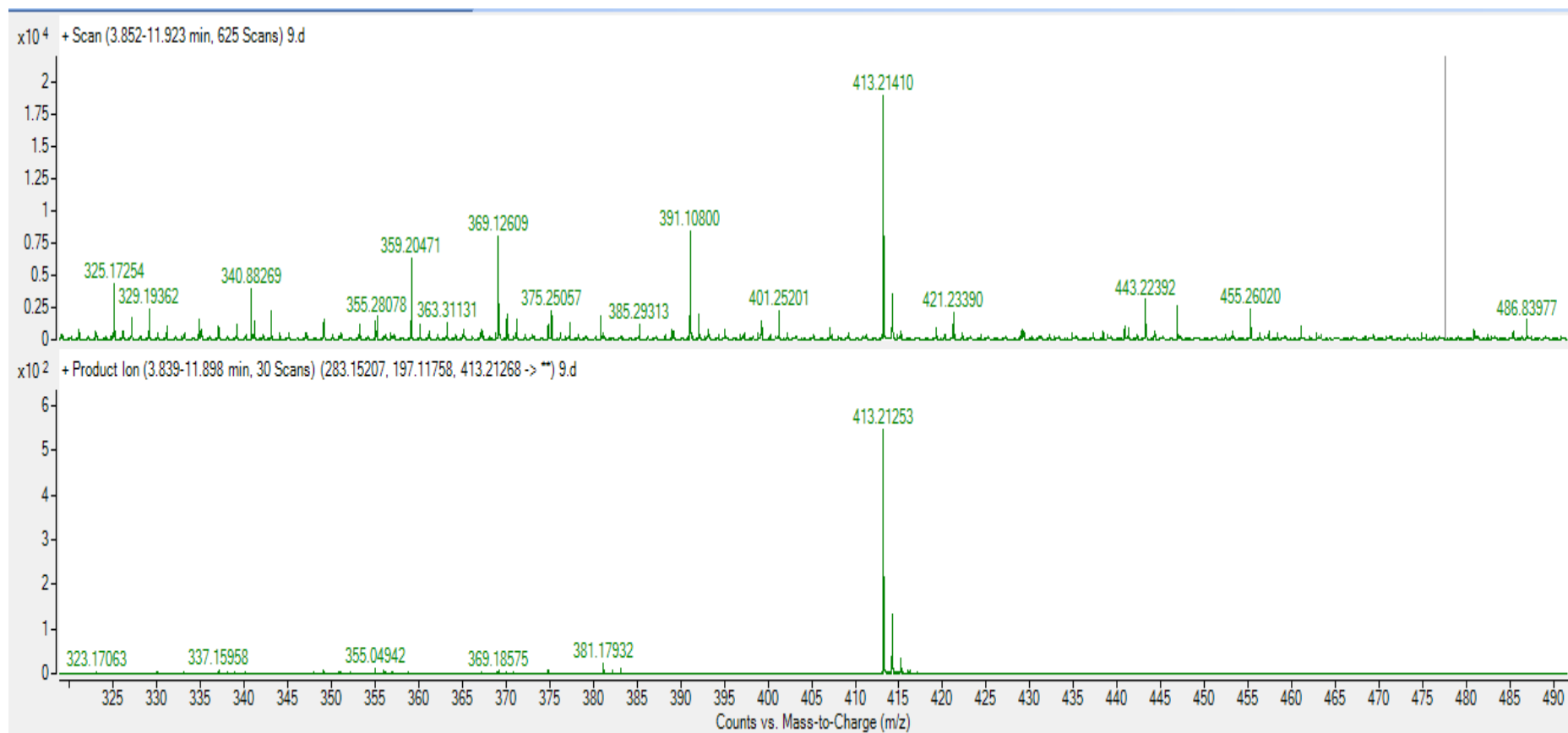


Figura 82. Espectro de masas para las bandas 13.5025 y 13.504 de la muestra Palma con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

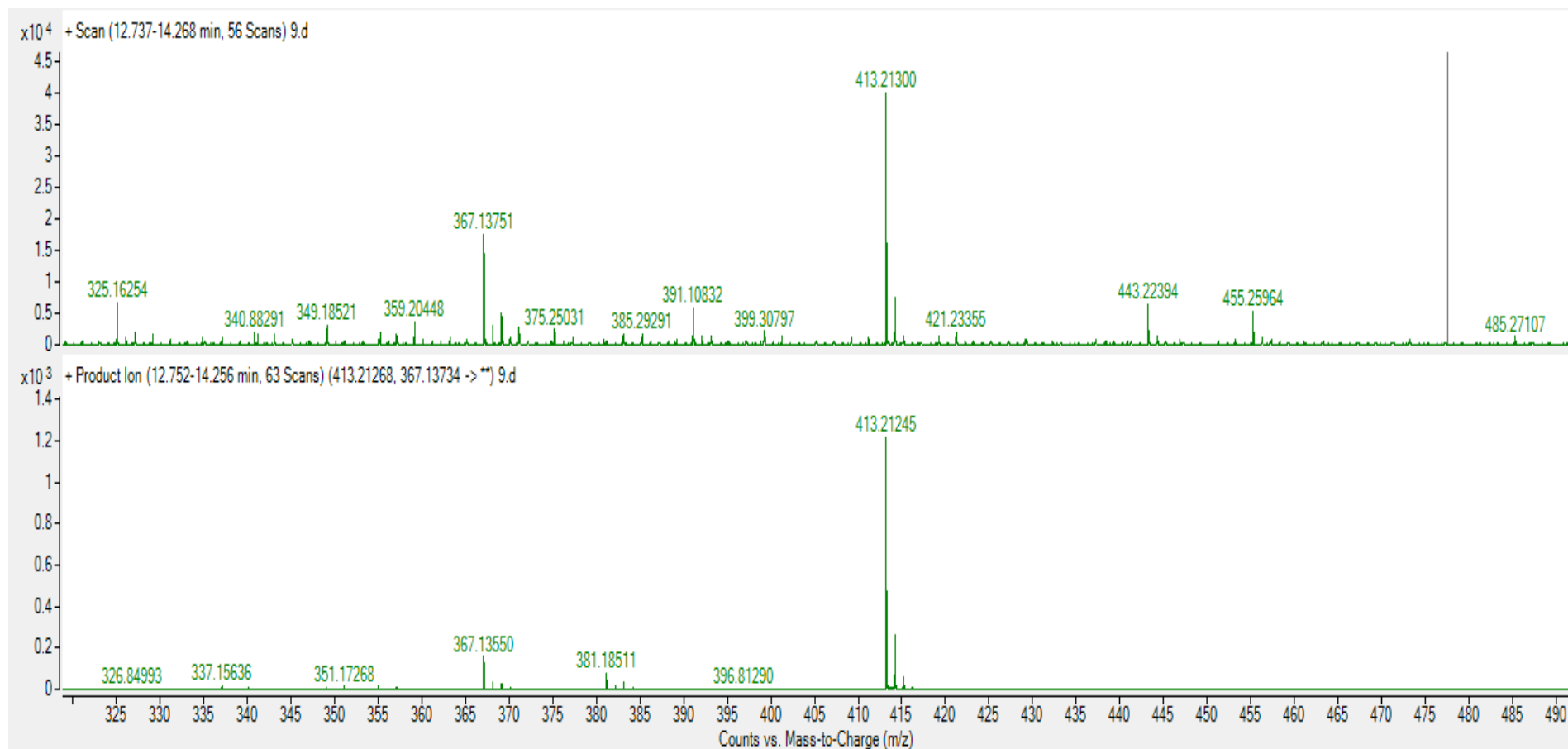


Figura 83. Espectro de masas para las bandas 18.523 y 18.5415 de la muestra Palma con el disolvente Diclorometano. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

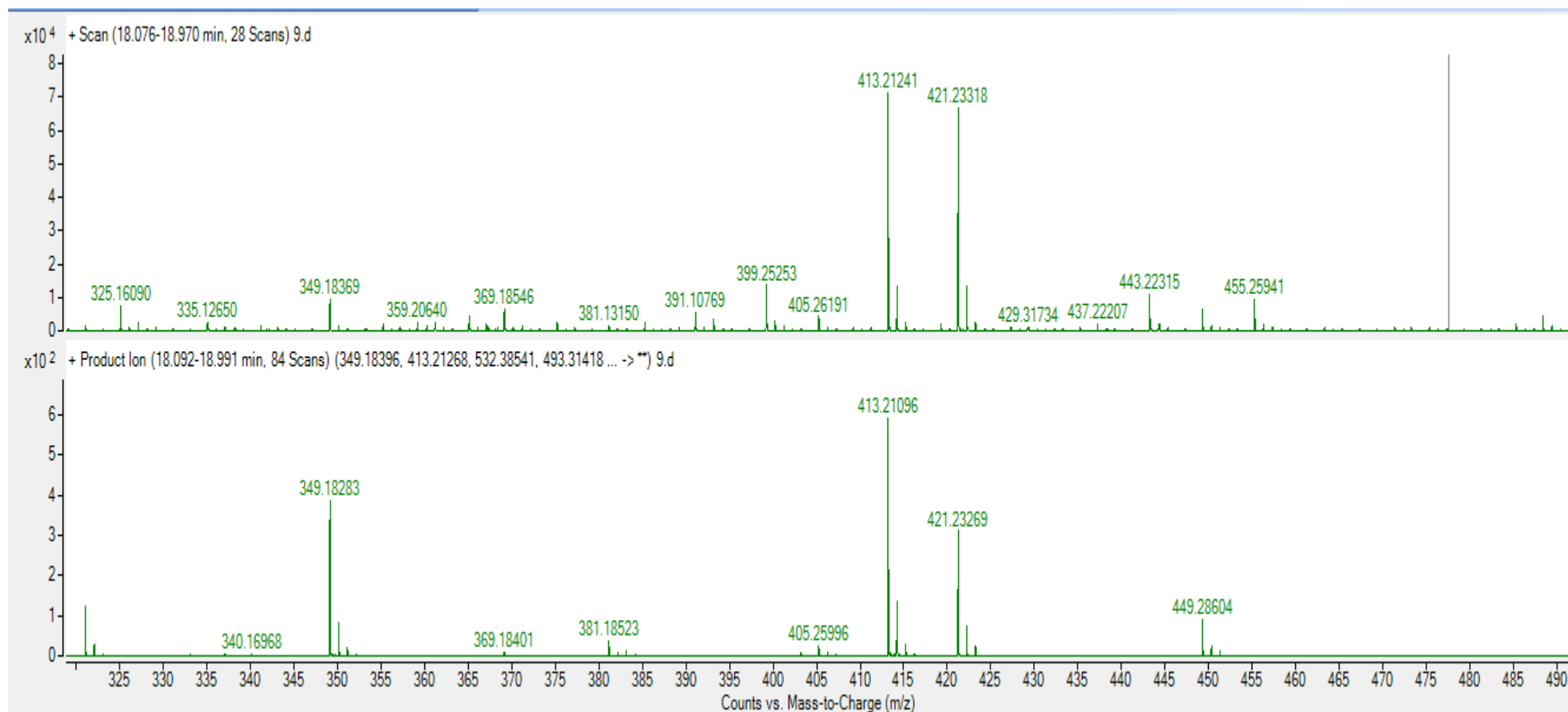


Figura 84. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y las unidades de absorción.

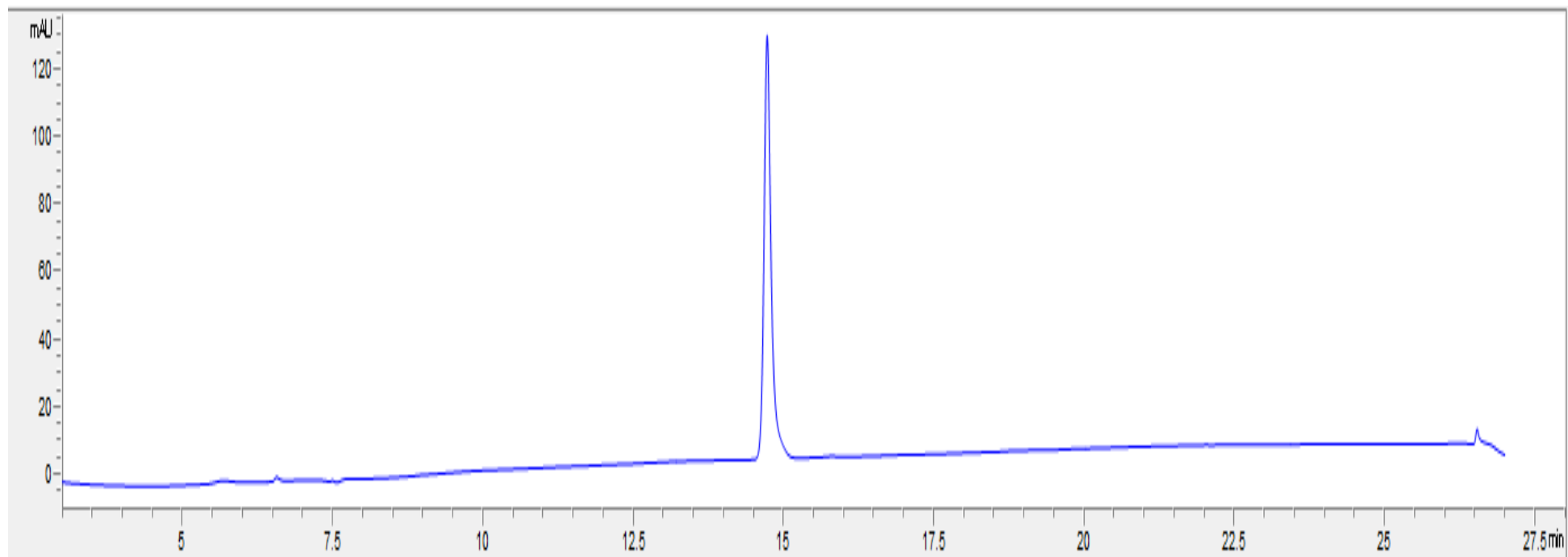


Figura 85. Cromatograma de extracto de Palma con el disolvente Éter Etílico. En el eje de las X se muestra el tiempo de retención en minutos y en el eje de las Y la intensidad.

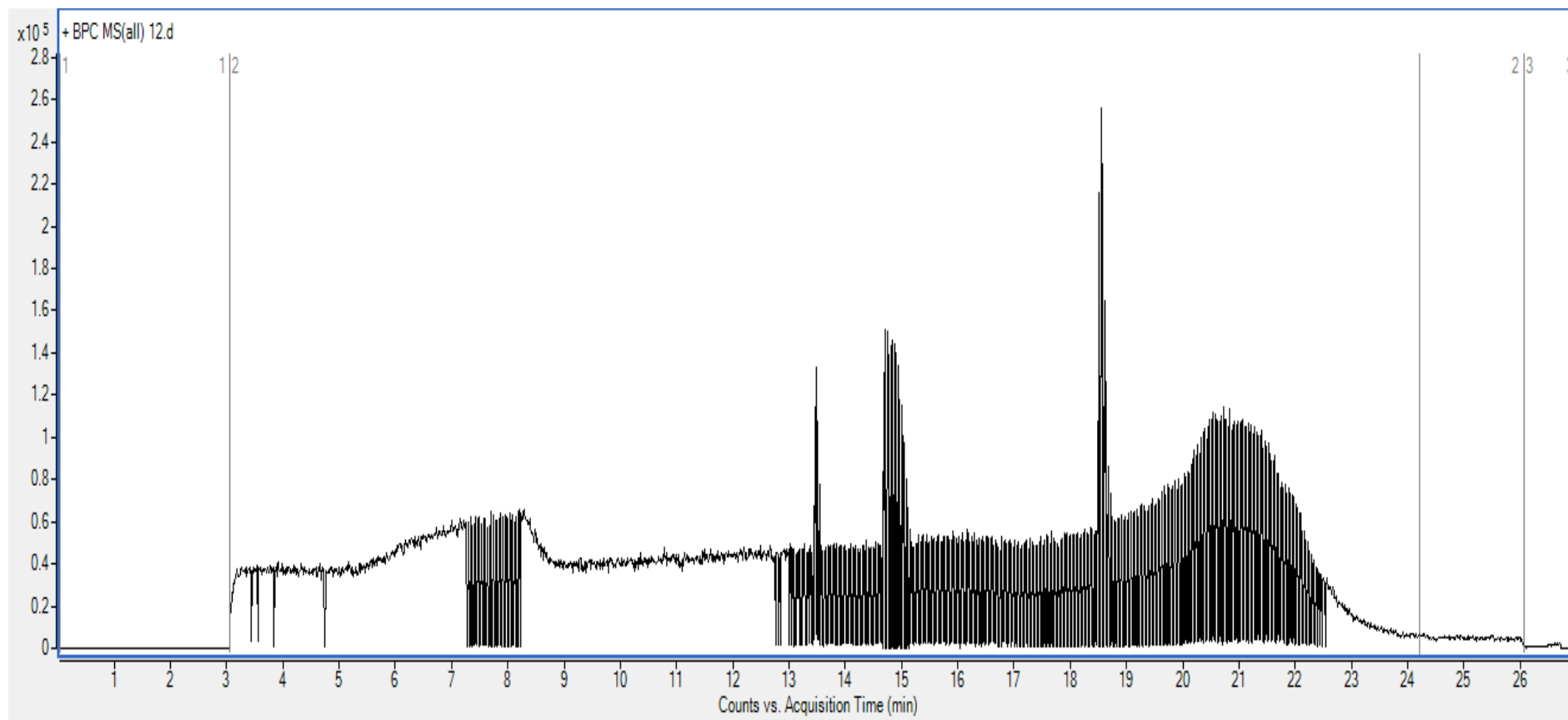


Figura 86. Espectro de masas para las bandas 13.4855 y 13.4865 de la muestra Palma con el disolvente Éter Etilico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

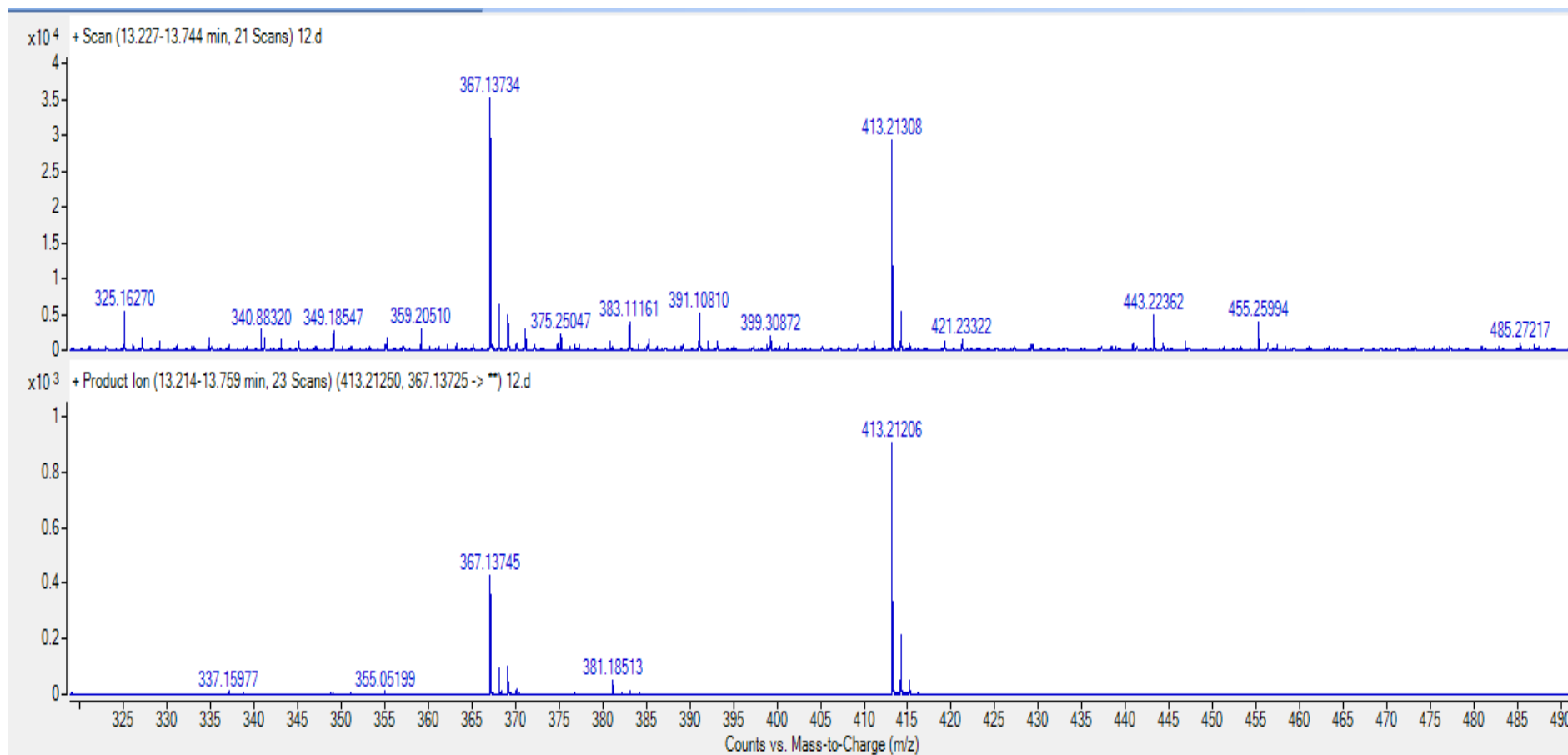


Figura 87. Espectro de masas para las bandas 14.969 y 14.984 de la muestra Palma con el disolvente Éter Etilico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

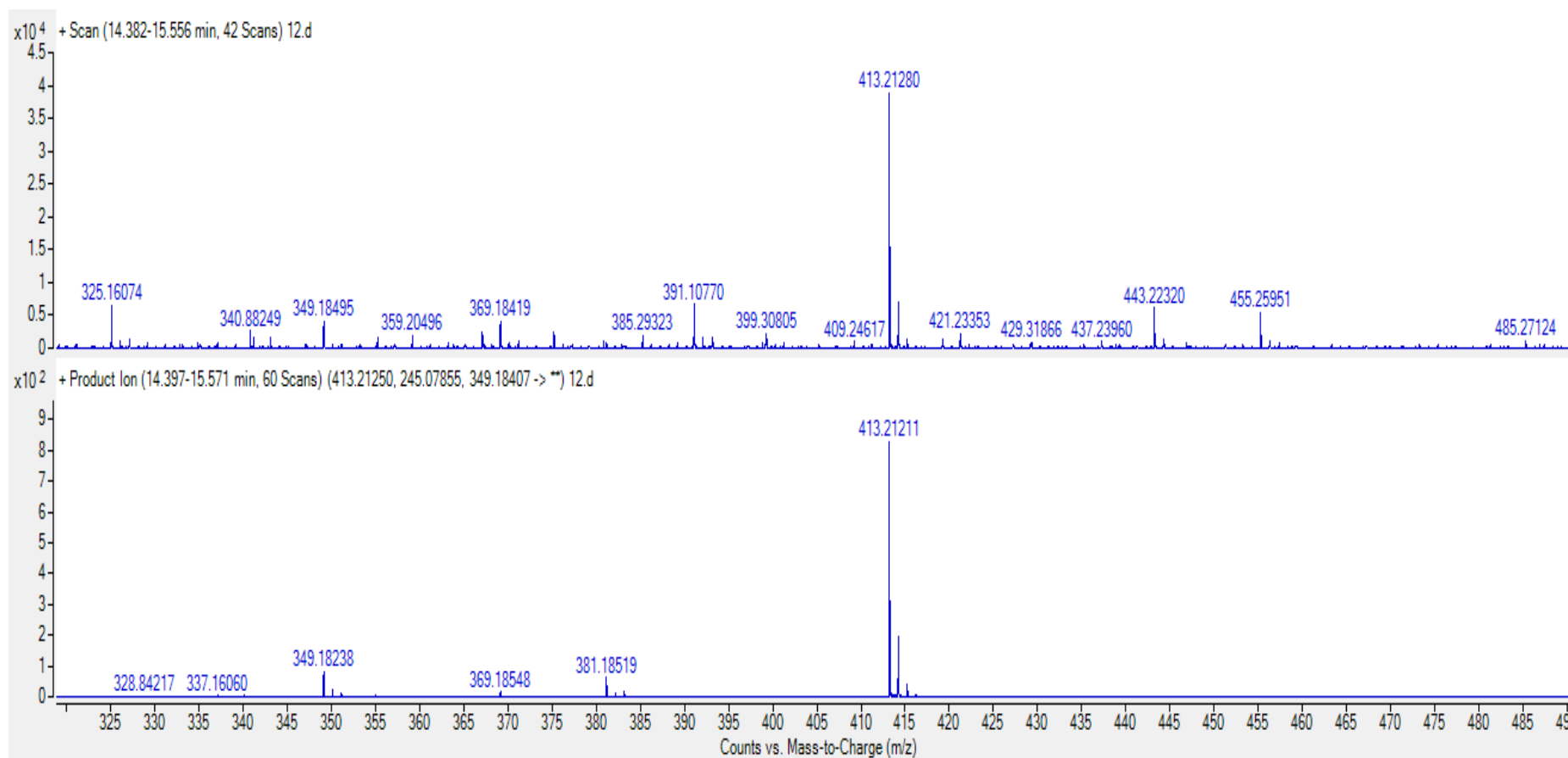


Figura 88. Espectro de masas para las bandas 18.6225 y 18.6235 de la muestra Palma con el disolvente Éter Etilico. En el eje de las x se muestra la relación masa/carga (m/e) y en el eje de las Y la intensidad relativa.

