

# CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE LA PECTINA OBTENIDA DE DESECHOS DEL BENEFICIADO DE CAFÉ

Delia Arriola \*

Ricardo García \*\*

DOI: <https://doi.org/10.54495/Rev.Cientifica.v3i2.459> Licencia: CC-BY 4.0

## Introducción

Las sustancias pécticas son componentes integrales de la estructura celular de las plantas y funcionan como sustancias cementantes en sus láminas medias. Dentro de este grupo se encuentra la pectina, que designa un grupo de poligalacturonanos, parcialmente metoxilados, solubles en agua, cuya composición varía con la fuente y las condiciones usadas para su aislamiento. Su función en frutas y vegetales está relacionada principalmente con la retención de la forma y firmeza de los mismos. Su mayor uso a nivel industrial está en la preparación de jaleas y mermeladas.

Tradicionalmente las pectinas se han obtenido a partir de los desechos de la industrialización de cítricos y manzana. Aunque no existe escasez de la materia prima para pectina, siempre habrá interés por obtenerla a menor precio. Se sabe que el mucílago y la pulpa de café contiene, entre otros componentes, cantidades apreciables de pectina<sup>(1,2,3,4)</sup>. Siendo Guatemala un país eminentemente cafetalero, los desechos obtenidos del beneficiado de café constituyen una fuente potencial de pectina.

En teoría podrían obtenerse alrededor de US\$ 20,574,119.53 por el procesamiento de todo el mucílago de café producido en el país. Sin embargo los datos proporcionados por la literatura sobre las propiedades y calidad de las pectinas de café son escasos e incompletos, por lo que es necesario investigar más las características que presentan, incluyendo su función en la manufactura de jaleas. El objetivo fundamental de este trabajo es caracterizar química y físicamente la pectina extraída de desechos del beneficiado de café (mucílago y pulpa), para determinar si es de calidad aceptable en la manufactura de productos alimenticios, farmacéuticos, e industriales en general. Para ello se comparó las características que presentaron las pectinas de café con las de algunas pectinas comerciales estandarizadas y con una pectina cítrica pura, y se determinó si existía entre las

características estudiadas, una diferencia estadísticamente significativa al nivel del 5 o/o por medio de un análisis de varianza. En los casos en que este análisis resultó significativo se determinó entre qué medias de las muestras existía diferencia aplicando la prueba de Intervalos Múltiples de Duncan.

## Materiales y Métodos

Los materiales utilizados en la caracterización química y física realizada incluyeron, pectina de mucílago y pulpa de café, y mucílago crudo congelado (*Coffea arabica*) de un beneficio de la Federación de Cooperativas Agrícolas de Productores de Café de Guatemala, R.L. (FEDECOCAGUA), localizado en Palín, Escuintla (identificados como Palín A, Palín B, y Crudo, respectivamente); pectina de mucílago de café (*Coffea arabica*) de un beneficio de FEDECOCAGUA, localizado en Parramos, Chimaltenango (identificada como Parram); 4 pectinas comerciales cítricas (Tipo A, Tipo B, Tipo D, y Tipo 603), 5 pectinas de manzana (Purple Ribbon Rein Pure, Brown Ribbon, Blue Ribbon, Green Ribbon, y Purple Ribbon D-075). Se escogieron como patrones de comparación, la pectina cítrica tipo 603 y la pectina de manzana Purple Ribbon Rein Pure porque ambas eran pectinas puras, sin estandarizar.

La extracción de las Substancias Pécticas Totales (SPT) del mucílago y la pulpa de café se realizó de la siguiente manera: El café cereza recién cortado se lavó, despulpó y desmucilagino. El mucílago se precipitó con Etanol al 95 o/o, y el precipitado se lavó, se secó a temperatura ambiente y se molió a una malla 20. La pulpa se trató según el método de extracción de Calle<sup>(2)</sup> con NaOH, y el líquido obtenido se precipitó con Etanol al 95 o/o y se sometió al mismo procedimiento de lavado, secado y molido de las SPT del mucílago.

De ambos materiales se extrajo la pectina según el método de Rombouts<sup>(5)</sup> para extracción de pectina de bagazo de manzana. Por este método alrededor de 50-60 g de SPT de mucílago o pulpa de café se colocaron en un recipiente de acero inoxidable y se mezclaron con 3 litros de agua destilada. La mezcla se ajustó a pH 2.0 con HCl 5N y se calentó a 80°C por 2 horas con agitación constante. Luego de este tiempo el pH se ajustó a 3.5 con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 10 o/o, y la mezcla se filtró primero a través de una tela de poro grande y luego a través de un papel filtro cubierto con tierra de diatomeas, para su clarificación. Las sustancias pécticas en solución se precipitaron con 2 volúmenes de Etanol al 95 o/o, se separaron por filtración y se suspendieron primero en 1

\* Química.

\*\* Ingeniero Químico, División de Investigación Aplicada. Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial.

litro de Etanol al 70 o/o y luego en 1 litro de Etanol al 95 o/o. Los compuestos recogidos se dejaron secar a temperatura ambiente, y posteriormente se molieron a una malla 20. El mismo tratamiento de extracción se aplicó a la pectina cítrica tipo 603.

Los compuestos extraídos se sometieron a los siguientes análisis:

- 1) Contenido de Acido Galacturónico Anhidro (AGA) por el método del m-fenil-fenol, según Kintner y Van Buren (6), por el método del carbazol, según McCready (7) (utilizando un espectrofotómetro UV-VIS Perkin Elmer, Coleman 55), y por titulación con NaOH, según Schultz (8)
- 2) Contenido de metoxilo y grado de esterificación (GE) por titulación con NaOH, según Schultz (8) y por cromatografía gas-líquido, según Walter et al (9) (utilizando un cromatógrafo Perkin-Elmer 990).
- 3) Contenido de Acetilo por cromatografía gas-líquido, según Rombouts (5) (utilizando un cromatógrafo Hewlett-Packard 402).
- 4) Contenido de Nitrógeno por el método microKjeldahl de la AOAC (10).
- 5) Contenido de Carbohidratos totales por el método del Fenol-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, según Hodge y Hofreiter (11) (utilizando un espectrofotómetro UV-VIS, Perkin Elmer, Coleman 55).
- 6) Contenido de humedad según el método de la FAO (12).
- 7) Contenido de Cenizas Totales, según la AOAC (10)
- 8) Contenido de Cenizas insolubles en ácido, según la FAO (13).
- 9) Determinación del Peso Equivalente por titulación con NaOH, según Schultz (8).
- 10) Determinación del Peso Molecular promedio, por medición de la viscosidad, según Rombouts (5).
- 11) Medición de la textura de las jaleas hechas con las pectinas, según las normas del Instituto de Tecnólogos de Alimentos (IFT) (14), utilizando un Rigelímetro.
- 12) Determinación del Tiempo de gelificación de las jaleas según Joseph y Baier (15) y de la Temperatura de gelificación, según Hinton (16).

## Resultados y Discusión

Todos los resultados obtenidos con las muestras de café y con las pectinas comerciales están expresados, en base seca, en los Cuadros No. 1 y No. 2, y en las Gráficas No. 1 - No. 5.

A través del análisis del material péctico extraído de las SPT del mucílago y la pulpa de café se determinó que en el caso del mucílago correspondía a pectina de alto metoxilo, y en el caso de la pulpa, a ácido péctico con un mínimo de grupos metoxilados. Estos resultados no están de acuerdo con los reportados por Calle (2), quien indicó haber obtenido pectina demetoxilada de mucílago de café

y pectina metoxilada de pulpa de café. Sin embargo, se sabe que en medio básico la pectina es saponificada rápidamente por lo que resulta imposible obtener un material péctico metilado habiendo realizado la extracción con NaOH.

Por otra parte, a pesar de los resultados obtenidos con el ácido péctico de la pulpa, la cantidad de sustancias pécticas presentes en ella, 13.10 o/o, la convierte en una buena fuente de pectina, al igual que el mucílago de café, con 14.13 o/o.

Las humedades promedio de las muestras de café fueron bastante más altas que las de las pectinas comerciales, y no cumplieron con los valores estándar dados por la FAO (12), el Food Chemicals Codex (FCC) (17), y la norma Búlgara (18). Esto indica que las muestras deben ser deshidratadas adecuadamente para cumplir con los estándares dados.

CUADRO 1

CARACTERIZACION FISICO-QUIMICA DE PECTINA DE CAFE

ANALISIS (Todas las determinaciones en base seca)	INTERV. CONFIO. (NIVEL 0.05)	MUCIL. CAFE PALIN A	MUCIL. CAFE PARRAM. B	PULPA CAFE PALIN B	MUCIL. CAFE CRUDO PALIN	PECTINA CITRICA 603
<b>a/o ACIDO ANHIDRO GALACTURONICO</b>						
método CARBAZOL	2.4509	67.18	73.74	77.60	10.28	85.22
método m-FENIL FENOL	1.0140	93.00	86.80	95.24	8.83	93.20
titulación NaOH	0.5068	48.35	25.59		12.17	53.83
<b>a/o CONTENIDO METOXILO</b>						
titulación NaOH	0.1474	8.12	8.30			8.61
Cromatografía gaseosa	0.6503	9.98	10.78	0.41		11.65
<b>GRADO DE ESTERIFICACION</b>						
titulación NaOH	0.9372	95.90	96.61			90.62
Cromatografía gaseosa	4.2754	65.76	76.10	2.64		76.59
<b>a/o CONTENIDO ACETILO</b>						
Cromatografía gaseosa	0.0363	0.38	0.09	0.34		0.30
<b>a/o NITROGENO, micro Kjeldahl</b>	0.0253	0.10	0.14	0.08		0.24
<b>a/o CARBOHIDRATOS</b>						
método FENOL-SULFURICO	1.4330	49.53	47.75	51.73		42.60
<b>a/o HUMEDAD (Método de horno)</b>	0.3035	13.74	16.85	14.57	26.87	8.35
<b>a/o CENIZAS TOTALES</b>	0.4621	6.20	5.63	1.97	5.50	2.96
<b>PESO EQUIVALENTE</b>						
titulación NaOH	202.7070	4073.1	5611.4			2031.6
<b>PESO MOLECULAR PROMEDIO</b>						
método por viscosidad		20964.6	26880.8			86774.1 61034.6*
<b>a/o CENIZAS INSOLUBLES EN ACIDO</b>					0.27	
método por hervir en HCl						
<b>TIEMPO DE GELIFICACION, seg.</b>	9.7430					43.45
<b>TEMP. DE GELIFICACION, oC</b>	0.8418					85.13
<b>° SAG</b>	3.4467					179.65

\* Después de calentar 2 h a 80 °C, y pH 2.0

En cuanto al contenido de cenizas totales e insolubles en ácido, las pectinas Palín A, Palín B y Parram cumplieron con el valor estándar del FCC (17), de menos del 10 o/o para cenizas totales, y con el de la FAO (12), de menos del 1 o/o para cenizas insolubles en ácido, ya que carecieron de estas últimas.

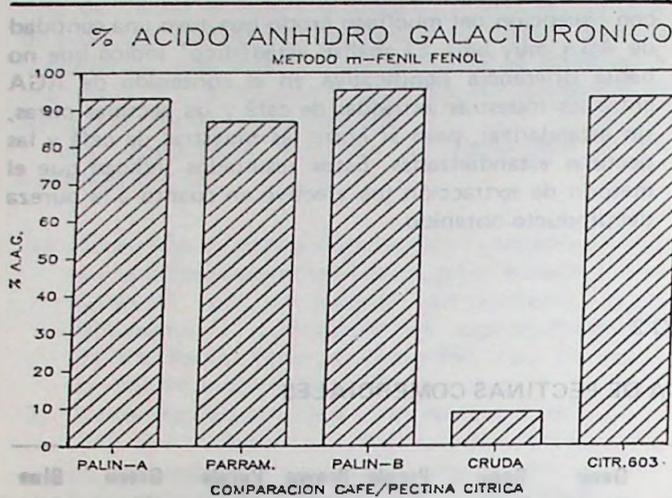
De los 3 métodos utilizados para la determinación del AGA, el método del m-fenil-fenol dio los mejores resultados. Por este método la interferencia producida por la presencia de carbohidratos fue menor y los resultados fueron más confiables. Los contenidos de AGA en las pectinas puras (de café, tipo 603 y Purple Ribbon Rein Pure) fueron los más altos. En la gráfica No. 1 puede verse que la diferencia entre el contenido de AGA de las muestras extraídas de café y la pectina tipo 603 fue poca,

con excepción del mucílago crudo que tuvo una cantidad de AGA muy baja. El análisis estadístico\* indicó que no había diferencia significativa en el contenido de AGA entre las muestras extraídas de café y las pectinas puras, sin estandarizar, pero sí entre las muestras de café y las pectinas estandarizadas. Estos resultados indican que el método de extracción fue efectivo en cuanto a la pureza del producto obtenido.

**CUADRO 2**

**CARACTERIZACION FISICO-QUIMICA DE PECTINAS COMERCIALES**

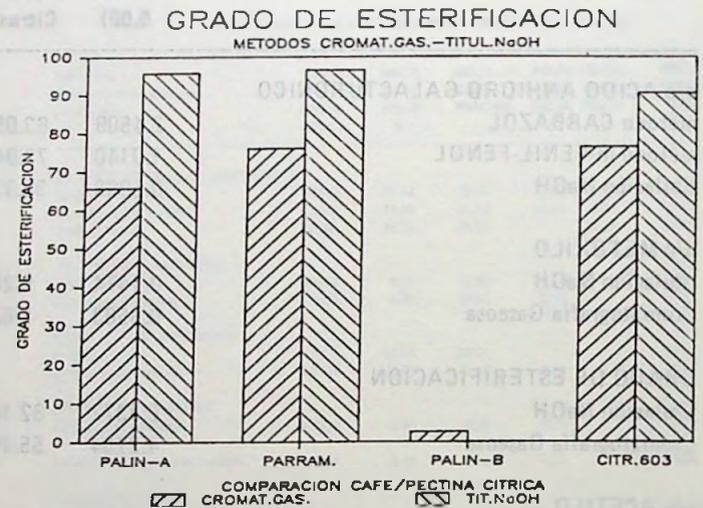
ANALISIS (Todas las determinaciones en base seca)	Interv. Confid. (Nivel 0.05)	Genu Pectin Type A Citrus	Genu Pectin Type B Citrus	Genu Pectin Type D Citrus	Purple Ribbon Pure Apple	Brown Ribbon Apple	Purple Ribbon D-075 Apple	Green Ribbon Apple	Blue Ribbon Apple
<b>α/o ACIDO ANHIDRO GALACTURONICO</b>									
método CARBAZOL	2.4509	63.05	58.70	67.26	88.97	66.04	61.36	72.66	77.57
método m-FENIL-FENOL	1.0140	72.94	66.11	81.79	98.92	81.03	67.38	83.51	88.08
titulación NaOH	0.5068	36.37	33.36	42.45	47.77	38.40	12.73	42.12	42.33
<b>α/o METOXILO</b>									
titulación NaOH	0.1474	5.26	5.20	5.81	3.33	5.38	1.78	5.01	4.12
Cromatografía Gaseosa	0.6503	6.63	7.00	7.54	5.85	6.15	7.69	10.13	9.20
<b>GRADO DE ESTERIFICACION</b>									
titulación NaOH	0.9372	82.18	88.54	77.73	39.39	79.52	80.19	67.58	55.17
Cromatografía Gaseosa	4.2754	55.70	64.88	56.49	36.24	46.51	69.93	74.33	64.00
<b>α/o ACETILO</b>									
Cromatografía Gaseosa	0.0363	0.30	0.32	0.36	0.35	0.28	0.35	0.38	0.38
<b>α/o NITROGENO, micro Kjeldahl</b>									
	0.0253	0.23	0.38	0.35	0.09	0.20	2.08	0.33	0.13
<b>α/o CARBOHIDRATOS</b>									
método FENOL-SULFURICO	1.4330	55.65	55.36	54.99	51.69	62.60	59.06	62.05	59.44
<b>α/o HUMEDAD (método de horno)</b>									
	0.3036	2.74	3.24	6.08	9.87	5.55	8.39	10.02	10.19
<b>α/o CENIZAS TOTALES</b>									
	0.4641	1.49	1.08	2.21	5.12	1.01	4.01	4.16	1.63
<b>PESO EQUIVALENTE</b>									
titulación NaOH	202.7070	1053.4	1772.1	839.1	299.53	914.44	990.97	572.11	410.09
<b>TIEMPO DE GELIFICACION, seg.</b>									
	9.7430	145.05	30.55	213.8		155.95		472.4	472.65
<b>TEMP. DE GELIFICACION, oC</b>									
	0.8418	76.00	83.75	68.75		70.25		52.50	57.75
<b>°SAG</b>									
	3.4467	142.63	139.31	145.00		121.10		125.45	126.12



GRAFICA No. 1

Los mejores resultados en la determinación del contenido de metoxilo y GE se obtuvieron por el método de cromatografía gas-líquido. Este método fue lo suficientemente sensible como para detectar el bajo contenido de metoxilo en el ácido péctico de la pulpa de café. Según el GE calculado, ambas pectinas de mucílago de café se clasificaron dentro del grupo de las pectinas de esterificación alta y gelificación rápida, según la norma Búlgara (18). El análisis estadístico\* mostró que no había diferencia significativa entre el GE de las pectinas de mucílago de café y la pectina cítrica tipo 603, de alto metoxilo, pero sí la hubo entre las primeras y las pectinas estandarizadas de bajo metoxilo.

Por medio del método de titulación con NaOH no se logró determinar el contenido de metoxilo del ácido péctico de la pulpa de café porque no se detectó cambio



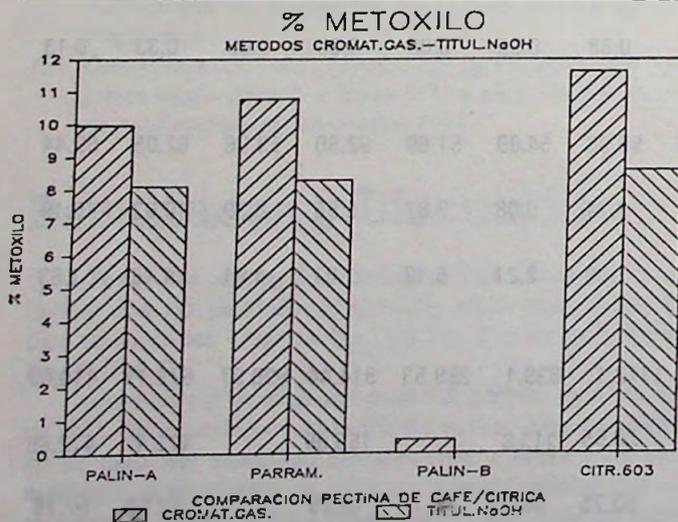
GRAFICA No. 3

contener más de 1 o/o de grupos acetilados. En general no hubo diferencia significativa\* en el contenido de acetilo entre todas las muestras.

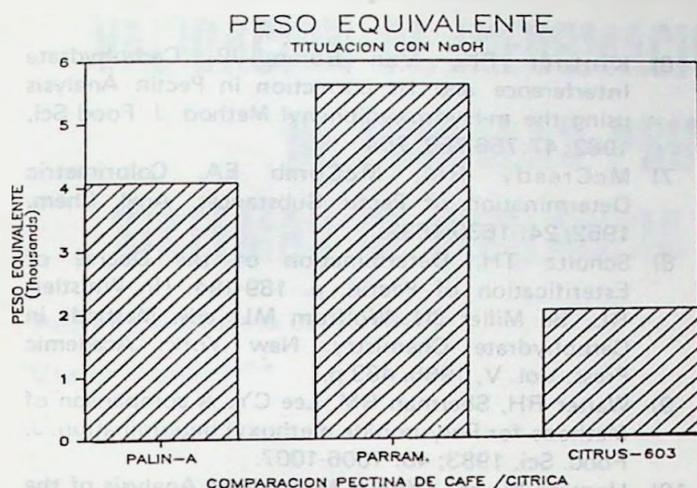
Al igual que con el o/o de acetilo, las pectinas de café y comerciales cumplieron con las normas de la FAO (12) para contenido de nitrógeno, de menos del 0.5 o/o.

Como era de esperarse, el contenido de carbohidratos totales fue mayor en las muestras de pectinas comerciales (las cuales están estandarizadas por adición de algunos azúcares) que en las muestras puras. El análisis estadístico\* corroboró que había diferencia significativa entre las pectinas estandarizadas y las pectinas puras.

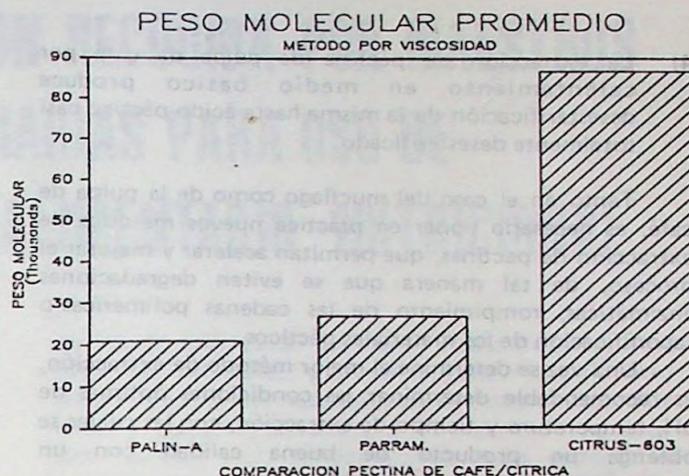
La determinación del peso molecular promedio se realizó únicamente con las pectinas de mucílago de café y la pectina cítrica tipo 603. Los valores del peso molecular de ambas pectinas de mucílago de café fueron aproximadamente la cuarta parte del valor obtenido para la pectina cítrica tipo 603. Esta diferencia puede observarse claramente en la Gráfica No. 5.



GRAFICA No. 2



GRAFICA No. 4



GRAFICA No. 5

Inicialmente el bajo peso molecular de las pectinas de mucílago de café se atribuyó a una degradación enzimática durante el proceso de desmucilaginado, ya que la acción de las poligalacturonas produce compuestos de bajo peso molecular por rompimiento de enlaces  $\alpha$ -1,4-glicosídicos del polímero a un pH óptimo de 4-6. El PH del mucílago durante el desmucilaginado fue de 5.5.

Además de la degradación enzimática existía la posibilidad de que la degradación fuera causada por el método de extracción utilizado (que rompiera parcialmente el polímero), o bien que la pectina de mucílago fuera en sí un polímero de bajo peso molecular. La degradación sufrida por la pectina cítrica tipo 603 sometida al mismo proceso de extracción utilizado con las pectinas de café (que se tradujo en una disminución de su Peso Molecular), confirmó que el método de extracción degradaba las pectinas de café, obteniéndose polímeros de bajo peso molecular. Sin embargo, esto no descarta la posibilidad de una degradación enzimática durante el desmucilaginado, ni el que la pectina sea, en sí, de bajo peso molecular.

A pesar de que las pectinas de mucílago de café tuvieron un contenido alto de metoxilo no gelificaron bajo condiciones estandar, según el IFT (14), debido a su bajo peso molecular. Por esta misma razón tampoco fue posible determinar su tiempo y temperatura de gelificación. Existen correlaciones gráficas entre peso molecular y grado de combamiento ( $\circ$ SAG) de la jalea de una pectina pura, según las cuales una pectina con un peso molecular similar a los obtenidos para las de café, forma una jalea de 55 $\circ$  SAG. Sin embargo, en este punto las jaleas no son comparables con las jaleas normales porque deben ser preparadas con cantidades considerables de pectina.

Los valores de tiempo, temperatura de gelificación y textura de las jaleas de las pectinas comerciales de alto metoxilo están incluidas en los Cuadros No. 1 y No. 2. Según estos resultados las jaleas de pectinas de gelificación

rápida gelificaron en tiempos menores y temperaturas mayores que las de gelificación mediana o lenta.

En general las características químicas de las pectinas de mucílago de café fueron satisfactorias, sobre todo porque en las principales determinaciones (contenido de AGA, metoxilo, acetilo y GE) no hubo diferencia significativa entre las primeras y la pectina cítrica tipo 603 (patrón de comparación).

El mayor problema en la obtención de pectina de las SPT del mucílago de café radicó en el proceso de extracción. En el caso de la cáscara de cítricos y bagazo de manzana, este método sirve para desintegrar más fácilmente los materiales y para acelerar la difusión de las moléculas de pectina a la solución. Sin embargo, en el caso de las SPT de mucílago de café, la pectina está menos adherida a las mismas, por lo que no es necesario el uso de condiciones de extracción tan drásticas como las utilizadas (calentamiento prolongado a pH bajo y temperatura alta).

## Conclusiones y Recomendaciones

- 1) El mucílago y la pulpa de café son buenas fuentes de pectina, ya que contienen aproximadamente 14.14 o/o y 13.10 o/o de material péctico, respectivamente.
- 2) La pectina de mucílago de café es de alto metoxilo y tiene buenas características químicas, ya que no fue significativamente diferente de la pectina cítrica pura patrón, en cuanto al contenido de AGA, metoxilo, acetilo, GE, nitrógeno y carbohidratos totales.
- 3) El método de extracción de la pectina de mucílago de café utilizado no es adecuado para el material péctico en cuestión ya que degrada la pectina por rompimiento parcial del polímero, produciendo una baja en su peso molecular.

- 4) La extracción de pectina de pulpa de café por calentamiento en medio básico produce desesterificación de la misma hasta ácido péctico casi totalmente desesterificado.

Tanto en el caso del mucílago como de la pulpa de café, es necesario poner en práctica nuevos métodos de extracción de pectinas, que permitan acelerar y mejorar el proceso, de tal manera que se eviten degradaciones enzimáticas, rompimiento de las cadenas poliméricas o saponificación de los materiales pécticos.

Una vez se determine el mejor método de extracción, es recomendable determinar las condiciones óptimas de pH, temperatura y tiempo de extracción, con las cuales se obtenga un producto de buena calidad con un rendimiento económico aceptable.

## Agradecimientos

Los autores desean reconocer y agradecer al Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial (ICAITI) por su asistencia técnica y a la Asociación Internacional para el Desarrollo (AID) por el financiamiento, en la ejecución de la presente investigación.

## Referencias

- 1) Coleman RJ et al. Pectic Acid from the mucilage of coffee cherries. *Arch. Biochem. Biophys.* 1955; 59: 157-164.  
[https://doi.org/10.1016/0003-9861\(55\)90472-0](https://doi.org/10.1016/0003-9861(55)90472-0)
- 2) Calle H. Métodos de Extracción de las Pectinas de Café, *CENICAFE.* 1962; 13: 69-74.
- 3) Menchú JF et al. Posibilidad de recuperación de la pectina del mucílago del café. Guatemala: Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial, Doc. Tec. (Presentado en la Primera Reunión Internacional sobre la Utilización de Subproductos del Café en Alimentación Animal y otras aplicaciones Agrícolas e Industriales. Turrialba, Costa Rica) 1974. 15 p.
- 4) Correa JBC, Odebrecht S, Fontana JD. Polysaccharides from the epicarp and mesocarp of coffee beans. II. Fractionation and partial acid Hydrolysis of water-soluble pectin. *An Acad. Bras. Cienc.* 1974; 46: 349-356. (En C. 1975. 83: 203760)).
- 5) Rombouts FM. Methods in Pectin Analysis and Enzyme Preparations. Documento sin publicar, comunicación personal. 1982. 198 p.
- 6) Kintner PK, Van Buren JP. Carbohydrate Interference and Its correction in Pectin Analysis using the m-Hydroxydiphenyl Method. *J. Food Sci.* 1982; 47:756-759, 764.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb12708.x>
- 7) McCready RM, McComb EA. Colorimetric Determination of Pectic Substances. *Anal. Chem.* 1952; 24: 1630-1632.  
<https://doi.org/10.1021/ac60070a036>
- 8) Schultz TH. Determination of the Degree of Esterification of Pectin, p. 189-194. (In Whistler RL, Be Miller JN, Wolfram ML, eds. *Methods in Carbohydrate Chemistry.* New York: Academic Press. Vol. V, 1965. 463 p.)
- 9) Walter RH, Sherman RM, Lee CY. A comparison of Methods for Polyuronide methoxyl determination. *J. Food. Sci.* 1983; 48: 1006-1007.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1983.tb14957.x>
- 10) Horwitz W, ed. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.* 13 ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists., 1980. 1018 p.
- 11) Hodge Je, Hofreiter BT. Determination of Reducing Sugars and Carbohydrates, p. 380-390. (In Whistler RL, Be Miller JN, Wolfram ML, eds. *Methods in Carbohydrate Chemistry.* New York: Academic Press. Vol I, 1962. 589 p.)
- 12) FAO. JEFCA specifications for identity and purity of carrier solvents, emulsifiers and stabilizers, enzyme preparations, flavouring agents, food colours, sweetening agents and other food additives. *FAO Food and Nutrition Paper No. 19.* Roma, Italia, 1981. 251 p.
- 13) FAO. Guide to specifications for general notices, general methods, identification tests, test solutions, reference materials. *FAO Food and Nutrition Paper No. 5.* Roma, Italia, 1978. 91 p.
- 14) IFT Committee. Pectin Standardization. *Food Tech.* 1959; 13: 496-500.
- 15) Joseph GH, Baier WE. Methods of determining the firmness and setting time of pectin test jellies. *Food Technol* 1949; 3: 18-22.
- 16) Hinton CL. The setting temperature of pectin jellies. *J. Sci. Food Agr.* 1950; 1: 300-307.  
<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740011004>
- 17) Food Chemicals Codex. Food and Nutrition Board, Div. Biol. Sci., Assembly Life Sci., National Research Council. 3 ed. National Academy Press, 1981. 770 p.
- 18) Bulgarian Standard BDS 2608-80. Bulgaria, 1980. (En FSTA 15, 2U130).

Copyright (c) 1985 Delia Arriola y Ricardo García



Este texto está protegido por una licencia [Creative Commons 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Usted es libre para Compartir —copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato— y Adaptar el documento —remezclar, transformar y crear a partir del material— para cualquier propósito, incluso para fines comerciales, siempre que cumpla la condición de:

Atribución: Usted debe dar crédito a la obra original de manera adecuada, proporcionar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que tiene el apoyo del licenciante o lo recibe por el uso que hace de la obra.

[Resumen delicencia](#) - [Texto completo de la licencia](#)