



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS
DE LOS ALIMENTOS
MÉRIDA-VENEZUELA



POTENCIAL NUTRICIONAL DE *Bauhinia variegata* L (FABACEAE) DE
ACUERDO A SU COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ESTUDIO DE LA
ECOTOXICIDAD SOBRE *Artemia salina*

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
Licenciada en Bioanálisis

Autora:

Br. Anna Chacón

C.I.: 25.454.935

Tutor:

Dr. Tomás Visbal

Mérida, Junio de 2023

DEDICATORIA

A Dios por permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional y nunca desistir a pesar de los obstáculos que se pudieron presentar. Por darme salud, fortaleza y la capacidad, para siempre seguir adelante y nunca rendirme.

A mi mamá Teresita, pieza fundamental en mi vida, por apoyarme, aconsejarme, escucharme y por confiar en mí. Futura colega, te admiro como profesional, comprometida con su trabajo, preocupada por sus pacientes y siempre dispuesta a ayudar a los demás, eres mi ejemplo y espero ser como tú.

A mi hermano Gabriel, no hay amor más incondicional, gracias por apoyarme, quererme y ser cómplice en mis ocurrencias.

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a Dios por siempre guiarme, por colocar en mi camino lo necesario para forjar en mí virtudes para alcanzar esta meta.

A nuestra casa de estudios, la Ilustre Universidad de los Andes, en especial a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Gracias por permitirme cumplir esta meta, junto a excelentes profesionales que hacen vida en la Universidad.

A mi tutor el profesor Tomás Visbal del Departamento de Ciencias de los Alimentos, mi agradecimiento por darme la oportunidad de ser su tesista, por la confianza y paciencia, con sus conocimientos, dedicación y trabajo en equipo, nos permitió el desarrollo de esta investigación.

A mis jurados las profesoras Marielba Morillo y Rosa Alba Vielma, por acompañarme, brindarme sus consejos y experiencia para realizar esta investigación.

En especial, a la profesora Marielba, siempre estuvo asesorándome en la realización de este estudio, del cual no solo pude aprender en la parte académica, sino también, a nivel del compromiso y exigencia conmigo misma.

A mi familia, por siempre estar apoyándonos unos a los otros, en especial a mis tías, Juana por recibirme todos estos años y dedicar su vida a sus sobrinos y, Esperanza por siempre apostar a mí, aconsejarme y estar para mí cuando siempre lo necesito.

A mis amigos y compañeros de la Universidad, porque desde el día uno conocí personas maravillosas, muchos no siguieron, pero los sigo recordando con cariño y los que llegamos a la meta, gracias por todos estos años, que cada uno de nosotros logremos todo lo que nos propongamos.

De mis buenos amigos, desde el primer semestre hasta ahora y hoy en día mi compañero, por permitirme descubrir alguien increíble más allá de una amistad, por apoyarme y siempre apostar a seguir y luchar por lo que queremos, gracias. LV

Y no menos importante, gracias a mí, porque me he demostrado que, con dedicación, paciencia y tiempo, he podido cumplir todo lo que me he propuesto, soy partidaria de la frase “las cosas se hacen bien o no se hacen”, siempre dando el 100% de mí. Aunque las cosas no salgan como queremos, debemos dar lo mejor de nosotros.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE TABLAS	xii
RESUMEN	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	3
Planteamiento del Problema	3
Justificación de la Investigación	5
Objetivos de la Investigación	6
Objetivo General	6
Objetivos Específicos	6
Alcances y Limitaciones de la Investigación	6
Alcances de la Investigación	6
Limitaciones de la Investigación	7
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	8
Trabajos Previos	8
Antecedentes Históricos	10
Bases Teóricas	13
Familia Fabaceae o Leguminosae	13
Características botánicas de la Familia Fabaceae	14
Distribución de la Familia Fabaceae	16
Usos de la Familia Fabaceae	16
Actividad farmacológica de la Familia Fabaceae	17
Composición química de la Familia Fabaceae	18
Género <i>Bauhinia</i>	21
Características botánicas del género <i>Bauhinia</i>	22
Distribución del género <i>Bauhinia</i>	23
Usos del Género <i>Bauhinia</i>	25

	Pág.
Actividad farmacológica del género <i>Bauhinia</i>	25
Composición química del género <i>Bauhinia</i>	26
Especie <i>Bauhinia variegata</i>	29
Características botánicas de la especie <i>Bauhinia variegata</i>	29
Distribución de la especie <i>Bauhinia variegata</i>	30
Usos de la especie <i>Bauhinia variegata</i>	31
Actividad farmacológica de la especie <i>Bauhinia variegata</i>	31
Composición química de la especie <i>Bauhinia variegata</i>	32
<i>Corteza</i>	32
<i>Raíz</i>	32
<i>Flores</i>	32
<i>Hojas</i>	33
<i>Tallos</i>	34
<i>Semillas</i>	34
Metabolitos primarios	35
Determinación de metabolitos primarios	35
<i>Análisis proximal</i>	35
Humedad	36
Cenizas	36
Contenido de grasas	37
Proteínas	38
Fibra cruda	38
Extracto no nitrogenado	39
Productos naturales	39
Metabolitos secundarios	39
<i>Alcaloides</i>	40
<i>Terpenos</i>	41
<i>Esteroles</i>	41
<i>Polifenoles</i>	42

	Pág.
<i>Taninos</i>	43
<i>Flavonoides</i>	44
<i>Saponinas</i>	44
<i>Quinonas</i>	45
<i>Cumarinas</i>	45
Extractos vegetales	46
Obtención de los extractos vegetales	47
<i>Extracción continua</i>	47
<i>Maceración o extracción en frío</i>	47
<i>Percolación</i>	48
<i>Infusión</i>	48
<i>Decocción</i>	48
<i>Digestión</i>	49
Determinación de metabolitos secundarios	49
<i>Tamizaje fitoquímico</i>	49
Ensayo de Dragendorff, Wagner y Mayer	49
Ensayo de Liebermann-Burchard	50
Ensayo de FeCl ₃	50
Ensayo de la gelatina	50
Ensayo de Shinoda	50
Ensayo de la espuma	50
Ensayo de Borntrager	51
Ensayo para cumarinas	51
Toxicidad del género <i>Bauhinia</i>	51
Toxicidad de la especie <i>Bauhinia variegata</i>	52
Determinación de la toxicidad sobre <i>Artemia salina</i>	53
<i>Artemia salina</i>	53
<i>Ensayo de letalidad en Artemia salina</i>	54

	Pág.
Toxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>B. variegata</i> frente a <i>A. salina</i>	56
Definición operacional de términos	58
Potencial	58
Taxonomía	59
Forraje	59
Etnoveterinaria	59
Metabolito	59
Extractos	60
Toxicidad	60
Letalidad	60
Mortalidad	60
Dosis Letal 50 (DL ₅₀)	60
Definición operacional de las variables	60
Sistema de Hipótesis	61
Hipótesis (HA)	61
Hipótesis nula (H ₀)	61
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	63
Tipo de Investigación	63
Diseño de Investigación	63
Población y muestra	64
Unidad de Investigación	64
Selección del tamaño de la muestra	64
Sistema de variables	64
Instrumento de recolección de datos	64
Procedimientos de la Investigación	65
Muestreo y recolección del material vegetal	65
Análisis proximal de <i>Bauhinia variegata</i>	67
<i>Determinación de Humedad</i>	67

	Pág.
<i>Determinación de Cenizas</i>	68
<i>Determinación de Proteína cruda</i>	69
<i>Determinación de Lípidos crudos</i>	71
<i>Determinación de los extractos libres de nitrógeno</i>	73
Obtención de los extractos vegetales	73
Tamizaje fitoquímico de <i>Bauhinia variegata</i>	74
Evaluación de la toxicidad frente a nauplios de <i>Artemia salina</i>	76
Diseño de análisis estadístico	80
Variabes estadísticas	80
Sistematización de los resultados	80
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	83
Resultados	83
Análisis proximal de las partes aéreas de <i>Bauhinia variegata</i>	83
Determinación del porcentaje (%) de rendimiento de los extractos de etanol, hexano y diclorometano de <i>B. variegata</i>	83
Estudio fitoquímico de los extractos de las partes aéreas de <i>B. variegata</i>	84
Evaluación de la toxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>B. variegata</i> frente a <i>A. salina</i>	86
Análisis PROBIT	86
Discusiones	88
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	91
Conclusiones	91
Recomendaciones	92
BIBLIOHEMEROGRAFÍA	93

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Características botánicas de diferentes especies fabáceas	15
Figura 2. Características morfológicas de diferentes especies del género <i>Bauhinia</i>	23
Figura 3. Flores de la especie <i>Bauhinia variegata</i> L	30
Figura 4. Hojas, frutos y corteza de <i>Bauhinia variegata</i> L	30
Figura 5. Estructura del alcaloide nicotina	41
Figura 6. Estructura molecular de los constituyentes terpenos	41
Figura 7. Formula esquelética del estigmasterol	42
Figura 8. Estructura química del compuesto catequina	43
Figura 9. Estructura química de un ejemplo de taninos condensados	43
Figura 10. Conformación estructural del compuesto flavonas	44
Figura 11. Estructura química de saponinas	45
Figura 12. Estructura química del compuesto antraquinona	45
Figura 13. Estructura química de cumarinas	46
Figura 14. Características macroscópicas del macho y hembra adultos de <i>Artemia salina</i>	54
Figura 15. Proceso de eclosión de nauplios de <i>Artemia salina</i>	55
Figura 16. Recolección y pesaje de las partes aéreas (hojas) de <i>Bauhinia variegata</i>	65
Figura 17. Váucher y certificado de determinación de la muestra en el herbario MERF	66
Figura 18. Secado, molienda y almacenamiento del material vegetal	67
Figura 19. Pesado, calentamiento y enfriamiento de las muestras para la determinación de humedad	68
Figura 20. Pesado de la muestra, calcinamiento sobre mechero y obtención de cenizas blancas	69
Figura 21. Proceso de digestión de proteínas en equipo de micro Kjeldahl	70

	Pág.
Figura 22. Dilución y destilación de las muestras para la determinación de proteínas	71
Figura 23. Titulación con ácido clorhídrico al 0,02 N	71
Figura 24. Preparación de las muestras para la determinación de grasas	72
Figura 25. Equipo de extracción semiautomático, utilización del programa n.º 1	73
Figura 26. Preparación de los diferentes extractos de las partes aéreas de <i>Bauhinia variegata</i>	74
Figura 27. Preparación del agua de mar artificial	77
Figura 28. Preparación de los quistes de <i>Artemia salina</i>	77
Figura 29. Imagen ampliada de la eclosión de los quistes a nauplios de <i>Artemia salina</i>	78
Figura 30. Preparación de las microplacas con diferentes diluciones	79
Figura 31. Contaje de nauplios muertos para determinar el porcentaje de letalidad	79
Figura 32. Resultados obtenidos de los diferentes ensayos para la identificación de metabolitos secundarios	85

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Taxonomía de la familia Fabaceae o Leguminosae	14
Tabla 2. Análisis bromatológico de leguminosas tropicales	19
Tabla 3. Taxonomía del género <i>Bauhinia</i>	21
Tabla 4. Representación de las especies del género <i>Bauhinia</i> y su distribución	24
Tabla 5. Principales compuestos aislados de especies del género <i>Bauhinia</i>	28
Tabla 6. Taxonomía de la especie <i>Bauhinia variegata</i>	29
Tabla 7. Perfil fitoquímico de la especie <i>Bauhinia variegata</i> L	34
Tabla 8. Análisis proximal de las semillas de <i>B. variegata</i>	35
Tabla 9. Concentraciones letales medias y bioactividad de los extractos de las partes aéreas de <i>B. variegata</i>	57
Tabla 10. Ensayo de toxicidad del extracto polar a diferentes concentraciones frente <i>Artemia salina</i>	58
Tabla 11. Operacionalización de las variables independientes y dependientes	62
Tabla 12. Composición química del agua de mar artificial, usada en el cultivo y eclosión de los quistes	76
Tabla 13. Clasificación de toxicidad según CYTED	80
Tabla 14. Variables estadísticas según la naturaleza, escala de medida e indicadores estadísticos	82
Tabla 15. Composición nutricional de <i>Bauhinia variegata</i> L	83
Tabla 16. Porcentaje de rendimiento de los extractos de <i>B. variegata</i>	84
Tabla 17. Análisis fitoquímico de los extractos de las hojas de <i>B. variegata</i>	84
Tabla 18. Cuantificación de la DL ₅₀ del extracto etanólico de las partes aéreas de <i>Bauhinia variegata</i> Linn y los controles sobre <i>Artemia salina</i>	86
Tabla 19. Información de convergencia	87

Tabla 20.	Estimaciones de parámetro	87
Tabla 21.	Covarianzas y correlaciones de estimaciones de parámetro	87
Tabla 22.	Prueba de chi-cuadrado	87

www.bdigital.ula.ve



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS
DE LOS ALIMENTOS
MÉRIDA-VENEZUELA



POTENCIAL NUTRICIONAL DE *Bauhinia variegata* L (FABACEAE) DE
ACUERDO A SU COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ESTUDIO DE LA
ECOTOXICIDAD SOBRE *Artemia salina*

Autora: Br. Anna Chacón

Tutor: Dr. Tomás Visbal

RESUMEN

La especie *Bauhinia variegata* Linn, originaria de la India, introducida a los trópicos de América, bien adaptada a la región sur de Brasil, pertenece a la familia Fabaceae, es un árbol mediano, de flores color lila y hojas bilobuladas, comúnmente llamada “pata de vaca” por su similitud a la pezuña del animal, conocida por sus propiedades farmacológicas y sus usos como forraje en la alimentación animal. El objetivo de esta investigación fue determinar la composición química y la ecotoxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *Bauhinia variegata* L frente *Artemia salina*. La harina de las hojas secas de *B. variegata* reveló un contenido de proteínas (23,17%), cenizas (5,29%), carbohidratos (68,8%), humedad (1,48%) y lípidos (1,27%). El tamizaje fitoquímico evidenció en el extracto etanólico la presencia de alcaloides, esteroides, polifenoles, flavonoides y cumarinas, en el extracto diclorometanoico, esteroides y polifenoles y, en el extracto hexanoico esteroides. La actividad tóxica se evaluó a través de la DL₅₀ del extracto etanólico de las partes aéreas de *Bauhinia variegata*, siendo >1500 µg/mL, clasificándose como relativamente inocuo para *Artemia salina*.

Palabras claves: *Bauhinia variegata*, potencial nutricional, fitoconstituyentes, toxicidad y *Artemia salina*.

INTRODUCCIÓN

Las plantas han estado muy vinculadas con el desarrollo de la civilización humana. Desde tiempos prehistóricos los seres humanos consumen frutos y semillas como alimento, y pronto comenzaron a cultivar y recolectar aquellas que tenían mejores cualidades (Morcillo, Cortes y García, 2013). El hombre con el tiempo empezó a darse cuenta que las plantas no solo les servían de alimento, sino que, gracias a su composición química, poseen un conjunto de nutrientes y propiedades, que les otorgan a las plantas distintas finalidades (Hidroponía, 2018).

Debido a los beneficios que le pueden atribuir estos compuestos, las plantas son útiles en industrias como la farmacéutica, alimentaria, textil, agroquímica, etc. Toda planta puede ser potencialmente nutritiva, pero esto va a depender de su composición química, que le atribuye propiedades nutricionales, bioactivas, antioxidantes o funcionales beneficiosas o tóxicas para la salud. Estos compuestos son sintetizados en el metabolismo, transformando compuestos químicos extrínsecos o intrínsecos de la planta en otros compuestos para su uso (Anaya, 2003).

Ante una importante gama de plantas con potencial nutricional, surge el interés de crear productos con beneficios específicos para la salud (Sarmiento, 2006). Entre innumerables vegetales se encuentran las plantas del género *Bauhinia*, perteneciente a la familia Fabaceae o Leguminosae. *Bauhinia variegata* L es una especie leguminosa exótica de rápido crecimiento, comúnmente conocida como pezuña de vaca, se considera una planta medicinal, una vez que muestra efectos fitoterapéuticos y contiene compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes (Da Silva, et al., 2019).

Bauhinia variegata, en general, ha demostrado en su composición nutricional, ser una buena fuente de carbohidratos siendo estos los más abundantes, seguido de las proteínas, minerales y lípidos; dentro de los azúcares se han identificado fructosa, glucosa y sacarosa y en el grupo de los ácidos grasos se encuentran los ácidos palmíticos, esteáricos y linoleicos. El género *Bauhinia* se ha caracterizado por la presencia de alcaloides, taninos, flavonoides y cumarinas (Heleno et al., 2017; Sánchez et al., 2018). Las plantas producen compuestos fundamentales para su propagación y

supervivencia, los mismos le aportan actividades biológicas a cada especie, por esta razón, es de interés e importancia conocer su composición y actividad citotóxica, ya que *B. variegata* al presentar una amplia variedad de fitoconstituyentes, puede afectar o no negativamente el consumo, la palatabilidad, digestibilidad, absorción de nutrientes y hasta la salud del animal en general (Camacho, Ramos, Ávila, Sánchez y López, 2020).

Los animales herbívoros al alimentarse, pueden digerir, absorber y utilizar los componentes químicos de las plantas, para la obtención de energía y los diferentes procesos vitales, aunque no todos los componentes son digeribles, la alimentación animal se diversifica en el consumo de especies vegetales con diferentes niveles de metabolitos secundarios, potencialmente tóxicos, de modo que les sea posible cubrir sus necesidades nutricionales sin alcanzar niveles tóxicos (Distel y Villalba, 2007; Camacho et al., 2020).

La composición química de las plantas se divide en dos grupos: metabolitos primarios y metabolitos secundarios, siendo los primeros esenciales para la planta, participando en el desarrollo y reproducción de las mismas, mientras que los metabolitos secundarios intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y el ambiente; para su determinación se utilizan diferentes tipos de análisis, entre ellos, el análisis proximal y tamizaje fitoquímico, así como métodos de extracción (Taiz y Zeiger, 2006).

Este proyecto está sistematizado bajo las normas de la Asociación Americana de Psicología (APA) y ordenado en cinco capítulos, a través, de la sistematización se podrá transmitir claramente la información necesaria para analizar los datos obtenidos en el estudio. Esta investigación es de tipo confirmatoria y en correlación a esto el objetivo es confirmar la relación entre el potencial nutricional, la composición química y la toxicidad de las partes aéreas de *Bauhinia variegata* L.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

El manejo de animales en la producción agrícola ha tendido a incrementarse en los últimos años en las zonas rurales, ya que sirve para el consumo familiar y generar ingresos económicos. Recientemente se ha venido presentando un deterioro en los rendimientos de producción de los pequeños agricultores, viéndose afectado por diversos factores como el transporte, por el mal estado de las vías y la inadecuada tecnología local de producción, disminuyendo la rentabilidad de sus productos agrícolas tradicionales (Ortiz, 2003).

La gran biodiversidad florística subregional ofrece una gran variedad de especies cuyos frutos, tubérculos o forrajes podrían ser materias primas para la elaboración de alimentos concentrados balanceados para el consumo animal. En Venezuela, existen una amplia gama de alternativas de pastos y forrajes que son la principal fuente de alimentos para rumiantes, especialmente en los sistemas extensivos, donde existe la tendencia de un incremento en el uso de los forrajes, como el pasto picado o el heno en época de sequía. Los diferentes municipios del país se encuentran cubiertos por bosques bajos (arbustos); pastos, rastrojos y cultivos que ocupan un segmento importante en el paisaje, representando un 20% los pastos en pradera limpia y un 10% por pastos combinados con rastrojos bajos (Ortiz, 2003; Urbano, Dávila y Castro, 2008).

Una alternativa importante está constituida por las plantas de la familia Fabaceae, adaptadas a cada región, aparte de sus usos terapéuticos, proveen forraje de buena calidad para el sustento animal, originando beneficios productivos ecológicos y

económicos. El forraje en cantidades moderadas en las raciones, ayuda a la homogeneización de partículas del alimento, promueve el consumo de materia seca y puede aumentar la ganancia de peso del animal, por lo que es importante mantener el nivel adecuado de fibra en una dieta, siendo este un factor importante para preservar la salud animal y el costo de producción, mejorando el rendimiento (Ortiz, 2003; INTAGRI, 2019).

Se entiende por alimentación animal al proceso mediante el cual se incorporan nutrientes al organismo, de tal forma que se adquiera la energía esencial para cumplir las funciones elementales. Estos alimentos deben buscar los mejores rendimientos económicos y biológicos, teniendo en cuenta los factores específicos de cada especie como la raza, su ciclo evolutivo, el mantenimiento y producción (Ortiz, 2003). El conjunto de nutrientes y propiedades que posee una planta con beneficios en la nutrición de un organismo, asegurando el crecimiento y la conservación del mismo, se conoce como potencial nutricional. Según las Directrices del Codex (1997), una propiedad nutricional es cualquier representación que afirme o sugiera que una materia prima posee cualidades nutritivas, relacionadas con su valor energético. Dentro de los nutrientes indispensables se encuentran las proteínas, los carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales; siendo las fuentes más ricas en energía las grasas y los aceites (Ortiz, 2003).

Las plantas elaboran dos tipos de compuestos químicos: los compuestos nutricionales y los principios activos. Los primeros son sustancias que no tienen actividad farmacológica y son fundamentales en la nutrición, siendo estos mencionados en el párrafo anterior. Los activos, le dan características especiales a cada especie, pueden tener actividad benéfica o perjudicial sobre el organismo; estos compuestos son producto de los procesos metabólicos, sintetizados principalmente en las hojas de las plantas. Por esta razón, es importante conservar un cultivo natural y libre de contaminantes, ya que esto puede provocar alteraciones desvirtuando y cambiando la esencia útil de los metabolitos y derivados, asimismo, tomar en cuenta factores como el agua, el suelo, la clase de nutrientes, etc., que puedan ser procesados por la planta y, por lo tanto, consumidos por el animal o el hombre (Olaya y Méndez, 2003).

Lo anteriormente planteado expresa la necesidad del desarrollo de suplementos alimenticios para el consumo animal, utilizando recursos naturales que se encuentran en el país, para proporcionar nuevas opciones de una forma rápida y económica. En consecuencia, se formula la siguiente interrogante:

¿Cuál será la relación entre el potencial nutricional de las partes aéreas de *Bauhinia variegata* L, su composición química y la ecotoxicidad del extracto etanólico sobre nauplios de *Artemia salina*?

Justificación de la Investigación

Las plantas son la base de las cadenas alimentarias, aunque los seres humanos no consumen plantas directamente, se alimentan de otros seres vivos que sí lo hacen, por esto es primordial buscar opciones de materias primas no convencionales con cualidades nutritivas y sin efectos adversos, para asegurar la conservación y crecimiento de los seres vivos (Morcillo et al., 2013). En las zonas tropicales existe una amplia variedad de recursos que son factibles para ser utilizados en la alimentación animal (Savón, 2002). Dentro de esa variedad encontramos la especie *Bauhinia variegata*; siendo en los últimos años, objeto de estudio por sus propiedades bioactivas y nutricionales, en virtud de esto, en esta investigación es de gran relevancia ampliar los estudios sobre su composición química.

Bauhinia variegata, se ha estudiado en conjunto con otras plantas forrajeras, brindando una nutrición evidenciada en el mejoramiento de los coeficientes de digestibilidad en rumiantes, siendo una opción para suplir deficiencia de proteínas (Celeita y Peralta, 2015). Posee alto valor energético y niveles de minerales dentro de los estándares de otras leguminosas que se utilizan en la alimentación humana y animal, sin embargo, autores destacan la baja cantidad de aminoácidos azufrados pudiendo reducir su valor nutricional (Nogueira y Sabino, 2012). En correlación a esto, para que una planta se considere potencialmente nutritiva, además de contener una composición nutricional óptima, es importante tomar en cuenta el impacto de sus fitoconstituyentes en los organismos vivos. Pimentel, Gómez y Castillo (2014), en ensayos de letalidad reportan ausencia de toxicidad frente *Artemia salina*, lo cual permite continuar los

estudios enfocados a la evaluación de los efectos farmacológicos del extracto vegetal de la especie.

Es de interés que en nuestro país se inicien líneas de investigación sobre introducción de especies forrajeras, su mejoramiento genético y al mismo tiempo desarrollar la producción de semillas de pastos, adaptadas a las diferentes condiciones agroecológicas, igualmente, buscar e implementar nuevas alternativas alimenticias que puedan combinar dos o más sistemas de forrajes en rumiantes o animales monogástricos (Dysli, 1974; Urbano et al., 2008).

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la relación entre el potencial nutricional, la composición química del extracto etanólico, diclorometanoico y hexanoico de las partes aéreas de *Bauhinia variegata* Linn y la toxicidad del extracto etanólico sobre *Artemia salina*.

Objetivos Específicos

- Determinar la composición nutricional de *Bauhinia variegata* L, a través del análisis proximal.
- Identificar la presencia de metabolitos secundarios de los extractos etanólico, diclorometanoico y hexanoico de las partes aéreas de *Bauhinia variegata*, a través del tamizaje fitoquímico.
- Evaluar la toxicidad del extracto etanólico de *Bauhinia variegata* sobre nauplios de *Artemia salina*.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

Se refieren al rango de aplicabilidad de la investigación, dónde llega el estudio en cuanto a su capacidad y confiabilidad, en pro de futuras posibilidades (Hurtado, 2000). Los alcances de esta investigación se relacionan en conocer la composición

nutricional de la planta *Bauhinia variegata*, así como, sus fitoconstituyentes y el grado de toxicidad de la misma, para poner al descubierto el potencial nutricional de una materia prima de origen vegetal que en un futuro pueda ser utilizada en la alimentación animal.

Limitaciones de la Investigación

Una vez justificada la investigación, es necesario plantear las limitaciones dentro de las cuales se realizará, abordan circunstancias de índole práctico o situacional que impide o afecta el cumplimiento del estudio (Hurtado, 2000; Bernal, 2006). El presente trabajo presentó limitaciones de recursos financieros en cuanto al alto costo de los reactivos y material para elaborar la parte experimental, fallas de servicios públicos (agua y electricidad), sin embargo, esto no fue impedimento para realizar dicha investigación.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Suksathan, Rachkeeree, Puangpradab, Kantadoung y Sommano (2021), realizaron un trabajo intitulado: Composición fitoquímica, nutricional y propiedades antioxidantes de flores silvestres comestibles como fuentes de nuevas formulaciones de té. El objetivo de esta investigación fue analizar 4 flores silvestres de Tailandia en busca de fitoquímicos, composiciones nutricionales, así como sus propiedades antioxidantes. *Bauhinia variegata* L (BV), *Gmelina arborea* Roxb, *Shorea roxburghii* G. Don y *Viburnum inopinatum* Craib, se recolectaron flores de las diferentes especies, se secaron en horno a 45 ° C hasta peso constante. BV presentó: contenido de humedad $2,10 \pm 0,16$ g/100g, ceniza $5,97 \pm 0,17$ g/100g, fibra dietética $12,97 \pm 0,67$ g/100g, carbohidratos $58,12 \pm 0,23$ g/100g, proteínas $10,26 \pm 0,01$ g/100g, contenido de grasas $10,58 \pm 0,16$ g/100g, vitamina C $1,57 \pm 0,10$ mg/100g, hierro $5,20 \pm 0,47$ mg/100g, calcio $130 \pm 0,19$ mg/100g, sodio $3,34 \pm 0,07$ mg/100g y potasio $2120 \pm 2,01$ mg/100g. Se obtuvieron los extractos con agua y etanol al 95%, presentando un rendimiento del 29.90 y 11.71%, respectivamente, ambos siendo positivos para el flavonoide flavona y negativo para antocianina, el extracto acuoso evidenció la presencia de taninos en una solución de gelatina al 1% y ambos extractos fueron negativos para polifenoles mediante acido férrico al 1%. Los resultados de este estudio han ampliado el potencial sobre las flores silvestres comestibles como fuente de nutrientes esenciales, se encontró en ámbito de interés la especie *Bauhinia variegata* en conjunto con *Viburnum inopinatum* y *Shorea roxburghii*, con una cantidad sustancial de fibra dietética, carbohidratos, calcio, hierro y niveles altos de potasio, agregándole valores a estas

especies y proporcionar la forma sostenible de plantar, los productos de infusión de té de flores y hierbas muestran potencial como alimentos funcionales que pueden ayudar en la prevención de problemas para la salud, sin embargo, es importante la determinación cuantitativa de compuestos bioactivos y pruebas de toxicidad de las flores comestibles deben observarse para futuros estudios.

Pereira da Silva et al. (2021), realizaron un trabajo de investigación llamado: Análisis microbiológico y toxicológico de los extractos crudos secos de *Bauhinia variegata* L (pata de vaca). El objetivo fue llevar a cabo un estudio de investigación microbiológico y toxicológico de los extractos secos crudos de las partes aéreas de *B. variegata* para una base de datos. El extracto utilizado se realizó a partir de los frutos, lavados con agua corriente, las hojas se colocaron al horno a 40 ° C, el material seco se colocó en proceso de maceración con una solución hidroalcohólica al 95% v/v durante 7 días, después se filtró para obtener los extractos crudos fluidos y finalmente, se sometió al evaporador rotativo a la temperatura de 60°C para obtener el extracto crudo seco. El análisis toxicológico se realizó frente *Artemia salina*, para la determinación de la concentración letal 50 (CL₅₀) siguiendo la metodología por Meyer et al., (1982). Los resultados indicaron un bajo número de muertes en las diferentes concentraciones del extracto, obteniendo una CL₅₀ de 2182,76 µg/mL demostrando ser prácticamente no tóxico, indicando que mientras más lejos del cero está la CL₅₀ menos tóxica es la planta. La prueba microbiológica mostró inhibición a concentraciones de 100% y 50% frente a *Staphylococcus aureus*, los investigadores recomiendan en considerar que a pesar de los prometedores resultados contra la salmuera y la bacteria *S. aureus*, hay una necesidad de llevar a cabo otras pruebas toxicológicas preclínicas y microbiológicas para garantizar el uso seguro de la planta.

Finalmente, Finêncio y Mininel (2019), realizaron un trabajo sobre el Enfoque fitoquímico y análisis cromatográfico de las hojas de *Bauhinia variegata* L con el objetivo de confirmar la presencia de sustancias beneficiosas para la salud humana, para la realización de los ensayos fitoquímicos se recolectaron hojas de la planta y se secaron en un invernadero con circulación de aire y control de temperatura, se prepararon extractos hidroalcohólicos a 20% p/v, mediante maceración a temperatura

ambiente, primero se utilizó alcohol etílico a 70% como líquido extractor, hasta la inmersión completa del material durante 7 días, posteriormente, para obtener el extracto acuoso al 20% se maceró el material vegetal con agua desionizada en un baño de maría a 60 ° C, los extractos se filtraron a través de papel de filtro y se ensayaron para la investigación de metabolitos secundarios mediante pruebas analíticas cualitativas, como flavonoides, esteroides y triterpenoides, alcaloides, saponinas, taninos, antraquinonas y glucósidos cardioactivos, también, se analizaron mediante cromatografía en columna líquida para la determinación del contenido (%) de fenoles totales en espectrofotómetro UV-vis. Los resultados indicaron la presencia de proteínas y aminoácidos, taninos, flavonoides, saponina, esteroides y triterpenos, depsidos y depsidonas, antraquinonas, alcaloides y glucósidos cardíacos, así como la ausencia de catequinas y purinas. El análisis del cromatograma por HPLC-PDA de las fracciones aisladas, mostró espectro de absorción UV a longitudes de onda 250, 306 y 368 nm, lo que sugiere que esta sustancia es un derivado de ácido elágico (tanino hidrolizable polifenólico). Concluyendo en la presencia de antioxidantes que ayudan a combatir los radicales libres y el posible efecto beneficioso, sin embargo, esto no significa que el té de las hojas de la planta en cuestión deba usarse como medicamento para el tratamiento enfermedades.

Antecedentes Históricos

Probablemente en el mundo no existían más de 5 millones de seres humanos y gradualmente empezaron a utilizar nuevas fuentes de alimento, algunos vivían en la costa, donde los animales que podían ser utilizados como alimento eran localmente abundantes, sin embargo, otros empezaron a cultivar plantas, consiguiendo así una nueva forma relativamente segura de nutrición. En lugares donde los granos silvestres y legumbres eran abundantes y recogidos con facilidad, los hombres podían permanecer largos periodos de tiempo, eventualmente aprendieron a aumentar las cosechas almacenando y sembrando las semillas. Por ello, desde tiempos remotos para los seres vivos las plantas son indispensables, ya que es la base de la alimentación (Raven, Evert y Eichhorn, 1992; Morcillo et al., 2013).

En el reino vegetal existen otros vegetales que muchas veces consideramos como malezas o dañinos, pero muchas de esas plantas tienen un potencial nutricional amplio que no se explora, son conocidas como plantas alimenticias no convencionales o PANCs, el término se refiere a un grupo de plantas poco presentes en el día a día, no se producen ni comercializan a gran escala, pero que pueden ser utilizadas como alimento o complemento de preparaciones culinarias, crecen espontáneamente en plazas, patios traseros o baldíos. Pueden ser una posible salida futura al problema ambiental para el uso racional de la comida y así apoyar la agricultura ecológica familiar (Reis, Borges y Rodrigues, 2017).

Durante miles de años, las legumbres han sido utilizadas como alimento por los seres humanos, asimismo, en la alimentación animal las leguminosas por sí solas o en asociación con las gramíneas forrajeras (pasto), presentan una serie de bondades que constituyen una fuente importante de proteínas de buena calidad (Rodríguez y Simón, 2008). La familia Fabaceae o Leguminosae se caracteriza por su riqueza en carbohidratos, proteínas y bajo contenido de grasa, salvo en algunos casos. Son una buena fuente de proteínas, sobre todo en países que no tienen fácil acceso a los alimentos de origen animal, por otro parte, se ha reportado la presencia de numerosas sustancias bioactivas de diversa naturaleza química, como alcaloides, flavonoides y polifenoles, la bioactividad de este tipo de metabolitos está asociada a su efecto antidiabético, antiinflamatorio y antimicrobiano (Martínez, Ocampo, Galvis y Valencia, 2011).

Desde hace años la principal fuente de forraje para el ganado en la India son los residuos de cultivos agrícolas, forrajes cultivados y malezas. El rendimiento total de forraje de los árboles, arbustos, hierbas y trepadoras de los bosques es de gran importancia, especialmente durante los períodos de escasez y hambruna. El árbol que se puede cultivar en combinación con cultivos agrícolas o en terrenos baldíos marginales ofrece la oportunidad de producir forraje verde y nutritivo para el ganado (Anand y Kumar, 2013).

La familia Fabaceae comprende el género *Bauhinia* con más de 200 especies, es una planta conocida por diferentes nombres en varias partes del mundo, ejemplo

Kachnar en la India, los ingleses la nombraron árbol de orquídeas o ébano de montaña, Sudamérica casco o pata de vaca. Es un género pantropical, originaria de Asia, en los países nativos las flores, capullos, vainas y semillas se cocinan y se utilizan para hacer encurtidos, igualmente, con fines medicinales se utilizan diferentes partes de la planta en el sur de Asia, así como son de importancia ornamental (Abbasi, Sabiq, Rehman y Rahman, 2021). Se ha reportado que sus vainas son ricas en proteínas, aportándole gran valor forrajero a la especie, utilizándose en Sudamérica habitualmente en la alimentación animal (Díaz, Portas y Gianfrancisco, 2014).

Las propiedades beneficiosas de las plantas, se deben a la aparición de metabolitos secundarios, por lo tanto, la evidencia obtenida a través de pruebas químicas específicas como el análisis fitoquímico, permite detectar en cada uno de los vegetales los grupos de metabolitos secundarios de mayor importancia; en conjunto estas pruebas dejan ver numerosos compuestos fenólicos, como taninos, flavonoides, fenilpropanoides, quinonas en varias especies, así como terpenoides, esteroides y saponinas, no se ha reportado con frecuencia de este género, la presencia de alcaloides, cardiotónicos y cumarinas. En los tallos se ha evidenciado en mayor abundancia moléculas de almidón, siendo así, el órgano utilizado por éstas como reservorio de energía durante períodos de dormancia, estrés o reinicio del crecimiento (Barragán, Murillo y Méndez, 2010).

El análisis estadístico deja ver a *Bauhinia variegata* como una especie que muestra mayores diferencias significativas en cuanto al contenido de constituyentes químicos, comparado con otras especies de *Bauhinia* estudiadas, es posible que los extractos en particular los acuosos provenientes de la corteza, puedan contribuir a mejorar la calidad de vida de los pacientes con diabetes (Barragán et al., 2010). Por otra parte, las hojas de muchas especies de *Bauhinia* se usan en tratamientos antidiabéticos, la presencia de moléculas similares a la insulina se demostró en las hojas de *Bauhinia variegata*, donde se halló una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos parcialmente idéntica a la de la insulina bovina (Azevedo et al., 2006).

Constituyentes fitoquímicos como flavonoides, glucósidos, triterpenos, sitosterol, ácidos grasos, saponinas, taninos, han sido publicados en la especie *Bauhinia*

variegata (Deep, Mishra y Verma, 2020). Previamente se había mencionado que el género *Bauhinia* no deja ver la presencia de alcaloides y otros compuestos, pero Martínez et al. (2011), evidenciaron en las hojas un potencial farmacológico de tipo citotóxico de los alcaloides aislados, por lo que se hace necesario continuar estudiando estos principios activos.

Es de relevancia conocer la composición química de una especie vegetal, ya que hay compuestos fitoquímicos que pueden ser antinutricionales y/o tóxicos para el animal y, así verse afectado el potencial nutricional, ya que en la alimentación animal el tipo de plantas que se cultivan depende de la especie animal y de cada país; a menudo se cultivan de forma conjunta gramíneas y leguminosas para obtener un forraje equilibrado (Puigdomènech, 2009).

Bases Teóricas

Familia Fabaceae o Leguminosae

Pertencen al orden Fabales, el cual es el orden de plantas de distribución mundial con mayor frecuencia en las zonas tropicales, con 730 géneros y aproximadamente 19.400 especies, es la tercera mayor familia de plantas angiospermas, después de Orchidaceae y Asteraceae. Al ser una familia muy diversa y de distribución cosmopolita, posee mucha variabilidad, la cual se ha tenido en cuenta para la escisión de la familia en tres grupos morfológicos que corresponden a las tres subfamilias reconocidas (Llamas y Acevedo, 2016). En análisis tanto moleculares como morfológicos es considerada monofilética, en las actuales reconstrucciones de la filogenia, la subfamilia Caesalpinioideae es considerada parafilética, mientras que las subfamilias Mimosoideae y Faboideae o Papilionoideae son consideradas monofiléticas (Cabral y Casco, 2010).

En la Tabla 1, podemos observar la clasificación de la familia Fabaceae.

Tabla 1

Taxonomía de la familia Fabaceae o Leguminosae

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae o Leguminosae
Subfamilia	Mimosoidae, Caesalpinioideae, Papilionoideae

Características botánicas de la Familia Fabaceae

La flor es hermafrodita y pentámera, con las piezas de cada vertilicio alternado radialmente, se pueden encontrar solitarias o en racimos, el cáliz es el órgano protector de la flor, con sépalos unidos entre sí (gamosépalo), la corola está formada por cinco pétalos, un pétalo de mayor tamaño que los demás con simetría irregular, forma el estandarte, dos pétalos laterales, constituyen las alas y la quilla representada por dos pétalos unidos situada entre las dos alas. Existen innumerables variaciones en características como en tamaño y coloración, grado de unión, elongación, proyecciones, etc. La escultura es el desarrollo de aurículas, apéndices y pliegues internervales, las alas son los pétalos que muestran mayor variación y tienen funciones de atracción y aterrizaje para los insectos (Rodríguez, Ortega y Devesa, 1999).

El androceo es el conjunto de estambres u órganos reproductivos masculinos de la flor; un estambre está formado por una estructura llamada filamento la cual es alargada y en su extremo por una estructura ensanchada llamada antera que es la parte terminal del estambre, constituido por 10 estambres que pueden estar libres o unidos. El gineceo conocido también como pistilo, es el órgano reproductor femenino, conformado por unas estructuras llamadas carpelos que son hojas modificadas y conforman las paredes de los ovarios en la flor, este posee una parte receptiva que capta el polen durante la polinización llamada estigma, con una superficie fina y cubierta de papilas (cada papila es una célula), por su estructura se distingue en dos tipos: estigma húmedo y estigma seco, el primero presenta papilas que producen un exudado lo cual

favorece la adherencia del polen, mientras que el seco posee células receptoras dispersas sobre pelos pluricelulares (Rodríguez et al., 1999).

Sus hojas son alternas y con estípulas a veces modificadas, pueden estar ausentes, persistentes o caedizas, generalmente compuestas, palmadas, pinnadas y trifoliadas (Figura 1), a veces los tallos se hallan transformados en filodios; el pecíolo muchas veces tiene la base engrosada, esto les otorga movimiento a las hojas. El fruto es una legumbre comúnmente seca a veces dehiscente o indehiscente, es decir, que se abre espontáneamente o no para dispersar su contenido, algunas veces alados, así se les llaman a los frutos que desarrollan proyecciones membranosas, mayormente en forma de alas; son de forma y tamaño variable (Medina, 1997).

En la Figura 1, se muestra el contraste de las características botánicas de diferentes especies de las subfamilias de la familia Fabaceae.

Figura 1

Características botánicas de diferentes especies fabáceas



A) *Prosopis pallida* y B) *Calliandra calothyrsus*, subfamilia Mimosoidae; C) *Bauhinia purpurea* y D) *Chamaecrista nictitans*, subfamilia Caesalpinioideae; E) *Erythrina variegata* y F) *Clitoria ternatea*, subfamilia Papilionoideae o Faboideae. Tomado de Carr, 2006.

Distribución de la Familia Fabaceae

Se encuentra en su mayoría en los bosques tropicales lluviosos y en los bosques secos del neotrópico como Sudamérica y zonas de África (Rodríguez et al., 1999). La familia está bien representada en las regiones templadas y tropicales del mundo, son particularmente diversas, sin embargo, en bosques tropicales con un aspecto estacionalmente seco y matorrales templados adaptados a climas xéricos. La predilección de las leguminosas por los hábitats semiáridos a áridos está relacionada con un metabolismo que demanda nitrógeno, que se cree que es una adaptación a hábitats climáticamente variables o impredecibles en los que se pueden desarrollar de manera favorable y beneficiosa, por lo tanto, están notablemente ausentes o escasamente representadas en los hábitats templados mésicos, incluidas muchas regiones árticas de gran altura y bosques templados fríos (Mckey, 1994, como se citó en Wojciechowski, Lavin y Sanderson, 2004).

Usos de la Familia Fabaceae

Las leguminosas o Fabáceas son plantas ampliamente reconocidas por su importancia económica y cultural vinculada a la seguridad alimentaria, provisión de servicios y fuentes nutraceuticas (Castañeda, Gutiérrez, Carrillo y Sotelo, 2017). Son bien conocidas por su importancia en la agricultura los cultivos de leguminosas como la soja [*Glycine max* (L.) Merr.], frijoles (*Phaseolus* L. spp. y *Vicia faba* L.), maní (*Arachis hypogaea* L.), lentejas (*Lens culinaris*) y cultivo forrajero como la alfalfa (*Medicago sativa* L.), entre otros (Cardoso, Pennington, Queiroz, Boatwright, Van Wyk, Wojciechowski y Lavin, 2013). Ocupan el segundo lugar después de las gramíneas con variedades hortícolas, producción de aceites, fibras, combustible y productos químicos (Rundel, 1989, como se citó en Wojciechowski, Lavin y Sanderson, 2004). También se encuentra la producción de madera de frondosas, proveen conservación de cultivos, recuperación de tierras y además son empleadas como plantas medicinales (Sprent y Parsons, 2000).

El esencial aporte de las leguminosas como forraje, ya sea en cultivos puros o en asociación con gramíneas es su potencial para fijar nitrógeno atmosférico gracias a

la relación simbiótica rizobios-leguminosas actuando como fertilizantes que se utilizan ampliamente para corregir la deficiencia de nitrógeno y elevar el rendimiento del cultivo (Sierra, 2005). En el aspecto nutricional las leguminosas tropicales poseen un contenido de proteína y minerales más alto que las gramíneas, en conjunto con pasto generalmente incrementan el consumo del contenido de proteína y la digestibilidad del forraje, el descenso del valor nutritivo con la edad es bajo de tal manera que las pasturas con un alto contenido de leguminosas tienden a mantener la calidad y producción animal (Pérez, 1980).

Actividad farmacológica de la Familia Fabaceae

En la historia tradicionalmente estas plantas proporcionan una terapéutica segura y eficaz para el tratamiento de varias enfermedades (Ahmar, Anwar y Hira, 2016). La ONU designó el 2016 como el “Año Internacional de las Legumbres” porque estas contribuyen a la seguridad alimentaria en los países en desarrollo, tienen un gran valor nutricional y con su ingesta se previenen enfermedades crónicas, fomentan la agricultura sostenible y contribuyen a la mitigación del cambio climático (Badillo, 2016).

Validar una planta medicinal de uso tradicional o popular, consiste en comprobar los beneficios de su uso, es decir, garantizar su eficacia y baja toxicidad (Ortiz, 1999). Dentro de la actividad farmacológica o también llamada actividad biológica se encuentran los efectos benéficos o adversos de una sustancia. La familia Fabaceae se caracteriza por tener diferentes usos medicinales con especies vinculadas al tratamiento de dolencias y diversas patologías sensibles al hombre, así como los síndromes; de uso etnoveterinario, las cuales son especies empleadas como medicinales para los animales, incluyéndose las plantas abortivas y especies consideradas venenosas para el hombre y/o animales de manera accidental o intencional, abarcando especies destinadas como herbicidas e insecticidas (Castañeda et al., 2017).

Ahmar, Anwar y Hira (2016), realizaron una revisión sobre la importancia medicinal de la familia Fabaceae mediante el estudio de 25 plantas diferentes pertenecientes a distintas especies, dentro del género *Acacia* su corteza se utiliza con

fines medicinales antiinflamatorios, actividad hepatoprotectora, antipirética, hipoglucemiante y antihipertensivas, en este mismo género otras especies en sus hojas y encías se incluyen actividades analgésicas, hemaglutinantes, antibacterianas e insecticidas. *Cicer arietinum* conocido popularmente como garbanzo, sus semillas poseen actividad antioxidante y depuradora de radicales libres, usada contra enfermedades cardiovasculares, diabetes y algunos tipos de cáncer, dentro del género *Caesalpinia* con fines terapéuticos se utilizan las hojas, corteza, flores, capullos y vainas envolviendo actividades antiinflamatorias, antiulcerosas, antineoplásico, antirreumáticas y citotóxicas. *Pisum sativum* (guisante) sus hojas han reportado propiedades antipalúdicas e inmunomoduladoras.

En la utilización de fabáceas como alimentos para animales Castañeda y cols. (2017), reportaron 9 especies empleadas como forraje para alimentos de conejos, cobayas, ganado ovino, caprino y bovino y una especie usada como planta melífera distinguida entre apicultores. Con fines etnoveterinarios, podemos encontrar especies del género *Lupinus* utilizadas para tratar golpes y parásitos como *Fasciola hepática* y especies del género *Senna* para el tratamiento contra piojos.

Composición química de la Familia Fabaceae

Como se ha mencionado anteriormente, las fabáceas poseen un contenido de proteína y minerales relevante para la alimentación humana y animal, así como metabolitos que integran principios activos a los cuales se les atribuyen aplicaciones farmacéuticas (Hernández-Alvarado et al., 2018). De esta forma, como tienen valor nutricional también poseen compuestos que les otorgan efectos adversos por eso es necesario conocer las particularidades esenciales de su composición fitoquímica y su repercusión en la aceptabilidad para poder establecer las principales ventajas y limitaciones en su uso (García y Medina, 2006).

García, Medina, Moratinos, Cova, Torres, Santos y Perdomo (2009), determinaron la composición química, los niveles de metabolitos secundarios y la digestibilidad de la materia seca y proteína bruta de forrajes leguminosos de los géneros *Pithecellobium*, *Gliricidia*, *Leucaena*, *Samanea*, *Acacia*, *Bauhinia*, *Cassia* y

Pentaclethra, las cuales exhibieron una concentración promedio de proteína bruta de 25,43%, cenizas 6,31% y fibra de detergente neutro 40,43%, digestibilidad de las fracciones nutritivas de la materia seca y de la proteína bruta con pepsina y pancreatina, 58,11 y 72,51% respectivamente, presentan fracciones polifenólicas, actividad inhibitoria de tripsina y taninos que precipitan proteínas afectando la digestibilidad de las fracciones nutritivas. No obstante, la presencia de algunos metabolitos secundarios potencialmente tóxicos para el aparato digestivo no da por sentado que la materia orgánica no sea comestible.

Tabla 2

Análisis bromatológico de leguminosas tropicales

Especie	Determinación (%)						
	MS	PC	FDN	FDA	CHS	P	C
<i>Albizia caribaea</i>	52,72	17,70	45,12	27,65	9,76	0,24	8,92
<i>Albizia lebbek</i>	50,82	19,16	42,22	24,93	13,34	0,18	6,86
<i>Cassia fistuca</i>	44,12	16,47	40,48	24,10	14,25	0,19	8,29
<i>Cassia grandis</i>	52,64	15,67	42,83	22,23	14,29	0,25	7,98
<i>Pithecellobium dulce</i>	45,65	19,38	43,35	22,71	16,27	0,47	6,46
<i>Pithecellobium saman</i>	47,73	18,48	39,47	26,45	15,53	0,60	5,65
<i>Gliricidia sepium</i>	39,58	20,01	43,48	20,12	16,72	0,24	9,80
<i>Leucaena macrophylla</i>	42,13	20,58	44,13	21,16	11,79	0,15	6,22
<i>Lysiloma latisiliquum</i>	49,06	17,87	48,78	32,18	16,89	0,20	4,48
<i>Enterolobium contortisilicum</i>	50,13	20,20	49,88	33,11	26,00	0,16	4,82

Fuente: García y Medina, 2006.

El análisis bromatológico de algunos géneros como *Albizia*, *Lysiloma*, *Enterolobium* y ya antes mencionados los géneros *Cassia*, *Pithecellobium*, *Gliricidia* y *Leucaena*, se observaron diferencias significativas en todos los indicadores evaluados, materia seca (MS), proteína cruda (PC), fibra de detergente neutro (FDN), fibra de detergente ácido (FDA), carbohidratos solubles (CHS), fosforo (P) y cenizas (C) (García y Medina, 2006). En la Tabla 2, podemos observar los indicadores evaluados en la composición bromatológica del follaje de varias leguminosas.

Los resultados en la determinación de los compuestos secundarios de las especies *Cassia grandis* y *Lysiloma latisiliquum*, mostraron niveles sobresalientes de polifenoles y taninos totales, *Albizia caribaea* y *Pithecellobium saman*, cantidades considerables de saponinas y *Albizia lebbbeck* niveles significativos de alcaloides. Especies con mayores concentraciones de compuestos polifenólicos y saponinas pueden influir en el valor nutritivo y la aceptabilidad realizada por los ovinos (García y Medina, 2006).

Oliva, Rojas, Morales, Oliva y Oliva (2015), reportaron el rendimiento y valor nutritivo del género *Trifolium* en conjunto con otras especies forrajeras, *Trifolium dubium* generó mayores valores de proteína 23,29% frente *Trifolium repens* 19,90%, se reportó en promedio un porcentaje de fibra cruda del 13,74% y materia seca 15,5%, con una digestibilidad de 76,28 y 91,80% respectivamente.

A grosso modo, podemos decir, que la cantidad de proteínas de las leguminosas varían mucho según la especie, pero incluso las de menor contenido son significativas. El contenido de proteína bruta fluctúa entre un 20 y un 35%, aunque hay variedades que pueden presentar una cantidad superior, sin embargo, su valor nutricional es bajo ya que carecen de aminoácidos azufrados como la metionina y cisteína, su estructura y la presencia de inhibidores de las proteasas dificultan la acción de las enzimas digestivas; todos estos factores influyen en la digestibilidad de las proteínas siendo inferiores a las proteínas de origen animal. Dentro de los hidratos de carbono, las leguminosas tienen un alto contenido en fibra dietética con valores del 10 al 20% y poseen carbohidratos de digestión lenta. Presentan un elevado contenido de calcio, hierro y fósforo, pero la existencia del ácido fítico da lugar a la formación de complejos insolubles interfiriendo en la absorción y biodisponibilidad (Ros y Periago, 2010).

Comprenden una gran variedad de compuestos fenólicos y una alta proporción de taninos condensados, por una parte, se consideran un factor anti nutricional, a causa de la capacidad de formar complejos con proteínas y elementos minerales, impidiendo su absorción y utilización digestiva, si bien, actualmente forman parte de los componentes bioactivos de los alimentos por su actividad antioxidante. Los efectos

beneficiosos que desarrollan las isoflavonas hacen que hoy en día esté recomendado su consumo a partir de la dieta o mediante preparados nutracéuticos (Ros y Periago, 2010).

Género *Bauhinia*

Género dedicado a los hermanos suizos Johann y Caspar Bauhin, consta de aproximadamente 300 especies, que se conocen comúnmente como “pata de vaca” o “pezuña de vaca”, por la forma de sus hojas (Da Silva y Cechinel, 2002). Sus especies se reconocen con facilidad de las de otros géneros de la subfamilia Caesalpinioideae (Tabla 3) por lo característico de sus hojas, es un género pantropical representante de la tribu Cercideae, al igual que otros miembros de esta tribu, las especies de *Bauhinia* tienen un importante potencial ornamental por lo atractivo de sus flores y también se les atribuyen propiedades medicinales, alimenticias y maderables (Torres, 1999).

Tabla 3

Taxonomía del género Bauhinia

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae o Leguminosae
Subfamilia	Caesalpinioideae
Género	Bauhinia
Tribu	Cercideae
Subtribu	Bauhiniinae

Características botánicas del género *Bauhinia*

Barragán et al. (2010), describieron las especies de *Bauhinia* encontradas en el área de interés como:

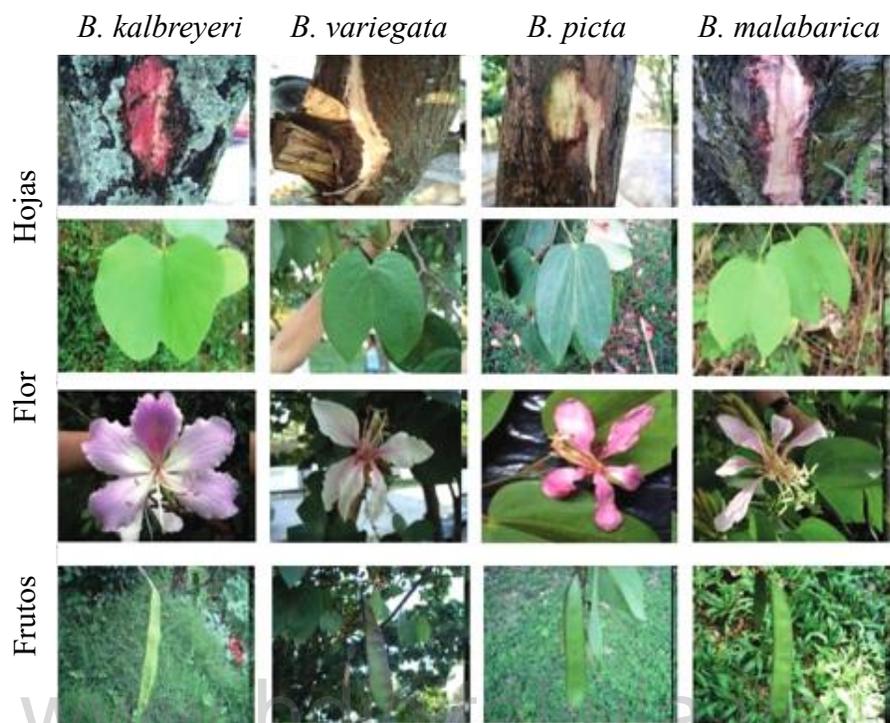
Árboles aproximadamente de 20 metros o arbustos de 3 a 7 metros, en general, el ancho del tallo varía entre 58 y 162 cm, la base es redonda y de forma cilíndrica, la corteza muerta vista en forma longitudinal es fisurada y presenta estriás transversales, el exudado es rojo intenso, poco pegajoso y de olor agradable, las ramas son medianas, largas, flexibles, en disposición alterna y arqueadas. El follaje es denso o escaso, de distintos colores de acuerdo a la especie, las hojas se distribuyen en posición alterna, bilobuladas, folíolo en diferentes dimensiones, la base de la hoja puede ser acorazonada, el ápice es obtuso o redondeado, microapical de 2 a 3 mm situado entre los dos folíolos, tiene un raquis acanalado y el pecíolo es de forma irregular.

Las estípulas fueron vistas en forma libre, de diferente morfología, la inflorescencia en general está constituida por un par de flores germinadas, denominadas “racimo terminal”, en general las flores muestran una inflorescencia de 5 pétalos, 2 a cada lado y 1 en la parte central superior. La escasa irrigación en las nervaduras provoca acumulación de metabolitos secundarios, principalmente antocianidinas que proporcionan los colores rosa y rojo (Figura 2). El fruto es una legumbre plana de 15 cm, presenta una coloración variada de acuerdo al grado de maduración; al abrir el fruto se percibe un aroma que recuerda al del fríjol, los frutos presentan dehiscencia, enrollándose sobre si mismos de adentro hacia fuera y las semillas son reniformes, una característica exclusiva de toda la subtribu Bauhiniinae, de coloración clara.

En la Figura 2, se muestran las características macro morfológicas del tallo, hojas, flores y frutos de algunas especies del género *Bauhinia*.

Figura 2

Características morfológicas de diferentes especies del género *Bauhinia*



Especies de *Bauhinia*. Tomado de Barragán et al., 2010.

Distribución del género *Bauhinia*

Se desarrollan principalmente en áreas tropicales, ampliamente distribuidas en África, Asia (India) y países de América del Sur como Argentina, Brasil y Paraguay (Bonilha, Ferreira, Brondani, Cossetein, Marangoni y Palermo, 2015). Además, hay especies del género *Bauhinia* que presentan patrones de distribución geográfica en Mesoamérica comprendiendo países como México, Guatemala, El Salvador y Costa Rica (Torres, 1999).

Una revisión por Hokche (2007), reseñó en este año el estado actual de la colección del género *Bauhinia* L. (Leguminosae: Caesalpinioideae) en el Herbario Nacional de Venezuela, de las muestras depositadas se encontró que el género *Bauhinia* está representado por 745 especímenes, de los cuales 526 son ejemplares nacionales, 60 corresponden a muestras extranjeras, mayormente de Brasil y 159 están sin determinar. La colección está formada por 26 especies y constituyen una buena

representación de la diversidad del género en el país, en la Tabla 4, podemos presenciar la clasificación de las especies de *Bauhinia* en el Herbario Nacional de Venezuela.

Tabla 4

Representación de las especies del género Bauhinia y su distribución

Especie	Nro. de especímenes	Estados de Venezuela
<i>B. aculeata</i> L.	101	Ampliamente distribuida
<i>B. coronata</i> Benth.	3	Bolívar
<i>B. cupreonitens</i> Ducke.	1	Amazonas
<i>B. cupulata</i>	4	Apure/Bolívar
<i>B. eilertsii</i> Pulle.	11	Bolívar
<i>B. glabra</i> Jacq.	116	Ampliamente distribuida
<i>B. guianensis</i> Aubl.	76	Amazonas/Apure/Mongas/Sucre
<i>B. heterophylla</i> Kunth.	2	Lara/Miranda
<i>B. kunthiana</i> Vogel.	9	Aragua/Bolívar/Sucre/Yaracuy
<i>B. longicuspis</i> Spruce.	15	Amazonas/Bolívar
<i>B. longipetala</i> (Benth). W	3	Cojedes/Portuguesa/Yaracuy
<i>B. megalandra</i> Griseb.	8	Distrito Federal (DF)
<i>B. microstachya</i> (Raddi) J. F	2	Miranda
<i>B. mirandina</i> Pittier.	1	Miranda
<i>B. monandra</i> Kurz.	1	Mérida
<i>B. multinervia</i> (Kunth) DC	21	DF/Lara/Miranda/Monagas/Yaracuy
<i>B. outimouta</i> Aubl.	12	Bolívar
<i>B. pauletia</i> Pers.	23	Aragua/Carabobo/Guárico/Zulia
<i>B. petiolata</i> Triana.	2	Carabobo/Falcón
<i>B. purpurea</i> L	7	Aragua/Carabobo/Sucre/Lara/DF
<i>B. rutilans</i> Spruce ex Benth.	19	Amazonas/Aragua/Bolívar/Miranda
<i>B. scala-simiae</i> Sandwich.	4	Bolívar/Delta Amacuro
<i>B. siqueiraei</i> Ducke.	10	Bolívar/Delta Amacuro
<i>B. surinamensis</i> Amshoff.	2	Bolívar/Delta Amacuro
<i>B. ungulata</i> L	54	Amazonas/Anzoátegui/Apure/Barinas
<i>B. variegata</i> L	9	Distrito Federal/Miranda

Fuente: Hokche, 2007.

Usos del género *Bauhinia*

En los últimos años, el interés por estas plantas ha aumentado notablemente, por sus diversos usos en la industria. En 2009, Torres-Colín, Duno y Can, presentaron información sobre los usos de diferentes especies del género *Bauhinia*. *Bauhinia divaricata* L, *Bauhinia herrerae* y *Bauhinia jenningsii*, su madera es utilizada comúnmente para la construcción de casas rurales, palapas, cercas y gallineros, además, tienen propiedades medicinales y principalmente son plantas con potencial ornamental por el atractivo de sus flores incluyendo a especies como *Bauhinia monandra* Kurz y *Bauhinia unguolata* L.

Las hojas de *Bauhinia vahlii* son utilizadas como alimento, la corteza proporciona una fibra fuerte resistente que es destinada a múltiples usos, como el material de embalaje (Bonilha et al., 2015). En África *Bauhinia thonningii* posee como atributo principal sus vainas y brotes, ya que son consumidos por el ganado (cerdos), también en algunas ocasiones especialmente a los niños se les puede dar como alimento y los frutos verdes son utilizados como jabón (Chileshe y Kitalyi, 2002). Tasse y Kurniawan (2021), en su investigación concluyeron que la harina de las hojas de *Bauhinia purpurea* sirve como alimento para cabras, ya que aumenta la ganancia de peso corporal de las mismas.

Bauhinia sp., tiene un uso potencial como fijadora de nitrógeno, con acción protectora, así como recuperadora de suelos, esta planta se emplea para alimentar animales silvestres, obtener leña o carbón, como planta decorativa y para postes vivos o cercas (Corpoica, 2002).

Actividad farmacológica del género *Bauhinia*

Este género a menudo es conocido en cuanto a su acción hipoglucemiante, ya que en la medicina popular estas plantas han sido utilizadas para el tratamiento de la diabetes, estudios de *Bauhinia divaricata* han demostrado que la decocción de sus hojas tuvo un efecto hipoglucemiante moderado en conejos, *Bauhinia candicans* demostró en una infusión de hojas secas al 20% que redujo en un 39% la glicemia inducida por el aloxano, el cual es uno de los agentes diabéticos más prominentes en la

investigación de la diabetes. Otra especie que presenta un mayor número de estudios y es muy utilizada por las comunidades rurales es *Bauhinia forficata*, un estudio evidenció por medio de la administración oral en ratas diabéticas, una mejora en el metabolismo de los carbohidratos testeado por la disminución de los niveles de glicemia y glucosuria (Da Silva y Cechinel, 2002). Se ha informado actividad biológica para las especies *Bauhinia forficata*, *Bauhinia unguolata*, *Bauhinia bauhinioides*, *Bauhinia holophylla*, *Bauhinia rufa* y *Bauhinia cheilantha*, propiedades antidiabéticas, antioxidante, antitumoral y quimio protectora, son las principales publicadas en la literatura revisada (Fortunato y Nores, 2022).

Bauhinia herrerae, empleada en el tratamiento contra la disentería y como antihemorrágico, *Bauhinia jenningsii* P., en el tratamiento de gastroenteritis (Da Silva y Cechinel, 2002). Bonilha et al. (2015), realizaron una búsqueda de los últimos avances publicados, donde los extractos acuosos de *Bauhinia forficata* se utilizan como analgésico e hiperglucemiante, el té presentó importantes propiedades antioxidantes y no mostraron actividad citotóxica. *Bauhinia longifolia*, se investigó la actividad in vitro contra el virus Mayaro, ésta es una buena fuente de flavonoides con actividad contra el virus, resultados de *Bauhinia vahlii* indican un potencial en el tratamiento de infecciones bacterianas, alegando así sus usos en el tratamiento de infecciones urinarias, diarreas e intoxicaciones alimentarias de tipo infeccioso, el extracto metanólico de las hojas de *Bauhinia acuminata* presenta actividad antidiarreica, así como el de *Bauhinia purpurea* ejerce actividad gastroprotectora mediante sus acciones antisecretoras y antioxidantes. Los metabolitos secundarios producidos por este género, en particular los flavonoides, son los que les atribuyen a estas plantas potenciales agentes fitoterapéuticos y medicinales.

Composición química del género *Bauhinia*

Los análisis realizados a las plantas del género *Bauhinia* respaldan la mayoría de sus propiedades terapéuticas, de la cual han sido aislados metabolitos secundarios como flavonoides, terpenos, compuestos fenólicos, taninos y alcaloides (Da Silva y Cechinel, 2002; Barragán et al., 2010; Bonilha et al., 2015). La composición químico-

nutricional de las especies forrajeras *Bauhinia divaricata* y *Bauhinia unguolata*, reportaron un porcentaje de fibra de detergente neutra del 46,49 y 57,23% y proteína cruda 12,78 y 11,16%, respectivamente; *B. divaricata* reportó una concentración de taninos condensados del 12,75% (Gómez, González, López, Vera, Albor y Sangines, 2017).

Bauhinia purpurea en diferentes épocas del año evidenció en promedio un contenido de materia seca del 40,75%, con un 51,40% de digestibilidad de MS, un contenido de proteína bruta de 11,60% y en promedio 56,20% de digestibilidad, fibra bruta 28,60% con una digestibilidad aparente del 45,60%, la composición de materia orgánica fue de 89,35% con una digestibilidad del 55,8% y presentó una media del 8% de energía metabolizable, lo cual indica un desbalance energía/proteína. En sentido general, *B. purpurea* tiene buen potencial alimenticio para rumiantes, aunque por sus limitaciones energéticas se recomienda su utilización con gramíneas u otras plantas de mayor contenido energético con el fin de obtener un mejor rendimiento de su potencial alimenticio (Cáceres, González y Arece, 2003).

Los resultados de Barragán et al. (2010), señalan que las especies *Bauhinia picta*, *Bauhinia malabarica*, *Bauhinia variegata* y *Bauhinia kalbreyeri*, en los extractos etanólicos y acuosos de la corteza y hojas, presentan constituyentes fenólicos en cantidades considerablemente diferentes, los resultados también evidenciaron que los flavonoides son una parte mínima de los fenoles totales, encontrándose valores no superiores al 3%, los flavonoles se consideraron como el grupo más abundante dentro de los flavonoides. En la Tabla 5, se muestran algunos compuestos aislados de varias especies del género *Bauhinia*.

Tabla 5*Principales compuestos aislados de especies del género Bauhinia*

Especie	Clase	Compuesto
<i>B. candicans</i>	Esteroides	Sitosterol, Campesterol, Estigmasterol, Colesterol
	Flavonoides	Kaempferol 3- <i>O</i> - α -D-xilurono-furanosido
	Alcaloides	Trigonelina
<i>B. championii</i>	Bencenoides	Ácido gálico
<i>B. forficata</i>	Flavonoides	Kaempferitrina
	Esteroides	Sitosterol
<i>B. guianensis</i>	Flavonoides	4-hidroxi-7-metoxiflavona
	Quinonas	Di-hidro- α -lapachona
<i>B. manca</i>	Esteroides	Sitosterol
	Bencenoides	Ácido cinámico, Éster metílico, Ácido gálico
	Flavonoides	Apigenina, Crisoeriol, Isoliquiritigenina, Luteolina
<i>B. purpurea</i>	Flavonoides	Isoquercitrina, Quercitina, Astragalina
	Aminoácidos	Ácido aspártico, Treonina, Serina, Prolina, Metionina
<i>B. racemosa</i>	Fenoles	Racemosol
<i>B. reticulata</i>	Flavonoides	Quercetina
<i>B. splendens</i>	Esteroides	Sitosterol, Estigmasterol
	Ácidos grasos	Ácido esteárico
	Flavonoides	Bausplendina, Quercetina, Rutina
<i>B. tomentosa</i>	Flavonoides	Isoquercetrina, Quercetina, Rutina
<i>B. thonningii</i>	Lactona	Grifonilida
<i>B. uruguayensis</i>	Esteroides	Estigmasa, Campesterol, Sitosterol
	Flavonoides	Quercetina, Kaempferol
	Aminoácidos	Alanina, Valina, Isoleucina, Tirosina, Metionina
<i>B. vahlii</i>	Esteroides	Campesterol, Estigmasterol, Sitosterol
	Flavonoides	Quercetina, Quercetina-3-glucosido
	Triterpenos	Ácido betulínico
<i>B. megalandra</i>	Flavonoides	5,7,5'-tri-hidroxi-2'- <i>O</i> -ramnosil-flavona
<i>B. variegata</i>	Flavonoides	Narigenina-5,7-dimetoxi-4-ramnoglucosido

Fuente: Barragán et al., 2010.

Especie *Bauhinia variegata* Linn

Bauhinia variegata Linn, conocida como casco de vaca, pata de vaca o árbol de orquídeas, es una especie de planta con flores de la familia Fabaceae, este árbol caducifolio crece en lugares soleados y cálidos. Tradicionalmente, su corteza, flores y raíces son las más apreciadas en cuanto al tratamiento de diversas afecciones (Rojo, 2016; Killari et al., 2023). Es de gran interés como árbol de usos múltiples, en especial como fuente de forraje en la economía agrícola, asimismo, un colosal uso como planta ornamental (Rojas y Acevedo, 2015).

Características botánicas de la especie *Bauhinia variegata*

Es un árbol de la subfamilia Caesalpinioideae (Tabla 6), de aproximadamente 10 metros de altura, con hojas alternas de 10 a 20 cm de largo y ancho, hendidas en dos lóbulos, muy características por su silueta similar a la pezuña de una vaca, flores muy vistosas de unos 7 a 11 cm de diámetro, irregulares con un solo plano de simetría vertical, de color rosa o púrpura, cáliz hendido por un lado, con aspecto de una bráctea o espata, 5 pétalos con una uña corta ligeramente desiguales y el superior generalmente algo mayor; el epíteto latino *variegata*, significa jaspeada o abigarrado, de colores diversos y alude a las manchas rojas y amarillas que suele llevar el pétalo superior, posee 10 estambres libres, de los que suelen ser fértiles 5-6, ovario súpero alargado y algo curvo, fruto en legumbre aplastada, más o menos vellosa (López, 2004).

Tabla 6

*Taxonomía de la especie *Bauhinia variegata**

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae o Leguminosae
Subfamilia	Caesalpinioideae
Género	<i>Bauhinia</i>
Especie	<i>Bauhinia variegata</i>

En la Figura 3, se pueden observar flores de la especie *Bauhinia variegata* y en la Figura 4, hojas, frutos y corteza.

Figura 3

Flores de la especie Bauhinia variegata L



Tomado de López, 2004 y Plantas y Hongos. Herbarium, 2021.

Figura 4

Hojas, frutos y corteza de Bauhinia variegata L



Tomado de Monstera, 2018 y Tapia et al., 2013.

Distribución de la especie *Bauhinia variegata*

Originaria de China y la India, es una especie asiática introducida a los trópicos de América, bien adaptada a la región sur de Brasil, así como en otros países de América Latina, florece en invierno o primavera, de febrero a mayo y fructifica en junio, se propaga mediante semillas o esquejes, las cuales tienen un alto poder germinativo (López, 2004; Tapia et al., 2013; Torres et al., 2009). En Venezuela, Aymard. (2017), realizó una adenda a la lista de las plantas vasculares de los llanos venezolanos,

reportando la ubicación geográfica de la especie *B. variegata* al norte de Venezuela, en los estados Aragua, Distrito Capital, Miranda y Nueva Esparta.

Usos de la especie *Bauhinia variegata*

En Centroamérica se utiliza como árbol ornamental, tanto en paisajes rurales como urbanos, cuenta con propiedades tanto alimenticias como medicinales. En la India sus hojas y frutos se consumen como verdura, en otras partes de Asia, los botones florales se utilizan para encurtir algunos alimentos, sus semillas son utilizadas para la preparación de aceites y su corteza es empleada para la elaboración de fibras, colorantes y curtir cueros, ya que es rica en taninos (López, 2004; Torres et al., 2009). En cuanto a la alimentación animal *Bauhinia variegata* brinda una nutrición que se evidencia en el mejoramiento de los coeficientes de digestibilidad, siendo así una alternativa de suplementación para el ganado (Celeita y Peralta, 2015).

Actividad farmacológica de la especie *Bauhinia variegata*

Tras un gran número de afirmaciones sobre las propiedades curativas populares de *Bauhinia variegata* L., Mali, Mahajan y Mehta. (2007), realizaron un estudio de la literatura para justificar la eficacia como agente balsámico, estudios previos revelaron que esta especie posee propiedades antitumorales en el extracto etanólico de la planta frente a ratones con linfoma ascítico, en ratas con bocio inducido se determinó que era eficaz para normalizar la tiroides teniendo un efecto antioitrogénico, en un estudio del extracto metanólico de las hojas mostró actividad antibacterial contra *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* y *Stroptococcus agalactiae*; actividad antifúngica contra *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* y hongos dermatofitos, el extracto alcohólico de la corteza del tallo mostró actividad hepatoprotectora y actividad insecticida contra *Dysdercus cingulatus* (insecto), así mismo, se aislaron flavonoides glucosídicos de las raíces mostrando actividad antiinflamatoria.

Presenta compuestos fitoquímicos en varios extractos de las hojas, los cuales le otorgan potencial citotóxico contra líneas celulares cancerígenas, así como propiedades antioxidantes por su capacidad de unión al hierro, neutralización de radicales libres y poder reductor (Mishra, Sharma, Kumar, Saxena y Pandey, 2013). Las plantas del

género *Bauhinia* son muy conocidas por su actividad hipoglucemiante, *Bauhinia variegata* mediante técnicas inmunohistoquímicas y cromatográficas, se aisló una proteína similar a la insulina a partir de las hojas, específicamente en los cloroplastos, la cual se demostró mediante la inyección de la fracción de proteína en ratones diabéticos, causando una disminución de los niveles de glucosa en suero, sin embargo, el extracto total de la hoja no produjo cambios significativos (Azevedo et al., 2006).

Composición química de la especie *Bauhinia variegata*

Corteza

Entre cuatro especies del género *Bauhinia* estudiadas, *B. variegata* reveló un gran potencial antioxidante, la corteza fue identificada como la parte vegetal que aporta mayor fitoconstituyentes, siendo así el agua el solvente de elección para extraer estos compuestos, incluyendo los flavonoides (Barragán et al., 2010).

Raíz

El extracto acuoso de la raíz de *B. variegata*, tuvo un rendimiento del 12% p/p, obtenido a través de maceración en frío, mostró la presencia de alcaloides, flavonoides, terpenos, taninos, esteroides, glucósidos y saponinas, asimismo, la ausencia de esteroides, proteínas, mucilago, aceites fijos y flavonas (Prashar y Kumar, 2010).

Flores

La cuantificación de fitoconstituyentes de los extractos florales de *Bauhinia variegata* Linn, arrojó en los extractos metanólicos una concentración de flavonoides totales del 18,16 mg QE/g (miligramos de equivalentes de quercetina), fenoles totales 21,34 mg GAE/g (equivalente/gramos de ácido gálico), alcaloides 11,89 mg/g, taninos 9,63 mg/g, saponinas 5,29 mg/g y quercetina de 3,5 mg/g; en los extractos de cloroformo se evidenció una disminución en todos los compuestos químicos, reportando una concentración de flavonoides totales de 12,18 mg QE/g, 17,66 mg GAE/g de fenoles totales, 8,18 mg/g de alcaloides, 7,38 mg/g de taninos y 3,38 mg/g de saponinas; los extractos fueron activos contra el ensayo de eliminación de DPPH (radicales libres), teniendo un potencial antioxidante que podría proporcionar beneficios contra el estrés oxidativo (Gul et al., 2021).

Hojas

En la búsqueda de alternativas alimenticias, para el uso de pastos y forrajes, se debe tomar en cuenta la integralidad entre el animal, el clima y el suelo, el estudio de *B. variegata* como posible alternativa presentó en época de sequía un contenido de materia seca (MS) del 27,30% y proteína cruda (PC) del 11%; en época de lluvia 35% de MS y 12% de PC. Catalogando a esta especie como buena productora de materia seca y porcentaje de proteína, mejor respuesta de establecimiento con capacidad de adaptación y una eficiente tasa de crecimiento (Torres, Romero y Zerpa, 2006).

La composición nutricional en porcentaje, promedio de cuatro repeticiones en el forraje (hojas) de *B. variegata* para el suministro animal, demostró 41,7% de materia seca, cenizas 7,0%, grasa 5,7%, proteína 17,3%, fibra cruda 19,2%, FDN 58,20%, FDA 36,7% y extracto no nitrogenado 47,8%, la degradabilidad de la materia seca fue de 53,0% (Roa y Muñoz, 2012). Celeita y Peralta (2015), llevaron a cabo una investigación de la especie en la misma zona de recolección del estudio anterior, para evaluar la digestibilidad de la harina de *Bauhinia variegata* como agregado animal, realizaron un análisis nutricional de las hojas, en el cual encontraron un porcentaje de materia seca del 21,9%, cenizas 8,22%, materia orgánica 91,78%, grasa 3,50%, proteína cruda 13,12%, fibra cruda 47,19%, fibra de detergente neutra (FDN) 61,50%, fibra de detergente acida (FDA) 46,22% y extracto no nitrogenado 17,39%.

Respecto a la composición de metabolitos secundarios, los extractos etanólicos de las hojas de *B. variegata* divulgaron la presencia de flavonoides y alcaloides, siendo mayor en comparación con la presencia de taninos, carbohidratos y azúcares reductores (Biswas y Ghosh, 2014). Se evaluó el perfil fitoquímico de la especie (Tabla 7), en diferentes extractos de las hojas, la harina se extrajo secuencialmente con éter de petróleo (PE), benceno (BZ), cloroformo (CH), acetato de etilo (EA), acetona (AC), alcohol etílico (ET) y agua (AG)., exhibió una distribución diferencial de metabolitos en los distintos extractos, los azúcares reductores, las antraquinonas y saponinas se observaron en los extractos polares, a la vez, los terpenos y alcaloides estuvieron presentes en los extractos no polares; todos los extractos dieron positivo para taninos y fenoles. El contenido de flavonoides osciló entre 11 y 222,67 mg QE/g, mostrando

mayor contenido en los extractos de polaridad media CH, EA y AC (Mishra et al., 2013).

Tabla 7

Perfil fitoquímico de la especie Bauhinia variegata L

Compuestos químicos	Extractos						
	PE	BZ	CH	EA	AC	ET	AG
Azúcares reductores	-	-	-	-	-	+	-
Antraquinonas	-	-	-	-	-	+	+
Terpenos	+	+	-	-	-	+	-
Fenoles	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoides	+	+	+	+	+	+	+
Saponinas	-	-	-	-	-	+	+
Taninos	+	+	+	+	+	+	+
Alcaloides	+	+	-	-	-	+	-

Fuente: Mishra et al., 2013.

Tallos

Del extracto metanólico crudo de las partes aéreas de la especie, incluyendo hojas y tallos, fueron aislados tres flavonoides: kaempferol, ombuin y quercetina (Killari et al., 2023).

Semillas

La harina de semillas quiescentes, posee altos niveles de proteínas totales y lípidos, 29,29 y 16,41%, respectivamente. En la Tabla 8, se registra los porcentajes de humedad, proteína, grasa, fibra y ceniza. Los ácidos grasos palmítico y linoleico, se acumulan en la constitución lipídica de las semillas, lo cual es importante desde el punto de vista nutricional, ya que el ácido linoleico es un ácido graso esencial requerido en la dieta de los mamíferos; además, el alto porcentaje de ácidos grasos insaturados de estas harinas permite utilizarlas como fuente de alimentación saludable (Pinto et al., 2005).

Tabla 8*Análisis proximal de las semillas de B. variegata*

Constitución	Contenido (%)
Humedad	3,71
Ceniza	4,41
Fibra cruda	9,26
Carbohidratos solubles	13,38
Lípidos	16,41
Almidón	19,08
Proteínas	29,29

Fuente: Pinto et al., 2005.

Metabolitos primarios

El reino vegetal produce cientos de miles de compuestos orgánicos de bajo peso molecular, producto del metabolismo general o primario, el cual consiste en una serie estrechamente coordinada de reacciones químicas mediadas por enzimas, que tienen lugar en el organismo de las plantas, dando como resultado la síntesis y el uso de una amplia variedad de moléculas. Basado en las diversas funciones de estos compuestos se dividen arbitrariamente en dos grupos: metabolitos primarios y metabolitos secundarios. Los compuestos esenciales para la supervivencia, crecimiento y reproducción de las plantas, se describen como metabolitos primarios, se encuentran ampliamente difundidos en la naturaleza, hallándose en todas las plantas y, por lo tanto, imprescindibles para la vida de las mismas, constituidos por aminoácidos, ácidos grasos, carbohidratos, nucleótidos y polímeros derivados de ellos, que originan monosacáridos, proteínas, lípidos, ADN y ARN (Montiel, 1980; Bosco y Butnariu, 2022).

Determinación de metabolitos primarios***Análisis Proximal***

Los datos de la composición química de los alimentos se obtienen principalmente con base en el llamado análisis proximal, el cual es un análisis químico

que comprende la determinación de manera general de los porcentajes de humedad, proteína, grasa, fibra y ceniza (Olvera, Martínez y Real, 1993). Los analitos antes mencionados, se describen a continuación:

Humedad. El contenido de humedad es la magnitud que expresa la cantidad de agua en un material sólido y se puede representar en términos de una base de masa seca o de una base de masa húmeda (Martines y Lira, 2010). Para su determinación se utiliza el análisis gravimétrico, es un método cuantitativo basado en la medición precisa y exacta de la masa de la sustancia que se desea determinar, se clasifican en métodos gravimétricos por volatilización (directos e indirectos) o destilación, métodos gravimétricos por extracción y métodos gravimétricos por precipitación.

El método más común para determinar el contenido de humedad es analíticamente a través de un proceso de evaporación con la ayuda del calor, sustentado en la separación del agua de la materia prima por secado en estufa a temperaturas superiores a 100 ° C, donde hay una pérdida de peso, en el que el contenido de humedad se determina a partir del cambio de peso de la muestra después de la evaporación del agua absorbida por la estufa o mufla; correspondiendo a la diferencia de entre el peso inicial y el peso de la materia seca, este método se conoce como volatilización indirecta (Zumbado, 2002; Tirado, Montero y Acevedo, 2015). Otros métodos incluyen, los volumétricos como el de Karl Fischer, calorimetría diferencial de barrido, luz halógena y el uso de luz infrarroja (Tirado et al., 2015).

Cenizas. En el análisis de los alimentos, las cenizas se definen como el residuo inorgánico que se obtiene al incinerar la materia orgánica en un producto cualquiera, representan la fracción correspondiente a los minerales. Su determinación consiste en incinerar una porción de muestra exactamente pesada en un crisol de porcelana o platino, utilizando un horno de mufla a temperaturas entre 500 y 600 ° C durante 24 horas aproximadamente, la matriz debe destruirse calentando suavemente al principio para carbonizar la muestra y así impedir que los lípidos y azúcares formen espuma. El análisis se da por terminado cuando el residuo está libre de partículas carbonosas (de color negro) y las cenizas presenten un color blanco o gris uniforme, el crisol se enfría en un desecador y se pesa en balanza analítica hasta peso constante. A estas

temperaturas se producen una pérdida de ciertos minerales como el calcio y el fósforo, y la volatilización de otros como sodio, potasio y cloro (Zumbado, 2002; Caravaca et al., 2003).

Generalmente el valor de cenizas totales es necesario cuando se necesita calcular los carbohidratos (por diferencia), ya que desde el punto de vista nutricional el contenido de cenizas tiene escaso valor, salvo para proporcionar una estimación aproximada del material inorgánico (Greenfield y Southgate, 2006). Una vez determinada la materia seca y las cenizas por diferencia se puede obtener el contenido de materia orgánica (Caravaca et al., 2003).

Contenido de grasas. La fracción denominada extracto etéreo (EE) o grasa cruda, son las sustancias orgánicas que más energía bruta aportan, comprenden aceites, grasas y otros materiales liposolubles (Mora, 2007). Generalmente llamados lípidos, son sustancias de origen vegetal o animal compuestas mayormente por triglicéridos, su determinación se obtiene a partir de los métodos gravimétricos por extracción, estos se fundamentan en la separación del analito del resto de los componentes de la muestra mediante un proceso de extracción (generalmente sólido-líquido), ya sea con el empleo de solventes orgánicos como el éter de petróleo o éter etílico que solubilicen el compuesto o con solución ácida, básica o neutra, este método está dirigido a la determinación de grasas y fibra dietética (Zumbado, 2002).

Se clasifican en métodos de extracción con solventes orgánicos como el método de Soxhlet y el método de Rose-Gottlieb; y métodos butirométricos. Comúnmente usado el método de Soxhlet, este procedimiento emplea un equipo diseñado de modo que la porción fresca del solvente este en contacto con la muestra por un largo tiempo, se basa en la separación de la fracción lipídica del resto de los compuestos de la matriz y la posterior medida de la fracción separada. El solvente se elimina del balón por evaporación, quedando en este último el residuo lipídico extraído, el cual se determina por diferencia de pesada entre la masa del balón que contiene el residuo y la masa del balón vacío, previamente tarado (Zumbado, 2002).

Esta fracción además de los lípidos se incluyen ceras, alcoholes, pigmentos y ácidos grasos orgánicos. El valor obtenido es una buena aproximación del contenido de grasas de los alimentos, aunque incluya otras sustancias (Caravaca et al., 2003).

Proteínas. Participan como los principales constituyentes estructurales de las células y los tejidos, son la fracción nitrogenada de los alimentos que se obtiene mediante el análisis químico, denominada proteína bruta (PB); que no es más que una determinación del nitrógeno total liberado por un proceso de digestión química (Mora, 2007). Para su determinación se utiliza el método de Kjeldahl que consiste en una mineralización del nitrógeno de una muestra de alimento mediante ácido sulfúrico concentrado en presencia de un catalizador, este tratamiento convierte el nitrógeno amínico en sal amoniacal y es recogido en una solución básica, posteriormente se realiza una titulación para determinar la cantidad de nitrógeno amoniacal y el resultado obtenido se multiplica por 6,25, con lo que se obtiene una aproximación del contenido de nitrógeno proteico existente en el alimento (Sallee y Brown, 1967; Caravaca et al., 2003).

El factor 6,25 está establecido ya que se considera que el contenido medio de nitrógeno en las proteínas de los alimentos es del 16 por 100. Se trata de una medida aproximada, ya que ese 16 por 100 es una media del nitrógeno total contenido en las proteínas, ya que no todo el nitrógeno de los alimentos se encuentra en forma de proteína (Caravaca et al., 2003).

Fibra cruda. La fibra dietética es el total de polisacáridos que contienen las plantas, son carbohidratos complejos que pueden ser atacados por las enzimas de la microflora intestinal, a excepción de la lignina. Se puede terminar a través de métodos espectrofotométricos, cromatográficos y gravimétricos, este último, consiste en exponer la muestra a una digestión ácida seguida de una alcalina, al someter la muestra a dos hidrolisis sucesivas, se obtiene un residuo que contiene la fracción de celulosa asociada a lignina, además de cierta cantidad de hemicelulosa, lo que se denomina fibra cruda (FC), es un método de análisis que nos indica la cantidad de hidratos de carbono no digestibles para animales monogástrico (Zumbado, 2002; Caravaca et al., 2003; Mora, 2007).

Extracto no nitrogenado. El extracto libre de nitrógeno (ELN), representa la fracción de los carbohidratos solubles, en esta categoría se encuentran el almidón, pectinas, gomas y mucílagos. Se determina por diferencia entre los valores del peso inicial de la muestra analizada y la suma de las demás fracciones obtenidas mediante los análisis descritos hasta ahora (Caravaca et al., 2003; Vázquez, 2020).

Productos naturales

Se consideran productos naturales a todos los compuestos orgánicos provenientes del metabolismo de fuentes naturales; de origen vegetal, animal, marino, fúngico y bacteriano, como respuesta ante condiciones externas, ya sea: estrés hídrico, térmico, de superpoblación y radiante, siendo en general señales químicas frente a herbivoría, plagas, patógenos y simbiosis con otros organismos. Estos son justamente compuestos de interés porque poseen en su estructura química algunas subestructuras que son bioactivas en organismos animales, incluyendo el hombre. La mayoría de estos compuestos orgánicos poseen bajo peso molecular y están representados por cuatro clases principales de compuestos, terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos y alcaloides; también se incluyen compuestos de alto peso molecular, como las proteínas y algunos carbohidratos (Pomilio, 2012).

Metabolitos secundarios

Son biosintetizados a partir de los metabolitos primarios, con una distribución restringida a ciertos grupos de plantas. A menudo manifiestan especificidad de órgano o tejido, pueden identificarse solo en una cierta etapa de crecimiento dentro de una especie, o pueden activarse solo durante períodos de estrés causado por el ataque de microorganismos o agotamiento de nutrientes, como ejemplo podemos citar: alcaloides, flavonoides, terpenoides, fenoles, etc., para llevarse a cabo el metabolismo secundario, existen tres materiales biosintéticos de partida principales: el ácido shikímico, que es el precursor de la mayoría de compuestos aromáticos, como aminoácidos aromáticos, ácidos cinámicos y algunos polifenoles; aminoácidos que originan péptidos y alcaloides, y, acetato que mediante dos rutas origina isoprenoides

(terpenoides, esteroides y carotenoides), policétidos que derivan polifenoles y ácidos grasos que dan origen a poliacetilenos (Montiel, 1980; Boscso y Butnariu, 2022).

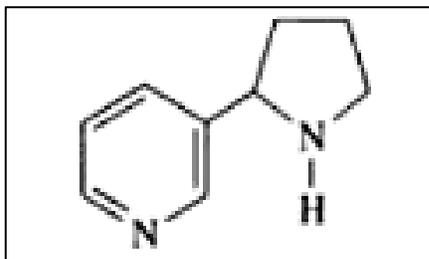
No tienen una función directa en el crecimiento y desarrollo de las plantas, como en procesos de fotosíntesis, respiración, asimilación de nutrientes, síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, median las interacciones entre planta y medio ambiente, muchos son pigmentos que proporcionan color a las flores y frutos, otros son atrayentes de insectos polinizadores o de animales que utilizan los frutos como fuente de alimento, contribuyendo de esta forma a la dispersión de las semillas y tienen función protectora ante herbívoros o infecciones por patógenos, actuando sobre su devorador afectando la fisiología del animal. El trabajo actual sobre los metabolitos secundarios demuestra que muchos de ellos también tienen funciones reguladoras y algunos son precursores demostrados de metabolitos primarios, aportan diversas potencialidades farmacológicas, medicinales, suplementos alimenticios, entre otros (Taiz y Zeiger, 2006; Ávalos y Pérez, 2009; Erb y Kliebenstein, 2020). Se clasifican en:

Alcaloides

El término “alcaloide” significa literalmente “análogo a un álcali”, esta denominación fue dada originalmente a todas las sustancias con carácter básico aisladas de las plantas (González, 1991). Son compuestos nitrogenados de carácter básico que tienen generalmente una estructura compleja con varios anillos heterociclos, se sintetizan casi siempre a partir de algunos aminoácidos específicamente lisina, tirosina y triptófano; comprenden una familia de más de 15.000 metabolitos secundarios, entre los más comunes se encuentran, la nicotina (Figura 5), la cocaína y la cafeína (Taiz y Zeiger, 2006). Son los más conocidos por sus notables actividades fisiológicas en el hombre y los animales, tienen efectos farmacológicos sobre los animales vertebrados, algunos sirven como medicamentos, sin embargo, muchos de ellos son estupefacientes y tóxicos (Primo, 2007).

Figura 5

Estructura del alcaloide nicotina



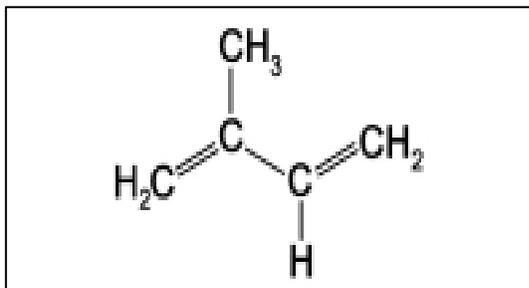
Tomado de Primo, 2007.

Terpenos

Son compuestos orgánicos aromáticos y volátiles que están constituidos por la unión de 5 átomos de carbono, llamado isopreno (Marcano y Hasegawa, 2002). Se clasifican según el número de unidades de isopreno que se unen, son típicos constituyentes de los aceites esenciales de las plantas, también se encuentran en animales (Primo, 2007). Son sintetizados a partir del acetyl CoA o de intermediarios glucolíticos, desempeñan un papel defensivo en las plantas, comportándose como toxinas y repelentes para un gran número de animales que se alimentan de ellas (Taiz y Zeiger, 2006). En la Figura 6, se muestra una molécula de la unidad constituyente de los terpenos (isopreno).

Figura 6

Estructura molecular de los constituyentes terpenos



Molécula de isopreno (2-metil-1,3-butadieno). Tomado de Castaños, 2015.

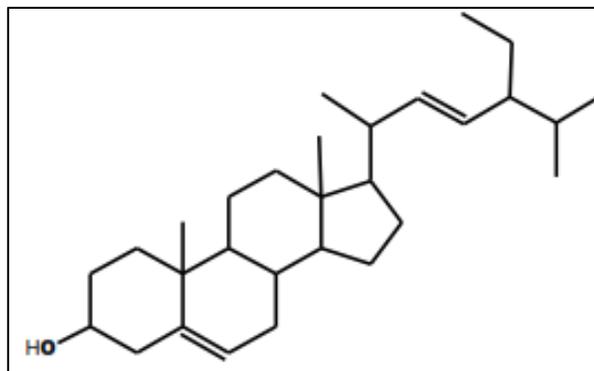
Esteroles

Son alcoholes esteroides que contienen un grupo hidroxilo y uno o más dobles enlaces, el esteroles más importante en los animales es el colesterol, mientras que en las

plantas y otros microorganismos en lugar de colesterol existen compuestos similares a los esteroides, algunos de ellos son el ergosterol, beta-sitosterol y el estigmasterol (Koolman y Rohm, 2004). En la Figura 7, se puede observar un ejemplo representado en fórmula esquelética del estigmasterol.

Figura 7

Fórmula esquelética del estigmasterol



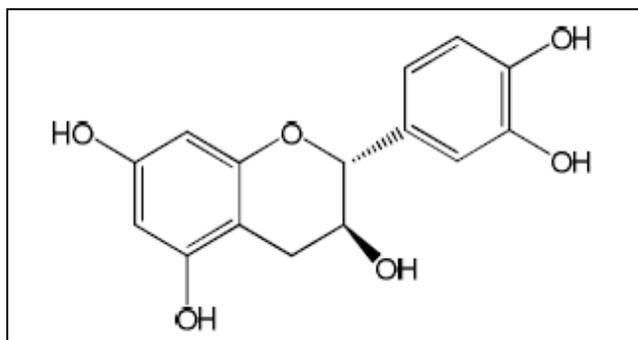
Tomado de Ávalos y Pérez, 2009.

Polifenoles

Se reagrupan en ácidos fenólicos, flavonoides, taninos y ligninas, tienen efectos tóxicos y antinutricionales, aunque aportan beneficios al actuar como antioxidantes (Vásquez, de Cos y López, 2005). Son sustancias químicas que se originan principalmente en las plantas, se sintetizan a través de dos importantes rutas primarias: la ruta del ácido shikímico y la ruta de los poliacetatos, presentan en su estructura más de un grupo fenol por molécula (Quiñones, Miguel y Aleixandre, 2012). En la Figura 8, se observa la estructura química del polifenol catequina.

Figura 8

Estructura química del compuesto catequina



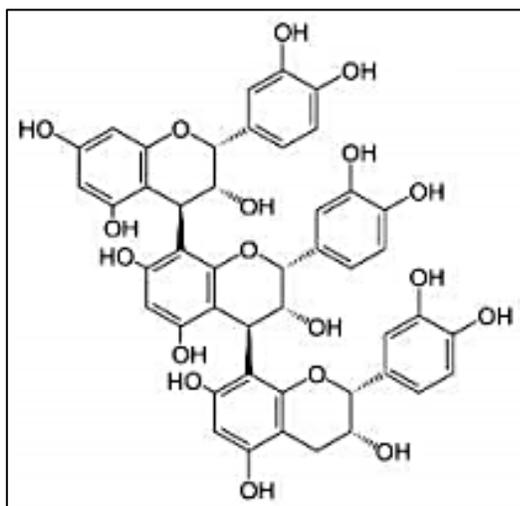
Tomado de Vilchez, et al., 2010.

Taninos

Son compuestos fenólicos poliméricos, generalmente toxinas, debido a su capacidad de unirse a proteínas. Se dividen en dos tipos, los taninos condensados son polímeros de unidades de flavonoides unidas por enlaces C-C, no pueden ser hidrolizados, pero sí oxidados mediante un ácido fuerte. También se encuentran los taninos hidrolizables, son polímeros heterogéneos como el ácido gálico y los azúcares simples, se hidrolizan con facilidad tanto por ácidos y álcalis (Ávalos y Pérez, 2009). En la Figura 9, se muestra un ejemplo de taninos condensados, llamados procianidinas.

Figura 9

Estructura química de un ejemplo de taninos condensados



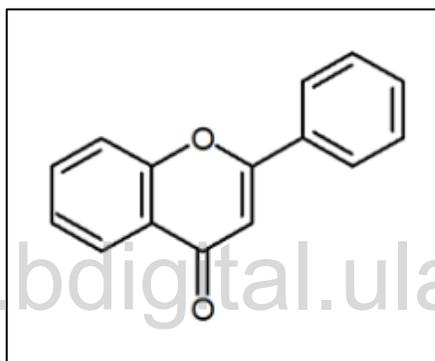
Estructura de las procianidinas. Tomado de Olivas, et al., 2015.

Flavonoides

Constituyen la subclase de polifenoles más abundante dentro del reino vegetal, son compuestos de bajo peso molecular constituidos por dos anillos fenilo y un anillo pirano heterocíclico. Se encuentran mayoritariamente como glucósidos, pero también pueden aparecer en forma libre. Existen varios subgrupos de flavonoides, la clasificación se hace en función del estado de oxidación del anillo heterocíclico, dentro de los principales compuestos están los flavonoles, las flavonas (Figura 10), flavanonas y los flavanoles (Quiñones et al., 2012).

Figura 10

Conformación estructural del compuesto flavonas



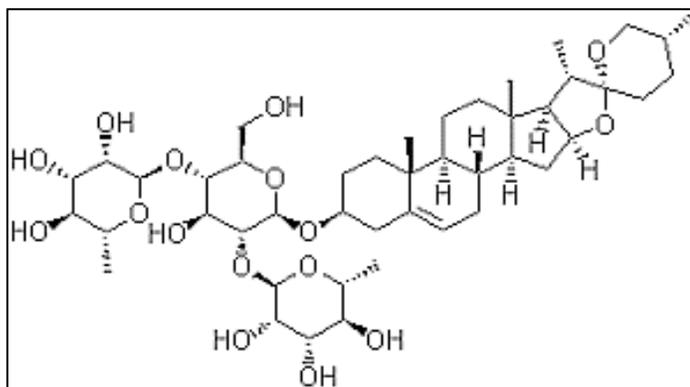
Tomado de Industrias de Alimentos, 2007.

Saponinas

Están conformados por uno o varios azúcares, se clasifican como esteroidales o triterpénicos, dependiendo de la naturaleza de la aglucona; participan en funciones de defensa para la planta, algunos son reguladores del crecimiento y también presentan actividades fungicidas (Romo de Vivar, 2006). Son excelentes emulsificantes por su capacidad hidrosoluble, al agitarse en agua producen espuma, muy utilizados en jabones o detergentes, tienen una amplia distribución en el reino vegetal y muchos de ellos pueden llegar a ser tóxicos (Gennaro, 2003). En la Figura 11, se muestra un ejemplo de dioscina, que es una saponina.

Figura 11

Estructura química de saponinas



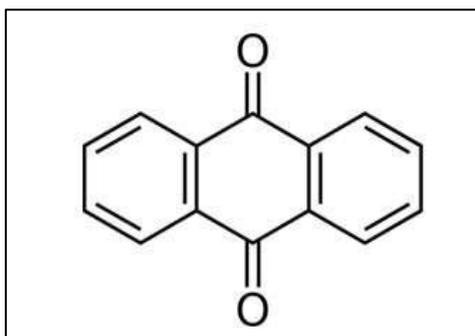
Compuesto dioscina. Tomado de Oliveira, Paulo, Palazzo, Auler y Ros, 2017.

Quinonas

Se encuentran frecuentemente en la corteza o en la raíz, constituyen un grupo importante de pigmentos vegetales y animales, la mayoría poseen una coloración intensa, se originan de los metabolitos: ácido acético, siquímico y mevalónico. Se clasifican en benzoquinonas, naftoquinonas y antraquinonas (Marcano y Hasegawa, 2002). La Figura 12, hace referencia a la estructura química del compuesto antraquinona.

Figura 12

Estructura química del compuesto antraquinona



Tomado de Química y algo más, 2011.

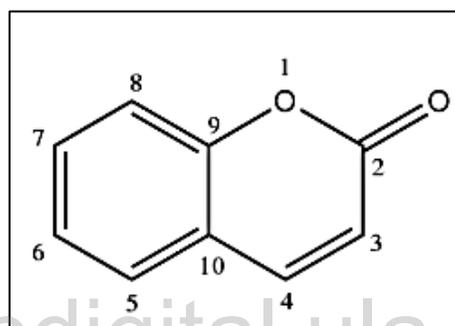
Cumarinas

Son compuestos derivados del ácido cinámico por ciclación de la cadena lateral del ácido o-cumárico, casi todas las cumarinas presentan un sustituyente hidroxílico en

la posición 7, ya sea libre o combinado con un grupo metilo, azúcares, u otros grupos funcionales, también se pueden encontrar esterificados o glicosilados como el ácido clorogénico. Pueden ser consideradas lactonas del ácido o-hidroxicinámico, se distribuyen en todo el reino vegetal, frecuentemente en las familias Asteraceae, Fabaceae y Apiaceae, utilizadas principalmente como antioxidantes. Presentan fluorescencia sensible a la posición y naturaleza de sus sustituyentes sobre el anillo de benzopirona (Reija, 2007; Iglesias, 2009; Martino et al., 2016).

Figura 13

Estructura química de cumarinas



Tomado de Reija, 2007.

Extractos vegetales

El término extracción es usado en la industria farmacéutica para la separación de fracciones medicinalmente activas de tejido vegetal u otra materia orgánica, utilizando solventes selectivos, en función de las características fisicoquímicas de la planta y el objetivo de la extracción. Los productos obtenidos son conocidos como extractos vegetales, por lo tanto, son preparados concentrados con el principio activo de la misma, pueden ser de consistencia líquida, semisólida o viscosa (Gennaro, 2003; Conjunto Lar de México, 2022).

Cubren un amplio espectro de efectos farmacológicos mostrando diversas propiedades como antiinflamatorias, antioxidantes, anticancerígenas, etc., así como biocidas en contra de una extensa gama de microorganismos como bacterias, hongos, virus e insectos (García, Martínez, Ortega y Castro, 2010).

Obtención de los extractos vegetales

Antes de empezar un proceso de extracción, se debe definir la selectividad del solvente a ser utilizado en el proceso, dependiendo del propósito al que se destine, si se desea obtener un extracto cuya composición química comprenda la mayor parte de los constituyentes fitoquímicos de la planta podemos utilizar solventes de alta polaridad como el alcohol etanol o metanol, o si se desea obtener un extracto que solamente contenga un compuesto con una determinada característica, se emplea un solvente selectivo apolar, como el hexano, que solo atrae compuestos lipídicos (Valverde, 2000).

Los aceites esenciales y extractos vegetales son aislados de las plantas por diversos métodos como: maceración, percolación, decocción, infusión y digestión, además, métodos de destilación por arrastre de vapor, expresión de los frutos o por medio de extracción continua como el método de Soxhlet (Gennaro, 2003; García et al., 2010). Algunos métodos de extracción son:

Extracción continúa

Es un método de extracción sólido-líquido usado para extraer compuestos de naturaleza lipídica, primero se debe escoger un solvente orgánico que selectivamente disuelva el compuesto deseado, pero que deje los sólidos insolubles en la fuente natural, para esto se utiliza un aparato de extracción continúa llamado Soxhlet, consiste en colocar el material a extraer, previamente molido y pesado, en un cartucho de celulosa que se introduce en la cámara de extracción, conectada por una parte a un balón de destilación y por otra a un refrigerante. El disolvente contenido en el balón se calienta a ebullición, el vapor asciende por el tubo lateral y se condensa en el refrigerante, cayendo sobre el material; cuando alcanza el nivel conveniente sifona por el tubo regresando al balón, el proceso se repite hasta conseguir el agotamiento deseado del material (Lamarque et al., 2008; Guarnizo y Martínez, 2009).

Maceración o extracción en frío

El proceso de maceración consiste en colocar el material a extraer debidamente fragmentado en contacto con un disolvente apropiado. En un recipiente de vidrio se coloca la materia prima y se cubre con el disolvente elegido, se tapa y se deja en reposo durante varios días con agitación esporádica, hasta que este penetre en los tejidos,

ablandando y disolviendo las porciones solubles; posteriormente se filtra el líquido y si el material aun contuviera sustancias de interés, se repite el proceso con disolvente fresco o puro tantas veces como sea necesario. Es una técnica que da como resultado un equilibrio de concentración y depende de los factores que están unidos a la materia, como su naturaleza, el tamaño de las partículas, contenido de humedad y los factores relacionados con el solvente como la selectividad (Valverde, 2000; Lamarque et al., 2008).

Percolación

Es un proceso ampliamente difundido que consiste en colocar el material segmentado en un recipiente cónico o cilíndrico, haciendo pasar un disolvente apropiado a través del mismo. El material debe estar debidamente compactado de modo que el disolvente eluya con cierta lentitud dando tiempo al mismo de tomar contacto con los tejidos y extraer los componentes deseados, el residuo desechado contendrá gran parte del contenido de interés, es un método que no difiere significativamente de la maceración, sin embargo, requiere el agregado del solvente de forma constante (Lamarque et al., 2008).

Infusión

Este proceso se basa en hervir agua o el solvente deseado, retirar el calor, añadir el material vegetal cortado o triturado y tapar el recipiente, posteriormente se agita y se filtra el líquido cuando este se encuentre a menor temperatura. La infusión está indicada en plantas cuyos componentes no se alteren significativamente con el calor, el extracto puede utilizarse de forma directa como té o en la preparación de lociones, tónicos, jabones, jarabes, etc. (Ortuño, 2006).

Decocción

Similar a la infusión, pero una vez que se añade al agua o solvente deseado el material vegetal se mantiene el calor, sometiendo la mezcla a ebullición. Este método se utiliza en plantas con componentes no sensibles al calor y cuya estructura es muy fibrosa o dura, dificultando la absorción de agua y la disolución de las sustancias; bayas, cortezas y frutos duros suelen tratarse de esta forma sino pueden triturarse adecuadamente (Ortuño, 2006).

Digestión

Es un procedimiento que se aplica a muestras no muy solubles, se utilizan en algunas plantas que presentan principios activos de difícil extracción. Similar a la maceración, pero aplicando calor prolongado sin llegar a su punto de ebullición (Velastegui, 2005).

Determinación de metabolitos secundarios

Tamizaje fitoquímico

También conocido como “screening” fitoquímico es un método utilizado para separar principios activos, llamándose así al término farmacológico que alude al componente que tiene acción o acciones específicas (Ávila y Fonte, 2004). Permite determinar cualitativamente los principales grupos de compuestos químicos presentes en una planta, consiste en la extracción de la planta con solventes orgánicos y la aplicación de reacciones de coloración; los resultados constituyen únicamente una orientación para el aislamiento de los grupos de mayor interés (Pinzón, Rocha y Sharapin, 2000). Cuando se utiliza una infusión o un extracto de una raíz o de las hojas de una planta puede ocurrir que contenga o no un principio activo con una acción biológica, la actividad biológica se refiere a cualquier efecto que ejerce ese compuesto sobre un ser vivo, hoy en día los estudios se orientan hacia el aislamiento e identificación de compuestos biológicamente activos encaminados a atacar enfermedades o cubrir una necesidad (Marcano y Hasegawa, 2002).

Existen una gran diversidad de pruebas químicas, entre las más comunes se encuentran:

Ensayo de Dragendorff, Wagner y Mayer. Se utiliza para la determinación de alcaloides, el material extraído se pone en contacto con ácido clorhídrico y posteriormente ocurren reacciones de precipitación y coloración, al agregar reactivos (Dragendorff o Wagner o Mayer), la prueba se considera positiva si hay presencia de opalescencia, turbidez o precipitado coposo (Marcano y Hasegawa, 2002; Cuadrado y Flora, 2004).

Ensayo de Liebermann-Burchard. Utilizado para determinar terpenos y/o esteroides, basado en un ensayo colorimétrico. Al extracto se le adiciona anhídrido acético y ácido sulfúrico, luego esperar y observar la doble fase formada; la aparición de un anillo en la interfase. La presencia de esteroides se manifiesta por la aparición de un anillo azul y de terpenos por la aparición de un anillo naranja hasta marrón (Harborne, 1973).

Ensayo de FeCl₃. Los compuestos fenólicos en general se determinan al poner en contacto cloruro férrico y el extracto alcohólico, donde determina tanto fenoles como taninos; si el extracto es acuoso el ensayo determina fundamentalmente taninos. La formación de un color rojo-vino indica la presencia de compuestos fenólicos en general, el desarrollo de un color verde intenso indica la presencia de taninos tipo catecólicos y la presencia de una coloración azul corresponde a taninos de tipo pirogalotánicos (Harborne, 1973; Cuadrado y Flora, 2004).

Ensayo de la gelatina. Debido a la capacidad de los taninos de unirse a proteínas, a través de la gelatina se evidenciará la presencia de taninos mediante el complejo proteína-tanino. El extracto se trata con una base al 10%, posteriormente se añaden unas gotas de solución de gelatina, y la presencia de taninos se verá evidenciada por la formación de un precipitado (Marcano y Hasegawa, 2002).

Ensayo de Shinoda. Para la determinación de flavonoides se emplea el ensayo de Shinoda, que consiste en tratar el extracto con ácido clorhídrico concentrado y posteriormente añadir partículas de magnesio; para el desarrollo de las reacciones de coloración, una coloración rojiza indica la presencia de flavonoides (Marcano y Hasegawa, 2002).

Ensayo de la espuma. Sirve para la determinación de saponinas a través de la aparición de espuma, por sus propiedades tenso-activas, se disuelven en agua formando disoluciones espumosas cuando el extracto acuoso se somete a agitación, dependiendo de la altura indica la presencia o no de saponinas. Si la altura es aproximadamente de 3 mm la prueba se toma como negativa, 6 mm moderado y mayor o igual a 8 mm positiva para saponinas (Marcano y Hasegawa, 2002).

Ensayo de Borntrager. Se determina mediante la exposición del extracto con unas gotas de hidróxido de amonio, de potasio o de sodio, luego de esperar unos minutos, se debe haber desarrollado una reacción colorimétrica, si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de color rosado o rojo, el ensayo indica la presencia de quinonas (Harborne, 1973; Cuadrado y Flora, 2004).

Ensayo para cumarinas. A través de la reacción de hidróxido de amonio (NH₄OH) en conjunto con el extracto, se observa la presencia de fluorescencia, mediante la irradiación con luz ultravioleta (UV), se considera positiva la prueba para cumarinas si se presenta una coloración fluorescente azul, violeta, marrón, verde o amarillo (Harborne, 1998).

Toxicidad del género *Bauhinia*

Martínez et al. (2001), el género *Bauhinia*, contiene ácido cianhídrico, quercetina y rutina. Las plantas que contienen compuestos cianogénicos se consideran no aptas para el consumo animal o humano en su estado natural, y solo pueden ser ingeridas si el cianuro ha sido eliminado por molienda o calentamiento. *Bauhinia pentadra*, presenta un cianoglucósido no cianogénico llamado riauquina, la posición del grupo ciano no está junto al enlace glucosídico de la molécula, por lo que su hidrólisis no da lugar a la liberación de cianuro, lo que disminuye su toxicidad (Farias et al., 2015).

Se realizó un estudio de toxicidad en ratones con una dosis oral única de 5000 mg/kg del extracto vegetal de *Bauhinia holophylla*, compuesto principalmente por cianoglucósidos y flavonol-O-glucósidos derivados de quercetina y miricetina (Rozza et al., 2015). Aunque no presentaron toxicidad, la quercetina puede presentar resultados carcinogénicos en animales (Gutiérrez, López y Gil, 2012). La mayor parte de los efectos adversos atribuidos al flavonoide quercetina como la carcinogénesis, mutagénesis y defectos en la reproducción, se han observado en ensayos “in vitro” pero no han sido corroborados por estudios “in vivo”. Una posible explicación para este hecho es que la o-metilación que sufre en el hígado da lugar a una estructura que disminuye la capacidad de producir mutagénesis, por otra parte, cuando la quercetina

se administra por vía oral, rápidamente se metaboliza en el tracto gastrointestinal (Vicente, Prieto y Morales, 2013).

El extracto de *B. monandra* a 4,0 g/kg no es tóxico para el hígado, el bazo y los testículos de las ratas, pero tiene un efecto menor en los pulmones y los riñones, concluyendo que las hojas de esta especie muestran una toxicidad muy baja (Alade, Martins, Akanmu, Osasan y Omobuwajo, 2009). Los resultados del estudio de los extractos acuosos de *B. forficata*, sobre células de médula ósea de ratas Wistar, no fueron citotóxicos, ya que no alteraron los procesos de mitosis; por lo tanto, presentan una importante actividad antioxidante (Düsman et al., 2013). La administración de una decocción acuosa de *B. forficata* no produce efectos tóxicos medibles con los marcadores enzimáticos, siendo un tratamiento potencial para la diabetes (Pepato, Martins, Vendramini y Brunetti, 2004).

B. racemosa, los extractos metanólicos administrados a ratones vía intraperitoneal, a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg, no mostraron respuestas conductuales anormales, no obstante, los ratones que recibieron una dosis de 400 mg/kg, mostraron ligeros síntomas de toxicidad; estos incluyen inactividad, pérdida de apetito, lentitud de movimientos, mareos, erección de pelos e hipotermia. Las propiedades antioxidantes y eliminadora de radicales libre puede ser efectiva dependiendo de la dosis utilizada (Gupta, Mazumder, Kumar y Kumar, 2004).

Toxicidad de la especie *Bauhinia variegata*

Las hojas de *Bauhinia variegata* han presentado actividad molusquicida contra el caracol *Lymnaea acuminata*, los extractos etanólicos fueron más tóxicos a comparación de los extractos con acetona, éter y cloroformo, su toxicidad depende del tiempo y la concentración, los constituyentes fitoquímicos saponinas y quercetina se caracterizaron e identificaron como los componentes molusquicidas activos (Lata, Singh y Kumar, 2012).

Las fracciones puras de kaempferol, estigmasterol, ácido protocatecúico y éster metílico del ácido protocatecúico, obtenidas de los extractos metanólicos de la corteza de *B. variegata*, se evaluaron frente a las líneas celulares del cerebro de rata con

glicoma (C-6), cáncer de mama (MCF-7) y cáncer de colon (HCT-15), para comprobar su citotoxicidad. Notándose una reducción significativa de manera dependiente de la dosis para diferentes fracciones, el kaempferol y la fracción de ácido protocatecúico mostraron una reducción máxima en la proliferación de células C-6, el ácido protocatecúico mostró la máxima citotoxicidad contra la línea celular MCF-7 y en el caso de la línea celular HCT-15, se observó una citotoxicidad máxima contra las células cancerosas por parte del éster metílico; presentando una actividad antioxidante y citotóxica significativa (Sharma et al., 2019).

En una investigación por Garduño (2019), los extractos metanólicos de las hojas de *B. variegata* se fraccionaron para obtener la porción hexánica, de acetato de etilo y butanólica, los valores obtenidos para la concentración letal media (CL_{50}) para el extracto butanólico fue de 7,82 $\mu\text{g/mL}$, considerándose extremadamente tóxico; mientras que los extractos hexanoicos y acuosos de las hojas, 48,19 y 78,49 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, se consideraron muy tóxicos, entre tanto, los extractos de proteínas CL_{50} de 142,45 $\mu\text{g/mL}$, metanólico 182,51 $\mu\text{g/mL}$ y de acetato de etilo 236,84 $\mu\text{g/mL}$, son moderadamente tóxicos para *Artemia salina*. En ratones los extractos metanólico, butanólico, de acetato de etilo y acuoso no mostraron toxicidad.

Determinación de la toxicidad sobre *Artemia salina*

Artemia salina

Es un artrópodo primitivo típico, con un cuerpo segmentado con apéndices en forma de hojas anchas, la longitud total suele ser de unos 8 a 10 mm para el macho adulto y de 10 a 12 mm para la hembra, el ancho de ambos sexos, incluidas las patas, es de unos 4 mm (Figura 14). El cuerpo se divide en cabeza, tórax y abdomen. La cabeza consta de un segmento prostomio y cinco metaméricos, que llevan en orden, los ojos y el labrum, las primeras antenas y segundas antenas, las mandíbulas, las primeras maxilas o maxilulas y las segundas maxilas o maxilares. El tórax se compone de once segmentos, cada uno provisto de un par de patas para nadar, mientras que el abdomen está compuesto por ocho segmentos; los dos segmentos abdominales anteriores a menudo se denominan segmentos genitales, el primero lleva los gonópodos, ya sea el

ovisaco de la hembra o los penes pares del macho, los segmentos abdominales del dos al siete carecen de apéndices. El octavo o último segmento abdominal posee los cercópodos (Abatzopoulos, Clegg, Beardmore y Sorgeloos, 2013).

Artemia salina es un crustáceo sensible a un amplio rango de compuestos con actividad biológica y de muy diversas estructuras químicas, en 1956, Michael y colaboradores propusieron su uso para pruebas de toxicidad y posteriormente desarrollado por Vanhaecke y otros; se ha empleado sucesivamente como guía de bioensayo para agentes citotóxicos y antitumorales activos desde 1982. Presentado para la búsqueda de nuevos metabolitos tóxicos, la determinación de la concentración letal 50 (CL₅₀) o el porcentaje de mortalidad que produce una sustancia (González, Presa, Latorre y Lurá, 2007; Quazi, Fatema y Mir, 2017).

Figura 14

Características macroscópicas del macho y hembra adultos de Artemia salina



El macho posee antenas en forma de pinzas grandes, mientras que la hembra sus antenas son pequeñas. Tomado de Martín, 2015.

Ensayo de letalidad en Artemia salina

El ensayo de letalidad de camarones en salmuera (*Artemia salina*) o también llamados camarones de hadas o monos marinos, es una herramienta importante para el ensayo preliminar de citotoxicidad de extractos de plantas y otros compuestos, como toxinas fúngicas o de bacterias, metales pesados, etc., basados en la capacidad de matar larvas cultivadas en laboratorio. Los nauplios son expuestos a diferentes concentraciones de extracto vegetal durante 24 horas, el número de nauplios móviles

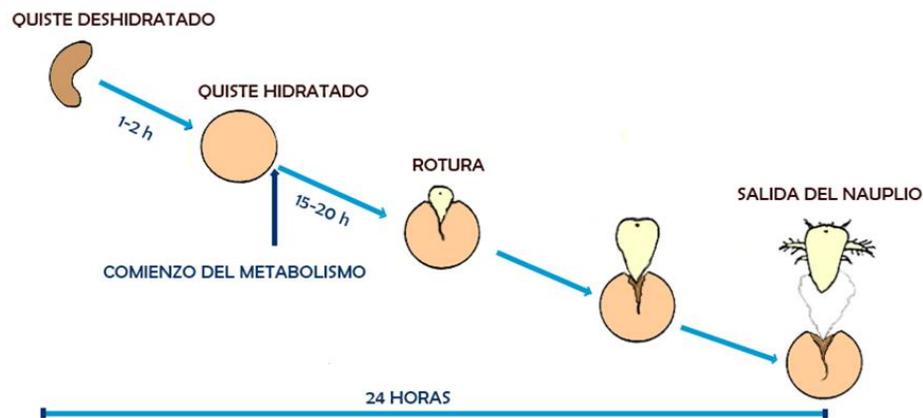
se calcula para la eficacia del extracto, es una técnica simple y rentable, ya que se utiliza una pequeña cantidad de material de prueba (Quazi et al., 2017).

Se deben considerar varios factores antes de comenzar este ensayo, cada huevo parece un pequeño grano de arena fina, una cucharadita contiene miles de huevos, si se mantienen frescos y secos son viables durante varios años, poseen gran resistencia, son de fácil almacenamiento y conservación, tienen rapidez en el proceso de eclosión y un alto valor nutritivo, los nauplios se pueden alimentar y mantener las artemias vivas durante meses (Martín, 2015; Quazi et al., 2017).

El huevo eclosionará en nauplios en presencia de solución salina, el porcentaje de solución salina varía de 2 a 4%, el mejor resultado se obtiene en presencia de sal marina en lugar de sal yodada o sal de grado reactivo. Se recomienda el uso de agua de mar, si no está disponible, se puede utilizar agua destilada. El ajuste de pH del agua es muy importante para la eclosión de los huevos, el rango de pH óptimo es $8,0 \pm 0,5$, utilizando hidróxido de sodio o carbonato de sodio, para así evitar la letalidad de los nauplios causado por la disminución del pH durante la incubación. Los huevos flotarán en la superficie y la penetración de la solución salina en ellos iniciará el desarrollo de los nauplios (Figura 15), se requiere oxígeno, el cual se obtiene directamente del aire por los huevos flotantes en temperatura ambiente, los nauplios emergerán de 20 a 30 horas después de humedecerse (Quazi et al., 2017).

Figura 15

Proceso de eclosión de nauplios de Artemia salina



Tomado de Martín, 2015.

Durante el período de estudio, los nauplios no reciben alimento, la muerte puede deberse al efecto del extracto de la planta o la inanición; para garantizar el efecto de mortalidad del extracto vegetal, el control contiene sólo nauplios. En cualquier caso, los nauplios eclosionados pueden sobrevivir hasta 45 horas sin alimento porque todavía se alimentan de su saco vitelino. El número de nauplios muertos se cuenta después de 24 horas, el punto final de mortalidad se define como la ausencia de movimiento hacia adelante controlado durante 30 segundos de observación y, por último, se calcula el porcentaje de letalidad de los nauplios para cada concentración y control (Quazi et al., 2017).

Toxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *B. variegata* frente a *A. salina*

Martínez, Ocampo, Galvis y Valencia (2011), en un estudio que incluyó la actividad citotóxica in vivo de los extractos etanólicos y fracciones alcaloidales de las hojas de *Bauhinia variegata* L, para la determinación del potencial citotóxico por medio del bioensayo sobre "camarones de mar" (*Artemia salina*). Se evaluaron muestras a concentraciones de 1000, 500 y 250 µg/mL, solubilizadas en etanol. Los datos reportados para el extracto crudo (EC), la fracción de alcaloides totales (AT) y el compuesto CD1 (compuesto alcaloidal), demostraron que el AT y CD1 presentaron niveles altos de toxicidad, 129,96 µg/mL y 302,37 µg/mL, respectivamente; esta toxicidad se atribuye a que la concentración letal media (CL₅₀) se mantuvo entre 100 y 500 µg/mL (Tabla 9). Para el EC evaluado, se evidenció menor número de individuos muertos, sin embargo, presentó valores en la CL₅₀ mayores que la máxima concentración evaluada.

Tabla 9

Concentraciones letales medias y bioactividad de los extractos de las partes aéreas de B. variegata

Tratamiento	CL ₅₀ (µg/mL)	Bioactividad		
		Muy activo (≤ 100 µg/mL)	Activo (100-500 µg/mL)	Potencialmente no activo (≥ 1000 µg/mL)
EC	5,48 x 10 ⁶	-	-	+
AT	302,376	-	+	-
CD1	129,966	+	-	-

Fuente: Martínez, Ocampo, Galvis y Valencia, 2011.

La actividad citotóxica reportada se debe al efecto sinérgico del conjunto de metabolitos secundarios que pudieron evidenciarse en la planta y a los cuales también se les reconoce esta actividad (alcaloides y terpenos), que explica así la toxicidad mostrada por la fracción de los alcaloides totales; el extracto crudo presentó menor toxicidad (CL₅₀ > 1000 µg/mL), mientras que la fracción de los alcaloides totales y el compuesto CD1 mostraron alta toxicidad (CL₅₀ < 500 µg/mL).

En 2014, Pimentel, Gómez y Castillo, concluyeron que el extracto de *B. variegata* no presenta toxicidad frente *Artemia salina*. Para su evaluación, se preparó una solución de 2000 µg/mL del extracto polar en DMSO (Dimetilsulfóxido) al 10% y se realizaron diluciones seriadas de 1000, 500, 250, 100, 50, 25, 10 y 5 µg/mL; el valor del percentil 50 (CL₅₀) fue de 1205,61 µg/mL con un intervalo de confianza del 95% y con un p-valor menor de 0,01, indicando una relación estadísticamente significativa entre las variables. El grado de toxicidad se definió en función del rango en que se encontró el valor de CL₅₀, de acuerdo a las categorías siguientes: extremadamente tóxico (CL₅₀ < 10 µg/mL), muy tóxico (10 < CL₅₀ < 100), moderadamente tóxico (100 < CL₅₀ < 1000) y no tóxico (CL₅₀ > 1000 µg/mL). Por lo tanto, el extracto de *B. variegata* se considera no tóxico. En la Tabla 10, se observan los resultados del ensayo de la actividad citotóxica frente *Artemia salina*.

Tabla 10

Ensayo de toxicidad del extracto polar a diferentes concentraciones frente Artemia salina

Concentración	Larvas totales	\bar{x} Larvas muertas	% Larvas muertas
1000 $\mu\text{g/mL}$	20	6,7	33,3
500 $\mu\text{g/mL}$	20	6,3	31,7
250 $\mu\text{g/mL}$	20	4,7	23,3
100 $\mu\text{g/mL}$	20	3	15
50 $\mu\text{g/mL}$	20	2,3	11,7
25 $\mu\text{g/mL}$	20	2	10
10 $\mu\text{g/mL}$	20	0,7	3,3
5 $\mu\text{g/mL}$	20	0,3	1,7

Fuente: Pimentel, Gómez y Castillo, 2014.

Diferentes extractos de cada parte de la planta *B. variegata*, en los ensayos de letalidad de camarones en salmuera (crustáceos del género *Artemia*), presentaron un porcentaje significativo de mortalidad en extractos polares bajos y moderadamente altos, específicamente, los extractos de n-hexano y acetato de etilo del tallo y las raíces exhiben más del 90% de mortalidad, con rangos de CL_{50} entre 1,58 y 13,79 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Sin embargo, los extractos de raíces con n-hexano y acetato de etilo también mostraron una mortalidad significativa con una concentración letal media de 10,4 a 24,02 $\mu\text{g/mL}$. Deduciendo que los extractos de n-hexano y acetato de etilo de corteza, tallo y raíces podría ser una fuente de metabolitos secundarios citotóxicos (Kamal et al., 2022).

Definición operacional de términos

Potencial

Es aquello que puede suceder o existir en un futuro, en contraposición de lo que existe, dicho esto, es algo que dispone de potencia, tiene la capacidad para hacer algo o producir un efecto (Larousse, 2011; Real Academia Española, s.f., definición 4).

Taxonomía

Es la ciencia que establece la clasificación a base de las relaciones filogenéticas de las plantas y la nomenclatura, en consecuencia, ordena grupos de plantas o seres vivos emparentados entre sí, poseedores de características comunes (Marzocca, 1985).

Forraje

Larousse. (2011), define la palabra forraje como pasto para alimentar animales. La alimentación de los rebaños se fundamenta en el uso de pastos y forrajes, como principal fuente de alimentación para rumiantes y herbívoros, para obtener altos niveles de rendimiento y productividad, con beneficios agrícolas, zootécnico y económico (Sierra, 2005; Perozo, 2013).

Etnoveterinaria

Definida como la disciplina científica que realiza la investigación y aplicación sistemática de los conocimientos populares, prácticas, recursos y tecnologías, pertenecientes a cualquier aspecto de la salud animal y, su interpretación a través de la medicina veterinaria occidental (McCorkle, 1986). De este modo, buscar estrategias realmente factibles para la población campesina rural, que permitan mejorar la productividad de sus animales y, por ende, su calidad de vida; con modelos alternativos de producción, sostenibles tanto a nivel económico, social, técnico, cultural y ecológico. Incluyendo la elaboración de concentrados balanceados caseros para la alimentación animal a partir de recursos existentes en la zona, promoción y recuperación de razas animales autóctonas y el uso de plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades en el ganado (Isern, 2007).

Metabolito

Es una sustancia producida a partir de un conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en un organismo vivo, sea animal o vegetal, y constituye lo que se conoce como metabolismo (Ávalos y Pérez, 2009).

Extractos

Son sustancias obtenidas de procesos químicos, por medio de solventes, que selectivamente extraen uno o más componentes de la mezcla (Sánchez y Gándara, 2011).

Toxicidad

Se denomina toxicidad a la capacidad que posee una sustancia de poder actuar como nociva en un organismo vivo, bajo determinadas condiciones, vinculada a la estructura química de una sustancia exógena (xenobiótico) a las células del organismo (Gutiérrez y López, 2001).

Letalidad

Es el número de muertes que una enfermedad causa entre los enfermos que la padecieron, en una población determinada y durante un tiempo determinado. La tasa de letalidad nos indica la gravedad de una enfermedad, señala la proporción de enfermos de una enfermedad en específico, que mueren durante un lapso definido (Hernández, 2002).

Mortalidad

Se define como al número de personas que mueren en una determinada población, durante un período. El término incluye todas las causas de muerte, lo cual resulta en una tasa bruta de mortalidad (Hernández, 2002).

Dosis Letal 50 (DL₅₀)

Dosis calculada estadísticamente de un agente químico o físico, que se espera que provoque la muerte al 50 por 100 de los organismos de una población bajo un conjunto de condiciones definidas, también conocida como concentración letal media (CL₅₀) (Repetto y Repetto, 2009).

Definición operacional de las variables

Según Palella y Martins (2012), la definición operacional de las variables consiste en la transformación de un concepto abstracto en algo empírico, es el procedimiento mediante el cual se determinan los indicadores que caracterizan o

tipifican a las variables de una investigación; reflejándola en la población de estudio, con el fin de hacerlas observables y medibles con cierta precisión y facilidad.

En esta investigación se medirán las variables dependientes e independientes que no admiten valores intermedios y algunas continuas con dimensiones politómicas, el nivel de medición será nominal y los indicadores derivarán de las bases teóricas. El proceso de la operacionalización de las variables garantizará que los objetivos propuestos sean alcanzados (Tabla 11).

Sistema de Hipótesis

Hipótesis (HA)

La especie *Bauhinia variegata* Linn, perteneciente a la familia Fabaceae, ha demostrado potencial nutricional de sus partes aéreas, asimismo, presenta gran variedad de compuestos fitoquímicos relacionados con los usos y efectos farmacológicos que se le atribuyen. En consecuencia, es posible que la harina de las hojas de *Bauhinia variegata* recolectadas en el Estado Mérida, Venezuela, presenten interés nutricional, del mismo modo, en los diferentes extractos la presencia de alcaloides, terpenos, esteroides, polifenoles, taninos, flavonoides, saponinas y quinonas y, el extracto etanólico obtenido de las partes aéreas presente toxicidad frente a nauplios de *Artemia salina*.

Hipótesis nula (H0)

La especie *Bauhinia variegata* Linn, perteneciente a la familia Fabaceae, ha demostrado potencial nutricional de sus partes aéreas, asimismo, presenta gran variedad de compuestos fitoquímicos relacionados con los usos y efectos farmacológicos que se le atribuyen. En consecuencia, es posible que la harina de las hojas de *Bauhinia variegata* recolectadas en el Estado Mérida, Venezuela, no presenten interés nutricional, del mismo modo, en los diferentes extractos ausencia de alcaloides, terpenos, esteroides, polifenoles, taninos, flavonoides, saponinas y quinonas y, el extracto etanólico obtenido de las partes aéreas no presente toxicidad frente a nauplios de *Artemia salina*.

Tabla 11
Operacionalización de las variables independientes y dependientes

Variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional ¿Cómo se mide?	Dimensiones	Indicador
Composición nutricional	Independiente Cuantitativa Continua	Es la representación en relación con el valor energético y el contenido de proteínas, carbohidratos y grasas (Directrices del Codex, 1997).	Se mide a través del análisis proximal, el cual nos da un valor general de los componentes nutricionales de la planta (AOAC, 2000).	Contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos y minerales (cenizas).	Porcentaje de proteínas, lípidos, carbohidratos y cenizas.
Composición química	Independiente Cualitativa Nominal	Son todas aquellas sustancias que se producen durante el metabolismo de las plantas, también conocidas como metabolitos (Anaya, 2003).	A través del tamizaje fitoquímico que nos permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta (Rocha, 2000).	Presencia de terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos, alcaloides, quinonas, entre otros.	Aparición de precipitados, coloración, espuma y fluorescencia.
Toxicidad frente a <i>Artemia salina</i>	Dependiente Cuantitativa Continua	Es un ensayo preliminar de citotoxicidad de extractos de plantas y otros compuestos, basado en la capacidad de matar nauplios de <i>Artemia</i> cultivados en laboratorio (Quazi et al., 2017).	Mediante la exposición de los nauplios de <i>Artemia salina</i> frente a los extractos vegetales y determinar valores de dosis letal 50 (DL50).	- Extremadamente tóxico. - Altamente tóxico. - Moderadamente tóxico. - Ligeramente tóxico. - Prácticamente no tóxico. - Relativamente inocuo.	% de Letalidad Concentración letal 50 (CL ₅₀)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación

Para identificar el tipo de investigación es importante conocer la relación que se quiere estudiar, esta investigación es de tipo confirmatoria, puesto que, se confirmó la relación que existe entre el potencial nutricional, la composición química y la toxicidad de *Bauhinia variegata* Linn. Según Hurtado (2012), la investigación confirmatoria es aquella cuyo objetivo consiste en verificar una o más hipótesis derivadas de una teoría, a partir de la experiencia directa, ya sea mediante la observación o la experimentación.

Diseño de Investigación

El diseño de investigación hace explícitos los aspectos operativos del proyecto. Se refiere a dónde y cuándo se recopila la información, así como la amplitud de la misma, de modo que se pueda dar respuesta a la pregunta de investigación de la forma más idónea posible (Hurtado, 2012). Este proyecto tuvo un diseño de investigación de laboratorio, experimental, transeccional contemporáneo y unieventual. Se empleó un diseño de laboratorio, ya que la información se obtuvo de una fuente viva en un ambiente artificial para determinar su composición nutricional, química y actividad biológica tóxica. Experimental, puesto que la especie vegetal se manipuló para observar las reacciones y efectos. Transeccional contemporáneo, en lo que respecta a la temporalidad, fue un evento actual en un único momento del tiempo. La amplitud alude a la cantidad de eventos a estudiar, esta investigación se consideró unieventual, debido a que se analizó una variable dependiente e independiente.

Población y muestra

Unidad de investigación

El conjunto de entidades o individuos que poseen atributos o características similares, que se enmarcan dentro de los criterios de inclusión conforman la población, la cual va en función de los objetivos. La población puede ser definida como el conjunto finito o infinito de elementos, personas o cosas pertinentes a una investigación (Hurtado, 2012; Palella y Martins, 2012). De acuerdo con lo anterior, esta investigación tuvo una población infinita, de la planta de la especie *Bauhinia variegata* Linn.

Selección del tamaño de la muestra

Según Tamayo y Tamayo (1997), la muestra es el grupo de individuos que se toma de la población, para estudiar un fenómeno. El tamaño de la muestra estuvo representado por 1 kg de hojas verdes y frescas de *Bauhinia variegata* L.

Sistema de variables

Pérez (2009), define la variable independiente como la variable explicativa, determina la presencia de otro fenómeno, mientras que la variable dependiente es el resultado. Las variables de esta investigación serán sistematizadas como independiente (VI) y dependiente (VD). VI: Potencial nutricional y composición química de *Bauhinia variegata* L, VD: Toxicidad frente a *Artemia salina*. Estas variables permitieron garantizar el alcance de los objetivos planteados en esta investigación.

Instrumento de recolección de datos

Es cualquier recurso del cual pueda valerse el investigador para acercarse a los fenómenos y extraer información de ellos. En cada instrumento concreto pueden distinguirse dos aspectos diferentes: la forma del instrumento que se refiere a las técnicas utilizadas para lograrlo y, el contenido que se define como la especificación de los datos concretos que es necesario conseguir; se realiza, por lo tanto, mediante una serie de ítems que son los indicadores expresados (Palella y Martins, 2012). La recolección de datos se realizó mediante métodos de secado y extracción, a través, de estufas y por medio de la extracción continua con solventes orgánicos de las hojas de

la especie *Bauhinia variegata*, posteriormente se utilizaron técnicas de análisis químicos, para luego elaborar tablas y listas de cotejo de cada prueba realizada que nos permitieron medir y cuantificar los resultados, haciendo uso de un programa estadístico.

Procedimientos de la Investigación

Muestreo y recolección del material vegetal

Las partes aéreas de *Bauhinia variegata* Linn, fueron recolectadas en la Parroquia Domingo Peña, Sector Campo de Oro, detrás del IAHULA en el Jardín de Plantas Medicinales “Doctor Luis Ruiz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, a una altitud de 1550 m.s.n.m. Para el muestreo se seleccionaron aproximadamente 1 kg de hojas verdes y frescas de la planta (Figura 16), en buen estado de conservación, posteriormente para su almacenamiento y traslado se resguardaron en una bolsa plástica.

Figura 16

Recolección y pesaje de las partes aéreas (hojas) de *Bauhinia variegata*



Se tomaron hojas, flores y tallos para la elaboración e identificación del vóucher. La planta fue identificada botánicamente por el Prof. Pablo Meléndez González, Director-Curador Herbario MERF, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, con el número de muestra #01 (Figura 17). Se depositó una muestra para el vóucher en el herbario MERF “Dr. Luis Enrique Ruiz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Municipio Libertador.

Figura 17

Vóucher y certificado de determinación de la muestra en el herbario MERF



El material vegetal recolectado fue pesado en una balanza mecánica, teniendo un pesaje de las hojas frescas de 820 g, se secó en una estufa marca Shel Lab a 60 ° C por 24 horas, luego la hoja seca se pesó en una balanza electrónica marca Denver Instrument modelo XE-4100, teniendo un peso de 205,20 g de material seco, posteriormente fue molido en licuadora y almacenado en una bolsa con cierre hermético en un lugar seco y a temperatura ambiente (Figura 18).

Figura 18

Secado, molienda y almacenamiento del material vegetal



Análisis proximal de *Bauhinia variegata*

En este análisis se determinaron los contenidos en porcentaje (%) de humedad, cenizas, lípidos crudos, proteína cruda y extracto libre de nitrógeno. Estas determinaciones se realizaron en el Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, bajo la supervisión del Dr. Tomás Visbal y la Dra. Marielba Morillo. Según la metodología descrita por Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (AOAC, 2000).

Determinación de Humedad

El material molido fue pesado en tres porciones, en cápsulas de vidrio previamente taradas, el pesaje de las muestras fue de 3,085 g, 3,0614 g y 2,9414 g. Las muestras fueron llevadas a la estufa marca Felisa a 100 °C ± 5 °C por 24 horas, posteriormente se dejaron enfriar en un desecador (Figura 19) y, luego se pesó nuevamente la materia prima desecada en una balanza analítica marca Ohaus AR2140, por último, se calcularon las diferencias de pesos y los porcentajes de humedad.

Cálculos

$$\% H = \frac{(PC + PM) - PCF}{PM} \times 100$$

Dónde:

% H = Contenido de humedad

PC = Peso de la cápsula de vidrio (g)

PM = Peso de la muestra (g)

PCF = Peso de la cápsula final (g)

Figura 19

Pesado, calentamiento y enfriamiento de las muestras para la determinación de humedad



Determinación de Cenizas

La muestra pulverizada se pesó en crisoles de porcelana, en una balanza eléctrica marca Ohaus, 3,0214 g, 3,0072 g y 3,0122 g, luego fue calcinada sobre un triángulo de porcelana por calentamiento directo con la llama del mechero bajo campana de extracción, más tarde, los crisoles con las muestras se llevaron a una mufla marca Lindberg/Blue modelo BF51732C-1 a 600 ° C por 24 horas, para su posterior incineración, hasta obtener cenizas blancas (Figura 20), se realizó a través del método calcinación-incineración. Se dejaron enfriar en un desecador y, por último, se pesaron nuevamente los crisoles con el contenido de ceniza.

Cálculos

$$\% C = \frac{PCV - PCF}{PM} \times 100$$

Dónde:

% C = Contenido de cenizas

PCV = Peso del crisol vacío (g)

PCF = Peso del crisol final (g)

PM = Peso de la muestra (g)

Figura 20

Pesado de la muestra, calcinamiento sobre mechero y obtención de cenizas blancas



Determinación de Proteína cruda

El contenido de nitrógeno total se determinó a través del método de micro Kjeldahl, donde se cumplieron tres etapas: digestión, destilación y titulación. Sobre un papel de celulosa se pesaron 0,1 g de muestra y se introdujo en un balón aforado de 30 mL, dónde se sometió a un proceso de digestión con 2 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado al 98 % más los catalizadores sulfato de sodio (Na_2SO_4) 1 g y sulfato de cobre (CuSO_4) 0,1 g, adicionalmente se le agregó 3 perlas de vidrio para evitar una fuerte ebullición, luego se llevó a un equipo de micro Kjeldahl por aproximadamente 2 horas, la muestra se tornó de un color verde claro (ensayo por triplicado) (Figura 21). Post digestión, se dejaron enfriar las muestras y se diluyeron con agua destilada, se llevaron al equipo de destilación y el contenido de nitrógeno total bajo la forma de sulfato de amonio (NH_4) $_2$ SO_4 se hizo reaccionar con 8 mL de una solución catalizadora de hidróxido de sodio (NaOH) y tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), el amoniaco liberado se recolectó en una fiola con 5 mL de ácido bórico (H_3BO_3) y 3 gotas de reactivo de

Tashiro (como indicador), tomando una coloración de púrpura a verde (Figura 22), originando borato de amonio, el cual se tituló en una con ácido clorhídrico (HCl) al 0,02 N (Figura 23).

Cálculos

$$\% N = \frac{V_{\text{HCl}} \times N (0,02) \times \text{Eq. N} (14)}{10 \times \text{PM}}$$

$$\% P = \% N \times F (6,25)$$

Dónde:

% N = Contenido de nitrógeno

% P = Contenido de proteína cruda

V_{HCl} = Volumen gastado de ácido clorhídrico (mL)

N = Normalidad del ácido estándar

PM = Peso de la muestra (g)

Figura 21

Proceso de digestión de proteínas en equipo de micro Kjeldahl



Figura 22

Dilución y destilación de las muestras para la determinación de proteínas



Figura 23

Titulación con ácido clorhídrico al 0,02 N



Determinación de Lípidos crudos

Para la determinación del contenido de grasas, se realizó por el método mejorado de Soxhlet. Se pesaron 3,2809, 3,1112 y 3,0556 g de muestra y se añadieron en dedales de celulosa, previamente tarados y rotulados, tapándolos con algodón. Posteriormente, se pesaron 3 balones con 1 perla de vidrio y se adicionó en cada uno 50 mL de éter de petróleo (Figura 24), dentro se colocaron los dedales con las muestras

y se procedió a introducir los balones en el equipo de extracción semiautomático marca Velp Científica SER 148, conectando los adaptadores metálicos a los dedos por la parte imantada y centradas en el plato correspondiente, cerrando el sistema con la palanca de sellado (Figura 25). Se inició el programa n.º 1 a 110 ° C, comenzando con el tiempo de inmersión por 30 min., luego la etapa de lavado por 60 min y por último la etapa de recuperación por 30 min., para posteriormente recoger el solvente. Transcurrido el tiempo se destiló el éter hasta su completa evaporación, se abrió el sistema de sellado hermético, en seguida, se llevaron los balones a la estufa a 100 ° C de 10 a 15 min., se dejaron enfriar en un desecador y, finalmente, se pesó cada vaso y el peso del extracto de cada muestra se determinó por diferencia de peso.

Cálculos

$$\% G = \frac{PBV - PBG}{PM} \times 100$$

Dónde:

% G = Contenido de lípidos crudos

PBV = Peso del balón vacío (g)

PBG = Peso del balón + extracto graso (g)

PM = Peso de la muestra (g)

Figura 24

Preparación de las muestras para la determinación de grasas



Figura 25

Equipo de extracción semiautomático, utilización del programa n.º 1



Determinación de los Extractos libre de nitrógeno

Se obtuvo al restar a 100 los porcentajes del contenido calculado para cada analito.

Cálculos

$$\% \text{ CH} = 100 - (\% \text{ H} + \% \text{ C} + \% \text{ P} + \% \text{ G})$$

Dónde:

% CH = Contenido de carbohidratos

Obtención de los extractos vegetales

Los extractos fueron obtenidos a través del método de maceración en frío, se pesaron tres porciones de muestra pulverizada, cada una de 15 g y se agregaron a 3 envases de vidrio por separado, previamente rotulados. A cada envase se le adicionó 100 mL de un solvente, siendo Etanol, Hexano y Diclorometano (DCM), respectivamente. Las muestras se procedieron a cubrir con papel aluminio y se llevaron a la campana de extracción, donde se dejaron en reposo durante 72 horas. Finalmente, se filtró la materia húmeda en un embudo con papel filtro y se recuperaron cada uno de los solventes en un envase de vidrio, se dejaron evaporar bajo la campana y se procedió a cerrar herméticamente (Figura 26).

Figura 26

Preparación de los diferentes extractos de las partes aéreas de Bauhinia variegata



Tamizaje fitoquímico de *Bauhinia variegata*

Consiste en la extracción con solventes orgánicos y la aplicación de reacciones de coloración, cada uno de los extractos serán analizados cualitativamente siguiendo la metodología descrita por Harborne (1973), a través, de las siguientes pruebas:

Alcaloides

Ensayo de Wagner. Se pesaron aproximadamente 100 mg del extracto etanólico y se adicionaron 10 mL de HCl al 10 %, la reacción se sometió a calentamiento a baño de maría hasta ebullición por 30 min., se filtró y el material obtenido se repartió en 3 tubos de ensayo. A cada tubo se le adicionaron de 3 a 5 gotas del reactivo correspondiente (Wagner). Para finalizar, la positividad de la prueba estuvo indicada por la aparición de un precipitado en cada uno de los tubos.

Triterpenos y/o esteroides

Ensayo de Liebermann-Burchard. Se tomaron 3 tubos de ensayo y a cada uno se le agregó un extracto diferente, se disolvieron en 0,5 mL de DCM, luego se les adicionó 0,5 mL de ácido acético y, por último, por las paredes del tubo lentamente se adicionaron gotas de H₂SO₄ concentrado. La aparición de una coloración verde o roja, indicó la presencia de esteroides o terpenos, respectivamente.

Polifenoles

Reacción de FeCl₃. Los extractos etanólico y diclorometano, se disolvieron en 0,5 mL de etanol, a cada tubo se le adicionó una gota de tricloruro de hierro (FeCl₃) al 10 %. La prueba se consideró positiva por la aparición de un color negro, verde o morado indicando la presencia de fenoles.

Taninos

Ensayo de la gelatina. Se preparó una solución de gelatina al 10 % y se adicionó a un tubo de ensayo, posteriormente, se puso en contacto con el extracto etanólico disuelto en agua. La presencia de turbidez, precipitado o ruptura de la gelatina indica la positividad de la prueba para taninos, mientras que, la ausencia de alguna de estas manifestaciones indicó la negatividad de la misma.

Flavonoides

Ensayo de Shinoda. En 2 tubos de ensayo de ensayo, por separado se adicionaron los extractos etanólico y diclorometano, se disolvieron en 0,5 mL de Etanol y por las paredes del tubo se le adicionaron de 2 a 3 gotas de HCl concentrado, por último, se le adicionaron virutas de magnesio. La formación de coloraciones rojo o naranja, indican la positividad de la prueba.

Saponinas

Ensayo de la espuma. Se tomó una pequeña cantidad de cada uno de los extractos y se adicionaron por separado en un tubo de ensayo, la muestra de cada tubo se disolvió en 0,5 mL de agua y se agitó vigorosamente por 1 min., para la formación de espuma. Se midió la altura de la espuma en milímetros, al principio y luego de haber dejado la muestra en reposo durante 5 min. La positividad de la prueba se considera por la altura alcanzada de la espuma transcurrido el tiempo de reposo, se interpretó

negativa si la altura es menor o igual a 3 mm, 6 mm moderada y mayor o igual a 8 mm abundante para saponinas.

Quinonas

Ensayo de Borntrager. Se disolvió el extracto etanólico en 0,5 mL de Etanol, se agregó de 2 a 3 gotas hidróxido de amonio (NH_4OH) concentrado al 25 % y después de 2 min., la aparición de un color rojo indica la presencia de antraquinonas.

Cumarinas

Ensayo para cumarinas. El extracto etanólico disuelto en Etanol, se agregó 2 gotas de hidróxido de amonio concentrado, se aplicó luz ultravioleta y la aparición de una fluorescencia azul o violeta indica la presencia de cumarinas.

Evaluación de la toxicidad frente a nauplios de *Artemia salina*

Se preparó 1 L de una solución marina (agua de mar artificial), que proporcionó las condiciones para el desarrollo de los nauplios de *Artemia* y se mantuvo en aireación durante 72 horas para su oxigenación (Figura 27), la composición química de la solución marina se muestra en la Tabla 12.

Tabla 12

Composición química del agua de mar artificial, usada en el cultivo y eclosión de los quistes

Sales	g/L
Cloruro de sodio (NaCl)	27,65
Sulfato de magnesio hexahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	14,29
Cloruro de magnesio hexahidratado ($\text{MgCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	5,18
Cloruro de potasio (KCl)	0,697
Bicarbonato de sodio (NaHCO_3)	0,143
Carbonado de sodio (Na_2CO_3)	0,035
Cloruro de calcio (CaCl_2)	1,54
Agua destilada estéril	1000 mL

Figura 27

Preparación del agua de mar artificial



La solución se distribuyó en dos matraces Erlenmeyer de 500 mL hasta el aforo, posteriormente, se pesaron 200 mg de quistes de *Artemia* y se trasvasaron en uno de los matraces (Figura 28), incubando a una temperatura de 28 ± 2 ° C e iluminación y aireación constante durante 24 horas, que es el tiempo que tardan en eclosionar (Figura 29). Los otros 500 mL de solución marina (SM) se utilizaron para preparar las diluciones del extracto etanólico y el posterior llenado de las placas.

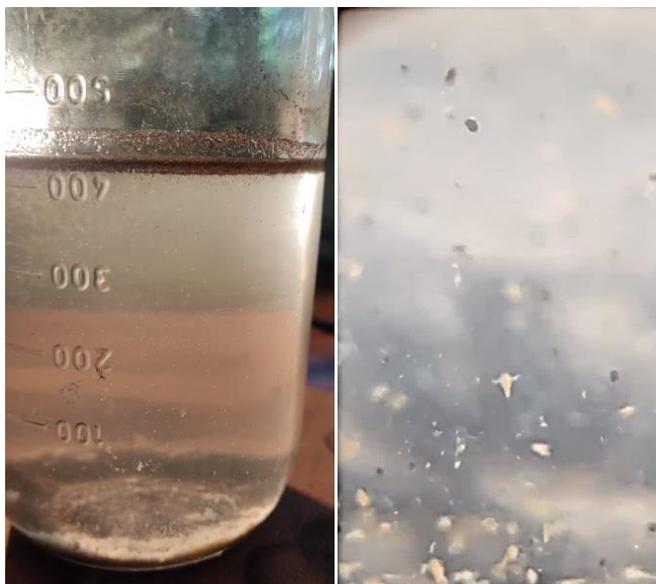
Figura 28

Preparación de los quistes de Artemia salina



Figura 29

Imagen ampliada de la eclosión de los quistes a nauplios de Artemia salina



El bioensayo se realizó en microplacas de 96 pozos, a cada pozo se le adicionó 130 μL de solución marina, 10 μL de levadura comercial [5 mg/mL] y 10 μL de solución con larvas que aproximadamente corresponden a 15 nauplios por pozo, en seguida se aplicó iluminación permanente y se procedió a incubar por 24 horas, para estimular su actividad metabólica (Figura 30). Se prepararon 6 diluciones de los extractos (1:9) correspondiendo (DMSO:SM), utilizada para las diluciones y los controles; transcurrido el tiempo se colocaron 50 μL de cada dilución del extracto etanólico de *Bauhinia variegata* L, a diferentes concentraciones (5, 25, 250, 750, 1250 y 2500 ppm) y se incubó por 24 horas más con iluminación. Para el control negativo se utilizó Dimetilsulfóxido (DMSO) en solución marina, sin la muestra a ensayar y, para el control positivo se adicionó DMSO al 10%, con seis replicas para cada grupo.

Al inicio del ensayo se registró el número de nauplios vivos (NV) en cada pozo, al cabo de 24 horas, al estar en contacto con los extractos ensayados, se realizó el conteo del número de nauplios muertos (NM) (Figura 31), para posteriormente determinar el porcentaje de letalidad y la dosis letal 50 (DL_{50}). Se calculó el porcentaje de letalidad mediante la ecuación:

$$\% \text{ Letalidad} = \left(\frac{\text{NM}}{\text{NV}} \right) \times 100$$

Dónde:

NM = Número de nauplios muertos

NV = Número de nauplios vivos

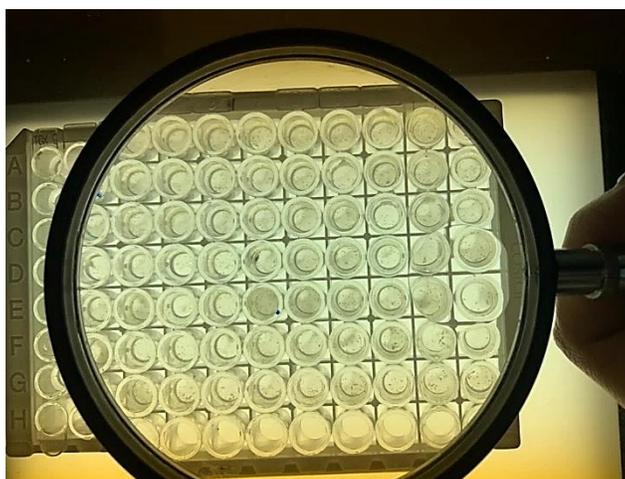
Figura 30

Preparación de las microplacas con diferentes diluciones



Figura 31

Contaje de nauplios muertos para determinar el porcentaje de letalidad



Para finalizar, la DL_{50} de los extractos y de los controles evaluados se clasificó según la toxicidad, tomando como referencia las recomendaciones del programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el desarrollo (CYTED) (Tabla 13).

Tabla 13

Clasificación de toxicidad según CYTED

Categoría	Concentración DL ₅₀ (µg/mL)
Extremadamente tóxico	1-10
Altamente tóxico	10-100
Moderadamente tóxico	100-500
Ligeramente tóxico	500-1000
Prácticamente no tóxico	1000-1500
Relativamente inocuo	>1500

Diseño de análisis estadístico

Una vez recogidos los valores que toman las variables del estudio, se procedió a su análisis estadístico, fundamentado en la estadística descriptiva e inferencial. El uso de instrumentos de medición y comparación (teoría) que proporcionan datos cuyo estudio necesita la aplicación de modelos matemáticos y estadísticos, hace que esta investigación se haya desarrollado bajo un enfoque cuantitativo (Palella y Martins, 2012). La naturaleza de las variables medidas fue de tipo cualitativa y cuantitativa, mediante una escala nominal y ordinal, así como, una escala de intervalo y de razón, respectivamente.

Variables estadísticas

En esta investigación las variables fueron clasificadas desde su naturaleza y escala de medida (Tabla 14), con el fin de establecer el indicador estadístico conveniente.

Sistematización de los resultados

Previa aplicación de las técnicas de análisis estadístico, se obtienen los resultados de la investigación, lo cual nos permitió su exposición escrita mediante la representación numérica en cuadros (tablas) (Palella y Martins, 2012). El estudio estadístico se realizó con el programa IBM SPSS versión 25. A su vez, los datos

obtenidos fueron estudiados estadísticamente, por medio, del análisis de regresión PROBIT; para la determinación del % de letalidad y el cálculo de la dosis letal 50 (DL₅₀).

www.bdigital.ula.ve

Tabla 14*Variables estadísticas según la naturaleza, escala de medida e indicadores estadísticos*

Variables	Tipo de variables			Escala de medida				Indicador Estadístico
	Cualitativa	Cuantitativa		Nominal	Ordinal	Intervalo	Razón	
		Discreta	Continua					
Composición nutricional	No	No	Si	No	No	No	Si	Frecuencias absolutas y valores relativos Medidas de tendencia central y dispersión
Composición química	Si	No	No	Si	No	No	No	Ausencia/presencia
Toxicidad	No	No	Si	No	No	Si	No	Frecuencias absolutas y porcentajes Medidas de tendencia central y dispersión

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

Análisis proximal de las partes aéreas de *Bauhinia variegata*

El contenido de humedad, cenizas, proteínas, lípidos y carbohidratos de las partes aéreas de la especie forrajera *Bauhinia variegata*, se ilustra en la Tabla 15, en base a la masa seca (harina).

Tabla 15

*Composición nutricional de *Bauhinia variegata* L*

Nutrientes	Contenido (%)
Humedad	1,48
Cenizas	5,29
Proteínas	23,17
Lípidos	1,27
Carbohidratos	68,8

Determinación del porcentaje (%) de rendimiento de los extractos de etanol, hexano y diclorometano de *B. variegata*

Para la determinación del % de rendimiento se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% R = \frac{\text{Peso Final del Extracto obtenido}}{\text{Peso Inicial de la muestra}} \times 100$$

En la Tabla 16, se presentan los resultados del % de rendimiento de los diferentes extractos.

Tabla 16*Porcentaje de rendimiento de los extractos de B. variegata*

Extracto	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Rendimiento (%)
EE	20,06	0,644	3,21
EDCM	7,832	0,126	1,61
EH	8,047	0,084	1,04

Nota. EE: Extracto Etanólico, EDCM: Extracto Diclorometano, EH: Extracto Hexanoico.

Estudio fitoquímico de los extractos de las partes aéreas de *B. variegata*

El análisis fitoquímico de los extractos de etanol, diclorometano y hexano, de las partes aéreas de *B. variegata* exhibió una distribución diferencial de fitoconstituyentes (Tabla 17), mediante pruebas químicas cualitativas para la identificación de los metabolitos secundarios. Se utilizaron diferentes reactivos químicos observándose reacciones de coloración, precipitación, fluorescencia y producción de espuma (Figura 32).

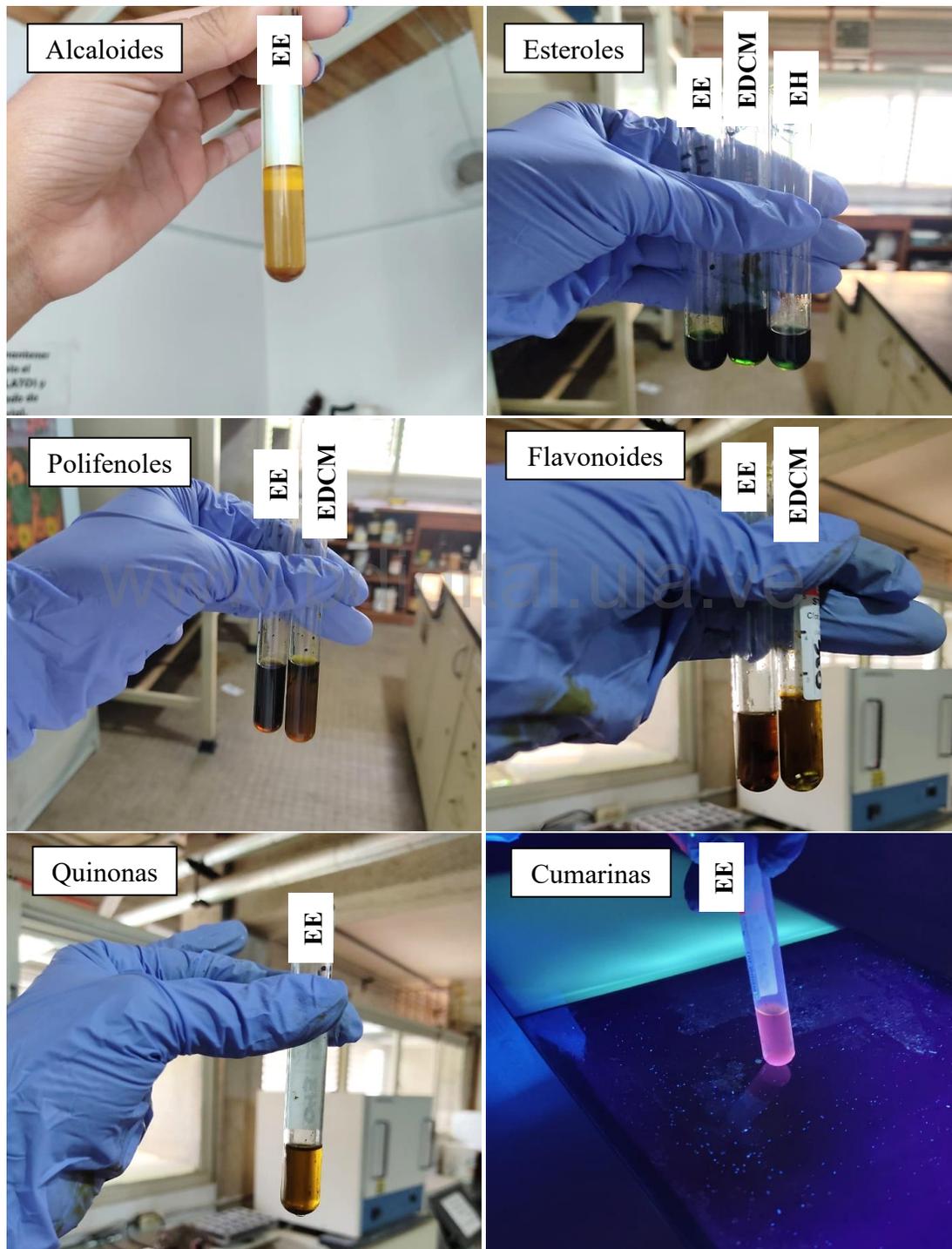
Tabla 17*Análisis fitoquímico de los extractos de las hojas de B. variegata*

Metabolitos secundarios	Ensayo	Extracto		
		Etanólico	DCM	Hexanoico
Alcaloides	Wagner	+	Nd	Nd
Esteroles		+	+	+
Terpenos	Liebermann-Burchard	-	-	-
Polifenoles	FeCl ₃	+++	+	Nd
Flavonoides	Shinoda	+	-	Nd
Saponinas	Espuma	-	-	-
Taninos	Gelatina	-	Nd	Nd
Quinonas	Borotrager	-	Nd	Nd
Cumarinas	Fluorescencia	+	Nd	Nd

Nota. DCM: Diclorometano, (+++): Muy abundante, (++): abundante, (+): presente en poca concentración, (-) ausente, Nd = No determinado.

Figura 32

Resultados obtenidos de los diferentes ensayos para la identificación de metabolitos secundarios



Nota. EE: Extracto de Etanol; EDCM: Extracto de Diclorometano; EH: Extracto de Hexano.

Evaluación de la toxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *B. variegata* frente a *A. salina*

Se midió la actividad tóxica mediante el porcentaje de letalidad que presentaron los nauplios de *Artemia salina* frente a diferentes concentraciones del extracto etanólico de las partes aéreas de *B. variegata*, posteriormente, se determinó la Dosis letal 50 (DL₅₀) del extracto. En la Tabla 18, se presentan los resultados del análisis PROBIT de la cuantificación de la DL₅₀ y de los controles sobre *Artemia salina*.

El grado de toxicidad del extracto se definió en función del rango que se encontró el valor de la DL₅₀ de acuerdo con las categorías siguientes del CYTED: extremadamente tóxico (1-10 µg/mL), altamente tóxico (10-100 µg/mL), moderadamente tóxico (100-500 µg/mL), ligeramente tóxico (500-1000 µg/mL), prácticamente no tóxico (1000-1500 µg/mL) y relativamente inocuo (>1500 µg/mL). Por lo tanto, el extracto etanólico de las partes aéreas de la especie *Bauhinia variegata* se considera relativamente inocuo, encontrándose en una concentración >1500 µg/mL.

Tabla 18

Cuantificación de la DL₅₀ del extracto etanólico de las partes aéreas de Bauhinia variegata Linn y los controles sobre Artemia salina

Extracto	DL ₅₀ (ppm)	Límite de confianza (95% ppm)		Categoría según el CYTED
		Límite inferior	Límite superior	
Partes aéreas	2489,25			Relativamente inocuo
DMSO	-	-	-	Inocuo
DDSS	23,372	13,507	28,026	Altamente tóxico

Nota. DL₅₀ (ppm): Dosis letal 50 en ppm; (-) signo negativo: valores muy altos; DMSO: Dimetil sulfóxido; DDSS: Dodecil sulfato de sodio.

Análisis PROBIT

El valor de DL₅₀ fue de 2489,25 µg/mL con un intervalo de confianza del 95%, y con un p-valor menor que 0,05, indicando una relación estadísticamente significativa entre las variables. La información del análisis se encuentra reflejada desde la Tabla 19 a la 22.

Tabla 19*Información de convergencia*

	Número de iteraciones	Se ha encontrado la solución óptima
PROBIT	20	No ^a

Nota. a. Las estimaciones de parámetro no han convergido.

Tabla 20*Estimaciones de parámetro*

Parámetro	Estimación	Desv.		Z	Sig.	Intervalo de confianza de 95 %	
		Error				Límite inferior	Límite superior
ppm	2,353	0,466		5,052	0,000	1,440	3,265
PROBIT ^a Intersección	-7,990	1,451		-5,505	0,000	-9,442	-6,539

Nota. a. Modelo PROBIT(p) = Intersección + BX (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo 10,000 base).

Tabla 21*Covarianzas y correlaciones de estimaciones de parámetro*

	ppm	Respuesta natural
PROBIT ppm	0,217	-0,243
Respuesta natural	-0,007	0,004

Nota. Covarianzas (abajo) y correlaciones (arriba).

Tabla 22*Prueba de chi-cuadrado*

	Chi-cuadrado	gl ^b	Sig.
PROBIT Prueba de bondad de ajuste de Pearson	8,603	3	0,035 ^a

Nota. a. Puesto que el nivel de significación es menor que 0,500, se utiliza un factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza; b. Las estadísticas basadas en casos individuales difieren de las estadísticas basadas en casos agregados.

Discusiones

En este trabajo de investigación se obtuvo como resultado del análisis proximal los contenidos de: proteínas 23,17%, humedad 1,48%, cenizas 5,29%, lípidos 1,27% y carbohidratos 68,8%, con un poco de diferencias a los resultados del trabajo previo realizado por Suksathan et al. (2021), del análisis proximal de las flores de la especie *B. variegata*, con un contenido de proteínas de 10,26%, humedad 2,10%, cenizas 5,97%, contenido de grasas 10,58% y carbohidratos 58,12%, evidenciando en las hojas un contenido de proteínas más elevado que la flor, sin embargo, el contenido de humedad y cenizas tienen valores parecidos, mientras que el contenido de lípidos en la flor de *B. variegata* es diez veces mayor que en las hojas. En comparación con el trabajo de Roa y Muñoz (2012), el promedio de cuatro repeticiones de las hojas de *B. variegata* mostró un contenido de proteínas 17,3%, cenizas 7,0%, grasas 5,7% y extracto libre de nitrógeno (ELN) 47,8%, asimismo, Celeita y Peralta (2015), llevaron a cabo una investigación donde obtuvieron en las hojas: proteína cruda 13,12%, cenizas 8,22%, grasas 3,50% y ELN 17,39%, mostrando menor cantidad de proteína y altos valores de cenizas y lípidos en comparación con este trabajo, además, el contenido de carbohidratos comparado con el trabajo de Celeita y Peralta, evidencia una gran diferencia.

En la búsqueda de alternativas para el uso de pastos y forrajes, Torres et al. (2006), estudiaron la composición nutricional de la planta en épocas diferentes del año, obteniendo en época de lluvia 12% de proteína cruda y un 11% en época de sequía, apreciando que el contenido de proteína no varía significativamente, mientras que los resultados de % de proteína en este trabajo es el doble. En relación con otras especies del mismo género, Gómez et al. (2017), estudiaron la composición nutricional de *B. divaricata* y *B. ungulata*, obteniendo 12,78 y 11,16% de proteína cruda, respectivamente. Por otro lado, Cáceres et al. (2003), evidenció en promedio un contenido de proteína bruta de 11,60%, comparando los resultados de ambos trabajos con este aporte, *B. variegata* presentó un alto contenido de proteínas.

Por otro lado, el análisis fitoquímico de los extractos etanólico, diclorometanoico y hexanoico de las partes aéreas de *Bauhinia variegata*, demostró la presencia de alcaloides, esteroides, flavonoides, polifenoles y cumarinas. Al compararlo el aporte realizado por Suksathan et al. (2021), el extracto etanólico mostró la presencia de flavonoides y no evidenció presencia de taninos y polifenoles, pero el extracto acuoso fue positivo para flavonoides y taninos, difiriendo del presente trabajo, que mostró la presencia de polifenoles y la ausencia de taninos. Finêncio y Mininel (2019), reportaron en los extractos hidroalcohólicos al 20% p/v de las hojas de *B. variegata*, flavonoides, esteroides y triterpenoides, alcaloides, saponinas, taninos, antraquinonas y glucósidos cardioactivos, al comparar estos resultados con la presente investigación no se evidenció la presencia de terpenos, saponinas, taninos y quinonas, habiendo una diferencia en ambos resultados.

Igualmente, se comparó con la investigación de Mishra et al. (2013), quienes identificaron diferentes metabolitos secundarios en extractos con éter de petróleo, benceno, cloroformo, acetato de etilo, acetona, agua y alcohol etanol, siendo este último el que mostró la presencia de todos los metabolitos estudiados, los cuales fueron: azúcares reductores, antraquinonas, terpenos, fenoles, flavonoides, saponinas, taninos y alcaloides, hallando metabolitos que presentaron ausencia en este trabajo, a excepción de los azúcares reductores que no fueron investigados.

Finalmente, se evaluó la toxicidad del extracto etanólico de las partes aéreas de *B. variegata*, obteniendo una dosis letal media (DL_{50}) de 2489,25 $\mu\text{g/mL}$, resultando ser según la categoría del CYTED relativamente inocuo, muy similar a los resultados del trabajo previo de Pereira da Silva et al. (2021), donde se utilizaron frutos y hojas secas para la preparación de un extracto con una solución hidroalcohólica al 95% v/v, los resultados indicaron una DL_{50} de 2182,76 $\mu\text{g/mL}$, evidenciando un bajo número de muertes, esto se puede deber a la ausencia de compuestos como saponinas y derivados de flavonoides. En 2014, Pimentel, Gómez y Castillo, realizaron un estudio en el que evaluaron la toxicidad de las hojas de *B. variegata* frente a *A. salina*, el extracto etanólico se obtuvo macerando con etanol al 96%, posteriormente, se concentró con un rotaevaporador; el valor de DL_{50} fue de 1205,61 $\mu\text{g/mL}$, con un intervalo de confianza

del 95% y con un p-valor menor de 0,01, indicando una relación estadísticamente significativa entre las variables, por lo tanto, el extracto de *B. variegata* se consideró atóxico. Al hacer la comparación con este trabajo hay un marcado intervalo de diferencia entre ambas dosis letales, sin embargo, ambos concuerdan al no presentar toxicidad frente a los crustáceos de *A. salina*. Cabe destacar que estos investigadores, reportaron cualitativamente la presencia abundante de flavonoides, taninos y saponinas, así como la ausencia de alcaloides, difiriendo en lo reportado de este trabajo.

Garduño (2019), realizó un estudio de los extractos metanólicos de las hojas de *B. variegata*, a partir de este extracto obtuvo el extracto de hexano, acetato de etilo y butanol, así como el extracto acuoso y de proteínas, las DL₅₀ fueron: 182,51 µg/mL, 48,19 µg/mL, 236,84 µg/mL, 7,82 µg/mL, 78,49 µg/mL y 142,45 µg/mL, respectivamente. Considerándose el extracto butanólico extremadamente tóxico, los extractos hexanoico y acuoso muy tóxicos y, los extractos metanólico, de acetato de etilo y proteínas fueron moderadamente tóxicos para *Artemia salina*, por la posible presencia de terpenoides, alcaloides y flavonoides. En comparación con este trabajo presenta grandes diferencias en los resultados, pero, la alta toxicidad puede deberse a la utilización de diferentes solventes. El butanol, es un disolvente usado para las resinas naturales, pero se emplea esporádicamente, es muy tóxico, irritante y de fácil absorción (Matteini y Moles, 2001).

Martínez et al. (2011), realizaron un estudio de los extractos etanólicos y fracciones alcaloidales de las hojas de *Bauhinia variegata*, para la determinación del potencial citotóxico, reportaron para el extracto crudo una DL₅₀ de 5,48 x 10⁶ µg/mL, clasificado como potencialmente no activo, la fracción de alcaloides totales tuvo una DL₅₀ de 302,376 µg/mL considerándose activo y, por último, el compuesto alcaloidal CD1 la DL₅₀ fue de 129,966 µg/mL, clasificado como muy activo. Esta actividad citotóxica se le atribuye al efecto sinérgico del conjunto de metabolitos secundarios que pudieron evidenciarse en la planta, alcaloides y terpenos. El efecto tóxico se puede deber a las fracciones aisladas, teniendo compuestos alcaloides más concentrados y puros, en comparación con esta investigación el extracto crudo confirma que *B. variegata* no presenta toxicidad frente a *A. salina*.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- La determinación de la composición nutricional de las partes aéreas de *Bauhinia variegata* Linn, a través del análisis proximal, reveló la presencia de un contenido de proteínas de 23,17%, carbohidratos 68,8%, humedad 1,48%, cenizas 5,29% y lípidos 1,27%.
- Los metabolitos secundarios identificados en los diferentes extractos, mediante el análisis fitoquímico, son: alcaloides, esteroides, flavonoides, polifenoles y cumarinas, en el extracto etanólico, en el extracto diclorometanoico la presencia de esteroides y polifenoles y, en el extracto hexanoico esteroides.
- La evaluación del extracto etanólico de las partes aéreas de *Bauhinia variegata* frente a nauplios de *Artemia salina*, según el CYTED se clasificó como relativamente inocuo.
- Para finalizar, podemos concluir que la especie *Bauhinia variegata* Linn es una materia prima de origen vegetal con un prometedor potencial nutricional y en un futuro ser utilizada en la alimentación animal.

Recomendaciones

- Realizar estudios de la actividad antioxidante de los extractos de las partes aéreas de *Bauhinia variegata*.
- Evaluar las propiedades funcionales de la harina de *Bauhinia variegata* Linn.

www.bdigital.ula.ve

BIBLIOHEMEROGRAFÍA

- Abatzopoulos, J., Clegg, J., Beardmore, J. y Sorgeloos, P. (2013). *Artemia: Basic and Applied Biology*. Springer Netherlands.
- Abbasi, A., Sabiq, Q., Rehman, A. y Rahman, N. (2021). Phytochemical analysis and cytotoxicity evaluation of flowering buds of *Bauhinia variegata* L. (ahead of print). *Herba Pol*, 67(3), 1-10. <https://doi.org/10.2478/hepo-2021-0013>
- Ahmar, F., Anwar, F. y Hira, S. (2016). Review on medicinal importance of fabaceae family. *Revista Pharmacology on line*, 151-156.
<https://www.researchgate.net/publication/317833349>
- Alade, G., Akanmu, M., Obuotor, E., Osasan, S. y Omobuwajo, O. (2009). Acute and oral subacute toxicity of methanolic extract of *Bauhinia monandra* leaf in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(7), 354-358.
<http://www.academicjournals.org/ajpp>
- Anand, R. y Kumar, S. (2013). Genetic divergence studies for fodder quality attributes in open pollinated families of *Bauhinia variegata* Linn. *Global Journal of Bio-science and Biotechnology*, 2(2), 211-214.
https://www.researchgate.net/publication/316961493_GENETIC_DIVERGENCE_STUDIES_FOR_FODDER_QUALITY_ATTRIBUTES_IN_OPEN_POLLINATED_FAMILIES_OF_BAUHINIA_VARIEGATA_LINN
- Anaya, A. (2003). *Ecología Química*. Plaza y Valdés, S. A.
- AOAC. (2000). *Métodos oficiales de análisis*. Asociación de Químicos Analíticos Oficiales.
- Aymard, G. (2017). Adiciones a la flora vascular de los Llanos de Venezuela: nuevos registros y estados taxonómicos. *Revista Biollania-La Orinoquia Colombovenezolana*, 15(1), 1-296.
- Ávila, J. y Fonte, P. (2004). *Salud Ecológica*. Editorial Ciencias Médicas.
- Ávalos, A. y Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *REDUCA (Biología)*, 2(3), 119-145.
https://eprints.ucm.es/id/eprint/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.

- Azevedo, C., Maciel, M., Silva, L., Ferreira, A., da Cunha, M., Machado, O., Fernandes, K., Oliveira, A. y Filho, J. (2006). Isolation and intracellular localization of insulin-like proteins from leaves of *Bauhinia variegata*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 39(11), 1435-1444. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006001100007>
- Badillo, L. (2016). *Boletín informativo de la Academia Mexicana de Ciencias Número 59/ noviembre 2016* [Archivo PDF]. http://www.coniunctus.amc.edu.mx/boletines/amc_boletin59.pdf
- Barragán, H., Murillo, E. y Méndez, J. (2010). Taxonomía y funcionalidad del género *Bauhinia*. *Revista Tumbaga*, 1(5), 119-134. [file:///D:/Downloads/Dialnet-TaxonomiaYFuncionalidadDelGeneroBauhinia-3628248%20\(4\).pdf](file:///D:/Downloads/Dialnet-TaxonomiaYFuncionalidadDelGeneroBauhinia-3628248%20(4).pdf)
- Bernal, C. (2006). *Metodología de la investigación para administración, economía, humanidades y ciencias sociales*. (2ª ed). Editorial Pearson.
- Biswas, S. y Ghosh, G. (2014). Effect of an extract of *Bauhinia variegata* leaves on chronic arsenic intoxication in mice (*Mus musculus*): A preliminary study. *Revista TANG humanitas medicine*, 4.
- Bonilha, I., Ferreira, C., Brondani, J., Cossetein, J., Marangoni, L. y Palermo, M. (2015). Biological potential of plants from the genus *Bauhinia*. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(3), 583-594.
- Bosco, N. y Butnariu, M. (2022). The biological role of primary and secondary plants metabolites. *Food Science and Nutrition*, 5(3), 1-7. 10.31579/2637-8914/094
- Cabral, E. y Casco, S. (2010). *Core Eudicotiledóneas Clado Rosides*. *Biotaxonomía de Spermatófitas Diversidad Vegetal* [Trabajo de investigación, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE)]. <https://exa.unne.edu.ar/carreras/docs/8-%20Rosideas.pdf>
- Cáceres, O., González, E. y Arece, J. (2003). NOTA TÉCNICA: VALOR NUTRITIVO DEL FOLLAJE DE ÁRBOLES Y ARBUSTOS TROPICALES. V. *Bauhinia purpurea*. *Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"*, 26(3).

- Camacho, M., Ramos, D., Ávila, N., Sánchez, E. y López, S. (2020). Las defensas físico-químicas de las plantas y su efecto en la alimentación de los rumiantes. *Terra Latinoamericana Número Especial*, 38(2), 443-453.
<https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.629>
- Caravaca, F., Castel, J., Guzmán, J., Delgado, M., Mena, Y., Alcalde, M. y González, P. (2003). *Bases de la producción animal*. Universidad de Sevilla.
- Cardoso, D., Pennington, R., Queiroz, L., Boatwright, J., Van Wyk, B., Wojciechowski, M. y Lavin, F. (2013). Reconstructing the deep-branching relationships of the papilionoid legumes. *South African Journal of Botany*, 89, 58-75. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.05.001>
- Castaños, E. (3 de julio de 2015). *Los terpenos*.
<https://lidiaconlaquimicawordpress.com/2015/07/03/los-terpenos/>
- Castañeda, R., Gutiérrez, H., Carrillo, E. y Sotelo, A. (2017). Leguminosas (Fabaceae) silvestres de uso medicinal del distrito de Lircay, provincia de Angaraes (Huancavelica, Perú). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 16(2), 136 – 149.
https://www.blacpma.usach.cl/sites/blacpma/files/articulo_6_-_1276_-_136_-_149.pdf
- Celeita, V. y Peralta, Y. (2015). *Digestibilidad in vivo de la harina de casco de vaca (Bauhinia variegata) con diferentes niveles de suplementación en ovinos de ceiba* [Tesis de pregrado, Universidad de los Llanos, Colombia].
<https://repositorio.unillanos.edu.co/handle/001/371?show=full>
- Chileshe, E. y Kitanyi, A. (2002). *Management of rangelands. Use of natural grazing resources in Southern Province, Zambia*. Regional Land Management Unit (RELMA).
- Conjunto Lar de México. (22 de agosto de 2022). *Extractos de plantas: ¿Qué son, ¿cómo se obtienen y para qué sirven?*
<https://www.conjuntolar.com/index.php/blog/post/extractos-de-plantas-que-son-como-se-obtienen-y-para-que-sirven>

- Corpoica. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. (2002). *Manual técnico. Los Sistemas Silvopastoriles en la Ganadería Bovina del Trópico Bajo colombiano*. https://www.google.co.ve/books/edition/Los_Sistemas_Silvopastoriles_en_la_Ganad/ZVofvmDfJAQC?hl=es-419&gbpv=0
- Cuadrado, M. y Flora, L. (2004). *Estudio Bromatológico y Fitoquímico de la jícama (Smallanthus sonchifolia) para determinar el tiempo óptimo de cosecha* [Tesis de grado, Ecuador].
- Da Silva, K. y Cechinel, V. (2002). Plantas do gênero Bauhinia: composição química e potencial farmacológico. *Quím. Nova*, 25(3).
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000300018>
- Da Silva, B., Abrahão, R., Melo, F., Santos, A., Da Silva, J. y Anda, J. (2019). Crescimento de Bauhinia variegata L. em resposta a inoculação e fertilização orgânica. *Revista Árvore*, 43(1), 2-9.
<https://doi.org/10.1590/1806-90882019000100004>
- Deep, P., Mishra, A. y Verma, N. (2020). Pharmacognostical Evaluation and HPTLC Analysis of Two Medicinally important Secondary Metabolites in *Bauhinia variegata* Leaves from Gorakhpur District in Summer Season. *Research J. Pharm. and Tech*, 13(6), 2667-2671. 10.5958/0974-360X.2020.00474.6
- Distel, R. y Villalba, J. (2007). Diversidad vegetal, selección de dieta y producción animal. *Revista Argentina de Producción Animal*. 1-9.
- Directrices del Codex. (1997). *Directrices para el uso de declaraciones nutricionales*. <http://www.fao.org/3/W8612S/W8612s06.htm#TopOfPage>
- Díaz, M., Portas, A. y Gianfrancisco, S. (2014). Dinámica de crecimiento de semillas y vainas de *Bauhinia variegata*. *Revta. Agron*, 34(1), 33-35.
[file:///D:/Downloads/251-Texto%20del%20art%C3%ADculo-1221-1-10-20230502%20\(1\).pdf](file:///D:/Downloads/251-Texto%20del%20art%C3%ADculo-1221-1-10-20230502%20(1).pdf)
- Dysli, R. (1974). *Conservación de Forrajes*. En: *Curso Nacional Sobre Producción Animal y Utilización de Forrajes*. Biblioteca del IICA-CIDIA / CATIE.
- Düsman, E., Almeida, I., Coelho, A., Balbi, T., Düsman, L. y Pimenta, V. (2013). Antimutagenic Effect of Medicinal Plants Achillea millefolium and *Bauhinia*

- forficata* In Vivo. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
<https://doi.org/10.1155/2013/893050>
- Erb, M. y Kliebensteins, D. (2020). Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. *Plant Physiology*, 184, 39-52.
- Farias, P., Gomes, F., Brito, M., Barbosa, R., Melo, H., Sarmiento, T., Rocha, A. y de França, M. (2015). Antibiotic-modifying activity of riachin, a noncyanogenic cyanoglycoside extracted from *Bauhinia pentandra*. *Drug Design, Development and Therapy*, 3067-3072. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S84676>
- Finêncio, B. y Mininel, F. (2019). Abordagem fitoquímica e análise cromatográfica das folhas de *Bauhinia variegata* L. *Revista Científica Intraciência* [Archivo PDF]. https://uniesp.edu.br/sites/_biblioteca/revistas/20190312105026.pdf
- Fortunato, R. y Nores, M. (2022). Review “Cow’s Hoof” (*Bauhinia* L., Leguminosae): A Review on Pharmacological Properties of Austral South American Species. *Plants*, 12(31). <https://doi.org/10.3390/plants12010031>
- García, D. y Medina, M. (2006). Composición química, metabolitos secundarios, valor nutritivo y aceptabilidad relativa de diez árboles forrajeros. *Zootecnia Trop*. 24(3).
- García, D., Medina, M., Moratinos, P., Cova, L., Torres, A., Santos, O. y Perdomo, D. (2009). Caracterización químico-nutricional de forrajes leguminosos y de otras familias botánicas empleando análisis descriptivo y multivariado. *Avances en Investigación agropecuaria*, 13(2). 25-40.
- García, C., Martínez, A., Ortega, J. y Castro, F. (2010). Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales. *Revista Química Viva*, 2(9).
- Graduño, A. (2019). *Concentración letal media (CL50), dosis letal media (DL50) y fitoquímica de los extractos de las hojas de Bauhinia variegata L* [Tesis de grado, Universidad Nacional Autónoma de México]. <http://132.248.9.195/ptd2019/abril/0788090/0788090.pdf>
- Gennaro, A. (2003). *Ramington Farmacia*. Editorial Medica Panamericana.

- Gómez, T., González, C., López, S., Vera, J., Albor, C. y Sanguines, J. (2017). DOMINANCIA, COMPOSICIÓN QUÍMICA-NUTRITIVA DE ESPECIES FORRAJERAS Y FITOMASA POTENCIAL EN UNA SELVA SECUNDARIA. *ASyD*, 14, 617-634.
- González, F. (1991). *Nomenclatura de Química Orgánica*. Universidad de Murcia.
- González, A., Presa, M., Latorre, M. y Lurá, M. (2007). Detección de metabolitos fúngicos con actividad tóxica mediante bioensayo sobre *Artemia salina*. *Rev Iberoam Micol*, 24, 59-61.
- Greenfield, H. y Southgate, D. (2006). *Datos de Composición de Alimentos: Obtención, Gestión y Utilización* (2ª ed). FAO.
- Gul, H., Awais, M., Saddick., S., Ahmed., Y., Khan, F., Ahmed, E., Afzal, U., Naqvi, S., Khan, M., Gulfraz, M. y Raja, G. (2021). Quantification of biochemical compounds in *Bauhinia variegata* Linn flower extract and its hepatoprotective effect. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 247-254.
- Gutiérrez, J. y López, A. (2001). *Fundamentos de ciencia toxicológica*. Díaz de Santos.
- Gutiérrez, J., López, A. y Gil, A. (2012). *Alimentos con sustancias tóxicas de origen natural: Plantas superiores alimenticias: Toxicología alimentaria*. Editorial Díaz de Santos, S.A.
- Gupta, M., Mazumder, U., Kumar, R. y Kumar, T. (2004). Antitumor activity and antioxidant role of *Bauhinia racemosa* against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice. *Acta Pharmacol*, 25(8), 1070-1076.
- Harborne, J. (1973). *Phytochemical Methods*. (1ª ed). Chapman & Hall.
- Heleno, S., Villavicencio, A., Barros, L. y Ferreira, I. (2017). A influência da radiação por feixe de elétrons na composição nutricional de flores comestíveis de *Bauhinia variegata* L. provenientes do Brasil. *Revista de Ciências Agrárias*, 40(SP), 169-173. <https://doi.org/10.19084/RCA16236>
- Hernández, F. (2002). *Fundamentos de Epidemiología: El Arte Detectivesco de la Investigación Epidemiológica*. Editorial Universidad Estatal a Distancia.

- Hernández-Alvarado, J., Zaragoza, A., López, G., Peláez, A., Olmedo, A. y Rivero, N. (2018). Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Revista Abanico vet*, 8(1). <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2018.81>
- Hidroponía. (16 de febrero de 2018). *La Química de las Plantas*. <http://hidroponia.mx/la-quimica-de-las-platas/>
- Hokche, O. (2007). El género *Bauhinia* L. (Leguminosae: Caesalpinioideae) en el Herbario Nacional de Venezuela (VEN). *Rev. Fav. Agron (LUZ)*, 24(1), 178-182. https://eprints.ucm.es/id/eprint/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf
- Hurtado, J. (2000). *Metodología de la Investigación Holística*. Fundación SYPAL.
- Hurtado, J. (2012). El “cómo”, o los procesos metodológicos de la investigación. En *El proyecto de investigación* (pp. 128-160). Editorial Quirón.
- Industrias de Alimentos. (08 de octubre de 2007). *Flavonoides*. <https://alimentos.blogia.com/2007/100802-flavonoides.php>
- INTAGRI. (marzo de 2019). *Utilización de forraje en dietas para bovinos de engorda*. <https://www.intagri.com/articulos/ganaderia/utilizacion-de-forraje-en-dietas-para-bovinos-de-engorda>
- Isern, A. (2007). Salud y Agricultura. *Leisa revista de agroecología*, 3(3). <https://www.leisa-al.org/web/index.php/volumen-23-numero-3>
- Kamal, Y., Khan, T., Haq, I., Zahra, S., Asim, M., Shahzadi, I., Mannan, A. y Fatima, N. (2022). Phytochemical and biological attributes of *Bauhinia variegata* L. (Caesalpinaceae). *Revista Brasileña de Biología*, 82. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.257990>
- Killari, K., Thuan, N., Prasanth, D., Panda, S., Pasala, P., Ketha, A., Tatipamula, V. y Prasad, K. (2023). Bioassay Guided Isolation of Anti-Inflammatory Compounds from *Bauhinia variegata* L.: A Key Ingredient in Herbo-Mineral Formulation, Gandmala Kandan Ras. *Indian J Pharm Sci*, 85(1), 227-232. [10.36468/pharmaceutical-sciences.1085](https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.1085)

- Koolman, J. y Rohm, K. (2004). *Bioquímica: texto y atlas*. (3ª ed). Medica Panamericana.
- Lamarque, A., Zygadlo, J., Iabuckas, D., López, L., Torres, M. y Maestri, D. (2008). *Fundamentos teórico-prácticos de Química Orgánica*. Encuentro Grupo Editor.
- Lata, K., Singh, D. y Kumar, V. (2012). Characterization of the molluscicidal activity of *Bauhinia variegata* and *Mimusops elengi* plant extracts against the fasciola vector *Lymnaea acuminata*. *Parasitology Rev. Inst. Med*, 54(3).
<https://doi.org/10.1590/S0036-46652012000300004>
- Larousse. (2011). *Diccionario Escolar Educativo*. Ediciones Larousse, S.A.
- Llamas, F. y Acevedo, C. (2016). Las leguminosas (Leguminosae o Fabaceae): una síntesis de las clasificaciones, taxonomía y filogenia de la familia a lo largo del tiempo. *Revista de divulgación científica Ambiociencias*, 14, 5-18.
<https://revpubli.unileon.es/ojs/index.php/ambioc/article/view/5542/4270>
- López, G. (2004). *Guía de los árboles y arbustos de la Península Ibérica y Baleares* 2ª edición. Mundi-Prensa.
- Mali, R., Mahajan, G. y Mehta, A. (2007). Rakta Kanchan (*Bauhinia variegata*): Chemistry, Traditional and Medicinal uses- a review. *Pharmacognosy Reviews*, 1(2).
- Marcano, D. y Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica Orgánica*. Editorial Torino.
- McCorkle, C. (1986). AN INTRODUCTION TO ETHNOVETERINARY RESEARCH AND DEVELOPMENT. *JOURNAL OF ETHNOBIOLOGY*, 6(1), 129-149.
- Martín, N. (14 de octubre de 2015). *Planeta Neli Acuariofilia*. <https://www.planeta-neli.es/index.php/killis/acuariofilia/alimento-vivo/>
- Martínez, M., Evangelista, V., Mendoza, M., Morales, G., Toledo, G. y Wong, A. (2001). *Catálogo de plantas útiles de la Sierra Norte de Puebla, México*. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Martines, E. y Lira, L. (2010). *Análisis y aplicación de las expresiones del contenido de humedad en sólidos*. Simposio de Metrología.

- Martínez, M., Ocampo, D., Galvis, J. y Valencia, A. (2011). Actividad antibacteriana y citotoxicidad in vivo de extractos etanólicos de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(4), 313-323.
<http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v16n4/pla02411.pdf>
- Martino, V., Bandoni, A., Nadinic, J. y Ferraro, G. (2016). *Fitocosmética: Fitoingredientes y otros productos naturales*. Editorial Eudeba.
- Marzocca, A. (1985). *Taxonomía Vegetal*. IICA.
- Medina, R. (1997). Fascículo 13 Fabaceae Lindl. Tribu Psoraleae (Benth.) Rydb. En *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Mishra, A., Sharma, A., Kumar, S., Saxena, K. y Pandey, A. (2013). *Bauhinia variegata* Leaf Extracts Exhibit Considerable Antibacterial, Antioxidant, and Anticancer Activities. *BioMed Research International*.
<http://dx.doi.org/10.1155/2013/915436>
- Monstera. (3 de diciembre de 2018).
<https://doctormonstera.wordpress.com/tag/bauhinia-variegata/>
- Montiel, M. (1980). Introducción a la flora de Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Mora, I. (2007). *Nutrición animal*. Editorial UNED.
- Morcillo, G., Cortes, E. y García, J. (2013). *Biotecnología y alimentación*. Editorial UNED.
- Iglesias, J. (2009). *Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de la pesca*. [Trabajo de Doctorado, Universidad de Santiago de Compostela].
- Nogueira, A. y Sabino, C. (2012). Revisão do Gênero *Bauhinia* Abordando Aspectos Científicos das Espécies *Bauhinia forticata* Link e *Bauhinia variegata* L. de interesse para Indústria Farmacêutica. *Revista Fitos*, 7(2), 77-84.
<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/19201>
- Olaya, J. y Méndez, J. (2003). *Guía de plantas y productos medicinales*. Convenio Andrés Bello.

- Oliva, M., Rojas, D., Morales, A., Oliva, C. y Oliva, M. (2015). Contenido nutricional, digestibilidad y rendimiento de biomasa de pastos nativos que predominan en las cuencas ganaderas de Molinopampa, Pomacochas y Leymebamba, Amazonas, Perú. *Scientia Agropecuaria*, 6(3).
<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.03.07>
- Olivas, F., Wall, A., González, G., López, J., Álvarez, E., de la Rosa, L. y Ramos, A. (2015). Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición hospitalaria*, 31(1), 55-66.
- Oliveira, C., Paulo, E., Palazzo, J., Auler, L. y Ros, P. (2017). *Farmacognosia Do Producta Natural ao Medicamento*. Editorial Artmed.
- Olvera, M., Martínez, C. y Real, E. (1993). *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos* [Trabajo de investigación, Proyecto Aquila II, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación].
- Ortiz, R. (1999). *Actividad farmacológica de Cecropia obtusifolia*. Bertol. Universidad de Sevilla.
- Ortiz, C. (2003). *Guía para alimentación animal y elaboración de concentrados*. Convenio Andrés Bello.
- Ortuño, M. (2006). *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. Aiyana.
- Palella, S. y Martins, F. (2012). *Metodología de la Investigación Cuantitativa*. FEDUPEL.
- Pepato, M., Martins, A., Vendramini, R. Brunetti, I. (2004). Evaluation of toxicity after one-months treatment with *Bauhinia forficata* decoction in streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 4(7). doi:10.1186/1472-6882-4-7
- Pereira da Silva, C., Silva, B., Quirino, G., Alves da Silva, I., Martins, P., Oliveira, D., Moura, M., Henrique da Silva, T., Teixeira, F., Lima, M. y Pereira, R. (2021). Análise microbiológica e toxicológica dos extratos brutos secos da *Bauhinia variegata* L (pata de vaca). *Brazilian Journal of Development*, 7(12), 110645-110657. 10.34117/bjdv7n12-036

- Pérez, J. (1980). *Ventajas y Limitaciones en el Uso de Las Leguminosas Naturales de América Tropical en la Producción Animal Estudio de Caso; Galactia striata var. Palenque*. IICA / CATIE.
https://www.google.co.ve/books/edition/Ventajas_Y_Limitaciones_en_El_Uso_de_Las/JPgOAQAIAAJ?hl=es-419&gbpv=0
- Pérez, A. (2009). Pasos para la Elaboración del Anteproyecto de Investigación. En *Guía Metodológica para Anteproyectos de Investigación* (pp. 68-70). FEDUPEL.
- Pimentel, D., Gómez, M. y Castillo, L. (2014). Actividad antibacteriana, determinación de polifenoles totales por Folin-Ciocalteu y toxicidad en *Artemia salina* de la especie vegetal *Bauhinia variegata*. *Revista Hechos Microbiol*, 5(2), 69-76.
<https://doi.org/10.17533/udea.hm.323251>
- Pinto, L., Andrade, M., Bacarin, M., Castellón, R., Gadelha, T., Gadelha, C. y Cavada, B. (2005). Caracterização química e bioquímica de sementes de *Bauhinia variegata* L. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 9(3), 385-390.
- Pinzón S., Machado, L. y Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. CAB.
- Plantas y Hongos. (7 de mayo de 2021). *Herbarium*.
https://www.plantasyhongos.es/herbarium/htm/Bauhinia_variegata.htm
- Prashar, Y. y Kumar, S. (2010). Anti-Obesity Activity of *Bauhinia variegata* Linn. in High Fat Diet Induced Obesity in Female Rats. *Pharmacologyonline*, 2, 1008-1016.
- Primo, E. (2007). *Química orgánica básica y aplicada. De la molécula a la industria*. Editorial Reverté.
- Pomilio, A. (2012). Investigación en Química de Productos Naturales en Argentina: Vinculación con la Bioquímica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 46(1), 73-82. <http://www.scielo.org.ar/pdf/abcl/v46n1/v46n1a11.pdf>
- Puigdomènech, P. (2009). *Las plantas que comemos*. Editorial CSIC.
- Quazi, S., Fatema, A. y Mir, M. (2017). Brine shrimp lethality assay. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12(2), 5. <https://doi.org/10.3329/bjp.v12i2.32796>

- Química y algo más. (23 de mayo de 2011). *Cetonas*.
<https://quimicayalomas.com/quimica-organica/alcoholes-aldehidos-cetonas/cetonas/>
- Quiñones, M., Miguel, M. y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición hospitalaria*, 27(1), 76-89. 10.3305/nh.2012.27.1.5418
- Raven, P., Evert, R. y Eichhorn, S. (1992). *Biología de las Plantas*. Reverté.
- Real Academia Española. (s.f.). *Potencial*. En Diccionario de la lengua española.
<https://dle.rae.es/potencial>
- Reis, G., Borges, F. y Rodrigues, J. (2017). *Guía práctico de PANC. Plantas Alimentícias Ñao Convencionais* [Archivo PDF].
<https://institutokairos.net/wp-content/uploads/2017/08/Cartilha-Guia-Pr%C3%A1tico-de-PANC-Plantas-Alimenticias-Nao-Convencionais.pdf>
- Roa, M. y Muñoz, J. (2012). Evaluación de la degradabilidad in situ en bovinos suplementados con cuatro especies arbóreas. *Rev. MVZ Córdoba*, 17(1), 2900-2907. <http://www.scielo.org.co/pdf/mvz/v17n1/v17n1a13.pdf>
- Rodríguez, T., Ortega, A. y Devesa, J. (1999). *Biología floral en Fabaceae*. Editorial CSIC.
- Rodríguez, V. y Simón, E. (2008). *Bases de la alimentación humana*. Editorial Netbiblio.
- Reija, B. (2007). *Estudio estructural y dinámico de sistemas organizados mediante sondas fluorescentes*. Universidad de de Santiago de Compostela.
https://www.google.co.ve/books/edition/Estudio_estructural_y_din%C3%A1mico_de_siste/Wx-KvSohCE0C?hl=es-419&gbpv=0
- Repetto, G. y Repetto, M. (2009). *Toxicología fundamental*. Ediciones Díaz de Santos, S.A.
- Rojas, J. y Acevedo, P. (5 de febrero de 2015). *Bauhinia variegata* (mountain ebony). Publication: *CABI Compendium*.
<https://doi.org/10.1079/cabicompendium.8656>

- Rojo, O. (2016). *Actividad hipoglucemiante de los extractos de las hojas de Bauhinia variegata L en ratones de cepa CD-1* [Tesis, Facultad de Estudios Superiores de Zaragoza. Laboratorio de química vegetal y biotransformaciones].
- Romo de Vivar, A. (2006). *Química de la Flora Mexicana*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ros, G. y Periago, M. (2010). Capítulo 2.7. Calidad y composición nutritiva de hortalizas, verduras y legumbres. En A, Gil (Ed.), *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos* (pp. 251-258). Editorial Médica Panamericana S.A.
- Rozza, A., Cesar, D., Pieroni, L., Saldanha, L., Dokkedal, A., De-Faria, F., Souza, A., Vilegas, W., Takahira, R. y Pellizzon, C. (2015). Antiulcerogenic Activity and Toxicity of *Bauhinia holophylla* Hydroalcoholic Extract. *Evid Alternat Med*. <https://doi.org/10.1155/2015/439506>
- Sallee, E. y Brown, G. (1967). *Química cuantitativa*. Editorial Reverté.
- Sánchez, A. y Gándara. (2011). *Conceptos básicos de gestión ambiental y desarrollo sustentable*. Instituto Nacional de Ecología, Asociación para el Desarrollo Integral de la Región de Misantla, A.C.
- Sánchez, G., Rodríguez, F., Flores, J., Bonilla, W., Cabrera, M., Flores, C., Rodríguez, H., Rodríguez, A. y Tinoco, E. (2018). Estudio de la actividad farmacológica del extracto de *Bauhinia monandra* en el Municipio de la Villa de San Francisco, Departamento de Francisco Morazán. *Revista Ciencia y Tecnología*. 23(SP), 33-45. <https://doi.org/10.5377/rct.v0i23.6859>
- Sarmiento, L. (2006). Alimentos funcionales, una nueva alternativa de alimentación. *Revista Orinoquia*, 10(1), 16-23.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=89610103>
- Sharma, N., Sharma, A., Bhatia, G., Landi, M., Brestic, M., Singh, B., Singh, J., Kaur S. y Bhardwaj, R. (2019). Isolation of Phytochemicals from *Bauhinia variegata* L. Bark and Their In Vitro Antioxidant and Cytotoxic Potential. *Antioxidants*, 8(10), 492. <https://doi.org/10.3390/antiox8100492>

- Sierra, J. (2005). *Fundamentos para el establecimiento de pasturas y cultivos forrajeros*. (2º Ed) Editorial Universidad de Antioquia.
https://www.google.co.ve/books/edition/Fundamentos_para_el_establecimien_o_de_p/rbezH_RPHVYC?hl=es-419&gbpv=0
- Sprent, J. y Parsons, R. (2000). Nitrogen fixation in legume and non-legume trees. *Field Crops Research*, 65, 183-196. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(99\)00086-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(99)00086-6)
- Savón, L. (2002). Alimentación no convencional de especies monogástricas: utilización de alimentos altos en fibra. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 36(2), 91-102.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193018119001>
- Suksathan, R., Rachkeeree, A., Puangpradab, R., Kantadoung, K. y Sommano, S. (2021). Phytochemical and nutritional compositions and antioxidants properties of wild edible flowers as sources of new tea formulations. *NFS Journal*, 24(SP), 15-25. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2021.06.001>
- Taiz, L. y Zeiger, E. (2006). *Fisiología Vegetal*. Universitat Jaume.
- Tamayo y Tamayo, M. (1997). *Metodología formal de la investigación científica*. Editorial Limusa.
- Tapia., A., Romero, A., Luque, V., Gervasoni, P., Aybar, S. y Allolio, P. (2013). PODER GERMINATIVO DE SEMILLAS DE BAUHINIA VARIEGATA L. SEGUN SU TOLERANCIA A SALINIDAD Y SEGÚN LA COLORACIÓN DE LA FLOR. *Revista de Divulgación Técnica Agrícola y Agroindustrial*, 48.
- Tasse, A. y Kurniawan, W. (2021). *Bauhinia purpurea* L. leaves meal as goat feed. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 10.1088/1755-1315/788/1/012049
- Tirado, D., Montero, P. y Acevedo, D. (2015). Estudio Comparativo de Métodos Empleados para la Determinación de Humedad de Varias Matrices Alimentarias. *Inf. Tecnol*, 26(2).
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000200002>

- Torres, C. (1999). *El género Bauhinia (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cercideae), en Mesoamérica* [Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México].
- Torres, A., Romero, R. y Zerpa, A. (2006). *NUEVOS MATERIALES FORRAJEROS PROMISORIOS PARA LA PRODUCCIÓN DE LECHE Y CARNE EN EL OCCIDENTE DE VENEZUELA* [Tesis, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIA, Edo. Trujillo].
http://www.avpa.ula.ve/eventos/ii_simposio_pastca2006/12.pdf
- Torres-Colín, R., Duno, R. y Can, L. (2009). El género *Bauhinia* (Fabaceae, Caesalpinioideae, Cercideae) en la península de Yucatán (México, Belice y Guatemala). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 80, 293-301.
- Urbano, D., Dávila, C. y Castro, F. (2008). *CONFERENCIA N.º 6. PRODUCCIÓN DE PASTOS Y FORRAJES, BASE DE LA ALIMENTACIÓN SUSTENTABLE PARA LOS BOVINOS* [Archivo PDF].
http://avpa.ula.ve/congresos/memorias_xivcongreso/pdf/conferencias/urbano.pdf
- Valverde, E. (2000). Extracto de materias primas vegetales. En N. Sharapin, L. Machado, E. Rocha, E. Souza, E. Valverde y J. Lopes (Ed.), *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos* (p. 198). Editorial CYTED.
- Velastegui, J. (2005). *Alternativas ecológicas para el manejo integrado fitosanitario en los cultivos*. Editorial Agro Express.
- Vásquez, C., de Cos, A. y López, C. (2005). *Alimentación y Nutrición*. (2ª ed). Ediciones Díaz de Santos.
- Vázquez, D. (7 de mayo de 2020). *Así son las fibras solubles, insolubles y resistentes*.
<https://thefoodtech.com/ingredientes-y-aditivos-alimentarios/asi-son-las-fibras-solubles-insolubles-y-resistentes/#:~:text=Solubles%3A%20En%20esta%20categor%C3%ADa%20se,%2C%20avena%2C%20leguminosas%20y%20semillas.%20The%20food%20tech>

- Vicente, L., Prieto, M. y Morales, A. Eficacia y seguridad de la quercetina como complemento alimenticio. *Rev. Toxicol*, 30, 171-181.
- Vílchez, J., López, J., Kusch, F., Gajardo, S., Jorquera, G., Salazar, G. y Rojas, M. (2010). Actividad antioxidante, antibacteriana y analgésica de extractos de *Mangifera indica* L. *Revista BIOFARBO*, 18(2), 10-19.
- Wojciechowski, M., Lavin, M. y Sanderson, M. (2004). A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany*, 91, 1846-1862. 10.3732/ajb.91.11.1846
- Zumbado, H. (2002). *Análisis químico de los alimentos métodos clásicos*. Instituto de Farmacia y Alimentos Universidad de Habana.
https://www.google.co.ve/books/edition/An%C3%A1lisis_qu%C3%ADmico_de_los_alimentos/GI_zDwAAQBAJ?hl=es-419&gbpv=0

www.bdigital.ula.ve