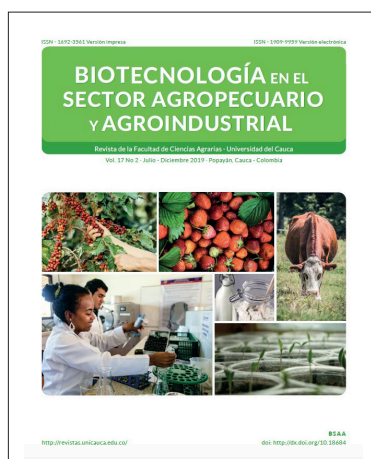




Universidad  
del Cauca





**FOTOS DE PORTADA**  
Flickr - Unsplash - Archivo propio



**Dirección Revista**  
Facultad de Ciencias Agrarias  
Universidad del Cauca  
Calle 5 No.4-70 Popayán, Colombia  
Teléfono: 311 768 15 72  
**e\_mail de contacto, suscripciones e intercambio:**  
biotecnofaca@unicauca.edu.co  
biotecnofaca2009@gmail.com

**Página web e inscripciones:**  
<http://revistas.unicauca.edu.co/>

Revista Biotecnología en el Sector  
Agropecuario y Agroindustrial  
publica un volumen cada año con dos ediciones:  
**Primera:** Enero - Junio  
**Segunda:** Julio - Diciembre  
- VRI - Vicerrectoría de Investigaciones  
Universidad del Cauca

## Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias Universidad del Cauca

ISSN - 1692-3561  
Versión Impresa



ISSN-e 1909-9959  
Versión Electrónica

Universidad  
del Cauca

Vol. 17 No 2 · Julio - Diciembre 2019

**Héctor Samuel Villada Castillo- Ph.D.**  
Editor de la Revista

### COMITÉ EDITORIAL

<p><b>Silvio Andres Mosquera M. Sc.</b> Universidad del Cauca Departamento de Agroindustria</p> <p><b>Sandra Morales Velasco M.Sc.</b> Universidad del Cauca Departamento de Ciencias Agropecuarias</p> <p><b>Consuelo Montes M. Sc.</b> Universidad del Cauca Departamento de Ciencias Agropecuarias</p> <p><b>Diana Paola Navia, M. Sc.</b> Universidad San Buenaventura Cali, Colombia</p> <p><b>Jhon Wilder Zartha S. - M. Sc.</b> Universidad Pontificia Bolivariana (UPB)</p> <p><b>Michael Peters - Ph.D.</b> Universidad de Giessen - CIAT</p>	<p><b>Ángel Pérez - Ph. D.</b> Universidad de Holguín de Cuba</p> <p><b>José Ángel Gómez Ruiz - Ph.D</b> Universidad Autónoma de Madrid, España</p> <p><b>Henry Armando Jurado Gámez - Ph.D.</b> Universidad de Nariño</p> <p><b>Jaime Ricardo Rosero Noguera - Ph.D.</b> Universidad Nacional - Sede Medellín</p>
--	--

### COMITÉ CIENTÍFICO

<p><b>Nelson Vivas Quila - Ph. D.</b> Universidad del Cauca Departamento de Ciencias Agropecuarias</p> <p><b>Misael Cortés Rodríguez - Ph. D.</b> Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín</p> <p><b>Alfredo Ayala Aponte Ph. D.</b> Universidad del Valle Escuela de Ingeniería de Alimentos</p> <p><b>Xuebing Xu - Ph. D. Biocentrum.</b> Instituto de Biotecnología de Dinamarca</p> <p><b>Vijaya Raghavan - Ph. D.</b> Universidad de Mcgill de Canadá</p>	<p><b>Byong Lee - Ph. D.</b> Universidad de Mcgill de Canadá</p> <p><b>Francisco J. Moreno Andújar - Ph.D.</b> Instituto de fermentaciones industriales Madrid, España</p> <p><b>Maria del Mar Villamiel G. Ph.D.</b> Universidad Complutense de Madrid</p>
--	---

Asistente Editorial  
**Willian Enrique Sotelo O.**

Diseño y Diagramación  
**Ángela Pereira**  
**Olga Nohelia Benavides Imbachí**  
Área de Desarrollo Editorial  
Universidad del Cauca

Impresión  
**SAMAVA**  
Popayán - Colombia



## **UNIVERSIDAD DEL CAUCA**

Rector  
**José Luis Diago Franco**

Vicerrector Académico  
**Luis Guillermo Jaramillo Echeverry**

Vicerrectora Administrativa  
**Cielo Pérez Solano**

Vicerrector De Investigaciones  
**Héctor Samuel Villada Castillo**

Vicerrector De Cultura Y Bienestar  
**Deibar René Hurtado**

Secretaría General  
**Laura Ismenia Castellanos Vivas**

## **FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

Decano  
**Luis Alfredo Londoño Vélez**

Secretaría General  
**Tania Maritza Pabón Ruíz**

Jefe Departamento Agroindustria  
**Jesús Eduardo Bravo Gómez**

Jefe Departamento Ciencias Agropecuarias  
**Roman Ospina**

Coordinador Programa Ingeniería Forestal  
**José Franco Alvis Gordo**

Coordinador Programa De Ingeniería Agroindustrial  
**José Fernando Solanilla Duque**

Coordinador Programa De Ingeniería Agropecuaria  
**Victor Felipe Terán Gómez**

Coordinador Programa De Tecnología Agroindustrial  
**Raquel Eugenia de la Cruz Noguera**

## Universidad del Cauca Facultad de Ciencias Agrarias Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial

### ✦ INFORMACIÓN GENERAL

La Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial es una publicación con periodicidad semestral, arbitrada, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca, que acepta trabajos originales e inéditos producto de investigación en el campo de la ciencia, la ingeniería y la tecnología que tengan un impacto en el sector agrario regional, nacional e internacional en temas como Agroindustria alimentaria y no alimentaria, Ciencias agrícolas y pecuarias, Ciencias Forestales, Energía y Medio Ambiente, Computación Aplicada, Biotecnología, Equipos y Procesos, Administración Industrial, en idiomas español (idioma sugerido para mayor visibilidad y factor de impacto), inglés y portugués.

### ✦ POLÍTICAS EDITORIALES

**Compromiso de tipo formal.** Con la remisión del manuscrito postulado para evaluación y publicación, el (los) autor(es) acepta(n) la totalidad de las condiciones estipuladas en las normas.

**Compromiso de tipo ético.** Los autores deben establecer, por escrito, un compromiso de tipo ético en cuanto a la originalidad del manuscrito postulado: *“El autor(es) firmante(s) declara que el manuscrito presenta resultados originales de una investigación, que no han sido publicados ni están siendo considerados para publicación en otra revista, ajustándose además a las normas éticas internacionales de propiedad intelectual y autoría”*. En la carta se deben incluir los datos personales de cada uno de los autores: nacionalidad, escolaridad, correo electrónico institucional, teléfonos para su ubicación o dirección postal y filiación institucional, o en su defecto, la dirección Web donde pueden ser consultados.

**Derechos de Autor.** Con el envío de los trabajos, los autores(as) conceden “Derechos de Autor” a la revista, por lo que los trabajos no pueden tener derechos otorgados a terceros, a la fecha de envío. La concesión de Derechos de Autor significa la autorización para que la revista pueda hacer uso del manuscrito, o parte de él, con fines de divulgación y difusión de la actividad científica- tecnológica. En ningún caso, dichos derechos afectarán la propiedad intelectual que es propia de los(as) autores(as).

### ✦ PROCESO GENERAL

**Envío de manuscritos.** El texto completo de los trabajos en formato Word más la carta de presentación y la información de los evaluadores sugeridos (dos pares nacionales y dos internacionales), deben remitirse por correo electrónico ([biotecnofaca@unicauca.edu.co](mailto:biotecnofaca@unicauca.edu.co) o [biotecnofaca2009@gmail.com](mailto:biotecnofaca2009@gmail.com)) o por intermedio de la plataforma Open Journal System (OJS), luego del registro como usuario.

**Proceso de evaluación.** El proceso inicia con la revisión por parte del Comité Editorial que se reserva el derecho de rechazar un manuscrito (decisión definitiva e inapelable) que presente deficiencias en estructura y redacción y que no cumpla con las áreas temáticas, las normas de publicación y referencias pertinentes o sugerir modificaciones con el objeto de lograr una mejor calidad. Los trabajos aceptados se evaluarán a ciegas, por dos (2) árbitros expertos en el área de conocimiento, quienes emitirán un concepto detallado sobre la pertinencia y atractivo científico y tecnológico, la rigurosidad del tratamiento del tema, el ajuste a las normas de la revista y su contribución al desarrollo de la ciencia, la ingeniería y la tecnología. Por ningún motivo se permitirá la evaluación simultánea de más de dos manuscritos por un autor proponente.

Si el concepto de los dos árbitros coincide, el Editor-Jefe acepta o rechaza el manuscrito. Si no coincide, se busca el concepto de un tercer árbitro: si es rechazado, el manuscrito y las observaciones de los árbitros se remiten a los autores para que consideren su publicación en otro medio. Si el manuscrito es aceptado con modificaciones menores o mayores, éste y las observaciones de los árbitros se remiten a los autores para que éstos remitan una versión revisada y corregida en máximo 20 días, acompañada de una carta dirigida al Editor-Jefe enumerando detalladamente los cambios realizados con base en las observaciones de los árbitros: será el Editor-Jefe quien decida sobre la aceptación de la versión corregida. Pasados los 20 días, el editor, a discreción, tratará el manuscrito como caducado, por lo que deberá ser presentado nuevamente siguiendo el proceso indicado.

## TIPOS DE ARTÍCULOS

---

**Artículos de investigación científica.** Documento que presenta, de manera detallada, los resultados originales de investigaciones culminadas y está constituido por: 1. INTRODUCCIÓN, 2. MÉTODO, 3. RESULTADOS, 4. CONCLUSIONES y 5. REFERENCIAS. Los agradecimientos son opcionales y se incluyen luego de las conclusiones.

**Artículo de reporte de caso.** Documento que presenta los resultados de un estudio sobre una situación particular con el fin de dar a conocer las experiencias técnicas y metodológicas consideradas en un caso específico. Incluye una revisión sistemática comentada de la literatura sobre casos análogos y está constituido por: 1. INTRODUCCIÓN, 2. MÉTODO, 3. RESULTADOS, 4. CONCLUSIONES y 5. REFERENCIAS. Los agradecimientos son opcionales y se incluyen luego de las conclusiones.

**Artículos de reflexión.** Documento que presenta resultados de investigación sobre un tema específico bajo una óptica analítica, interpretativa y crítica del(los) autor(es) con base en fuentes originales (por lo menos 30 referencias). La estructura es: 1. RESUMEN, 2. INTRODUCCIÓN, 3. DESARROLLO DEL TEMA, 4. CONCLUSIONES y 5. REFERENCIAS.

**Artículo de revisión (Review).** Documento resultado de una revisión analítica y crítica de literatura (mínimo 50 referencias) sobre un campo en ciencia o tecnología en el que se analizan, sistematizan e integran los resultados de investigaciones publicadas para mostrar los avances científicos y las tendencias de desarrollo, más los aportes de los proponentes. Está compuesto por: 1. RESUMEN, 2. INTRODUCCIÓN, 3. DESARROLLO DEL TEMA, 4. CONCLUSIONES y 5. REFERENCIAS.

**Cartas al editor.** Son comunicaciones cortas, con posiciones críticas, analíticas o interpretativas sobre los manuscritos publicados previamente en la revista, temas o asuntos de interés profesional para los lectores, que a juicio del Comité editorial constituyen un aporte importante a la discusión del tema por parte de la comunidad científica de referencia.

**Editorial.** Documento escrito por el editor, un miembro del comité editorial o un investigador invitado sobre orientaciones en el dominio temático de la revista, sobre aportes a los investigadores en cuestiones de presentación y estructura de sus artículos, con reflexiones sobre la presentación de documentos escritos, su normatividad, su importancia y otros.

## ✦ FORMA Y PREPARACIÓN DE MANUSCRITOS

---

Todo documento remitido a **BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL** debe cumplir con:

- Originalidad: el aporte debe ser totalmente inédito, no publicado en ningún otro medio.
- Consistencia metodológica: en donde se haga evidente el uso de métodos y técnicas de investigación válidos.
- Significación del asunto tal que informe o ilustre situación relevante en el sector Agropecuario y Agroindustrial.
- Impacto para un amplio sector de la academia, la investigación y estudiantes.
- Avance del campo: en el cual sea claro y evidente el aporte a consideraciones y prácticas de mejora en el campo de investigación Agropecuario y Agroindustrial.
- Consideraciones éticas.
- Estilo de redacción claro, conciso y ordenado, evitando jergas personales y expresiones locales.

### Partes del manuscrito

La **INTRODUCCIÓN** debe resaltar la importancia de la investigación, presentar la literatura relacionada y entregar antecedentes necesarios para comprender la hipótesis de los autores, terminando con un párrafo que indique claramente los objetivos de la investigación.

El **MÉTODO** debe tener suficiente información que permita a otro investigador replicar el ensayo y lograr los mismos resultados, así como la inclusión del diseño experimental, el análisis estadístico y las referencias de los métodos ya publicados.

Los **RESULTADOS** se deben presentar en forma clara, apoyados con cuadros y figuras, con el análisis estadístico y de los alcances de otros investigadores que alimenten la discusión.

Las **CONCLUSIONES** se describen de forma clara y precisa, derivadas del análisis de los resultados y con base en los objetivos planteados.

Los **AGRADECIMIENTOS** se incluyen si el autor(es) lo desea (n), redactados en forma sobria y que no supere 4 líneas.

Las **REFERENCIAS** deben contener todos los documentos consultados.

**Formato general.** La extensión máxima es de 12 páginas, en tamaño carta (21,59 cm de ancho y 27,94 cm de alto) con interlineado sencillo y contenido a doble columna (7,5 cm de ancho de columna) a partir de la INTRODUCCIÓN, escrito en Arial recta (excepto los nombres científicos que van en cursiva) de 11 puntos, márgenes de 3 cm en el borde superior, 2 cm en el inferior y 2,5 cm en las márgenes laterales. Las cifras decimales se separan con coma y los nombres científicos se escriben en cursiva. Cuando se usen siglas, debe indicarse el significado completo la primera vez, luego puede usarse la sigla como tal.

**Título del manuscrito.** Debe estar en los tres idiomas y hacer referencia al contenido de una forma clara y concisa, escrito en Arial recta 11 puntos (excepto los nombres científicos), mayúscula, negrilla y centrado y no debe exceder 15 palabras: si ello no es posible, deberá incluir un subtítulo luego de dos puntos.

**Información del autor (es).** Los autores se nombran según la importancia y contribución en la investigación o en la preparación del manuscrito, separados entre sí por comas y enumerados con superíndice. Posterior a los títulos, a dos interlíneas, centrado, en mayúscula y sin negrilla, incluir primer y segundo nombre si lo tiene, primer y segundo apellido separados por un guión medio. En nota al pie de página (Arial 8 puntos, en la parte inferior de la primera página y justificada) se indicará la filiación de cada autor, finalmente la palabra **Correspondencia** (en negrilla) y dos puntos, en la que debe aparecer el correo institucional del autor elegido para el envío de correspondencia.

**Ejemplo:**

<sup>1</sup>Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de investigación Ciencia y Tecnología de Biomoléculas de Interés Agroindustrial (CYTBIA).  
Máximo título profesional alcanzado. Ciudad, País.

**Correspondencia:** gfvssp@unicauca.edu.co

**Resumen.** La palabra RESUMEN debe justificarse al margen izquierdo, en mayúscula y negrilla, iniciando la escritura luego de dos interlíneas en un solo párrafo justificado sin exceder de 200 palabras e incluirá Introducción, justificación, objetivos, metodología, resultados y conclusiones de la investigación haciendo énfasis en los logros alcanzados. Debe ser conciso, escrito en español, inglés (**ABSTRACT**) y portugués (**RESUMO**).

**Palabras clave.** Se ubican luego de cada resumen. El título en mayúscula, negrilla, en español (**PALABRAS CLAVE**), inglés (**KEYWORDS**) y portugués (**PALAVRAS-CHAVE**) seguido de dos puntos. Se admiten, mínimo tres (3) y máximo cinco (5) palabras clave que no hagan parte del título, con la primera letra en mayúscula, separadas entre sí por coma y con punto al final.

**Ejemplo:**

**PALABRAS CLAVE:** Reología, Pos cosecha, Maduración, *Bactris gasipaes*.

**Cuadros y figuras.** Se acepta un máximo de 6 figuras y/o cuadros y deberán aparecer dentro del texto y procesarse en el formato original, con buen contraste y resolución (calidad mínima de 300 dpi) para evitar policromías y facilitar la diagramación. El título va en la parte superior y no debe superar dos líneas, en Arial recta normal 9, separado por una interlinea y con punto final; debe incluir la palabra Cuadro o Figura seguido del número arábigo consecutivo (en negrilla), un punto y una breve descripción (Ejemplo: **Cuadro 1.** Título descriptivo). Se deben usar líneas horizontales y verticales para separar las entradas del cuadro y cada columna debe tener encabezado (en negrilla, con mayúscula inicial). El tamaño de fuente al interior de un cuadro es arial 9 puntos normal y, en el caso de necesitarse algún pie de cuadro/figura o fuente de consulta, debe estar escrito en Arial 8 puntos normal.

**Títulos** (en arial recta 11 puntos). Los de primer nivel (partes principales del manuscrito) con mayúscula sostenida y negrilla; los de segundo nivel con mayúscula inicial, negrilla y sin punto final, separados del texto por dos interlíneas. Los de tercer nivel con mayúscula inicial, negrilla y un punto seguido, continuando el texto en el mismo renglón luego de un espacio.

**Ejemplo:**

**MÉTODO**

**Materiales**

Material vegetal. El material vegetal usado.....

**Expresiones matemáticas.** Deben ser escritas dejando dos espacios sobre, debajo y entre cada una de ellas y se debe utilizar el editor de ecuaciones de MS Word. Deben seguir un formato uniforme, justificarse al margen izquierdo y usar la expresión (Ec.1) con números arábigos consecutivos justificada al margen derecho (para mayor facilidad, insertarlas en un cuadro de dos columnas, sin bordes), citándolas en el sitio indicado. El significado de las variables y sus respectivas unidades deben aparecer luego de que se utilicen por primera vez, usando el Sistema Internacional de Unidades (SI).

**Referencias.** Deben ser al menos 20 y mínimo el 70% de ellas deben ser recientes (de los últimos tres años) y corresponder a artículos de investigación científica (al menos el 60% del total) de corriente principal que puedan respaldar lo escrito, minimizando el uso de literatura gris (tesis, de informes locales y de poco alcance, y de trabajos de congresos, a menos que sea necesario). Dentro del manuscrito se deben indicar según el orden de aparición y encerradas entre corchetes [1,2], notación que se mantendrá en la sección de **REFERENCIAS**. Se permitirá máximo un 15% de autocitación y se espera que gran parte de las citas provengan del idioma inglés. Si la referencia cuenta con 4 o más autores, usar *et al.*



Para las referencias se deben seguir estos criterios:

**Artículo científico:**

SMITH, J.S., SORIA-WHITE, R. and WEBBER, A. Chaos in a model of forced quasi-geostrophic flow over topography: an application of Melnikov's method. *Food Control*, 2(3), 1991, p. 511-547, DOI (si lo tiene).

**Libro:**

BILLAS, G.L. y GOSPS, J. *Física cuántica*. 4 ed. Madrid (España): Acribia, 1990, 450 p.

**Capítulo de libro:**

LEWIS, P. and STEVENS, J.G. En: *Time Series Prediction. Modeling time series by using Multivariate Adaptive Regression Splines (MARS)*. 1 ed. Madrid (España): Iberoamericana, 1994, p. 297-318.

**Memoria de evento:**

ÁLZATE, N., BOTERO, T. y CORREA, D. El arte de la escritura de artículos. *Memorias XIX Congreso Latinoamericano de Ponencias Científicas*. Córdoba (Argentina): Instituto Argentino de Investigaciones, Tomo II, 2000, p. 219-228.

**Normas técnicas:**

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (AOAC). ASTM D1434-82: Standard test method for determining gas permeability characteristics of plastic film and sheeting. Pennsylvania (USA): 2009, 13 p.

**Reporte de un organismo o Gobierno:**

COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. *La situación de la provisión de alimentos en un mundo moderno*. Bogotá (Colombia): 1997, 57 p.

**Tesis:**

JACOBS J. *Regulación of life history strategies within individuals in predictable and unpredictable environments* [Ph.D. Thesis Social Communication]. Seattle (United States): University of Washington, Faculty of Humanities, 1996, 345 p.

**Patentes:**

MOREIRA, G. e MATOS, T. *Embalagem biodegradável de amido de inhame*. US 6.444.567, Clases 343, 356. Sao Paulo (Brasil): 2001.

**Monografías electrónicas:**

MACIAS, J.C., SANTOS, J.M. and WILD, E. *Handbook of Nanomaterials* [online]. 1996. Disponible: <http://nano.hb/handbook/kewat.com/> [citado 4 de abril de 2004].

**Otras referencias electrónicas:**

NOAA-CIRES. *Climate Diagnostics Center. Advancing Understanding and Predictions of Climate Variability* [online]. 2010. Disponible: <http://www.cdc.noaa.gov> [citado 8 de Agosto de 1998].

ASHWELL, M. *ILSI Europe Concise Series. Concepts of functional foods* [online]. 2002. Disponible: [http://www.ilsio.org/Europe/Publications/C2002Con\\_Food.pdf](http://www.ilsio.org/Europe/Publications/C2002Con_Food.pdf). [citado 13 mayo de 2009].



## EDITORIAL

## ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA

- 15 **Aumento de tolerancia de *Casuarina equisetifolia* a cloruro de sodio mediado por *Pseudomonas fluorescens***  
Ma. Del Carmen Rocha-Granados, Mario Alberto Cubillo-Constantino, Patricia Delgado-Valerio, Jesús García-Magaña, Gustavo Santoyo
- 24 **Caracterización y diagnóstico de los sistemas productivos en la vereda San Roque, Morales- Cauca**  
Zully Solarte, Consuelo Montes y Juan Pablo, Paz
- 36 **Efecto del baño químico sobre la conservación de propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de fresa (*Fragaria x ananassa*)**  
Erica Julieth Gil-Giraldo, Alba Lucia Duque-Cifuentes, Victor Dumar Quintero-Castaño
- 46 **Efecto del uso de semillas arbóreas forrajeras sobre la actividad fermentativa de los microorganismos ruminales**  
Luis René Pinto-Trinidad, Roselia Ramírez-Díaz, Laura Maricruz Sandoval-González.
- 53 **Evaluación de cartuchos de filtración Sartobran® P en la producción de la vacuna Gavac®**  
Arlenis Alfaro-Martínez, Ruthdali María Segura-Silva, Diasmarys Salinas-Rodríguez, Niuvis Montoya-Echavarría, Amaury Pérez-Sánchez
- 66 **Estabilidad durante el almacenamiento de polvo de coco fortificado con compuestos activos**  
Juan Carlos Lucas-Aguirre, German Antonio Giraldo-Giraldo, Misael Cortés-Rodríguez
- 77 **ÍNDICE TEMÁTICO**
- 79 **ÍNDICE DE AUTORES**



En la presente edición de la Revista Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial investigadores de México, Cuba y Colombia nos presentan los siguientes resultados de investigación.

Rocha, Cubillo, Delgado, García y Santoyo evaluaron la eficiencia de casuarina como especie tolerante a la salinidad y el efecto de *Pseudomonas fluorescens* sobre esa capacidad en condiciones de invernadero. Encontraron que la semilla de *Casuarina equisetifolia* tiene la capacidad de germinar en concentraciones de hasta 2% de NaCl, pero las cepas probadas de *Pseudomonas fluorescens* no tuvieron efecto.

Gil, Duque y Quintero evaluaron el efecto de un baño químico por aspersión, sobre algunos parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales de la fresa *Fragaria x ananassa*. Encontraron que las muestras con tratamiento difirieron significativamente del control en los parámetros evaluados, disminuyendo la pérdida de agua, pérdida de firmeza y cambio de color.

Pinto, Ramírez y Sandoval evaluaron la fermentación *in vitro*, a través de la técnica de producción de gas de semilla de *Acacia angustissima*, *Enterolobium cyclocarpum* y *Guazuma ulmifolia*. Concluyeron que las semillas *E. cyclocarpum* y *G. ulmifolia* se fermentan más favorablemente en rumen, mostrando mejor potencial y mayor fracciones de fermentación de los azúcares y carbohidratos de reserva, mejorando la digestibilidad *in vitro*.

Alfaro, Segura, Salinas, Montoya y Pérez evaluaron del empleo de cartuchos de filtración Sartobran® P en las etapas de purificación y filtración estéril del proceso productivo de la vacuna Gavac®. Concluyeron que resulta factible desde el punto de vista técnico-económico emplear los cartuchos de filtración Sartobran®.

Lucas, Giraldo y Cortés evaluaron la estabilidad de los atributos de calidad del polvo de coco fortificado con Ca y vitaminas C, D<sub>3</sub> y E (PC+CFA). Determinaron que las variables independientes evaluadas afectan los atributos de calidad del PC+CFA, siendo los más críticos la aglomeración del producto y la retención de vitaminas y antioxidantes.

Solarte y otros caracterizaron los sistemas productivos en la vereda San Roque de Morales, Cauca. Concluyeron que el café es la principal fuente de empleo y sustento de las familias, pero el manejo agronómico no es el apropiado; la producción de café es a nivel de micro fundíos con muy bajo nivel de tecnificación y baja productividad, afectando la economía familiar; además indican que la seguridad alimentaria tiene serias deficiencias.

Es interesante observar los adelantos tecnológicos y las metodologías para la investigación en las ciencias agrarias tal y como se puede evidenciar en los artículos relacionados. Gran parte de esos progresos se dan en términos de producción de alimentos para humanos y animales domésticos.

Sin embargo, llama la atención que en el Panorama de la Seguridad Alimentaria y Nutricional para América Latina y el Caribe del 2017, la FAO menciona que en 2016 hubo una prevalencia de la subalimentación de 6,6% (en 2015 era de 6,3%). Esto es, 42,5 millones de personas no cuentan con los alimentos necesarios para cubrir sus requerimientos energéticos diarios, un incremento de 2,4 millones de personas en comparación con 2015. También resalta que la región se ha caracterizado a lo largo de las últimas décadas por disponer de alimentos más que suficientes para cubrir los requerimientos de su población.

¿Será necesario revisar el modelo de producción y distribución de alimentos que se ha implementado? ¿Las políticas podrán enfocarse en buscar otras alternativas para que los alimentos estén disponibles para todos?

Existen fuentes no convencionales de alimentos en las localidades rurales, por ejemplo los provenientes de los bosques naturales o de los sistemas agroforestales que además proveen energía, materiales de construcción y medicinas. En los bosques de roble del sur de Colombia existe una despensa de esos productos forestales no maderables que proveen alimentos como hongos, frutos y miel, además proveen leña y agua de calidad y favorecen la disponibilidad a través de todo el año.

Además, a nivel urbano se viene demostrando como en huertos familiares o en los árboles y bosques urbanos, hay una fuente de alimentos importante. En la ciudad de Popayán, la Universidad del Cauca está apoyando el establecimiento de huertos urbanos agroecológicos en barrios de la ciudad y en las residencias universitarias; a nivel nacional existen otras iniciativas y en Latinoamérica hay un sinnúmero de experiencias, como por ejemplo lo planteado por Castañeda Díez con la Restinga comestible en la Universidad Federal de Río de Janeiro.

Está avanzando la investigación para la producción de alimentos en la región, pero 42,5 millones de personas no cuentan con los alimentos necesarios para cubrir sus requerimientos energéticos diarios, el modelo está fallando, por ello las comunidades que lo están viviendo deberán pensar en otras formas para abastecerse de alimentos y garantizar su soberanía alimentaria.

MG. I.F. JUAN CARLOS VILLALBA MALAVER<sup>1</sup>

---

1 Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad del Cauca.

## Aumento de tolerancia de *Casuarina equisetifolia* a cloruro de sodio mediado por *Pseudomonas fluorescens*

## Increased tolerance of *Casuarina equisetifolia* to sodium chloride caused by *Pseudomonas fluorescens*

## Tolerância Aumentada de *Casuarina equisetifolia* um cloreto de sódio mediada por *Pseudomonas fluorescens*

MA. DEL CARMEN ROCHA-GRANADOS<sup>1</sup>, MARIO ALBERTO CUBILLO-CONSTANTINO<sup>2</sup>,  
PATRICIA DELGADO-VALERIO<sup>3</sup>, JESÚS GARCÍA-MAGAÑA<sup>4</sup>, GUSTAVO SANTOYO<sup>5</sup>

### Historial del Artículo

Recibido para evaluación: 28 de Marzo de 2018.

Aprobado para publicación: 27 de Marzo de 2019.

- 1 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez". Profesor Investigador. Uruapan, Michoacán, México.
- 2 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez". Ingeniero Agrónomo, Uruapan, Michoacán, México.
- 3 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez" Profesor Investigador.. Uruapan, Michoacán, México.
- 4 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez". Profesor Investigador. Uruapan, Michoacán, México.
- 5 Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas. Profesor e Investigador. Morelia, Michoacán, México.

\*Correspondencia: [crochagra@hotmail.com](mailto:crochagra@hotmail.com)

**Cómo citar este artículo:** ROCHA-GRANADOS, MA. DEL CARMEN, CUBILLO-CONSTANTINO, MARIO ALBERTO, DELGADO-VALERIO, PATRICIA, GARCÍA-MAGAÑA, JESÚS, SANTOYO GUSTAVO. (2019). AUMENTO DE TOLERANCIA DE *Casuarina equisetifolia* A CLORURO DE SODIO MEDIADO POR *Pseudomonas fluorescens*. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,17(2), 15-23, DOI:<http://dx.doi.org/10.18684/bsaa.v17n2.1249>

## RESUMEN

*El uso de especies tolerantes y microorganismos benéficos es una alternativa en la recuperación de suelos salinos. El objetivo de esta investigación fue evaluar la eficiencia de casuarina como especie tolerante a la salinidad y el efecto de Pseudomonas fluorescens sobre ésta capacidad en condiciones de invernadero. Se determinó el efecto del cloruro de sodio (NaCl) sobre la germinación de casuarina, se analizó la interacción suelo-planta sobre su tolerancia a la salinidad y el efecto de Pseudomonas fluorescens cepas: UM16, UM240, UM256 y UM270 sobre el aumento de la tolerancia al NaCl. Los resultados obtenidos demuestran que la germinación de semillas de casuarina se retrasó en forma directamente proporcional a la concentración de NaCl. La tolerancia de la planta a NaCl se reflejó en materia seca, con valores de 3,50 a 23,48% y 1,18 a 30,66% por debajo del testigo absoluto para raíz y parte aérea, respectivamente. La cepa UM256 de P. fluorescens incrementó la materia seca de raíz y parte aérea entre 10,06 y 18,70% con relación al testigo con NaCl. En conclusión, el mejor resultado fue para las plantas que fueron inoculadas con P. fluorescens cepa UM256 la cual aumenta la tolerancia de las plantas ante condiciones de salinidad del suelo.*

## ABSTRACT

*The use of tolerant species and beneficial microorganisms is an alternative in the recovery of saline soils. The objective of this research was to evaluate the efficiency of casuarina as a species tolerant to salinity and the effect of Pseudomonas fluorescens on this condition. This research tested salinity tolerance of casuarina and the additive effect of Pseudomonas fluorescens inoculation. The effect of sodium chloride (NaCl) on the casuarina germination was determined, the soil-plant interaction was analyzed on its tolerance to salinity and the effect of Pseudomonas fluorescens strains (UM16, UM240, UM256 and UM270) on increased NaCl tolerance in casuarina. Results show that casuarina seed germination was delayed proportionally to NaCl concentration. NaCl tolerance was observed in dry biomass weight which decreased 3,50 to 23,48% in the roots and 1,18 to 30,66% in the aerial parts when compared to the absolute control. Inoculation of P. fluorescens strain UM256 increased dry biomass weight in the root and aerial part by 10,06 and 18,70%, respectively, when compared to the NaCl-treated control. In conclusion, the best result was for the plants that were inoculated with P. fluorescens strain UM256 which increases the tolerance of the plants to soil salinity conditions.*

## RESUMO

*O uso de espécies tolerantes e microrganismos benéficos é uma alternativa na recuperação de solos salinos. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a eficiência da casuarina como espécie tolerante à salinidade e o efeito da Pseudomonas fluorescens nessa condição. Determinou-se o efeito do cloreto de sódio (NaCl) na germinação da casuarina, analisou-se a interação solo-planta na tolerância à salinidade e o efeito das linhagens de Pseudomonas fluorescens: UM16, UM240, UM256 e UM270 no aumento do to-*

## PALABRAS CLAVE:

Bacterias, NaCl, Salinidad, Estrés.

## KEYWORDS:

Bacteria, NaCl, Salinity, Stress.

## PALAVRAS-CHAVE:

Báctérias, NaCl, Salinidade, Estresse.



lerância ao NaCl. Os resultados obtidos mostram que a germinação das sementes de casuarina foi retardada diretamente proporcional à concentração de NaCl na solução. A tolerância das plantas ao NaCl foi reflectido em matéria seca, com valores que variam 3,50-23,48% e 1,18 a 30,66% abaixo do controlo absoluto de raiz e da parte aérea, respectivamente. A linhagem UM256 de *P. fluorescens* aumentou a matéria seca da raiz e parte aérea entre 10,06 e 18,70% em relação ao controlo com NaCl, respectivamente. Em conclusão, o melhor resultado foi para as plantas que foram inoculadas com *P. fluorescens* cepa UM256, o que aumenta a tolerância das plantas às condições de salinidade do solo.

## INTRODUCCIÓN

El estrés ambiental tal como la sequía, temperatura, salinidad, contaminación por metales pesados y pesticidas, unidos al cambio climático, serán los factores limitante que afecten la productividad agrícola en las siguiente década [1,2]. A nivel global la salinidad es uno de los estrés que causa una sustancial pérdida en la productividad y calidad de los cultivos [2]. La acumulación de diferentes tipos de sales en cantidades excesivas causan toxicidad y desbalances en las plantas [3]. De todos los iones el Na<sup>+</sup> muestra la máxima toxicidad, la mayoría de los suelos que son afectados por salinidad contienen altas concentraciones de sales de sodio [4]. La salinización y alcalinización del suelo es el proceso por el cual hay una acumulación de sales libres en el subsuelo y el agua superficial, habiendo una marcada degradación del suelo, materia orgánica y microorganismos rizosféricos, lo que limita el crecimiento de las plantas [5, 6, 7].

La halófitas son plantas que han desarrollado mecanismos adaptativos a suelos salinos. Para el caso de especies arbóreas, se han reportado estudios de tolerancia a salinidad en *Eucalyptus*, *Populus*, *Casuarina* y *Acacia* [8]. La casuarina (*Casuarina equisetifolia*), también conocida como roble costero o pino australiano es una importante especie utilizada para el control de la erosión y restaura suelos salinos y pobre por su habilidad de fijar nitrógeno [9, 10]. Las raíces secundarias de la casuarina están asociadas con el hongo micorrízico *Glomus moseae*, el cual facilita la absorción de agua y nutrientes disponibles en el suelo, y a *Frankia* sp., bacteria fijadora de nitrógeno que favorece tolerancia a suelos pobres [10]. Algu-

nas rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) son tolerantes a la salinidad y podrían ayudar a las plantas a sobrevivir en suelos salinos [11].

Dentro de las rizobacterias se encuentra *Pseudomonas* spp. La bacteria *Pseudomonas fluorescens* cepa PF17, promueve resistencia al estrés salino en plantas de *Helianthus annuus* lo que a su vez ha favorecido su cultivo [12]. Algunas cepas de *P. fluorescens* UM16, UM270, UM256 y UM240 fueron aisladas de la rizósfera de un suelo seleccionado por registrar actividades contra diversos patógenos, con una eficiencia particular contra *Botrytis cinerea*; estas cepas promueven el crecimiento de la planta a través de mecanismos directos e indirectos [13, 14].

En casuarina no se ha reportado el uso de *Pseudomonas* spp en términos de bioaumentación para suelos con altos contenidos de sodio y cloro. En muchas ocasiones ésta característica del suelo es la limitante para utilizar estos árboles con fines forestales, porque, aunque la planta presente una tolerancia natural al estrés salino, simbiosis con microorganismos específicos, o se le hayan dado cuidados protocolarios en invernadero, ello no es suficiente al momento de trasplante en campo. Con este marco el objetivo principal de esta investigación fue la de evaluar la eficiencia de *Casuarina equisetifolia* como especie tolerante a la salinidad y determinar si *Pseudomonas fluorescens* aumenta ésta capacidad en condiciones de invernadero.

## MÉTODO

### Material biológico

Para esta investigación se utilizó semilla de casuarina (*Casuarina equisetifolia* L.), proveniente de árboles de 30 años de edad establecidos en el área urbana de la ciudad de Uruapan Michoacán (19° 24' 28.7" Latitud Norte y 102° 04' 21.8" Longitud Oeste). La recolección se hizo manualmente durante los últimos días de abril del 2014. Para ello, se cortaron frutos color marrón de las ramas bajas del árbol por presentar éstos un buen poder germinativo [15]. Los frutos se colocaron en bolsas de papel estraza a temperatura ambiente por un periodo de 3 días, tiempo en que las bractéolas abrieron para liberar la semilla; éstas fueron conservadas a temperatura ambiente en una bolsa de papel limpia hasta el momento de su uso.

## Fases del trabajo experimental

El experimento se desarrolló en tres etapas: 1) Prueba de germinación de casuarina en laboratorio, 2) Prueba de tolerancia de casuarina a NaCl bajo condiciones de invernadero y 3) Prueba de tolerancia de casuarina a NaCl mediado por *Pseudomonas fluorescens*, cepas: UM16, UM240, UM256 y UM270. Cada uno de los experimentos se llevó a cabo de manera independiente.

**Efecto del NaCl sobre la germinación.** Para esta prueba se utilizaron semillas de casuarina, las cuales se colocaron en solución de NaCl a diferentes concentraciones (0 a 2 % p/v), por un periodo de 24 horas. Después, las semillas fueron distribuidas en cajas Petrí, cubiertas en su base de papel absorbente humedecido con 1 mL de las disoluciones correspondientes. Para este experimento se utilizó un diseño completamente al azar con 11 tratamientos y cinco repeticiones; cada unidad experimental estuvo compuesta por 15 semillas y se evaluó el número de semillas y días a germinación.

**Prueba de tolerancia a NaCl bajo condiciones de invernadero.** Para este experimento se utilizaron charolas de poliestireno expandido (Copper block®), cada charola con 60 orificios y capacidad para 220 mL. Las charolas se llenaron con suelo arcilloso colectado en las instalaciones de la Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez", ubicada en la ciudad de Uruapan Michoacán, a 19° 23' 41.2" Latitud Norte y a 102° 03' 33.3" Longitud Oeste. Posterior a su llenado se realizó la siembra de semillas de casuarina para lo cual se sumergió en agua corriente por 24 horas antes de la siembra; ello con el fin de uniformizar la germinación; después se colocaron 4 semillas por orificio a una profundidad de 5 mm y 2 cm de separación. Los sustratos se humedecieron con agua antes de la siembra para facilitar el procedimiento. Una vez germinadas las semillas, se realizó un aclareo dejando sólo dos plantas por cavidad en cada charola. La humedad de los sustratos fue revisada diariamente de manera inicial, y después del primer mes se revisó cada tercer día. Cuando las plantas alcanzaron una longitud de 5 cm se iniciaron a regar con 35 mL de las soluciones de NaCl al 0, 0,25, 0,50, 1,00, 1,50 y 2,00% en disolución con agua cada 8 días durante dos meses. La cantidad de solución aplicada se determinó a manera tal que el NaCl quedara concentrado en el suelo, sin propiciar el escurrimiento de la disolución por efecto de la gravedad. Se agrega 100 mL de agua

a un volumen de suelo determinado, coleccionar el agua filtrada en un recipiente y aplicar el modelo: *Agua en el suelo = volumen inicial - volumen filtrado*. En este experimento se utilizó un diseño de completamente al azar, donde cada tratamiento correspondió a las 6 disoluciones de NaCl, con 3 repeticiones y 16 plantas por unidad experimental. Las variables que se midieron fueron: altura de la planta, número de ramillas por planta, longitud de la raíz principal y materia seca de la raíz y parte aérea.

**Tolerancia al NaCl mediado por *Pseudomonas fluorescens*.** Para este experimento se utilizaron plantas de casuarina provenientes de semillas que se germinaron en un sustrato de perlita (Agrolita®). Una vez que las plantas alcanzaron una altura de 5 cm se trasplantaron 2 plantas en vasos de unicel del número ocho, cada vaso contenía 210 g de suelo arcilloso previamente esterilizado en autoclave, después de una semana del trasplante se etiquetaron. En este experimento se utilizaron 4 cepas de *Pseudomonas fluorescens* (UM16, UM240, UM256 y UM270) que se aplicaron a un suelo esterilizado y 2% de NaCl. Se incluyeron dos testigos: uno en el que sólo se aplicó agua corriente, y otro en el que se regó con disolución de NaCl al 2%, hasta que las plantas alcanzaron dos meses y medio de desarrollo. El suelo se colectó de áreas con poca maleza en el rancho de la Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez". Con ayuda de una pala fueron extraídas, en cubetas de 19 L, muestras de los primeros 15 cm del suelo, para posteriormente estas ser tamizadas y mezcladas en tinas de plástico. Para eliminar el exceso de humedad, el suelo se dejó secar a temperatura ambiente por espacio de 15 días, con una remoción de la muestra cada tercer día para mantener aireación de las capas basales. Después del tiempo de secado, el suelo se colocó en bolsas de plástico para ser esterilizado en autoclave a una temperatura de 121°C por espacio de 45 min, antes de ser almacenado hasta el momento de su uso. En este experimento se empleó un diseño completamente al azar, con seis tratamientos, 15 repeticiones y dos plantas por unidad experimental y las variables evaluadas fueron las mismas del experimento 2.

## Cultivo y crecimiento de las bacterias

Las cepas UM16, UM256, UM240 y UM270 de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* [20], fueron cultivadas en medio nutritivo (Bioxon®). Para 1 L de medio de cultivo se agregaron 30 g L<sup>-1</sup>, se ajustó el pH a

7 con HCl o bien KOH y se esterilizó en autoclave a 121°C por espacio de 15 minutos. Las bacterias fueron sembradas en el medio colocando, con una aza bacteriológica, cada cepa bacteriana en un matraz independiente conteniendo el medio de cultivo líquido. Posteriormente, se llevaron a agitación por 24 horas a 30°C y 150 rpm en un agitador orbital por 24 horas previas a su aplicación en las plantas desarrolladas en invernadero, o bien hasta que alcanzaron una fase de crecimiento de logaritmo de  $1 \times 10^{-6}$  UFC.

### Inoculación de las cepas bacterianas

La aplicación de las bacterias se realizó 15 días después del trasplante de las plantas a los contenedores individuales. En esta fase se comparó el efecto de las 4 cepas de *Pseudomonas fluorescens* (UM16, UM240, UM256 y UM270) sobre la tolerancia de *Casuarina equisetifolia* a NaCl. Se incluyeron dos testigos: uno en el que sólo se aplicó agua corriente, y otro en el que se regó con disolución de NaCl al 2%. Al resto de las plantas se les agregaron directamente sobre el suelo 10 mL de la bacteria ( $1 \times 10^{-6}$  UFC) en suspensión preparada. Ocho días después de la aplicación de las bacterias, se regó con 70 mL contenedor<sup>-1</sup> de NaCl al 2% (p/v) (excepto testigo absoluto). Esta práctica se repitió cada 8 días por mes y medio, tiempo en el que las plantas se extrajeron de los contenedores para hacer las evaluaciones correspondientes.

### Análisis estadístico

Los datos de las diferentes variables evaluadas se sometieron a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias (Tukey,  $P < 0,05$ ), para lo cual se utilizó el paquete estadístico InfoStat (Software estadístico, versión 2014).

## RESULTADOS

### Prueba de germinación

**Número de semillas germinadas y días a germinación.** De acuerdo con los resultados obtenidos, las semillas de *C. equisetifolia* germinaron en todas las concentraciones de cloruro de sodio evaluadas, sin diferencias estadísticas para esta variable; sin embargo, el tiempo de germinación se retrasó en proporción directa a la concentración de NaCl en la solución

(Figura 1). El tratamiento a 2% de NaCl exhibió germinación 9 días después que el testigo.

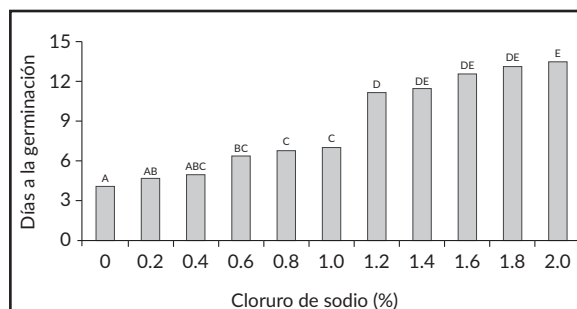
La falta de inhibición de germinación de la semilla a las diferentes concentraciones de NaCl, pudo deberse a la condición misma de las semillas que presentan tolerancia a éste elemento. En semillas de arroz, de los genotipos CSR10 y M148, tolerantes al cloruro de sodio (NaCl) o sal, se observó que mantienen una baja relación de Na/K en los brotes y restringen la toma y translocación del Na de la raíz hacia los brotes. En la raíz, el genotipo CSR10 suprime el estrés aumentando la unión de electrolitos, promueve la acumulación de solutos compatibles y mantienen la homeostasis iónica celular más aficientemente que el genotipo M148 [16].

### Efecto del NaCl sobre el crecimiento de *C. equisetifolia* bajo condiciones de invernadero

**Materia seca de raíz y parte aérea.** Se observaron diferencias significativas entre tratamientos para materia seca de raíz y parte aérea. El testigo predominó con el porcentaje más alto de materia seca, mientras que a la concentración de 1% de NaCl las plantas presentaron menor respuesta con 23,48% inferior al testigo absoluto (Figura 2). En materia sec de la parte aérea las plantas crecidas en 2,00, 0,50, 0,25 y 1,50%, presentaron un 1,18, 11,53, 11,92 y 23% respectivamente, por debajo del testigo. Las concentraciones estadísticamente iguales se manifestaron entre 3,5 y 14,3% por debajo del testigo absoluto.

La raíz de las plantas es el órgano que estará en contacto directamente son las salinidad. El estrés salino daña las funciones de la raíz y otros organelos celulares provocando una disminución en el metabolismo

**Figura 1.** Tiempo de germinación de semillas de *Casuarina equisetifolia* embibidas en diferentes concentraciones de NaCl bajo condiciones de laboratorio. Valores con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey,  $P < 0,05$ ).



y desarrollo fisiológico de las plantas debido al decremento de los pigmentos fotosintéticos, al desbalance en la toma de nutrientes, acumulación de iones tóxicos y al estrés osmótico y oxidativo en diversos tipos de plantas [17, 18, 19]. El hecho de que estadísticamente no haya habido diferencias en profundidad, aunado a la cantidad de materia seca en el tratamiento con 2% de NaCl, hace pensar en el mismo principio fisiológico para *C. equisetifolia*. Así mismo, se confirmó que esta especie arbórea se desarrolla en concentraciones de hasta 2 % de salinidad y su combinación con otros factores de estrés o bioaugmentación explica una tolerancia simultánea a varias condiciones adversas, tal como lo comentan [10] para NaCl e hidrocarburos. En este escenario, la salinidad del suelo podría jugar un papel importante en la estimulación y mantenimiento de la planta al activar los mecanismos adaptativos preestablecidos de ésta.

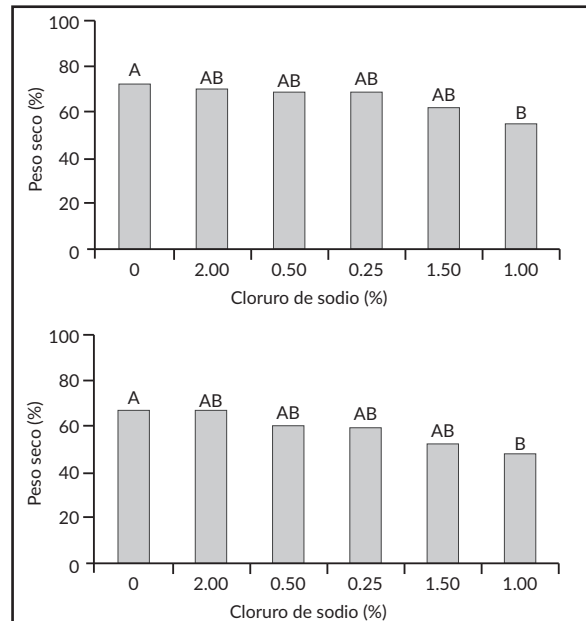
Al comparar estos datos con los resultados de materia seca de raíz, se infiere que el desarrollo radical se relaciona directamente con el exhibido en la parte aérea de la planta. En una investigación similar se pudo observar un aumento en la producción de materia seca y fresca de raíz y brotes de plantas de frijol que fueron inoculadas con una o varias especies de bacterias promotoras del crecimiento [20]. Es destacable el hecho que a partir del 1,5% de NaCl se notó un aumento perceptible en la materia seca, evidencia de que los mecanismos de tolerancia no sólo se reflejan en raíz, sino también en parte aérea, al tener condiciones adversas en el suelo [20].

***Pseudomonas fluorescens* y su efecto sobre la tolerancias de *C. equisetifolia* a NaCl**

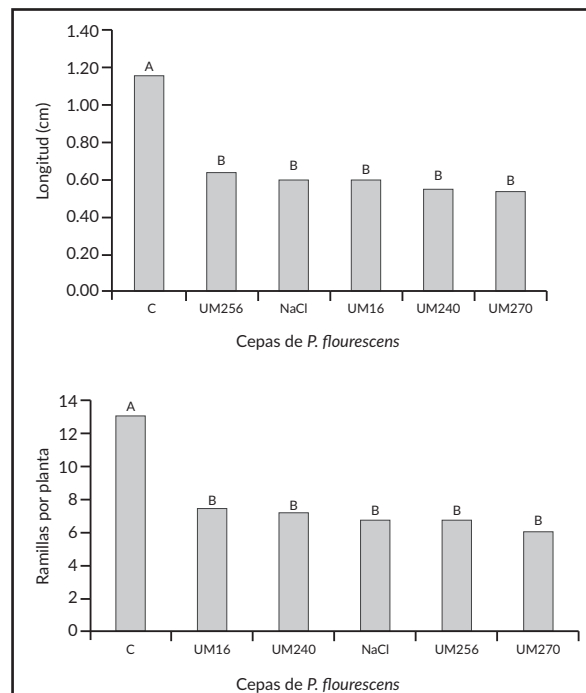
**Altura y número de ramillas.** Se tuvieron diferencias altamente significativas entre tratamientos para la altura y número de ramillas de las plantas. Las plantas con mayor altura y producción de ramillas fueron las correspondientes al testigo absoluto (Figura 3). Para esta condición las cepas de *Pseudomonas* empleadas no tuvieron efecto, estadísticamente fueron iguales al tratamiento con NaCl al 2%. *Pseudomonas fluorescens* se caracteriza por la producción de ácido indolacético (AIA), el cual es un regulador de crecimiento implicado en la producción de raíces, no teniendo un efecto significativo en la parte aérea de las plantas [21].

**Materia seca parte aérea y radicular.** Hubo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos

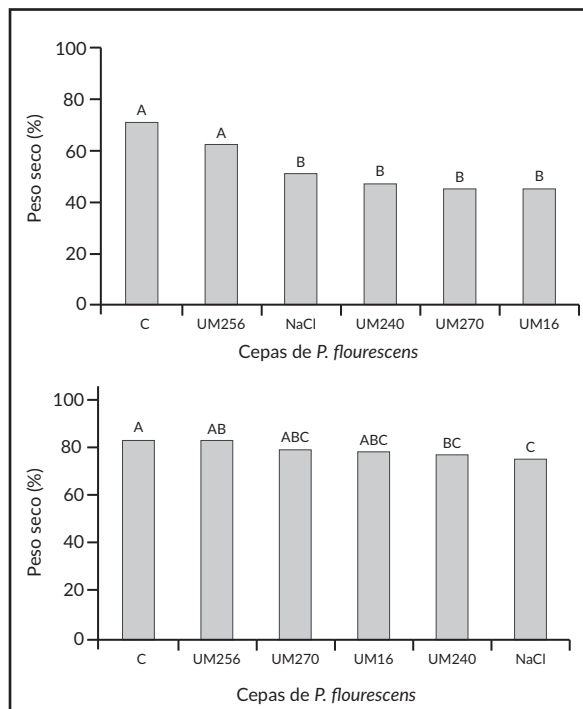
**Figura 2.** Porcentaje de materia seca de raíz (superior) y parte aérea (inferior) de *Casuarina equisetifolia*, crecidas a diferentes concentraciones de NaCl en invernadero. Valores con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, P>0,05).



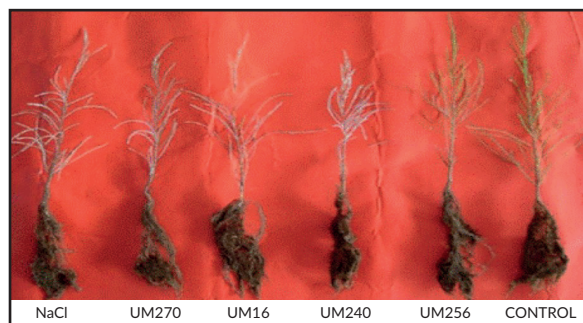
**Figura 3.** Altura promedio (superior) y número de ramillas (inferior) por planta de *Casuarina equisetifolia* inoculadas con *Pseudomonas fluorescens* cepas: UM16, UM240, UM256 y Um270, bajo invernadero. Valores con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey, P>0,05).



**Figura 4.** Porcentaje de materia seca en parte aérea (izquierdo) y radicular (derecho) de plantas de *Casuarina equisetifolia* sin tratar (testigo) o tratadas con NaCl e inoculadas con *Pseudomonas fluorescens* bajo invernadero. Valores con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey,  $P > 0,05$ ).



**Figura 5.** Aspecto físico de las plantas de casuarina sin (testigo) y con riego con NaCl al 2% y aplicación de cuatro cepas de *Pseudomonas fluorescens* (UM16, UM240, UM256 y UM 270).



en el contenido de materia seca de la parte aérea y radicular. Las plantas que no recibieron tratamiento alguno mostraron materia seca superior a las plantas inoculadas con las diferentes cepas de *P. fluorescens*, aunque estadísticamente tuvieron el mismo efecto que las plantas inoculadas con la cepa UM256 de *Pseudomonas fluorescens* (Figura 4), con rendimientos inferiores al testigo absoluto (12,06%), pero superior al testigo con cloruro de sodio (18,70%). Al

igual que en los resultados de la materia seca aérea el porcentaje más alto de materia seca radicular se observó en el testigo absoluto; sin embargo, llama la atención el hecho de que las plantas tratadas con las cepas de *Pseudomonas fluorescens* presentaron cierto porcentaje entre los testigos con y sin NaCl; de ellas, las plantas inoculadas con la cepa UM256 mostraron una cantidad de materia seca 1,26% por debajo del testigo absoluto, y 10,06% superior a las plantas que sólo se les aplicó NaCl. Para el caso de las plantas inoculadas con las cepas UM270, UM16 y UM240, se observó un contenido de materia seca de raíz 5,37, 6,16 y 7,85% por debajo del testigo absoluto, así como un 2,73, 4,59 y 5,49% por encima del testigo con NaCl al 2%, respectivamente (Figura 4 y 5).

Los resultados anteriores son similares a los estudiados por [20], donde la cepa de *Pseudomonas fluorescens* PF17 incrementó el crecimiento y tolerancia de girasol (*Helianthus annuus*) a salinidad. Diferente a lo que se pudiera haber esperado, se observó que la cepa UM256 promovió un mejor desarrollo de la raíz que las cepas UM16 y UM270, las cuales han mostrado en diferentes experimentos una mayor producción de masa radicular y efectos de antibiosis a patógenos como *Botrytis cinerea* [21]. Este efecto de resistencia a la salinidad es característico de varias especies de rizobacterias [22]. Los resultados concuerdan con los reportados por [23], donde plantas de pepino (*Cucumis sativus*) con *Pseudomonas fluorescens*. presentaron un incremento en la longitud de brotes y la biomasa total. Así mismo, [21] comentan que las bacterias UM270, UM240, UM16 y UM256 incrementaron el peso de raíz en plantas de *Medicago truncatula* en condiciones in vitro. Hasta el momento, no hay reportes de estudios similares con esta bacteria para *C. equisetifolia*.

## CONCLUSIONES

La semilla de *Casuarina equisetifolia* tienen la capacidad de germinar en concentraciones de hasta 2% de NaCl y su tiempo de germinación es retrasado en forma directamente proporcional a la cantidad de cloruro de sodio en la solución.

Las cepas probadas de *Pseudomonas fluorescens* no tuvieron efecto sobre el crecimiento y aumento de ramillas en plantas de *Casuarina equisetifolia* bajo condiciones de invernadero en suelo estéril regado



con NaCl al 2%. Esto se manifestó visualmente en la tolerancia de la planta al estrés salino. Hasta el momento, los reportes sobre la respuesta a salinidad de la semilla de *C. equisetifolia* son escasos y poco se han estudiado los efectos de *Pseudomonas* sp en el aumento de la tolerancia de casuarina al estrés salino.

## REFERENCIAS

- [1] HUSSAIN, M. *et. al.* Rice in salinity soils: Physiology, biochemistry, genetic, and management. *Advances in Agronomy*, 148, 2018, p. 231-287.
- [2] RANA, D.S. *et. al.* Biotic and abiotic stress management in pulses. *Indian Journal of Agronomy*, 61, 2016, p. 238-248.
- [3] ABBASI, H. *et. al.* Salt stress manifestation on plants, mechanism of salt tolerance and potassium role in alleviating in: a review. *Žemdirbystė. Agriculture*, 103(2), 2016, p. 229-238.
- [4] KHORASGANI, O.A., MORTAZAEINEZHAD, F. and RAFIEE, P. Variation on plant growth, oil quantity and quality and mineral nutrients of chamomile genotypes under salinity stress. *Journal of Central European Agriculture*, 18(1), 2017, p.150-168.
- [5] ZHAO, S. *et. al.* Soil pH is equally important as salinity in shaping bacterial communities in saline soils under halophytic vegetation. *Scientific Reports*, 8, 2018, p.4550, DOI:10.1038/s41598-018-22788-7.
- [6] ZHANG, Z. *et. al.* Effects of soil salinity on the content, composition, and ion binding capacity of glomalin-related soil protein (GRSP). *Science of the total environment*, 581(582), 2017, p. 657-665, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.12.176
- [7] LEÓN-LORENZANA, A.E. *et. al.* Reducing salinity by flooding extremely alkaline and saline soil changes the bacterial community but its effect on the Archaeal community is limited. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2017, p. 1-10.
- [8] TALEISNIK, E. y LÓPEZ-LAUNESTEIN, D. Leñosas perennes para ambientes afectados por la salinidad: una sinopsis de la contribución argentina a este tema. *Ecología Austral*, 21, 2011, p. 3-14.
- [9] KUMAR, V. *Casuarina equisetifolia* L.: A potential tree. *Jabalpur (India): Tropical Forest Research Institute Van Sangyan*, 3(9), 2016, p.14-17.
- [10] SUN, W.H. Phytoremediation of petroleum hydrocarbons in tropical coastal soils I. Selection of promising woody plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 11, 2004, p. 260-266.
- [11] MISHRA, J., TAHMISH, F. and NAVEEN-KUMAR, A. Role of secondary metabolites from plant growth-promoting rhizobacteria in combating salinity stress. In: *Plant Microbiome: Stress response, microorganisms for sustainability*. Singapore (Singapore): D. Egamberdieve and P. Ahmad, Sprng Nature, Chapter 6, 2018, p.127-162.
- [12] TEWARRI, S. and ARORA, N.K. Fluorescent *Pseudomonas* sp. PF17 as an efficient plant growth regulator and bicontrol agent for sunflower crop under saline conditions. *Symbiosis*, 68(1-3), 2016, p. 99-108, DOI.org/10.1007/s13199-016-0389-8.
- [13] HERNÁNDEZ-SALMERÓN, J.E. *et. al.* Draft genome sequence of the biocontrol and plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* strain UM270. *Stand Genomic Science*, 11(5), 2016, DOI: 10.1186/s40793-015-0123-9.
- [14] ROJAS-SOLÍS, D, HÉRNANDEZ-PACHECO, C.E. y SANTOYO, G. Evaluación de *Bacillus* y *Pseudomonas* para la rizósfera y su efecto en la promoción del crecimiento en tomate (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 22, 2016, p. 45-58.
- [15] MÉXICO. COMISIÓN NACIONAL PARA EL CONOCIMIENTO Y USO DE LA BIODIVERSIDAD (CONABIO). Ficha técnica sobre *Casuarina equisetifolia* L [en línea]. 2009. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/casuarinaceae/casuarinaequisetifolia/fichas/ficha.htm> [Consultado en febrero del 2019].
- [16] SINGH, V. Differential expression of salt-responsive genes to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive rice (*Oryza sativa* L.) at seedling stage. *Protoplasma*, 255, 2018, p.1667-1681.
- [17] CUNHA, J.R. Salinity and osmotic stress trigger different antioxidant responses related to cytosolic ascorbate peroxidase knockdown in rice roots. *Environmental and Experimental Botany*, 131, 2016, p. 58-67.
- [18] SINGH, J., SINGH, V. and SHAMA, P.C. Elucidating the role of osmotic, ionic and major salt responsive transcript component towards salinity tolerance in contrasting chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 24(3), 2018, p.441-453.
- [19] ANNUNZIATA, M.G. *et. al.* Durum wheat roots adapt to salinity remodeling the cellular of nitrogen metabolites and sucrose. *Frontiers in Plant Science*, 7, 2017, p. 2035, DOI: 10.3389/fpls.2016.02035.

- 
- [20] KHUNT, M.D. and MEHTA, B.P. Efficacy of plant growth promoting rhizobacteria on mungbean root and shoot under salinity stress conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 6(10), 2017, p. 3616-3622.
- [21] HERNÁNDEZ-LEÓN, R. Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biological Control*, 81, 2015, p. 83-92.
- [22] MISHRA, J., FATIMA, T. and KUMAR. A.N. Chapter 6: Role of secondary metabolites from plant growth-promoting rhizobacteria in combating salinity stress. In: *Microorganisms for sustainability*. Berlin (Germany): Springer, 2018, p. 127-163.
- [23] NADEEM, S.M. *et. al.* Relationship between *in vitro* characterization and comparative efficacy of plant growth-promoting rhizobacteria for improving cucumber salt tolerance. *Archives of Microbiology*, 198(4), 2016, p.379-387.

## Caracterización y diagnóstico de los sistemas productivos en la vereda San Roque, Morales- Cauca

## Characterization and diagnostic of productive systems at vereda San Roque, Morales- Cauca

## Caracterização e diagnóstico de sistemas produtivos na vereda San Roque, Morales-Cauca

ZULLY SOLARTE<sup>1</sup>, CONSUELO MONTES<sup>2</sup>, JUAN PABLO, PAZ<sup>3</sup>

### RESUMEN

*En la vereda San Roque del municipio de Morales, Cauca – Colombia, se realizó esta investigación con el objeto de caracterizar unidades productivas para identificar los sistemas de producción apropiados de acuerdo a las condiciones edafoclimáticas,*

- 1 Ingeniera Agropecuaria, Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias. Popayán, Colombia
- 2 Universidad del Cauca, Departamento de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación para el Desarrollo Rural (Tull). M Sc. Profesora de planta. Popayán, Colombia.
- 3 Universidad del Cauca, Departamento de Ciencias Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación para el Desarrollo Rural (Tull). M Sc. Profesor de planta. Popayán, Colombia

**Correspondencia:** [cmontes@unicauca.edu.co](mailto:cmontes@unicauca.edu.co).

**Cómo citar este artículo:** SOLARTE, ZULLY, MONTES, CONSUELO, PAZ, JUAN PABLO. (2019). Caracterización y diagnóstico de los sistemas productivos en la vereda San Roque, Morales- Cauca. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,17(2), 24-35, DOI:<http://dx.doi.org/10.18684/bsaa.v17n2.1250>



*contribuir al mejoramiento de la producción, la seguridad alimentaria, y desarrollo de la región. Se realizó un diagnóstico participativo de la caficultura en 5 unidades productivas de la vereda, donde se definieron participativamente las estrategias para mejorar las técnicas de producción de café, los cultivares y crianzas de especies menores, que se pueden establecer en cada predio; de igual forma se realizaron capacitaciones para contribuir al mejoramiento de los sistemas productivos, y formar promotores, técnicos y beneficiarios productores. Se concluyó que el café es la principal fuente de empleo y sustento de las familias, pero el manejo agronómico no es el apropiado; la producción de café es a nivel de microfundios con muy bajo nivel de tecnificación y baja productividad, afectando la economía familiar; la seguridad alimentaria tiene serias deficiencias, por ausencia de cultivos de pancoger y la calidad del agua de consumo se identificó como causante de enfermedades gastrointestinales, porque no son tratadas por carecer de acueducto.*

## ABSTRACT

*At sidewalk San Roque in the municipality of Morales, Cauca - Colombia, this research was carried out in order to characterize production units to identify the appropriate production systems according to soil and climatic conditions, contribute to the improvement of production, food security, and development of the region. A participative diagnosis of the coffee production was carried out in 5 productive units of the village, where the strategies to improve coffee production techniques, cultivars and breeding of smaller species, which can be established in each farm, were defined participatively; In the same way, training was carried out to contribute to the improvement of the productive systems, and to train promoters, technicians and beneficiary producers. It was concluded that coffee is the main source of employment and sustenance for families, but agronomic management is not the appropriate one; coffee production is at the level of microfarms with very low level of technology and low productivity, affecting the family economy; food security has serious deficiencies, due to the absence of temporary crops and the quality of drinking water was identified as causing gastrointestinal diseases, because they are not treated due to lack of aqueduct.*

## RESUMO

*O município de San Roque de Morales, Cauca - Colombia, esta pesquisa foi conduzida de modo a caracterizar unidades de produção para identificar sistemas de produção adequada de acordo com as condições de solo e climáticas, contribuir para melhorar a produção, segurança alimentar, e desenvolvimento da região. Um diagnóstico participativo da produção de café foi realizado em 5 unidades produtivas da aldeia, onde as estratégias para melhorar as técnicas de produção de café, cultivares e melhoramento de espécies menores, que podem ser estabelecidas em cada fazenda, foram definidas de forma participativa; Da mesma forma, treinamentos foram realizados para contribuir com a melhoria dos sistemas produtivos e capacitar promotores, técnicos e produtores beneficiários. Concluiu-se que o café é a principal fonte de emprego e sustento para as famílias, mas o manejo agrônômico não é o adequado;*

## PALABRAS CLAVE:

Café, Desarrollo rural, Técnicas de producción, Sistemas de producción, Arreglos agroforestales.

## KEYWORDS:

Coffee, Rural development, Production techniques, Production systems, Agroforestry arrangements

## PALAVRAS-CHAVE:

Café, Desenvolvimento rural, Técnicas de produção, Sistemas de produção, Arranjos agroflorestais.

*a produção de café está no nível da microfundia- gem, com baixíssimo nível de tecnologia e baixa produtividade, afetando a economia familiar; A segurança alimentar tem sérias deficiências, devido à ausência de culturas de pân- creas e a qualidade da água potável foi identificada como causadora de doenças gastrointestinais, porque elas não são tratadas devido à falta de aqueduto.*

## INTRODUCCIÓN

Colombia se destaca como un país agrícola, donde el café es el cultivo más importante a nivel nacional e internacional, porque la calidad del grano se cotiza a un mejor precio, y se reconoce actualmente en el mundo como uno de los países sobresalientes en exportación de café suave [1]. De acuerdo con el Censo Cafetero, alrededor de 563 municipios son productores, donde se benefician aproximadamente 563.000 familias. Ninguna otra actividad agrícola genera el ingreso y el desarrollo social asociado al café en las zonas rurales de Colombia, por esta razón, el café significa desarrollo rural, redistribución del ingreso y construcción de paz [2].

En el área rural de Colombia el 95% de las familias cafeteras cultivan el grano en pequeñas fincas o parcelas, cuyos cultivos, en promedio no superan las dos hectáreas [3]. La mitad de los agricultores de pequeñas explotaciones dependen por completo de los ingresos de sus parcelas, por tanto, la reducida dimensión de los cultivos ha permitido que la actividad cafetera se desarrolle en un ambiente esencialmente familiar; donde la caficultura tiene gran impacto porque genera más de 500.000 empleos directos que corresponden al 36% del empleo agrícola total, lo cual le ha dado al café de Colombia reconocimiento en el exterior [2].

En el departamento del Cauca con potencial para producir cafés de alta calidad al contar con una oferta ambiental especial, la producción se lleva a cabo por cerca de 113.912 familias, vinculando aproximadamente a 376,000 personas a la actividad laboral [4]. El área total sembrada para el 2018 fue de 93.325 hectáreas distribuidas en 32 municipios, de los 42 con los que cuenta el departamento [5].

La gran mayoría de la producción se realiza en pequeñas parcelas, con protocolos y estándares de recolección y procesamiento de manera selectiva, impulsada por la Federación Nacional de Cafeteros. El Café del Cauca, al ser producido cerca de la línea Ecuatorial, recibe

relativamente altas dosis de brillo solar (1600 – 1800 horas/luz/año), lo que permite que se produzca a alturas elevadas. Sin embargo, es importante anotar que en la noche las temperaturas pueden bajar considerablemente, generando en el árbol diferentes reacciones fisiológicas ante un entorno de temperatura que se puede considerar adverso. Es por ello que las cerezas de café en Cauca no solo toman más tiempo en madurar, sino que acumulan azúcares y compuestos que se traducen en una bebida con notas dulces y de alta acidez, atributo altamente deseado por los conocedores. Adicionalmente, la interacción de los azúcares con el azufre proveniente de los suelos de origen volcánico permite generar los aromas acaramelados que destacan el café de esta región [6].

Teniendo en cuenta que el municipio de Morales tiene potencial para la producción de café y cuya mayor fuente de empleo es generada por este sistema productivo, se realizó esta investigación con el objeto de caracterizar 5 predios representativos en la vereda San Roque, para conocer el estado actual de los predios, evaluar las potencialidades de la caficultura en primera instancia, y de la finca en general, desarrollando dinámicas comunitarias enfocadas a la producción sustentable. Dada la importancia de este sistema de producción, se trabajó en conjunto con la comunidad para definir estrategias que contribuyeran al mejoramiento sustentable de la productividad, fortaleciendo el potencial productivo del municipio.

## MÉTODO

La evaluación, se hizo mediante dinámicas de investigación acción participativa (IAP), aplicación de indicadores de sustentabilidad en los ejes económico, ambiental, socio cultural, técnico agropecuario, y de autonomía alimentaria, sugeridos por Londoño, 2016; se consideraron parámetros de producción sustentable y agroecológica y la proyección de los miembros de la comunidad participante; de igual manera se tuvo en cuenta la información suministrada por el IGAC [7], para la determinación de las condiciones edafoclimáticas y usos potenciales del suelo.

### Cartografía social

En conjunto con los productores se elaboraron mapas a mano alzada de sus predios, con el fin de construir un conocimiento integral del territorio utilizando instrumentos técnicos y sus vivencias, de tal

forma que al hablar de su región, se fueran detectando fortalezas y debilidades lo que permitió recopilar información primaria de la caracterización.

### Selección de fincas

Con base en los mapas elaborados por los productores, se realizó una preselección de fincas de acuerdo al área, sistemas de producción típicos y diversos de la zona, áreas de protección y de bosque, fuentes hídricas, y participación del productor, entre otros.

### Caracterización de los sistemas productivos

Teniendo en cuenta las descripciones del IGAC [7] y el POT [8] del municipio de Morales referentes a las características edafoclimáticas y geomorfológicas de la zona, se visitaron 5 unidades productivas para recopilar la información de campo y hacer la sistematización correspondiente a partir del instrumento de caracterización de Londoño (2016) [9].

**Levantamiento topográfico de las fincas.** En conjunto con los productores se realizó la georreferenciación de las fincas, recorriendo los linderos, lotes de cultivos y registrando especies forestales, ubicación de fuentes hídricas, nacimientos, humedales, áreas de bosque y protección, distancias de siembra, pendientes, y distancias entre puntos de referencia importantes. Esta información fue utilizada para la realización de planos reales de las fincas.

**Caracterización del recurso edáfico, hídrico y forestal de 5 fincas.** Se realizaron 3 aforos de las fuentes hídricas de 5 fincas a través del método volumétrico, que consiste en medir el tiempo que tarda el agua en llenar un recipiente al cual se le conoce el volumen, los aforos se hicieron en 3 sitios diferentes. Para la caracterización del recurso edáfico, se realizó una capacitación al respecto a los propietarios de las fincas, para que ellos tomaran las muestras en los diferentes lotes del predio. La caracterización del recurso forestal se hizo con los productores en el momento de la georreferenciación del predio, realizando el reconocimiento de las especies predominantes presentes en la finca y determinando sus usos.

**Evaluación mediante indicadores.** A partir de un diálogo semi-estructurado con el productor, se aplicó la guía para la caracterización de unidades agropecuarias [9] lo que permitió recoger información secundaria

de la finca referente a historia y evolución del predio, manejo agronómico, condiciones ambientales, dinámicas económicas, socioculturales, autonomía alimentaria, entre otros.

**Talleres de aplicación de indicadores.** En concertación con los propietarios de las fincas seleccionadas y motivando la autocrítica, se realizó un taller participativo en el cual se evaluaron los indicadores económicos, ambientales, socioculturales, técnico agrícola, técnico pecuario, y de autonomía alimentaria, consolidando la información en un cuadro general y un gráfico de telaraña que permitió visualizar la situación general de las fincas y de la vereda como sistemas integrados de producción. La escala de calificación se estableció en un rango de 1 a 5, (siendo el 1 la calificación más baja y 5 la ideal). La evaluación se realizó a criterio del productor y de los técnicos que participaron, especialmente en los indicadores técnico agrícola, técnico pecuario y ambiental.

**Talleres de aplicación de rutas de transición agroecológica.** Teniendo en cuenta las calificaciones obtenidas en el taller de indicadores, se socializó en la vereda la situación general de las fincas. En conjunto con los propietarios se identificaron los problemas y principales causas comunitarias e individuales referentes a cinco aspectos entre ellos: económico, agropecuario, ambiental, sociocultural, autonomía alimentaria, a partir de los cuales se generaron los planes de acción concertados a corto, mediano y largo plazo que surgieron de la misma comunidad, conducentes a modelos productivos sustentables en aras de procurar el bienestar común y la salud de los agroecosistemas existentes.

### Diagnóstico

Se inició el análisis DOFA, para definir amenazas, fortalezas, debilidades, y oportunidades de los predios y en general de la vereda. La realización del taller de aplicación de indicadores, permitió obtener calificaciones de cada uno de los sistemas productivos para determinar la situación real y la situación ideal, o a la cual se pretende llegar a través de diferentes metodologías de campo. Además, se tuvo en cuenta el análisis de la información obtenida a través del diálogo semi-estructurado con los propietarios y las familias en la aplicación del elemento metodológico de caracterización.

## Propuesta para el mejoramiento de la cafcultura

Identificadas las principales debilidades de las unidades productivas caracterizadas en la vereda San Roque del municipio de Morales y las expectativas de los productores frente a las mismas, se definieron participativamente estrategias conducentes al mejoramiento de la cafcultura en la zona, de igual forma se evaluó la posibilidad de incluir como complemento cultivos pertinentes a las condiciones edafoclimáticas de la vereda en mención, que aporten servicios ambientales, seguridad alimentaria a las familias y cuyos modelos puedan ser replicados en otros sistemas productivos fortaleciendo el desarrollo rural de la región.

### Implementación de la propuesta

Se inició apoyando la post-cosecha del café, siendo la necesidad principal en la zona. La investigación logró determinar que la mayoría de productores no poseen los medios económicos para mejorar el beneficio de café, repercutiendo de forma negativa en la calidad y en la economía, sumado a esto la falta de infraestructura para el secado del mismo, lo cual hace que muchos productores saquen la almendra verde al mercado, obteniendo menores ingresos y afectando negativamente la relación costo/beneficio del sistema de producción.

## RESULTADOS

### Caracterización de las fincas

La vereda San Roque pertenece al corregimiento de San Isidro, ubicada en la zona media del embalse La salvajina, con poca influencia del mismo. Tiene una extensión de 672 ha aproximadamente, es la tercera vereda más extensa del territorio con una altura promedio de 1600 msnm, que hacen de ésta una zona propicia para el desarrollo de la cafcultura, la producción de tomate y habichuela, cultivos que se destacan en mayor proporción; en menor escala se produce caña panelera y yuca, así como frutales y especies pecuarias menores que hacen parte de la seguridad alimentaria de las familias. El sistema de café se encuentra cultivado de forma tradicional y asociado a especies forestales, plátano y banano, destacándose las variedades Caturra y Castillo Tambo y variedad Colombia.

En el cuadro 1, se describe los cultivos existentes en las fincas de la vereda.

En la vereda algunas fincas cuentan con acceso al agua del acueducto regional y las demás tienen dificultad porque la fuente de agua está en la parte baja y se hace difícil el acceso. Hay presencia de erosión, ocasionada por las labores agrícolas inadecuadas y la influencia del embalse, sobretodo en la parte baja, lo cual ha modificado el paisaje, medio ambiente, fauna, y aspectos socio culturales en las comunidades cercanas.

En cuanto al servicio educativo, existe una escuela que asiste a la comunidad en la formación básica primaria y para el resto de formación académica es necesario desplazarse al colegio más cercano ubicado en la vereda San Isidro, a esto se atribuye que la mayoría de los propietarios de las fincas visitadas tengan solo un grado de escolaridad primaria, salvo algunas excepciones.

La comunidad residente es de origen campesino y la tenencia de la tierra es privada e individual a través de escrituras públicas o documentos de sana posesión, estos últimos otorgados por la EPSA, la Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca (CVC), y alcaldía. La organización política se rige por las juntas de acción comunal.

Se encontró que hay una dinámica de dialogo intergeneracional, en el cual se transmiten conocimientos referentes a la labor agrícola, mejores épocas para cultivar, cosechar y realizar labores según la luna, mitos, leyendas, entre otros de la región; se efectúan actividades de tipo religioso en todas las épocas del año.

Mediante el ejercicio de cartografía social, se encontró que la mayoría de productores no conocen el área real de sus predios, es común encontrar que los productores refieren poseer un área que no concuerda con la real, dicha situación se corroboró con el le-

**Cuadro 1.** Cultivos encontrados en las fincas de la vereda San Roque, Municipio de Morales, Cauca.

Cultivos	San Roque (%)
Café	85,00
Caña	0,74
Yuca	0,60
Coca	0,50
Bosque y rastrojo	12,36
Otros cultivos	0,80



vantamiento topográfico realizado a cada una de las unidades productivas (Figura 1).

### Diagnóstico

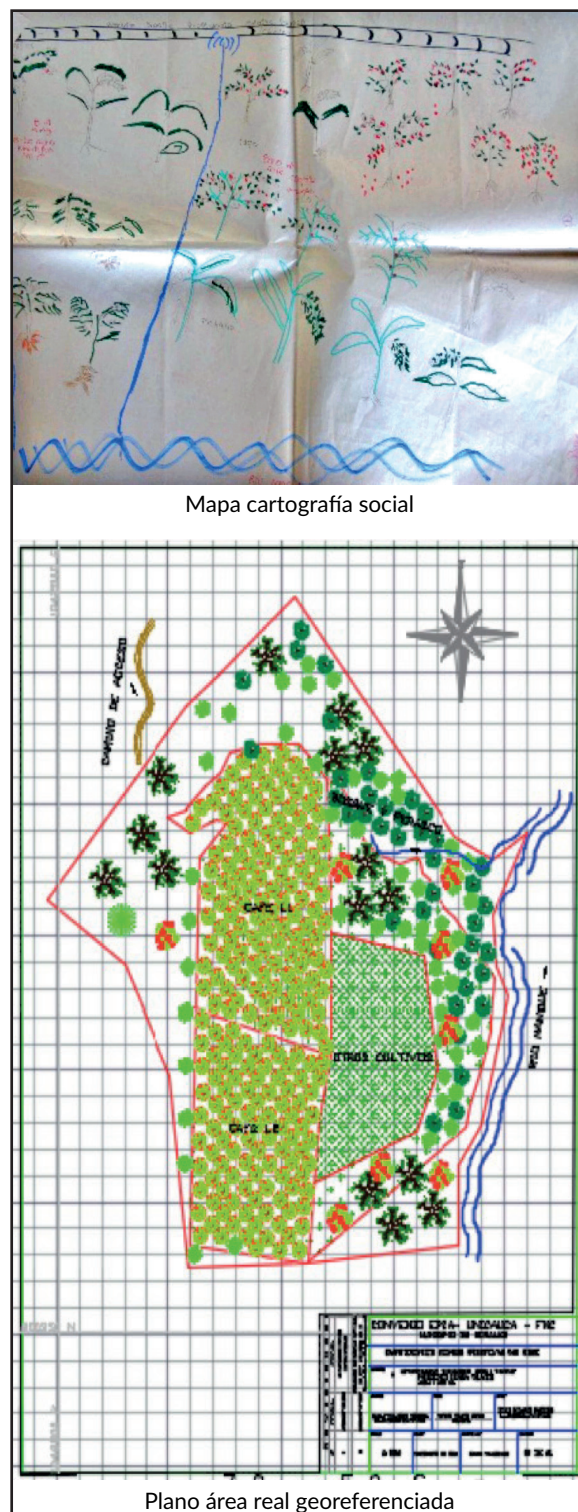
La figura 2, presenta el diagnóstico general en la vereda. Socio- culturalmente presenta dinámicas que apuntan a la excelencia, tienen claro que el trabajo de los líderes de la vereda se refleja en el apoyo y participación de la comunidad, vinculándose a diferentes actividades concernientes al bien colectivo.

El Indicador económico, deja claro que las actividades productivas no corresponden a las condiciones mínimas que garanticen sistemas de producción sustentables, por otra parte, el déficit de infraestructura y asistencia técnica, repercuten de forma negativa en la estabilidad del sistema debilitando otros ejes de la producción.

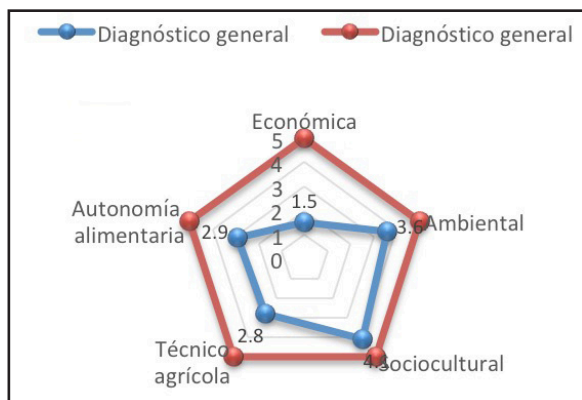
### Indicador de sustentabilidad ambiental.

Como se observa en el cuadro 2, el componente de biodiversidad es bajo, evidenciando la falta de diversificación de las diferentes unidades productivas visitadas, la mayoría poseen máximo dos variedades de café y sus ingresos económicos se remiten únicamente o en mayor grado a este sistema, por otra parte no existe complementariedad del sistema pecuario en las fincas, factor incidente para la calificación del indicador en mención, debido a que no se aprovechan los residuos animales para aportar al sistema de producción, por ejemplo en el mejoramiento del compostaje por el N que puede aportar el excremento animal. De igual manera los arreglos forestales son incipientes y minimamente han sido establecidos con criterios técnicos que permitan obtener múltiples beneficios. En los componentes agrícola y pecuario, actualmente se proyectan y adelantan acciones que permiten mantener un nivel de espacial y temporal adecuado, sin embargo a nivel particular en algunos predios se evidencia la necesidad de fortalecer dinámicas de concientización y protección de recursos naturales. Se aprecia que la comunidad se encuentra en un buen grado de concientización respecto al uso y aprovechamiento racional de los recursos naturales, situación que permite generar propuestas de modificación y mejoramiento de los sistemas productivos más pertinentes y de gran aceptación que contribuyan al mejoramiento de los sistemas de producción y condiciones generales de los predios seleccionados.

Figura 1. Plano a mano alzada y real de una finca de la vereda San Roque, Municipio de Morales – Cauca.



**Figura 2.** Diagnóstico sistemas productivos en la vereda San Roque, Municipio de Morales, Cauca.



**Cuadro 2.** Diagnóstico de indicadores en la vereda San Roque, municipio de Morales, Cauca.

Indicadores de sustentabilidad vereda San Roque		
<b>Indicador económico</b>		
Sustentabilidad	1,98	5
Autosuficiencia	1,06	5
Gestión	1,6	5
<b>Indicador ambiental</b>		
Agua	3,4	5
Suelo	4,0	5
Biodiversidad	2,7	5
Bosques, recursos forestales y fauna	4,3	5
<b>Indicador socio cultural</b>		
Participación y organización	3	5
Seguridad y soberanía alimentaria	2,2	5
Educación y conocimiento	3,2	5
<b>Indicador técnico agrícola</b>		
Nutrición	2	5
Fitosanidad	2,2	5
Manejo	3,3	5
Propagación	4,4	5
Productivo-económico	2,5	5

**Indicador de sustentabilidad económica.** La vereda necesita fortalecer procesos de sustentabilidad, se evidencia la falta de planeación de los predios lo cual incrementa la dependencia de insumos externos para la producción agrícola. De igual manera, se observó que los predios en su mayoría dependen de uno o máximo dos productos de comercialización para la sostenibilidad de sus familias, y en muchos casos los propietarios requieren de actividades extraprediales para solventar

las necesidades básicas. Se encontró que la gestión de recursos se remite mayoritariamente a la solicitud de créditos con entidades financieras para la renovación de cafetales, actividades de fertilización, y ampliación del cultivo en la finca. Se destaca que la mayoría de las instituciones que prestan este beneficio exigen la siembra exclusiva de variedad castillo a pesar de que muchos de los propietarios reconocen la viabilidad económica y sostenible de otras variedades.

Los recursos económicos no son suficientes para cubrir los costos de mantenimiento y producción, situación que empeora a causa del incremento en los costos de los insumos requeridos, como consecuencia, los cultivos se afectan, limitando el potencial de producción

**Indicador de sustentabilidad técnico agrícola.** La mayoría de los predios no poseen análisis de suelo que le permita realizar una adecuada fertilización acorde con las necesidades nutricionales del cultivo, en especial del café. En consecuencia, el desbalance nutricional hace que las plantas sean vulnerables al ataque de plagas, lo cual aumenta costos de producción, por tanto el componente fitosanitario obtuvo una calificación baja. En cuanto a las condiciones de manejo, la mayoría de las labores del cultivo son realizadas de forma tradicional y los agricultores no reciben acompañamiento técnico ni capacitación por parte de las entidades destinadas para tal fin. Para el caso del café reiterativamente manifiestan la necesidad de asistencia técnica por parte del comité de cafeteros; lo anterior, se refleja en el componente de evaluación productivo-económico de los predios. En cuanto a propagación, la mayoría de los propietarios manifiestan realizar selección, conservación, propagación de especies forestales y hortalizas adaptadas y nativas de la zona, por ende las dinámicas están encaminadas al manejo de estas prácticas.

**Indicador de sustentabilidad socio-cultural.** La seguridad y soberanía alimentaria presenta el valor más bajo, por la dependencia externa de los predios para suplir las necesidades alimentarias, la mayoría no cuentan con cultivos de pancoger y huertas que permitan suplir los requerimientos alimenticios básicos de la dieta, tales como hortalizas, legumbres, entre otros, a pesar de tener las condiciones edafoclimáticas que permiten que los alimentos mencionados se puedan producir en las fincas. Por otro lado, la producción de los cultivos primarios no es suficiente para generar ingresos constantes que permitan cubrir los

requerimientos alimenticios de una dieta balanceada. En lo que respecta a la participación y organización, en la vereda se desarrollan dinámicas comunitarias con una buena trayectoria, la organización política se rige por las juntas de acción comunal y los líderes veredales, en su totalidad los propietarios de los predios seleccionados participan activamente en reuniones, proyectos, mingas y demás convocatorias comunales, por tanto la calificación es buena y con acciones de fortalecimiento se acercan a una calificación ideal. En cuanto a educación y conocimiento, si bien la mayoría de los propietarios no superan el nivel primario de formación, muestran gran interés en el aprendizaje de conceptos referentes a la agricultura, medio ambiente, y a la apropiación de conocimiento tradicional, en este sentido cabe destacar la aplicación y la transferencia intergeneracional del mismo.

#### **Indicador de sustentabilidad autonomía alimentaria.**

El consumo, aprovechamiento y utilización biológica, el acceso y la calidad, se catalogan como regulares, las falencias tienen que ver con la disponibilidad y calidad del agua. Se observa que hay un desbalance nutricional en la dieta diaria de la comunidad producción de alimentos que supla las necesidades nutricionales de la población en estudio..., y los hábitos culturales, determina que no se tenga en cuenta la importancia de la inclusión en la dieta de alimentos frescos como frutas y verduras, carbohidratos y proteínas, en un balance adecuado. El componente de disponibilidad de alimento, es aceptable con dinámicas que se acercan a buenas, sin embargo, se evidencia que la mayoría de las fincas dependen del mercado externo para suplir las necesidades alimenticias y nutricionales, las especies sembradas, están adaptadas a la zona, se realiza conservación y propagación. Los miembros de la comunidad participan en las diferentes actividades comunitarias, la opinión de la mujer y los jóvenes es tenida en cuenta para la toma de decisiones de la finca, de igual manera hacen parte de la mano de obra disponible para adelantar las actividades que requieren los predios.

#### **Propuesta de mejoramiento**

Las fincas en general cuentan con un sistema de producción principal que corresponde al cultivo de café, el cual, por falta de asistencia técnica y conocimiento no se encuentra en óptimas condiciones de producción, sin embargo, es el cultivo que representa un comercio seguro, y la principal fuente de ingre-

sos para las familias. Teniendo en cuenta lo anterior y la importancia de la caficultura para el municipio de Morales, se plantean estrategias participativas a partir del fortalecimiento de la producción cafetera. En segunda instancia se tuvo en cuenta las dinámicas socioculturales, ambientales, y de autonomía alimentaria para estructurar el plan de acción a corto, mediano y largo plazo, con el objeto de mejorar el bienestar de la población de estudio.

**Sistema café.** Teniendo en cuenta que representa el eje económico principal se pretende mejorar las técnicas de producción, selección de variedades para las condiciones edafoclimáticas de la zona, y el establecimiento de sistemas agroforestales cafeteros que mitiguen el impacto ambiental y contribuyan al mejoramiento de la calidad y productividad del cultivo de café. En cuanto a fertilización se definen dos planes: uno con insumos de síntesis química y otro mediante un manejo de producción limpia.

**Fertilización con insumos de síntesis química.** Debido a los diferentes tipos de suelo, es necesario realizar análisis para efectuar una correcta enmienda y proporcionar la fertilización pertinente según los niveles de nutrimentos disponibles; por otra parte es imprescindible tener en cuenta que el estado nutricional de las plantas depende del suelo, el clima y el tipo de planta (especies y variedades) [10 y 11]. Se proponen planes de fertilización que correspondan a los requerimientos del cultivo y a las necesidades según el análisis de suelo de cada predio y datos de la plataforma de interpretación y recomendaciones de CENICAFÉ, en la cual se encuentran sistematizadas las condiciones edáficas y agroambientales de la zona de estudio, y parámetros de producción relacionados con la misma. Una fertilización apropiada no solamente asegura un buen desarrollo de la parte aérea de la planta, sino también un mayor desarrollo del sistema radical, es por esto que las aplicaciones de nitrógeno y fósforo, son en especial, útiles para tal fin [11], éste último poco disponible en las características de suelos del departamento del Cauca.

**Fertilización con manejo de fertilización limpia.** El café representa uno de los productos con mayor demanda en mercado exclusivo, por ello, se propone iniciar un proceso de transición paulatina hacia la caficultura orgánica en la zona. Gran cantidad de estudios sugieren que la aplicación de materia orgánica (MO), favorece la recuperación del suelo y la biota beneficiosa asocia-

da a él [12], indican que la MO contribuye a que los nemátodos y fitopatógenos reduzcan sus niveles de incidencia en el suelo, y por ello lo recomienda como una práctica en el manejo de estas plagas. Pese a lo anterior [13 y 10], mencionan que en la transición de la producción convencional a orgánica, hay aumento del precio del producto durante el periodo de conversión o transición, alcanzando valores máximos cuando el sistema esté certificado como orgánico; los costos variables por unidad de área disminuyen en comparación con la agricultura convencional, porque ésta utiliza una gran inversión en agroquímicos; la producción se ve disminuida durante el proceso de transición, lo que se atribuye al período de adaptación del cultivo. Una vez logrado el equilibrio del agroecosistema cafetero se retoman los niveles anteriores, dependiendo el grado de tecnificación del cultivo. La mano de obra se incrementa en razón a que la agricultura orgánica se basa fundamentalmente en tecnologías de procesos y no de insumos como ocurre en el manejo convencional, esto podría considerarse en primera instancia como un impacto económico negativo, pero a largo plazo los beneficios se ven representados en el mejoramiento y conservación del suelo, protección del medio ambiente, menor dependencia externa de insumos para la producción, entre otras, situaciones que generan incremento en el precio de venta: además la mano de obra generada a partir de dicha implementación aporta al desarrollo rural de la zona. Por lo anterior, se propone iniciar el período de transición en las unidades productivas cuya renovación de lotes de café esté próxima, y en aquellas o aquellos lotes que aún no este contemplada, iniciar con la aplicación de abonos orgánicos producidos en las fincas a partir de los desechos de cosecha y demás labores agropecuarias, siempre bajo la supervisión de un apoyo técnico que valide los procesos de producción de estos insumos,, con el objeto de realizar el mejor aprovechamiento de los recursos existentes. Para el inicio de la fertilización orgánica es necesario construir composteras a corto plazo, y camas de lombricompost en la medida que se empiece a establecer el componente pecuario a mediano y largo plazo (corto plazo  $\leq 6$  meses; mediano  $\leq 6$  meses y  $\geq 2$  años; largo plazo  $\geq 2$  años) con lo que se obtiene la materia prima para la fertilización.

**Sistema agroforestal cafetero.** Según Fedecafe - Cenicafe [2], la vulnerabilidad del sistema de producción de café en Colombia frente a la amenaza climática, desde el punto de vista biofísico, son vulnerables al déficit y el exceso hídrico, a la reducción o aumento

de la temperatura del aire, al viento y al granizo, a las pérdidas de suelo por erosión, y movimientos en masa y de nutrientes por percolación y escorrentía. Con base en lo anterior, y teniendo en cuenta que se sucede un incremento en la producción en razón a que los sistemas agroforestales interactúan con diferentes componentes del ecosistema que permiten obtener diversos ingresos, y beneficios ambientales, se propone el establecimiento de diseños agroforestales por estrato. La distribución espacial y el arreglo sería: **2 Estratos** con: café y especies entre 5-10 metros; plátano (musaceas), mango, guanábano, borojón, cítricos, nacedero (linderos y protección de fuentes hídricas) (figura 3); **3 Estratos**: café y especies 5-10 metros y 10-15 m; arrayán, cucharo, guamo machete, mortijón, cacao (figura 4). El establecimiento del diseño en 3 estratos plantea el manejo de plátano a distancia entre plantas de 4 m y entre surco 12 m, cada 2 surcos de plátano se establece una especie arbórea o frutal, con distancia de 24 m x 24 m. Algunas de las ventajas de la implementación de sistemas agroforestales corresponden principalmente a la generación de microclimas que mitigan los fenómenos ambientales, reducen el impacto de la lluvia en el suelo, reducen escorrentía, proveen madera o frutos para alimentación humana, sirven como cercos vivos, barreras rompeviento, hábitat para aves y fauna en general, favorecen el ciclaje de nutrientes, mejoran el paisaje, capturan CO<sub>2</sub>, etc. Dentro de éste componente se sugiere realizar la siembra de variedades de café que respondan mejor a las condiciones agroclimáticas de algunas fincas, como variedad Colombia y Catimora, las cuales son menos susceptibles al ataque por broca y no presentan altas incidencias por ataque de hongos como "mal rosado", común en unidades productivas con incidencia directa del embalse y suelos de textura arcillosa.

**Post- cosecha del café.** La prioridad es mejorar el secado y despulpado del café. Se sugiere diseñar e implementar secaderos de 4 m x 6 m y 6 m x 10 m, según el potencial de producción del predio y mejorar el beneficiadero o iniciar la construcción del mismo.

**Componente ambiental.** En este sentido se tiene en cuenta la protección de fuentes hídricas, el mantenimiento y conservación de recurso edáfico, el manejo de la biodiversidad y el fortalecimiento de bosques, recursos forestales y fauna, vitales en el funcionamiento de los ecosistemas y elementos importantes de producción. En cuanto al *Recurso hídrico*, se encontró la falta del mantenimiento de las fuentes hídricas para la producción y las diferentes actividades agrícolas, se



Figura 3. Diseño en planta sistema agroforestal cafetero en 2 estratos, (café- plátano).

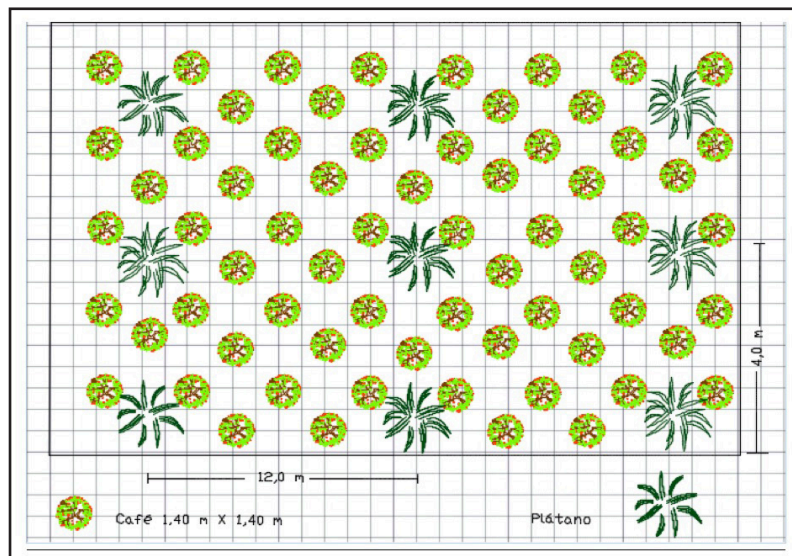
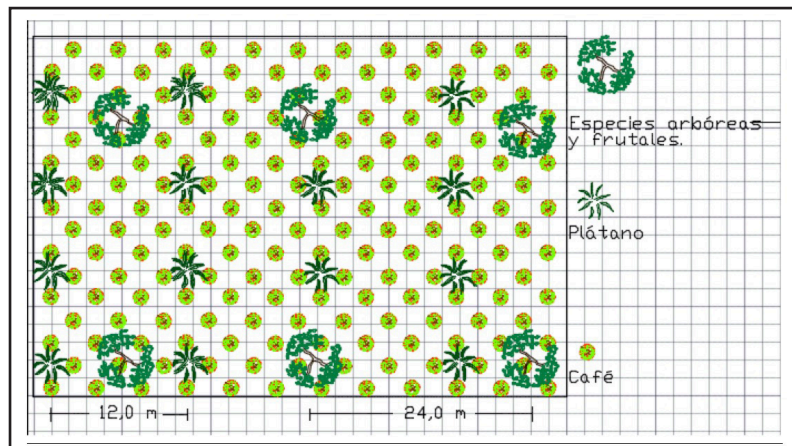


Figura 4. Diseño en planta sistema agroforestal cafetero en 3 estratos.



propone realizar la reforestación de las mismas en todos los predios, con especies como guadua (*Guadua glomerata*) y nacedero (*Trichantera gigantea*), este último a distancia de 3 m entre plantas y a una distancia de 1,5 m de la fuente hídrica, o nacimiento, de igual forma realizar el aislamiento de los sitios para evitar la entrada de animales domésticos que contaminen las fuentes. Respecto al *Recurso edáfico*, se propone construcción de canales de desagüe de las aguas provenientes de los

caminos y carreteras, para evitar encharcamiento, erosión hídrica y plagas; implementación de barreras físicas para impedir pérdida de suelo, además, establecer barreras en zonas propensas a erosión, así como trinchos y protección de taludes. Igualmente mantener la cobertura vegetal, para evitar la erosión hídrica y el golpeteo directo de la lluvia, de ésta manera juega un papel importante el manejo adecuado de arvenses. También se propone hacer aporte de materia orgánica

a partir de lombricompost y compostaje producto de residuos de la finca propuestos en las estrategias de mejoramiento nutricional para el sistema café.

**Componente pecuario.** Es necesario sensibilizar a los productores sobre la importancia del componente pecuario en las unidades productivas, y lo esencial del establecimiento de bancos forrajeros y especies multipropósito para la alimentación de los animales. Se propone que se inicie la siembra bancos forrajeros, luego especies menores como porcinos, aves de corral y componente ganadero en los predios donde es posible su uso.

#### Seguridad y autonomía alimentaria.

Se tuvo como hallazgo que las medidas para garantizar la seguridad alimentaria deben dirigirse a la consecución de un desarrollo agrícola sustentable que tenga en cuenta las poblaciones más vulnerables y que además esté orientado a mejorar la calidad nutricional, en razón a que una adecuada nutrición hace a las poblaciones más resistentes a la adquisición de enfermedades [14]. Por lo anterior, se plantea como estrategia inmediata el establecimiento de huertas caseras, dando prioridad a especies nativas y concordantes con la cultura alimenticia de la zona de la siguiente forma: camas dobles (en contra pendiente donde el terreno lo exija) de 1 m de ancho por 3 m de largo, sembradas con tomate, cilantro, acelga, espinaca, zanahoria, cebolla cabezona, cebolla larga, lechuga, maíz, frijol, etc. intercaladas con plantas medicinales como manzanilla, paico, orozus, ruda, toronjil, cimarrón, perejil, orégano, entre otras. Otra alternativa es el diseño y arreglos de sistemas integrados de producción agropecuarios, ya que al establecer

los diseños agroforestales de café, se está mejorando el ciclaje de nutrientes, se disminuye el gasto energético en el sistema, y es posible hacer uso y aprovechamiento de los residuos de cosecha para compostajes y lombricompost. De igual forma el establecimiento de bancos forrajeros propuesto para el mejoramiento del sistema pecuario, es el inicio de la implementación del componente pecuario orientado hacia especies menores. Se sugiere realizar análisis microbiológico y químico al agua de consumo de la vereda, con el fin de establecer las acciones correctivas que contribuyan al mejoramiento de la calidad de vida de los habitantes de la zona.

## CONCLUSIONES

El cultivo de café en la vereda San Roque, es la principal fuente de empleo y sustento de las familias, pero el manejo agronómico no se realiza con base en las necesidades de cada predio.

La mayoría de la producción de café se da a nivel de microfundios y con un muy bajo nivel de tecnificación, lo que indica falta de acompañamiento técnico a los caficultores, ésta situación se refleja en la productividad del mismo, afectando de forma directa la economía familiar.

La seguridad alimentaria en la vereda tiene serias deficiencias, donde se destaca la falta de una cultura de siembra en cultivos de pancoger, además el agua de consumo no recibe ningún tipo de tratamiento y la mayoría de enfermedades gastrointestinales se encuentran asociadas a éste factor.

Se evidencian cambios culturales asociados a la presencia de cultivos ilícitos afectando directa o indirectamente las actividades agropecuarias legales en la zona.

En general se ve baja gestión y liderazgo para su entorno a pesar de la organización

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad del Cauca, La Fundación EPSA y a la comunidad de San roque en Morales, Cauca por el apoyo en la realización de la investigación.

## REFERENCIAS

- [1] ALONSO, J.C. y ESTRADA, D. El precio mundial del café y su efecto en el precio minorista para las cinco principales ciudades de Colombia. Revista Finanzas y Política Económica, 8(2), 2016, p. 379-399.
- [2] COLOMBIA. FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS (FEDECAFÉ) - CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN DEL CAFÉ (CENICAFÉ). Manual del cafetero colombiano. Bogotá (Colombia): Tomo II, 2013, 348 p.
- [3] CRIOLLO, H., LAGOS, T.C., BACCA, T. y MUÑOZ, J.A. Caracterización de los sistemas productivos de café en Nariño, Colombia. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 19(1), 2016, p 105-113.
- [4] VELLEMA, W., BURITICA, A., GONZALEZ, C. and D'HAESE, A. The effect of specialty coffee certification on household livelihood strategies and specialisation. Food Policy, 57, 2015, p. 13-25.
- [5] ZAMORA, K., CASTRO, L., WANG, A., ARAUZ, L.F., URIBE, L. y AVILA, A.I. Uso potencial de lixiviados y tés de vermicompost en el control del ojo de gallo del cafeto *Mycena citricolor*. Agronomía Costarricense, 41(1), 2017, p. 33-51.
- [6] JURADO, S.N. De la parcela a la mesa. El trabajo de las mujeres en torno a la pequeña producción de café en Oaxaca, México. Revista latinoamericana de antropología del trabajo, 1(1), 2017, p. 1-25.
- [7] COLOMBIA. INSTITUTO GEOGRÁFICO AGUSTÍN CODAZZI (IGAC). 2013. Estudio general de suelos y zonificación de tierras departamento del Cauca. Popayán (Colombia): 556 p.
- [8] MUNICIPIO DE MORALES. PLAN DE ORDENAMIENTO TERRITORIAL (POT). Esquema de ordenamiento territorial del municipio de Morales departamento del Cauca. Morales (Colombia): 2011, 75 p.
- [9] LONDOÑO, L.A. Guía para la caracterización de unidades de producción agropecuaria. Curso SIPA I y II. Popayán (Colombia): Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad del Cauca, 2016, 70 p.
- [10] FARFAN, V.F. Agroforestería: y sistemas agroforestales con café. Chinchiná (Colombia): Federación Nacional de cafeteros de Colombia y CENICAFE, 2014, 343 p.
- [11] HAVLIN, J.L., TISDALE, S.L., NELSON, W.L. and BEATON, J.D. Soil Fertility and Fertilizers. 8 ed. Madrid (España): Pearson, 2014, 528 p.

- [12] TORRES, E. y SICHE, R. Sostenibilidad ambiental de dos sistemas de producción de café en Perú: orgánico y convencional. *Ciencia y Tecnología*, 12(3), 2016, p. 51-65.
- [13] SILVA, A., COLMENARES, C. y ALARCÓN, J.A. Análisis multivariado de la fertilidad de los suelos en sistemas de café orgánico en Puente abadia, Villavicencio. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 20(2), 2017, p 289-298.
- [14] HIDALGO, M.M. La influencia del cambio climático en la seguridad alimentaria. *Cuadernos de estrategia*, 161, 2013, p. 67-89.

## Efecto del baño químico sobre la conservación de propiedades físicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de fresa (*Fragaria x ananassa*)

### Effect of chemical bath in the preservation of physicochemical, microbiological and sensorial properties of the strawberry (*Fragaria x ananassa*)

### Efeito do banho químico na conservação das propriedades físico-químicas, microbiológicas e sensoriais da morango (*Fragaria x ananassa*)

ERICA JULIETH GIL-GIRALDO<sup>1</sup>, ALBA LUCIA DUQUE-CIFUENTES<sup>2</sup>,  
VICTOR DUMAR QUINTERO-CASTAÑO<sup>3</sup>

#### Historial del Artículo

Recibido para evaluación: 27 de Diciembre de 2018.

Aprobado para publicación: 27 de Marzo de 2019.

- 1 Universidad del Quindío, Programa de Ingeniería de alimentos, Laboratorio Diseño de Nuevos Productos. Armenia, Colombia.
- 2 Universidad del Quindío, Facultad de ciencias básicas, Programa de Química. Magister en Química. Armenia, Colombia.
- 3 Universidad del Quindío, Facultad de ciencias agroindustriales, Programa de Ingeniería de alimentos. Ph.D. (c) Ingeniería. Armenia, Colombia.

Correspondencia: [victordumar@uniquindio.edu.co](mailto:victordumar@uniquindio.edu.co)

Como citar este artículo: GIL-GIRALDO, ERICA JULIETH, DUQUE-CIFUENTES, ALBA LUCIA, QUINTERO-CASTAÑO, VICTOR DUMAR. (2019). EFECTO DEL BAÑO QUÍMICO SOBRE LA CONSERVACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS Y SENSORIALES DE FRESA (*Fragaria x ananassa*) Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 17(2), 36-45, DOI:<http://dx.doi.org/10.18684/bsaa.v17n2.1251>

## RESUMEN

*El desarrollo de técnicas de conservación de cuarta gama ha jugado un papel importante en la industria de alimentos, siendo efectivas en la prolongación de vida útil de las frutas. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de un baño químico por aspersion, sobre algunos parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales de la fresa; utilizando ácido cítrico, ácido ascórbico y cloruro de calcio en diferentes concentraciones, fresas sin tratamiento fueron utilizadas como control. Se realizaron análisis al día 0, 3, 6, 9 y 12 de almacenamiento a 5°C, evaluando propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales. Se encontró que las muestras con tratamiento difirieron significativamente del control en los parámetros evaluados, disminuyendo la pérdida de agua, pérdida de firmeza y cambio de color. El baño químico compuesto por 0,25 % de  $\text{CaCl}_2$ , 0,025% de ácido cítrico y 0,025 % de ácido ascórbico preservó los frutos un mayor periodo de tiempo, lo cual se reflejó en un aumento al daño mecánico durante el almacenamiento gracias a la acción del cloruro de calcio.*

## ABSTRACT

*The development of fourth-line conservation techniques has played an important role in the food industry, being effective in prolonging the shelf life of fruits. The objective of this investigation was to evaluate the effect of a chemical spray bath, on some physicochemical, microbiological and sensory parameters of the strawberry; using citric acid, ascorbic acid and calcium chloride in different concentrations, uncoated strawberries were used as control. Analyzes were performed on day 0, 3, 6, 9 and 12 of storage at 5°C, evaluating physicochemical, microbiological and sensory properties. The chemical bath composed of 0,25% of  $\text{CaCl}_2$ , 0,025% citric acid and 0,025% ascorbic acid preserved the fruits a longer period of time, which was reflected in an increase in the resistance to mechanical damage during storage thanks to the action of calcium chloride.*

## RESUMO

*O desenvolvimento de técnicas de conservação de quarta linha tem desempenhado um papel importante na indústria de alimentos, sendo eficaz no prolongamento da vida de prateleira dos frutos. O objetivo desta investigação foi avaliar o efeito de um banho de spray químico sobre alguns parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais do morango; utilizando ácido cítrico, ácido ascórbico e cloreto de cálcio em diferentes concentrações, morangos não revestidos foram utilizados como controle. As análises foram realizadas nos dias 0, 3, 6, 9 e 12 de armazenamento a 5°C, avaliando propriedades físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. Verificouse que as amostras com tratamento diferiram significativamente do controle nos parâmetros avaliados, diminuindo a perda de água, perda de firmeza e mudança de cor. O tratamento aplicado preservou os frutos até 13 dias no banho químico com a maior concentração utilizada, enquanto o banho químico composto de 0,25% de  $\text{CaCl}_2$ , 0,025% de ácido cítrico e 0,025% de ácido ascórbico preservou os frutos por um longo período de tempo, o que se refletiu em um aumento na re-*

## PALABRAS CLAVE:

Técnicas de conservación, Fresa, Vida útil, Baño químico.

## KEYWORDS:

Technologies of conservation, Strawberry, Shelf life, Chemical bath.

## PALAVRAS-CHAVE:

Técnicas de conservação, Morango, Prazo de validade, Banho químico.



*sistência a danos mecânicos durante o armazenamento graças a a ação do cloreto de cálcio.*

## INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria x ananassa*) es una de las frutas más consumidas mundialmente debido a su agradable sabor, a su acidez intensa y su atractivo aroma. En su interior se encuentran compuestos polifenólicos encargados de generar los colores rojos característicos y que a su vez están asociados con beneficios para la salud en el momento de su consumo como lo es su capacidad antioxidante, es decir, estos compuestos (antocianinas) tienen la capacidad de reaccionar con los radicales libres producidos por las radiaciones ultravioleta absorbidas por la piel y así impedir reacciones en cadena que conllevan por último a la formación de células cancerosas [1].

Esta fruta es altamente perecedera debido a su alto contenido de agua, la cual hace que tenga un tiempo de vida poscosecha de 4 a 7 días. Sumado a esto, la fruta morfológicamente se acomoda con la agrupación de cientos de drupas que conforman la baya, sin cascara, dejando expuesta toda su corteza exterior a agentes externos como microorganismo, temperaturas, aire, oxígeno, etc. [2], lo que ayuda a acelerar la degradación de la fruta por pérdida de color, textura, contaminación microbiana, entre otras.

Las investigaciones relacionadas con el aumento del tiempo de vida útil de este tipo de frutas han aumentado extensamente en las últimas décadas. Más aun, cuando se habla de alimentos mínimamente procesados, es decir, productos a los cuales se les aplica alguna técnica de conservación no agresiva, ni invasiva. Entre estas técnicas están: los pulsos eléctricos, altas presiones, radiaciones con ultravioleta, congelación, recubrimientos comestibles, baños con sustancias químicas de grado alimenticio, empaques inteligentes, atmosferas controladas, entre otras [3].

Estas técnicas tienen como finalidad impedir el normal funcionamiento de las enzimas endógenas encargadas de producir la maduración del fruto, además de ayudar a inhibir la actividad microbiana, la cual provoca una serie de cambios indeseables al interior de este, entre los que se cuentan principalmente las reacciones bioquímicas de fermentación causadas por

el hongo *Botrytis cinerea* el cual es el principal causante de las pérdidas poscosecha de esta fruta [4,5].

La aspersión con un baño químico es una técnica de conservación denominada de cuarta gama debido a la poca manipulación que se le realiza a la fruta, es decir hay un mínimo de tratamientos usados para producir una ampliación en el tiempo de vida útil de los productos sometidos a esta técnica. Se basa principalmente en la aspersión de la fruta con una solución acuosa que contiene algún compuesto químico antimicrobiano, antioxidante, antipardeante, entre otros. Los solutos más usados para estos baños son el ácido cítrico, ácido ascórbico, cloruro de calcio, sodio y magnesio, fenil etil alcohol, entre otros. Autores han reportado la eficiencia del uso de mezclas de ácido cítrico y ácido ascórbico para el aumento del tiempo de vida y de almacenamiento en frutas y hortalizas [1,3,6] El objetivo principal de este trabajo fue estudiar el efecto de la aspersión de fresas enteras con soluciones de cloruro de calcio, ácido ascórbico y ácido cítrico sobre su tiempo de conservación.

## MÉTODO

Se utilizaron fresas (*Fragaria x ananassa*) recién cosechadas, cultivadas en el municipio de Pijao (Quindío - Colombia), se clasificaron teniendo en cuenta la uniformidad en su grado de madurez, forma y tamaño. Se transportaron al laboratorio Diseño de Nuevos Productos (DNP) de la Universidad del Quindío, se lavaron con agua y se desinfectaron con solución de hipoclorito de sodio 500 ppm; posterior a esto se realizó la aplicación de un baño químico en diferentes concentraciones por aspersión en la superficie de las fresas. Los tratamientos evaluados fueron mezclas de ácido ascórbico (0,025; 0,05 y 0,075%), cloruro de calcio (0,25; 0,5 y 0,75%) y ácido cítrico (0,025; 0,05 y 0,075%) en las relaciones que se reportan en el cuadro 1. Se realizaron evaluaciones por triplicado de cada tratamiento. Como control se utilizó una aplicación por aspersión de agua destilada sobre fresas frescas. Las frutas se secaron por 30 min a temperatura ambiente en condiciones de laboratorio, posteriormente se empacaron en envases de polipropileno, con perforaciones (4 frutos/ envase) y se almacenaron a  $\pm 5^{\circ}\text{C}$  y 95% de humedad relativa (HR) durante 15 días. Las variables de respuesta fueron: parámetros físico-químicos y el tiempo de vida útil, medidos los días 0, 3, 6, 9 y 12 [1].

**Cuadro 1.** Formulaciones del Baño Químico (BQ).

Tratamiento	CaCl <sub>2</sub>	Ácido cítrico	Ácido ascórbico
BQ1	0,25%	0,025%	0,025%
BQ2	0,5%	0,05%	0,05%
BQ3	0,75%	0,075%	0,075%

## Caracterización de las fresas mínimamente procesadas

**Caracterización físico-química.** Se determinaron las pérdidas de peso por gravimetría mediante la diferencia entre pesos, los resultados se expresaron como porcentaje de pérdida de peso (%PP) [7]. Se determinó la actividad de agua con un higrómetro de punto de rocío marca AQUALAB modelo AQUA3TE. El porcentaje de humedad se cuantificó por gravimetría en estufa marca Binder, a 40°C. El porcentaje de acidez se expresó como porcentaje en peso del ácido cítrico [8]. Para la cuantificación de vitamina C se siguió el método colorímetro de 2-nitroanilina, propuesto por el departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia [9]. La concentración de ácido ascórbico de los extractos se midió por espectrofotometría, la absorbancia se midió 10 min después de iniciada la reacción en un espectrofotómetro UV-VIS, se leyó a 540 nm. Los resultados se expresaron como mg ácido ascórbico /100 g muestra [9]. El contenido fenólico total se determinó por el método de Folin-Ciocalteu [10]. Para los análisis se tomaron 0,25 mL de la muestra a la cual se le adicionó 12,5 mL de agua destilada y 1,25 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, luego 5 mL de carbonato de sodio al 20%, y se enrasó con agua destilada a 25 mL. La absorbancia se midió 30 minutos después de iniciada la reacción en un espectrofotómetro UV- visible Hewlett Packard Chemstation 8453 G1115AA y se empleó ácido gálico (AG) como patrón para la curva de calibración, se leyó a 765nm. Los resultados se expresaron como mg AG/100 g muestra. El color se determinó en un colorímetro MINOLTA CR-10 midiendo las coordenadas CIELab L, a y b y se calculó el parámetro  $\Delta E$  para determinar el cambio de color en los tratamientos. Se determinó la fuerza o carga máxima de punción de las fresas mediante un texturómetro modelo TAXPLUS, utilizando el software Texture Exponent 32 Versión 2.0.6.0. [9].

## Evaluación del deterioro fisicoquímico de la fresa en almacenamiento

El deterioro en almacenamiento se determinó con estudios en tiempo real, este tipo de estudio con-

siste en mantener las fresas en las condiciones previstas para su almacenamiento, a 5°C y 95% de HR. Se evaluaron los parámetros de calidad descritos en el numeral 1 con relación a los 15 días de almacenamiento, con el fin de determinar el tiempo que pierde sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales frente a la fruta en fresco [1].

## Análisis microbiológico

El análisis microbiológico se realizó a la fresa en fresco y con tratamientos de conservación, evaluando los siguientes parámetros: recuento de mesófilos aerobios, coliformes totales, mohos y levaduras según metodología propuesta en la norma técnica colombiana 5698-1 del 2009 y en trabajos anteriores [18, 19].

## Evaluación sensorial

El análisis sensorial se realizó con pruebas escalares descriptivas cuantificando las diferencias sensoriales por 12 jueces semi-entrenados los cuales determinaron las propiedades sensoriales de las muestras, color, aroma, textura y sabor. La evaluación se efectuó utilizando una escala de puntuación de -2, -1, 0, 1 y 2 que corresponde a los diferentes grados-valores fijados para el grado de intensidad del atributo evaluado, se comparó con la fruta en fresco donde cero es el patrón, (-2) la característica más alejada del patrón y (+2) la característica más similar al patrón o más agradable [17].

## Análisis estadístico

El estudio de la significancia de los diferentes efectos y de sus posibles interacciones se realizó mediante análisis de varianza simple (ANOVA) usando el método Tukey HSD (Honestly significant differences) como método de comparaciones múltiples, con un nivel de significancia ( $\alpha$ ) de 0,05, apoyado del software estadístico Statgraphics Centurion XVI. II.

## RESULTADOS

### Aplicación del baño químico

Las fresas con baño químico se almacenaron durante 15 días, realizando análisis fisicoquímicos cada tres días para determinar su vida útil, tanto en parámetros fisicoquímicos como en daño microbiológico a los frutos. Se encontró que las fresas con tratamientos con baño

químico, en promedio pudieron almacenarse hasta 13 días, tiempo en el cual el producto perdió todos sus atributos de calidad y por tanto se catalogó como inaceptable para cualquier consumidor, debido a esto, los análisis fisicoquímicos descritos en este trabajo se realizaron hasta el día 12 de almacenamiento.

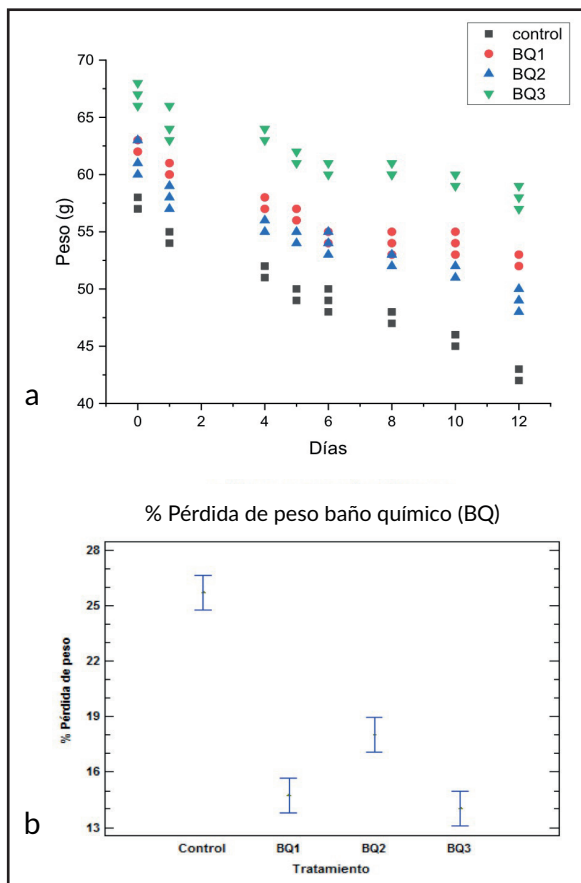
### Pérdida de peso

Se evidencia una diferencia estadísticamente significativa ( $p\text{-value} < 0,05$ ) de pérdida de peso de la muestra control comparado con todos los tratamientos con BQ (Figura 1). Los frutos recubiertos con BQ en diferentes concentraciones perdieron menos peso que el control, siendo BQ3 quien redujo en mayor proporción la pérdida de peso con una diferencia estadísticamente significativa con respecto a los otros dos tratamientos. Comportamientos similares han sido reportados en trabajo anteriores realizados en fresa [3,7], Estos investigadores encontraron que el baño químico de

cloruro de calcio y ácido ascórbico ayuda a disminuir significativamente la pérdida de peso.

Probablemente este fenómeno se presentó ya que el BQ3 es el que tiene mayor concentración de agentes químicos, especialmente de  $\text{CaCl}_2$ , el cual se sabe que puede introducirse en los poros de la fruta interactuando con pectinas o almidones contenidos en la matriz y con esto taponan la entrada y salida de agua del fruto. A su vez otros investigadores han afirmado que esto se debe principalmente a la capacidad que tiene el calcio de formar redes iónicas  $\text{Ca}^{+2}$ -pectina en la membrana celular, las cuales ayudan a darle mayor rigidez y por tanto impiden la salida de agua del fruto [11], sumado a esto, en otra investigación [12] se afirma que el calcio es un inhibidor de la enzima poligalacturonasa, la cual es la causante de la hidrólisis de las pectinas en los frutos y por ende de la pérdida de la firmeza. Por tanto, al adicionar el calcio, las pectinas de la fresa no se hidrolizan y generando una mayor cantidad de agua ligada en su interior y por tanto, se evita la salida de agua del fruto [13].

Figura 1. a) Pérdida de peso con BQ b) Comparación de pérdida de peso de los tratamientos.



En la figura 2-a se observa un descenso de cantidad de agua libre del control, frente un ascenso de este parámetro en los tratamientos, lo cual se evidencia estadísticamente ya que hay una diferencia significativa mayor del 5%.

Este comportamiento se debe a que los tratamientos por BQ constituyen una barrera semipermeable al agua que retrasa la respiración y deshidratación. Los frutos, posterior a la cosecha, tienen un alto contenido de agua libre, la cual es la encargada de generar los ambientes adecuados para que las enzimas endógenas realicen sus funciones bioquímica e inicien el proceso de maduración, además de servir también de un ambiente adecuado a los microorganismo para que inicien su proliferación. No se evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Esto concuerda con lo reportado en investigaciones anteriores [6] donde se reportó que una cubierta con plastificante y cloruro de calcio utilizadas en fresa, formaron una barrera que evitó la pérdida de agua en los frutos recubiertos y así su actividad de agua durante el almacenamiento no disminuyó [5].

### Humedad (Xw)

Como se ha venido afirmando, el agua es uno de los componentes de mayor relevancia dentro de las frutas,



no solo por su funcionabilidad bioquímica sino por las propiedades mecánicas que le confiere al fruto, generando mayor turgencia y por tanto una mayor aceptabilidad dentro de los consumidores; al observar los resultados obtenidos del porcentaje de humedad para cada tratamiento (figura 3) se evidencia una diferencia estadísticamente significativa, por encima de un 5% del control con respecto a las fresas tratadas con baño químico. BQ2 y BQ3 mostraron mayor contenido de humedad y una diferencia estadísticamente significativa con respecto al BQ1, esto se debe a que sufrieron menos deshidratación durante el almacenamiento, por la barrera que el baño químico crea en la superficie de los frutos, evitando el proceso de respiración y transpiración, lo que conlleva a la pérdida de agua. Se han reportado comportamientos similares, donde se redujo la pérdida de humedad en fresas tratadas con cloruro de calcio [3]. Para el caso de esta investigación, se pudo demostrar que a mayor concentración de Calcio, menos es la pérdida de agua, por tanto, se puede afirmar que el Calcio es un buen agente químico que se puede usar para evitar la pérdida de agua en frutos porosos.

### Porcentaje de acidez

En la figura 4-b se observa que las fresas con baño químico presentaron menor porcentaje de acidez durante el almacenamiento frente a la muestra control, demostrado por una diferencia estadísticamente significativa y a su vez, solo a partir del día 9 de almacenamiento hasta el término del estudio se pudo comprobar que existe una diferencia estadísticamente significativa entre el BQ1 y los otros tratamientos. Esta diferencia radicó en un menor porcentaje de acidez para este tratamiento. Este fenómeno ocurrió debido a que la fresa es un fruto poroso y la cantidad de  $\text{CaCl}_2$  fue la más baja con respecto a los otros dos tratamientos, por tanto, a medida que el fruto se fue exponiendo por un periodo mayor de tiempo a los baños con ácido cítrico y ascórbico, mayor cantidad de esto se difundieron a través de los poros y por ende mayor fue el porcentaje de acidez cuantificado para este tratamiento.

A su vez, se justifica la diferencia de porcentaje de acidez entre el control y los tratamientos con la con la disminución del consumo de ácidos durante el proceso de respiración y esto puede ser consecuencia de la protección lograda por la aplicación de recubrimiento que ejerce el baño químico frente a los frutos. Comportamientos similares han sido reportados en trabajos previos en mango mínimamente procesado con

Figura 2. a) Cinética de aw de los tratamientos b) Comparación de la aw de los tratamientos.

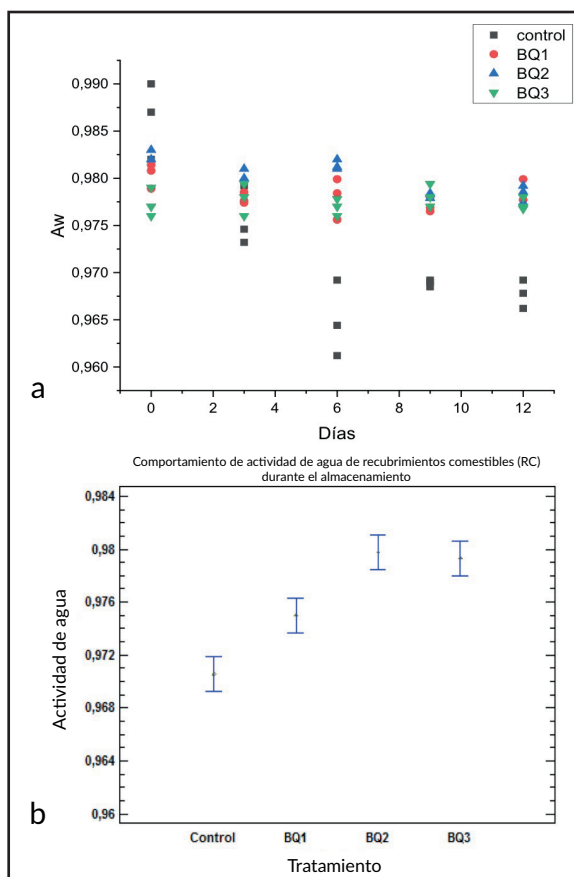
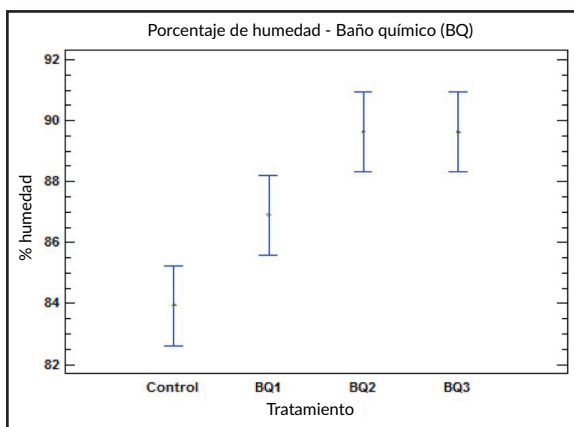
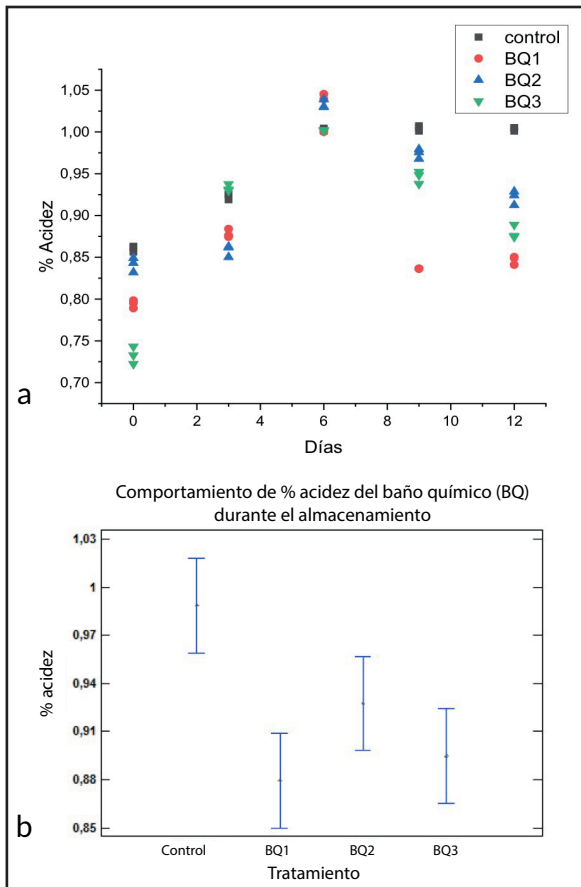


Figura 3. Porcentaje de humedad con los diferentes tratamientos con Baño Químico (BQ).

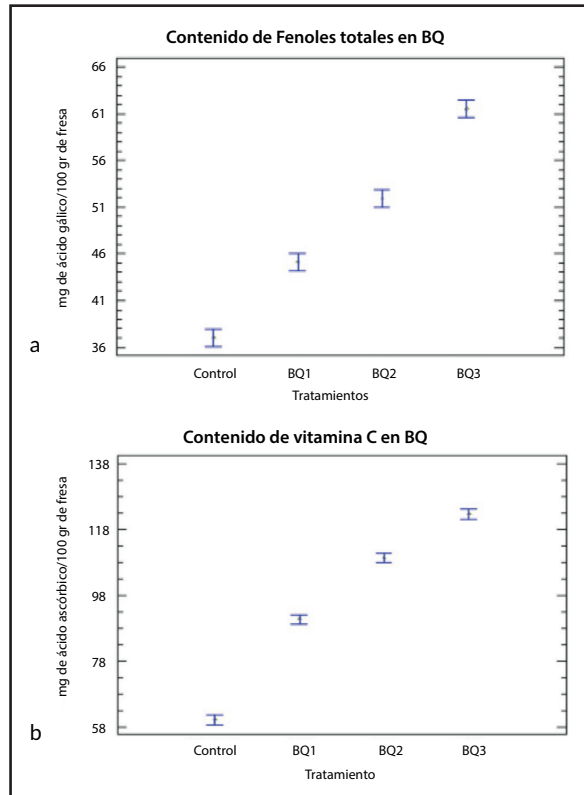


cloruro de calcio y ácido ascórbico [16], donde encontraron que las muestras control presentaban mayor porcentaje de acidez con respecto a los tratamientos.

**Figura 4.** a) Cinética del porcentaje de acidez de los tratamientos. b) Comparación del porcentaje de acidez.



**Figura 5.** a) Contenido de fenoles totales de los tratamientos b) Comparación contenido de vitamina C.



tración de antioxidantes, reafirmando las características de alimento funcional que posee la fresa.

### Fenoles totales y contenido de vitamina C

En la figura 5 se muestra el contenido de fenólicos de las muestras con baño químico, se evidencia un incremento en contenido de fenoles y de vitamina C en los tratamientos con mayor concentración de los agentes químicos con respecto a la muestra control, representado por una diferencia estadísticamente significativa. La adición de ácido ascórbico genera una protección a los compuestos poli fenólicos encargados de la capacidad antioxidante de la fresa. Esta protección varía dependiendo de las concentraciones de ácido usados en la mezcla de cada uno de los tratamientos, ya que se evidenció un aumento estadísticamente significativo del contenido de ácido gálico a medida que aumentaba la concentración de ácido ascórbico en los tratamientos. Por tanto, aparte de proteger la fresa de daños químicos causados por factores externos, el baño químico con ácido ascórbico ayuda a conservar e incrementar la concen-

En otras investigaciones se han reportado comportamientos similares, donde encontraron que el contenido de compuestos antioxidantes de la fresa fue mayor cuando eran impregnadas con cloruro de calcio y ácido ascórbico [7].

### Cambio de color ( $\Delta E$ )

El cuadro 2 muestra el cambio de color de los tratamientos, se evidencia un cambio de color significativo desde el día 3 de almacenamiento en las muestras control ( $\Delta E > 5$ ) con respecto a los tratamientos, debido a que el baño químico, como se mencionó anteriormente, ayuda a la protección de los compuestos polifenoles (Antocianinas) encargados de las propiedades antioxidantes del fruto, pero a su vez son los responsables del color rojo-purpura de la mayoría de las bayas (fresa, mora, arándano, uva, etc). Por tanto, al protegerse estas moléculas de agentes externos usando un conservante químico, se está protegiendo

do el fruto de cambios de color que vean afectada su calidad sensorial. Esto se evidenció fácilmente en los frutos control, ya que el oscurecimiento de la piel (mayor  $\Delta E^*$ ) aumentó de manera progresiva, por causa de la maduración y posterior senescencia de los frutos, gracias a los cambios que se originan en diferentes reacciones que propician el pardeamiento enzimático y la secuencial degradación de las antocianinas debido al cambio de pH del fruto [14].

Los tratamientos con baño químico no presentan cambio de color significativo, sin embargo, se evidencia que durante el almacenamiento el cambio de color va aumentando con respecto al día 0. Otros investigadores [7] evaluaron una mezcla cloruro de calcio y ácido ascórbico en fresas, encontrando diferencias de color significativas ( $\Delta E > 5$ ) del control con respecto al tratamiento.

### Textura

En la figura 6-a se evidenció un incremento en la textura de los frutos con baño químico, presentando una diferencia significativa con respecto al control (figura 6-b). Esto se debe a que las sales de calcio utilizadas en el baño químico forman complejas redes tridimensionales al interior de las membranas, lo cual se ve reflejado un aumento de la resistencia mecánica por parte del fruto y por ende una conservación de la textura de la fruta gracias a la preservación de su turgencia. Se evidenció también que existe una diferencia significativa en la textura de las fresas sometidas al BQ1 con respecto a los otros tratamientos, ya que estas, a partir del día 9 presentaron menores valores de resistencia a la penetración. Se pudo determinar que entre el BQ3 y el tratamiento control existió una diferencia de 8,5 N, en favor del BQ3, esto indica que el tratamiento control perdió agua y por ende su turgencia y que los tratamientos con BQ aumentaron su resistencia mecánica gracias a la acción del Calcio sobre las membranas externas del fruto.

**Cuadro 2.** Cambio de color ( $\Delta E$ ) del BQ con respecto al control durante los días almacenamiento.

Tiempo (Día)	Control	BQ1	BQ2	BQ3
3	5,09*	1,69	1,22	1,15
6	5,18*	2,84	1,93	1,71
9	5,23*	3,25	2,83	2,58
12	5,65*	3,79	3,81	3,66

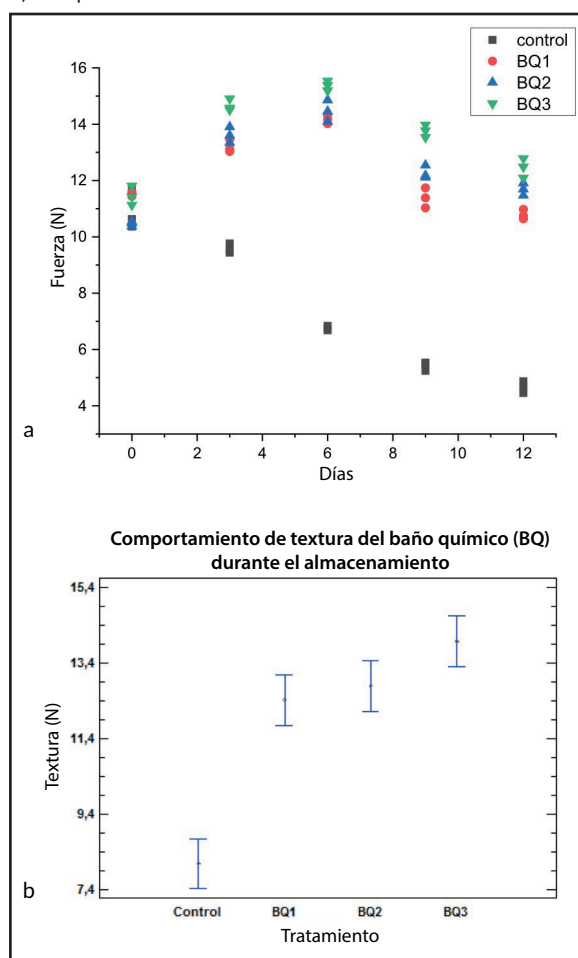
\*Diferencias estadísticamente significativas con respecto a los tratamientos en el mismo día de almacenamiento.

En investigaciones realizadas anteriormente en fresa [15] utilizando cloruro de calcio, encontraron un incremento de 4% de la textura de los frutos con respecto a su valor inicial.

### Contenido microbiológico

Los tratamientos redujeron el crecimiento microbiano en las frutas con respecto a las muestras control, inhibiendo la presencia de mohos y levaduras y el contenido de *E. coli*. Según la NTC 6005 que establece los requisitos microbiológicos para alimentos mínimamente procesados, los tratamientos con baño químico cumplen con la norma que establece nivel de buena calidad, con valores para mesófilos < 100.000 UFC/g y para *E. coli* < 100 UFC/g. El BQ3 fue el tratamiento más efectivo al momento de reducir la carga microbiana prolongando la vida útil

**Figura 6.** a) Cinética de textura de los tratamientos b) Comportamiento de textura de los tratamientos.



de los frutos, esto se debe al contenido de agentes conservantes y antioxidantes en mayor proporción con respecto a los otros tratamientos. Los otros dos tratamientos mostraron diferencias estadísticamente significativas frente a la BQ3 y a su vez frente al tratamiento control.

### Evaluación sensorial

La figura 7 muestra la evaluación sensorial de los tratamientos con baño químico con respecto a las muestras control (escala 0), los radiales en escalas positivas indican mayor aceptabilidad de las fresas con baño químico frente a las muestras control, mientras que los atributos en escala negativa establecen diferencias frente a la fresa fresca; BQ2 y BQ3 obtuvieron menor aceptabilidad en cuanto al aroma, pero en general los frutos tratados con baño químico obtuvieron mayor puntaje en los otros atributos con respecto al control. El BQ1 fue el tratamiento con más simetría en la escala de atributos evaluados, lo que indica que las propiedades sensoriales no varían con respecto a la fresa en fresco, por lo tanto tiene mayor aceptación por parte del consumidor.

### CONCLUSIONES

El tratamiento químico (BQ) utilizado fue efectivo en la conservación de la fresa, al mostrar efectos estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ) en la reducción de pérdida de peso que se encuentra relacionada directamente con la pérdida de agua. El baño químico crea una barrera en la superficie de los frutos, impidiendo la transferencia de masa desde y hacia el interior del fruto, disminuyendo la de agua durante

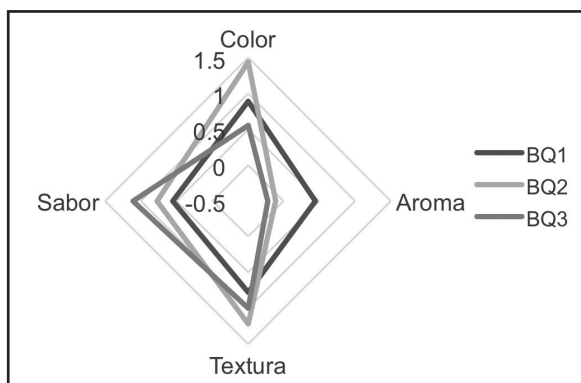
los procesos bioquímicos de maduración, aumentando su tiempo de vida. Esta técnica de conservación permite obtener una mayor resistencia a la penetración, conservando la textura del fruto tanto mecánica como sensorialmente, a su vez, ayuda a conservar las características propias del fruto en fresco.

El baño químico por aspersión no afectó las características de la fresa, siendo el BQ1 el más eficaz, manteniendo un comportamiento de calidad sensorial general similar al de la fresa fresca; la combinación de los ácidos ascórbico y cítrico con cloruro de calcio ayuda a disminuir los cambios de color, sabor, textura durante el almacenamiento debido a que ayudan a fortalecer los tejidos y por ende disminuye su intensidad de transpiración

### REFERENCIAS

- [1] FILHO, M.J. *et al.* Physicochemical, microbiological and sensory acceptance alterations of strawberries caused by gamma radiation and storage time. *Scientia Horticulturae*, 238, 2018, p. 187-194.
- [2] RABAB, M. and KHALED, E. Chemical quality and nutrient composition of strawberry fruits treated by  $\gamma$ -irradiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 10(1), 2017, p. 80-87.
- [3] ESCOBAR-HERNÁNDEZ, A. *et al.* Aplicación de tratamiento térmico, recubrimiento comestible y baño químico como tratamientos poscosecha para la conservación de hortalizas mínimamente procesadas. *Acta Agronómica*, 63(1), 2014, p. 1-9.
- [4] FORGES, H. *et al.* Impact of UV-C radiation on the sensitivity of three strawberry plant cultivars (*Fragaria x ananassa*) against *Botrytis cinerea*. *Scientia Horticulturae*, 240, 2018, p. 603-613.
- [5] VIVEK, B. *et al.* Prospects of using nanotechnology for food preservation, safety, and security. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(4), 2018, p. 1201-1214.
- [6] NÚÑEZ, K. *et al.* Efecto del cloruro de calcio y una cubierta plástica sobre la conservación de las propiedades organolépticas de la fresa (*Fragaria x ananassa* Duch). *Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha*, 13, 2012, p. 21-30.
- [7] CAMARGO, B. *et al.* Impregnación de cloruro de calcio y ácido ascórbico en la conservación de la fresa (variedad Chandler). *Alimentech Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 9(2), 2011, p. 167-175.

Figura 7. Evaluación sensorial de los tratamientos con BQ.



- [8] QUINTERO, V. *et al.* Caracterización fisicoquímica del mango común (*Mangifera indica* L.) durante el proceso de maduración. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 2013, p. 10-18.
- [9] QUINTERO, V. *et al.* Desarrollo de pulpa de mango común tratada enzimáticamente y adicionada con Calcio, Oligofruktosa y vitamina C. *Temas Agrarios*, 16(1), 2011, p. 52-63.
- [10] XOCA-OROZCO, L.A. *et al.* Actividad antioxidante y antifúngica *in vitro* de extractos de carambola (*Averrhoa carambola* L.). *Biotecnología*, 20(2), 2018, p. 104-109.
- [11] BASHARAT, Y. *et al.* Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. *LWT*, 89, 2018, p. 198-209.
- [12] PROSAPIO, V. and NORTON, I. Simultaneous application of ultrasounds and firming agents to improve the quality properties of osmotic + freeze-dried foods. *LWT*, 96, 2018, p. 402-410.
- [13] ZHANG, L. *et al.* Combined effects of ultrasound and calcium on the chelate-soluble pectin and quality of strawberries during storage. *Carbohydrate Polymers*, 200, 2018, p. 427-435.
- [14] TURMANIDZE, T. *et al.* Effect of ascorbic acid treatment on some quality parameters of frozen strawberry and raspberry fruits. *Annals of Agrarian Science*, 15(3), 2017, p. 370-374.
- [15] SHAHBAZI, Y. Application of carboxymethyl cellulose and chitosan coatings containing *Mentha spicata* essential oil in fresh strawberries. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 2018, p. 264-272.
- [16] RICO, F. Estudio de la aplicación de recubrimientos comestibles de quitosano y su combinación con aceites esenciales sobre la vida útil del mango (*Mangifera indica* L.) mínimamente procesado [Tesis de Maestría en ciencia y tecnología de alimentos]. Bogotá (Colombia): Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, Facultad de Ciencias, 2013, 115 p.
- [17] GIL-GIRALDO, E. *et al.* Obtaining minimally processed strawberry (*Fragaria x ananassa*) products and their physicochemical, microbiological, and sensory characterization by using edible coatings. *DYNA*, 85(207), 2018, p. 183-191.
- [18] LONDOÑO, M.C. *et al.* Estudio de la viabilidad del *Lactobacillus casei* en jugo de naranja (*Citrus sinensis*) adicionado con vitamina C, Calcio y oligofruktosa. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 9(18), 2015, p. 31-38.
- [19] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN (ICONTEC). Norma Técnica Colombiana NTC 5698-1: Bogotá (Colombia): 2009.

## **Efecto del uso de semillas arbóreas forrajeras sobre la actividad fermentativa de los microorganismos ruminales**

### **Effect of the use of forage tree seeds on the fermentative activity of ruminal microorganisms**

### **Efeito do uso de sementes de árvores forrageiras sobre a atividade fermentativa de microrganismos ruminais**

LUIS RENÉ PINTO-TRINIDAD<sup>1</sup>, ROSELIA RAMÍREZ-DÍAZ<sup>2</sup>,  
LAURA MARICRUZ SANDOVAL-GONZÁLEZ<sup>3</sup>.

---

#### **Historial del Artículo**

**Recibido para evaluación:** 9 de Enero de 2019.

**Aprobado para publicación:** 18 de Marzo de 2019.

- 1 Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla. Estudiante de Ingeniero en Biotecnología. Puebla, México
- 2 Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad Autónoma de Chiapas, Agroforestería Pecuaria. MC. Villaflores Chiapas, México.
- 3 Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Zootecnia. IAZ. Texcoco, México.

**Correspondencia:** [luis\\_rne96@hotmail.com](mailto:luis_rne96@hotmail.com)

**Cómo citar este artículo:** PINTO-TRINIDAD, LUIS RENÉ, RAMÍREZ-DÍAZ, ROSELIA, SANDOVAL-GONZÁLEZ, LAURA MARICRUZ. (2019). EFECTO DEL USO DE SEMILLAS ARBÓREAS FORRAJERAS SOBRE LA ACTIVIDAD FERMENTATIVA DE LOS MICROORGANISMOS RUMINALES. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial,17(2), 46-52, DOI:<http://dx.doi.org/10.18684/bsaa.v17n2.1252>



## RESUMEN

Para conocer el efecto de las semillas arbóreas forrajeras en la alimentación de rumiantes, es necesario conocer el efecto de semillas forrajeras con taninos sobre la actividad fermentativa de los microorganismos ruminales, para ello se evaluó la fermentación in vitro, a través de la técnica de producción de gas de semilla de *Acacia angustissima*, *Enterolobium cyclocarpum* y *Guazuma ulmifolia*. Las variables fueron: volumen máximo (Vm; mL/g), tasa (S; h<sup>-1</sup>) y fase lag (L; h) de producción de gas, y digestibilidad in vitro de la materia seca a 24 horas (DIVMS): estas se correlacionaron con el contenido de taninos de las especies arbóreas evaluadas. El contenido de taninos fue superior para la semilla de *A. angustissima* (P<0,05) y la menor concentración se presentó en semilla de *G. ulmifolia*. El Vm, S y L fueron similares para *E. cyclocarpum* y *G. ulmifolia* (P>0,05), pero menores (P< 0,05) para la semilla de *A. angustissima*. La mayor DIVMS se presentó en las semillas de *E. cyclocarpum*, seguida de *G. ulmifolia* y menor para *A. angustissima* (P< 0,05). En el análisis de correlación se observó que el contenido de taninos mostró una correlación significativa y negativa con los valores de DIVMS ( $Y = -0,2799x + 63,678$   $R^2 = 0,89$ ) y el Vm ( $Y = -1,4816x + 277,56$ ,  $R^2 = 0,81$ ). Se concluye que las semillas *E. cyclocarpum* y *G. ulmifolia* se fermentan más favorablemente en rumen, mostrando mejor potencial y mayor fracciones de fermentación de los azúcares y carbohidratos de reserva, mejorando la digestibilidad in vitro, lo que sugiere su uso en la alimentación de rumiantes, mientras que la cantidad de taninos de *A. angustissima* afectó la cinética de fermentación ruminal y la digestibilidad in vitro, sin embargo, se necesitan investigaciones adicionales para evaluar la inclusión de semillas como ingredientes en dietas así como evaluaciones in situ.

## ABSTRACT

To know the effect of forage tree seeds in ruminant feeding, it is necessary to know the effect of forage seeds with tannins on the fermentative activity of ruminal microorganisms, for this in vitro fermentation was evaluated, through the production technique of seed gas of *Acacia angustissima*, *Enterolobium cyclocarpum* and *Guazuma ulmifolia*. The variables were: maximum volume (Vm, mL / g), rate (S, h<sup>-1</sup>) and lag phase (L; h) of gas production, and in vitro digestibility of the dry matter at 24 hours (DIVMS): these were correlated with the tannin content of the evaluated tree species. The content of tannins was higher for the *A. angustissima* seed (P <0,05) and the lowest concentration was found in *G. ulmifolia* seed. The Vm, S and L were similar for *E. cyclocarpum* and *G. ulmifolia* (P> 0,05), but lower (P <0,05) for the *A. angustissima* seed. The highest DIVMS was present in the seeds of *E. cyclocarpum*, followed by *G. ulmifolia* and lower for *A. angustissima* (P <0,05). In the correlation analysis it was observed that the tannin content showed a significant and negative correlation with the DIVMS values ( $Y = -0,2799x + 63,678$   $R^2 = 0,89$ ) and the Vm ( $Y = -1,4816x + 277,56$ ,  $R^2 = 0,81$ ). It is concluded that *E. cyclocarpum* and *G. ulmifolia* seeds are fermented more favorably in the rumen, showing better potential and higher fermentation fractions of the sugars and reserve carbohydrates, improving the in vitro digestibility, suggesting its use in the feeding of ruminants, while

## PALABRAS CLAVE:

Taninos, Parámetros de fermentación, Digestibilidad, Alimentación animal

## KEY WORDS:

Tannins, Fermentation parameters, Digestibility, Animal feeding

## PALAVRAS-CHAVE:

Taninos, Parâmetros de fermentação, Digestibilidade, Alimentação animal



the amount of tannins of *A. angustissima* affected the kinetics of ruminal fermentation and in vitro digestibility, however, additional research is needed to evaluate the inclusion of seeds as ingredients in diets as well as in-situ assessments.

## RESUMO

Para conhecer o efeito das sementes da árvore de forragens na alimentação a ruminantes, é necessário conhecer o efeito dos taninos semente forragem sobre a actividade fermentativa de microrganismos ruminais, para esta fermentação in vitro foi avaliada por meio da técnica de produção *A. angustissima* semente gás, *Enterolobium cyclocarpum* e *Pithecellobium*. As variáveis estudadas foram: volume máximo (Vm; mL/g), a taxa de (S; h-1) e atraso de fase (L; h) de produção de gás, e a digestibilidade in vitro da matéria seca a 24 horas (DIVMS): estes foram correlacionados com o teor de taninos das espécies arbóreas avaliadas. O teor de tanino foi mais elevada para as sementes de *A. angustissima* ( $P < 0,05$ ) e a concentração mais baixa foi apresentada em *G. ulmifolia* semente. Vm, S e G foram semelhantes com *E. G. cyclocarpum* e *ulmifolia* ( $P > 0,05$ ), mas inferior ( $P < 0,05$ ) As sementes de *A. angustissima*. Mais DIVMS apresentado em sementes *E. cyclocarpum*, seguido por *G. ulmifolia* e inferior para *A. angustissima* ( $P < 0,05$ ). Na análise de correlação observou-se que o teor de tanino mostraram uma correlação negativa significativa com os valores DIVMS ( $Y = -0,2799x + 63,678$   $R^2 = 0,89$ ) e Vm ( $Y = -1,4816x + 277,56$ ,  $R^2 = 0,81$ ). A conclusão que as sementes e *E. cyclocarpum* e *G. ulmifolia* sementes fermentados mais favoravelmente no rúmen, que mostra frações melhor potenciais e maiores de fermentação de açúcares e hidratos de carbono de reserva, melhorando a digestibilidade in vitro, sugerindo a sua utilização em alimentos para ruminantes, enquanto a quantidade de tanino *A. angustissima* afectada a cinética da fermentação no rúmen e digestibilidade in vitro, no entanto, é necessária mais investigação para avaliar a inclusão de sementes como ingredientes em dietas, bem como avaliações in situ.

## INTRODUCCIÓN

El uso de arbustos y árboles en la alimentación de los rumiantes representa una importante alternativa en el desarrollo de una producción animal sostenible [1, 2]. En el trópico mexicano se cuenta con diversas opciones de arbóreas con potencial forrajero debi-

do a su alto valor nutritivo [3]. Sin embargo, muchas de estas especies contienen cantidades elevadas de compuestos secundarios [4], tales como los taninos, los cuales, se ha demostrado, afectan la actividad microbiana en el rumiante [5], lo que puede restringir, en términos de nutrición y eficiencia productiva su aprovechamiento pero también pueden producir una disminución de gases efecto invernadero [6,7], lo cual es de suma importancia desde el punto de vista ambiental [8,9]. Destacan entre estas las semillas de Timbre (*Acacia angustissima*), Guanacastle (*Enterolobium cyclocarpum*) y Caulote (*Guazuma ulmifolia*). No obstante, hay algunas indicaciones de que el contenido moderado de taninos podría ejercer efectos beneficiosos sobre los animales que los consumen, tales como reducir la degradación de la proteína de la dieta y conseguir así un mayor aporte de aminoácidos al intestino delgado [10]. Por lo anterior, el objetivo particular de este trabajo fue conocer el efecto de semillas arbóreas forrajeras altas en taninos sobre la actividad fermentativa de los microorganismos ruminales.

## MÉTODO

### Características y manejo de las muestras arbóreas

El experimento fue conducido en el laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad Autónoma de Chiapas. Se utilizaron las semillas de *Acacia angustissima*, *Enterolobium cyclocarpum* y *Guazuma ulmifolia* por su concentración de taninos y por su uso como alimento en ganadería de bajos insumos. Las muestras de cada una de éstas fueron cosechadas manualmente durante la primavera (época de seca) de distintos árboles y fueron secadas en una estufa de aire forzado a 60°C durante dos horas. Una vez secas, las muestras fueron procesadas en un molino tipo Wiley con una criba de 2 mm.

### Análisis químico de las muestras

El contenido de taninos (TAN) se estimó por el método de las proantocianidinas [11], utilizando butanol/HCl (95:5 v/v) y sulfato ferrico (20 g/l2 M HCl); la absorbancia se midió contra un blanco a 550 nm.

### Digestibilidad y producción de gas in vitro

Se utilizaron tres tratamientos (semillas de *A. angustissima*, *E. cyclocarpum* y *G. ulmifolia*) con tres repeti-

ciones (viales). Para evaluar la cinética de fermentación se utilizó la técnica de producción de gas [12], para lo cual se usaron frascos color ámbar de 125 mL de capacidad a los que se les colocó 0,5 g de MS de cada semilla. Posteriormente y bajo un flujo continuo de bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), a cada frasco se le agregaron 90 mL de inóculo ruminal diluido (1:10) el cual se obtuvo de dos ovinos de la raza Pelibuey, el líquido ruminal se filtró a través de ocho capas de tela de gasa y se adicionó en una proporción de 1:9 a una solución mineral reducida compuesta de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0,45 g/L), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,45 g/L), NaCO<sub>3</sub> (0,6 g/L), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,45 g/L), NaCl (0,9 g/L), MnSO<sub>4</sub> (0,18 g/L), CaCl<sub>2</sub> (0,12 g/L), L-cisteína (0,25 g/L) y Na<sub>2</sub>S (0,25 g/L).

Se incluyeron tres frascos como blancos sin sustrato. Se cerraron herméticamente con un tapón de goma y un aro de aluminio. El exceso de CO<sub>2</sub> de cada frasco se extrajo con el manómetro para igualar la presión a cero y se incubaron en baño maría a 39°C. La presión de gas de fermentación se midió con el manómetro a (0 a 1 kg.cm<sup>-2</sup>) 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 32, 46, 58 y 72 h de incubación.

Los valores de presión (kg.cm<sup>-2</sup>) se transformaron a volumen de gas (mL/g sustrato) con la ecuación de regresión (volumen= presión/0,019). Por un lado, se analizó el volumen fraccional del gas de 0 a 8 h, de 8 a 12 y de 12 a 72 h de incubación. Por otro lado, se obtuvo el volumen acumulado de gas de 0 a 72 h de incubación, y se estimaron los parámetros de la cinética de producción de gas: volumen máximo (Vm; mL/g), tasa (S; h<sup>-1</sup>) y tiempo de retardo (L; h), para el modelo logístico  $V=Vm/1+e^{(2-4S(T-L))}$  [13] y utilizando el paquete estadístico SAS.

Por otro lado, se obtuvo la digestibilidad *in vitro* a 24 h (DIVMS). Al final del período de incubación el residuo de cada frasco se filtró a través de papel de filtrado previamente pesado. Los papeles con residuo se secaron a 65 °C por 48 h y se pesaron. Por diferencia de peso se obtuvo la materia seca (MS) residual para determinar la DIVMS de 24 h de incubación.

## Análisis estadísticos

Para el análisis de datos se utilizó un diseño experimental completamente al azar con tres tratamientos y tres repeticiones. Utilizando el paquete estadístico y la prueba de comparación múltiple de medias Tukey [14]. Además se hizo un análisis de regresión

para conocer las ecuaciones y los coeficientes de determinación (R<sup>2</sup>) para cada una de las variables.

## RESULTADOS

El contenido de taninos para las semilla de *A. angustissima*, *E. cyclocarpum* y *G. ulmifolia* fueron de 2,12, 14,23 y 139 mg/g, respectivamente. El contenido del metabolito secundario puede variar debido a la especie, genotipos dentro de especies, madurez de la planta y factores del medio ambiente [4, 15]. Los estudios de nutrición de rumiantes con árboles y arbustos forrajeros han indicado un contenido óptimo de TAN de 22 mg/g, mientras el rango de 60-100 mg/g de taninos puede afectar el aprovechamiento de los nutrientes de estas especies [16]. En este sentido, se sabe que los animales que consumen plantas con elevados niveles de taninos disminuyen la utilización de nutrientes [17], afectando la dinámica digestiva y fermentativa de los animales [18], incluso provocar intoxicación en rumiantes [19] En contraste, al consumirse en cantidades moderadas los efectos son generalmente positivos al formar complejos proteína-taninos, evitando así la degradación de la proteína en el rumen [20], aumentando la cantidad de aminoácidos esenciales que son absorbidos en abomaso y duodeno, optimizando el uso de los nutrientes por parte de los animales y mejorando los parámetros productivos. No obstante, el aprovechamiento de las proteínas puede variar de acuerdo con la característica de los TAN, al origen de las proteínas, así como el pH del rumen [21]. Por otro lado, el contenido de taninos puede afectar la actividad fermentativa de los microorganismos a nivel ruminal [22]. En este sentido, en el Cuadro 1, se presentan los parámetros de fermentación y digestibilidad *in vitro* de materia

**Cuadro 1.** Taninos, parámetros de fermentación y digestibilidad *in vitro* de materia seca de semillas.

Sustratos	Taninos (mg/g)	Vm (mL/g MS)	L (h)	S (h <sup>-1</sup> )	DIVMS 24 h (%)
<i>G. ulmifolia</i>	2,12 <sup>a</sup>	275,83 <sup>a</sup>	0,80 <sup>b</sup>	0,041 <sup>a</sup>	60,54 <sup>b</sup>
<i>E. cyclocarpum</i>	14,23 <sup>b</sup>	271,8 <sup>a</sup>	0,53 <sup>b</sup>	0,038 <sup>a</sup>	65,62 <sup>a</sup>
<i>A. angustissima</i>	139 <sup>c</sup>	59,81 <sup>b</sup>	5,53 <sup>a</sup>	0,022 <sup>b</sup>	22,31 <sup>c</sup>

Medias en la misma columna con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey, P<0,05)

Vm= volumen máximo de producción de gas; L=fase Lag; S= tasa de producción de gas; DIVMS=digestibilidad *in vitro* de la materia seca.

seca de semillas evaluadas. Se observa que existen diferencias estadísticas significativas ( $P < 0,05$ ) para las variables  $V_m$ ,  $L$  y  $S$ , así como la digestibilidad de las semillas arbóreas a 24 h. Las semillas de *E. cyclocarpum* y *G. ulmifolia* se fermentan más pronta ( $L=0,8$  y  $0,53$  h, respectivamente) y rápidamente ( $S=0,041$  y  $0,038$   $h^{-1}$ , respectivamente) que la semilla de *A. angustissima* ( $S= 0,022$   $h^{-1}$ ;  $L= 5,53$  h). Igualmente, su potencial de fermentación dado por el  $V_m$ , fue mayor para la semilla de *G. ulmifolia* (275,83 mL/g) y *E. cyclocarpum* (271,8 mL/g) respecto a semilla de *A. angustissima* (59,81 mL/g). Respecto a la DIVMS de las semillas *E. cyclocarpum* y *G. ulmifolia* fueron mayores (60,54 y 65,62%, respetivamente) en comparación con la semilla de *A. angustissima* (22,31%). La DIVMS de las semillas *G. ulmifolia* fue superiores a lo reportado por [23] con 51%, mientras que la DIVMS de *E. cyclocarpum* fue similar a [24] con 62%. La digestibilidad de estas semillas fue superior al 60%, consideradas como una digestibilidad que va de media a alta, por su parte la semilla *A. angustissima* fue considerada de baja digestibilidad [25], por lo que la respuesta nutritiva las semillas de *G. ulmifolia* y *E. cyclocarpum* permite considerarla para evaluaciones *in situ* e *in vivo*. Este comportamiento, posiblemente se deba al contenido de TAN presente en las semillas, ya que inhibe la producción total de gas y de ácidos grasos volátiles (AGV) [26], lo que indica una disminución de la digestibilidad. Lo anterior, es corroborado al correlacionarse negativamente el contenido de taninos con el volumen máximo ( $Y=-1,4816x + 277,56$ ,  $R^2=0,81$ ) y digestibilidad de las semillas forrajeras evaluadas ( $Y=-0,2799x + 63,678$   $R^2=0,89$ ). Lo anterior se refleja en la curva de producción de gas con respecto al tiempo (Figura 1), donde se observa una evidente diferencia ( $P < 0,05$ ) en la cinética de fermentación entre la semilla de *A. angustissima* y las semillas de *E. cyclocarpum* y *G. ulmifolia*. Lo que indica que a mayor concentración de taninos menor digestibilidad y menos producción de gas del material fermentado.

El contenido de TAN posiblemente modificó el volumen fraccional de gas (Figura 2). En esta Figura se presentan las tres fracciones de fermentación: de rápida, media y lenta fermentación (0 a 8, de 8 a 12 y de 12 a 72 h, respectivamente); atribuidas a azúcares y oligosacáridos solubles, polisacáridos de reserva como almidón, dextranas, pectina, y polisacáridos de pared celular (celulosa y hemicelulosa ligadas a lignina), respectivamente [27]. El volumen fraccional de

0-8 h, fue mayor para semillas de *E. cyclocarpum* y *G. ulmifolia* ( $P < 0,05$ ) y menor para la semilla de *A. angustissima*. Una tendencia similar ocurrió en la fracción de media fermentación (8 a 24 h), en la cual la producción de gas fue mayor para las semillas de *E. cyclocarpum* y *G. ulmifolia*, pero menor para la semilla de *A. angustissima*. La fracción de lenta fermentación (24 a 72 h) fue mayor para la semilla de *E. cyclocarpum* ( $P < 0,05$ ), seguida por *G. ulmifolia* y finalmente semilla de *G. ulmifolia*. La oscilación de las fracciones fermentables, se debe a la capacidad de colonización de los microorganismos ruminales, misma que depende de la fracción soluble de las semillas (azúcares y oligosacáridos solubles y polisacáridos de reserva) [28], no obstante, se considera que el contenido de TAN en *A. angustissima* influyó en la colonización de

Figura 1. Cinética de fermentación *in vitro* de las semillas de *A. angustissima*, *E. cyclocarpum* y *G. ulmifolia*.

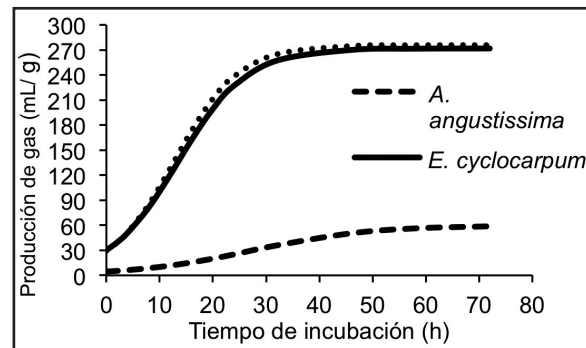
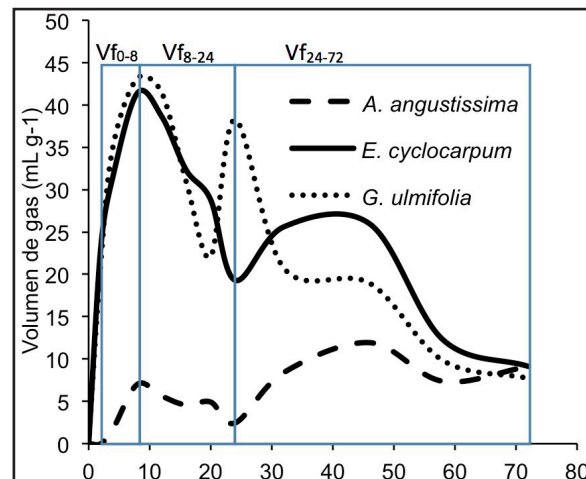


Figura 2. Producción fraccional de gas de fermentación *in vitro* de semilla de *E. cyclocarpum*, *G. ulmifolia* y *A. angustissima*, por bacterias ruminales. Los recuadros indican las fracciones de tiempo de rápida, media y lenta fermentación e indican los periodos de gas fraccional.



los microorganismos, obtenido bajo aprovechamiento de las fracciones de fermentación de la semilla.

Este resultado coincide con lo reportado por otra investigación [16], en la cual se reporta una correlación negativa entre el contenido de taninos y la producción de gas ( $R^2=-0,883$ ). Lo anterior podría indicar que las plantas altas en taninos impiden el aprovechamiento de nutrientes a nivel ruminal. Esto se comprobó con el volumen fraccional de gas (Figura 2) donde se apreció mayor aprovechamiento de los nutrientes de las semillas de *G. ulmifolia* y *E. cyclocarpum* en cada una de las fracciones (rápida, media y lenta fermentación) en las cuales se obtuvieron mayores volúmenes de gas en comparación con las fracciones de fermentación de la semilla de timbre. Sin embargo, se considera que lo anterior puede ser de importancia nutricional, ya que al evitar una sobre fermentación de la semilla de *A. angustissima* a nivel ruminal se evita también la degradación de las proteínas en rumen, ya que la proteína ligada a taninos resiste el ataque microbiano, lo que aumenta la cantidad de proteína de sobrepaso y aprovechamiento a nivel de intestino delgado, lo que se verá reflejado en mejores parámetros productivos por los animales que la consuman.

Así también, la disminución en la producción de gas y digestibilidad de los nutrientes en el rumen podría disminuir la producción de  $H_2$  y  $CO_2$  precursores de la síntesis de metano [29], lo que sugiere establecer estrategias asociativas entre semillas de árboles y arbustos forrajeros con diferentes concentraciones de taninos y dietas de los rumiantes como una vía para manipular la fermentación microbiana ruminal, que podría tener significación biológica y ambiental al aumentar el aprovechamiento de nutrientes a nivel duodenal pero disminuyendo la producción de gas a nivel ruminal, principalmente de metano [30]. Así mismo, se ha demostrado que incluir semillas o forraje con TAN en las dietas de rumiantes podría mejorar el aprovechamiento de los nutrientes, así como mejorar el consumo de materia seca [31, 32].

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados, se concluye que las semillas *E. cyclocarpum* y *G. ulmifolia* se fermentan más favorablemente en rumen, mostrando mejor potencial y mayor fracciones de fermentación de los azúcares y carbohidratos de reserva, mejorando la

digestibilidad *in vitro*, lo que sugiere su uso en la alimentación de rumiantes, mientras que la cantidad de taninos de *A. angustissima* afectó la cinética de fermentación ruminal y la digestibilidad *in vitro*, sin embargo, se necesitan investigaciones adicionales para evaluar la inclusión de semillas como ingredientes en dietas así como evaluaciones *in situ*.

## REFERENCIAS

- [1] PADILLA, C. *et al.* Requerimientos agronómicos de *Moringa oleifera* (Lam.) en sistemas ganaderos. *Livestock Research for Rural Development*, 29 (11), 2017.
- [2] TORRES, J. *et al.* Revalorizando el uso de la selva baja caducifolia para la producción de rumiantes. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 19, 2016, p. 73-80.
- [3] HERNÁNDEZ, J. *et al.* Valor nutricional de seis plantas arbóreo-arbustivas consumidas por cabras en la Mixteca Poblana, México. *Ciencia y Tecnología*, 8(1), 2015, p. 19-23.
- [4] HERNÁNDEZ, J. *et al.* Composición química y degradaciones *in vitro* de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 9(1), 2018, p.105-120.
- [5] TIRADO, D., TIRADO, G. y MIRANDA, L. Sobre el efecto de enzimas fúngicas en la alimentación de rumiantes. *Interciencia*, 40(11), 2015, p. 758-766.
- [6] SÁNCHEZ, P. *et al.* Potencial de emisión de gases efecto invernadero de plantas forrajeras por fermentación entérica. *Agroproductividad*, 11(2), 2018, p. 40-45.
- [7] CARDONA, J., MAHECHA, L. y ANGULO, J. Arbustivas forrajeras y ácidos grasos: estrategias para disminuir la producción de metano entérico en bovinos. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 2016, p. 273-288.
- [8] ORTIZ, D., POSADA, S. y NOGUERA, R. Potencial antimetanogénico de recursos forrajeros y subproductos agroindustriales a través de la técnica *in vitro* de producción de gas. *Livestock Research for Rural Development*, 28 (5), 2016.
- [9] BUITRAGO, M., OSPINA, L. y NARVÁEZ, W. Sistemas salvopastoriles: Alternativa en la mitigación y adaptación de la producción bovina al cambio climático. *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 22(1), 2018, p. 31-42.



- [10] GAVIRA, X., RIVERA, J. and BARAHONA, R. Nutritional quality and fractionation of carbohydrates and protein in the forage components of an intensive silvopastoral system. *Pastos y Forrajes*, 38(2), 2015, p. 194-201.
- [11] MAKKAR, H. Quantification of tannins in tree and shrubs foliage. A Laboratory Manual. Amsterdam (Netherlands): Klumer Academic Publisher, 2003, p. 102.
- [12] MENKE, K. and STEINGASS, H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analyses and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 1988, p. 7-55.
- [13] SCHOFIELD, P. and PELL, A. A validity of using accumulated gas pressure readings to measure forage digestion *in vitro*: a comparison involving three forages. *Journal of Dairy Science*, 78, 1995, p. 2230-2238
- [14] SAS. SAS User's Guide: Statistics. Ver. 9.2. Cary (USA): SAS Institute, 2004, 5180 p.
- [15] RODRÍGUEZ, R. *et al.* Biological effect of tannins from four tropical tree species on *in vitro* ruminal fermentation indicators. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 50(1), 2016, p. 89-97.
- [16] GURBUZ, Y. Efecto del contenido de taninos condensados de algunas especies leguminosas en la emisión de gas metano. *Revista cubana de Ciencias Agrícolas*, 43(3), 2009, p. 265-272.
- [17] SOSA, G. *et al.* Uso de frutos tropicales (*Fabaceae*) para complemento alimenticio de pequeños rumiantes. *Agroproductividad*, 10(2), 2017, p. 37-41
- [18] MOSCOSO, J. *et al.* Producción de metano en vacunos al pastoreo suplementados con ensilado, concentrado y taninos en el Altiplano Peruano en época seca. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(4), 2017, p. 822-833
- [19] LAMY, E. *et al.* The effect oftannins on Mediterranean ruminant ingestive behavior: The role of the oral cavity. *Molecules*, 16, 2011, p. 2766-2784.
- [20] OLMEDO, A. *et al.* Extracto de *Lysiloma acapulcensis* en la digestibilidad y fermentación ruminal de una dieta para ovinos. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 2(5), 2015, p. 173-182.
- [21] LORENZ, M. *et al.* Relationship between condensed tannin structures and their ability to precipitate feed proteins in the rumen. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 2014, p. 963-968.
- [22] TORRES, N. *et al.* Producción de gases efecto invernadero *in vitro* de leguminosas arbóreas del trópico seco mexicano. *Archivos de Zootecnia*, 67(257), 2018, p. 55-59.
- [23] GÓMEZ, G. *et al.* Efecto de la inclusión del fruto de *Guazuma ulmifolia* como sustituto del maíz en la dieta sobre el comportamiento productivo y rendimiento en canal de ovinos pelibuey. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17, 2014, p. 215-222.
- [24] MOLINA I. *et al.* Effects of tannins and saponins contained in foliage of *Gliricidia sepium* and pods of *Enterolobium cyclocarpum* on fermentation, methane emissions and rumen microbial population in crossbred heifers. *Animal Feed Science and Technology*, 251, 2019.
- [25] LENG R. Factors affecting the utilization of 'poor-quality' forages by ruminants particularly under tropical conditions. *Nutrition research reviews*, 3(01), 1990, p 277-303.
- [26] NAUMANN, H. *et al.* The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(12), 2017, p 929- 949.
- [27] SANDOVAL, L. *et al.* Fermentación *in vitro* y la correlación del contenido nutrimental de *Leucaena* asociada con pasto estrella. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 16, 2016, p. 3185-3196.
- [28] ROSERO, R. y POSADA, S. Modelación de la cinética de degradación de alimentos para rumiantes. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20, 2007, p. 174-182.
- [29] VARGAS, J., PABÓN, M. y CARULLA, J. Producción de metano *in vitro* en mezcla de gramíneas-leguminosas del trópico alto colombiano. *Archivos de Zootecnia*, 63(243), 2014, p. 397-407.
- [30] NAUMANN, H. *et al.* Molecular weight and protein-precipitating ability of condensed tannins from warm-season perennial legumes. *Journal of Plant Interactions*, 9, 2014, p.212-219.
- [31] MABEZA, G., MASAMA, E. and MPOFU, I. Evaluation of browse legume diets (*Acacia angustissima*, *Leucaena trichandra* and *Calliandra calothyrsus*) on feed intake and growth of goats. *Universal Journal of Agricultural Research*, 6(1), 2018, p 18-22.
- [32] PIRES, T. *et al.* Characterization and biological activity of condensed tannins from tropical forage legumes. *Pesquisa agropecuaria brasileira*, 53(9), 2018, p.1070-1077.

## Evaluación de cartuchos de filtración Sartobran® P en la producción de la vacuna Gavac®

## Assessment of Sartobran® G filtration cartridges in Gavac® vaccine production

## Avaliação de cartuchos de filtração Sartobran® P nas fases da purificação e filtração esterilizada da vacina Gavac®

ARLENIS ALFARO-MARTÍNEZ<sup>1</sup>, RUTHDALI MARÍA SEGURA-SILVA<sup>2</sup>,  
DIASMARYS SALINAS-RODRÍGUEZ<sup>3</sup>, NIUVIS MONTOYA-ECHAVARRIA<sup>4</sup>,  
AMAURY PÉREZ-SÁNCHEZ<sup>5</sup>

### Historial del Artículo

Recibido para evaluación: 21 de Noviembre de 2018.

Aprobado para publicación: 22 de Marzo de 2019.

- 1 Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Camagüey, Departamento de Mantenimiento. Ingeniera Química. Camagüey, Cuba.
- 2 Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Camagüey, Departamento de Control de la Calidad. Ingeniera Química. Camagüey, Cuba.
- 3 Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Camagüey, Departamento de Control de la Calidad. Licenciada en Veterinaria. Camagüey, Cuba.
- 4 Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Camagüey, Departamento de Control de la Calidad. Licenciada en Microbiología. Camagüey, Cuba.
- 5 Universidad de Camagüey, Facultad de Ciencias Aplicadas, Departamento de Ingeniería Química. Ingeniero Químico. Camagüey, Cuba.

Correspondencia: [amauryps@nauta.cu](mailto:amauryps@nauta.cu)

Cómo citar este artículo: ALFARO-MARTÍNEZ, ARLENIS, SEGURA-SILVA RUTHDALI MARÍA, SALINAS-RODRÍGUEZ, DIASMARYS, MONTOYA-ECHAVARRIA, NIUVIS, PÉREZ-SÁNCHEZ, AMAURY. (2019). EVALUACIÓN DE CARTUCHOS DE FILTRACIÓN SARTOBRAN® P EN LA PRODUCCIÓN DE LA VACUNA GAVAC®. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 17(2), 53-65, DOI:<http://dx.doi.org/10.18684/bsaa.v17n2.1253>



## RESUMEN

La filtración de líquidos a través de filtros de 0,2  $\mu\text{m}$  es un método común de remover microorganismos y partículas indeseadas contenidas en soluciones sensibles al calor, para obtener un filtrado estéril. En el presente trabajo se realizó la evaluación del empleo de cartuchos de filtración Sartobran® P en las etapas de purificación y filtración estéril del proceso productivo de la vacuna Gavac®. El empleo de cartuchos de filtración Sartobran® P permite obtener un ahorro económico de \$ 121.267/lote por concepto de reducción del consumo de energía eléctrica y material de filtración en las sub-etapas de filtración, y en \$ 129,5/lote a causa de producto no derramado durante la etapa de filtración estéril. La introducción de las cápsulas de filtración Sartobran® P permite excluir la sub-etapa de filtración primaria de la etapa de filtración estéril sin afectar la calidad del producto filtrado obtenido. Se concluye que resulta factible desde el punto de vista técnico-económico emplear los cartuchos de filtración Sartobran® P tanto en la sub-etapa de filtración no estéril de la etapa de purificación, como en las sub-etapas de filtración primaria y esterilizante de la etapa de filtración estéril.

## ABSTRACT

Filtration of liquids through 0,2  $\mu\text{m}$  diameter filters is a common method of removing microorganisms and unwanted particles contained in heat-sensitive solutions to obtain a sterile filtrate. At the present work the evaluation of the use of Sartobran® P filtration cartridges both in the purification and in sterile filtration stages of the production process of Gavac® vaccine was carried out. The use of Sartobran® P filtration cartridges allowed to obtain total economic savings of \$ 121.267 per batch due to the reduction of electricity and filtration material consumption in the filtration sub-stages considered, and of \$ 129,5/batch because of product not spilled during the sterile filtration stage. The introduction of Sartobran® P filtration cartridges allow to exclude the primary filtration sub-stage from the sterile filtration step, without affecting the main quality indicators of the filtered product obtained. It is deduced from the techno-economic point of view that is feasible to employ Sartobran® P filtration cartridges both in the non-sterile sub-stage of the purification stage, and in the primary and sterilizing sub-stages of the sterile filtration stage.

## RESUMO

A filtração de líquidos através de filtros de 0,2  $\mu\text{m}$  é um método comum de remoção de microrganismos e partículas indesejáveis contidos em soluções sensíveis ao calor, para obter um filtrado estéril. No presente trabalho é realizada a avaliação técnica e econômica da utilização de cartuchos de filtro Sartobran® P nas etapas de purificação e filtração estéril do processo de produção da vacina Gavac®. Geralmente, o uso de cartuchos de filtro Sartobran® P permite a poupança de custos completos de \$ 121.267/lote de redução de consumo de energia e material do filtro em subetapas de filtro considerados, e \$ 129,5/lote devido ao produto não desperdicado durante o estágio de filtração estéril. A introdução da filtração cápsulas Sartobran® P para excluir a subeta-

## PALABRAS CLAVE:

Cápsula de filtración,  
Purificación, Filtración estéril,  
Calidad, Costos.

## KEYWORDS:

Filtration capsule, Purification,  
Sterile filtration, Quality, Costs.

## PALAVRAS-CHAVE:

Cápsula de filtração, Purificação,  
Filtração estéril, Qualidade,  
Custos.

pa de filtração primária fase de filtração esterilizada, sem afectar os principais indicadores de filtrado a qualidade dos produtos obtidos. Concluiu-se que é viável desde o ponto de vista técnico-económico o uso de cartuchos de filtro Sartobran® P tanto para a subetapa de filtração não esteril da etapa de purificação, quanto nas subetapas de filtração primaria e esterilizante da filtração estéril.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente no se pueden diseñar y/o evaluar procesos en el campo de la biotecnología sin referirse al término esterilización. La esterilización se define como cualquier proceso que elimina o remueve efectivamente agentes transmisibles (tales como hongos, bacterias y virus) presentes en superficies, equipos, alimentos, medicamentos o medios de cultivo biológicos [1]. En la práctica la esterilización se lleva a cabo a partir de la exposición del producto u objeto a esterilizar a agentes químicos o físicos por un tiempo requerido.

Uno de los métodos de esterilización más utilizados en la industria biotecnológica actual es la filtración esterilizante. Emplea materiales granulares o fibrosos, y membranas porosas para llevar a cabo la clarificación y esterilización de soluciones y productos biológicos sensibles al calor, así como también para la filtración de aire y otros gases, formando parte de sistemas de venteo en fermentadores, centrifugas, autoclaves y secadores por liofilización [1].

La filtración esterilizante remueve los microorganismos presentes en líquidos y gases, sin destruirlos, al evitar el paso de partículas de determinada talla.

Para la filtración esterilizante de líquidos biológicos y medios de cultivo se emplean filtros de membrana con un diámetro de poro nominal de 0,2 – 0,45 micrómetros ( $\mu\text{m}$ ). Los parámetros que más influyen en el rendimiento de un filtro esterilizante son el factor de reducción de la valoración o título (*titer*) (esto es, la relación entre el número de organismos retando el filtro, bajo condiciones definidas, sobre el número de organismos que lo penetran); la profundidad de la membrana, su carga y el retorcimiento que presenten los canales internos [2].

Entre las cápsulas de filtración esterilizante más empleadas en la industria biofarmacéutica actual se encuentra la Sartobran® P [2]. Está compuesta por una capa protectora de polipropileno y una membrana de

acetato de celulosa reforzada, y se comercializan en diferentes combinaciones de tamaño de poro, siendo las más usuales las siguientes [2]:

- 0,65 + 0,45  $\mu\text{m}$
- 0,45 + 0,2  $\mu\text{m}$
- 0,45 + 0,1  $\mu\text{m}$

Presentan un área de filtración de 0,56 m<sup>2</sup> (6 ft<sup>2</sup>) por cada 0,254 m (10 in) del elemento, y se aplican fundamentalmente en la filtración esterilizante de soluciones parenterales, vacunas, antibióticos, fracciones de suero y plasma, medios de cultivos celulares, reactivos de diagnóstico, agentes terapéuticos, soluciones de proteínas, vitaminas y preservantes, así como también la filtración sub-estéril (0,1  $\mu\text{m}$ ) [2].

Varios autores han utilizado los cartuchos de filtración Sartobran® P en diversas aplicaciones, entre estas se encuentran la clarificación de caldos de fermentación empleando adenovirus [3]; la filtración esterilizante del Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA) de la vacuna anti-hepatitis B recombinante (HBsAg) [4]; la filtración de agua de mar para determinar concentraciones de mercurio metilado [5] y trazas de metales de cobre (Cu), plomo (Pb) y cadmio (Cd) [6]; la purificación y concentración de soluciones de proteínas durante el proceso de producción de anticuerpos monoclonales [7]; la filtración de orina humana [8] y orina artificial [9]; la aplicación de operaciones de filtración esterilizante para la obtención de inmunoglobulina G altamente pura en fase líquida [10], y la filtración estéril de soluciones de virus [11].

Beldarraín *et al.* [4] evaluaron el empleo de cápsulas Sartobran P® como medio filtrante para la etapa de filtración esterilizante del ingrediente farmacéutico activo de la vacuna contra la hepatitis B recombinante (IFA-HBsAg). El estudio demostró que la integridad física de las cápsulas empleadas se mantuvo antes y después del proceso de filtración. El estudio de extractables por espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (EIRTF) y cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa (CLAR-FI) mostró la ausencia de compuestos contaminantes provenientes de las membranas, mientras que la prueba de retención bacteriana a escala industrial reveló que estas cápsulas pueden retener una carga microbiológica  $\geq 10^7$  UFC/cm<sup>2</sup> de *Brevundimona diminuta*, lo

cual garantiza la esterilidad del material filtrado. Los resultados obtenidos durante los ensayos efectuados indicaron la eficacia y seguridad del empleo de cápsulas Sartobran® P durante el proceso de filtración esterilizante del IFA-HBsAg.

En la actualidad el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) de Camagüey produce la vacuna Gavac®, un inmunógeno destinado a combatir la garrapata del ganado bovino *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus*, *R. annulatus* y *R. decoloratus*. La proteína Bm86, principio activo de la vacuna, se expresa con elevados niveles en la levadura *Pichia pastoris*.

Durante la etapa de purificación de la proteína Bm86 se realiza un filtrado no estéril de una solución de proteínas concentradas, empleando para ello tres tipos de filtros circulares de membrana plana de 142 mm de diámetro. Estos filtros son: un pre-filtro de fibra de vidrio, un segundo filtro de acetato o nitrato de celulosa de 0,45 µm de tamaño de poro, y un tercer filtro del mismo material de 0,2 µm, los cuales se encuentran colocados en orden descendente dentro de una carcasa circular de acero inoxidable. Por su parte, en la etapa de filtración estéril se llevan a cabo dos sub-etapas consistentes en (1) filtración primaria (no estéril) y (2) filtración esterilizante (estéril) del IFA bajo flujo laminar, empleando ambas los tres tipos de filtros de membranas planas descritos anteriormente.

Con el objetivo de incrementar la seguridad, rapidez y eficacia de todas las etapas de filtración previamente descritas, tanto estériles como no estériles, así como también reducir costos, se ha propuesto la sustitución de las membranas circulares planas utilizadas en la actualidad en las etapas de filtración mencionadas con anterioridad, por cartuchos de filtración Sartobran® P de 0,2 µm. En el siguiente trabajo se muestran los resultados de la evaluación técnico-económica de la introducción de cartuchos de filtración Sartobran® P de 0,2 µm tanto en la sub-etapa de

filtración no estéril de la etapa de purificación, como en las sub-etapas de filtración primaria y esterilizante correspondientes a la etapa de filtración estéril del proceso productivo de la vacuna Gavac®.

## MÉTODO

### Etapas del proceso de producción del IFA

El proceso de producción del Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA) de la vacuna Gavac® consta de las siguientes etapas principales: fermentación, recobrado, purificación y filtración estéril, las cuales se muestran en la Figura 1, junto con las sub-etapas por las cuales está compuesta cada una de ellas.

### Filtración no estéril empleando filtros de membrana plana

El diagrama del sistema de filtración no estéril de la solución de proteínas se muestra en la Figura 2. La solución de proteínas contenida en un frasco de polipropileno de 10 L de capacidad pasa a través del filtro mediante una bomba peristáltica a un flujo de ± 200 mL/min. El filtrado se colecta en otro frasco a través de una manguera de salida. Al concluir el proceso se toman muestras del filtrado para la realización de ensayos analíticos según la norma NP 4285 [12]. Si el filtrado de BM86 cumple con las especificaciones de calidad se envasa en frascos de polipropileno de 10 L de capacidad y se almacena en una cámara frigorífica operando a  $-20 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura. En caso contrario el material filtrado es desechado según Procedimiento Patrón de Operación (PPO) 2.14.009.03 [13]

### Filtración esterilizante empleando filtros de membrana plana

El proceso de filtración es similar al descrito en el epígrafe anterior (Figura 2), pero las operaciones se

Figura 1. Principales etapas del proceso de producción del IFA de la vacuna Gavac®.



realizan dentro de una cabina de flujo laminar horizontal, previamente higienizada con una solución de etanol al 70% y esterilizada con luz ultravioleta por 20 minutos [15]. Antes y durante el proceso de filtración esterilizante se realizan controles microbiológicos ambientales, mediante la ubicación de placas abiertas conteniendo agar triptona soya en el interior del flujo laminar, con el objetivo de monitorear la esterilidad del proceso. Al concluir se toman muestras del filtrado obtenido para analizar su calidad mediante las características organolépticas, proteínas totales, pureza, pH esterilidad y contenido de timerosal, según la norma NP 4046 [14]. De cumplir con las especificaciones de calidad, los frascos de polipropileno conteniendo la solución filtrada son almacenados en una cámara frigorífica operando a  $-20 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura, hasta el momento de la formulación del inmunógeno Gavac®. En caso contrario, el material filtrado es desechado según PPO 2.14.009.03 [13].

### Descripción del proceso de filtración esterilizante propuesto empleando cartuchos de filtración Sartobran® P

El proceso de filtración esterilizante propuesto empleando cartuchos Sartobran® P se lleva a cabo en el interior de una cabina de flujo laminar horizontal, a través del arreglo mostrado en la Figura 3. Primeramente, se vierte la solución de proteínas a filtrar en frascos de polipropileno de 10 L de capacidad, y a continuación se conecta uno de los extremos de la manguera de alimentación a la conexión de entrada del cartucho Sartobran® P, luego se inserta el cuerpo de la misma en el cabezal de la bomba peristáltica, y por último se introduce el otro extremo en el frasco que contiene la solución a filtrar. Por su parte, un extremo de la manguera de descarga es conectado a la salida del cartucho, mientras que el extremo restante es introducido en el frasco de polipropileno de 10 L que almacenará la solución filtrada. Posteriormente se conecta la bomba peristáltica, se efectúa un venteo previo y se ajusta el flujo de alimentación en  $\pm 200$  mL/min. Concluido el proceso de filtración se procede a tomar muestra del filtrado obtenido para efectuar los ensayos de calidad requeridos de acuerdo con el proceso de filtración realizado. En caso de realizar la filtración no estéril, se llevan a cabo los 2 ensayos de calidad establecidos en el NP 4285 [12], mientras que en caso de efectuar la filtración estéril se efectúan los 6 ensayos de calidad requeridos según NP 4046 [14]. De cumplir con cada uno de los ensayos de calidad

Figura 2. Esquema de la instalación del sistema de filtración no estéril empleando filtro de membranas planas

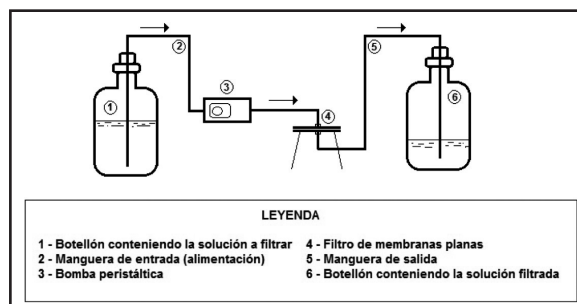
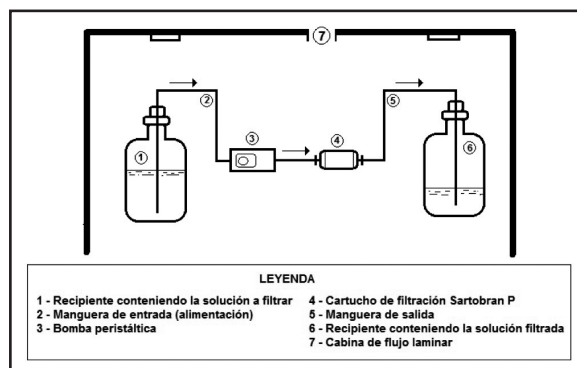


Figura 3. Esquema de la instalación del sistema de filtración estéril empleando cartucho de filtración Sartobran® P.



efectuados según el proceso de filtración, los frascos de polipropileno conteniendo la solución filtrada son finalmente almacenados en una cámara frigorífica a  $-20 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura. Si el lote de IFA filtrado no cumple con las especificaciones de calidad es desechado según PPO 2.14.009.03 [13]

## PRINCIPALES ENSAYOS DE CALIDAD EFECTUADOS A LOS PRODUCTOS OBTENIDOS DURANTE LA FILTRACIÓN

**Características organolépticas.** Para llevar a cabo la evaluación de las características organolépticas se siguen los pasos descritos en el PPO 4.09.140.98 [16]. Se utiliza un gabinete de revisión con fondo blanco y negro, equipado con lámparas fluorescentes de 20 W, las cuales mantengan la iluminación del punto de inspección en una intensidad mínima entre 2000 y 3750 lux. La muestra a evaluar se observa a través de la luz de la lámpara de revisión, girándola durante 5 segundos en todos los sentidos sobre cada uno de los fondos del gabinete de revisión. Debe presentar carac-

terísticas de líquido transparente de color amarillo, sin partículas en suspensión. Se rechaza el lote si al menos 1 de las unidades analizadas no cumple con las características organolépticas del producto que se analiza.

**Concentración de proteínas totales.** La concentración de proteínas totales se determina mediante el ensayo de Lowry según PPO 4.09.002.91 [17], y su valor debe ser igual o mayor que 1 mg/mL para aceptar el lote.

**Porcentaje (%) de pureza de la proteína Bm86.** El porcentaje de pureza de la proteína Bm86 se determina mediante el método SDS-PAGE según PPO 2.31.272.10 [18], en donde la banda de 89 kDa debe tener una pureza igual o mayor del 85%.

**pH.** Se toman 3 muestras de 10 mL cada una y se le mide el valor de pH en un medidor digital de pH (Mettler Toledo®, modelo Seven Compact PH/ION S220). Se determina el promedio de los 3 valores obtenidos para obtener el resultado final de pH de la muestra evaluada [19].

**Esterilidad.** El ensayo de esterilidad se realiza de acuerdo al procedimiento descrito en el PPO 2.31.700.97 [20]. Inicialmente, 2 mL de la muestra a analizar se disuelven en 200 mL de una solución dispersante contentiva de peptona bacteriológica, Tween 80 y agua reactivo tipo II. Luego, la mezcla resultante se agrega a razón de 1:10 v/v a frascos Erlenmeyers que contienen Caldo Triptona Soya, y a erlenmeyers que contienen Medio Tioglicolato, respectivamente. Los frascos con Medio Tioglicolato se incuban durante 14 días a 30–35°C de temperatura; y los contentivos de Caldo Triptona Soya se incuban a 20–25°C durante el mismo período de tiempo que el anterior. Los cultivos se observan los días 3, 5, 7, 9, 11 y 14 para detectar la presencia de turbidez, la formación de bio - películas, grumos o cualquier otra forma de crecimiento microbiano. Las muestras cumplen con los requerimientos de calidad si no se observa ninguna forma de crecimiento bacteriano en los cultivos.

**Contenido de timerosal.** Se basa en la determinación indirecta de timerosal mediante la cuantificación espectrofotométrica del mercurio a 490 nm, el cual forma un complejo con la Ditizona. Su separación se realiza posteriormente mediante un paso de extracción con cloroformo, según PPO 2.31.226.11 [21].

## Factibilidad de emplear los cartuchos Sartobran P® durante la sub-etapa de filtración no estéril de la etapa de purificación

Se realizó la filtración no estéril de 6 lotes consecutivos de concentrados purificados de la proteína Bm86 (14.1206-2; 14.1206-3; 14.1206-4; 14.1206-5; 14.1302-1 y 14.1302-2) utilizando cartuchos de filtración Sartobran® P. En paralelo, otros seis lotes de la proteína Bm86 purificada (14.1101-1; 14.1101-2; 14.1101-3; 14.1101-4; 14.1101-5 y 14.1101-6) se filtraron mediante filtros de membrana plana. A los filtrados obtenidos de cada lote se le determinaron los 2 ensayos de calidad que se describen a continuación: (1) concentración de proteínas totales (PPO 2.31.246.10) el cual presenta un Límite de Aceptación (LA)  $\geq$  1mg/mL, y (2) Pureza de la proteína Bm86 (SDS PAGE) (PPO 4.32.050.99) con LA  $\geq$  85%. Ambos ensayos de calidad están definidos en la norma NP 4285 [12]. Luego, se compararon los resultados obtenidos por ambos métodos. Por último se determinó el tiempo de filtración total para ambos tipos de filtración evaluados, y se compararon entre sí los resultados obtenidos.

## Factibilidad de emplear los cartuchos Sartobran P® en la etapa de filtración estéril

Para determinar la factibilidad del empleo de los cartuchos Sartobran® P durante la etapa de filtración estéril, se elaboraron dos variantes:

Variante 1: Procesamiento de 3 lotes consecutivos (14.1206-2, 14.1206-3 y 14.1206-4) mediante cartuchos Sartobran® P, efectuando tanto la filtración primaria como la filtración esterilizante.

Variante 2: Procesamiento de 3 lotes consecutivos (14.1206-5, 14.1302-1 y 14.1302-2) mediante cartuchos Sartobran® P, pero realizando solamente la filtración esterilizante (es decir, sin efectuar la filtración primaria).

Al filtrado obtenido en todos los lotes procesados para ambas variantes se le efectuó los siguientes ensayos de calidad mostrados en el Cuadro 1, los cuales se encuentran establecidos en la norma NP 4046 [14].

Se determinaron además los tiempos de filtración de cada una de las dos variantes consideradas, y se compararon los resultados obtenidos con respecto a los resultados de tiempos de filtración registrados



durante el procesamiento de 3 lotes consecutivos (14.1101-1; 14.1101-2 y 14.1101-3) utilizando filtros de membrana plana. Se determinó también el volumen de pérdida de producto obtenido en ambas variantes evaluadas, y se compararon los resultados alcanzados con relación al volumen de pérdida de producto obtenido para los tres lotes procesados con filtros de membrana plana. Por último se efectuó una comparación de los resultados obtenidos en cuanto a los 6 ensayos de calidad descritos en el Cuadro 1, entre los 6 lotes procesados para las dos variantes propuestas utilizando cartuchos Sartobran® P, y los 3 lotes filtrados empleando filtros de membrana plana.

### Cálculos económicos

Se consideraron los costos por concepto de consumo de electricidad y de materiales de filtración por ser los más significativos durante el proceso.

#### Costo por concepto de consumo de electricidad

Existen dos equipos que se emplean en las diferentes etapas consideradas, los cuales son la bomba peristáltica y el flujo laminar. De esta manera, las bombas peristálticas empleada en las etapas de filtración no estéril, filtración primaria y filtración esterilizante presenta un consumo nominal de energía de 0,55 kW, mientras que el flujo laminar empleado en la etapa de filtración esterilizante tiene un consumo nominal de energía de 1,10 kW.

El costo relacionado con el consumo de energía por un equipo se determina según la siguiente expresión:

$$C_{energía(i)} = t_{op(i)} \cdot P_i \cdot C_{el} \quad (\text{Ec. 1})$$

Dónde:

$t_{op(i)}$ : Tiempo de operación del equipo  $i$  (h)

$P_i$ : Potencia nominal del equipo  $i$  (kW)

$C_{el}$ : Costo de la electricidad = 1,20 \$/kWh

$C_{energía(i)}$ : Costo debido al consumo de electricidad del equipo  $i$  (\$)

De esta manera, el costo total relacionado con el consumo de energía de todos los equipos utilizados, según el tipo de filtración tomado en cuenta, será:

$$C_{energía(tipo)} = \sum_1^n C_{energía(i)} \quad (\text{Ec. 2})$$

Dónde:

$C_{energía(tipo)}$ : Costo total por consumo de energía de todos los equipos utilizados según el tipo de filtración tomado en cuenta (filtros de membrana plana o cartuchos Sartobran® P)

$n$ : Cantidad total de equipos utilizados en el tipo de filtración considerado.

#### Costo por concepto de consumo de material de filtración.

El costo por concepto de consumo de materiales de filtración se calculó a partir del costo unitario, en donde un pre-filtro de membrana plana presenta un costo unitario de \$8,08, un filtro de membrana plana de 0,45  $\mu\text{m}$  cuesta \$ 4,04, un filtro de membrana plana cuesta \$ 4,12, y un cartucho de filtración Sartobran® P cuesta \$ 221,91.

**Cuadro 1.** Ensayos de calidad establecidos para el producto obtenido durante la etapa de filtración estéril de la vacuna Gavac® según NP 4046.

Ensayo	Referencia	Límite de aceptación
Características organolépticas	PPO 4.09.140.98	Líquido transparente de color amarillo, sin partículas en suspensión
Proteínas totales	PPO 4.09.002.91	$\geq 1$ mg/mL
Pureza	PPO 4.09.004.91	Banda de 89 kDa $\geq 85\%$ de pureza
pH	PPO 2.31.235.97	Entre 7,8 y 8,5
Esterilidad	PPO 4.09.028.92	Pasa la prueba
Contenido de timerosal	PPO 2.31.226.11	$\leq 0,05$ mg/mL



El costo total relacionado con el consumo de material de filtración por lote y por etapa se determina según la siguiente ecuación:

$$C_{mat(etapa)} = \sum_{i=1}^n (Q_{mat(i)} \cdot P_{mat(i)}) \quad (Ec. 3)$$

Dónde:

$Q_{mat(i)}$ : Cantidad de material de filtración  $i$  consumido por lote (U/lote)

$P_{mat(i)}$ : Costo unitario del material de filtración  $i$  (\$/U)

$n$ : Tipo(s) de material(es) de filtración consumido(s) en la etapa evaluada.

$n = 3$  cuando se emplean pre-filtro de membrana plana, filtro de membrana plana de 0,45  $\mu\text{m}$  y filtro de membrana plana de 0,20  $\mu\text{m}$ ;

$n = 1$  cuando se emplean cartuchos de filtración Sartobran® P.

$C_{mat(etapa)}$ : Costo total debido al consumo de los materiales de filtración por lote en la etapa de filtración evaluada (\$/lote).

Luego, el costo total por lote debido al consumo de material de filtración en todas las etapas incluidas según el tipo de filtración tomado en cuenta será:

$$C_{mat(tipo)} = \sum_{i=1}^s C_{mat(etapa)} \quad (Ec. 4)$$

Dónde:

$C_{mat(tipo)}$ : Costo total por lote a causa del consumo del material filtrante de acuerdo al tipo de filtración considerado (\$/lote)

$s$ : Cantidad de etapas incluidas (filtración no estéril, filtración primaria y/o filtración esterilizante) en el tipo de filtración evaluado (filtros de membrana plana o cartuchos Sartobran® P).

## RESULTADOS

### Uso del Sartobran® P en la sub-etapa de filtración no estéril

El Cuadro 2 muestra los resultados obtenidos de los dos ensayos de calidad considerados (concentración de proteínas totales y % de pureza de la proteína Bm86) para todos los lotes procesados tanto mediante filtros de membrana plana como cartuchos de filtración Sartobran® P, durante la sub-etapa de filtración no estéril de la etapa de purificación.

Según se puede observar en el Cuadro 2, todos los lotes procesados empleando los cartuchos Sartobran® P, cumplieron con los criterios o límites de aceptación establecidos para esta etapa según norma NP 4285.

También se puede observar que los valores promedios obtenidos tanto de la concentración de proteínas totales como el % de pureza de la proteína Bm86 aumentan para los lotes procesados mediante cartuchos Sartobran® P. Lo anterior influye positivamente

**Cuadro 2.** Resultados de concentración de proteínas y pureza para ambos tipos de filtración evaluados en la sub-etapa de filtración no estéril de la etapa de purificación.

Filtros de membrana plana			Cartuchos Sartobran® P		
Lotes	Proteínas totales (mg/mL)	Pureza (%)	Lotes	Proteínas totales (mg/mL)	Pureza (%)
14.1101-1	1,615	95,22	14.1206-2	1,727	95,99
14.1101-2	1,654	95,18	14.1206-3	1,471	95,19
14.1101-3	1,322	95,99	14.1206-4	1,794	95,29
14.1101-4	1,398	95,32	14.1206-5	1,493	95,12
14.1101-5	1,526	94,13	14.1302-1	1,432	94,48
14.1101-6	1,571	95,26	14.1302-2	1,951	95,31
Promedio	1,51433	95,1833	Promedio	1,64467	95,23
Desviación Estándar	0,129239	0,597684	Desviación Estándar	0,210385	0,482452
Coficiente Variación	8,53437%	0,62793%	Coficiente Variación	12,792%	0,50661%

en el proceso de fabricación global de la vacuna Gavac<sup>®</sup>, debido a que el aumento de la cantidad de proteína de interés (Bm86) a obtener al final de la etapa de purificación traerá consigo un incremento de la cantidad de bulbos producidos al finalizar la etapa de formulación y, con ello, un incremento en las ventas de dosis de vacuna terminada a comercializar.

En el Cuadro 3 se muestran los resultados obtenidos en cuanto a volumen a filtrar y tiempo de filtración total para todos los lotes procesados mediante ambos tipos de filtración.

De acuerdo con el Cuadro 3, el tiempo de filtración de un lote en la subetapa de filtración no estéril de la etapa de purificación se reduce desde un promedio de 46,15 min (~ 0,77 h) para el filtro de membrana plana, hasta 35,6533 min (~ 0,59 h) para los cartuchos Sartobran<sup>®</sup> P, es decir, el tiempo de filtración de esta sub-etapa se reduce 1,29 veces si se emplean las cápsulas Sartobran<sup>®</sup> P, a pesar de que el volumen

a filtrar utilizando los cartuchos Sartobran<sup>®</sup> P superó en aproximadamente 1,4 veces al que se filtró en el sistema de membrana plana.

### Etapa de filtración estéril

En el Cuadro 4 se pueden observar los resultados obtenidos con respecto al uso del Sartobran<sup>®</sup> P durante los procesos de filtración primaria y esterilizante (Variante 1). En el Cuadro 5 se muestran resultados alcanzados con el uso del Sartobran<sup>®</sup> P para la Variante 2, en la cual solamente se realizó la filtración esterilizante. Por último, en el Cuadro 6 se exponen los resultados de volumen a filtrar, tiempo de filtración, volumen final de filtrado y volumen total de pérdida de producto para la variante de filtración actual empleando filtros de membrana plana.

Comparando los resultados mostrados en el Cuadro 4 con los del Cuadro 6, se puede observar que, para volúmenes a filtrar relativamente iguales entre sí, el

**Cuadro 3.** Comparación de los tiempos de filtración obtenidos para ambos tipos de filtración durante la sub-etapa de filtración no estéril de la etapa de purificación.

Filtros de membrana plana			Cartuchos Sartobran P <sup>®</sup>		
Lotes	Volumen a filtrar (L)	Tiempo (min)	Lotes	Volumen a filtrar (L)	Tiempo (min)
14.1101-1	12,70	40,13	14.1206-2	18,82	47,05
14.1101-2	12,20	59,78	14.1206-3	16,56	50,01
14.1101-3	14,00	45,08	14.1206-4	16,91	29,93
14.1101-4	11,40	49,93	14.1206-5	14,90	19,97
14.1101-5	8,20	41,98	14.1302-1	15,99	36,94
14.1101-6	7,03	40,00	14.1302-2	10,04	30,02
Promedio	10,9217	46,15	Promedio	15,5367	35,6533
Desviación Estándar	2,72228	7,65065	Desviación Estándar	2,98455	11,3852
Coeficiente Variación	24,9255%	16,5778%	Coeficiente Variación	19,2097%	31,933%
Total	65,53	276,90	Total	93,22	213,92

**Cuadro 4.** Resultados obtenidos de volumen a filtrar, tiempo de filtración, volumen final de filtrado y volumen total de pérdida de producto para la Variante 1.

Lotes	Filtración primaria		Filtración esterilizante		Volumen de muestra (L)	Volumen final de filtrado (L)	Volumen total de pérdida de producto (mL)
	Volumen a filtrar (L)	Tiempo (min)	Volumen a filtrar (L)	Tiempo (min)			
14.1206-2	18,82	35	18,64	40	0,12	18,29	410
14.1206-3	16,56	35	16,36	30	0,12	16,17	270
14.1206-4	16,91	31	16,83	35	0,12	16,63	160
Promedio	17,43	33,67	17,28	35	0,12	17,03	280,00
Total	52,29	101	51,83	105	0,36	51,09	840,00

tiempo de filtración de la sub-etapa de filtración primaria se reduce desde 66,67 min (1,11 h) utilizando los filtros de membrana plana, hasta 33,67 min (0,56 h) cuando se emplean los cartuchos de filtración Sartobran® P. Es decir, el tiempo de la sub-etapa de filtración primaria se reduce 1,98 veces si se emplean cartuchos Sartobran® P. También ocurre una reducción del tiempo de filtración en la subetapa de filtración esterilizante desde 53,67 min (0,89 h) empleando filtros de membrana plana hasta 35 min (0,58 h) usando cartuchos Sartobran® P; esto es, el tiempo de la subetapa de filtración esterilizante disminuye 1,53 veces si se utilizan cartuchos Sartobran® P. Por último se obtiene una reducción del volumen total promedio de pérdida de producto, desde 500 mL (1,5 L en total) cuando se emplean filtros de membrana plana, hasta 280 mL (0,84 L en total) cuando se utilizan los cartuchos Sartobran® P. En resumen, el tiempo de filtración total y el volumen total de pérdida de producto de la etapa de filtración estéril (incluyendo las subetapas de filtración primaria y esterilizante) se reduce 1,752 veces y 1,786 veces respectivamente, si se emplean los cartuchos de filtración Sartobran® P.

En el Cuadro 7 se exponen los resultados de los ensayos de calidad efectuados tanto para los 6 lotes procesados durante las dos variantes estudiadas, como los 3 lotes procesados empleando filtros de membrana plana. En la misma se puede observar que el empleo de las cápsulas Sartobran® P no afectó la calidad del filtrado obtenido en ninguno de los lotes procesados, lo cual indica que es factible sustituir los filtros de membrana plana por los cartuchos de filtración Sartobran® P en la etapa de filtración estéril del proceso productivo de la vacuna Gavac®. Los resultados mostrados en el Cuadro 7 permiten concluir además que se puede eliminar la sub-etapa de filtración primaria siempre y cuando se empleen los cartuchos de filtración Sartobran® P, ya que los resultados de los ensayos de calidad realizados al filtrado obtenido durante la Variante 2 (es decir, llevando a cabo únicamente la filtración esterilizante) estuvieron dentro de los límites establecidos según la norma NP 4046. Los resultados obtenidos en esta etapa concuerdan con aquellos alcanzados en [4], en donde se recomienda el empleo de cápsulas de filtración Sartobran® P para llevar a cabo la filtración esterilizante del IFA de la vacuna contra la hepatitis B recombinante (IFA-HBsAg), concluyendo que este medio de filtración puede retener la contaminación bacteriana en las condiciones reales del proceso.

## Consumo de material de filtración

Durante los procesos de filtración efectuados se pudo comprobar que se puede emplear hasta un cartucho de filtración Sartobran® P por cada tres lotes, mientras que se necesitan consumir 4 filtros de membrana plana de 0,2 µm y 0,45 µm, respectivamente, así como 7 pre-filtros, para hacerle frente a la demanda de filtración de un lote.

## Comparación de los costos obtenidos debido al consumo de electricidad y material de filtración por lote para ambos métodos de filtración evaluados

En los Cuadros 8 y 9 se muestran los resultados de costo obtenidos debido al consumo de electricidad y material de filtración por lote, respectivamente, para ambos métodos de filtración evaluados. Observar que en ambas tablas no se toma en cuenta el empleo de los cartuchos Sartobran® P en la sub-etapa de filtración primaria de la etapa de filtración estéril, ya que según se demostró con anterioridad, se puede eliminar la misma sin afectar los principales parámetros de calidad del producto filtrado obtenido.

Tomando en cuenta los resultados mostrados en el Cuadro 8, se puede concluir que el empleo de los cartuchos Sartobran® P reduce el costo total por consumo de electricidad en un 48,67%. De esta manera, el ahorro económico total obtenido por lote por concepto de electricidad no consumida a causa del empleo de los cartuchos Sartobran® P en todas las etapas de filtración consideradas será de:

$$\begin{aligned}A_{energía} &= C_{energía(membrana)} - C_{energía(Sartobran)} \\A_{energía} &= \$ 3,013 - \$ 1,546 \\A_{energía} &= \$ 1,467/\text{lote}.\end{aligned}$$

Acorde a los resultados mostrados en el Cuadro 9, el costo debido al consumo de material de filtración se reduce en un 44,77% a causa del uso de las cápsulas Sartobran® P en las etapas de filtración evaluadas, obteniéndose un ahorro económico total por lote igual a:

$$\begin{aligned}A_{material} &= C_{mat(membrana)} - C_{mat(Sartobran)} \\A_{material} &= \$ 267,60 - \$ 147,80 \\A_{material} &= \$ 119,80/\text{lote}.\end{aligned}$$

**Cuadro 5.** Resultados obtenidos de volumen a filtrar, tiempo de filtración, volumen final de filtrado y volumen total de pérdida de producto para la Variante 2.

Lotes	Filtración esterilizante		Volumen de muestra (L)	Volumen final de filtrado (L)	Volumen total de pérdida de producto (mL)
	Volumen a filtrar (L)	Tiempo (min)			
14.1206-5	14,90	25,03	0,12	14,50	280
14.1302-1	15,99	37,26	0,12	15,74	130
14.1302-2	10,04	14,96	0,12	9,81	105
<b>Promedio</b>	<b>13,64</b>	<b>25,75</b>	<b>0,12</b>	<b>13,35</b>	<b>171,67</b>
<b>Total</b>	<b>40,93</b>	<b>77,25</b>	<b>0,36</b>	<b>40,05</b>	<b>515,00</b>

**Cuadro 6.** Resultados obtenidos de volumen a filtrar, tiempo de filtración, volumen final de filtrado y volumen total de pérdida de producto para la variante de filtración actual empleando filtros de membrana plana.

Lotes	Filtración primaria		Filtración esterilizante		Volumen de muestra (L)	Volumen final de filtrado (L)	Volumen total de pérdida de producto (mL)
	Volumen a filtrar (L)	Tiempo (min)	Volumen a filtrar (L)	Tiempo (min)			
14.1101-1	11,23	65	10,95	36	0,12	10,72	390
14.1101-2	19,90	60	19,43	55	0,12	19,24	540
14.1101-3	19,12	75	18,76	70	0,12	18,43	570
<b>Promedio</b>	<b>16,75</b>	<b>66,67</b>	<b>16,38</b>	<b>53,67</b>	<b>0,12</b>	<b>16,13</b>	<b>500,00</b>
<b>Total</b>	<b>50,25</b>	<b>200,00</b>	<b>49,14</b>	<b>161,00</b>	<b>0,36</b>	<b>48,39</b>	<b>1500,00</b>

**Cuadro 7.** Resultados de los ensayos de calidad realizados a los lotes en estudio para las variantes de filtración propuestas.

Ensayos /Lotes	Características organolépticas	Concent. proteínas totales (mg/mL)	Pureza (%)	pH	Esterilidad	Contenido de timerosal
<b>Variante 1</b>						
14.1206-2	Pasa la prueba	2,840	94,34	8,14	Pasa la prueba	0,020
14.1206-3	Pasa la prueba	2,678	94,08	8,13	Pasa la prueba	0,019
14.1206-4	Pasa la prueba	2,608	94,90	8,12	Pasa la prueba	0,018
<b>Variante 2</b>						
14.1206-5	Pasa la prueba	2,875	94,70	8,12	Pasa la prueba	0,029
14.1302-1	Pasa la prueba	2,353	95,86	8,19	Pasa la prueba	0,023
14.1302-2	Pasa la prueba	2,583	95,45	8,17	Pasa la prueba	0,019
<b>Filtros de membrana plana</b>						
14.1101-1	Pasa la prueba	2,861	95,27	8,14	Pasa la prueba	0,030
14.1101-2	Pasa la prueba	3,490	94,67	8,09	Pasa la prueba	0,029
14.1101-3	Pasa la prueba	3,288	94,97	8,07	Pasa la prueba	0,029

**Cuadro 8.** Resultados de costo obtenidos debido al consumo de electricidad por lote para ambos tipos de filtración evaluados.

Etapa	Equipo	Consumo de energía (kW)	Tiempo (h/lote)	Costo (\$/lote)
<b>Filtros de membrana plana</b>				
Filtración no estéril	Bomba peristáltica	0,55	0,769	0,508
Filtración primaria	Bomba peristáltica	0,55	1,111	0,733
Filtración esterilizante	Bomba peristáltica	0,55	0,895	0,591
	Flujo laminar	1,1	0,895	1,181
<b>Total [C<sub>energía(membrana)</sub>]</b>				<b>3,013</b>
<b>Cartuchos de filtración Sartobran® P</b>				
Filtración no estéril	Bomba peristáltica	0,55	0,594	0,392
Filtración esterilizante	Bomba peristáltica	0,55	0,583	0,385
	Flujo laminar	1,1	0,583	0,769
<b>Total [C<sub>energía(Sartobran)</sub>]</b>				<b>1,546</b>

**Cuadro 9.** Resultados de costo obtenidos debido al consumo de material de filtración por lote para ambos métodos de filtración considerados.

Etapa	Tipo de filtro	Cantidad (U/lote)	Costo unitario (\$/U)	Costo (\$/lote)
<b>Filtros de membrana plana</b>				
Filtración no estéril	Pre-filtro	7	8,08	56,56
	Filtro de 0,45 µm	4	4,04	16,16
	Filtro de 0,20 µm	4	4,12	16,48
Filtración primaria	Pre-filtro	7	8,08	56,56
	Filtro de 0,45 µm	4	4,04	16,16
	Filtro de 0,20 µm	4	4,12	16,48
Filtración esterilizante	Pre-filtro	7	8,08	56,56
	Filtro de 0,45 µm	4	4,04	16,16
	Filtro de 0,20 µm	4	4,12	16,48
<b>Total [<math>C_{mat(membrana)}</math>]</b>				267,60
<b>Cartuchos de filtración Sartobran® P</b>				
Filtración no estéril	Cartucho Sartobran® P	0,333	221,91	73,90
Filtración esterilizante	Cartucho Sartobran® P	0,333	221,91	73,90
<b>Total [<math>C_{energía(Sartobran)}</math>]</b>				147,80

### Ahorro económico total por lote

Considerando los resultados obtenidos, el ahorro económico total obtenido por lote por concepto de reducción del consumo de energía eléctrica y de material de filtración a causa del empleo de las cápsulas de filtración Sartobran® P en las etapas de filtración evaluadas será de:

$$A_{total} = A_{energía} + A_{material}$$

$$A_{total} = 1,467 + 119,80$$

$$A_{total} = \$ 121,267/\text{lote}$$

### Ahorro económico por concepto de reducción del volumen de pérdida de producto al emplear los cartuchos Sartobran® P en la etapa de filtración estéril

Según se estableció con anterioridad, la introducción de los cartuchos de filtración Sartobran® P en la etapa de filtración estéril permite reducir el volumen total de pérdida de producto por lote desde 1500 mL hasta 840 mL, para un ahorro total 660 mL. Tomando en cuenta las dosis equivalentes recuperadas por este concepto, y el costo de unitario de estas, se obtendrá un ahorro económico total por lote de \$ 129,5 debido a volumen de producto no derramado a causa del empleo de las cápsulas Sartobran® P durante la etapa de filtración estéril.

### CONCLUSIONES

El empleo de los cartuchos de filtración Sartobran® P permite excluir la sub-etapa de filtración primaria de la etapa de filtración estéril.

Se obtiene un ahorro económico total de \$ 121,267/ lote por concepto de reducción tanto del consumo de energía eléctrica como material de filtración a causa de la introducción de los cartuchos de filtración Sartobran® P durante las etapas de filtración evaluadas.

Se logra un ahorro económico total de \$ 129,5/lote por motivo de volumen de producto no derramado a causa del empleo de las cápsulas Sartobran® P en la etapa de filtración estéril.

Se pueden emplear los cartuchos de filtración Sartobran® P tanto en la sub-etapa de filtración no estéril de la etapa de filtración como en las sub-etapas de filtración primaria y esterilizante de la etapa de filtración estéril, sin afectar los principales parámetros de calidad del producto final obtenido.

### REFERENCIAS

- [1] SULTANA, Y. Pharmaceutical microbiology and biotechnology-sterilization methods and princi-

- ples. New Delhi (India): Department of Pharmaceuticals, Faculty of Pharmacy, 2017, 21 p.
- [2] SARTORIUS. Sartorius Biotechnology: Filter Cartridges. Goettingen (Germany): Sartorius AG, 2017, 20 p.
- [3] PEIXOTO, C. *et al.* Towards purification of adenoviral vectors based on membrane technology. *Biotechnology Progress*, 24(6), 2008, p. 1290-1296.
- [4] BELDARRAÍN, A. *et al.* Evaluación de la filtración esterilizante del IFA-HBsAg. *Biotecnología Aplicada*, 26(3), 2009, p. 237-243.
- [5] HEIMBÜRGER, L.E. *et al.* Methyl mercury distributions in relation to the presence of nano- and picophytoplankton in an oceanic water column (Ligurian Sea, North-western Mediterranean). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74, 2010, p. 5549-5559.
- [6] BOYE, M. *et al.* Distributions of dissolved trace metals (Cd, Cu, Mn, Pb, Ag) in the southeastern Atlantic and the Southern Ocean. *Biogeosciences*, 9, 2012, p. 3231-3246.
- [7] LIU, H.F. *et al.* Recovery and purification process development for monoclonal antibody production. *mAbs*, 2(5), 2010, p. 480-499.
- [8] STAHLHUT, S.G. *et al.* Biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* on urethral catheters requires either type 1 or type 3 fimbriae, *FEMS. Immunology and Medical Microbiology*, 65, 2012, p. 350-359.
- [9] MAIER, M. *et al.* In vitro dynamic model of a catheterized bladder and biofilm assay. *Bio-protocol*, 5(2), 2015, p. 1-9.
- [10] LAURSEN, I.A. *et al.* Development, manufacturing and characterization of a highly purified, liquid immunoglobulin G preparation from human plasma. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 41, 2014, p. 205-212.
- [11] TSENG, Y.F. *et al.* A fast and efficient purification platform for cell-based influenza viruses by flow-through chromatography. *Vaccine*, 2017, p. 1-7.
- [12] CUBA. CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGIA (CIGB). Filtrado no estéril (Gavac®). NP 4285. Camagüey (Cuba): Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, 2016.
- [13] CUBA. CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGIA (CIGB). Tratamiento de materiales contaminados, desechos y productos no conformes generados durante la producción, el control, el almacenamiento y la comercialización de Gavac®. PPO 2.14.009.03. Camagüey (Cuba): Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, 2003.
- [14] CUBA. CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGIA (CIGB). Ingrediente Farmacéutico Activo (Antígeno Bm86) de Gavac. NP 4046. Camagüey (Cuba): Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), 2016.
- [15] CUBA. CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGIA (CIGB). Filtración estéril del Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA) del Inmunógeno Gavac®. PPO 2.14.432.96. Camagüey (Cuba): Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), 1996.
- [16] CUBA. CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGIA (CIGB). Determinación de las características organolépticas de un producto. PPO 4.09.140.98. Camagüey (Cuba): Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), 1998.
- [17] CUBA. CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGIA (CIGB). Determinación de la concentración de proteínas. Método de Lowry. PPO 4.09.002.91. Camagüey (Cuba): Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, 1991.
- [18] CUBA. CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGIA (CIGB). Lectura de bandas en Geles de poliacrilamida utilizando el software ScanProt. PPO 2.31.272.10. Camagüey (Cuba): Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB), 2010.
- [19] CUBA. CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGIA (CIGB). Medición y ajuste de Ph. PPO 2.31.2.15.97. Camagüey (Cuba): Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, 1997.
- [20] CUBA. CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGIA (CIGB). Ensayo de esterilidad al Ingrediente Farmacéutico Activo (IFA) y al inmunógeno Gavac®. PPO 2.31.700.97. Camagüey (Cuba): Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, 1997.
- [21] CUBA. CENTRO DE INGENIERÍA GENÉTICA Y BIOTECNOLOGIA (CIGB). Determinación de la concentración de Timerosal. PPO 2.31.226.11. Camagüey (Cuba): Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, 2011.



## Stability during storage of coconut powder fortified with active components

## Estabilidad durante el almacenamiento de polvo de coco fortificado con compuestos activos

## Estabilidade durante o armazenamento de coco em pó fortificado com compostos ativos

JUAN CARLOS LUCAS-AGUIRRE<sup>1</sup>, GERMAN ANTONIO GIRALDO-GIRALDO<sup>2</sup>,  
MISAEL CORTÉS-RODRÍGUEZ<sup>3</sup>

---

### Historial del Artículo

**Recibido para evaluación:** 12 de Noviembre de 2018.

**Aprobado para publicación:** 22 de Marzo de 2019.

- 1 Universidad del Quindío, Facultad de Ciencias Agroindustriales, Programa de Ingeniería de Alimentos, Grupo de Investigación Procesos Agroindustriales (PAI). Doctor en Ciencias Agrarias. Armenia, Colombia.
- 2 Universidad del Quindío, Facultad de Ciencias Agroindustriales, Programa de Ingeniería de Alimentos, Grupo de Investigación Procesos Agroindustriales (PAI). Doctor en Ingeniería de Alimentos. Armenia, Colombia.
- 3 Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos, Grupo de Investigación de Alimentos Funcionales (GAF). Doctor en Ingeniería de Alimentos. Medellín, Colombia

**Corresponding Author:** [jclucas@uniquindio.edu.co](mailto:jclucas@uniquindio.edu.co)

**Cómo citar este artículo:** LUCAS-AGUIRRE, JUAN CARLOS, GIRALDO-GIRALDO, GERMAN ANTONIO, CORTÉS-RODRÍGUEZ, MISAEL. (2019). STABILITY DURING STORAGE OF COCONUT POWDER FORTIFIED WITH ACTIVE COMPONENTS. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 17(2), 66-76, DOI:<http://dx.doi.org/10.18684/bsaa.v17n2.1254>

## ABSTRACT

The modern consumer demands every day foods with higher content of nutrients and functionally active compounds (FAC) that favor their health; however, many of these are affected during processing and storage. The aim of the research was to evaluate the stability of the quality attributes of spray dried coconut powder fortified with Ca and vitamins C, D<sub>3</sub> y E (PC+FAC) during storage. The storage conditions were: temperature (15, 25 and 35°C), times (0, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days) and packed (atmospheric pressure and N<sub>2</sub>), and the dependent variables: moisture (X<sub>w</sub>), a<sub>w</sub>, solubility (S), color, retention of calcium and vitamins C, D<sub>3</sub>, E, total phenolic compounds, antioxidant activity (ABTS and DPPH methods), peroxide index (PI) and particle size (D<sub>10</sub>, D<sub>50</sub> y D<sub>90</sub>). In general, the independent variables evaluated affect the quality attributes of PC+FAC, being the most critical the agglomeration of the product and the retention of vitamins and antioxidants. The best storage condition was a temperature of 15°C and packing with N<sub>2</sub>, where the quality of the PC+FAC at 180 days was X<sub>w</sub>: 3,0±0,1%; a<sub>w</sub>: 0,342±0,009; L\*: 78,0±0,0; a\*: 1,4±0,1; b\*: 8,6±0,1; S: 51,5±2,3%; PI: 0,2±0,2 meqH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg oil; R-VC: 62,6±5,7%; R-VD<sub>3</sub>: 51,0±1,0%; R-VE: 57,2±3,2%; R-Calcio (R-Ca): 98,9%; R-TPC: 50,9±4,8%; R-DPPH: 91,9±1,8%; R-ABTS: 42,1±2,2%.

## RESUMEN

El consumidor moderno exige cada día alimentos con mayor contenido de nutrientes y compuestos funcionalmente activos (CFA) que favorezcan su salud; sin embargo, muchos de estos son afectados durante su procesamiento y almacenamiento. El objetivo de la investigación fue evaluar la estabilidad de los atributos de calidad del polvo de coco fortificado con Ca y vitaminas C, D<sub>3</sub> y E (PC+CFA) obtenido por secado por aspersión, durante el almacenamiento. Las condiciones de almacenamiento evaluadas fueron: temperatura (15, 25 y 35°C), tiempos (0, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 días) y empaçado (presión atmosférica y N<sub>2</sub>), y las variables dependientes: humedad (X<sub>w</sub>), a<sub>w</sub>, solubilidad (S), color, retención de calcio y vitaminas C, D<sub>3</sub>, E, fenoles totales, actividad antioxidante (métodos ABTS y DPPH), índice de peróxido (IP) y tamaño de partícula (D<sub>10</sub>, D<sub>50</sub> y D<sub>90</sub>). En general, las variables independientes evaluadas afectan los atributos de calidad del PC+CFA, siendo los más críticos la aglomeración del producto y la retención de vitaminas y antioxidantes. La mejor condición de almacenamiento fue temperatura 15°C y empaçado con N<sub>2</sub>, donde la calidad del PC+CFA a los 180 días fue X<sub>w</sub>: 3,0±0,1%; a<sub>w</sub>: 0,342±0,009; L\*: 78,0±0,0; a\*: 1,4±0,1; b\*: 8,6±0,1; S: 51,5±2,3%; IP: 0,2±0,2 meqH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg grasa; R-VC: 62,6±5,7%; R-VD<sub>3</sub>: 51,0±1,0%; R-VE: 57,2±3,2%; R-Ca: 98,9%; R-FT: 50,9±4,8%; R-DPPH: 91,9±1,8%; R-ABTS: 42,1±2,2%.

## RESUMO

O consumidor moderno exige comida todos os dias com maior teor de nutrientes e compostos funcionalmente ativos (CFA) que promovam a saúde; no entanto, muitos destes são afetadas durante o processamento e armazenamento. O objetivo do estudo foi o de avaliar a estabilidade da qua-

## KEYWORDS:

Cocos nucifera L., Shelf life, Vitamins C, D<sub>3</sub> y E, Calcium, Antioxidants.

## PALABRAS CLAVE:

Cocos nucifera L., Vida útil, Vitaminas C, D<sub>3</sub> y E, Calcio, Antioxidantes.

## PALAVRAS-CHAVE:

Cocos nucifera L., Vida de prateleira, Vitaminas C, D<sub>3</sub> e E, Cálcio, Antioxidantes.

idade atributos pó enriquecido com Ca de coco e as vitaminas C, D<sub>3</sub> e E (PC+CFA) obtida por secagem por pulverização durante o armazenamento. Condições de armazenamento avaliadas foram: temperatura (15, 25 e 35°C), os tempos (0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias) e embalado (pressão atmosférica e N<sub>2</sub>), e as variáveis dependentes umidade (X<sub>w</sub>), a<sub>w</sub>, de solubilidade (S), cor, retenção de cálcio e vitaminas C, D<sub>3</sub>, e, de fenóis, de atividade antioxidante (métodos ABTS e DPPH), peróxido (IP) e o tamanho de partícula (D<sub>10</sub>, D<sub>50</sub> e D<sub>90</sub>). Em geral, as variáveis independentes avaliadas afetam os atributos de qualidade de PC+CFA, sendo as mais críticas a aglomeração do produto e a retenção de vitaminas e antioxidantes. As melhores condições de armazenagem foi de temperatura de 15°C e embalado com N<sub>2</sub>, onde a qualidade de PC+CFA 180 dias foi X<sub>w</sub>: 3,0±0,1%; a<sub>w</sub>: 0,342±0,009; L\*: 78,0±0,0; a\*: 1,4±0,1; b\*: 8,6±0,1; S: 51,5±2,3%; IP: 0,2±0,2 meqH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> / kg de graxa; R-VC: 62,6±5,7%; R-VD<sub>3</sub>: 51,0±1,0%; R-VE: 57,2±3,2%; R-Ca: 98,9%; R-FT: 50,9±4,8%; R-DPPH: 91,9±1,8%; R-ABTS: 42,1±2,2%.

## INTRODUCTION

The coconut is a fruit with high nutritional and medicinal value of global importance, with impact in more than 90 countries and more than 80 million people [1]. The pulp in a ripe fruit contains approximately 35-64% water, 25-44% oil, 9-14% carbohydrates, 5 mg vitamin C/100g, 4,1 mg galic acid/100g [1]. Storage studies of coconut powder and/or derivatives are poorly reported; Jena and Das (2006) [2] y (2012) [3], carried out predictions of the shelf life of the coconut aqueous extract powder obtained by vacuum drying in accelerated storage conditions at relative humidity of 90±1% and 38±2°C, considering the criteria for the start of caking or formation of lumps, and lipid oxidation. In the prediction based on the oxidation of lipids, relationships were established between the O<sub>2</sub> absorption rate, the oxygen concentration inside the package, the volume of O<sub>2</sub> absorbed and the peroxide index (IP). An IP of 10 mEq. O<sub>2</sub>/kg fat was the threshold limit for oxidative rancidity. The properties of powdered food during storage are affected by several factors: temperature, relative humidity, light, O<sub>2</sub>, packaging, time, among others [4, 5, 6] highlighting the deterioration in its nutritional value [7, 8], in fluency, agglomeration [9, 10], and color [11, 12, 7]. Several research have reported an important effect during storage on the properties of

avocado powder [13], pink guava [11], biofortified cane with kefir granules [14], uchuva [15], skim milk [10], and milk protein [9].

In general, powder products obtained by spray drying reach a non-thermodynamic, amorphous (vitreous) state; however, during storage they present changes of the amorphous state (vitreous ® rubbery) and at the same time in their properties, due to the effect of dependent variables: temperature, time and packaging; a higher storage temperature and a packing with greater water vapor permeability increase the moisture gain, the a<sub>w</sub> and the degree of agglomeration of the particles, decreasing the glass transition temperature (T<sub>g</sub>) of the product [11, 4]. The agglomeration of the powder depends on its composition; that is, of the superficial forces of the particles: van der Waals forces (attractive) and electrostatic (repulsive) forces [11, 16], being favored in fruits for its sugar content [16]. The agglomeration is the result of the plasticization of the concentrated compounds, which is enhanced by the adsorption of water, which generates a greater mobility of the water in the structure and contributes to a greater rate of deterioration. The determination of the best storage condition is essential to preserve the quality of the product and its shelf life [13, 4, 3]. The aim of this research was to evaluate the stability of the quality attributes of spray dried coconut powder fortified with Ca and vitamins C, D<sub>3</sub> and E (PC+FAC) and the effect of the type of treatment (temperature-packaging) and the storage time (t<sub>A</sub>).

## METHOD

### Materials

The coconut powder added with calcium and vitamins C, D<sub>3</sub> and E (PC+FAC) was obtained by spray drying according to the methodology described by Lucas-Aguirre *et al.* 2018 [17]. Cocconut variety Enano Malayo (manila) was used and as fortifying agents were used: calcium citrate, 99,5% ascorbic acid, Vitamin D<sub>3</sub> 500,000 IU (cholecalciferol), vitamin E (DL- $\alpha$ -tocopherol acetate 50% USP GRADE), in addition to the additives: maltodextrin (MD) with dextrose equivalent 18-20, whey (Instant WPC 80), Nicle, xanthan gum (G<sub>Xantán</sub>) and terbutylhydroquinone.

## Characterization of PC+FAC

**Moisture ( $X_w$ ).** Official method of AOAC 930.15/2016 [18].

**Water activity ( $a_w$ ).** It was determined with a dew point hygrometer at 25°C (Aqualab serie 3TE, Decagon, Devices, Pullman, WA, USA) [19].

**Solubility (S).** Method, described by Estrada, (2016) [20] and Lucas-Aguirre *et al.* (2018) [17].

**Peroxide index (IP).** Method described by Lucas-Aguirre *et al.* (2018) [17].

**Total phenolic compounds (TPC) (mg galic acid/g).** Methodology described by Zorić *et al.* (2017) [21].

**Antioxidant activity.** It was determined by means of two methodologies: 1) capture activity of free radicals DPPH and ABTS (mg trolox / g) described its extraction by Sridhar and Linton-Charles, (2019) [22] and quantification by Casagrande *et al.* (2018), [23].

**Particle size.** The  $D_{10}$ ,  $D_{50}$  and  $D_{90}$  percentiles were determined with the Mastersizer 3000 (Malvern Instrument Ltd., Worcestershire, UK).

**Color.** The CIE-La\*b\* coordinates were determined with an X-Rite spectrophotometer SP62, illuminant D65, observer 10° and specular component excluded [17].

**Microstructural analysis.** It was performed by SEM with a scanning electron microscope (Jeol 5910LV) at 15 Kv [17]. The micrographs were performed at 0 and 180 days of storage and the best storage conditions.

**Extraction and quantification of vitamins and calcium.** Vitamin C was extracted according to the methodology of Silva *et al.* (2018) [24] and the vitamins  $D_3$  and E according to the methodology of Ruiz-Ruiz *et al.* (2017) [13], modified by the inclusion of an ultrasound treatment (40 kHz) to the samples treated with hexane, for 20 minutes. The quantification of vitamins  $D_3$  and E was carried out by HPLC (Shimatzu Prominence 20A) according to the methodology described by Ruiz-Ruiz *et al.* (2017) [13], with wavelengths of 265 and 285 nm, respectively. Vitamin C was quantified by HPLC according to the methodology described by Hernández-Sandoval *et al.* (2014) [15], at a wavelength of 244 nm and an injection volume of 5  $\mu$ L and the quantifica-

tion of calcium was performed by spectrophotometry by atomic absorption with flame [25].

## Experimental design

A completely randomized factorial design was used with factors: treatment (temperature-packaging) and time ( $t_A$ ) and the dependent variables:  $X_w$ ,  $a_w$ , S, L\*,  $a^*$ ,  $b^*$ , IP, retention of vitamins C,  $D_3$ , E and calcium (R-Vit.C, R-Vit. $D_3$ , R-Vit.E, R-Ca respectively), retention of TPC (R-TPC), retention of antioxidant activity (R-ABTS and R-DPPH), and microstructural analysis ( $D_{10}$ ,  $D_{50}$ ,  $D_{90}$ ). The samples were packed in multilayer bags (Alico S.A), thickness of laminated film (PET) 12  $\mu$ m, with aluminum foil 8  $\mu$ m and a polyethylene sealing layer 100  $\mu$ m, weight of 136,54 g/m<sup>2</sup>, with vapor permeability of water <1 cm<sup>3</sup>/ (m<sup>2</sup> 24 h atm) and to O<sub>2</sub> <1 cm<sup>3</sup>/ (m<sup>2</sup> 24 h atm) and stored in climatic chambers with relative humidity: 65%, temperatures: 15, 25, and 35°C and packed: atmosphere of N<sub>2</sub> and environment (Amb). The treatments were: 15-N<sub>2</sub>, 15-Amb, 25-N<sub>2</sub>, 25-Amb, 35-N<sub>2</sub> y 35-Amb, and the  $t_A$ : 0, 30, 60, 90, 120, 150, and 180 days. The analysis of the results was carried out with the Software Statgraphics XVI.I, ANOVA with multiple range test, 95% confidence level and honest significant difference test (HDS) of Tukey.

## RESULTS

Figure 1 presents the average values and standard deviation of the quality attributes of the PC+FAC according to the treatment and  $t_A$ . The ANOVA showed statistically significant differences ( $p < 0,05$ ) in all the dependent variables, with respect to the  $t_A$ , treatment and interaction (treatment -  $t_A$ ); except for the R-Ca (%) that did not present statistically significant differences with respect to the treatment and the interaction and the IP with respect to the interaction ( $p > 0,05$ ) (table 1).

The variables  $X_w$  and  $a_w$  showed a variation between (1,7-3,4%) and (0,170-0,358) respectively, results that guarantee a microbial stability and a possible control of deterioration reactions: auto-oxidation, lipid oxidation, enzymatic reactions, and hydrolytic and browning reactions [26, 11]. An increase of  $X_w$  and  $a_w$  was observed during the first 60 days, then an asymptotic behavior, where the treatments (35°C-Amb) and (35°C-N<sub>2</sub>) presented the lowest  $X_w$  (2.8-

2,9%) and  $a_w$  (0,295-0,304) at 180 days, due to the increase in vapor pressure at 35°C. Similar behaviors have been reported in tamarind powder [27]. The S showed an increase during the first 30 days (58,4±1,6 → 68,5±2,7%) and then a decrease until day 180. The treatment 35°C-Amb was the most critical (68,5±2,7% → 37,2±2,2%) and the most favorable were 15°C-N<sub>2</sub> (58,4±1,6% → 51,5±2,3%) and 35°C-N<sub>2</sub> (58,4±1,6% → 50,4±1,1%).

This situation is attributed to the high fat content (0,31 g/g solid dry) of the PC+FAC that gives it hydrophobic characteristics [28]; and to the observed agglomeration that is enhanced with the increase of  $X_w$ , which decreases the surface area and the water diffusion in the particles.

Similar behaviors have been reported in babassu milk powder [29]; tomato powder [6], and milk protein powder [30], where the formation of a reticulated protein network on the surface acts as a barrier to the diffusion of water and hydration of the particles.

The PC+FAC color was not critical because the variation of its parameters was slight, L\*: 76,8-80,5; a\*: 1,4-2,7 and b\*: 9,0-11,7; which indicates little

influence of the evaluated factors and an effect protector of the MD and  $G_{x_{\text{antán}}}$  contained in the matrix. These changes less than 5, do not get to be perceptible to the human eye [31]; so they will be considered as: L\*: 78,6±1,1; a\*: 1,8±0,3 y b\*: 9,7±0,7.

During storage there were significant losses in vitamins and antioxidants in all treatments; the greatest loss occurred in the samples stored at high temperatures and packed with atmosphere (Amb). Initial amounts of vitamins and antioxidants were: Vit.C: 2,1±0,1 mg/g; Vit.D<sub>3</sub>: 223,8±12,5 mg/g; Vit.E: 0,20±0,0 UI/g; TPC: 29,7±7,6 mg galic acid/g; DPPH: 0,5±0,0 mg trolox/g y ABTS: 0,5±0,0 mg trolox/g.

The Vit.C and Vit.E showed a similar behavior. The highest R-VC was found in the treatments 15°C-N<sub>2</sub> (62,6±5,7%), 25°C-N<sub>2</sub> (68,7±5,1%), and 35°C-N<sub>2</sub> (44,6±2,3%); while the lowest R-VC was found at 35°C-Amb (11,9±0,2%).

For Vit.E the most favorable treatments were 15°C-N<sub>2</sub> (57,2±3,2%), 25°C-N<sub>2</sub> (54,6±1,2%), and 15°C-Amb (51,8±0,6%); whereas the most critical were 25°C-Amb (46,5±7,8%), and (35°C-Amb) (46,2±0,3%).

The degradation of Vit.C and Vit.E is attributed to the greater reactivity of the chemical structure with the O<sub>2</sub> present in the samples with Amb packaging, widely studied [8, 32, 27], which is enhanced by the increase in temperature [33, 32, 11]; in turn an oxidative pathway catalyzed by O<sub>2</sub> and the Fe<sup>+3</sup> and Cu<sup>+2</sup> ions present, could accelerate the speed of the reaction [8, 32].

Similar behaviors in Vit.C have been reported in mango powders [33], milk for infants [8], and tomato [6], reaching retention levels up to 81,0% (0°C), 63,1% (25°C), and 4,7% (37°C), respectively. In dehydrated pineapple products [34], the progressive degradation of Vit.C during storage was related to the higher content of  $X_w$  (> $a_w$ ), acting as a solvent and catalyst. Moraga *et al.* (2012) [35], evaluated the effect of relative humidity and storage time on the bioactive compounds and the functional properties of the grapefruit powder, the glassy state of the amorphous matrix must be guaranteed, which will prevent an increase in the rate of deterioration reactions related to the loss of FAC of the fruit, such as vitamin C.

Regarding the Vit.E Chávez-Servín *et al.* (2008) [8], reported significant losses in milk powder for in-

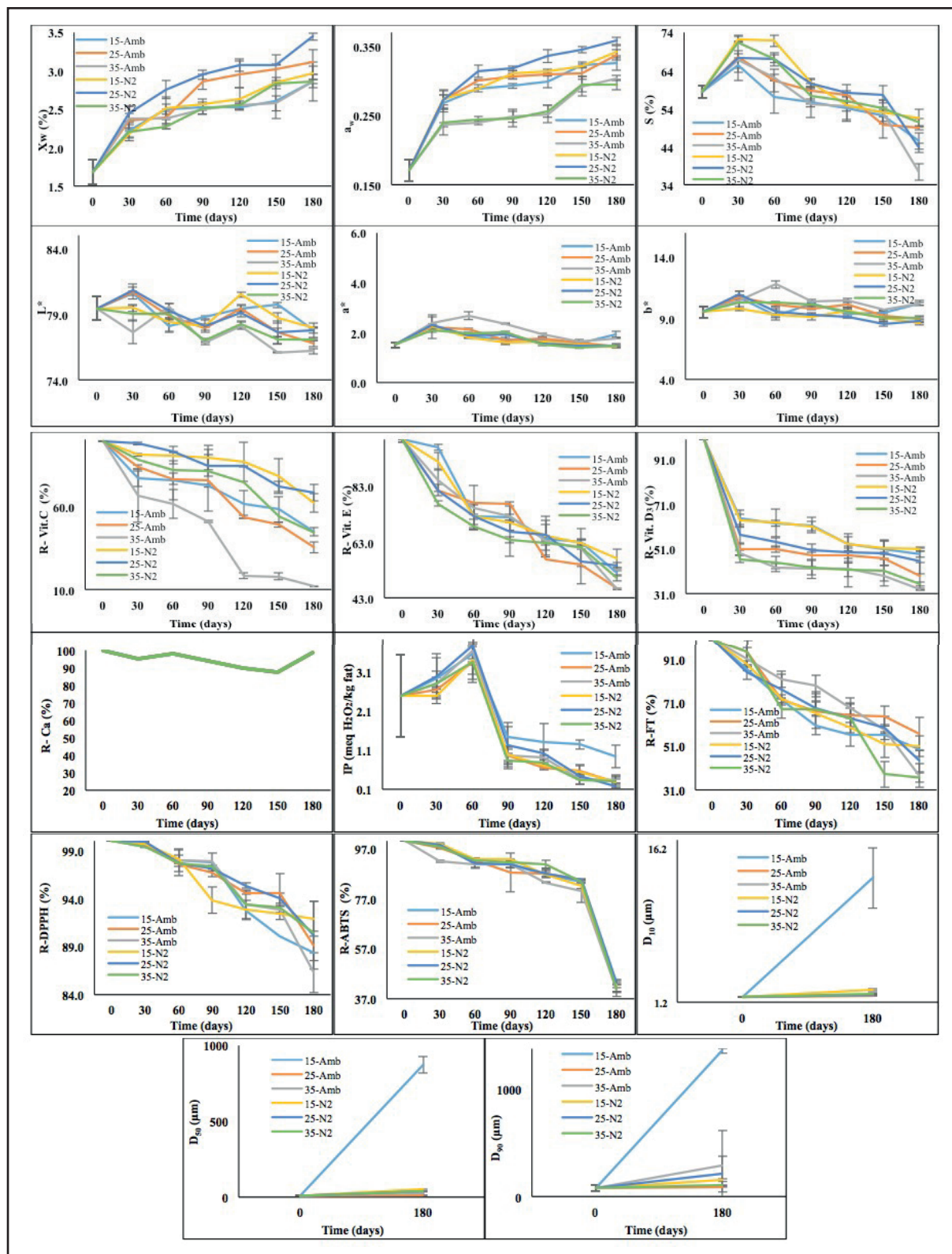
**Table 1.** Significance level (p-value) of storage conditions and their interactions on powder properties.

Property	t <sub>a</sub> (days)	Treatments (T-P)	Interaction
X <sub>w</sub>	0,0000**	0,0000**	0,0001**
a <sub>w</sub>	0,0000**	0,0000**	0,0000**
S	0,0000**	0,0000**	0,0000**
L*	0,0000**	0,0000**	0,0000**
a*	0,0000**	0,0000**	0,0000**
b*	0,0000**	0,0000**	0,0000**
R-VC (%)	0,0000**	0,0000**	0,0000**
R-VD <sub>3</sub> (%)	0,0000**	0,0000**	0,0002**
R-VE (%)	0,0000**	0,0045**	0,0103*
R-Ca	0,0000**	1,0000 <sup>NS</sup>	1,0000 <sup>NS</sup>
IP	0,0000**	0,0268*	0,9986 <sup>NS</sup>
R-FT	0,0000**	0,0000**	0,0000**
R-DPPH (%)	0,0000**	0,0278*	0,0000**
R-ABTS (%)	0,0000**	0,0000**	0,0069**
D <sub>10</sub>	0,0007**	0,0002**	0,0006**
D <sub>50</sub>	0,0003**	0,0001**	0,0001**
D <sub>90</sub>	0,0002**	0,0011**	0,0009**

\*\* Highly Significant Differences. \* Significant differences. NS No Significance.



Figure 1. Effect of tA and treatments (temperature-packed) on the quality attributes of PC+FAC.





fants, favored with the increase in temperature and  $t_A$ . The same behavior was reported for egg powder enriched with natural antioxidants [36], in 4 powdered formulas of supplementation and / or nutritional support [32, 37], where the results showed that the increase in  $a_w$  and  $t_A$  have a marked effect on the stability of thiamine and vitamins E and A. The Vit.D<sub>3</sub> showed an accelerated degradation during the first 30 days and later it was slow and progressive until 180 days. In all cases, the degradation was greater in the samples packaged in Amb than in N<sub>2</sub>, which is related to the reactivity of Vit.D<sub>3</sub> with O<sub>2</sub> [8, 32]. The highest losses of Vit.D<sub>3</sub> occurred in the treatments 35°C-Amb and 35°C-N<sub>2</sub>, with a retention of 32,9±0,3% and 35,3±0,9% respectively; while the smallest losses were at 15°C-Amb (48,7±1,4%) and 15°C-N<sub>2</sub> (51,0±1,0%).

Some investigations describe the important effect of pH, light, and heat [36, 32; 38; 37] on Vit.D<sub>3</sub> in foods, however the studies of stability in powders are limited, highlighting mainly avocado powder added with Ca, Fe and vitamins A and D<sub>3</sub> [38], where the greatest losses occurred with the increase of time and temperature; In addition, the packaging effect (N<sub>2</sub> and vacuum) were similar. Mahmoodania *et al.* 2018 [32] reported that vitamin D in milk powder appears to be quite stable for atmospheric oxygen, but could be susceptible to reactive oxygen species. Therefore, the lipoxidation of fatty acids, which produces reactive oxygen species, could be one of the ways to cause the degradation of vitamin D in fortified products that contain fats, as is the case of PC+FAC. The R-Ca, in general was stable during the  $t_A$  (aprox. 98,9% at 180 days). It was found that the highest R-DPPH, R-ABTS, and R-TPC at 180 days was presented in the treatment 15°C-N<sub>2</sub>, with values of 91,9±1,8%, 42,1±2,2%, and 50,9±4,8% respectively, showing the lowest R-ABTS in the last 30 days; while, the R-TPC and R-DPPH had a linear behavior throughout the  $t_A$ . The lowest R-TPC was observed at 35°C-Amb and 35°C-N<sub>2</sub> (37,5±5,5 and 36,7±2,2 respectively); while for DPPH it was at 35°C-Amb (86,3±2,1%). For the ABTS the values were practically similar for all the treatments in each  $t_A$ , being the R-ABTS at 180 days of 41,5±1,1%.

A similar behavior was reported in reported for apple peel powder [5], using high density polyethylene bags and high barrier metallized films, where the TPC decreased with the  $t_A$  and the temperature in both materials. The results indicated that a higher  $X_w$  accelera-

ted the degradation of phenolic compounds; On the other hand, it has also been found that the availability of O<sub>2</sub> as a result of the permeability of packaging materials is determinant in the loss of phenols [39]. Other investigations suggest that the loss of phenolic compounds and antioxidant capacity are associated with T<sub>A</sub>, pH, exposure to O<sub>2</sub>, light, and changes in  $X_w$  and  $a_w$ , which generate agglomeration due to the rapid absorption of water in the first days of  $t_A$  and finally, to the formation and accumulation of melanoidines, as well as the reaction products of Maillard [40]. The latter coincides with that reported for cranberry powder [7], stored in the dark at 4°C (losses of 10% in TPC and 15% as ABTS after 4 weeks); while, at 25°C and in the presence of light, the losses were 33% in both. For all treatments, the IP increased from 2,43±0,89 to 3,5±0,17 meqH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/kg fat at the beginning of storage (0 @ 60 days); subsequently, sharply decreased to average values of 1,0±0,2 meqH<sub>2</sub>O/kg fat (day 90) and from there, showed a tendency to decrease slightly until day 180, obtaining average values between 0,12±0,03 and 0,89±0,3. An IP value of 10 mEq. O<sub>2</sub>/kg fat was considered as the critical limit for acceptance of PC+FAC, beyond this value the product could perceive rancidity [41].

This behavior of the IP is attributed at the beginning to the formation of hydroperoxides and to the increase of the surface oil content [42, 26, 43] and subsequently, to the conversion of free fatty acids into secondary oxidation products (alkanes, alkenes, malonaldehydes) [43].

The PC+FAC is vulnerable to lipid oxidation leading to the formation of fat peroxides caused by molecular O<sub>2</sub> and fatty acids, such behavior may be due to the oil being released to the surface of the powder during storage, due to physical and chemical changes in the wall materials and the molecular diffusion of the oil through them [44]. At the same time the encapsulation structure could also be weakened when the samples are exposed to higher temperatures during longer  $t_A$ , in the presence of air, light and the O<sub>2</sub> permeability of the packaging used, which could cause a higher oil release rate on the surface. Other phenomena can also occur: the presence of antioxidants such as tocopherols and TBHQ, which reduce the production of peroxides and free fatty acids; which could explain the low IP values during PC+FAC storage. The particle sizes showed a similar behavior, increasing in the 3 percentiles during the storage and being the

treatment 15°C-Amb which showed the highest increase:  $D_{10}$  ( $1,7 \pm 0,03 @ 13,3 \pm 3,0 \mu\text{m}$ ),  $D_{50}$  ( $8,5 \pm 2,3 @ 870,5 \pm 55,2 \mu\text{m}$ ) y  $D_{90}$  ( $78,8 \pm 27,0 @ 1350,1 \pm 1,8 \mu\text{m}$ ); while, in the other treatments, the differences were not significant at 180 days ( $D_{10}$ :  $2,03 \pm 0,3 \mu\text{m}$ ;  $D_{50}$ :  $33,2 \pm 14,9 \mu\text{m}$ ;  $D_{90}$ :  $168,5 \pm 81,8 \mu\text{m}$ ). This behavior is related to the increase of  $X_w$ , which favors the agglomeration of PC+FAC particles, losing their free-flowing characteristics and forming lumps.

Figure 2 shows the microstructure obtained by SEM of PC+FAC particles at 15°C and times of 0 and 180 days. Agglomeration on the surface of the powder during storage was evident [6, 30]. The particles initially exhibit a spherical shape and variability in their sizes, smooth and rough surfaces, some with collapsed walls and agglomerated structures, due mainly to Van der Waals (attractive) and electrostatic (repulsive) forces [45, 30] which is characteristic of powders obtained by SD [41, 25, 18, 30].

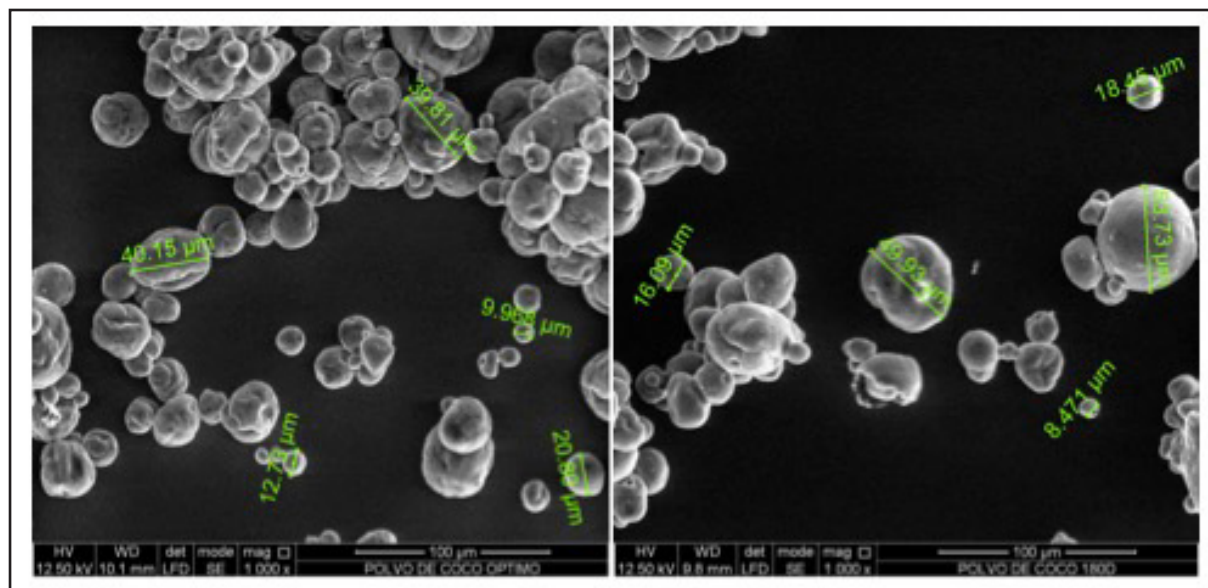
At 180 days, the PC+FAC exhibits a structural collapse due mainly to the high agglomeration, probably caused by the absorption of water on the surface of the particles, which could be the early stage of the caking phenomenon described above. [11]. On the other hand, the increase of the  $X_w$  favors the humidification of the sugars that are crystallized forming agglomerations by the effect of the stickiness; the

same behavior has been reported in borojo powder encapsulated with MD [26, 30]. The collapse of the pulverized products implies time-dependent structural changes, which are accompanied by changes in the mechanical properties that are related to caking or stickiness; on the other hand the speed of caking and/or agglomeration is a function of several variables: temperature, RH, time, and position within the powder, where particles exceeding the moisture threshold value stick to each other; presenting four different states: bridge formation, agglomeration, compaction and liquefied [35; 26, 30].

## CONCLUSIONS

The PC+FAC obtained by SD is a food matrix whose encapsulants effectively protect the FAC present during storage. In general, the quality attributes of the PC+CFA were affected by all the independent variables, the storage condition that most favored PC+FAC was 15°C-N<sub>2</sub>, where the gain of  $X_w$  and the increase of  $a_w$  were low; losing its free flow characteristics and presenting formation of lumps where the PC+CFA is a stable product, nutritionally rich in fat, fiber and CFA and hygroscopic, where the absorption of water confers a plasticizing effect on its structure, additionally, there was a greater retention of vitamins and antioxidants.

Figure 2. Micrographs of the PC+FAC at 15°C-N<sub>2</sub> and times of 0 and 180 days.



## REFERENCES

- [1] SIRIPHANICH, J. *et al.* Coconut (*Cocos nucifera* L.). In: Yahia, E. (Ed.). *Postharvest- Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits. Cocona to Mango*. Cambridge (UK): Woodhead Publishing in Food Science Technology and Nutrition, 2011, p. 8-33.
- [2] JENA, S. and DAS, H. Modeling of particle size distribution of sonicated coconut milk emulsion: Effect of emulsifiers and sonication time. *Food Research International*, 39, 2006, p. 606-611.
- [3] JENA, S. and DAS, H. Shelf life prediction of aluminum foil laminated polyethylene packed vacuum dried coconut milk powder. *Journal of Food Engineering*, 108, 2012, p. 135-142.
- [4] LABUZA, T.P. and ALTUNAKAR, B. *Water activity in foods: Fundamentals and applications*. Ames (USA): IFT Press/Blackwell Publishing, 2007.
- [5] HENRÍQUEZ, C. *et al.* Storage stability test of apple peel powder using two packaging materials: High-density polyethylene and metalized films of high barrier. *Industrial Crops and Products*, 45, 2013, p. 121-127.
- [6] LIU, F. *et al.* Changes of tomato powder qualities during storage. *Powder Technology*, 204, 2010, p. 159-166.
- [7] LABUSCHAGNE, P. Impact of wall material physicochemical characteristics on the stability of encapsulated phytochemicals: A review. *Food Research International*, 107, 2018, p. 227-247.
- [8] CHÁVEZ-SERVÍN, J.L. *et al.* Analysis of vitamins A, E and C, iron and selenium contents in infant milk-based powdered formula during full shelf-life. *Food Chemistry*, 107, 2008, p. 1187-1197.
- [9] BABU, K.S. *et al.* Influence of protein content and storage temperature on the particle morphology and flowability characteristics of milk protein concentrate powders. *Journal of Dairy Science*, 101(8), 2018, p. 7013-7026.
- [10] MERCAN, E., SERT, D. and AKIN, N. Determination of powder flow properties of skim milk powder produced from high-pressure homogenization treated milk concentrates during storage. *LWT Food Science and Technology*, 97, 2018, p. 279-288.
- [11] ISLAM-SHISHIR, M.R. *et al.* Effect of packaging materials and storage temperature on the retention of physicochemical properties of vacuum packed pink guava powder. *Food Packaging and Shelf Life*, 12, 2017, p. 83-90.
- [12] ZOTARELLI, M.F. *et al.* Production of mango powder by spray drying and cast-tape drying. *Powder Technology*, 305, 2017, p. 447-454.
- [13] RUIZ-RUIZ, M.P., MISAEL, C.R. y GIL, J.H. Estabilidad del polvo de aguacate adicionado con componentes activos durante el almacenamiento. *Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Edición especial* 15(2), 2017, p. 42-51.
- [14] SALAZAR-ÁLZATE, B.C., CORTÉS-RODRÍGUEZ, M. and MONTOYA-CAMPUZANO, O.I. The impact of storage conditions on the stability of sugarcane powder biofortified with kefir grains. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 68(2), 2015, p. 7703-7712.
- [15] HERNÁNDEZ-SANDOVAL, G.R., CORTÉS-RODRÍGUEZ, M. and CIRO-VELÁSQUEZ, H.J. Effect of storage conditions on quality of a functional powder of cape gooseberry obtained by spray drying. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 17(1), 2014, p. 139-149.
- [16] ARAUJO-DÍAZA, B. *et al.* Evaluation of the physical properties and conservation of the antioxidants content, employing inulin and maltodextrin in the spray drying of blueberry juice. *Carbohydrate Polymers*, 167, 2017, 317-325.
- [17] LUCAS-AGUIRRE, J.C., GIRALDO- GIRALDO, G.A. and CORTÉS-RODRÍGUEZ, M. Effect of the Spray Drying Process on the Quality of Coconut Powder Fortified with Calcium and Vitamins C, D<sub>3</sub> and E. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 16(SPL), 2018, p. 102-124.
- [18] A.O.A.C. INTERNATIONAL. *Official methods of analysis of AOAC International*. 20 ed. Rockville (USA): AOAC international, 2006.
- [19] LUCAS-AGUIRRE, J.C., TOBÓN-CASTRILLÓN, C. and CORTÉS-RODRÍGUEZ, M. Influence of the Composition of Coconut-Based Emulsions on the Stability of the Colloidal System. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 14(3), 2018, p. 77-92.
- [20] ESTRADA-MESA, E.M. *Optimización del proceso de secado por aspersion para la obtención de guacamole en polvo [Tesis Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos]*. Medellín (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, 2016, p. 180.
- [21] ZORIĆ, Z. *et al.* Effect of storage conditions on phenolic content and antioxidant capacity of spray dried sour cherry powder. *LWT Food Science and Technology*, 79, 2017, p. 251-259.

- [22] SRIDHAR, K. and LINTON-CHARLES, A. In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH<sup>•</sup> and ABTS<sup>•</sup> assays: Estimation methods for EC<sub>50</sub> using advanced statistical programs. *Food Chemistry*, 275, 2018, p. 41-49.
- [23] CASAGRANDE, M. *et al.* Influence of time, temperature and solvent on the extraction of bioactive compounds of *Baccharis dracunculifolia*: In vitro antioxidant activity, antimicrobial potential, and phenolic compound quantification. *Industrial Crops & Products*, 125, 2018, p. 207-219.
- [24] SILVA, M.A. *et al.* Vitamin C evaluation in foods for infants and young children by a rapid and accurate analytical method. *Food Chemistry*, 275, 2018, p. 83-90.
- [25] VÉSTIA, J. *et al.* Predicting calcium in grape must and base wine by FT-NIR spectroscopy. *Food Chemistry*, 276, 2019, p. 71-76.
- [26] FITZPATRICK, J.J. *et al.* Caking behaviour of food powder binary mixes containing sticky and non-sticky powders. *Journal of Food Engineering*, 204, 2017, p. 73-79.
- [27] MUZAFFAR, K. and KUMAR, P. Moisture sorption isotherms and storage study of spray dried tamarind pulp powder. *Powder Technology*, 291, 2016, p. 322-327.
- [28] ZHENG, Y. and LI, Y. Physicochemical and functional properties of coconut (*Cocos nucifera* L) cake dietary fibres: Effects of cellulase hydrolysis, acid treatment and particle size distribution. *Food Chemistry*, 257, 2018, p. 135-142.
- [29] SANTANA, A.A. *et al.* Spray drying of babassu coconut milk using different carrier agents. *Drying Technology*, 35(1), 2017, p. 76-87.
- [30] MERCAN, E., SERTB, D. and AKIN, N. Determination of powder flow properties of skim milk powder produced from high-pressure homogenization treated milk concentrates during storage. *LWT - Food Science and Technology*, 97, 2018, p. 279-288.
- [31] CONESA, A. *et al.* Changes in the content of chlorophylls and carotenoids in the rind of Fino 49 lemons during maturation and their relationship with parameters from the CIELAB color space. *Scientia Horticulturae*, 243, 2019, p. 252-260.
- [32] MAHMOODANIA, F. *et al.* Lipid oxidation and vitamin D<sub>3</sub> degradation in simulated whole milk powder as influenced by processing and storage. *Food Chemistry*, 261, 2018, p. 149-156.
- [33] HYMAVATHI, T.V. and KHADER, V. Carotene, ascorbic acid and sugar content of vacuum dehydrated ripe mango powders stored in flexible packaging material. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 2005, p. 181-192.
- [34] UDOMKUN, P. *et al.* Compositional and functional dynamics of dried papaya as affected by storage time and packaging material. *Food Chemistry*, 196, 2016, p. 712-719.
- [35] MORAGA, G. *et al.* Effect of relative humidity and storage time on the bioactive compounds and functional properties of grapefruit powder. *Journal of Food Engineering*, 112, 2012, p. 191-199.
- [36] MATUMOTO-PINTRO, P.T. *et al.* Effects of storage time and temperature on lipid oxidation of egg powders enriched with natural antioxidants. *Food Chemistry*, 228, 2017, p. 463-468.
- [37] FRIAS, J., PEÑAS, E. and VIDAL-VALVERDE, C. Changes in vitamin content of powder enteral formulas as a consequence of storage. *Food Chemistry*, 115, 2009, p. 1411-1416.
- [38] ROMERO-BRAQUEHAIS, F. Estabilidad de vitaminas, vida comercial y bioaccesibilidad de folatos - hierro en fórmulas infantiles de continuación y crecimiento [Ph.D Tesis]. Murcia (España): Universidad de Murcia, Facultad de Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los alimentos, 2008, 320 p.
- [39] ROCHA-PARRA, D.F. *et al.* Influence of storage conditions on phenolic compounds stability, antioxidant capacity and colour of freeze-dried encapsulated red wine. *LWT - Food Science and Technology*, 70, 2016, p. 162-170.
- [40] DAZA, L.D. *et al.* Effect of spray drying conditions on the physical properties of Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extracts. *Food and bioproducts processing*, 97, 2016, p. 20-29.
- [41] FOERSTER, M. *et al.* Reduction of surface fat formation on spray-dried milk powders through emulsion stabilization with λ-carrageenan. *Food Hydrocolloids*, 70, 2017, p. 163-180.
- [42] DI GIORGIO, L., SALGADO, P.R. and MAURI, A.N. Encapsulation of fish oil in soybean protein particles by emulsification and spray drying. *Food Hydrocolloids*, 87, 2019, p. 891-901.
- [43] ENCINA, C. *et al.* Effect of spray-drying with organic solvents on the encapsulation, release and stability of fish oil. *Food Chemistry*, 263, 2018, p. 283-291.

- [44] SHAMAEI, S. *et al.* Microencapsulation of walnut oil by spray drying: Effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 39, 2017, p. 101–112.
- [45] PETIT, J. *et al.* Storage-induced caking of cocoa powder. *Journal of Food Engineering*, 199, 2017, p. 42-53.



## ÍNDICE TEMÁTICO

Volumen 17, No 1 (Enero – junio de 2019)  
Volumen 17, No 2 (Julio – Diciembre de 2019)

### AGRÍCOLA

- EFECTO ENTRE MICROORGANISMOS EFICIENTES Y FITOMAS-E EN EL INCREMENTO AGROPRODUCTIVO DEL FRIJOL/ Alexander Calero-Hurtado, Elieni Quintero-Rodríguez, Yanery Pérez-Díaz, Dilier Olivera-Viciedo, Koli-ma Peña-Calzada, Janet Jiménez-Hernández // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 17 No 1, p.25-33.
- FRECUENCIA DE CORTE DE PASTO ELEFANTE MORADO PENNISETUM PURPUREUM SCHUMACH. / Nelson José Vivas Quila, Milvia Zuleida Criollo Dorado, María Camila Cedeño Gómez // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 17 No 1, p.45-55.
- PHENOTYPIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF FUSARIUM SPP. COMING FROM SESAME PRODUCTION ZONE IN VENEZUELA / Gilberto Alvarado, Hernán Laurentin, Pastora Querales, Dilcia Ulacio, Ana Gómez, Nailleth Méndez // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p.74-81.
- DETECCIÓN MOLECULAR DE DEPREDACIÓN DE HYPOTHENEMUS HAMPEI (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) POR WASMANNIA AUROPUNCTATA (HYMENOPTERA: FORMICIDAE) / Elizabeth Jiménez Carmona, Inge Armbrrecht, Rodrigo Quintero, James Montoya Lerma, Luis Miguel Constantino // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p.82-88.
- CARACTERIZACIÓN Y DIAGNÓSTICO DE LOS SISTEMAS PRODUCTIVOS EN LA VEREDA SAN ROQUE, MORALES- CAUCA./ Zully Solar-te , Consuelo Montes y Juan Pablo, Paz // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p.24-35.

### AGROINDUSTRIA

- EFECTO DE LA TEMPERATURA Y VELOCIDAD DEL AIRE SOBRE LA HUMEDAD FINAL DE TOMILLO (*THYMUS VULGARIS*) / Carlos Osvaldo Velásquez Santos, Julián Alberto Uribe Gómez// En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 19 No 1, p.34-44.
- HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA EN HARINA DE QUINUA Y TARWI POR EFECTO DE A-AMILASA/ Nancy Alejandra Navia Coarite, Gaston Luis Nina Mollisaca, Evelin Paty Mena Gallardo, Lily Salcedo Ortiz // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p.64-73.
- EFECTO DEL BAÑO QUÍMICO SOBRE LA CONSERVACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS Y SENSORIALES DE FRESA (*Fragaria x ananass*) // Erica Julieth Gil-Giraldo, Alba Lucia Duque-Cifuentes, Víctor Dumar Quintero-Castaño // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No2, p.36-45.



- STABILITY DURING STORAGE OF COCONUT POWDER FORTIFIED WITH ACTIVE COMPONENTS. // Juan Carlos Lucas-Aguirre, German Antonio Giraldo-Giraldo, Misael Cortés-Rodríguez // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No2, p.66-76.

## BIOTECNOLOGÍA

- GENOTOXICITY ANALYSIS BY PRESENCE OF ARSENIC IN SOIL: TEST TRADESCANTIA MICRONUCLEUS EXTRACTS BY CLONE 4430 (TRADMCN) // Miguel Ángel Rico Rodríguez, Francisco Prieto García, Elena María Otazo Sánchez, Judith Prieto Méndez, Otilio Arturo Acevedo Sandoval // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p.56-63.
- AUMENTO DE TOLERANCIA DE *Casuarina equisetifolia* A CLORURO DE SODIO MEDIANTE POR *Pseudomonas fluorescens*. // Ma. del Carmen Rocha-Granados, Mario Alberto Cubillo-Constantino, Patricia delgado-Valerio, Jesús García-Magaña, Gustavo Santoyo // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p.46-52
- EVALUACIÓN DE CARTUCHOS DE FILTRACIÓN SARTOBRAN® P EN LA PRODUCCIÓN DE LA VACUNA GAVAC®. // Arlenis Alfaro-Martínez, Ruthdali María Segura-Silva, Diasmarys Salinas-Rodríguez, Niuvis Montoya-Echavarría, Amaury Pérez-Sánchez // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p.456-52

## PISCÍCOLA

- ANÁLISIS MULTIMODELO DEL CRECIMIENTO DE PSEUDOPLATYSTOMA ORINOCOENSE EN LA CUENCA MEDIA DEL ORINOCO, VENEZUELA // Ángel González, Jeremy Mendoza, Freddy Arocha, Aristide Marquez. // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p.19-24.

## PECUARIO

- EFECTO DEL USO DE SEMILLAS ARBÓREAS FORRAJERAS SOBRE LA ACTIVIDAD FERMENTATIVA DE LOS MICROORGANISMOS RUMINALES. // Luis René Pinto-Trinidad, Roselía Ramírez-Díaz, Laura Maricruz Sandoval-González. // En Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p.46-52.

## ÍNDICE DE AUTORES

Vol 17 No. 1 Enero - Junio 2019  
Vol 17 No. 2 Julio - Diciembre de 2019

### A

**Acevedo Sandoval Otilio Arturo**

Análisis de genotoxicidad por presencia de arsénico en el suelo: prueba de micronucleos en extractos de tradescantia clone 4430 (trad-mcn) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 56 - 63.

**Alvarado Gilberto**

Phenotypic and molecular characterization of fusarium spp. coming from sesame production zone in Venezuela// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 74 - 81.

**Arocha Freddy**

Phenotypic and molecular characterization of fusarium spp. coming from sesame production zone in Venezuela// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 74 - 81.

**Alfaro-Martínez, Arlenis**

Evaluación de cartuchos de filtración Sartobran® p en la producción de la vacuna Gavac®// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 53 - 65.

### B

**Barbosa J. Jhon Erickson**

Stability during storage of coconut powder fortified with active components// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 66 - 76.

### C

**Calero Hurtado Alexander**

Análisis multimodelo del crecimiento de pseudoplatystoma orinocoense en la cuenca media del Orinoco, Venezuela// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 16 - 24.

**Criollo Dorado Milvia Zuleida**

Frecuencia de corte de pasto elefante morado pennisetum purpureum schumach// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 45 - 55.

**Cedeño Gómez María Camila**

Frecuencia de corte de pasto elefante morado pennisetum purpureum schumach// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 45 - 55.

**Constantino Luis Miguel**

Detección molecular de depredación de hypothemus hampei (coleoptera: curculionidae) por wasmannia auropunctata (hymenoptera: formicidae)// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 82 - 88.

**Cubillo-Constantino, Mario Alberto**

Detección molecular de depredación de hypothemus hampei (coleoptera: curculionidae) por wasmannia auropunctata (hymenoptera: formicidae)// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 74 - 81.

**Cortés-Rodríguez, Misael**

Detección molecular de depredación de *hypotheneus hampei* (coleoptera: curculionidae) por *wasmannia auropunctata* (hymenoptera: formicidae) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 74 - 81.

**D**

**Delgado-Valerio, Patricia**

Aumento de tolerancia de casuarina equisetifolia a cloruro de sodio mediado por *pseudomonas fluorescens* // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 15 - 23.

**Duque-Cifuentes, Alba Lucia**

Efecto del baño químico sobre la conservación de propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de fresa (*fragaria x ananassa*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 36 - 45.

**G**

**González Angel**

Análisis multimodelo del crecimiento de *pseudoplatystoma orinocoense* en la cuenca media del Orinoco, Venezuela // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 16 - 24.

**Gómez Ana**

Phenotypic and molecular characterization of *fusarium* spp. coming from sesame production zone in Venezuela // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 74 - 81.

**García-Magaña, Jesús**

Aumento de tolerancia de casuarina equisetifolia a cloruro de sodio mediado por *pseudomonas fluorescens* // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 15 - 23.

**Gil-Giraldo, Erica Julieth**

Efecto del baño químico sobre la conservación de propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de fresa (*fragaria x ananassa*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 36 - 45.

**Gil-Giraldo, Erica Julieth**

Stability during storage of coconut powder fortified with active components // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 66 - 76.

**J**

**Jiménez Hernández Janet**

Efecto entre microorganismos eficientes y fitomasas en el incremento agroproductivo del frijol // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 25 - 33.

**Jiménez Carmona Elizabeth**

Detección molecular de depredación de *hypotheneus hampei* (coleoptera: curculionidae) por *wasmannia auropunctata* (hymenoptera: formicidae) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 82 - 88.

**L**

**Salcedo Ortiz Lily**

Hidrólisis enzimática en harina de quinua y tarwi por efecto de  $\alpha$ -amilasa // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 64 - 73.

**Laurentín Hernán**

Phenotypic and molecular characterization of *fusarium* spp. coming from sesame production zone in Venezuela // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 74 - 81.

**Lucas-Aguirre, Juan Carlos**

Stability during storage of coconut powder fortified with active components // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 66 - 76.

**M**

**Mendoza Jeremy**

Análisis multimodelo del crecimiento de *pseudoplatystoma orinocoense* en la cuenca media del Orinoco, Venezuela // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 16 - 24.

**Marquez Arístide**

Análisis multimodelo del crecimiento de pseudoplasmotoma orinocoense en la cuenca media del Orinoco, Venezuela// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 16 – 24.

**Méndez Nailleth**

Phenotypic and molecular characterization of fusarium spp. coming from sesame production zone in Venezuela // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 16 – 24.

**Montoya Lerma James**

Detección molecular de depredación de hypothenus hampei (coleoptera: curculionidae) por wasmannia auropunctata (hymenoptera: formicidae) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 82 – 88.

**Montes Consuelo**

Caracterización y diagnóstico de los sistemas productivos en la Vereda San Roque, Morales- Cauca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 24 – 35.

**Montoya-Echavarria, Niuvis**

Evaluación de cartuchos de filtración Sartobran® p en la producción de la vacuna Gavac®// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 53 – 65.

**P**

**Pérez Díaz Yanery**

Efecto entre microorganismos eficientes y fitomas-e en el incremento agroproductivo del frijol// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 25 – 33.

**Peña Calzada Kolima**

Efecto entre microorganismos eficientes y fitomas-e en el incremento agroproductivo del frijol// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 25 – 33.

**Prieto García Francisco**

Análisis de genotoxicidad por presencia de arsénico en el suelo: prueba de micronucleos en extractos de tradescantia clone 4430 (trad-mcn)// En: Biotecno-

logía en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 56 –63.

**Prieto Méndez Judith**

Análisis de genotoxicidad por presencia de arsénico en el suelo: prueba de micronucleos en extractos de tradescantia clone 4430 (trad-mcn)// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 56 –63.

**Paz Juan Pablo**

Caracterización y diagnóstico de los sistemas productivos en la Vereda San Roque, Morales- Cauca// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 24 – 35

**Pinto-Trinidad, Luis René**

Efecto del uso de semillas arbóreas forrajeras sobre la actividad fermentativa de los microorganismos ruminales// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 46 –52

**Pérez-Sánchez, Amaury**

Evaluación de cartuchos de filtración Sartobran® p en la producción de la vacuna Gavac®// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 53 – 65

**N**

**Navia Coarite Nancy Alejandra**

Hidrólisis enzimática en harina de quinua y tarwi por efecto de &-amilasa// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 64 – 73.

**Nina Mollisaca Gaston Luis**

Hidrólisis enzimática en harina de quinua y tarwi por efecto de &-amilasa// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 64 – 73.

**O**

**Olivera Vicedo Dilier**

Efecto entre microorganismos eficientes y fitomas-e en el incremento agroproductivo del frijol // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 25 – 33.

### Otazo Sánchez Elena María

Análisis de genotoxicidad por presencia de arsénico en el suelo: prueba de micronucleos en extractos de tradescantia clone 4430 (trad-mcn)// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 56 – 63.

## Q

### Quintero Rodríguez Elieni

Efecto entre microorganismos eficientes y fitomas-e en el incremento agroproductivo del frijol // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 25– 33.

### Querales Pastora

Phenotypic and molecular characterization of fusarium spp. coming from sesame production zone in Venezuela// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 74– 81.

### Quintero Rodrigo

Detección molecular de depredación de *hypothenus hampei* (coleoptera: curculionidae) por *wasmania auropunctata* (hymenoptera: formicidae)// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 82– 88.

### Quintero-Castaño, Víctor Dumar

Efecto del baño químico sobre la conservación de propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de fresa (*fragaria x ananassa*)// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 36 – 45.

## R

### Rico Rodríguez Miguel Ángel

Análisis de genotoxicidad por presencia de arsénico en el suelo: prueba de micronucleos en extractos de tradescantia clone 4430 (trad-mcn)// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 56 – 63.

### Rocha-Granados, Ma. Del Carmen

Aumento de tolerancia de *casuarina equisetifolia* a cloruro de sodio mediado por *pseudomonas fluorescens*, // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 15 – 23.

### Ramírez-Díaz, Roselia

Efecto del uso de semillas arbóreas forrajeras sobre la actividad fermentativa de los microorganismos ruminales // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 46 – 52.

## S

### Segura-Silva, Ruthdali María

Evaluación de cartuchos de filtración Sartobran® p en la producción de la vacuna Gavac®// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 53 – 65.

### Solarte Zully

Caracterización y diagnóstico de los sistemas productivos en la Vereda San Roque, Morales- Cauca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 53 – 65.

### Santoyo Gustavo

Aumento de tolerancia de casuarina equisetifolia a cloruro de sodio mediado por *pseudomonas fluorescens*// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 15 – 23.

### Salinas-Rodríguez, Diasmarys

Evaluación de cartuchos de filtración Sartobran® p en la producción de la vacuna Gavac®// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. 53 – 65.

### Sandoval-González, Laura Maricruz

Efecto del uso de semillas arbóreas forrajeras sobre la actividad fermentativa de los microorganismos ruminales// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 2, p. XX – XX.

## U

### Uribe Gómez Julián Alberto

Efecto de la temperatura y velocidad del aire sobre la humedad final de tomillo (*thymus vulgaris*)// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 34 – 44.

**Uribe Gómez Julián Alberto**

Phenotypic and molecular characterization of fusarium spp. coming from sesame production zone in Venezuela// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 74 - 81.

**V**

**Velásquez Santos Carlos Osvaldo**

Efecto de la temperatura y velocidad del aire sobre la humedad final de tomillo (*thymus vulgaris*)// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 34 - 44.

**Vivas Quila Nelson José**

Frecuencia de corte de pasto elefante morado *pennisetum purpureum schumach*// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 17 No 1, p. 45 - 55.