Dirección Revista
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad del Cauca
Calle 5 No.4-70 Popayán, Colombia
Teléfono (928) 245976
e_mail: biotecnofaca@unicauca.edu.co
pagina web:
http://revistabiotecnologia.unicauca.edu.co/

Revista Biotecnología

Revista Biotecnología

Revista Bsaa

Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial publica un volumen cada año con dos ediciones:
Primera: Enero - Junio
Segunda: Julio - Diciembre

Suscripción a la revista e intercambio de revista comunicarse
e_mail: biotecnologia@unicauca.edu.co
biotecnofaca2009@gmail.com
Inscribir a la pagina
http://revistabiotecnologia.unicauca.edu.co/

- 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 - 1909-9959
Versión Electrónica

Universidad del Cauca

Edición especial No.1
Enero - Junio 2017

Héctor Samuel Villada - PhD.
Editor de la Revista

COMITÉ EDITORIAL

Héctor Samuel Villada - Ph. D.
Universidad del Cauca
Departamento de Agroindustria

Silvio Andres Mosquera M. Sc.
Universidad del Cauca
Departamento de Agroindustria

Sandra Morales Velasco M.Sc.
Universidad del Cauca
Departamento de Ciencias Agropecuarias

Consuelo Montes M. Sc.
Universidad del Cauca
Departamento de Ciencias Agropecuarias

Diana Paola Navia, M. Sc.
Universidad San Buenaventura
Cali, Colombia

Jhon Wilder Zartha S. - M. Sc.
Univerisdad pontificia bolivariana (UPB)

Michael Peters – Ph.D.
Universidad de Giessen – CIAT

Ángel Pérez – Ph. D.
Universidad de Holguín de Cuba

José Ángel Gómez Ruiz – Ph.D
Universidad Autónoma de Madrid,España

Diofanor Acevedo Correa. Ph. D.
Universidad de Cartagena
Departamento de Química

Jaime Ricardo Rosero Noguera - Ph.D.
Universidad Nacional – Sede Medellín

Henry Armando Jurado Gámez-Ph.D.
Universidad de Nariño

COMITÉ CIENTÍFICO

Nelson Vivas Quila – Ph. D.
Universidad del Cauca
Departamento de Ciencias Agropecuarias

Misael Cortés Rodríguez - Ph. D.
Universidad Nacional de Colombia - Sede Medellín

Alfredo Ayala Aponte Ph. D.
Universidad del Valle
Escuela de Ingeniería de Alimentos

Xuebing Xu - Ph. D. Biocentrum.
Instituto de Biotecnología de Dinamarca

Vijaya Raghavan - Ph. D.
Universidad de Mcgill de Canadá

Byong Lee - Ph. D.
Universidad de Mcgill de Canadá

Francisco J. Moreno Andújar - Ph.D.
Instituto de fermentaciones industriales Madrid, España

Maria del Mar Villamiel G. Ph.D.
Universidad Complutense de Madrid

Asistente Editorial
Willian Enrique Sotelo O.

Diseño y Diagramación
Santiago Burbano M.

IMPRESO
SAMAVA EDICIONES
Calle 1 No.2-99 - Popayán - Colombia

UNIVERSIDAD DEL CAUCA

Rector
JUAN DIEGO CASTRILLON ORREGO

Vicerrector Académico
EDGAR VELASQUEZ RIVERA

Vicerrector Administrativo
YANETH NOGUERA RAMOS

Vicerrector de Investigaciones
ALFONSO RAFAEL BUELVAS GARAY

Vicerrector de Cultura y Bienestar
MILTON ARANG

Secretaria General
LAURA ISMENIA CASTELLANOS VIVAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Decano
LUIS ALFREDO LONDOÑO VELEZ

Secretaria General
TANIA MARITZA PABÓN RUÍZ

Jefe Departamento Agroindustria
CARLOS ALBERTO GONZÁLES

Jefe Departamento Ciencias Agropecuarias
ROMAN ROHRINGER

Coordinador Programa Ingeniería Forestal
JOSÉ FRANCO ALVIS GORDO

Coordinador Programa de Ingeniería Agroindustrial
DEAYANIRA MUÑOZ MUÑOZ

Coordinador Programa de Ingeniería Agropecuaria
HUGO HERNAN ERAZO

Coordinador Programa de Tecnología Agroindustrial
RAQUEL EUGENIA DE LA CRUZ NOGUERA

MÓNICA RISUEÑO SOLARTE- *Coordinadora en Ciclos Basicos en Ciencias Agrarias Sede el Bordo Cauca Santader de Quilichao- Cauca*

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
REVISTA DE BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL
NORMAS DE PUBLICACIÓN

La Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial es una publicación arbitrada perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca, acepta trabajos originales 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. La revista acepta trabajos en: 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, inglés, y portugués.

Políticas editoriales

Compromiso de tipo formal. Con el envío del trabajo a ser considerado para publicación, los autores aceptan la totalidad de las condiciones estipuladas en las normas.

Compromiso de tipo ético. Con el envío del trabajo, los autores deben establecer un compromiso de tipo ético en cuanto a la originalidad del trabajo sometido a evaluación. En la carta de presentación se debe aceptar este compromiso: *''El autor(es) firmante(s) declara que el artículo 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, 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 del artículo. La concesión de Derechos de Autor significa la autorización para que la revista pueda hacer uso del artículo, o parte de él, con fines de divulgación y difusión de la actividad científica- tecnológica. En ningún caso, dichos derechos afectan la propiedad intelectual que es propia de los(as) autores(as).

Tipos de artículos

Artículos de investigación científica. Documento que presenta, de manera detallada, los resultados originales de proyectos terminados de investigación. La estructura generalmente utilizada contiene cuatro apartes importantes: introducción, metodología, resultados y 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.

Artículos de reflexión. Documento que presenta resultados de investigación terminada desde una perspectiva analítica, interpretativa o crítica del autor, sobre un tema específico, recurriendo a fuentes originales. Debe presentar una revisión bibliográfica de por lo menos 30 referencias.

Artículo de revisión (Review). Documento resultado de una investigación terminada donde se analizan, sistematizan e integran los resultados de investigaciones publicadas o no publicadas, sobre un campo en ciencia o tecnología, con el fin de dar cuenta de los avances y las tendencias de desarrollo. Se caracteriza por presentar una cuidadosa revisión bibliográfica de por lo menos 50 referencias.

Artículo corto. Documento breve que presenta resultados originales preliminares o parciales de una investigación científica o tecnológica, que por lo general requieren de una pronta difusión. La extensión máxima es de 5 páginas.

Cartas al editor. Posiciones críticas, analíticas o interpretativas sobre los documentos publicados en la revista, 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, sobre 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 ninguna otra publicación, excepto casos justificados.

Consistencia metodológica: en donde se haga evidente el uso de métodos y técnicas de investigación válidos.

Significación del asunto tal que informe o ilustre situaciones relevantes 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.

La estructura de los artículos debe ser:

Los **artículos de investigación científica**, de **reporte de caso** y **cortos**, deben cumplir con la siguiente estructura: 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 los antecedentes de otros investigadores. Las **CONCLUSIONES** deben redactarse de acuerdo con los objetivos de la investigación explicando claramente los principales resultados de la investigación. Las **REFERENCIAS** deben contener todos los documentos consultados.

Los **artículos de reflexión** deben mostrar: a)intención analítica; b) propósito interpretativo; c)posición crítica. La estructura: **RESUMEN, INTRODUCCIÓN, DESARROLLO DEL TEMA, CONCLUSIONES y REFERENCIAS**.

Los **artículos de revisión** deben tener: **RESUMEN, INTRODUCCIÓN, DESARROLLO DEL TEMA, CONCLUSIONES y REFERENCIAS**.

Los elementos normativos a seguir en todos los artículos son:

Extensión y formato. La extensión debe ser de mínimo cinco (6) y máximo de once (11) páginas tamaño carta (21,59 cm de ancho y 27,94 cm de alto), escritas con interlineado sencillo y su contenido a doble columna (7,5 cm de ancho de columna) a partir de la introducción, escrito en Arial recta (excepto los nombres científicos) de 11 puntos, márgenes de 3 cm en el borde superior, 2 cm en el inferior y 2,5 cm en las márgenes laterales.

Título del artículo. Debe hacer referencia al contenido de una forma clara y concisa, escrito en Arial recta (excepto los nombres científicos) 11 puntos, mayúscula, negrilla y centrado; no debe exceder 15 palabras: si ello no es posible, deberá incluir un subtítulo luego de dos puntos; inmediatamente después deben ir las traducciones del idioma original.

Información del autor (es). Debajo del título a dos interlíneas, centrada, en mayúscula e incluir primer y segundo nombre si lo tiene, primer y segundo apellido separados por un guión medio. Los autores se nombran de acuerdo con la importancia de su contribución en la investigación o en la preparación del artículo, separados entre sí por comas y enumerados con superíndice. En nota de pie de página (Arial 8 puntos, justificada a ambos márgenes y en la parte inferior de la página) se indicará de cada autor: institución a la cual pertenece, dependencia, grupo de investigación, último título académico, ciudad y país, todos ellos separados por un punto. En otra línea, luego de la palabra **Correspondencia** (en negrilla) y dos puntos, debe aparecer el correo del autor elegido para el envío de correspondencia.

Resumen. Debe ser conciso, escrito en Español, Inglés (**ABSTRACT**) y Portugués (**RESUMO**), en un solo párrafo justificado sin exceder de 200 palabras. Incluirá la justificación, objetivos, metodología, resultados precisos y conclusiones de la investigación haciendo énfasis en los logros alcanzados, así como los límites de la validez y las implicaciones de los resultados. Los títulos deben justificarse al margen izquierdo, en mayúscula y negrilla, iniciando la escritura luego de dos interlíneas.

Palabras clave. Sirven para identificar el artículo en bases de datos internacionales de manera que un potencial usuario pueda llegar en forma efectiva al artículo. Van debajo del resumen, mínimo tres (3) y máximo cinco (5) palabras clave que no deben hacer parte del título del artículo, incluyendo en ellas los nombres científicos en cursiva. El título en mayúscula, negrilla, en Español (**PALABRAS CLAVE**), Inglés (**KEYWORDS**) y Portugués (**PALAVRAS-CHAVE**) seguido de dos puntos. La primera letra de cada palabra en mayúscula, separadas por coma y con punto al final.

Cuadros y figuras.Deberán aparecer dentro del texto y procesarse en el formato original con buen contraste para evitar policromías y facilitar la diagramación, en blanco y negro, escala de grises o tono maté. 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 Figuraseguido del número arábigo consecutivo (en negrilla), un punto y una breve descripción (Ej: **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.Los de segundo nivel se escriben con mayúscula inicial, Arial recta 11 puntos,negrilla y sin punto final, separados del texto por dos interlineas. Los títulos de tercer nivel se escriben con mayúscula inicial en arial recta 11 puntos y un punto, continuando el texto en el mismo renglón luego de un espacio.

Formulas, expresiones matemáticas y números. Las fórmulas y 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, citándolas en el sitio oportuno. Las ecuaciones de deben insertar en un cuadro de dos columnas (sin bordes) para ajustar su forma más fácilmente. El significado de las variables y sus respectivas unidades deben aparecer luego de que se utilicen por primera vez, para lo cual se sugiere seguir el Sistema Internacional de Unidades (SI).Las cifras decimales se separan con coma.

Conclusiones. Se describen de forma clara y precisa las principales conclusiones del estudio presentado, derivado del análisis de los resultados.

Agradecimientos. Si el autor(es) lo desea (n), se podrá incluir una sección de Agradecimientos, redactada en forma sobria, de no más de 4 líneas, justo después de las Conclusiones.

Referencias. Evitar referencias innecesarias, tesis, informes locales y de poco alcance, y trabajos de congresos (denominada literatura gris), a menos que sea necesario; se debe dar preferencia a publicaciones recientes de los últimos tres años (mínimo el 70%), en revistas científicas de corriente principal que puedan respaldar lo escrito.

Deben citarse en el documento según el orden de aparición y encerradas entre corchetes [1,2], notación que se mantendrá en la sección de referencias. Se debe citas autor y año entre paréntesis redondos, por ejemplo: Villegas (2011) si es un autor, Villegas y Troncoso (2012) sin son dos autores y Villegas *et al*., (2014) cuando existan más de dos autores. En el listado de referencias se mencionan todos los autores del documento de acuerdo con el formato indicado. Si en el texto se mencionan más de dos referencias al tiempo, se citan como (Ruano *et al*., 2012; Prado, 2013; Zapata y Torres, 2014). Si los mismos autores tienen más de una referencia en el mismo año, se citan con el nombre del o los autores y con el año seguido de letras en orden correlativo: Prado *et al*. (2004a, 2004b).

En la sección de referencias, se enumeran cronológicamente y se detalla la información de cada una de ellas en el siguiente orden:

Autor (es). Apellido en mayúscula, luego la (s) inicial (es) del nombre (s) seguida (s) de un punto. Se deben citar todos los autores de la referencia separados entre sí por coma, excepto entre los últimos que incluye la conjunción en el idioma original (y, and, e).

VIDAL-CASAS, F.A.

VIDAL, F.A. y YAYA, A.

VIDAL, F.A., YAYA, A. and SOTO, E.

Título. Luego de dos espacios, la primera letra se escribe con mayúscula, así como los nombres propios, de instituciones o en los casos que el idioma lo establezca. Los nombres científicos en cursiva.

Subtítulo. Luego de dos puntos y un espacio.

Nombre de la publicación. Luego de punto y un espacio se indica el nombre completo de la publicación, seguido de coma.

Edición. Luego de un espacio se escribe con números arábigos seguido de la abreviatura ed. para el caso de libros. En el caso de revistas se escribe el volumen seguido del número entre paréntesis, ejemplo 4(5).

Pie de imprenta. Luego de dos espacios siguen el lugar de la publicación (seguido de dos puntos): nombre del editor o de la imprenta sino existe el editor (seguido de coma), año de publicación (seguido de coma) y en números arábigos incluir el número total de páginas (89 p.) o las páginas consultadas (p. 34-35).

Serie o colección. Cuando el documento forma parte de una serie o colección la mención se coloca entre paréntesis, separada del título por un punto y dos espacios así: número del libro, folleto o informe dentro de la serie, en números arábigos precedido por la abreviatura no., escrita con minúsculas y separada del título por un espacio, punto y coma (;) y un espacio.

Artículo de revista

SMITH, J.S., SORIA, R. and WEBBER, A. Chaos in a model offorced quasi-geostrophic flow over topography: an application of Melinkov's method. Food Control, 2 (3), 1991, p. 511-547.

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 Spiines (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): 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 individuáis 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.eMATOS, T.Embalagem biodegradável de amido de inhame.US 6.444.567, Clases 343, 356. Sao Paulo (Brasil): 2001.

Artículo revista electrónica

JUAREZ, T.R.Mejoramiento de las condiciones operación en plantas industriales[online]. RevistaAgrip, ISSN: 0655-6782, 37(3), 2003. Disponible: http://www.ciencia.mx/ aceites. htm. [citado 5 de Mayo de 2004].

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 referencia 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.ilsi.org/Europe/Publications/C2002Con_Food.pdf. [citado 13 mayo de 2009].

Publicación artículos

Costo de publicación. Cada artículo publicado tiene un costo de $ 150.000: el comprobante del pago debe ser enviado por correo electrónico (biotecnofaca@unicauca.edu.co o biotecnofaca2009@gmail.com.)una vez el artículo sea aprobado para publicación, como requisito para proceder a realizar el proceso indicado. Cuenta de ahorros del Banco Popular No. 290-72027-5 o Cuenta de Ahorros del Banco de Bogotá No.520-36672-5.

Proceso de Evaluación y Edición. El proceso de aceptación y evaluación de los trabajos enviados inicia con la revisión por parte del Comité Editorial que se reserva el derecho de rechazar un artículo (que no cumpla las normas de publicación, citas y referencias adecuadas y pertinentes)o sugerir modificaciones con el objeto de lograr una mejor presentación e impacto en cuanto a título, resumen, palabras claves, figuras, cuadros y referencias. Si es aceptado el artículo, proseguirá con el proceso de asignación de árbitros quienes emitirán sus conceptos y sugerirán las correcciones al documento que nuevamente se remite con todas las consideraciones. La revista se reserva el derecho de no responder cuando no se cumplan las Normas establecidas para el envío de los trabajos.

No se permitirá la evaluación simultánea de mas de dos artículos por cada autor proponente.

Envío de manuscritos. El texto completo de los trabajos, incluyendo figuras y cuadros debe enviarse en formato Word a: Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias sede Las Guacas, Popayán, Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Ph.D. Héctor Samuel Villada Castillo, por correo electrónico. Los autores deben enviar la Carta de Presentación (ver formatos) firmada, que incluye un compromiso ético relacionado con la autoría cuando por algún motivo esto sea imposible, basta con un correo electrónico del autor, en el que confirme su participación tanto en el artículo original como en el artículo corregido según las observaciones de los pares evaluadores.

Acuso de recibo. Al recibo de los trabajos se enviará un acuso de recibo por correo electrónico. Una vez aceptado el trabajo para publicación se comunicará a los autores y una vez publicado en nuestros sitios en Internet se enviará una versión física.

Evaluación. Los trabajos que cumplan con las normas serán evaluados por árbitros especializados quienes determinarán la calidad del artículo en cuanto a su 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.

Comunicación de los autores. Se mantendrá contacto permanente con el autor indicado para envío de correspondencia para intercambio de información. Se solicita a los autores dar un tiempo prudente para realizar en buena forma el proceso de evaluación que puede tomar entre 6 y 12 meses, dependiendo del cumplimiento de las normas y la agilidad de los árbitros.

Envío de la versión corregida. Los autores cuyos trabajos hayan sido aceptados deberán hacer las correcciones solicitadas por los evaluadores y por el Editor, cuando les fue aceptado el manuscrito original: si transcurren tres meses sin respuesta de los autores, el editor a discreción tratará el manuscrito como caducado y debe ser presentado nuevamente siguiendo el proceso indicado. Junto con la versión corregida, los autores deberán enviar una carta explicando los cambios realizados con máximo detalle posible, de manera de facilitar la revisión final y no retrasar la aceptación y publicación. Si algunas de las sugerencias o cambios pedidos por los evaluadores no son atendibles se deberá explicar los motivos en forma clara y detallada.

Suscripción

Instrucciones para Suscribirse a la Revista (2 ediciones por año):

1. Con el número de cédula, solicitar a la dirección de la revista la generación del recibo según el concepto deseado. A vuelta de correo, se remitirá el formato para la cancelación respectiva y posterior devolución escaneada por vía electrónica.

2. Consignar $ 35.000 por la suscripción anual o $ 20.000 por cada edición, en efectivo en la cuenta No. 520-366725 del Banco de Bogotá a nombre de la Universidad del Cauca.

3. Descargar Cupón de Suscripción

Contenido

11 **EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE POLICAPROLACTONA EN PELÍCULAS ELABORADAS A PARTIR DE ALMIDÓN Y ÁCIDO POLILÁCTICO**
Germán Antonio Arboleda-Muñoz, Camilo Elías Montilla-Buitrago

20 **FLORA MELÍFERA Y SU OFERTA DE RECURSOS EN CINCO VEREDAS DEL MUNICIPIO DE PIENDAMÓ, CAUCA**
Bibiana Patricia Montoya-Bonilla, Aida Elena Baca-Gamboa, Blanca Lilia Bonilla

29 **TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE UNA CENTRAL DE SACRIFICIO: USO DEL POLVO DE LA SEMILLA DE LA *M. oleífera* COMO COAGULANTE NATURAL**
Arnol Arias-Hoyos, José Luis Hernández-Medina , Andrés Fernando Castro-Valencia , Nazly Efredis Sánchez-Peña

40 **ESTANDARIZACIÓN DE UN PROTOCOLO in vitro PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE *Eichhornia crassipes* CON *Neochetina* (Coleoptera: *Curculionidae*)**
Diana Milena Muñoz-Solart, Liceth Alejandra Ante

49 **EVALUACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES COMO BIOFILTROS: REMOCIÓN DE CR (VI) EN EFLUENTES DE CURTIEMBRES SINTÉTICOS**
Tatiana Andrea Dávila-Martinez , Nazly Efredis Sanchez-Peña , Darwin Andrés Ordoñez-Erazo, Jefferson Fabian Muñoz-López, Ricardo Benitez-Benitez

59 **SEGUIMIENTO DE LA MOLIENDA ABRASIVA DEL GRANO DE AMARANTO PARA LA OBTENCIÓN DE DOS FRACCIONES CON POTENCIAL INDUSTRIAL**
Diego Roa-Acosta, Carlos González-Callejas, Yimy Calderón-Yonda

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial

biotecnofaca2009@gmail.com - biotecnofaca@unicauca.edu.co •Teléfono:3117681572

Sigue a la REVISTA BSAA en:

INNOVACCIÓN Cauca

RED DE FORMACIÓN DEL TALENTO HUMANO PARA LA INNOVACIÓN SOCIAL Y PRODUCTIVA EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA

DNP SGR PROSPERIDAD PARA TODOS

Vicerrectoría de Investigaciones Universidad del Cauca
Carrera 2 No. 1A-25 Oficina 112
Tel: (+57 2) 8 20 98 00 Ext. 2648 - 2621
http://www.unicauca.edu.co/innovaccioncauca/

InnovAccionCauca RedInnovAccion

Editorial

El proyecto InnovAcción Cauca busca "conformar una alianza estratégica que integre esfuerzos entre el Estado, la Universidad y la empresa, orientada a fortalecer la formación del talento humano para impulsar la innovación social y productiva del Departamento del Cauca con base en los siguientes objetivos: 1. Implementar una red de formación para la innovación social y productiva en el Departamento del Cauca, 2. Promover acciones integradas a fin de fortalecer los grupos de investigación de la región mediante la promoción de la formación avanzada del talento humano para fomentar el desarrollo de iniciativas empresariales innovadoras, 3. Poner en marcha una estrategia para garantizar una articulación entre la Universidad y los sectores sociales y productivos mediante el desarrollo de acciones pertinentes para la construcción de región y, 4. Promover estudios orientados a la formulación y puesta en marcha de innovaciones curriculares y pedagógicas que favorezcan la innovación social y productiva en los programas de formación avanzada de talento humano en el Departamento del Cauca".

El proyecto propone convocatorias para doctorados y maestrías nacionales y en el exterior, publicación de libros resultado de investigación, publicación de artículos científicos en revistas de corriente principal, proyectos conjuntos UEES – Modalidad I+D, proyectos conjuntos UEES – Modalidad innovación, profesores visitantes, entre otras, las cuales brindan soporte al desarrollo de las instituciones y profesionales que hacen parte de la amplia red.

Dentro de estos programas, se resalta la intención de publicación de artículos científicos en la Revista Biotecnología en el Sector agropecuario y Agroindustrial, los cuales hacen parte de los resultados obtenidos en proyectos de investigación vinculados a las diversas instituciones participantes, que se ofrecen en esta edición especial. Cabe resaltar que estos manuscritos propuestos han cumplido con las exigencias normativas y de rigor científico establecidas y que han sido sometidos a evaluación por pares evaluadores de alto reconocimiento, lo que garantiza la calidad e impacto.

Las publicaciones muestran aplicaciones en industrias de la región y en pruebas realizadas con recursos que se encuentran en el Departamento del Cauca. Se tienen manuscritos del sector hídrico como por ejemplo Estandarización de un protocolo in vitro para control biológico del buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) con *Neochetina eichhorniae* y *Neochetina burchi* en condiciones de laboratorio; Estructura y composición de la comunidad de algas perifiticas en la microcuenca El Cedro: calidad de agua en el acueducto San Roque – Morales – Cauca; Tratamiento de aguas residuales de una central de sacrificio: uso del polvo de semilla de la *Moringa oleífera* como coagulante natural.

Sobre el manejo y uso de la yuca se tiene la publicación del manuscrito titulado Efecto de la inclusión de policaprolactona en películas elaboradas a partir de almidón de yuca.

El sector apícola está representado por la investigación Flora melífera y su oferta de recursos en el Municipio de Piendamó – Cauca.

En el sector de las curtiembres se evaluó la Remoción de Cromo VI presente en efluentes de curtiembres: tratamiento a partir de bio-adborbentes naturales, trabajo aplicado en la ciudad de Popayán.

Por último, se tiene una investigación sobre cereales titulada Seguimiento de molienda abrasiva del grano de amaranto para obtención de dos fracciones con potencial industrial.

Los manuscritos anteriormente citados constituyen avances importantes en investigación que permiten, por un lado, abordar de manera científica los problemas encontrados en la región y, en segunda instancia, proponer alternativas para su adecuado manejo.

Silvio Andres Mosquera M. Sc.
Universidad del Cauca
Departamento de Agroindustria

EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE POLICAPROLACTONA EN PELÍCULAS ELABORADAS A PARTIR DE ALMIDÓN Y ÁCIDO POLILÁCTICO

POLYCAROLACTONE INCLUSION EFFECT OVER FILMS MADE FROM STARCH AND POLYLACTIC ACID

EFEITO DA INCLUSO DA POLICAPROLACTONA EM FILMES FEITOS DE AMIDO É ACIDO POLILACTICO

GERMÁN ANTONIO ARBOLEDA-MUÑOZ[1], CAMILO ELÍAS MONTILLA-BUITRAGO[2]

RESUMEN

El uso de materiales amigables con el ambiente se ha convertido en un tema de gran interés científico y comercial debido al impacto negativo que ocasionan los plásticos sintéticos de origen petroquímico por su inadecuada disposición final; en ese sentido, las mezclas de almidón termoplástico (TPS, por sus siglas en inglés) y ácido poliláctico (PLA, por sus siglas en inglés) han sido estudiadas en diversas aplicaciones. En la presente investigación se obtuvo una película flexible a partir de la mezcla de estos biopolímeros empleando el proceso de extrusión soplado donde fueron estudiadas sus propiedades mecánicas, de barrera al oxígeno y vapor de agua con el fin de compararlas frente a una película patrón que contuviera policaprolactona (PCL), buscando disminuir los costos del producto final manteniendo sus propiedades mecánicas y de barrera. Se pudo evidenciar

Recibido para evaluación: 30 de Noviembre de 2016. **Aprobado para publicación:** 2 de Febrero de 2017.

1 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Ciencia y Tecnología de Biomoléculas de Interés Agroindustrial (CYTBIA), Ingeniero Agroindustrial, Popayán, Colombia.

2 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Ciencia y Tecnología de Biomoléculas de Interés Agroindustrial (CYTBIA), Ingeniero Agroindustrial, Programa Doctorado en Ciencias Agrarias y Agroindustriales, Popayán, Colombia.

Correspondencia: garboleda@unicauca.edu.co

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Edición Especial No. 1 (11-19) Enero _ Junio 2017

que no existieron diferencias significativas entre mezclas de TPS/PLA con la mezcla de TPS/PLA/PCL obteniendo un material de alta barrera al oxígeno, con destacadas propiedades mecánicas frente a otros estudios pero con deficiente permeabilidad al vapor de agua frente a plásticos de origen sintético.

ABSTRACT

Use of environmental friendly materials has become subject of great scientific and commercial interest due to negative impact of synthetic plastics from petrochemical origin due to their inadequate final disposal, in that sense, blends of thermoplastic starch (TPS) and polylactic acid (PLA) have been studied in various applications. In this research flexible film was obtained from these polymers mixture, using blown extrusion process, where mechanical properties, oxygen barrier and water vapor were studied, in order to compare them with film containing polycaprolactone (PCL) in its formulation, trying to reduce costs of final product maintaining its mechanical and barrier properties. It was evidenced no significant differences among TPS/PLA blend with TPS/PLA/PCL blend, obtaining a high oxygen barrier material, with outstanding mechanical properties compared to other studies but poor water vapor permeability to plastics of synthetic origin.

PALABRAS CLAVE:
Biopolímeros, Injerto, Extrusión, Permeabilidad.

KEYWORDS:
Biopolymers, Grafting, Extrusion, Permeability.

PALAVRAS-CHAVE:
Biopolímeros, Concussão, Extrusão, Permeabilidade.

RESUMO

O uso de materiais amigáveis com o ambiente tem sido convertido em um tema de grande interesse científico e comercial devido ao impacto negativo que ocasionan os plásticos sintéticos de origem petroquímico por sua disposição final, nesse sentido, misturas de amido termoplástico (TPS) e ácido poliláctico (PLA) têm sido estudadas em diversas aplicações. Na presente pesquisa, obteve-se uma película flexível a partir da mistura desses biopolímeros, empregando o processo de extrusão soplado, onde, foram estudadas suas propriedades mecânicas, de barreira com vapor e água, com o vidro de película patrón que contuviera policaprolactona (PCL), buscando diminuir os custos do produto final mantendo suas propriedades mecânicas e de barrera. Se evidenciou que não existieron diferenças significativas entre misturas de TPS/PLA com a mistura de TPS/PLA/PCL, obtendo um material de alta barragem ao oxigênio, com destacadas propriedades mecânicas frente a outros estudos mas com deficiente permeabilidade ao vapor de água frente A plásticos de origen sintético.

INTRODUCCIÓN

La cantidad de bioplásticos en el mercado aún es reducida en comparación con la producción mundial de plásticos derivados del petróleo, sin embargo parece existir un cambio significativo en el enfoque de la industria para experimentar con estos nuevos materiales. Los consumidores suelen considerar como favorable el uso de bioplásticos a pesar de un conocimiento limitado sobre sus orígenes, la facilidad de uso de los productos y el rendimiento ecológico global. Además, para las empresas, los bioplásticos pue-

den representar una gran oportunidad para aumentar la sostenibilidad ambiental de sus productos [1].

A la luz de la preocupación mundial por la acumulación de residuos, se han investigado ampliamente materiales biodegradables y compostables para reemplazar parcialmente los plásticos a base de petróleo [2]. Debido a esto, se ha incrementado la investigación de polímeros como materias primas para obtener empaques y materiales amigables con el medio ambiente. Debido a esto el almidón ha despertado el interés para tal fin, porque ofrece ventajas como su bajo costo, no toxicidad, biodegradabilidad, compostabilidad y disponibilidad mundial [3], siendo susceptible de ser transformado en un empaque.

El almidón en su estructura granular, puede transformarse mediante un proceso de gelatinización/fusión para convertirse en un estado fundido conocido como "almidón termoplástico" (TPS, por sus siglas en inglés) y utilizado en sistemas multifásicos (mezclas y compuestos) [4]. Sin embargo, los materiales a base de almidón plastificado enfrentan problemas relacionados con la humedad, lo que significa que propiedades fundamentales como el rendimiento mecánico y térmico se ven afectadas [5]. Para superar estas deficiencias el TPS puede ser mezclado con otros polímeros para producir materiales para envasado [6], tales como el ácido poliláctico (PLA), que se encuentra entre los polímeros biodegradables más prometedores dado su compatibilidad, buenas propiedades físicas, mecánicas y de permeabilidad [7].

El PLA ha atraído una gran atención de muchos grupos de investigación, ya que se produce a partir de recursos renovables y es biodegradable y compostable [8]. De igual forma, la policaprolactona (PCL) también se produce por una poli reacción de apertura de anillo de un monómero (ε-caprolactona) que se origina, a diferencia del PLA, a partir de recursos petroquímicos [9]. La degradación de PCL se puede hacer por la acción de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos de varios ecosistemas, dando lugar a la formación de agua, dióxido de carbono, el metano, la biomasa y sales minerales [10].

En este estudio, almidón de yuca termoplastificado fue mezclado con ácido poliláctico, empleando anhídrido maléico como agente acoplante, con el fin de evaluar su comportamiento frente a las propiedades mecánicas de tensión, las propiedades de barrera al oxígeno y vapor de agua de una película que además de los componentes mencionados también contuviera policaprolactona (PCL) para así verificar diferencias entre ambos materiales.

MÉTODO

El desarrollo del trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Reología y Empaques de la Universidad del Cauca (Popayán, Cauca, Colombia).

Materiales empleados

Se empleó almidón de yuca variedad Veronica (Almidones de Sucre, Colombia), ácido poliláctico (PLA) referencia 4032D (Cargill Dow Polymers LLC), policaprolactona (PCL) CAPA 6800 (Perstorp). Como aditivos se utilizaron glicerina (99,5 % de pureza, Disan S.A), anhídrido maléico (99 % de pureza, Merck), peróxido de benzoílo (grado reactivo, Merck) y ácido estéarico (99,3 % de pureza, Merck).

Obtención de películas flexibles

La preparación de los materiales evaluados consistió en el desarrollo de varias fases; incluyendo la obtención de pellets de almidón termoplástico (TPS), ácido poliláctico injertado, policaprolactona (PCL) y sus respectivas mezclas que fueron llevadas al proceso de extrusión soplado.

Producción de almidón termoplástico (TPS)

Para la obtención del TPS, el almidón de yuca fue secado a 60 °C durante 16 horas, luego el almidón se mezcló con glicerol a una relación almidón/glicerol 70:30 y 0,5 % de ácido esteárico empleando un mezclador de alta velocidad Kitchen Aid, modelo K45SS, USA. Posteriormente, el almidón se termoplastificó en un extrusor de tornillo simple marca ThermoScientific, modelo HaakePolylab OS (Alemania) provisto con un barril de diámetro de 19 mm, tornillo con una relación de compresión 5:1 y relación L/D de 25, velocidad de 50 rpm, temperatura promedio de 112,25 °C empleando un dado de cordón y boquilla con 1 mm de diámetro en su abertura [12].

Producción de ácido poliláctico injertado

Posteriormente se procesó el PLA previamente secado durante 4 horas a 80 °C, siguiendo las especificaciones del fabricante. Se empleó una concentración de 0,87 % de anhídrido maléico con base al peso del PLA. Las condiciones de extrusión para el PLA injertado fueron: temperatura promedio de 177,5 °C y velocidad de tornillo de 30 rpm obtenidas a partir de ensayos preliminares, con boquilla de cordón de 1 mm de abertura en donde se obtuvo cordón de PLA injertado que fue peletizado [11].

Proceso de extrusión soplado

Por último se realizó la mezcla de los pellets de almidón termoplástico (TPS) y ácido poliláctico injertado, utilizando una relación 72/28 respectivamente. Esta mezcla se procesó bajo temperatura promedio de 155,75 °C, en un extrusor de tornillo simple a una velocidad de 35 rpm, empleando un dado de soplado con una abertura de 70 μm y un conjunto de rodillos para estandarizar el espesor de la película flexible [11].

De otro lado, la película de mezcla TPS/PLA/PCL se obtuvo tomando idénticas condiciones de procesamiento para el almidón termoplástico (TPS), para la mezcla binaria ácido poliláctico y policaprolactona (PLA/PCL) se empleó un contenido de agente acoplante de 0,87 %, velocidad de 30 rpm y perfil de temperatura de 152,5 °C. Finalmente la mezcla ternaria con 28 % de mezcla PLA/PCL fue extruida bajo condiciones de temperatura de 151,25 °C y velocidad de tornillo de 35 rpm [12].

Evaluación de propiedades mecánicas de tensión

A las películas flexibles obtenidas se les realizó medición de sus propiedades mecánicas de tensión: módulo de elasticidad (MPa), resistencia máxima a la tensión (MPa) y elongación máxima (%). Estas fueron llevadas a una cámara climática, donde fueron almacenadas bajo condiciones de humedad relativa (50±10 %) y temperatura (23±2 °C) constantes por un período de 8 días. Para estas mediciones se empleó una máquina universal de ensayos marca Shimadzu modelo EZ-L siguiendo la norma ASTM D882-10 [13], que establece el procedimiento para ejecutar la prueba de tensión en películas. Las condiciones de operación fueron: celda de 500 N, velocidad de cabezal 25 mm/min, velocidad de recolección de datos de 500 puntos/s y distancia entre las mordazas de 50 mm.

Evaluación de permeabilidad al vapor de agua

Se siguió el procedimiento establecido por la norma ASTM E96 – 10 [14], donde describe la técnica gravimétrica empleando desecante. Previo a la prueba, las muestras se acondicionaron a una temperatura constante de 23±2 °C y 50±10 % de humedad relativa por un período de 8 días en una cámara climática. Se agregó sílica gel (0 %HR) a una celda de permeación (abertura circular de 0,00181 m^2) y se cubrió con la película, este montaje se dispuso en un recipiente hermético con una solución de cloruro de sodio saturada (68 %HR). Los montajes fueron pesados con una balanza analítica Radwag XA 110/X (Polonia) cada hora hasta obtener una correlación igual o mayor a 0,95. La permeabilidad de vapor de agua (PVA) se calculó en unidades de (g/m*s*Pa).

Evaluación de permeabilidad al oxígeno

Se siguieron las especificaciones de la norma ASTM D1434-82 [15], que establece el método para determinación de propiedades de permeabilidad a los gases para plásticos en forma de película. Se cortaron 6 muestras en forma circular con un diámetro de 80 mm, estas a su vez se estabilizaron en una cámara climática a 23±2 ^{0}C y 50±10 %HR durante 8 días. Se tomaron tres porciones circulares y se situaron dentro de una celda de trasmisión de gases, formando una semibarrera entre dos cámaras, donde la inferior es llevada a una presión estable de vacío menor de 200 Pa, el gas de ensayo es alimentado a la cámara superior a una presión de 0,1 MPa, la diferencia de presión provoca que el gas permee a través de la muestra desde la cámara de mayor presión hacia la de baja presión. Para efectos de ensayo fue necesario mantener una temperatura constante a 23±2 °C y generar un vacío durante 3 horas. La prueba se llevó a cabo en un equipo de ensayo de permeabilidad a gases Permetm VAC-VBS Gas.

Análisis estadístico

Se efectuó una prueba de comparación de medias independientes para establecer las diferencias entre los dos tratamientos. Los resultados obtenidos de las propiedades mecánicas de tensión y permeabilidad a vapor de agua y oxigeno fueron analizados con el software estadístico SPSS versión 21, como primera medida se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, determinando que los resultados obedecen a una distribución normal. Para la comparación de las dos películas se empleó la prueba T de student con el fin de establecer la existencia o no de diferencias significativas entre los valores de las propiedades evaluadas

para las películas. El valor de significancia empleado fue 0,05.

RESULTADOS

Propiedades mecánicas de tensión

Según la prueba T de Student para las propiedades mecánicas, se pudo establecer que solo existieron diferencias significativas en el módulo de elasticidad en ambos sentidos ($p < 0,05$). Para la resistencia máxima a la tensión y la elongación, estas no se hicieron evidentes, tanto en sentido longitudinal como transversal ($p > 0,05$). En el Cuadro 1 se puede observar que la formulación TPS/PLA exhibió valores superiores tanto de módulo de elasticidad como de resistencia máxima a la tensión. Para la elongación, la situación cambió, en donde la película con PCL alcanzó mayores índices de esta propiedad frente a lo cual se puede decir que el PLA puro es un material altamente rígido con un módulo de elasticidad alto ofreciéndole mayor rigidez a la mezcla TPS/PLA. Las propiedades mecánicas de las películas están fuertemente asociadas con la distribución y las interacciones intra e intermoleculares, dependiendo de las disposiciones, y la orientación de las cadenas poliméricas en la red [16], dado que la mezcla con PCL modifica la estructura cristalina del almidón que puede contribuir a la fragilidad del material final [17].

Cuadro 1. Comparación propiedades mecánicas de tensión.

Propiedad mecánica de tensión		Tratamiento	
		TPS/PLA	TPS/PLA/PCL
Módulo de elasticidad (MPa)	L	$299,57^{b} \pm 1,51$	$217,01^{a} \pm 1,81$
	T	$209,07^{b} \pm 1,57$	$194,72^{a} \pm 0,98$
Resisten-cia máxima a la tensión (MPa)	L	$5,54^{a} \pm 0,13$	$5,41^{a} \pm 0,07$
	T	$4,90^{a} \pm 0,13$	$4,56^{a} \pm 0,22$
Elongación máxima (%)	L	$23,06^{a} \pm 1,56$	$25,87^{a} \pm 1,03$
	T	$24,22^{a} \pm 1,31$	$26,23^{a} \pm 0,80$
Espesor (μm)	L	$78,47^{a} \pm 4,34$	$90,43^{a} \pm 3,82$
	T	$78,67^{a} \pm 1,30$	$89,97^{a} \pm 3,74$

L= Dirección longitudinal; T=Dirección transversal

Como se mencionó anteriormente, el módulo de elasticidad y la resistencia a la tensión fueron mayores para la mezcla binaria (TPS/PLA), donde en sentido longitudinal las películas de TPS/PLA presentaron valores superiores en un 38 % para el módulo de elasticidad y 2,4 % para la resistencia a la tensión en comparación con la película obtenida a partir de la mezcla ternaria (TPS/PLA/PCL). Este comportamiento puede obedecer a una menor adhesión interfacial entre las fases de la película de TPS/PLA/PCL contrastando con la película de TPS/PLA y al efecto del PCL sobre la fase de PLA, donde posiblemente se generó una mayor compatibilización de la mezcla binaria, resultando en una estructura de fase relativamente compacta y un aumento en la resistencia a la tensión y módulo de elasticidad [18], adicionalmente, se encontró que la PCL disminuye e interfiere con el proceso de cristalización del PLA, asociado a una posible interferencia en la organización molecular, lo cual se puede traducir en menores propiedades mecánicas [19]. La relación entre las propiedades mecánicas y la interacción se ha demostrado, debido a que interacciones fuertes representan mayor resistencia a la tensión, incluso si la estructura de la mezcla es heterogénea [20]. Por lo que la adición de TPS dentro de una microestructura compuesta de una fase frágil rica en PLA en la que se dispersan microesferas finas ricas en TPS, puede dar como resultado un incremento en la tenacidad [21].

La obtención de la mayor homogeneización posible de dos componentes, es decir, una fuerte adhesión en el límite de fase, constituye una cuestión principal asociada con la producción de las mezclas de polímeros, que no es una tarea fácil debido a la inmiscibilidad termodinámica de la mayoría de los polímeros [9], hecho que pudo haber afectado las propiedades mecánicas de la mezcla ternaria. Además, el hecho de incluir dos polímeros hidrófobos como PCL y PLA, pudo haber aumentado la incompatibilidad con el almidón asociado a una pobre adhesión superficial entre las fases [17]. De otro lado, la interdependencia entre el almidón y el PLA se pudo haber aumentado con respecto a la otra película comparada posiblemente porque las partículas de almidón se pudieron haber dispersado con mayor uniformidad, ocasionando una estrecha integración con un consecuente incremento de las fuerzas de unión entre las dos fases del material [7].

Permeabilidad al oxígeno

De acuerdo con la prueba T de Student, no existieron diferencias significativas entre los valores obtenidos por la película de mezcla TPS/PLA y la película patrón. En general, las películas de biopolímeros hidrófilos han mostrado alta barrera al oxígeno, así como un aumento en el contenido de polisacáridos como almidón, teóricamente debería traducirse en una reducción de permeabilidad al

oxígeno [22]. El alto contenido de TPS en las dos películas, pudo haber reducido las diferencias entre estas, tal como lo demostraron los resultados. Sin embargo, la película con la mezcla ternaria presentó una mayor permeabilidad al oxígeno que la película TPS/PLA, como se observa en el Cuadro 2. Esto debido posiblemente al efecto que tiene la PCL sobre la cristalización del PLA [16], donde al interferir con la reorganización de las moléculas del PLA se podrían generar mayores espacios por los cuales el gas se puede difundir [23]. Además, investigadores encontraron que el TPS también interfiere en la cristalinidad del PCL pudiendo ocasionar estos resultados [24].

Frente a lo anterior, un aumento en el grado de cristalinidad aporta a la disminución de la permeabilidad al oxígeno debido a una contribución reducida de la fase amorfa permeable generando una mayor dificultad de la trayectoria de difusión [25]. Por ejemplo, la mezcla con PCL modifica la estructura cristalina del almidón, que se vuelve cercana a un almidón puro menos hidratado. Por tanto, PCL parece afectar las interacciones almidón/agua en la fase cristalina del TPS [17]. De igual forma, es bien sabido que los plastificantes, como el glicerol, pueden aumentar el volumen libre de la matriz de PLA y sus mezclas ocasionando una reducción en las propiedades de barrera de oxígeno, debido posiblemente a un aumento en la movilidad de la cadena del polímero, facilitando el proceso de transporte y creando espacios vacíos en la matriz de la película responsables del aumento en la permeabilidad al oxígeno [26]. Lo anterior basado en que el "volumen libre" es el parámetro fundamental en un sistema polimérico semicristalino en el que los dominios cristalinos se distribuyen aleatoriamente a lo largo de la red amorfa del polímero, tal como en un sistema de polímero basado en almidón, este término se refiere generalmente al volumen total desocupado, formado por varios "agujeros" de diferentes formas y tamaños, y son causados por el embalaje molecular irregular, las fluctuaciones de densidad y las restricciones topológicas [27].

Cuadro 2. Comparación propiedades de barrera.

		Tratamiento	
Permeabilidad		TPS/PLA	TPS/PLA/PCL
Oxígeno (mol/Pa*s*m)	P	3,68 E-18[a]	3,04 E-17[a]
	DS	1,81 E-18	1,74 E-17
Vapor de agua (g/Pa*s*m)	P	2,83 E-11[a]	2,51 E-11[a]
	DS	1,59 E-12	1,05 E-12

Tratamiento: 1=TPS/PLA; 2=TPS/PLA/PCL
P=Promedio; DS=Desviación estándar

Como ambas películas se procesaron con almidón termoplástico con igual contenido de glicerol, entonces estos efectos pudieron haberse generado en las dos, afectando de igual forma la permeabilidad al oxígeno. Finalmente, se reconoce que la barrera al oxígeno de películas de PLA y polímeros de almidón es similar al PET amorfo, poliestireno, alcohol polivinílico y polietileno, es decir, materiales con excelentes propiedades de barrera de gases. Sin embargo, si bien con un bajo contenido de humedad, las películas de TPS son buenas barreras al oxígeno, en elevadas tasas de humedad relativa, el agua absorbida provoca un hinchamiento del polímero y su efecto plastificante aumenta [17], provocando que la propiedad de barrera se reduzca y la permeabilidad al oxígeno aumente con el contenido de agua, dado que esta tiene un efecto plastificante sobre los polímeros de almidón, asociado a una mayor movilidad de las cadenas relacionado a un incremento del volumen libre. Este incremento de la movilidad de la cadena de polímero facilita el proceso de transporte, lo que favorece el aumento de la permeabilidad al oxígeno [22]. Una alta barrera al oxígeno puede permitir que el material sea empleado para el control de la oxidación y la respiración de sistemas alimenticios en humedades relativas secas a intermedias [28].

Permeabilidad al vapor de agua (PVA)

El almidón es un polímero natural hidrófilo con muchos grupos hidroxilo en su interior macromolecular, lo que facilita la combinación con el enlace de hidrógeno en agua [7], reflejándose en los materiales a partir de este polisacárido. Para poliésteres biodegradables, sensibles a la humedad, tal como el PLA, la determinación de la permeabilidad al vapor de agua es importante si han de ser propuestos como posibles nuevos materiales de envasado de alimentos, de hecho a diferentes temperaturas y actividades, las moléculas de agua podrían tener un gran efecto sobre el crecimiento microbiano e influir en la vida útil de los productos envasados [8].

Conforme a la prueba T de Student, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de permeabilidad al vapor de agua para películas con formulación TPS/PLA y la película TPS/PLA/PCL, aunque esta última presentó 13 % de menor permeabilidad al vapor de agua, sin embargo, mezclas de PLA/PCL pueden incrementar ligeramente la estabilidad térmica de

la película [29], con el inconveniente de disminución en las propiedades de barrera proporcionales a la cantidad de PCL añadida. La presencia de PLA pudo promover un carácter hidrófobo del material y ser responsable de la disminución de la PVA porque la permeabilidad del material está fuertemente influenciada por la naturaleza hidrofóbica o hidrófila de sus componentes [6].

En otro estudio de se obtuvieron valores de PVA para láminas de PLA/TPS entre 3,4 E-11 y 8,07 E-11 g/Pa*s*m [6], siendo estos valores superiores a los encontrados para el material obtenido. Sin embargo frente a otras investigaciones como la desarrollada por [3], con películas de almidón y quitosano se presentaron valores para PVA en un rango entre 2,8−3,5 E-12 g/Pa*s*m, presentando una mayor barrera al vapor de agua que en la película obtenida en este estudio. Lo anterior puede ser atribuido al gran contenido de almidón termoplástico de las películas, ya que este ofrece una barrera pobre contra la humedad por la alta polaridad de sus grupos hidroxilo, conduciendo a cambios en sus propiedades de desempeño. La permeabilidad al vapor de agua de los polímeros compostables y biodegradables es relativamente alta dado que son polímeros polares con valores relativamente altos de solubilidad en vapor de agua [30]. Sin embargo, para investigaciones futuras, este comportamiento puede ser modificado alterando la estructura del almidón mediante la introducción de grupos iónicos o hidrófobos, que pueden entre otras impartir hidrofobicidad al material [31].

El contenido de almidón pudo haber aumentado la movilidad de la cadena, que a su vez promovió la difusividad del vapor de agua a través de la película y por lo tanto, aceleró la transmisión de este [32]. Otra razón para esto, pudo ser el efecto del plastificante, dado que los plastificantes de poliol, como el glicerol se emplean para plastificar eficazmente porque múltiples grupos hidroxilo en las moléculas tienen la capacidad para competir por los sitios activos a lo largo de cadenas poliméricas, reduciendo por tanto el enlace de hidrógeno intermolecular entre las cadenas poliméricas vecinas, resultando en un aumento del volumen libre y la movilidad de la cadena en las matrices de película, promoviendo así el agua se difunda a través de las estructuras hinchadas con menos dificultad. En estas películas a base de almidón la permeabilidad al vapor de agua es una propiedad importante porque indica la cantidad de agua que puede pasar a través del material de relleno [28], es decir, puede determinar la velocidad a la que las moléculas de agua pueden difundirse a través del material y su solubilidad; una PVA alta puede resultar en un deterioro más rápido de los alimentos envasados y problemas mecánicos durante la manipulación o el almacenamiento. Por lo tanto, se pretende que los envases, que están en contacto directo con alimentos de alto contenido de humedad, tengan PVA bajo para asegurar su estabilidad [33], razón por la cual, a la luz de los resultados el material obtenido no sería conveniente para ser usado en contacto directo con alimentos de elevada humedad, por lo que la alta PVA podría ocasionar rápidas tasas de deterioro en el producto.

La PVA final es un equilibrio entre el carácter hidrofílico e hidrófobo de los componentes de la mezcla y las propiedades de interfaz. Cuanto mayor sea la tensión en la interfaz (mezclas menos compatibles), mayores serán los espacios entre las fases, facilitando la difusión del agua [6], indicando que las posibles diferencias encontradas, se deban a la formulación de cada una de las películas, por el contenido de TPS, de glicerol, la presencia o ausencia de PCL y la referencia de PLA.

A pesar de no existir diferencias significativas en los valores de permeabilidad al vapor de agua entre la película patrón y el tratamiento escogido, es posible que la combinación de ácido poliláctico (PLA) y policaprolactona (PCL) en la primera, haya generado una mayor barrera al vapor de agua con respecto a la ofrecida por el PLA de la mezcla TPS/PLA.

Por último, se estableció que la adición de policaprolactona no generó diferencias significativas en lo que a permeabilidad al vapor de agua se refiere. De acuerdo a estos resultados la película obtenida puede tener aplicación en bolsas plásticas de un solo uso, tales como las ofrecidas por supermercados o almacenes, las cuales son consideradas como un factor importante en generación de residuos sólidos y contaminación del entorno, así mismo dada su alta barrera al oxígeno también puede emplearse como parte de materiales multicapa donde se combinan láminas para obtener un empaque con diversas propiedades. Además, dado que el PLA ya sirve como una alternativa a ciertos plásticos basados en petróleo en aplicaciones comerciales, donde se encuentra disponible en el mercado a un precio similar al de los plásticos comunes como el polipropileno [34], abre la posibilidad para ser empleado en mezclas con almidón de manera industrial.

CONCLUSIONES

Se encontró que una mezcla de almidón termoplástico de yuca y ácido poliláctico injertado con anhídrido maléico empleando la metodología de extrusión soplado generó un material con destacadas propiedades mecánicas comparado con otro que contenía policaprolactona (PCL). En cuanto a la permeabilidad al oxígeno, el material de mezcla almidón termoplástico y ácido poliláctico (TPS/PLA) puede caracterizarse como de alta barrera al oxígeno, debido posiblemente a una mayor tasa de cristalinidad y a la poca afinidad química del almidón con este elemento.

Por lo tanto, el empleo de policaprolactona (PCL) no generó diferencias significativas en cuanto a propiedades mecánicas y de barrera, permitiendo que la obtención de películas flexibles a partir de mezclas de TPS/PLA pueda realizarse sin la inclusión de dicho polímero, lo cual puede impactar positivamente la reducción de costos de la película e incrementar su potencial aplicación en productos tales como bolsas de un solo uso o como parte de empaques multicapa.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es producto de la promoción de investigaciones en este campo dentro de la Universidad del Cauca, Colombia. Los autores resaltan el apoyo de dicha institución para el logro de estos resultados.

REFERENCIAS

[1] BROCKHAUS, S., PETERSEN, M. and KERSTEN, W. A crossroads for bioplastics: Exploring product developers' challenges to move beyond petroleum-based plastics. Journal of Cleaner Production, 127(1), 2016, p. 84-95.

[2] GONZÁLEZ, P., MEDINA, C., FAMÁ, L. and GOYANES, S. Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch–glycerol with citric acid as crosslinking agent. Carbohydrate Polymers, 138(1), 2016, p. 66-74.

[3] MINH, K. and YOKSAN, R. Development of thermoplastic starch blown film by incorporating plasticized chitosan. Carbohydrate Polymers, 115(1), 2015, p. 575-581.

[4] SALABERRIA, A., LABIDI, J. and FERNANDES, S. Chitin nanocrystals and nanofibers as nanosized fillers into thermoplastic starch-based biocomposites processed by melt-mixing. Chemical Engineering Journal, 256(1), 2014, p. 356-364.

[5] DRAKOPOULOS, S., KARGER-KOCSISB, J., KMETTYB, A., LENDVAIB, L. and PSARRASA, G. Thermoplastic starch modified with microfibrillated cellulose and natural rubber latex: A broadband dielectric spectroscopy study. Carbohydrate Polymers, 157(1), 2017, p. 711-718.

[6] SHIRAI, M., OLIVATO, J., DEMIATE, I., MÜLLER, C., GROSSMAN, M. and YAMASHITA, F. Poly (lactic acid)/thermoplastic starch sheets: effect of adipate esters on the morphological, mechanical and barrier properties. Polímeros, 26(1), 2016, p. 66-73.

[7] ZUO, Y., GU, J., YANG, L., QIAO, Z., TAN, H. and ZHANG, Y. Preparation and characterization of dry method esterified starch/polylactic acid composite materials. International Journal of Biological Macromolecules, 64(1), 2014, p. 174-180.

[8] MARRA, A., SILVESTRE, C., DURACCIO, D. and CIMMINO, S. Polylactic acid/zinc oxide biocomposite films for food packaging application. International. Journal of Biological Macromolecules, 88(1), 2016, p. 254–262.

[9] MALINOWSKI, R. Mechanical properties of PLA/PCL blends crosslinked by electron beam and TAIC additive. Chemical Physics Letters, 662(1), 2016, p. 91-96.

[10] MALLAKPOUR, S. and NOURUZI, N. Effect of modified ZnO nanoparticles with biosafe molecule on the morphology and physiochemical properties of novel polycaprolactone nanocomposites. Polymer, 89(1), 2016, p. 94-101.

[11] ARBOLEDA, G., MONTILLA, C., VILLADA, H. and VARONA, A. Obtaining a flexible film elaborated from cassava thermoplastic starch and polylactic acid. International Journal of Polymer Science, 2015(1), 2015, p. 1-9.

[12] CASTAÑEDA, J. Estudio de la retrogradación en películas flexibles obtenidas a partir de mezclas de almidón nativo de yuca, ácido poli-láctico (PLA) y policaprolactona (PCL) [Tesis de Maestría en Ingeniería Área de Énfasis en Ingeniería de Materiales]. Cali (Colombia): Universidad del Valle, Facultad de Ingeniería, 2012, 208 p.

[13] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM D882–10: Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Pennsylvania (USA): 2010, 9 p.

[14] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM E96/E96M–10: Standard test methods for water vapor transmission of materials: Pennsylvania (USA): 2010, 11 p.

[15] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. ASTM D1434-82: Standard test method

for determining gas permeability characteristics of plastic film and sheeting: Pennsylvania (USA): 2009, 13 p.

[16] WANG, K., WANG, W., YE, R., LIU, A., XIAO, J., LIU, Y. and ZHAO, Y. Mechanical properties and solubility in water of corn starch-collagen composite films: Effect of starch type and concentrations. Food Chemistry, 216(1), 2017, p. 209-216.

[17] MAHIEU, A., TERRIÉ, C., AGOULON, A., LEBLANC, N. and YOUSSEF, B. Thermoplastic starch and poly (-caprolactone) blends: morphology and mechanical properties as a function of relative humidity. Journal of Polymer Research, 20(9), 2013, p. 1–13.

[18] SHEN, L., HAUFE, J. and PATEL, M. Product overview and market projection of emerging bio-based plastics [online]. 2009. Disponible: http://www.plastice.org/fileadmin/files/PROBIP2009_Final_June_2009.pdf. [citado 15 de noviembre de 2016].

[19] MITTAL, V., AKHTAR, T., LUCKACHAN, G. and MATSKO, N. PLA, TPS and PCL binary and ternary blends: structural characterization and time-dependent morphological changes. Colloid and Polymer Science, 293(2), 2015, p. 573-585.

[20] IMRE, B. and PUKÁNSZKY, B, Compatibilization in bio-based and biodegradable polymer blends. European Polymer Journal, 49(6), 2013, p. 1215-1233.

[21] FERRI, J., GARCIA-GARCIA, D. SÁNCHEZ-NACHER, L., FENOLLAR, O. and BALART, R. The effect of maleinized linseed oil (MLO) on mechanical performance of poly(lactic acid)-thermoplastic starch (PLA-TPS) blends. Carbohydrate Polymers, 147(1), 2016, p. 60-68.

[22] MAHIEU, A., TERRIÉ, C. and YOUSSEF, B. Thermoplastic starch films and thermoplastic starch/polycaprolactone blends with oxygen scavenging properties: Influence of water content. Industrial Crops and Products, 72(1), 2015, p. 192-199.

[23] CHEVIRON, P., GOUANVÉ, F. and ESPUCHE, E. Preparation, characterization and barrier properties of silver/montmorillonite/starch nanocomposite films. Journal of Membrane Science, 497(1), 2016, p. 162-171.

[24] CARMONA, V.B, CORRÉA, A., MARCONCINI, J. and MATTOSO, L. Properties of a biodegradable ternary blend of thermoplastic starch (TPS), poly (ε-Caprolactone)(PCL) and poly (Lactic Acid) (PLA). Journal of Polymers and the Environment, 23(1), 2015, p. 83-89.

[25] REN, J., FU, H., REN, T. and YUAN, W. Preparation, characterization and properties of binary and ternary blends with thermoplastic starch, poly (lactic acid) and poly (butylene adipate-co-terephthalate). Carbohydrate Polymers, 77(3), 2009, p. 576–582.

[26] WU, C. Improving polylactide/starch biocomposites by grafting polylactide with acrylic acid–characterization and biodegradability assessment. Macromol. Bioscience, 5(1), 2005, p. 352–361.

[27] LIU, H., CHAUDHARY, D., CAMPBELL, C., ROBERTS, J., BUCKMAN, S. and SULLIVAN, J. Investigations into the free-volume changes within starch/plasticizer/nanoclay systems using Positron Annihilation Lifetime Spectroscopy. Materials Chemistry and Physics, 148(1–2), 2014, p. 349-355.

[28] ROMPOTHIA, O., PRADIPASENA, P., TANANUWONG, K., SOMWANGTHANAROJ, A. and JANJARASSKUL, T. Development of non-water soluble, ductile mung bean starch based edible film with oxygen barrier and heat sealability. Carbohydrate Polymers, 157(1), 2017, p. 748–756.

[29] PEELMAN, N., RAGAERT, P., DE MEULENAER, B. and DEVLIEGHERE, F. Application of bioplastics for food packaging. Trends in Food Science & Technology, 32(2), 2013, p. 128-141.

[30] DUAN, Z. and THOMAS, L. Water vapor permeability of poly (lactic acid): Crystallinity and the tortuous path model. Journal of Applied Physics, 115(1), 2014, p. 1-9.

[31] SHRESTHA, A. and HALLEY, P. En: Starch Polymers. Starch modification to develop novel starch-biopolymer blends: State of art and perspectives, Amsterdam (Países Bajos): Elsevier, 2014, p. 105-143.

[32] CHEN, G., LIU, B. and ZHANG, B. Characterization of composite hydrocolloid film based on sodium cellulose sulfate and cassava starch. Journal of Food Engineering, 125(1), 2014, p. 105-111.

[33] SANCHEZ, D., DUARTE, E., HERNÁNDEZ, M., GONZÁLEZ, G., CRUZ, Q., FLORES, S., PIÑON, H. and BALLINAS, L. Barrier properties of polylactic acid in cellulose based packages using montmorillonite as filler. Polymers, 6(1), 2014, p. 2386-2403.

[34] NAGARAJAN, V., MOHANTY, A. and MISRA, M. Perspective on Polylactic Acid (PLA) based sustainable materials for durable applications: focus on toughness and heat resistance. ACS Sustainable Chemistry and Engineering, 4(1), 2016, p. 2899-2916.

 doi: http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(Edición Especial)20-28 ISSN - 1692-3561 | ISSN - 1909-9959 Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial Edición Especial No. 1 (20-28) Enero _ Junio 2017

FLORA MELÍFERA Y SU OFERTA DE RECURSOS EN CINCO VEREDAS DEL MUNICIPIO DE PIENDAMÓ, CAUCA

THE HONEY PLANTS AND ITS RESOURCES OFFER IN FIVE PATHS OF THE MUNICIPALITY OF PIENDAMO, CAUCA

MELLIFERA FLORA E SUA OFERTA DE RECURSOS NO CINCO REGIÕES DE MUNICÍPIO DE PIENDAMÓ, CAUCA

BIBIANA PATRICIA MONTOYA-BONILLA[1], AIDA ELENA BACA-GAMBOA[2], BLANCA LILIA BONILLA[3]

RESUMEN

Se determinó la flora melífera presente en el municipio de Piendamó como criterio base para la planificación de la producción de miel. Se realizaron visitas mensuales a 12 apiarios durante el 2014. Las plantas se seleccionaron a partir del conocimiento de los productores, la bibliografía y la observación de pecoreo. Se trazaron parcelas de 100 metros cuadrados, según el método Gentry, en diferentes coberturas con transecto radial de 1 km entorno al apiario, se realizó la herborización de las especies melíferas y seguimiento de elementos florísticos de importancia para la colmena (cobertura, recurso ofertado, frecuencia de visitas y grados brix). Se colectaron 150 plantas pertenecientes a 30 especies, 24 géneros y 13 familias, siendo las más representativas las Asteráceas (20%) y Fabáceas (20%). Los elementos florísticos se analizaron mediante estadística descriptiva y coeficiente de Pearson, estableciendo que las especies se presentan principal-

Recibido para evaluación: 30 de Noviembre de 2016. **Aprobado para publicación:** 12 de Marzo de 2017.

1 Corporación Universitaria Comfacauca, Facultad de Ingenierías, Programa Agroambiental, Grupo de Investigación Cadenas de Valor, Ecóloga, Maestrante Desarrollo Alternativo Sostenible y Solidario. Docente Tiempo Completo Popayán Colombia.

2 Universidad de Nariño, Departamento de Biología, Grupo de Investigación en Bioprospeccion Bióloga Botánica Doctora en Ciencias Ambientales, Docente de tiempo completo. Pasto, Colombia

3 Corporación Universitaria Comfacauca, Facultad de Ingenierías, Programa Agroambiental, Grupo de Investigación Cadenas de Valor, Ecóloga, Magister en recursos hidrobiológicos continentales. Docente Tiempo Completo Popayán Colombia.

Correspondencia: bmontoya@unicomfacauca.edu.co

mente en las coberturas de Rastrojo (50%) y Bosque (26%). La oferta se considera Néctar-polinífera (70%), con rangos de dulzor medio entre los 30 y 43 grados brix (36%) y una frecuencia de visitas media (46%), evidenciando el potencial melífero de la región y la importancia de los recursos ofertados para la cosecha de miel.

SUMMARY

The honey plants present in the municipality of Piendamó was determined as the basic criterion for honey production planning. Monthly visits were made to 12 apiaries during 2014. The plants were selected based on producers' knowledge, bibliography and beeworking observation. Plots of 100 square meters were plotted, according to the Gentry method, in different coverings with radial transect of 1 km around the apiary, was carried out the herborization of the melliferous species and monitoring of floristic elements of importance for the hive (coverage, resource offered, Frequency of visits and degrees brix). A total of 150 plants belonging to 30 species, 24 genera and 13 families were collected, the most representative being Asteraceae (20%) and Fabaceae (20%). The floristic elements were analyzed by descriptive statistics and Pearson's coefficient, stating that the species are mainly present in the coverings of Rastrojo (50%) and wood (26%). The supply is considered nectar-pollinate (70%), with ranges of medium sweetness between 30 and 43 degrees brix (36%) and an average visit frequency (46%), evidencing the honey potential of the region and the importance of the resources offered for the honey harvest.

PALABRAS CLAVE:
Biodiversidad, Apicultura, Pecoreo.

KEYWORDS:
Biodiversity, Beekeeping, Beeworking

PALAVRAS-CHAVE:
Biodiversidade, Apicultura, De forrageamento

RESUMO

As plantas de mel presentes no município de Piendamó estava determinado a que o critério básico para o planejamento da produção de mel. visitas mensais a 12 apiários foram feitas durante 2014. As plantas foram selecionados com base em produtores de conhecimento, bibliografia e forrageamento observação. Lotes de 100 metros quadrados foram plotados, de acordo com o método de Gentry, em diferentes coberturas com transecto radial de 1 km em torno do apiário, foi realizada a herborização das espécies melíferas e acompanhamento de elementos florísticos de Importância para a colmeia (cobertura, recursos oferecido, a frequência de visitas e graus brix). Um total de 150 plantas pertencentes a 30 espécies, 13 famílias e 24 gera foram coletados, o mais representativo sendo Asteraceae (20%) e Fabaceae (16%). Os elementos florísticos foram analisados pela estatística descritiva e coeficiente de Pearson, afirmando que as espécies estão presentes principalmente nos revestimentos de Grade (50%) e Floresta (26%). O fornecimento é considerado o néctar-polinização (70%), com intervalos de doçura média entre 30 e 43 graus brix (36%) e uma frequência de visita da média (46%), evidenciando o potencial do mel da região ea importância dos recursos oferecido para a colheita de mel.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Edición Especial No. 1 (20-28) Enero _ Junio 2017

INTRODUCCIÓN

La flora melífera o apícola es el conjunto de especies vegetales que producen o segregan sustancias o elementos que las abejas recolectan para su alimentación (*i.e.* polen, néctar o resinas) [1]. Por ello, se puede considerar la vegetación como el insumo más importante a tener en cuenta en la planificación de la actividad apícola [2], porque es la materia prima de la cual las abejas recolectan los recursos que utilizan para la elaboración de su alimento y para la realización de las diferentes labores en la colmena [3], obteniendo de esta forma productos como el polen, la miel, el propóleo, entre otros que son aprovechados por el apicultor para beneficio propio, generando beneficios ambientales y económicos [4].

La apicultura, es una actividad pecuaria de especies menores que está adquiriendo importancia en el país y que está siendo apoyada por instituciones como el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, IICA, SENA y Universidades públicas y privadas, que han realizado investigaciones del sistema apícola, integrando conocimientos de la cadena de valor, para competir en mercados locales y externos, referenciado la importancia de la caracterización de la flora como primer eslabón de la producción en el sistema apícola [5].

En Colombia [6], la apicultura es una actividad económica en constante crecimiento que constituye un potencial de riqueza por los múltiples beneficios que se pueden obtener a través de la producción artesanal o industrial. Según reportes hay cerca de 2100 productores distribuidos por todo el país, siendo las regiones de mayor importancia Santander, Magdalena, Sucre, Cauca, Huila, Antioquia, Boyacá y Cundinamarca [7]. Sin embargo, en el departamento del Cauca [8] se tiene escasa información de base que permita la toma de decisiones en la planificación de la producción la cual debe identificar y analizar las características apícolas en el potencial productivo, la capacidad y oportunidad de producción, para realizar un correcto manejo, tanto de la flora como de los apiarios y así proyectar las plantas y floraciones que se desean según los requerimientos de la colmena de manera sostenible [9].

El objetivo de este estudio consistió en determinar la composición de la flora melífera, su distribución en las coberturas de vegetación y la determinación de otros elementos florales (cobertura, recurso ofertado, frecuencia de visitas y grados brix del recurso pecoreado) y su importancia para la colmena.

MÉTODO

La investigación se realizó durante todo el año 2014 en cinco veredas del municipio de Piendamó ubicado en la zona central del departamento del Cauca, al norte de la ciudad de Popayán, en la parte media de la región montañosa de la sub-cuenca del Rio Piendamó, todas en piso térmico templado (Caldas -Lang) y formación vegetal en su mayoría sub andina según Cuatrecasas. Se contó con el apoyo de Corpotunia, entidad que permitió identificar a los apicultores que tenían un número mayor a 10 colmenas, lo que se considera como productor comercial [10]. Se identificaron 12 apicultores que cumplían con la característica de requerimientos, ubicados en las veredas La Esmeralda, San Cayetano, El Pinar, El Hogar y Bella Vista georreferenciados en el cuadro 1. En el área se evidencia una topografía desde fuertemente quebrada hasta ondulada y dominan las coberturas de rastrojo y bosque natural.

Para la determinación de la composición de la flora melífera aledaña a los apiarios como lo muestra la figura 1, se utilizó la metodología propuesta por [11], y en cada apiario se establecieron 4 parcelas de 100 metros cuadrados cada una, tomando como punto central el

Cuadro 1. Georreferenciación de predios

VEREDA	NOMBRE DE LA FINCA	COORDENADAS	
		x (w)	y (N)
SAN CAYETANO	LAS PALMAS	076º 31’ 28”	02º 37’ 89”
SAN CAYETANO	LA ESMERALDA	076°31´15´´	02°37´81´´
BELLA VISTA	SAN LUIS	076°33´42´´	02°39´50´´
BELLA VISTA	EL ENCIERRO	076°32´29´´	02°40´35´´
BELLA VISTA	EL VENTANAL	076°30´71´´	02°39´87´´
LA ESMERALDA	LA ESMERALDA	076°30´61´´	02°42´11´´
LA ESMERALDA	EL MANÁ	076°32´35´´	02°41´70´´
LA ESMERALDA	EL DELIRIO	076°31´54´´	02°37´76´´
EL HOGAR	LOS VIKINGOS	076°32´44´´	02°42´45´´
EL HOGAR	EL PARAÍSO	076°33´14´´	02°44´24´´
EL PINAR	EL GUADUAL	076°31´70´´	02°41´25´´
EL PINAR	LOS NARANJOS	076°31´92´´	02°41´15´´

Fuente: Los Autores

Figura 1. Esquema Metodológico en campo.

Fuente. [11]

apiario. Dichas parcelas se localizaron en coberturas de bosque, pastizales, rastrojo y cultivo, en cada parcela se marcaron las plantas de las especies que el apicultor, la bibliografía o la observación directa permitían determinar cómo especies de interés melífero, a las cuales se les realizó mensualmente el seguimiento de los elementos florales (recurso ofertado, frecuencia de visitas y grados brix), que determinaron el grado de importancia de la planta para la colmena. Estas plantas fueron colectadas y rotuladas siguiendo el protocolo de herborización del herbario de la Universidad del Cauca.

La información obtenida fue registrada por los encargados de la investigación, personal experto en apicultura y botánica y los apicultores, quienes eran los responsables de informar y colectar los datos de floraciones especiales que se presentaran entre las visitas.

La determinación taxonómica de las plantas se realizó mediante la utilización de claves en el herbario de la Universidad del Cauca. Para la toma de datos de frecuencia de visitas y grados brix se siguió la metodología [12], en la cual se contempla el montaje de un área de observación correspondiente a 1 metro cuadrado de la cobertura vegetal en la que con la ayuda de un cronometro y un equipo de conteo se evalúa la frecuencia de visitas de las abejas en tres intervalos de 5 minutos, durante tres franjas horarias a lo largo del día, con el fin de evaluar si la franja horaria tiene algún efecto sobre la actividad de pecoreo o sobre las características de los elementos florales mencionados. Igualmente en dichas franjas horarias se estableció la colecta por medio de jama entomológica, de 5 individuos de *Apis mellifera* que visitan cada especie vegetal, los cuales se retenían de manera temporal en un contenedor que permitiera la excreción del néctar por regurgitación directamente sobre el refractómetro, que fue la herramienta utilizada para la medición de los grados brix del recurso pecoreado y la visualización del recurso colectado en el abdomen o los opérculos de la abeja, en su actividad de pecoreo (néctar, polen o N/P).

Para el registro, organización, sistematización y análisis de datos de plantas melíferas y elementos florales se utilizó la plataforma de Excel aplicando métodos estadísticos de distribución de frecuencias y medidas de tendencia central, así como evaluación de distribución y significancia, Para la evaluación de la importancia de los elementos florales para la colmena [13], y su relación con las coberturas vegetales.

RESULTADOS

Se colectaron 150 plantas en los que se pudo evidenciar actividad de pecoreo a lo largo del año, correspondientes a 30 especies, distribuidas en 24 géneros y 13 familias. Las familias con mayor riqueza fueron las Asteráceae y Fabáceae (20%), Myrtáceae (13,3%) y Rutáceae (10%), similar a lo encontrado en [14] e Insuasty 2016*,* seguidas de Poaceae y Lamiaceae *(6,6%).* En general, las plantas de la familia Asteráceae presentan flores de fácil acceso para las abejas, de las cuales estos insectos pueden obtener no solo polen sino también néctar [15].

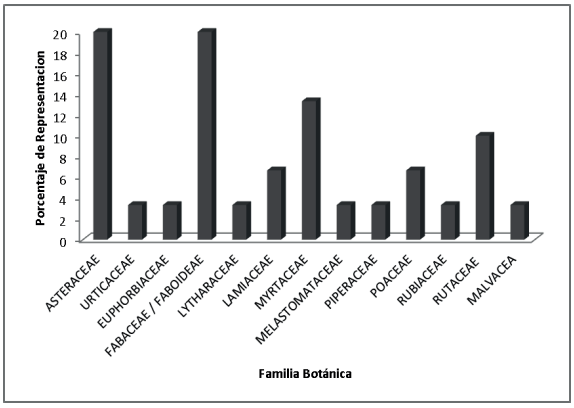
Un grupo de familias con menor representatividad de especies (3,3%) estuvo conformado por Rutaceae, Urticaceae, Euphorbiaceae, Lytharaceae, Melastomatáceae, Piperáceae y Malváceae, vegetación que ofrece doble recurso o con mayor valor [16], pero en caso de tener recursos limitados recurren a otras familias que presenten características similares de oferta o dulzor, como lo evidencia la figura 2.

Las especies con mayor presencia en los sitios de muestreo fueron Botón De Oro (*Tithonia diversifolia* (Hemsl) A. Gray), asociadas a cercas vivas y plantas forrajeras para alimentación animal; Maní Forrajero (*Arachis pintoi* Krapov, & W.C. Gregory), localizada en zonas de recreación y control de erosión en las laderas y el Café (*Coffea arábica* L), el cual es el cultivo más representativo de la región.

Se encontraron 8 especies comunes en las 5 veredas: Botón de Oro (*Tithonia diversifolia (*Hemsl) A.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Edición Especial No. 1 (20-28) Enero _ Junio 2017

Figura 2. Porcentaje de Familias Botánicas melíferas



Gray)*;* Pacunga (*Bidens pilosa* L), Guamo Común (*Inga cf. densiflora* Benth), Carbonero (*Calliandra pittieri* Standl). Eucalipto (*Eucalyptus grandis* W. Hill. ex Maiden) Guayabo (*Psidium guajava* L), Braquearia (*Brachiaria decumbens* Stapf) y el Café (*Coffea arábica* L.). De acuerdo con Insuasty (2016), las abejas melíferas son generalistas en el momento de recolectar néctar y polen de diferentes especies de flores; sin embargo, existe un fenómeno denominado constancia floral relacionado directamente con la preferencia dentro del espectro de plantas disponibles.

El análisis de coberturas a partir del coeficiente de relación de Pearson, con el software SPSS, evidenció una correlación positiva (0,86 $p < 0,05$) demostrando que las plantas de importancia para la colmena como flora melífera están relacionadas principalmente con coberturas (figura 3) de rastrojo (50%) donde domina la vegetación arbustiva y sucesional en su mayoría Asteráceas y Fabáceas, en concordancia con [17], quien plantea esta cobertura como fuente importante de alimento para el sostenimiento de la colmena por su floración continua, seguida por la cobertura de bosque natural (26%) donde la vegetación arbórea en su mayoría categorizada por Velandía (2012) como especies de cosecha por los altos aportes en grados brix y polen; en tercer lugar la cobertura de cultivo (16%) donde la actividad apícola es atraída por floraciones abundantes y cercanas a los apiarios, lo cual se relaciona con lo propuesto por [18] cuando establece que las floraciones especiales y abundantes de los cultivos son fuente estacional y alternativa de gran importancia para el pecoreo de *Apis* y su producción de miel.

Se logró evidenciar por medio de la observación directa desarrollada en las visitas mensuales que los apicultores del municipio de Piendamó solo aprovechan la miel, sin embargo, la flora melífera de la zona ofrece recursos de néctar (20%), de polen (10%), y en su mayoría oferta néctar/polen (70%), siendo así el polen una opción económica de alta rentabilidad desaprovechada por parte de los productores (figura 4).

Las especies que registraron oferta de polen fueron de la familia Myrtáceae el Arrayan (*Myrcia popayanensis Hieron)* y el Pomorroso (*Syzygium jambos)* y de la familia Piperáceae el Cordoncillo (*Piper aequale)*

Las especies que ofertan solo néctar están agrupadas en las familias botánicas Euphorbiaceae (yuca) *Manihot esculenta cruntz;* Fabáceae (carbonero negro) *Calliandra pittieri standl*, (carbonero rojo) *Calliandra haematocephala Hassk*, Lytharaceae (moradita) *Cuphea micrantha Kunth*; Lamiaceae (suelda con suelda) *Hyptis capitata Jacq.,* y Poaceae (pasto estrellado) *Rhynchospora nervosa.*

Las especies néctar poliníferas registradas pertenecen a las familias Asteráceae *Mikania banisteriae* (Bejuco Lanudo), *Tithonia diversifolia* (*Hemsl*) *A. Gray* (Botón de Oro), *Emilia cf. fosberggi Nicholson* (Lechuga De Monte),

Figura 3. Porcentaje de representación de las coberturas vegetales.

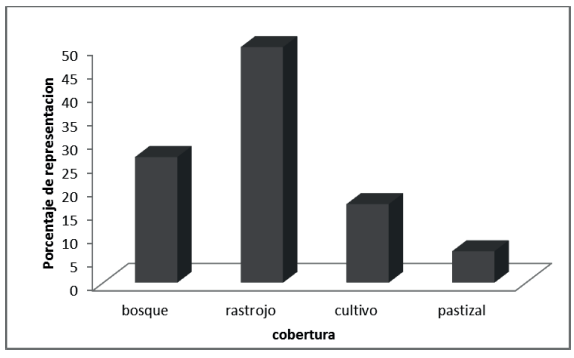
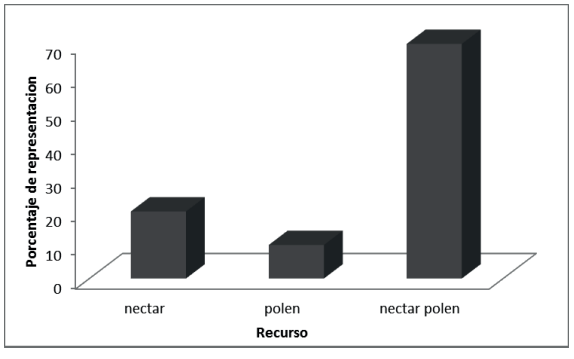


Figura 4. Porcentaje de representación del recurso ofertado.



Bidens pilosa L. (Pacunga), *Clibadium sp*. (Salvia Amarilla), *Clibadium cf. surinamense* (Salvia Blanca); Uricaceae *Coussapoa sp*. (Flor Amarilla); Fabáceae *Inga Sp.* (Guamo Churimbo), *Arachis pintoi Krapov, & w.c. Gregory* (Maní Forrajero), *Mimosa albida Humb.&. Bonpl. Ex Willd* (Zarza Negra), Lamiaceae *Hyptis mutabilis* (Murupacha); Myrtáceae *Eucalyptus grandis W. Hill. Ex miden* (Eucalipto), *Psidium guajava L*. (Guayabo); Melastomatáceae *Miconia notabilis* (Mortiño Mono); Poaceae *Brachiaria decumbens Stapf* (Braquearia); Rubiáceae *Coffea arábica* L. (Café), Rutaceae *Citrus limon (L)Burm*. F. (Limón), *Citrus reticulata blanco* (Mandarina), *Citrus sinensis (L) Osbeck* (Naranjo) y Malvaceae *Heliocarpus americanus L.* (Balso).

La frecuencia de vistas, Según Sánchez (1995), oscila en un rango de 0 a 10 abejas durante cinco minutos por metro cuadrado. De acuerdo con ello, se establecieron tres rangos: Bajo (menos de 4 abejas), medio (de 4 a 6 abejas) y alto (más de 8 abejas) (Figura 5), en donde es evidente que la mayoría de especies vegetales presentan un rango medio de frecuencia de visitas.

Los promedios de frecuencia de vista de las especies botánicas permiten agruparlas en los rangos establecidos por Sánchez (1995), tal como lo evidencia la Figura 6, que muestra especies como *Emilia cf. fosberggi Nicholson* (Lechuga De Monte), *Rhynchospora nervosa (pasto estrellado), Coffea arábica* L. (Café), *Bidens pilosa L*. (Pacunga), en el rango bajo con un promedio inferior a 4 vistas; en el rango de promedio de 5 a 8 visitas se destacan especies como *Clibadium sp* (salvia amarilla), Clibadium cf. surinamense L. (salvia Blanca), *Tithonia diversifolia* (*hemsl*) *A. Gray* (Botón de Oro), *Cuphea micrantha Kunth* (moradita), *Mimosa albida Humb.&. Bonpl. Ex Willd* (Zarza Negra), *Calliandra haematocephala Hassk* (carbonero rojo), *Brachiaria decumbens Stapf* (Braquearia), *Manihot esculenta Cruntz (*yuca*), Hyptis mutabilis* (Murupacha), *Calliandra pittieri Standl (*carbonero negro*),Psidium guajava L*. (Guayabo), *Heliocarpus americanus L.* (Balso), *Inga cf. densiflora Benth (*guamo*), Citrus limon (L)Burm*. F. (Limón), *Citrus reticulata blanco* (Mandarina), *Citrus sinensis (L) Osbeck* (Naranjo), *Myrcia popayanensis (*Arrayan*), Eucalyptus grandis W. Hill. Ex maiden* (Eucalipto) y en el rango de visita alta, con un promedio de más de 8 visitas las especies *Inga sp* (Guamo Churimbo), *Piper aequale Vahl (*cordoncillo*), Miconia notabilis* (Mortiño Mono), *Mikania banisteriae* (Bejuco Lanudo), *Coussapoa sp*. (Flor Amarilla) [19].

Figura 5. Porcentaje de representación de los rangos de frecuencia de vistas

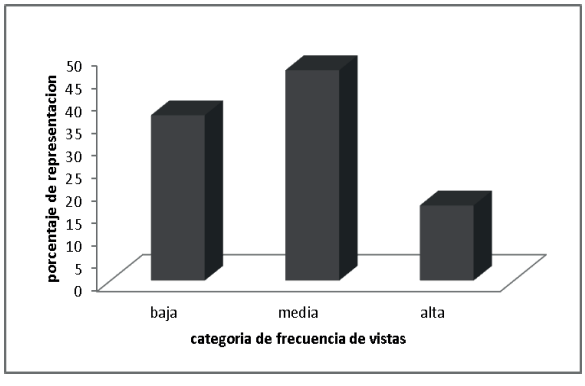
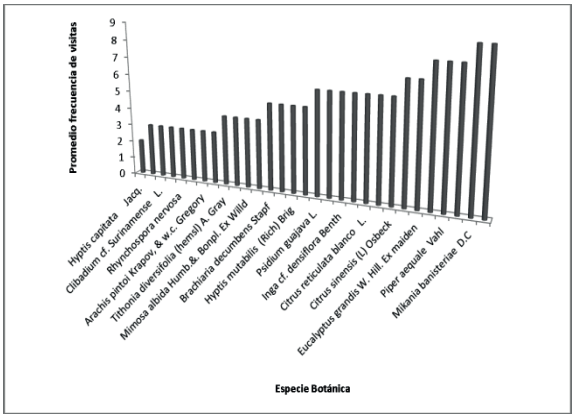


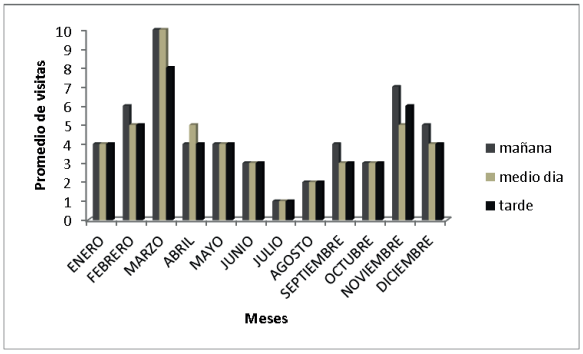
Figura 6. Promedio anual de frecuencia de visitas por especie.



La correlación también permitió evidenciar que se presenta incidencia directa de la franja horaria con relación a la frecuencia de visitas, dado que la reducción entre los promedios de visita registrados para el medio día, es significativa, a diferencia de la variación entre la frecuencia de visitas de las franjas de mañana y tarde, como lo muestra la figura 7, esto en coherencia con lo planteado por [20] quien establece que las floraciones y la disposición de recursos asociados, depende de las condiciones ambientales, edafológicas y climáticas. Se debe aclarar que el año 2014, fue un año de altas temperaturas en la zona, lo que incide en la actividad de pecoreo dado que según [21], el aumento en la temperatura inhibe la producción de néctar y otros desarrollos fisiológicos de las plantas vasculares, además estas altas temperaturas se reflejaron en un marcado periodo seco en los meses de junio, julio y agosto, lo cual genero reducción en la oferta floral debido a la perdida de la vegetación por desecación.

Los meses donde se evidencia un mayor promedio en la frecuencia de visitas, coinciden con los meses de

Figura 7. Promedio mensual de visitas por franja horaria.

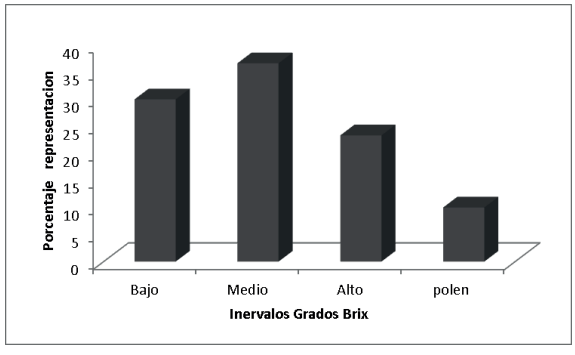


mayor pluviosidad, además del mes de marzo donde se presentó la floración de los cítricos, amplio cultivo en la región, esto en concordancia con la disponibilidad de agua para permitir el desarrollo fenológico y la floración de las especies botánicas, y por ende mejores condiciones de floración y mayor disponibilidad de néctar y polen para las abejas como lo propone [22].

Respecto a la determinación de grados brix se adaptaron los rangos propuestos por [12], dadas las características de los datos encontrados, lo que permitió la clasificación en 3 intervalos de clase (figura 8), determinándolos por nivel bajo de grados brix aquellas especies con néctar entre 16 y 34°brix, nivel medio entre 35 y 53° y nivel alto de dulzor en grados brix de más de 54° Brix,

La concentración de los grados brix según [14], se asocia con el tipo de flora, las condiciones biogeográficas, las propiedades del suelo y los considera aspectos claves para a determinar la calidad, el aroma, el color, el sabor y las propiedades nutricionales de la miel

Figura 8. Porcentaje de representación de los intervalos de medición de grados brix.



La Figura 9 muestra las especies por rango de concentración de grados birx, comienza con las especies exclusivas de polen y luego, define a (Carbonero Rojo) *Calliandra haematocephala Hassk*, (Carbonero) *Calliandra pittieri standl*., (Suelda Con Suelda) *Hyptis capitata Jacq., (*Mortiño Mono) *Miconia notabilis*, (Yuca) *Manihot esculenta Cruntz*, (Pasto Estrellado) *Rhynchospora nervosa*, (Salvia Blanca) *Clibadium cf surinamense, (*Lechuga De Monte) *Emilia cf. fosberggi Nicholson*, (CAFÉ), *Coffea arábica L.* como las especies botánicas de menor promedio de concentración de azúcar y (Pacunga), *Brachiaria decumbens Stapf*, (Eucalipto) *Eucalyptus grandis W. Hill. Ex maiden*, (Maní Forrajero) *Arachis pintoi Krapov, & w.c. Gregory*, (Guayabo) *Psidium guajava L., (*Zarza Negra) *Mimosa albida Humb.&. Bonpl. Ex Willd*, (Bejuco Lanudo) *Mikania banisteriae* como las plantas de mayor concentración, lo cual es clave para aportar a la determinan de calidad de mieles y definir especies con las que se pueden generar procesos de revegetalización, garantizando alimento para las abejas [22].

La medición y la correlación de Pearson según SPSS, dio como resultado (0,96, $p<0,05$), lo que permitió evidenciar que la franja horaria incide en los niveles de concentración de azucares de las especies, en las condiciones que se presentaron en el tiempo y zona de estudio, dado que la franja de la mañana presenta diferencias significativas a los promedios de grados brix registrados en las muestras contra las otras dos franjas horarias, cabe resaltar que en el mes de julio, la frecuencia de vistas fue baja, pero el promedio de grados brix en la franja de la mañana fue más alta que el resto del año (figura 10), lo que se explica por la teoría de [20], donde menciona que la planta genera néctar en la noche el cual está disponible para la abeja en la mañana.

Figura 9. Promedio anual de grados brix por especie botánica.

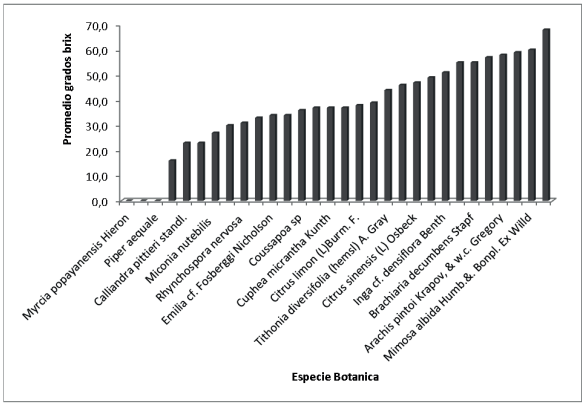
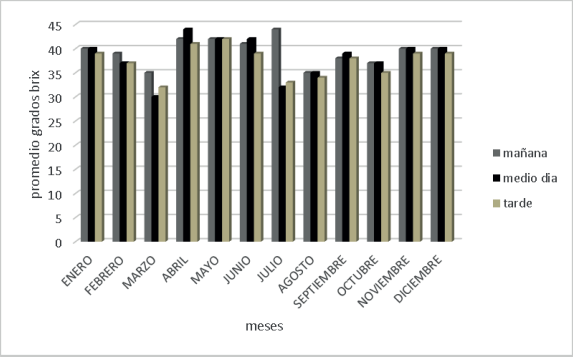


Figura 10. Promedio medio mensual Grados brix por franja horaria.



CONCLUSIONES

Apis mellifera, obtiene sus recursos alimentarios de por lo menos 30 especies vegetales, de las cuales se destacan *Mikania banisteriae* (Bejuco Lanudo), *Tithonia diversifolia* (*Hemsl*) *A. Gray* (Botón de Oro), *Inga Sp.* (Guamo Churimbo), *Arachis pintoi Krapov, & w.c. Gregory* (Maní Forrajero), *Eucalyptus grandis W. Hill. Ex miden* (Eucalipto), *Psidium guajava L*. (Guayabo), *Citrus limón L. Burm*. F. (Limón), *Citrus reticulata blanco* (Mandarina), *Citrus sinensis (L) Osbeck* (Naranjo).

Las familias botánicas de mayor importancia melífera encontradas son Asteráceae, Fabáceae, Myrtáceae y Rutaceae, lo que permite concluir que las especies de pioneras son base para la producción apícola.

La cobertura vegetal de rastrojo presenta la mayor riqueza de especies de importancia apícola, evidenciando relación entre la diversidad vegetal presente en este ecotono con la actividad de pecoreo.

La flora melífera de las veredas del Municipio de Piendamó oferta en su mayoría recursos de doble propósito néctar/polen, lo que garantiza disponibilidad de recursos de abastecimiento para actividad apícola con variedad de productos de colmena

Los elementos florales evaluados (recurso ofertado, frecuencia de visitas y grados brix) demuestran la alta vocación y potencial para la apicultura que tiene la vegetación melífera del municipio de Piendamó.

Se confirma que la franja de la mañana (7-10 am) es la franja horaria con mayor actividad apícola dada la fisiología de la vegetación al disponer en mayor concentración los recursos ofertados

Se evidencia una relación inversa entre frecuencia de vistas y grados brix, y una relación directa entre la oferta floral y la frecuencia de vistas

AGRADECIMIENTOS

A los apicultores del municipio de Piendamó, a Corpotunia y a los estudiantes y profesionales que participaron en el desarrollo de este proyecto.si este proyecto tuvo financiación externa como el Humboldt, Colciencias o regalías se le debe dar el crédito a la institución.

REFERENCIAS

[1] VELANDIA, M., RESTREPO, S., CUBILLOS, P., APONTE, A. y SILVA, L.M. Catálogo fotográfico de especies de flora apícola en los departamentos de Cauca, Huila y Bolívar. Bogotá (Colombia): Instituto Humboldt, 2012, 84 p.

[2] INSUASTY-SANTACRUZ, E., MARTÍNEZ-BENAVIDEZ, J. y JURADO-GÁMEZ, H. Identificación de flora y análisis nutricional de miel de abeja para la producción apícola. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 14(1), 2016, p. 37-44.

[3] DÖKE, M., FRAZIER, M. and GROZINGER, C. Overwintering honey bees: biology and management. Current Opinión in Insect Science, 10, 2015, p. 185-193

[4] SÁNCHEZ, O.A, CASTAÑEDA, P.C., MUÑOS, G. y TÉLLEZ, G. Aportes para el análisis del sector apícola colombiano [online]. 2014. Disponibe: http://ibepa.org/docs/docscienciagro/Cienciagro_V2N4-2013_469-483_Sanchez_et_al.pdf. [Citado 17 de febrero de 2016].

[5] BARRAGÁN, M.A. Apicultura campesina: una alternativa para el desarrollo rural en Ocamonte, Santander [online]. 2014. Disponible: http://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/12407/1/BarraganRiveraMiguelAngel2014.pdf. [Citado el 17 de febrero del 2016].

[6] FLÓREZ, D. y WARD, S. Diseño de una mini cadena productiva para apicultura orgánica en San Andrés Islas a través de un itinerario de ruta como herramienta de gestión e integración. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 14(2), 2013, p. 129-147.

[7] SÁNCHEZ, A. y OSWALDO, A. Sistemas de producción y economía apícola en los departamentos de Cundinamarca y Boyacá [online]. 2013. Disponible: http://www.bdigital.unal.edu.co/46818/1/077 90793.2014.pdf. [Citado el 27 de febrero del 2016].

[8] SANTAMARIA, A. Diagnóstico productivo y comercial de la cadena apícola de los programas para la sustitución de cultivos ilícitos y desarrollo alternativo [online]. 2009. Disponible: https://es.scribd.com/document/319061465/diagnostigo-pdf. [Citado el 20 de marzo de 2016].

[9] MARTINEZ, T. Diagnóstico de la actividad apícola [online]. 2014. disponible: http://www.agronet.gov.co/www/docs_apicola/2008225164047_Diagnostico%20gral%20Cadena%20Abejas%20y%20Apicultura.pdf. [Citado 03 de septiembre del 2015].

[10] SILVA, D., ARCOS, A.L. y GÓMEZ, J.A. Guía ambiental apícola. Bogotá D.C (Colombia): Instituto de investigaciones de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt, 2006, 142 p.

[11] BONILLA, B.L. y MONTOYA, B. Determinación de la flora apicola, su cobertura y calendarios como estrategia de competitivdad para el fortalecimiento de la cadena apicola del cauca. Revista I+T+C Investigación Tecnología y Ciecia, 7, 2013, p. 21-26.

[12] SÁNCHEZ, D. Calendario apícola para el suroeste antioqueño. Miscelánea sociedad Colombiana de Entomología, 1996, p. 3.

[13] TASSINARI, W., LORENZON, M. and PEIXOTO, E. Spatial regression methods to evaluate bee keeping production in the state of Rio de Janeiro. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 65, 2013, p. 553-558.

[14] NATES-PARRA, G., MONTOYA, P., CHAMORRO, F., RAMÍREZ, N., GIRALDO, C. y OBREGÓN, D. Origen geográfico y botánico de mieles de *Apis mellifera* (apidae) en cuatro departamentos de Colombia. Acta biológica Colombiana, 18(3), 2013, p. 427-438.

[15] CHAMORRO-GARCÍA, F., LEÓN-BONILLA, D. y NATES-PARRA, G. El polen apícola como producto forestal no maderable en la cordillera oriental de Colombia. Colombia Forestal, 16(1), 2013, p. 53-66.

[16] PINILLA-GALLEGO, M. y NATES-PARRA, G. Diversidad de visitantes y aproximación al uso de nidos trampa para *Xylacopa* (Hymenoptera: Apidae) en una zona productora de pasiflora en Colombia. Actualidades Biológicas, 37(103), 2015, p. 143-153.

[17] LÓPEZ-ALVAREZ, S., DOMINGUEZ-GARCÍA, M. y GUILARTE-AGUILERA, A. Manejo de la diversidad vegetal con fines apícolas en un ecosistema montañoso del municipio Guisa. Revista Granma Ciencia, 18(3), 2014, p. 1-7.

[18] CÓRDOVA-CÓRDOVA, C., RAMÍREZ-ARRIAGA, E., MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, E. y ZALDÍVAR-CRUZ, J. Caracterización botánica de miel de abeja (*Apis mellifera*) de cuatro regiones del Estado de Tabasco, México, mediante técnicas melisopalinológicas. Universidad y Ciencia, 29(1), 2013, p. 163-168.

[19] SERDA, B., ZEWUDU, T., DEREJE, M. and AMAN, M. Beekeeping Practices, Production Potential and Challenges of Bee Keep in gamong Bee keepers in Haramaya District, Eastern Ethiopia. Journal of Veterinary Science & Technology, 6, 2015, p. 1-5.

[20] EGUIARTE, L. y MARTÍNEZ DEL RÍO, C. El néctar y polen como recursos: el papel ecológico de los visitantes a las flores de *Pseudobombax Ellipticum* (H.B.K. y Dungal). Revista Biotrópica, 19(1), 1987, p. 74-82.

[21] AFIK, O., DELAPLANE, K. and SHAFIR, S. Nectar minerals as regulators of flower visitation in stingless bees and nectar hoarding wasps. Journal Chemestry Ecology, 40, 2014, p. 213-245.

[22] SANTOS, R.F., PIEDALE, K.L. e PINHEIRO, A.J. Levantamento da flora melífera de interesse apícola no municipio de Petrolina-PE. Caatinga, 2006, 19(3), p. 221-227.

TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE UNA CENTRAL DE SACRIFICIO: USO DEL POLVO DE LA SEMILLA DE LA *M. oleífera* COMO COAGULANTE NATURAL

TRATAMENTO DAS ÁGUAS RESIDUAIS DE UMA CENTRAL DE ABATIMENTO: UTILIZANDO PÓ DA SEMENTE *M. oleífera* COMO COAGULANTE NATURAL

WASTEWATER TREATMENT FROM SLAUGHTER HOUSE: USING POWDER OF *M. oleífera* AS A NATURAL COAGULANT

ARNOL ARIAS-HOYOS [1], JOSÉ LUIS HERNÁNDEZ-MEDINA [2],
ANDRÉS FERNANDO CASTRO-VALENCIA [3], NAZLY EFREDIS SÁNCHEZ-PEÑA[4]

RESUMEN

Mediante el presente estudio se analizó la eficiencia de la semilla del árbol M. Oleífera como sustancia coagulante en tratamiento de aguas residuales de una central de sacrificio. Para ello se realizaron pruebas de coagulación/floculación, en un jar test, adicionando dosis predeterminadas del coagulante de origen natural M.

Recibido para evaluación: 30 de Noviembre de 2016. Aprobado para publicación: 1 de Marzo de 2017.

1 Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, Facultad de Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible, Grupo de Investigación Tecnología y Ambiente (GITA). Esp. En Administración de la educación. Popayán, Colombia.

2 Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, Facultad de Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible, Semillero de Manejo Integral del recurso Hídrico (MIRH). Estudiante Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Popayán, Colombia.

3 Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, Facultad de Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible, Semillero de Manejo Integral del recurso Hídrico (MIRH). Estudiante Ingeniería Ambiental y Sanitaria. Popayán, Colombia.

4 Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, Facultad de Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible, Grupo de Investigación Tecnología y Ambiente (GITA). Ph.D. en Ingeniería Química y Medio Ambiente. Popayán, Colombia.

Correspondencia: arnol.arias.h@uniautonoma.edu.co

Oleífera, que se obtuvo mediante la pulverización de semillas y extracción de su polvo. La muestra de agua residual se tomó a la salida de la central de sacrificio luego del tratamiento preliminar que consta de una rejilla de limpieza manual. En cada ensayo realizado se midió pH, turbiedad, color, temperatura; DBO_5, DQO, sólidos suspendidos totales (SST), Coliformes totales y fecales, antes y después de cada prueba, con el fin de calcular la remoción obtenida. Los resultados más relevantes muestran que, con una aplicación de dosis óptima (7500 mg/L) y una concentración óptima del 5%, se puede lograr una eficiencia de remoción del color y turbidez de aproximadamente 87 % y 80 %, respectivamente. En este sentido, un aporte importante del trabajo corresponde a nuevas evidencias sobre la ventaja de usar polvo de semilla de M. Oleífera para mejorar las características del agua residual, lo que hasta el momento había sido poco entendido.

ABSTRACT

The present study analyzed the efficiency of the seed of M. Oleífera tree as a coagulant in the treatment of wastewater from slaughter plant. For do this, different coagulation/flocculation tests were conducted in a jar test apparatus, by using defined dose of the natural coagulant. This latter was obtained by grinding of seeds and its powder. The wastewater sample was taken at the end of slaughter plant after the treatment preliminary that consists of a cleaning manual grid. pH, turbidity, color, temperature, BOD_5, DO, total suspended solids (TSS), total and faecal coliforms were measured before and after each test in each trial, in order to calculate the removal efficiency obtained. The most important results show that, a removal of 87% and 80% can be achieved for color and turbidity, respectively, by using an optimal dose of 7500 mg /L and an optimal concentration of 5 %. In this regard, an important contribution of this study corresponds to new evidence about the advantage provided by using M. Oleífera seed powder to improve the characteristics of the wastewater, which until now had been little understood.

PALABRAS CLAVE*:*
Bioadsorbente, Coagulación-Floculación, Matadero Municipal, Remoción.

KEY WORDS:
Bioadsorbent, Coagulation-Flocculation, Municipal Slaughterhouse, Removal.

PALAVRAS CHAVE:
Bioadsorvente, Coagulação-Floculação, Matadouro Municipal, Remoção

RESUMO

Através desta pesquisa foi analisada a eficiência da semente M. Oleífera como substancia coagulante no tratamento de águas residuais de uma central de abatimento. Para isto se realizaram testes de coagulação/floculação, num teste de jarras, adicionando doses predeterminadas de coagulante de origem natural M. Oleífera, obtido por médio da pulverização das sementes y da extração do seu pó. A amostra de água residual foi coletada na saída da central de abatimento, logo depois do tratamento preliminar constituído por um ralo de limpeza manual. Cada tratamento foi sometido aos seguintes testes: pH, turbidez, color, temperatura, DBO_5, DQO, sólidos dissolvidos totais (SDT), coliformes totais e fecais, antes e depois de cada teste, com o alvo de calcular a remoção obtida. Os resultados refletiram que com uma aplicação da dose ótima (7500 mg/L) e uma concentração ótima de 5%, pode-se conseguir uma eficiência de remoção de color e turbidez de aproximadamente 87% e 80%, respectivamente. Neste sentido, a pesquisa apresenta um importante aporte de novas evidencias sobre as vantagens aportadas do uso de pó da semente M. Oleífera na melhora das características de água residual, o que até o momento tinha sido pouco estudado.

INTRODUCCION

El agua es esencial para la vida y necesaria para el desarrollo económico de las poblaciones así como para el mantenimiento del equilibrio medioambiental de los ecosistemas. Aun así, en el presente siglo de grandes avances científicos y tecnológicos, la contaminación de cuerpos de agua por continua descarga de residuos sigue siendo un reto [1]. Está práctica produce efectos nocivos en la salud humana y más aún si se considera la escasa asistencia técnica adecuada principalmente en los países en vía de desarrollo, lo que contribuye de manera significativa a la degradación del medio ambiente ya sea por problemas estéticos, olor, sedimentación, daño o muerte de los factores bióticos acuáticos [2].

Muchos agentes coagulantes se utilizan en los procesos de tratamiento de agua, los cuales pueden ser clasificados como coagulantes inorgánicos (sales de aluminio y hierro), sintética y polímeros orgánicos naturales (Okuda *et al*. 2001) [3], [4]. Estos últimos o también llamados bioabsorbentes han sido ampliamente estudiados desde la década de los 70, tal como lo muestra (Real-Olvera et. al. 2015) [5] y (Nharingo, T, Moyo, M., 2016) [6]. El parámetro operacional para determinar la eficiencia de un coagulante son la turbiedad y el color, que mide de manera indirecta la concentración de partículas. La velocidad y la eficiencia del proceso de coagulación-floculación dependen de la composición del agua residual, temperatura, pH y velocidad de mezcla [7].

A pesar de los recientes avances en el estudio de métodos alternativos para el tratamiento de aguas, aún existe la necesidad de llevar a cabo nuevos estudios sobre coagulantes-floculantes efectivos, económicos, innocuos y para remover las altas cargas orgánicas que poseen las aguas residuales, como las generadas en las plantas de tratamiento de la industria cárnica. Como lo menciona en su artículo (Mageshkumar M, 2015) [8], el uso de sales de hierro y aluminio y compuestos sintéticos como coagulantes puede ocasionar cambios en el pH del agua, contaminación secundaria puesto que este tipo de sustancias depositadas en los lodos no son biodegradables y, lo más grave aún, la presencia de residuos de aluminio han sido relacionados con la presencia de la enfermedad del Alzheimer. En este sentido, necesario buscar alternativas que puedan sustituir total o parcialmente las sales de hierro y aluminio y los polímeros orgánicos sintéticos [9].

Los Coagulantes/floculantes naturales constituyen una alternativa viable, es el caso específico de la *M. Oleífera,* que tienen ventajas demostradas sobre los coagulantes químicos como lo menciona en su artículo Real Olvera et. al. 2015 [5], específicamente en relación a la eficiencia en bioadsorción de contaminantes orgánicos. [10]

La *M. Oleífera* es una planta tropical del género leguminosa que pertenece a la familia *Moringaceae*, orden *Capparidales,* clase *magnoleopsida* [11]. Esta planta es originaria de la India [7], pero se encuentra en otras regiones tropicales [12], es considerada como uno de los arboles más útiles del mundo, por ser tolerante a la sequía, por sus propiedades nutricionales, fertilizante para suelos, medicinal y como coagulantes para el agua [5]. Es un árbol de tamaño pequeño y crecimiento acelerado que usualmente alcanza de 7-12 m de alto y de 20-40 cm de diámetro, las hojas son alternas trilobuladas con una longitud de 30-70 cm [13].

Considerando el contexto descrito anteriormente, el proyecto tuvo como finalidad aportar evidencias sobre la efectividad de semilla de *M. Oleífera* como sustancia coagulante en el proceso de coagulación/floculación de las aguas residuales industriales de una central de una sacrificio, lo cual se estableció aplicando diferentes dosis de coagulante y se evaluó realizando monitoreo de los parámetros físico químicos como pH, color, turbidez, DBO, DQO, SST y Coliformes fecales y totales para poder determinar la dosis optima y su respectivo porcentaje de remoción de acuerdo a lo establecido por la normatividad ambiental colombiana resolución 0631 de 2015, [24] la cual establece los parámetros y límites permisibles en vertimientos puntuales a cuerpos de agua superficiales. En este sentido, un aporte importante del trabajo corresponde a nuevas evidencias sobre el uso de polvo de semilla de *M. Oleífera* para mejorar las características del agua residual, específicamente de matadero. Hasta nuestro conocimiento, esta aplicación ha sido poco estudiada, lo que se deduce a partir de la escasa información encontrada en literatura.

METÓDO

Para determinar la eficiencia de la semilla moringa, se evaluó el porcentaje de remoción de los parámetros: turbiedad, color, DBO_5, DQO y SST. El trabajo de investigación se basó principalmente en el análisis de test

de jarras (jar-test), lo que permitió simular el proceso de coagulación/floculación, el cual se llevó a cabo en el laboratorio de la Corporación Universitaria Autónoma del Cauca. El agua tratada fue tomada de la planta de tratamiento (PTAR) de la central de sacrificio del municipio de Popayán departamento del Cauca y que se encuentra localizada en la comuna 5, barrio las ferias al sur oriente del municipio de Popayán, sector comprendido entre la calle 13C, la carrera 3E, la carrera 2E, y el rio ejido con coordenadas geográficas 25°25'51.68" N y 76°36'13.51" O y elevación 1730 msnm. En dicho lugar donde se sacrifican semanalmente un aproximado de 90 animales entre bovinos y porcinos, actualmente esta planta está ubicada en una zona urbana residencial, por lo tanto es la comunidad quien está siendo afecta por los diferentes impactos ambientales generados como lo son presencia de vectores, malos olores constantemente generados por el estiércol y el proceso en sí que se lleva a cabo en la planta, vertimiento de aguas residuales sobre el río ejido que pasa cerca de la planta y deterioro del mismo. Entre las labores que esta planta lleva a cabo, se distinguen varios procesos que constituyen la contaminación de las fuentes receptoras y la generación de vectores, entre ellos: recepción de animales, desangrado, desinfección de maquinaria, lavado de vísceras, lavado de las instalaciones y lavado de vehículos trasportadores. Actualmente, la central de sacrificio tiene en funcionamiento una planta de tratamiento tipo FAFA (Filtro Anaerobio de Flujo Ascendente) la cual recibe este tipo de aguas que se caracterizan por tener comúnmente sangre, estiércol, pelos, huesos, grasas, proteínas y contaminantes solubles [14] además de altas temperaturas, elementos patógenos, altas concentraciones de compuestos orgánicos y nitrógeno. La relación promedio de DQO: DBO5: N es de 12:4:1 [15].

Las muestras de agua fueron tomadas los días de mayor sacrificio de animales y por consiguiente mayor descarga (martes y viernes). El punto de recolección correspondió al efluente de la planta luego de pasar por un tratamiento preliminar que consta de un canal de acceso, una rejilla de limpieza manual y un pozo de bombeo.

Para la determinación de caudal se utilizó el método volumétrico. Debido a que el efluente del proceso no es continuo se tomó una muestra compuesta recolectando alícuotas en un lapso de tres horas hasta llenar totalmente un recipiente plástico de 20 L previamente esterilizado.

Las muestras fueron conservadas (4°C) en un tiempo menor a 1 h después de la campaña de muestreo, esto de acuerdo a lo establecido en el protocolo de toma de muestras, transporte y almacenamiento de aguas residuales industriales del Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios Ambientales (IDEAM) [16]. Las muestras se analizaron el mismo día de su recolección en el laboratorio certificado de la Corporación Autónoma Regional del Cauca (C.R.C). Para determinar los parámetros fisicoquímicos iniciales se homogenizaron nuevamente las muestras por agitación y se realizó la medición de Turbidez, pH, Temperatura, Color y Alcalinidad, siguiendo los procedimientos establecidos en el método estándar para el análisis de aguas y efluentes (APHA-AWWA-WEF 2005)[17].

Para determinar las condiciones óptimas de la semilla de *M. Oleífera* utilizada como sustancia coagulante en el proceso de coagulación/floculación se realizó una serie de ensayos que se explicarán más adelante.

Extracción del polvo coagulante a partir de semillas de *Moringa oleífera*

Las semillas de *M. Oleífera* fueron adquiridas secas y sin uniformidad de tamaño en la CORPORACION ECOLOGICA AGROGANADERA S.A (CORPOGAN), de la Ciudad de Bogotá D.C. y AGROCOLOMBIANA de la Ciudad de Pasto Nariño. Para la extracción del polvo de las semillas sin pelar de *M. Oleífera*, se utilizó un molino casero hasta obtener partículas finas y tamizadas a través de mallas con baja luz para obtener un polvo fino y de aspecto bastante grasoso. Se recolecto el polvo extraído en bolsas herméticas y posteriormente fueron depositadas en un recipiente seco, estéril y con tapa para evitar la introducción de microorganismos o impurezas del ambiente.

Extracción de la grasa y el aceite. Debido a que la semilla de *M. Oleífera* cuenta con aproximadamente 40 % de su peso en aceites y grasas [18], los cuales no poseen propiedades coagulantes y al contrario deja un residual lipídico en el agua, se debe hacer una extracción de este contenido. Este procedimiento debe evitar la pérdida de proteína, el principal causante del mecanismo de coagulación, que corresponde al 60 % (Bichi, M. H et. al, 2012), [19]. En este sentido, se procedió a extraer la mayor cantidad de aceite lo que se hizo en dos procesos, a saber: por prensado y por disolución en alcohol etílico (Etanol al 95%). El presente estudio realizó dicho procedimiento usado etanol,

para ello, se agregó 50 g de polvo de *M. Oleífera* a 200 ml de Etanol, esta solución se removió durante 2 min con un agitador magnético a 1300 rpm, la solución resultante fue filtrada al vacío con papel filtro, se repitió el mismo proceso cinco veces con el fin de extraer la mayor cantidad de aceite. Posteriormente la torta de *M. Oleífera* residual se dejó secar a temperatura ambiente durante 24 h.

Obtención del coagulante de *Moringa oleífera.*

A continuación se explicará la preparación de la solución madre de *M. Oleífera* usada en los experimentos.

Inicialmente se preparó una solución de cloruro de sodio (NaCl) 5M. Esta solución se mezcló durante 20 min con un agitador magnético a 200 rpm para homogenizar la distribución de la sal. Seguidamente, se añadió 50 g del polvo de *M. Oleífera* en un litro de la solución de NaCl y se mezcló durante 10 min con un agitador magnético a 60 rpm. La solución resultante fue filtrada en papel filtro, marca FILTRAK, con tamaños de poro de alrededor de 15 μm. Así se obtuvo la solución madre del extracto de la *M. Oleífera* con NaCl al 5 %, detalles adicionales del procedimiento se encuentran en (Okuda *et al.* 2001), [3]. Se recomienda mantener esta solución en refrigeración y por un periodo no superior a un mes, debido a que pueden perder su efectividad (Chethana M., 2016), [20].

Dicho protocolo permite la extracción del componente activo de la *M. Oleífera* pues el cloruro de sodio hace que la proteína catiónica que compone el coagulante de *M. Oleífera* se vuelva más soluble en el agua turbia. Esto provoca que exista mayor contacto con las partículas presentes en el agua lo que potencializa el coagulante según (Abdul, H. S,H; *et al*), [21].

Prueba de Jarras

Para determinar las condiciones óptimas de la semilla de *M. Oleífera* utilizada como sustancia coagulante se realizó una serie de 10 ensayos de coagulación/floculación. Se determinó el color y turbidez de la muestra inicial para lo que fue necesario realizar una dilución en relación 1:100 para color y 1:4 para turbidez, obteniendo como resultado 34500 Pt/Co y 1144 NTU respectivamente. Posteriormente, se procedió a realizar la prueba de jarras utilizando 1 L de agua residual de la central de sacrificio. Para ello, cada muestra se sometió a una mezcla rápida de 200 rpm durante 60 segundos, en este lapso de tiempo se le adiciono el coagulante según las dosis establecidas (10, 20, 40, 60, 80,100, 110, 150 y 200 ml/L las cuales equivalen a 500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 5500, 7500, 10000 mg/L respectivamente), dosis que evolucionaron positivamente al realizar la mezcla puesto no presentaron ninguna reacción adversa que hubiese podido influir en los resultados obtenidos, luego se redujo la velocidad a una mezcla lenta de 45 rpm por un periodo de 10 min. Transcurrido este tiempo, se dejó sedimentar por un periodo de 20 min [20]. Finalmente, se tomó una muestra a 4 cm de profundidad desde la superficie en cada jarra y se determinó la turbiedad y color. Una vez encontrada la Dosis preliminar óptima, se dejó constante este valor y se empezó a variar las concentraciones del coagulante (5% -10% -15% -20% - 25% - 30% y 40%) teniendo en cuenta el mismo procedimiento descrito anteriormente para Gradientes Hidráulicos de mezcla rápida y mezcla lenta y sus respectivos tiempos de reacción, Tiempo de Sedimentación y pH [20,30].

Luego de encontrar las condiciones óptimas de la semilla *M. Oleífera* como sustancia coagulante en el proceso de coagulación/floculación se llevó a cabo la evaluación de la eficiencia de la semilla de *M. Oleífera* en la remoción de DBO_5, DQO, SST, Coliformes totales y fecales, el cual se realizó mediante el proceso estándar del test de jarras. Las muestras se analizaron en el laboratorio acreditado de la Corporación Autónoma Regional del Cauca (CRC).

RESULTADOS

Pruebas de estandarización de dosis optima

De acuerdo a los datos obtenidos después de realizar los ensayos por el procedimiento test de jarras se puede inferir que el rendimiento obtenido en cada uno de los tratamientos donde se utilizó la *M. Oleífera,* disminuye la turbidez y color inicial como se puede observar en el Cuadro 1**.**

Las mejores dosis encontradas para el tratamiento de agua que presentaban una turbidez inicial de 1144 NTU y color de 34500 Pt/Co fue en las “jarra s 8 y 9” con remoción del 73 y 74% respectivamente, con una dosificación optima de 7500 y 10000 mg/L de solución coagulante, lo que se muestra claramente en las Figuras 1 y 2.

Se seleccionó la dosis óptima como 7500 mg/L (150 ml), debido a la relación eficiencia en remoción vs cantidad de coagulante, intentando disminuir los costos económico y a su vez optimización de la solución coagulante

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Edición Especial No. 1 (29-39) Enero _ Junio 2017

Cuadro 1. Resultados de remoción de la prueba de test de jarras

Jarras	Parámetros					
	Dosis (mg/L)	Dosis ml	Turbidez residual (NTU)	% de remoción	Color Pt/Co	% de remoción
1	500	10	868	24	30700	11
2	1000	20	724	37	25800	25
3	2000	40	860	25	26200	24
4	3000	60	740	35	31500	9
5	4000	80	840	27	25800	25
6	5000	100	832	27	22200	36
7	5500	110	452	60	27500	20
8	7500	150	309	73	21300	38
9	10000	200	303	74	17000	51

Figura 1. Relación de la dosis de coagulante vs la turbidez luego de la prueba de jarras

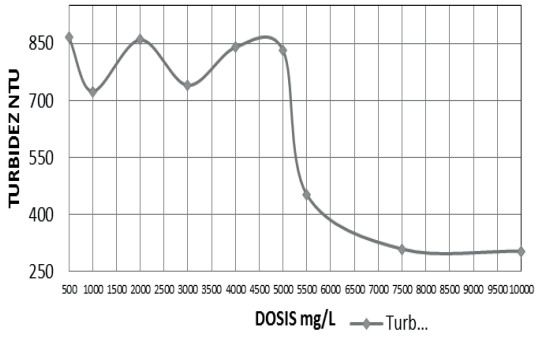
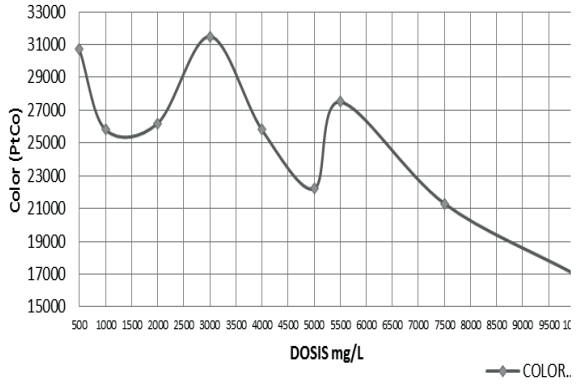


Figura 2. Variación de Color en la prueba de jarras vs dosis de *Moringa Oleífera*



Definición de la concentración óptima

Respecto a la concentración se pudo inferir que la turbidez más baja se obtiene donde se aplicó la dosis de 7500 mg/L (150 mL) a una concentración del 5%, con una remoción de turbidez entre el 19 al 21 % como se observa en el Cuadro 2, se evidencia que no necesariamente a mayor concentración de solución coagulante se da un mayor nivel de remoción en la turbidez.

P**arámetros óptimos**

Las condiciones óptimas de la semilla *M. Oleífera* utilizada como sustancia coagulante en el proceso de coagulación/floculación para el tratamiento de aguas residuales provenientes de una planta de sacrificio animal se pueden observar en el Cuadro 3.

En cuanto a los Gradientes de mezcla rápida el mejor comportamiento para la disminución de turbidez y donde se da la desestabilización de partículas coloidales es el gradiente de 200 rpm, con tiempos de retención de 60 y 120 s y remociones de 44,9% y 45.3%, respectivamente.

Debido a que no hay diferencias significativas en los porcentajes de remoción para cada tiempo se decidió tomar 60 s como el tiempo de mezcla rápida ideal pensando en que serán de gran importancia para la reducción de costos durante el proceso al ser aplicado a escala real.

Para los Gradientes de Mezcla lenta el mejor comportamiento para la disminución de turbidez es el gradiente de 30 rpm, con un tiempo de retención de 45 min.

Cuadro 2. Resultados de Remoción de la prueba de jarras

Jarras	Parámetros			Replica	
	Concentración %	Turbidez residual (NTU)	% de Remoción	Turbidez residual (NTU)	% de Remoción
1	5	1100	19	1070	21
2	10	1112	18	1190	12
3	15	1156	15	1230	9
4	20	1140	16	1285	5
5	25	1265	7	X	x
6	30	1310	3	X	X
7	40	1250	8	x	X

Cuadro 3. Condiciones óptimas de la Semilla *M.O* como Sustancia Coagulante.

Parámetros	Parámetros optimizados	Turbidez inicial	Turbidez final	% de Remoción
Dosis (mg/l)	7500	1144	309	73
Concentración (%)	5	1356	1100	19
GMR (rpm) Y TMR (seg)	200 – 60	1068	596	44
GML (rpm) Y TML (min)	30 – 45	1212	696	43
Tiempo de sedimentación (min)	20	1372	816	41
pH	≥8,4	1192	232,4	81

GMR: Gradiente mezcla rápida, GML: Gradiente mezcla lenta, TMR: tiempo de mezcla rápida, TML: tiempo mezcla lenta.

El tiempo óptimo donde se lleva a cabo la mejor precipitación y sedimentación de partículas y por tanto mejor remoción de turbidez es 20 min.

Para la optimización de pH se evidencia que éste valor no presentó una variación apreciable, se mantuvo relativamente estable después de realizar el tratamiento. Este hecho implica que la aplicación directa de coagulante de *M. Oleífera* en una planta de tratamiento no aporta costos adicionales al proceso para corregir el pH del agua, como suele pasar al utilizar coagulantes químicos (Mageshkumar M, 2015), [8].

A pesar de que la *M. Oleífera* no modifica el pH después del test de jarras, si mejora su capacidad de remover color y turbidez a pH alcalinos, como se aprecia en la Figura 3 y 4.

El aumento del pH ≥ 8,4 presentó mejores resultados, se alcanzó valores de 70 a 85 % de remoción en turbiedad y color, respectivamente, contrario a lo encontrado por (Chethana M. *et. al.,* 2016), [20], quienes trabajaron con aguas residuales domesticas de menor carga contaminante y determinaron que en rangos de pH ácidos los porcentajes de remoción son mejores, lo anterior debido a la presencia posiblemente de polímeros no iónicos [20]. A partir de esto se puede concluir que la coagulación con semillas de *M. Oleífera*, en el presente estudio, no es controlada por fuerzas

Figura 3. Variación de Turbiedad contra pH

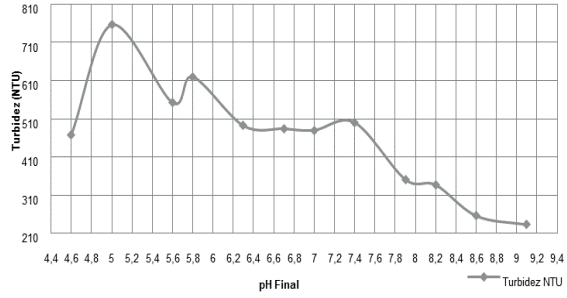
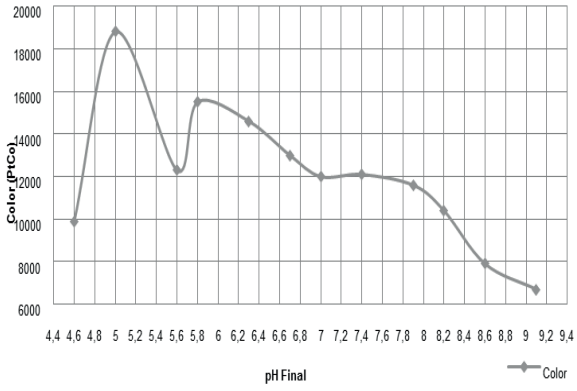


Figura 4. Variación de Color contra pH



electrostáticas, lo que lleva a sugerir que el mecanismo de coagulación sea el de adsorción y formación de puentes [20], así las cosas, sería más apropiado llamar a la moringa como bioadsorbente más que coagulante como se hace comúnmente en literatura encontrada respecto a este tema.

Autores como Ndabigengesere *et. al.,* (1995) [22] verificaron con medidas del potencial Zeta que los mecanismos de coagulación más probables con la utilización de las semillas de *M. Oleífera* son los de adsorción -neutralización de cargas y adsorción y formación de puentes (Carvalho Bongiovany, M; *et al*) [23], pudiendo incluso ocurrir de forma simultánea. Esto corrobora los resultados del presente estudio.

Pruebas de eficiencia

Luego de encontrar las condiciones óptimas de la semilla *M. Oleífera* como sustancia coagulante en el proceso de coagulación/floculación se llevó a cabo la evaluación de su eficiencia en la remoción de DBO_5, DQO, SST, Coliformes totales y fecales, usando el proceso estándar de prueba de jarras, los resultados de las pruebas iniciales y los

resultados de la prueba de eficiencia se presentan en el Cuadro 4 y 5 respectivamente.

Cuadro 4. Pruebas de Eficiencia - Parámetros iniciales.

Muestras	Parámetros in situ				
	Turbidez (NTU)	Color (Pt/Co)	pH	Alcalinidad Total (mg/L $CaCO_3$)	Temperatura (°C)
1	202	10500	7,5	19,7	22
2	1152	34800	7,7	88,5	22
3	1004	31900	7.6	60,6	20
4	964	14700	8,2	36,85	20
5	1912	36000	7,5	79,25	22

De acuerdo a lo anterior se puede observar que a todas las muestras a las cuales se les aplicó el tratamiento, es decir la sustancia coagulante obtenida de la semilla *M. Oleífera* mostraron una mayor remoción residual de los parámetros físicos y químicos, aunque no alcanzaron los valores límites máximos permisibles para vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a sistemas de alcantarillado público dictados por la resolución 0631 de 2015, [24] que exige al menos una remoción de la carga contamínate del 80% para DBO_5, DQO y SST. El uso de esta semilla como coagulante sería una alternativa que brinda mejorías sobre procesos de tratamientos de aguas residuales [27]; es una tecnología de bajo costo, al igual que un método efectivo y de fácil manejo para depurar aguas contaminadas [19, 26]

En el Cuadro 5 se puede observar que de las 5 pruebas realizadas, en la muestra 2 y 8 se obtuvieron los mayores porcentajes de remoción para turbidez y color con un porcentaje de remoción de 85%, y 86,7% respectivamente, siendo esto una constante en diferentes estudios, como el realizado por Petersen H. *et al*, 2016

Cuadro 5. Resultados obtenidos prueba de eficiencia con y sin tratamiento

Variable	Método	Unidad	Prueba 1		Prueba 2		Prueba 3		Prueba 4		Prueba 5	
			M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10
Turbidez		NTU	73	31	804	508	512	440	461	128	1100	608
Color		Pt/Co	6800	700	23400	14460	21300	12900	13100	4788	31400	20500
DBO5	SM5 210B/ SM4 500-OG	mg/L	2037	1620	4300	3221	9180	4110	2940	1707	3120	2884
DQO	SM5 220D Mod	mg/L	5143	3695	3980	6998	22830	11545	7500	5706	9825	8920
SST	SM25 40D	mg/L	509	408	1920	1120	1700	1300	453	520	2300	2633
Coliformes Totales	SM 9223 B	UFC/100 mL (10E+07)	8,1E+07	4,7E+07	6,1E+08	3,2E+07	1,9E+09	5,7E+07	6,7E+08	2,5E+07	8,9E+08	4,4E+07
Coliformes Fecales	SM 9223 B	UFC/100 mL (10E+07)	2,0E+07	1,3E+07	9,7E+07	8,5E+06	4,6E+08	2,6E+07	2,5E+08	3,7E+06	3,2E+08	2,0E+07
% Remoción de Color			64	85	30	56	49	56	52	86	43	68
% de Remoción de Turbidez			35	93	33	58	33	60	11	67	13	43
	sin tratamiento			con tratamiento								

[25], quien en al utilizar la misma semilla en tratamiento de aguas residuales logro obtener altos porcentajes de remoción en turbidez; mientras removió el color desde 14700 y 10500 Pt/Co a valores mínimos de 4788 y 700 Pt/Co, alcanzando porcentajes de remoción de 67,4% y 93% respectivamente. La alcalinidad en estas muestras fue baja, lo que influye directamente en la coagulación de los contaminantes.

A partir de estos resultados se demuestra que el polvo de *M. Oleífera* resulta ser un buen coagulante para remover principalmente color y turbidez en las aguas residuales industriales de matadero, lo que corrobora resultados obtenidos en otros estudios realizados por autores como Freitas, JS; *et al* (2016) [26], en donde se trabajó con aguas fuertemente contaminadas logrado una alta reducción en la turbidez y toxicidad reportada inicialmente. La reducción de químicos en los vertimientos, mejora la calidad ambiental, la calidad de vida y las condiciones sanitarias de las comunidades aguas abajo y por último aumenta la vida útil de la central de sacrificio evidenciándose una mejora en la economía de la empresa.

Según los resultados obtenidos en las pruebas de eficiencia reportados en el Cuadro 6, en términos generales se evidencia remoción y abatimiento de todos los parámetros establecidos para este estudio, obteniendo unos porcentajes para DBO_5 del 55,2%, DQO de 49,4%, SST de 41,7%, siendo estos resultados similares a los obtenidos por Lagasi, J.E. *et al* (2014) [28] quien trabajo con aguas residuales de matadero logrando altos porcentajes de remoción con la semilla *M. Oleífera*, por otra parte se observa que los resultados para Coliformes Totales y Fecales fueron los de mayor relevancia con unos porcentajes de 96,3 y 98,5% respectivamente, lo cual coincide con lo reportado por Shan, T.C. et. al (2016) [29], quien realizó un estudio con las aguas del rio "Sungai Baluk" en Malasia y obtuvo una alta eficiencia en la reducción y prevención del crecimiento bacteriano. La *M. Oleífera* como coagulante muestra una reducción ligeramente visible en la cantidad de partículas en suspensión con un porcentaje que oscila entre 20-41,7% de remoción. Desde el punto de vista de la estadística descriptiva la desviación estándar fue un poca alta, presentando valores que oscilan entre 14 y 27 mg/, esto se debe a que a pesar de que la muestra de agua residual se colectaba en el mismo punto, los altos valores de carga contaminante y características organolépticas cada día eran diferentes, puesto que dependía de la cantidad y tipo de ganado se sacrificaran por día.

Cuadro 6. Variación del Porcentaje de Remoción

Número de Pruebas	Porcentaje (%) de remoción				
	DBO_5 (mg/L)	DQO (mg/L)	SST (mg/L)	Coliformes Totales UFC/100mL	Coliformes Totales UFC/100mL
1	20,5	28,2	19,8	42	35
2	25,1	22,1	41,7	94,8	91,2
3	55,2	49,1	23,5	97	94,3
4	41,9	23,9	14,8	96,3	98,5
5	7,6	9,2	14,5	95,1	93,8
δ	19	14	25	24	27

δ=Desviación Estándar

En este sentido, se puede afirmar que dados los presentes resultados, La *M. Oleífera* resulta un coagulante efectivo en tratamiento de agua de matadero y es una posible alternativa, ya que no deja residuos tóxicos en el agua tratada que pudieran afectar el organismo, dado su origen vegetal [29] y disminuye gran parte de los contaminantes orgánicos presentes en el agua mediante procesos de adsorción. La metodología aquí planteada se puede aplicar en las diferentes áreas rurales o centrales de sacrificio donde no cuenten con plantas de tratamiento o con la tecnología ni la economía adecuada para dichos procesos y que pretendan tener una mejor calidad del agua en sus vertidos al cuerpo receptor, los cuales actualmente representan un gran problema ambiental. Se debe tener en cuenta que la utilización y aplicación de coagulantes de tipos sintéticos o químicos no son rentables ni económicos en volúmenes bajos (baja carga contaminante) [26], restringiendo en estas pequeñas empresas el servicio de tratamiento. No obstante, se recomienda usar este método junto con otros para lograr una mayor eficiencia de remoción y cumplir con la legislación sobre vertimientos para Colombia resolución 0631 de 2015 [24]. Además es necesario realizar un estudio a los lodos que se produce durante el tratamiento de agua utilizando como coagulante la semilla de *M. Oleífera* para así poder determinar qué ventaja, proceso o usos se le pueden hacer a este tipo de residuo sólido, teniendo en cuenta que es una materia prima orgánica y con baja presencia de Coliformes fecales debido a la alta remoción de este parámetro [29], una opción sería elaborar compost.

La purificación de aguas residuales industriales provenientes de plantas de sacrificio de las grandes metrópolis con *M. Oleífera,* debido a su alto contenido de

contaminantes y a los altos caudales que maneja en sus procesos, y por el poco conocimiento que se tiene de la misma viene siendo un poco costosa comparada con los coagulantes químicos, pero conociendo que la utilización de coagulantes químicos tienen una relación estrecha con la enfermedad del Alzheimer poco estudiada aun, pero cierta [9], es aconsejable empezar a utilizar estos métodos naturales.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos utilizando la semillas de *M. Oleífera* como coagulante en el tratamiento de las aguas residuales de la central de sacrificio comprueban la eficiencia en remoción de turbidez y color, dado que se obtuvo con una remoción de turbidez de 86,7% y de color de 93%; lo que demuestra una posibilidad para la aplicación de este coagulante natural a las aguas residuales provenientes de una planta de sacrificio animal.

Se determinó que la *M. Oleífera* disminuye los parámetros DBO_5, DQO, SST, Coliformes Totales y Fecales, alcanzando porcentajes mayores al 90% en remoción de Coliformes Totales y Fecales, y porcentajes entre 20 y 60 % para el resto de contaminantes, aunque no se obtuvieron los valores límites máximos permisibles de todos los contaminantes en cuestión para vertimientos puntuales a cuerpos de aguas superficiales y a sistemas de alcantarillado público dictados por la Normatividad Colombiana actual vigente como lo es la resolución 0631 de 2015, la utilización de esta semilla como coagulante viene siendo un método efectivo para utilizarlo como complemento para estos procesos y más aún para lugares donde no cuentan con la tecnología ni la economía adecuada para dichos procesos.

Uno de los aspectos importantes que tiene la *M. Oleífera* como sustancia coagulante es que se puede aplicar directamente en una planta de tratamiento de agua residual, sin necesidad de corregir o ajustar el pH del agua durante el proceso de coagulación/floculación.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la central de sacrificio de la ciudad de Popayán, Departamento del Cauca, por permitir el ingreso a sus instalaciones y colaborar con el desarrollo de esta investigación, como también a la Corporación Universitaria Autónoma del Cauca quien apoyó económicamente para que se ejecutara este proyecto enmarcado en las convocatorias internas de investigación. Adicionalmente se agradece al Sistema General de Regalías (SGR), proyecto Innovación Cauca y a Universidad del Cauca, por su apoyo en la publicación del presente estudio.

REFERENCIAS

[1] VILABRILLE, F. “El Agua, el recurso más importante para la vida”. [on line]. 2012. Disponible: http://blogs.periodistadigital.com/faustino-vilabrille.php/2012/09/29/el-agua-el-recurso-mas-importante-para-l. [Citado 8 de Noviembre de 2015].

[2] CIAPACOV, “La falta de agua”. [on line]. 2015. Disponible: http://ciapacov.gob.mx/Cultura/FaltadeAgua.php. [Citado 10 de Noviembre de 2015.]

[3] OKUDA, T; *et al*. Insolation and characterization of coagulant extracted from *Moringa oleífera* seed by salt solution. Water Research, 35, 2001, p. 405–410.

[4] DE PAULA, H., SANGOI DE OLIVEIRA, M., and ANDRADE, S.L. Concrete plant wastewater treatment process by coagulation combining aluminum sulfate and Moringa oleifera powder. Journal of Cleaner Production, Volume 76(1), 2014, p. 125-130

[5] REAL-OLVERA, J. *et al*. Adsorption of organic pollutants from slaughterhouse wastewater using powder of Moringa oleifera seeds as a natural coagulant. Desalination and Water Treatment, 57(21), 2015, p. 9971-9981

[6] NHARINGO, T. and MOYO, M. Application of *Opuntia ficus-indica* in bioremediation of wastewaters. A critical review. Journal of Environmental Management. 166, 2016, p 55-72.

[7] FERIA D, J.J., BERMUDEZ, R, S., y ESTRADA T, A. M. Eficiencia de la semilla *Moringa Oleífera* como coagulante natural para la remoción de la turbidez del río Sinú. Revista Producción más Limpia, 9 (1), 2014, p. 9-22.

[8] MARICHAMY, & RAMASAMY. Modelling the kinetics of coagulation process for tannery industry effluent treatment using *Moringa oleifera* seeds protein. Desalination and Water Treatment, 57(32), 2015, p. 14954-14964

[9] PEREIRA, C.F., *et al.* The use of *Moringa oleifera* as a natural coagulant in surface water treatment. Chemical Engineering Journal, 313, 2017, p. 226-237

[10] KATAYON, S. *et al*. Effects of storage conditions of *Moringa oleifera* seeds on its performance in

coagulation. Bioresource Technology. 97, 2006, p. 1455–1460.
[11] FORMENTINI-SCHMITT, D. *et al*. Ultrafiltration Combined with Coagulation/Flocculation/Sedimentation Using *Moringa oleifera* as Coagulant to Treat Dairy Industry Wastewater, Water, Air & Soil *Pollution*, 224(9), 2013, p 1-10
[12] VILLARREAL, G, Al., Y ORTEGA, K.J. Revisión de las características y usos de la planta *Moringa oleífera*. Revista investigación y desarrollo, 22 (2), 2014, p. 309-330.
[13] BHATIA, S., OTHMAN, Z., and AHMAD, A. L., Pretreatment of palm oil mill effluent (POME) using *Moringa oleifera* seeds as natural coagulant. Journal of Hazardous Materials*,* 145, 2007, p. 120–126.
[14] MATOS, E.; *et al*. Evaluación de la eficiencia de un reactor por carga secuencial tratando aguas residuales provenientes de un matadero de reses. Revista de la Facultad de Ingeniería U.C.V., 29 (3), 2014, p. 7-16.
[15] CARRASQUERO S.J; *et al*. Nutrients removal from slaughterhouse wastewater using a sequencing batch reactor. Ciencía e Ingeniería Neogranadina, 25 (2), 2015, p. 43-60,
[16] INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES IDEAM. Protocolo para toma de muestras de aguas residuales*.* [Online], 2016. Disponible: http://www.ideam.gov.co/documents/14691/38158/Toma_Muestras_AguasResiduales.pdf/f5baddf0-7d86-4598-bebd-0e123479d428. [06/06/2016].
[17]APHA, AWWA & WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater, 21 st ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2005.
[18] GARCIA, F. B. *et al*. *Moringa oleifera* for drinking water treatment: influence of the solvent and method used in oil-extraction on the coagulant efficiency of the seed extract. Journal Desalination and Water Treatment, 57, 2016, p 5-8
[19] BICHI, M. H. *et al*. Effect of Extraction Method on the Antimicrobial Activity of *Moringa Oleifera* Seeds Extract; Journal of American Science, 8(9), 2012.
[20] CHETHANA M. *et al*. Green approach to Dye Wastewater Treatment using Biocoagulants. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 138(12), 2016, p. 14954-14964
[21] ABDUL, H.S.H. *et al*. A study of coagulating protein of *Moringa oleifera* in microalgae bio-flocculation. Challenges in Environmental Science and Engieering, 113, 2016, p. 310-317
[22] NDABIGENGESERE A. NARASIAH, K.S. and B.G. TALBOT. Active Agents and Mechanism of Coagulation of Turbid Waters Using *Moringa oleifera*. Water Research, 29 (2), 1995. p. 703-710.
[23] CARVALHO BONGIOVANI, M. *et al*. Improvement of the coagulation/flocculation process using a combination of *Moringa oleifera* lam with anionic polymer in water treatment. Environmental Technology, 35(17), 2014, p. 2227 – 2236.
[24] COLOMBIA MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL, MAVDT. Resolución 0631 de 2015. Parámetros y límites permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de agua superficiales. Bogotá (Colombia): 2015
[25] PETERSEN, H. H. *et al*. Wastewater treatment with *Moringa oleifera* seed extract: Impact on turbidity and sedimentation of *Cryptosporidium parvum oocysts*. 5th International Giarda and Cryptosporidium Conference - Uppsala, Sweden, 2014, p 1.
[26] FREITAS, JS. *et al*. Evaluation of using aluminium sulfate and wáter- soluble Moringa oleifera seed lectin to reduce turbidity and toxicity of polluted stream water. Chemosphere, 163, 2016, p 133-141.
[27] CHEN, Y. *et al*. Effects of Al-coagulant sludge characteristics on the efficiency of coagulants recovery by acidification. Environmental Technology, 33(22), 2012, p 2525 -2530.
[28] LAGASI, J.E., AGUNWAMBA, J.C., and AHO, M. Comparative studies on the use of ordinary and De-Oiled *Moringa Oleifera* in the treatment of abattoir wastewater. The International Journal of Engineering and Science*,* 3(2), 2014, p. 1-7.
[29] SHAN, T.C., MATAR, M.A., MAKKY, E.A., *et al*. The use of *Moringa oleifera* seed as a natural coagulant for wastewater tretment and heavy metals removal. Appl water sci., 2016, p.1-7
[30] RESTREPO, O.H. Evaluación del proceso de coagulación – floculación de una planta de tratamiento de agua potable. Universidad Nacional de Colombia [Online]. 2009. Disponible: http://www.bdigital.unal.edu.co/877/1/15372239_2009.pdf [citado 10 noviembre de 2015]

 doi: http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(Edición Especial)40-48 ISSN - 1692-3561 | ISSN - 1909-9959 Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial Edición Especial No. 1 (40-48) Enero _ Junio 2017

ESTANDARIZACIÓN DE UN PROTOCOLO in vitro PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE *Eichhornia crassipes* CON *Neochetina* (Coleoptera: *Curculionidae*)

PADRONIZAÇÃO DE UM PROTOCOLO in vitro PARA O CONTROLE BIOLÓGICO DE *Eichhornia crassipes* COM *Neochetina* (Coleoptera: *Curculionidae*)

STANDARDIZATION OF AN in vitro PROTOCOL FOR THE BIOLOGICAL CONTROL OF *Eichhornia crassipes* WITH *Neochetina* (Coleoptera: *Curculionidae*)

DIANA MILENA MUÑOZ-SOLART[1], LICETH ALEJANDRA ANTE[2]

RESUMEN

Las malezas acuáticas representan un gran problema en los cuerpos de agua, el control biológico con Neoquetinos es una alternativa para su erradicación. Este estudio muestra la estandarización de un protocolo in vitro para el control biológico de Eichhornia crassipes (buchón de agua) con Neochetina bruchi y Neochetina eichhorniae, en condiciones de temperatura (24 y 26°C), humedad, ventilación, iluminación y tiempo. El experimento se realizó en vasos de plástico para facilitar el apareamiento de las especies. Se trabajó con 20 parejas de insectos del género Neochetina, distribuidas equitativamente en los vasos, cada vaso con 15 g (tres porciones de lámina foliar de 5 g); se contó marcas de alimentación cada ocho días durante todo el ciclo biológico (11 semanas in vitro). Los resultados muestran alimentación eficiente en los organismos de ambas especies con respecto al

Recibido para evaluación: 30 de Noviembre de 2016. **Aprobado para publicación:** 12 de Marzo de 2017.

1 Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, Facultad de Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible, Grupo de Investigación en Tecnología y Ambiente (GITA), Magister en Biología, Popayán, Colombia.

2 Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, Facultad de Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible, Ingeniera Ambiental y Sanitaria, Popayán, Colombia.

Correspondencia: diana.munoz.s@uniautonoma.edu.co

tiempo. N. bruchi mostró mayor eficiencia en el control biológico durante la etapa experimental, con mayor significancia estadística (p < 0,05) a partir de los 48 días en alimentación, comparada con N. eichhorniae. Considerando el ciclo biológico se logró establecer tiempos de desarrollo por fase in vitro para cada especie. La especie N. bruchi fué más eficiente en adaptación y generación de marcas de alimentación que la N. eichhorniae con un p < 0,05 in vitro.

RESUMO

Plantas aquáticas são um grande problema em corpos d'água, controle biológico com Neoquetinos é uma alternativa para a erradicação. Este estudo mostra a padronização de um protocolo in vitro para o controle biológico de Eichhornia crassipes (aguapé) com Neochetina bruchi e Neochetina eichhorniae sob condições de temperatura (24 e 26 ° C), umidade, ventilação, iluminação e tempo. A experiência foi realizada em copos de plástico para facilitar o acoplamento das espécies. Nós trabalhamos com 20 casais de insetos do gênero Neochetina, distribuídos nos óculos, cada vidro com 15 g (três porções de 5 g lâmina de folha); marcas de alimentos em oito dias contados ao longo do ciclo de vida (11 semanas in vitro). Os resultados mostram alimentação eficiente em ambas as espécies de organismos ao longo do tempo. N. Bruchi mostrou maior eficácia no controle biológico durante a fase experimental, com maior significância estatística (p <0,05) a partir de 48 dias de alimentação, em comparação com N. eichhorniae. Considerando o ciclo biológico é sucesso em estabelecer o tempo de desenvolvimento de fase in vitro para cada espécie. N. bruchi espécies foi mais eficiente marcas de adaptação e de geração de energia a N. eichhorniae com p <0,05 in vitro.

ABSTRACT

Aquatic weeds represent a major problem in water bodies, biological control with Neoquetinos is an alternative for their eradication. This study shows the standardization of an in vitro protocol for the biological control of Eichhornia crassipes (water buchon) with Neochetina bruchi and Neochetina eichhorniae, under conditions of temperature (24 and 26ºC), humidity, ventilation, lighting and time. The experiment was carried out in plastic vessels to facilitate the mating of the species. Twenty pairs of insects of the genus Neochetina were distributed evenly in the vessels, each vessel with 15 g (three parts of 5 g leaf); Feed marks were counted every eight days throughout the life cycle (11 weeks in vitro). The results show efficient feeding in the organisms of both species with respect to the time. N. bruchi showed greater efficiency in the biological control during the experimental stage, with a higher statistical significance (p <0,05) from 48 days in feed, compared to N. eichhorniae. Considering the biological cycle it was possible to establish development times per phase in vitro for each species. The N. bruchi species was more efficient in adapting and generating food marks than N. eichhorniae with a p <0,05 in vitro.

PALABRAS CLAVE:
Control biológico, *Neochetina bruchi*, *Neochetina eichhorniae,* Ciclo biológico, Maleza acuática, *In vitro*.

PALAVRAS-CHAVE:
Controle biológico, *Neochetina bruchi*, *Neochetina eichhorniae,* Ciclo biológico, Plantas aquáticas, *in vitro*.

KEYWORDS:
Biological control, *Neochetina bruchi*, *Neochetina eichhorniae,* Biological cycle, Aquatic weed, *in vitro*.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Edición Especial No. 1 (40-48) Enero _ Junio 2017

INTRODUCCIÓN

Algunas especies vegetales son consideradas malezas acuáticas, debido a la fácil adaptación en el proceso de evolución biológica.

La especie vegetativa *E. crassipes* es considerada entre las 100 especies más invasoras del mundo por la Unión Mundial para la Naturaleza (UICN) [1], al ser introducida intencional o accidentalmente fuera de su ámbito natural, es considerada maleza acuática por su rápido crecimiento, reproducción, y dispersión mediante diferentes mecanismos en el agua, lo cual ha permitido su extensión, introduciéndose en diferentes partes del mundo [2,3]. La intensidad de propagación por el medio acuático, puede resultar en la duplicación del área infestada cada 6 a 15 días [4].

A nivel nacional se ha encontrado Buchón de agua en lagos, ríos, y grandes embalses en departamentos como Cundinamarca y Antioquia, afectando la calidad y volumen de sus aguas [5,6], las cuales son utilizadas como potencial eléctrico para la región; considerando ésta situación un problema, ya que en el momento no existe un control adecuado y oportuno de la planta, se ha realizado por método químico mediante aplicación de herbicida, método manual, mecánico, empleo de maquinaria acuática (cosechadora), botes para desplazamiento y manipulación de barreras, así como extracción y secado en las orillas del embalse. Las anteriores acciones implicaron grandes inversiones y pocos resultados. La situación se agravó con la proliferación de vectores que afectaron la salud pública de la comunidades aledañas [4].

Para mantener el buchón de agua en niveles que no ocasionen alteraciones ambientales en los cuerpos de agua, se sugiere como alternativa viable el control biológico con especies identificadas como enemigos naturales, que para el caso del presente estudio corresponde a los insectos del género *Neochetina,* los cuáles resultan eficientes respecto a otras especies que han sido estudiadas, por su alta especificidad en alimentación, *N. eichhorniae* junto con *N. bruchi,* están siendo utilizadas como agentes de control biológico de *Eichhornia crassipes* en áreas nativas y no nativas [5,6,7,8,9]. Según referentes encontrados hasta el momento, en Colombia se cuenta con poca información respecto al tema, no existen protocolos de establecimiento de especies para control biológico de malezas acuáticas de carácter invasivo.

Teniendo en cuenta la problemática, la estandarización del protocolo de control biológico del Buchón de agua por medio de insectos se considera muy pertinente a nivel local y/o nacional; debido a que este problema existe en diferentes entornos. Además de constituirse como una alternativa diferente a la forma convencional para su control, por lo tanto el control biológico del *E. crassipes* (Buchón de agua), por medio del uso de insectos de especie *N. eichhorniae* y *N. bruchi*, es fundamental al permitir reducir los niveles de propagación de la planta, permitiendo mejorar y conservar el recurso hídrico.

En éste contexto, el presente estudio tiene como objetivo estandarizar un protocolo de eficiencia *in vitro* para el control biológico de *E. crassipes* con las especies *N. eichhorniae* y *N. bruchi,* de ésta manera ofrecer una alternativa innovadora, viable, económica para el control de malezas acuáticas y mejora de las condiciones ambientales del entorno como de la calidad de vida de la población aledaña a fuentes Hídricas. Para lograr el objetivo, se evaluaron las siguientes variables reportadas en referencias [3,10,11]; marcas de alimentación en lámina foliar, deterioro y/o reducción de la planta en relación al tiempo, establecimiento de tiempo de duración de cada fase del ciclo biológico de las dos especies de Neochetina.

MÉTODO

El diseño experimental se basó en un diseño de bloques aleatorizados con repeticiones, el experimento se orientó en vasos de plástico para facilitar el apareamiento de las especies. Se trabajó con 20 parejas de insectos del género *Neochetina*, distribuidas equitativamente en los vasos. Las variables fueron de tipo nominal y cuantitativo; la prueba estadística aplicada fue prueba de *chi-cuadrado- análisis independiente*; al considerar que los datos son no paramétricos y no se ajustaron a la curva de normalidad. El análisis estadístico se realizó con el paquete BioEstat V5,0.

Determinación de las condiciones *in-vitro* para la adaptación de los estadios que conforman el ciclo biológico del género *Neochetina*

Cultivo de *E. crassipes* en tinas de plástico. En el laboratorio de bioensayos de la Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, se instaló reservorio con plantas de buchón de agua. La recolección se realizó mensualmente en la quebrada la Monja del barrio nuevo Japón (Popayán-Cauca). Las plantas se instalaron

en diez recipientes de plástico con capacidad de 5L, distribuyéndose equitativamente en cada uno de ellos. Semanalmente se efectuó la revisión del cultivo del buchón, para su respectiva desinfección [12].

Obtención y caracterización de la colonia de especie Neochetina. Los insectos de género *Neochetina se* encontraron en unos estanques de agua en el municipio de Villa Rica-Cauca (Latitud: 3,128742; longitud: -76,442665), luego de ser capturados, se llevaron al laboratorio de bioensayos de la Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, se proporcionó calor mediante un calefactor que generó una temperatura *in vitro* entre 20 y 24°C, para facilitar su adaptación, según protocolo sugerido en referencias [3,10,13].

En el laboratorio de microscopia electrónica de la Universidad del Cauca, mediante el uso de un estereoscopio Nikon Modelo C-DSS 115 con cámara digital sight Ds-2 Mv; se identificó las características morfológicas generales de los insectos, tales como como cabeza, tórax, abdomen, élitros y patas, para confirmar especies y género (hembra y macho).

Manutención de la colonia de las especies *Neochetina* sobre el Buchón de agua (*Eichhornia crassipes*). En el laboratorio de Bioensayos de la Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, se realizó el establecimiento para analizar la adaptación de los insectos, teniendo en cuenta condiciones como temperatura, humedad, iluminación, alimentación y conservación de las especies en su hábitat. El desarrollo experimental se realizó en 20 vasos plásticos de siete onzas cada uno con su respectiva colonia de especímenes, a una temperatura entre 20 y 24°C con la implementación de tres bombillas tipo incubadora, lo cual gradualmente se fue disminuyendo hasta lograr la adaptación a condiciones ambientales de Popayán (Cauca), temperatura entre 18 y 24°C [14].

Ciclo biológico de las especies *Neochetina* a 20-24°C. Se caracterizó cada una de las fases del ciclo biológico de las dos especies para determinar su tiempo de duración en condiciones *in vitro*, las cuales se describen a continuación.

Cópula. Se garantizó que los vasos tuvieran algodón húmedo en el fondo, tres láminas foliares de buchón, dos en las paredes del vaso y una sobre el algodón, se realizó un corte transversal de peciolo de 3 cm de longitud, tapa en lycra para permitir el ingreso del aire. Durante la ovoposición se observaron las hembras por medio del microscopio estereoscópico, se colocó el trozo de peciolo de 3 cm con corte transversal en una caja de petri para que la hembra ovopositara en este corte.

Incubación. Con una pinza entomológica se extrajeron los huevos del tejido esponjoso del peciolo. Se contaron uno a uno a medida que se fueron ubicando en un nuevo corte de peciolo sano. Se revisó el corte transversal del peciolo examinando el estado en el que se encontraban los huevos colocados por la hembra hasta su eclosión.

Desarrollo Larval. Se reconocieron en el desarrollo larval de éste género tres instares: *Primer y Segundo Instar*: Las larvas se midieron para conocer su tamaño. Se realizó cambio del tejido vegetal, cada cinco días, para evitar daño por descomposición del tejido esponjoso del peciolo o en su defecto por contaminación por el excremento que poco a poco dejaba la pareja de insectos. *Tercer Instar*. Las larvas se conservaron en el corte del peciolo alrededor de 15 días para su alimentación. Luego se trasladaron a la corona y algunas al estolón de las plantas de buchón en los acuarios, método sugerido en [2, 3,15].

Evaluación de la eficiencia de *N. bruchi* y *N. eichhorniae* en el control biológico del Buchón de agua en condiciones de laboratorio. Se tuvo en cuenta como principal criterio de eficiencia, que indica control biológico el número de insectos, número de marcas de alimentación sobre las plantas, se cuantificó y analizó el número de plantas afectadas en relación con el tiempo cada ocho días, se tuvo en cuenta una por una las mordeduras de la lámina foliar y del peciolo que habían realizado los insectos para su alimentación [2]. Número de marcas de alimentación por área en lámina foliar. Se cuantificó teniendo en cuenta que cada lámina foliar presenta un diámetro promedio de 150 mm^2 y un peso promedio de 5 g.

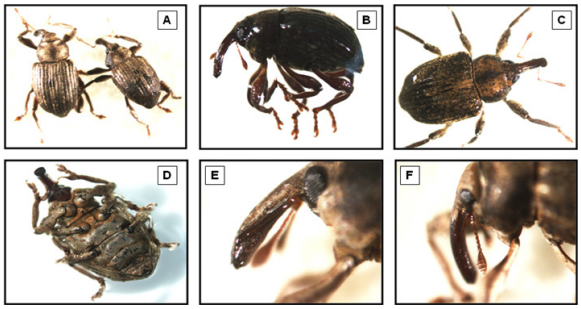
RESULTADOS

Obtención y caracterización de la colonia de especie *Neochetina*

Los 122 organismos de las dos especies de *Neochetina* colectadas en Villa Rica (Cauca) con temperatura entre 26 y 28 °C, fueron adaptados paulatinamente a condiciones de Popayán (Cauca), con temperatura entre 18 y 24°C, lograndose un porcentaje de adaptación de especies en 15 dias del 92% del total de insectos.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Edición Especial No. 1 (40-48) Enero _ Junio 2017

Figura 1. Identificación Morfológica del género Neochetina. (A) Hembra y macho de la especie N. bruchi en vista ventral, (B) Hembra de la especie N. eichhorniae en vista lateral, (C) Vista ventral del macho, (D) Hembra en vista dorsal, (E) Trompa macho, (F) Trompa hembra. Fotografías tomadas por el estereoscopio Nikon Modelo C-DSS 115 con cámara digital sight Ds-2 Mv, Laboratorio de microscopia electrónica-Universidad del Cauca.



Despues del tiempo de adaptación se realizó el análisis de caracteristicas morfológicas (Figuras 1) con el estereoscopio especializado del laboratorio de microscopia electrónica de la Universidad del Cauca. Se identificó la especie, sexo y morfología, teniendo en cuenta características del rostrum indicando que: la especie de *N. bruchi* son de color pardo claro y la especie de *N. eichhorniae* son de color pardo oscuro. Los machos se caracterizan por tener un rostrum corto, cilíndrico y casi recto, más ancho y robusto desde la inserción de la antena hasta el ápice; está ligeramente comprimido, curvado hacia abajo y brillante (Fig. 1); mientras que el rostrum de las hembras, es más grande, uniformemente curvado y casi todo es cilíndrico, ancho y robusto desde la base hasta el ápice; brillante y glabro desde el frente de los ojos hasta el ápice; las hembras de las dos especies siempre fueron más grandes y voluminosas llegando a medir entre 4,52 mm y 4,64 mm. Con relación a los machos, estos fueron más cortos y pequeños con una medida de 4,05 mm a 4,20 mm.

Caracterización del ciclo biológico de *N. eichhorniae y N. bruchi en condiciones in vitro*. En cuanto a la Oviposición, como se muestra en las Figuras 2 y 3, a los ocho a diez días se generó el mayor número de ovoposiciones para los dos especies, que al compararlas, se muestra un $p < 0{,}005$, lo que soporta las diferencia significativa en el proceso de desarrollo entre *N. bruchi y Neochetina eichorniae,* considerándose *N. bruchi,* más eficiente en ovipositar bajo condiciones *in vitro*.

Figura 2. Incubación y Eclosión de huevos de *Neochetina.* **(A)** Incubación de huevos en tejido esponjoso del peciolo, **(B)** Huevos cerca de eclosionar, **(C)** Larva recién emergida del huevo, **(D)** Huevo desarrollado.

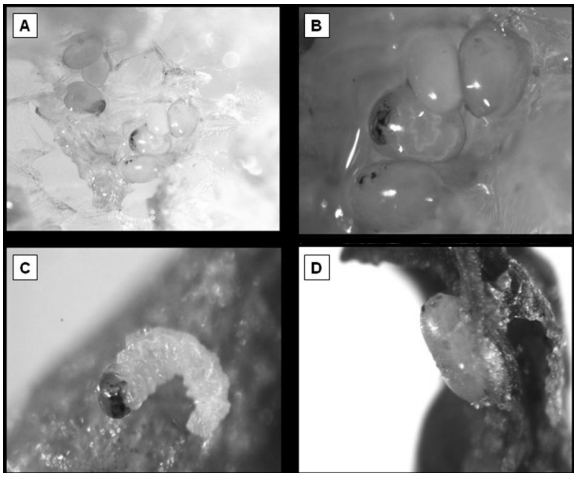
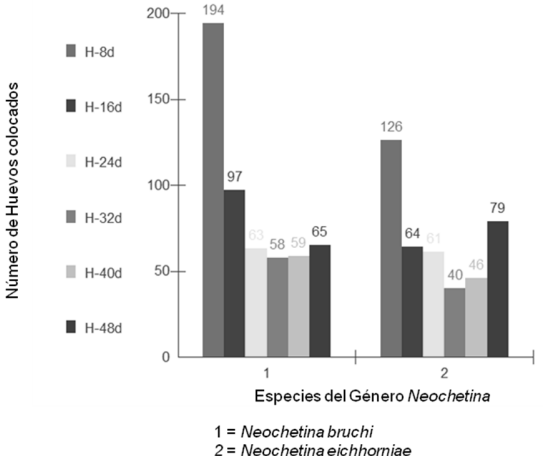


Figura 3. Número de Huevos de los insectos del genero *Neochetina.*



Los resultados de la Figura 4 en relación al desarrollo larval, evidencian una diferencia significativa $p = 0{,}0025$ en el número de larvas de cada uno de los tres instares y en el desarrollo del proceso entre las dos especies *N. bruchi* y *Neochetina eichorniae* $p < 0{,}005$; en relación con el tiempo las larvas fueron disminuyendo tanto en una especie como en la otra, de acuerdo a cada instar, mostrando disminución en relación con el tiempo. *N. bruchi* presentó mayor eficiencia en el desarrollo larval. En relación a desarrollo de las pupas, se realizó en las raíces de las plantas de los acuarios bajo una temperatura ambiental natural de la

Figura 4. Número de Larvas Desarrolladas en cada Instar.

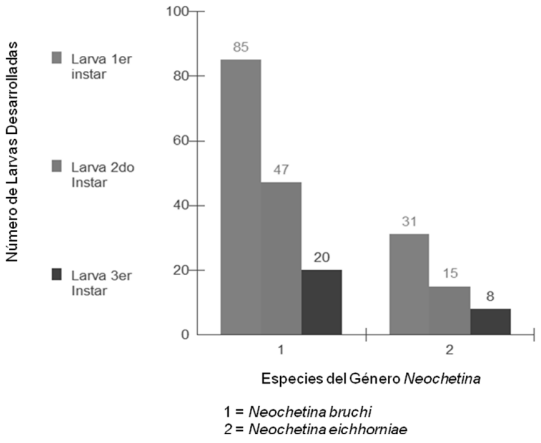
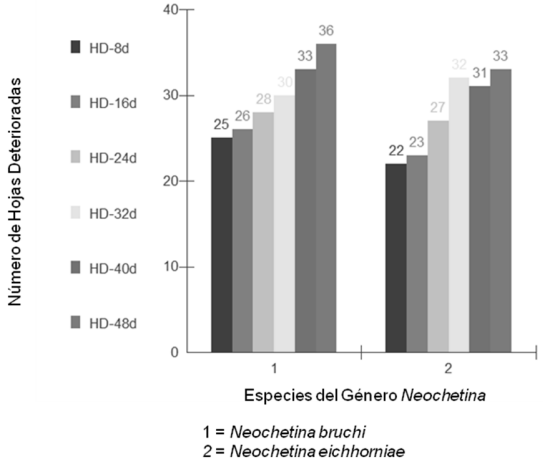


Figura 6. Número de Hojas Deterioradas con relación al Tiempo.

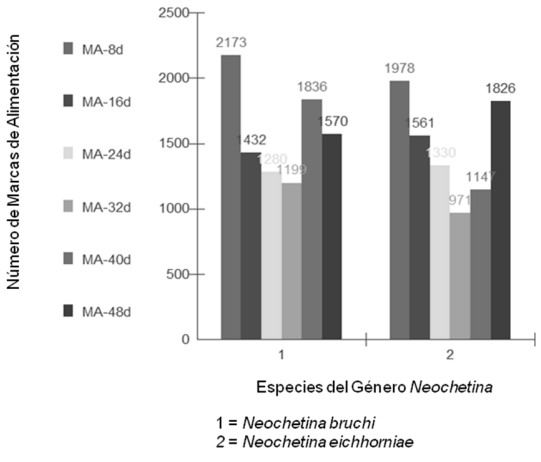


ciudad entre 18 y 24ºC. Principal factor al cual se debe la disminución paulatina de los diferentes procesos de desarrollo de los insectos [1].

Evaluación del comportamiento y la eficiencia del género *Neochetina* para el control biológico del Buchón de agua en condiciones de laboratorio

De las 20 parejas de *Neoquetinos*, los resultados muestran un $p < 0{,}005$ de significancia estadística, entre marcas de alimentación de *N. bruchi* y *Neochetina eichorniae* durante 48 días, mostrándose mayor eficiencia de alimentación en la especie *N. bruchi* (Figura 5). De acuerdo al gráfico se puede determinar que las dos especies en los primeros ocho días, consumieron más lámina foliar con relación a los siguientes días, esto pudo ser causa de estrés generado en los organismos en el trascurso de acondicionamiento a su nuevo habitat y nuevas condiciones ambientales. La especie que mayor marcas y deterioro generó en las hojas fué *N. bruchi.*

Figura 5. Número de marcas de alimentación en lámina foliar.



La Figura 6, muestra una significancia estadistica $p = 0{,}0023$ en cuanto la relación entre el Número de hojas deterioradas y tiempo, es decir que existe una relación directamente proporcional entre dichas variables en las dos especies del género *Neochetina*, relación que confirma la hipotesis, a mayor tiempo mayor número de hojas deterioradas, nuevamente *N. bruchi* muestra mayor eficiencia con un número total de 36 hojas dañadas por marcas de alimentación.

Los resultados expresados en el Cuadro 1, muestran una diferencia significativa entre el área dañada en la lámina foliar entre las dos especies, evidenciándose como la especie más eficiente la *N. bruchi* al deteriorar mayor área promedio en hoja del Buchón de agua (*Eichhornia crassipes*).

Los resultados relacionados con análisis morfofisiológico y conteo que se realizó en el laboratorio de microscopia electrónica de la Universidad del

Cuadro 1. Área total dañada (mm2) en hoja del Buchón de agua (*Eichhornia crassipes*).

Especies	Área dañada (mm²) Hoja (150 mm²/ vaso)	Valor p
N. bruchi (N=20)	148,32 + 8,38	<0,005
N. eichorniae (N=20)	127,53 + 6,25	

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Edición Especial No. 1 (40-48) Enero _ Junio 2017

Cauca, coinciden con los criterios morfologicos de caracterización de Neochetinos reportados en referentes [1, 5, 6, 7, 16] permitiendo identificar y cerciorar las características generales de las dos especies *N. bruchi* y *N. eichhorniae*, colectadas por medio de fotografías ventrales, laterales y dorsales de los organismos.

En las diferentes fases del ciclo biológico de las dos especies se presentó un desarrollo adecuado en relación con el tiempo, en cuanto a la Ovoposición, el incremento de numero de ovoposiciones se debió al estrés que se genera por el cambio a entorno *in vitro*, los insectos en su afán de preservación de su especie, ovopositaron en mayor cantidad durante los primeros días, luego mantuvieron un numero de ovoposiciones promedio en los días restantes, como se ha evidenciado en otros estudios [17,18]. Comparando las dos especies, se muestra un $p < 0{,}005$, considerándose *N. bruchi,* más eficiente en ovopositar bajo condiciones *in vitro*, esto debido a su adaptación más eficiente bajo estas condiciones*,* presentándose el mismo comportamiento como lo reportan en el documento de biología y comportamiento de las especies del género *Neochetina* [2,19].

La diferencia significativa $p < 0{,}005$, en el desarrollo larval de cada uno de los tres instares y la disminución en el desarrollo del proceso se evidenció en las dos especies *N. bruchi* y *N. eichhorniae*, mostrando dificultades para adaptarse [3], como se reporta en otros estudios [2, 3, 20, 21, 22], en donde se trabaja con un métodos *in vitro* e *in situ*, en estos estudios sugieren el control del proceso a largo plazo (dos a cuatro años) hasta lograr su adaptación completa, por lo tanto se analizan factores de desarrollo por más tiempo y en plantas completas de buchón de agua sin alteración de su hábitat; así que se sugiere para próximos estudios continuar con la adaptación y el monitoreo *in situ*.

En el estudio, el desarrollo de las pupas se realizó en las raíces de las plantas de los acuarios bajo una temperatura ambiental natural de la ciudad entre 18 y 22°C. Principal factor al cual se debe la disminución paulatina de los diferentes procesos de desarrollo de los insectos [13]. Comparado con otros estudios en los que las pupas se tuvieron en un invernadero de control biológico durante 30 días, después de transcurrido este tiempo emergieron los nuevos organismos, mientras que en éste estudio emergieron pocos organismos [3,13].

De las 20 parejas de *Neoquetinos*, los resultados muestran un $p < 0{,}005$ de significancia estadística, entre marcas de alimentación de *N. bruchi* y *N. eichhorniae* durante 48 días, mostrándose mayor eficiencia de alimentación en la especie *N. bruchi*. Las dos especies en los primeros ocho días *in vitro* consumieron más lámina foliar con relación a los siguientes días, esto se debió al estrés generado en los organismos en el trascurso de acondicionamiento a su nuevo habitat y nuevas condiciones ambientales. La especie que mayor marcas y deterioro generó en las hojas fue *N. bruchi,* constituyéndose como la especie más eficiente para realizar estudios en campo de control biológico de buchón de agua en condiciones *in vitro*, ya que de acuerdo a referencias como [2,13, 21,23,24,25,26,27,28] se obtiene buenos resultados con esta especie al trabajar en temperaturas entre 20 y 25°C, pero también es muy resistente a temperaturas más bajas entre los 15 y 20°C; como se presentó en nuestro estudio: temperatura in-vitro inicial entre 20 y 24°C, paulatinamente se fue disminuyendo y finalmente se dejó solo la temperatura ambiental de Popayán entre 18 y 20°C.

En cuanto la relación número de hojas deterioradas y tiempo, la diferencia significativa generada en los resultados, confirma la hipótesis, es decir que existe una relación directamente proporcional entre dichas variables en las dos especies del género *Neochetina*, A mayor tiempo mayor número de hojas deterioradas, debido a los proceos de adaptación natural para ambas especies; *N. bruchi* mostró mayor eficiencia de adpatación en cuanto un número total de 36 hojas dañadas por marcas de alimentación y en cuanto al área promedio en hoja del Buchón de agua (*Eichhornia crassipes*), este comportamiento eficiente se debió a la mayor capacidad de adaptación de *N. bruchi* a las condiciones climáticas e *in vitro* a la que fue expuesta, ya que *N. bruchi* se considera un excelente controlador biológico a temperatura más bajas que *N. eichhorniae* [10].

Al analizar los resultados del estudio se puede evidenciar diferencias en la eficiencia de control biológico de los agentes controladores *N. bruchi y N. eichhorniae,* las dos especies presentan en su momento comportamientos diferentes, no hay competencia de alimentación entre ellos, resultados que se comparan y se soportan con estudios reportados por el Control biológico de maleza acuática [2,29,30,31], en los cuáles se logra reducir en un 85% la presencia del buchón de agua en los cuerpos hídricos, en nuestro estudio se redujo de un 90 a 95% el área afectada por marcas de alimentación.

CONCLUSIONES

Se estableció un protocolo *in vitro* para el control biológico de buchón de agua con *N. eichhorniae* y *N. bruchi.*

La especie *N. bruchi* fue más eficiente al mostrar un mejor resultado de adaptación, en los diferentes estadios de desarrollo de los insectos; copula, ovoposición, desarrollo larval, que *N. eichhorniae* realizó, esto se debió a que *N. bruchi* se adapta *a* temperaturas entre 18 y 22°C y *N. eichhorniae a* temperaturas un poco más altas entre 24 y 28°C.

Existe una relación directamente proporcional entre marcas de alimentación y tiempo (48 días), es decir a mayor tiempo, mayor número de marcas de alimentación en ambas especies de *Neochetina*. Se identificó que especialmente las parejas de la especie *N. bruchi* logró dañar 148,32 mm^2/ la lámina foliar durante 48 días.

Teniendo en cuenta éste protocolo de adaptación *in vitro*, se puede aplicar control biológico *in situ* para controlar la proliferación excesiva de las malezas acuáticas en los cuerpos hídricos por medio del control biológico generaría un gran impacto socio-económico, ya que la relación costo/beneficio es muy favorable, reduciendo los problemas generados en las centrales eléctricas, en los canales de irrigación, en las represas, minimizando los índices de inundaciones, favoreciendo la pesca y navegación y mejorando las condiciones del desarrollo y el bienestar de la población.

Con este tipo de investigaciones se puede incentivar a la comunidad académica e investigativa y a las entidades que controlan y vigilan el ambiente (Corporaciones autónomas, entre otros) en nuestro país, a adelantar más estudios relacionados respecto al control biológico de malezas acuáticas, reduciendo el uso de plaguicidas y maquinaria pesada el cual afecta significativamente a los cuerpos hídricos.

AGRADECIMIENTOS

A la Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, por el apoyo para la ejecución del proyecto. Al Doctor Jorge Tabares, por su colaboración con la ubicación de los insectos en Colombia. Al Doctor Jimmy Guerreo por colaboración para el análisis estadístico. Al Biólogo Miller Guzmán, por la colaboración en el análisis morfológico de las especies.

REFERENCIAS

[1] VERDEJO, E., PALMERÍN, J., AIBAR, J., CIRUJEDA, A., TABERNER, A. y ZARAGOZA, C. Plantas invasoras: El lirio de agua, *E. crassipes* (Martius) Solms & Laubanch. (Madrid): Ministerio de Agricultura, Pesca y alimentación, secretaria general técnica, 2006, 8 p.

[2] BOJÓRQUEZ, G. y AGUILAR, J. Control biológico de maleza acuática. México D.F. (México): 2014, 14p

[3] MARTÍNEZ, O. Biología y comportamiento de N. eichhorniae (Warner) (Coleoptera: *Curculionidae: Erirhininae*) en condiciones de laboratorio [Tesis Maestro en Ciencias). Montecillo (México): Colegio de posgraduados, Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Campus Montecillo, 2011, 84 p.

[4] INSUASTY, A. What is happening with the water in the el Aburra Valley? Ágora U.S.B., 16(1), 2016, p. 2-5.

[5] MARTÍNEZ, O., ESTRADA, E., EQUIHUA, A. y VALDEZ, J. Morfología de *N. eichhorniae* (warner) (coleoptera: *curculionidae*). Acta Zoológica Mexicana, nueva serie, 2014, p. 247-267.

[6] NEWETE, S., ERASMUS, B., WEIERSBYE, I., CHO, M. and BYRNE, M. Hyperspectral reflectance features of water hyacinth growing under feeding stresses of *Neochetina* spp. and different heavy metal pollutants. International Journal Of Remote Sensing, 35(3), 2014, p. 799-817.

[7] CORDO, H.A. New agents for biological control of water hyacinth. Buenos Aires (Argentina): 1999, p. 68-74.

[8] CENTER, T, HILL, M., CORDO, H. and JULIEN, M. Waterhyacinth. En: Van Driesche, R. G.; Blossey, B.; Hoddle, M.; Lyon, S.; Reardon, R. (Eds.). Biological control of invasive plants in the eastern United States. USDA-Forest Service, Forest Health Technology EnterpriseTeam. Morgantown. West Virginia (Estados Unidos): 2002, 413 p.

[9] MARTÍNEZ, M., CELESTE, F. y POI, A. Preferencia alimentaria de *N. eichhorniae* (Coleoptera: *Curculionidae*) en plantas acuáticas de diferente valor nutritivo Food preference *N. eichhorniae* (Coleoptera: Curculionidae) by aquatic plants of different nutritional value. Revista Colombiana de Entomología, 39(1), 2013, p. 81-87.

[10] HAMSATU, L., HAMADINA, C. and ANASO, U. Life Cycles of *N. bruchi* Warner and *N. eichhorniae* Hustache as Potential Biological Control Agents in the Semi Arid Zone of Nigeria. American Journal of Life Sciences, 2015, p. 219-222.

[11] KORE, S., THITE, and KADAM, A. Occurrence of *N. bruchi* Hustache A Biocontrol agent of *E. crassipes* (Martius.) Solms in Satara, Maharashtra B.A. ZOO's PRINT, 30(7), 2015, p.17-19.

[12] MONTOYA, W., PEÑA, E. y TORRES, G. Variaciones ultraestructurales inducidas por Cromo (VI) en hojas de jacinto acuático (*Eichhornia crassipes*). Limnetica, 34(1), 2015, p. 85-94.

[13] MARTÍNEZ, F., FRANCESCHINI, M. and POI, A. Food preference *N. eichhorniae* (Coleoptera: *Curculionidae*) by aquatic plants of different nutritional value. Revista Colombiana de Entomología, 39(1), 2013, p. 81-87.

[14] RICO, R. Aprovechamiento de buchón de agua a través de la fabricación de carbón vegetal en el municipio de Cicuco, Bolívar, (Colombia) [online]. 2011. Disponible: http://roxanarico-roxxy.blogspot.com/2011/10/aprovechamiento-de-buchon-de-agua.html [citado 12 Julio de 2013].

[15] OBERHOLZER, H. The Water Hyacinth Weevils (*N. eichhorniae* and *N. bruchi*). A Natural enemy of the Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) in South Africa. Pretoria (South aFRICA): Agricultural Research Council, PPRI, Weeds Research Division, 2001.

[16] MORAN, J. Feeding by Water hyacinth Weevils (Neochetina spp.) (*Coleoptera: Curculionidae*) in relation to site characteristics, plant size and biochemical factors. Environmental Entomology, 33, 2004, p. 346-355.

[17] PUJA, R. and SUSHILKUMAR. Population dynamics and sex ratio of two biocontrol agents of water hyacinth. Indian Journal of Weed Science, 47(2), 2015, p. 188–192.

[18] UNIVERSITY OF MASSACHUSETTS. Control de plagas y malezas por enemigos naturales. Ft. Lauderdale (USA): University of California. Riverside, USA.T. D. Center, United States Department of Agriculture, Invasive Plants Research Laboratory, 2016.

[19] OKE, A. and ADEKOYA, B. Life cycle and pupation site preference of *N. eichhorniae* Warner (Coleoptera: *Curculionidae*) on water hyacinth. European Journal of Scientific Research, 17(3), 2012, p. 291-295.

[20] BOJÓRQUEZ, G. Control biológico de maleza acuática en las presas, derivadoras y ríos del área de influencia del Distrito de Riego 010. Sinaloa (México): Universidad Autónoma de Sinaloa, 2007.

[21] AGUILAR, J., CAMARENA, O., CENTER, D. and BOJÓRQUEZ, G. Biological control of Water hyacinth in Sinaloa, Mexico with the wevils *N. bruchi* and *N. eichhorniae*. Biocontrol, 48, 2003, p. 595-608.

[22] COETZEE, J., JONES, R. and HILL, M.Waterhyacinth, *Eichhorniacrassipes* (Pontederiaceae), reduces benthic macroinvertebrate diversity in a protected subtropical lake in South Africa. Biodiversity and Conservation, 23(5), 2014, p. 1319–1330

[23] EMPRESA PÚBLICA DE MEDELLIN (EPM). EPM logra controlar el buchón de agua en sus embalses Porce II y Peñol-Guatapé. Medellín (Colombia): 2011, 5 p

[24] ARTEAGA, J., CUÉLLAR, W., RENSSON, D., RÍOS, S. y GIRALDO, S. Manejo de plantas acuáticas invasoras en embalses de EPM: buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) en el embalse Porce II. Medellín (Colombia): 2010, 71 p.

[25] COLPRENSA EL COLOMBIANO. Del buchón de agua salen libretas [online]. 2014. Disponible: http://www.vanguardia.com/historico/28056-del-buchon-de-agua-salen-libretas [citado 4 de junio de 2013].

[26] CAMARENA, O. y AGUILAR, J. El IMTA y el control biológico de maleza acuática en distritos de riego del país (Experiencias desde 1990). 1 ed. México D.F. (México): Instituto méxicano de tecnología del agua, 2012, 78 p.

[27] GLOBAL INVASIVE SPECIES DATABASE.100 de las especies exóticas invasoras más dañinas del mundo. Madrid (España): Fondation d'Entreprise Total, 1998-2000, 11 p.

[28] MORAN J. Feeding by Water hyacinth Weevils (*Neochetina* spp.) (Coleoptera: Curculionidae) in relation to site characteristics, plant size and biochemical factors. Environmental Entomology, 33, 2004, p. 346-355.

[29] OKE, O. and ADEKOYA, B. Life cycle and pupation site preference of N. eichhorniae Warner (*Coleoptera: Curculionidae*) on water hyacinth. European Journal Science Research, 17(3), 2007, p. 291-295.

[30] CORREA, L. Buchón en embalse del peñol-Guatapé, está bajo control [online]. Disponible: http://tips.elcolombiano.com/MedioAmbiente/Buch%C3%B3nenrepresapreocupa/tabid/1821/Default.aspx [citado 4 de junio de 2013].

[31] HERNÁNDEZ, J., TORRES, A., CONEJO, F., GONZÁLEZ, O. y ARDILA, A. Aprovechamiento de *E. crassipes* (lirio acuático) proveniente de la zona de Yuriria, Guanajuato, como fuente de Lignina, Celulosa y Hemicelulosa. Innovación y desarrollo tecnologíco revista digital, 7(1), 2015, p. 1-5.

EVALUACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES COMO BIOFILTROS: REMOCIÓN DE CR (VI) EN EFLUENTES DE CURTIEMBRES SINTÉTICOS

EVALUATION OF AGROINDUSTRIAL WASTE AS BIO-FILTERS: REMOVAL OF CR (VI) IN TANNERY SYNTHETIC EFFLUENTS

AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS COMO BIO-FILTROS: REMOÇÃO DE CR (VI) EM CURTUME ÁGUAS RESIDUAIS SINTÉTICAS

TATIANA ANDREA DÁVILA-MARTINEZ [1], NAZLY EFREDIS SANCHEZ-PEÑA [2,3], DARWIN ANDRÉS ORDOÑEZ-ERAZO[4] , JEFFERSON FABIAN MUÑOZ-LÓPEZ[4] , RICARDO BENITEZ-BENITEZ[5]

RESUMEN

Se estima que el 85% de los insumos químicos usados por las industrias de curtiembres europeas para producir 1000 kg de cuero crudo se vierten a los afluentes de recurso hídrico en forma de contaminantes, entre ellos el Cromo VI (Cr (VI)), un compuesto tóxico de fácil adsorción. En este sentido, el presente trabajo estudia la remoción de Cr (VI) en solución acuosa sintética preparada a partir de la concentración detectada en una muestra de vertimientos de curtiembres (Cr (VI): 32,6 mg/kg). Para ello, mediante ensayos Batch, se dispusieron

Recibido para evaluación: 30 de Noviembre de 2016. **Aprobado para publicación:** 10 de Marzo de 2017.

1 Universidad del Valle, Instituto CINARA, Grupo de Investigación en Saneamiento Ambiental (GISAM), Grupo de Investigación en Estudios Ambientales (GEA), Ingeniera Ambiental, Popayán, Colombia.
2 Universidad del Cauca, Departamento de Ingeniería Ambiental y Sanitaria, Grupo de Investigación en Ingeniería Ambiental (GIIA), PhD en Ingeniería Química y Medio Ambiente, Popayán, Colombia.
3 Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, Facultad de Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible, Grupo de Investigación Tecnología y Ambiente (GITA), Ph.D. en Ingeniería Química y Medio Ambiente, Popayán, Colombia.
4 Corporación Universitaria Autónoma del Cauca, Facultad de Ciencias Ambientales y Desarrollo Sostenible, Ingeniero Ambiental y sanitario, Popayán, Colombia.
5 Universidad del Cauca, Grupo de investigación de productos naturales (QPN), PhD en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Popayán, Colombia.

Correspondencia: nsanchez@unicauca.edu.co

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Edición Especial No. 1 (49-58) Enero _ Junio 2017

cinco filtros a escala de laboratorio empacados con cáscara de plátano (Musa AAB) y naranja (Citrus sinensis) (Fa: 100% naranja, Fb: 70% naranja/30% plátano, Fc: 50% naranja/50% plátano, Fd: 30% naranja/70% plátano y Fe: 100% plátano). El filtro con mejor desempeño en términos de bioadsorción de Cr (VI) fue Fd. Dicho filtro mostró una eficiencia de remoción del 93%, comparado a Fa: 73%, Fb: 90%, Fc: 86% y Fe: 82%. Por otra parte, las constantes de adsorción estimadas en este estudio se encuentran entre 96-132 mg Cr (VI)/g_{adsorb}. Por tanto, los bioadsorbentes combinados con plátano y naranja podrían ser altamente recomendados para la remoción de Cr (VI) en efluentes de curtiembres.

ABSTRACT

In order to produce 1000 kg of leather, it is estimated of 85% of chemical input, used by European tanning plants, is discharged as contaminant. Among of them, Cr (VI), this is a toxic compound of easy adsorption. In that sense, the present work is focused on the removal of Cr (VI) in synthetic solution prepared from Cr (VI) estimated concentration found in wastewater sample discharged by tanning industries (Cr (VI): 32,6 mg/kg). Thus, five filters packed with orange (Citrus sinensis) and plantain (Musa AAB) peels were used in laboratory scale (Fa: 100% orange, Fb: 70% orange/30% plantain, Fc: 50% orange /50% plantain, Fd: 30% orange /70% plantain y Fe: 100% plantain). The main results show that among filters with the best performance in adsorption was Fd. Such filter had a removal efficiency of 93%, compare to Fa: 73%, Fb: 90%, Fc: 86% y Fe: 82%. Additionally, the adsorption constants found were between 96 and 132 mg Cr (VI)/g_{adsorb}. Therefore, the combined bioadsorbents (plantain/orange peels) could be highly recommended for Cr (VI) removal in tanning effluents.

PALABRAS CLAVE:
Biofiltro, Cromo VI, Cáscaras de plátano (Musa AAB) y naranja (Citrus sinensis), Metales pesados.

KEY WORDS:
Bio-filters, Chromium VI, *Orange* (*Citrus sinensis) and plantain* (*Musa AAB*) *peels*, Heavy metals.

PALAVRAS-CHAVE:
Bio-filtro, Cromo (VI), Casca de laranja (*Citrus sinensis*), Casca de banana (*Musa AAB*), Metais pesados.

RESUMO

Na indústria de curtume, estima-se que 85% dos insumos químicos utilizados na produção de 1000 Kg de couro cru são descarregados aos afluentes hídricos na forma de poluentes, como é o caso do Cromo VI (Cr (VI)), conhecido pela a sua natureza tóxica e de fácil absorção. Neste sentido, O objectivo desta pesquisa foi estudar a remoção de Cr (VI) em solução sintética preparada a partir da concentração estimada de Cr (VI) encontrada em amostras de águas residuais descarregadas pelas indústrias de curtumes (Cr (VI): 32,6 mg/kg). Assim, cinco filtros foram desenhados em escala para ser usados no laboratório sendo posteriormente embalados em casca de banana (Musa sp. AAB) e laranja (Citrus sinensis) (Fa laranja 100%; Fb: 70% de laranja/30% banana; Fc: laranja 50%/50% de banana; Fd: 30% de laranja/banana; e Fe 70%/100% de banana). Os resultados mostraram que o filtro que apresentou melhor desempenho, em termos de bio-absorção de Cr (VI) foi o Fd, refletido numa eficiência de remoção de 93%, comparado com os filtros Fa: 73%, Fb: 90%, Fc: 86% e Fe: 82%. Além disso, as constantes de absorção, estimadas neste estudo, se encontraramse numa faixa entre 96 - 132 mg de Cr (VI)/$g_{absorvidos}$. Por tanto, os bio-adsorventes misturados com banana e laranja podem ser muito bem recomendados para a remoção do Cr (VI) nos efluentes de curtumes.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, se evidencia un aumento progresivo de la presencia de metales pesados en aguas residuales procedentes de amplios usos industriales que han afectado la calidad del recurso hídrico [1]. De ahí, el aumento del riesgo ambiental y a la salud debido a la toxicidad y persistencia de metales pesados tales como Cr (VI), Hg+,Ni_2O_3, CuO, Cd, entre otros. [2-12]. En el caso específico del Cr (VI), este se comporta como un elemento tóxico con efectos nocivos, que penetra rápidamente cualquier vía de exposición hasta llegar a los glóbulos rojos, hígado, bazo, riñón, tejidos blandos y huesos afectando principalmente sistemas digestivo, respiratorio, urinario y la piel [2-13].

La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC por su sigla en inglés) de Estados Unidos, clasifica el cromo hexavalente como un agente potencialmente cancerígeno que modifica el proceso de transcripción del ADN y causa anomalías cromosómicas [5,14]. Igualmente, la Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades (ATSDR por su sigla en inglés) menciona que dentro de los efectos de exposición prolongada a Cr (VI) en ambientes ocupacionales se incluye cáncer de pulmón, siendo éste la fuente principal del aumento en la tasa de incidencia de esta enfermedad [15].

Como lo reporta *International Development Association of Chromium,* hasta el año 2009, la producción mundial de cromo fue cercano a 19 millones de toneladas, de los cuales países como Sur África aportaron el 33% de la producción, Kazakhstán 17%, India 20% y Brasil, Finlandia, Omán, Rusia y Turquía contribuyeron juntos en 21%; el porcentaje restante (9%) lo aportaron 12 países productores pequeños. Alrededor del 90 % de esta producción de cromo se usa en la industria metalúrgica y 5% en la industria de curtiembres, el cuidado de la madera y los enchapados [16]. En Colombia, las principales actividades industriales con exposición a Cr (VI) son el refinado de cromo, la industria cementera, las artes gráficas y la industria del cuero y calzado [17]. Aplicando esta última actividad, se calculan en el país alrededor de 800 empresas dentro de las cuales algunos de los procesos siguen siendo artesanales, con alta exposición ocupacional, alta exposición a Cr (VI), poca protección e inadecuada disposición y manejo de residuos [18,19].

Lo anterior, se detalla en los procesos que se requieren para el tratamiento de las pieles. Según la IPCC, las industrias europeas del curtido de pieles requieren aproximadamente 500 kg de productos químicos para producir 1000 kg de cuero crudo, aprovechando únicamente 15% del peso total. Se estima que un 85% de ellos no se incorporan en el producto final, lo cual genera residuos sólidos y efluentes con concentraciones elevadas de Cr (VI) [20]. Esto crea la necesidad de tratar los efluentes contaminados por las industrias y mantener las concentraciones de metales pesados en las descargas conforme a los límites legales permitidos de cada país.

Así mismo, diversas tecnologías y métodos se han propuesto y desarrollado para hacer más eficiente la remoción de metales pesados de los vertimientos industriales. Sin embargo, algunas de las desventajas asociadas han sido los costos elevados, disposición y almacenaje, alta producción de lodos y compuestos tóxicos derivados [21]. De ahí, la necesidad en desarrollar nuevas tecnologías y métodos que contribuyan al control ambiental de los efluentes de curtiembres, y logren extraer los metales contaminantes presentes en las aguas residuales.

Los métodos y tratamientos habituales son diversos y garantizan la capacidad de remoción; sin embargo, existiendo la posibilidad de reducir costos sin sacrificar eficiencias de remoción, se recurre a métodos o tecnologías económicas y eficaces con bio-adsorbentes, como los que propone esta investigación. Estudios previos han presentado resultados de bioadsorción de metales pesados empleando materiales biológicos. Entre algunos de ellos está: cascarilla de arroz [22], cascarilla de café [23], cáscara de papa [24], quitosan de camarón [25], cenizas volantes y catalizador FCC (Catalizador gastado craqueo catalítico) [26, 27], corteza de papaya [28], cáscara de huevo [29], cascarilla de garbanzo [30], cortezas de plátano (*Musa AAA*) [31] y cortezas de naranja (*Citrus sinensis)* [15]. Todos con eficiencias de remoción de metales pesados en rangos de 70 a 98%.

Dado a que los anteriores bioadsorbentes han logrado remover concentraciones significativas de metales pesados como cadmio, cobre, zinc, níquel, cobalto, hierro, plomo y cromo [22, 24, 32], el presente estudio propuso emplear dos tipos de cortezas como bioadsorbentes: la corteza de plátano (*Musa balbisiana)* [31] y de naranja (*Citrus sinensis)* [33] y en la

remoción de Cr (VI) de aguas procedentes de curtido de cuero. Esto, debido a la alta producción de plátano macho en el país y el potencial aprovechamiento de las cascaras de plátano, poco explorado en tecnologías de tratamiento de aguas residuales, en comparación al banano, que aunque forman parte de la misma especie (plátano macho: *Musa Balbisiana*, banano: *Musa Cuminata*), su composición química difiere [34].

En este contexto, el aporte significativo del presente estudio corresponde a la evaluación de la cáscara de plátano, poco estudiado por ser una biomasa no tan conocida mundialmente como la cáscara de banano, pues su producción se limita a zonas tropicales. Para lograrlo, el propósito de este estudio fue evaluar la capacidad de remoción de Cr (VI), metal pesado presente en los vertimientos de las plantas de curtido de cuero en Belén-Nariño, frente a la capacidad de adsorción de biomasa usando la cascara de plátano y naranja [35,36,37,38],dos productos ampliamente cultivados en Colombia. Para analizar el efecto de sus combinaciones (Fa, Fb, Fc, Fd y Fe) en la remoción de Cr (VI), se realizaron ensayos en reactores Batch a escala de laboratorio controlando factores como la temperatura, pH, diámetro del absorbente, peso inicial del absorbente y concentración inicial de Cr (VI) [7,13]. El conocimiento generado en este estudio aporta alternativas de bioadsorbentes de fácil acceso pero poco explorados, en el caso del plátano macho, para el tratamiento de efluentes industriales y la disminución de carga contaminante con metales pesados.

MÉTODO

Los materiales e insumos químicos para este estudio fueron de grado analítico. Se tomó y analizó una muestra del punto de vertimiento en los efluentes en la quebrada Mocondino, ubicada en Belén, Nariño (1.5955° N, 77.0164° W). Municipio destacado por su alta producción en cueros y pieles a nivel nacional. Este procedimiento se realizó con base en el instructivo para toma de muestras de aguas residuales de IDEAM.

Preparación de solución de Cr (VI)

En cuanto a la preparación de la solución madre, el método estandarizado 7196ª de la agencia de protección ambiental (EPA, por sus siglas en inglés) guío el procedimiento. Se empleó 10 mL de Difenilcarbazida al 0,5% como lo sugiere el método y se disolvió en 10 mL de acetona para prepararla. Posteriormente, se aforó 100 mL de ácido sulfúrico concentrado en un balón aforado de 200 mL con agua destilada. Finalmente, se usaron 252,4 mg de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) (Merck) y 2,5 mL de HNO_3 (Merck) hasta aforar un matraz de 3L con agua destilada y ajustar un pH 1,5 medido en un pH- metro (PCSTESTr 35 multiparámetro).

Preparación del bioadsorbente

Las cáscaras de plátano y naranja fueron recolectadas en la plaza de mercado del barrio Bolívar en la ciudad de Popayán (2.4448° N, 76.6147° W) y fueron preparadas con base en los procedimientos sugeridos por [35] en las siguientes etapas: selección de la biomasa, limpieza, secado, reducción y clasificación por tamaños.

Se seleccionó el material bioadsorbente teniendo como requisito el mejor estado de la biomasa lejos de la descomposición. Las cortezas fueron lavadas con agua destilada a temperatura ambiente de 23ºC para remover polvo adherido y componentes solubles como taninos, resinas, reducir azúcar y colorantes. Una vez limpias, las cortezas se sometieron al proceso de secado a 120ºC durante 12 h hasta obtener un peso constante de los bioadsorbentes de 300 g. Finalmente, a estos se les redujo el tamaño del material pulverizando la biomasa empleando morteros y el polvillo fino derivado de la pulverización se conservó en frascos de vidrio color ámbar a temperatura ambiente.

Ensayos de adsorción Batch

Las dinámicas de adsorción de Cr (VI) con cáscaras de naranja y plátano fueron analizadas empleando reactores Batch de acuerdo a lo sugerido en la literatura [31,39]. 1 kg de cada corteza fue puesto en cada birreactor con estructura cilíndrica de Policloruro de vinilo de diámetro 0,1 m y altura 0,5 m. Los experimentos de bio-adsorción se realizaron durante un tiempo de retención de 2 h a un pH de 1,5. Finalmente, se tomó una muestra de 50 mL para determinar concentración del Cr (VI) recuperado.

Determinación concentración cromo VI

Para cuantificar Cr (VI) a la salida de los bioreactores Batch a escala de laboratorio se aplicó el método espectrofotométrico descrito en [39] usando un espectrofotómetro SHIMADZU de 1 cm de camino óptico. Para ello, se preparó una recta de calibración con soluciones estándar en el rango de concentraciones entre 3 y 75 mg/L obteniendo un coeficiente de correlación

de 0,982. Los experimentos realizados en cada biofiltro (unidad experimental) se hicieron por triplicado y los resultados reportados son el promedio de todas las mediciones. El intervalo de confianza (IC) en todos los casos está entre 2 y 11. Para determinar la concentración de Cr (VI) recuperado luego del tiempo de adsorción en cada birreactor, se extrajo una muestra de 50 mL y se aplicó 0,5 mL de ácido sulfúrico. Posteriormente, se calculó la concentración de Cr (VI) adsorbida a partir del balance de masa y se determinó el coeficiente de adsorción de cada bioadsorbente utilizando para ello la expresión matemática indicada en la (Ec. 1):

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^{n} a_i x_i + \sum_{i=1}^{n} a_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=2}^{n} a_{ij} x_i x_j \qquad \text{(Ec. 1)}$$

Dónde C_0 y C_f son las concentraciones iniciales y finales de Cr (VI) en la disolución expresadas en mmol/L, V_0 y V_c es el volumen en L de la solución y m (g) es la masa inicial del bioadsorbente empleada en los ensayos. La eficiencia de remoción de Cr (VI) puede ser calculada como lo reporta [28], usando la (Ec. 2):

$$\text{IPA} = 100\left(\frac{\text{AC} - \text{AA}}{\text{AC}}\right) \qquad \text{(Ec. 2)}$$

El tratamiento de los datos se realizó a través de herramientas estadísticas que se presentan en la sección posterior, usando el software SPSS versión 21.

RESULTADOS

Estudio de la eficiencia de remoción de Cr (VI) usando cáscara de plátano y naranja

Con el objetivo de determinar la normalidad de los resultados de eficiencia de remoción de Cr (VI), se usó la prueba de Shapiro-Wilk, con un nivel de significancia de (0,05). Para ello se calculó un P valor (Pv) para cada uno de los grupos de tratamiento (Fa, Fb, Fc, Fd y Fe). Los valores de Pv se encuentran entre 0,249 y 0,776, por lo tanto, se concluye que los datos presentan normalidad.

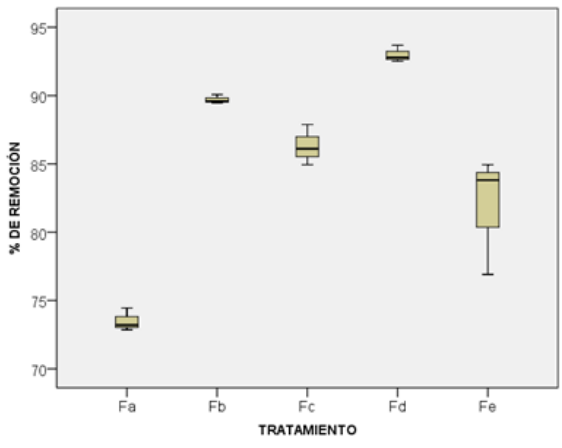
En la Figura 1 se muestran las medianas y los extremos de los porcentajes de remoción de Cr (VI) mediante un diagrama de cajas y bigotes. Estos datos son obtenidos para los 5 filtros con cascarillas y fue calculado usando muestras por triplicado. La concentración inicial de Cr (VI) fue de 32,6 ppm para el agua residual sintética de entrada en todos los tratamientos y las concentraciones finales llegaron hasta valores entre 2,0 ppm y 8,8 ppm lo que corresponde a medianas con remociones entre el 73% y 93%.

El diagrama de cajas no reportó valores atípicos (Figura 1), en otras palabras, ningún dato es reportado por fuera de los límites de los bigotes. Las dimensiones de las cajas son reducidas, excepto para el reactor Fe donde los datos presentan mayor dispersión con un IC de ± 11. Igualmente en este caso los extremos de los bigotes con el valor máximo y mínimo de remoción son más amplios. En todos los casos la mediana es mayor para el tratamiento Fd seguido de Fb y muestran las menores dispersiones de los datos además de Fa.

A partir de este análisis en conjunto se observa que, en orden descendente, las combinaciones de bioadsorbentes más eficientes fueron Fd > Fb > Fc > Fe> Fa. De esta manera, la mayor presencia de plátano en la mezcla eliminó casi en su totalidad el Cr (VI) del agua residual sintética típica presente en el efluente de curtiembres.

El biofiltro con un porcentaje de remoción más bajo corresponde a Fa (73% ± 2,1 IC). Resultados similares se han reportado por Pelhivan et. al. 2012 [35] en un estudio de bioadsorción de Cr (VI) usando naranjo de Luisiana (*Osage orange),* donde se analizó el tiempo de contacto, pH, concentración inicial de contaminante y cantidad de bioadsorbente. Ellos encontraron una remoción de 78 % para la cáscara de naranja con pH similar al del presente trabajo. A partir de esos resultados explican que los grupos carboxilos (COOH),

Figura 1. Diagrama de cajas para los resultados de remoción de Cr (VI).



como el presente en la lignina, fueron los principales encargados de la sorción de Cr (VI), además de otros compuestos polifenólicos que contienen oxígeno con enlaces alcohólicos (OH) y grupos carbonilo (C=O). Adicionalmente, mencionan que dicho fenómeno de adsorción es facilitado por valores bajos de pH que protonan los centros activos y hace que $HCrO_4$-, principal especie de Cr (VI) en solución, se absorba más fácilmente. Estos principios son mencionados también por [36,37,38,39,40]. Annadurai, Juang y Lee 2003 [41] en sus estudios sobre la adsorción de metales pesados usando bioadsorbentes muestran imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM) de la cáscara de naranja y banana, encontrando que tienen una alta porosidad y por tanto pueden tener una alta posibilidad de adsorción del metal en conjunto.

Memon *et al.*, (2009) [37] reporta que además de la adsorción mediada por los grupos carboxilo, alcoholes y grupos carbonilo, la piel del banano presenta un fenómeno de adsorción en donde el grupo amino de las proteínas juega un papel muy importante, como lo muestra la reacción (R1). En este caso, las fuerzas electrostáticas de atracción desempeñan un papel importante entre la carga positiva del adsorbente y la negativa del contaminante. Adao *et al.,* (2005) [38] detectaron aminas bioactivas en el plátano como la espermidina, putrescina y serotonina que podrían favorecer la dinámica de adsorción en la cáscara de plátano y sustentar los mayores porcentajes de remoción de este en las mezclas.

$$HCrO_4\text{-} + \text{-}NH_3^+ \rightarrow HCrO_4\text{-}\ldots NH_3^+ \quad (R1)$$

Cabe anotar que el Cr (VI) adsorbido puede ser reducido hasta Cr (III) por agentes reductores presentes en la superficie de la cascarilla.

Ahmed *et al.,* (2016) [42], Anhwange *et al.,* (2009) [43] y Tejada *et al.,* (2014) [44] muestran la composición química de la cáscara de banano/plátano y naranja. El contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina en todos los casos es mayor en la cáscara de plátano con 21%, 8% y 18%, respectivamente, comparado con 13%, 6% y 7% de la piel de la naranja. Entre la cáscara de plátano y banano, los contenidos son similares excepto en la lignina donde el plátano tiene un 11% más de contenido. Como se mencionó con anterioridad, estos compuestos orgánicos tienen enlaces que actúan en la adsorción de metales. Una razón adicional que podría explicar la mayor remoción de Cr (VI) en presencia cáscara de plátano.

Happi-Emaga *et al*., 2007 [34] realizaron el estudio de la composición química de 6 variedades de cáscaras de banano y plátano, el banano de postre (*musa AAA*), plátano macho (*musa AAB*), plátano de cocina (*musa ABB*) e híbrido (*AAAB*) en tres estados de maduración para explorar su potencial aplicación. Estos autores encontraron que la composición química de las variedades no cambian de manera considerable y contienen un importante contenido en fibra, proteínas y aminoácidos (mayor en plátano que en banano) y ácidos grasos poli-insaturados [34]. En este sentido, se esperaría que la dinámica de adsorción de las biomasas sea similar, con una ligera ventaja del plátano que contiene una mayor cantidad de lignina, como se mencionó anteriormente

Para determinar si existe diferencias significativas en el porcentaje de remoción en al menos un grupo de tratamiento se usó ANOVA de un factor con un nivel de significancia de 0,05. Para ello se analizó el triplicado de la remoción de Cr (VI) de cada tratamiento. Los resultados muestran un Pv (0,000) $<$ 0,05 y F: 38,702, por tanto existen diferencias significativas entre los grupos de tratamientos.

Para identificar cuáles grupos son diferentes entre sí comparando por parejas, se aplica la prueba de Tukey HSD. En el cuadro 1 se muestra la diferencia de las medias aritméticas de los tratamientos (Fa, Fb, Fc, Fd y Fe) (nivel de significancia de 0,05). El valor de la diferencia (VD) o HSD para Tukey de los datos es 5,7. Todo número en el cuadro 1 superior a VD, independiente del signo que tenga, muestra una diferencia significativa.

A partir de la Figura 1 fue posible observar que la mezcla de biomasa que removió mayor cantidad de Cr (VI) fue Fd, pero como se observa en el cuadro 1 este tratamiento no es significativamente diferente del Fb. En tal caso, las dos relaciones son igualmente eficientes para remover el metal. Este último tratamiento (Fb), a

Cuadro 1. Interacción entre pareja de tratamientos usando la prueba de Tukey HSD.

Tratamientos	Fa	Fb	Fc	Fd	Fe
Fa		-16,2	-12,8	-19,5	-8,4
Fb	16,2		3,4	-3,3	7,8
Fc	12,8	-3,4		-6,7	4,4
Fd	19,5	3,3	6,7		11,1
Fe	8,4	-7,8	-4,4	-11,1	

su vez, no tiene diferencia significativa con respecto al Fc, que tampoco muestra diferencia con Fe. Finalmente se observa que el tratamiento Fa (cáscara de naranja) es significativamente diferente en la remoción de Cr (VI) y corresponde al tratamiento menos eficiente.

Con esto se puede deducir que todos los tratamientos aquí considerados son eficientes, excepto cuando se usa exclusivamente naranja. Esto es independiente incluso del porcentaje de mezclas de cáscaras.

Estudio de las biomasas considerando su capacidad de adsorción en equilibrio

El parámetro más importante para determinar la capacidad de un adsorbente corresponde al coeficiente de adsorción. Algunos estudios han analizado la capacidad de retención de Cr (VI) para diferentes biomasas en términos del valor de equilibrio de adsorción para diferentes tipos de bioadsorbentes [35,37,45], [45]. Estos valores calculados en el presente estudio se muestran en el cuadro 2 junto con los reportados en la literatura para otros bioadsorbentes. Dichos estudios han sido llevados a cabo en ambientes ácidos con pH entre 1 y 2,5, con tiempos de adsorción entre 10 a 120 min y temperatura ambiente, además empleando reactores tipo Batch.

El coeficiente de bioadsorción del presente trabajo para Fe es similar al de cascarilla de garbanzo reportado por Sud *et al*., (2008) [45]. En un segundo grupo se encuentra quitosan de camarón que exhibe una bioadsorción similar a la mezcla naranja-plátano (50:50). En todos los casos el quitosan de camarón tiene un mayor coeficiente de bioadsorción, seguido de los coeficientes de la cascarilla de plátano y sus mezclas y finalmente la cáscara de naranja y arroz. Este fenómeno se debe posiblemente a lo explicado en el apartado anterior.

Cuadro 2. Comparación de coeficientes de adsorción en equilibrio de Cr (VI) en reactores tipo Batch.

Parámetros	qe (mg Cr-VI/gb)	Fuentes
N	29-48	[35]
P	132	[37]
CAG	92	[45]
QHC	154	[46]
CA	3,1	[47]
Fa	96	PT
Fb	117	PT
Fc	112	PT
Fd	121	PT
Fe	107	PT

N (cascara de naranja),PT (presente trabajo), CAG (cascarilla de garbanzo),QHC (quitosan de camarón), cascarilla de arroz (CA), P (cascarilla de plátano).

CONCLUSIONES

El presente estudio presenta evidencias adicionales de la capacidad de adsorción de metales pesados de dos tipos de materiales, la cáscara de plátano y naranja.

El orden descendente, la mayor remoción de bioadsorbentes fue Fd > Fb > Fc > Fe> Fa. En este sentido, una mayor presencia de plátano en la mezcla removió casi en su totalidad el Cr (VI) del agua residual sintética típica presente en el efluente de curtiembres (% R: 93 %). Esto podría estar ligado a la composición bioquímica de la cáscara de plátano y banano con mayor contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina y fibra cruda, además de compuestos con grupos aminos. Adicional a ello, las dos cascarillas presentan alta porosidad lo que puede promover una mayor remoción en conjunto.

Estadísticamente se comprobó que todos los tratamientos aquí considerados son eficientes y no presentan una diferencia significativa, excepto cuando se usa exclusivamente naranja.

Los coeficientes de bioadsorción (q_e) del plátano y sus combinaciones son las más altas en comparación con otras biomasas reportadas en la literatura, por lo que representa una prometedora alternativa para estudios de remediación a escala piloto.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Grupo de Química de Productos Naturales, Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT-Sede Palmira, al Sistema General de Regalías (SGR) y al proyecto Red de formación del Talento Humano para la innovación social y productiva en el departamento del Cauca (InnovAcción-Cauca). Adicionalmente, se agradece a la Universidad del Cauca por su apoyo en la realización y publicación del presente estudio.

REFERENCIAS

[1] CHOWDHURY, S., MAZUMDER, M.A.J., AL-ATTAS, O. and HUSAIN, T. Heavy metals in drinking water: Occurrences, implications, and future needs in developing countries. Science of the Total Environmental, 569, 2016, p. 476–488.

[2] EAGLES-SMITH, C.A. *et al*. Mercury in western North America: A synthesis of environmental contamination, fluxes, bioaccumulation, and risk to fish and wildlife. Science of the Total Environmental, 568, 2016, p. 1213–1226.

[3] REBELO, F.M. and CALDAS, E.D. Arsenic, lead, mercury and cadmium: Toxicity, levels in breast milk and the risks for breastfed infants. Environmental Research, 151, 2016, p. 671–688.

[4] IZADYAR, A., AL-AMOODY, F. and ARACHCHIGE, D.R. Ion transfer stripping voltammetry to detect nanomolar concentrations of Cr (VI) in drinking water. Journal of Electroanalytical Chemistry, 782, 2016, p. 43–49.

[5] LEE, S.M., LALCHHINGPUII, L. and TIWARI, D. Synthesis of functionalized biomaterials and its application in the efficient remediation of aquatic environment contaminated with Cr (VI). Chemical Engineering Journal, 296, 2016, p. 35–44.

[6] REDDY, K.S. Global Burden of Disease Study 2015 provides GPS for global health 2030. The Lancet, 388(10053), 2016, p. 1448–1449.

[7] THE LANCET. GBD 2015: from big data to meaningful change. The Lancet, 388(10053), 2016, p. 1447.

[8] WIERGOSZ-KOWALEWSKA, R. and TOKARZ, A. Modification of nickel accumulation in the tissues of the bank vole *Myodes glareolus* by chemical and environmental factors. Ecotoxicology and Environmental Safety, 134,2016, p. 196–203.

[9] HAQUE, M.A. Effects of specimen size and mix ratio on the nickel migration behavior of landfill waste mixed mortar. Environmental Manangement,190, 2017, p. 290-301.

[10] NADAL, M., ROVIRA, J., DÍAZ-FERRERO, J., SCHUHMACHER, M. and DOMINGO, J.L. Human exposure to environmental pollutants after a tire landfill fire in Spain: Health risks. Environment International, 97. 2016, p. 37-44.

[11] YASMEEN, K., MIRZA, M.A., KHAN, N.A., KAUSAR, N., UR REHMAN, A. and HANIF, M. Trace metals health risk appraisal in fish species of Arabian Sea. Springer Plus Journal, 5, 2016, p. 1-7.

[12] DAO, T.S., LE, V.N., BUI, B.T., DINH, K.V., WIEGAND, NGUYEN, C.T.S., DAO, C.T., NGUYEN, V.D., TO, T.H., NGUYEN, L.S.P., VO, T.G. and VO, T.M.C. Sensitivity of a tropical micro-crustacean (*Daphnia lumholtzi*) to trace metals tested in natural water of the Mekong River. Science of the total environment, 574, 2017, p. 1360–1370.

[13] MCKENZIE, F., ZIETSMAN, A., GALUKANDE, M., ANELE, A., ADISA, C., CUBASCH, H., PARHAM, G., ANDERSON, B.O.,ABEDI-ARDEKANI, B., SCHUZ, J.,DOS SANTOS SILVA, I. and MCCORMACK, V. African Breast Cancer—Disparities in Outcomes (ABC-DO): protocol of a multicountry mobile health prospective study of breast cancer survival in sub-Saharan Africa. BMJ Open, 6, 2016, p. 11-39.

[14] BELKHIRI, L., MOUNI, L., SHEIKHY NARANY, T. and TIRI, A. Evaluation of potential health risk of heavy metals in groundwater using the integration of indicator kriging and multivariate statistical methods. Groundwater for Sustainable Development, 4, 2017, p. 12-22.

[15] AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY [Online]. 2016. Disponible: http://www.atsdr.cdc.gov/.

[16] INTERNATIONAL CHROMIUM DEVELOPMENT ASSOCIATION (ICDA) [Online]. 2009. Available: http://www.icdacr.com/index.php?option=com_content&view=article&id=158:discover-chrome-mining&catid=66:general&Itemid=340&lang=en. [Accessed: 13-Nov-2016].

[17] TÉLLEZ, J., CARVAJAL, M. y GAITÁN, A. Aspectos toxicológicos relacionados con la utilización del cromo en el proceso productivo de curtiembres. Revista Facultad Medicina, 52, 2004, p. 50-61.

[18] COLOMBIA. MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE. Diagnóstico nacional de salud ambiental. Bogotá (Colombia): 2012, 340 p.

[19] UNITED STATES OF AMERICA. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). Exposure and Health Registries- Environmental Health Surveillance Branch. Atlanta (USA): 2009, 134 p.

[20] INTEGRATED POLLUTION PREVENTION AND CONTROL (IPCC). Tanning of hides and skins. Industrial Emissions Directive 2010/75/EU. Sevilla (España): Institute for Prospective Technological Studies, Sustainable Production and Consumption Unit European IPPC Bureau, 2013, 272 p.

[21] GIANNETTI, B.F., AGOSTINHO, F., MORAES, L.C., ALMEIDA, C.M.V.B. and ULGIATI, S. Multicriteria

cost-benefit assessment of tannery production: The need for breakthrough process alternatives beyond conventional technology optimization. Environmental Impact Assessment Review, 54, 2015, p. 22-38.

[22] ISLAM, S., ISLAM, S., AL-MAMUN, H., ISLAM, S.A. and EATON, D.W. Total and dissolved metals in the industrial wastewater: A case study from Dhaka metropolitan, Bangladesh. Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management, 5, 2016, p. 74-80.

[23] OLIVEIRA, L.S. and FRANCA, A.S. An Overview of the Potential Uses for Coffee Husks. Research gate, 2015, p. 283–291.

[24] MUTONGO, F., KUIPA, O. and KUIPA, P.K. Removal of Cr (VI) from aqueous solutions using powder of potato peelings as a low cost sorbent. Bioinorganic Chemistry and Applications, 2014, 2014. p. 1-7.

[25] PÁJARO, Y. and DÍAZ, F. Removal of hexavalent chromium from contaminated water using chitosan obtained from shrimp exoskeleton. Revista Colombiana De Quimica, 41(2), 2014, p. 283-298.

[26] AMAYA, J., AMAYA, J., TRISTANCHO, A. and CASTELLANOS, F.J.S. Employing fly ash and FCC catalyser waste in recovering chrome (III) from liquid effluent emitted by tanneries. Ingeniería e Investigación, 25, 2010, p. 39-48.

[27] VISA, M. Tailoring fly ash activated with bentonite as adsorbent for complex wastewater treatment. Applied Surface Science, 263, 2012, p. 753–762.

[28] ABBASZADEH, S., WAN ALWI, S.R., WEBB, C., GHASEMI, N. and MUHAMAD, I.I. Treatment of lead-contaminated water using activated carbon adsorbent from locally available papaya peel biowaste. Journal of Cleaner Production, 118, 2016, p. 210–222.

[29] PETTINATO, M., CHAKRABORTY, S., ARAFAT, H.A. and CALABRO, V. A green adsorbent for heavy metal removal in an MBR system. Ecotoxicology and Environmental Safety, 121, 2015, p. 57-62.

[30] AHALYA, N., KANAMADI, R. and RAMACHANDRA, T. Biosorption of chromium (VI) from aqueous solutions by the husk of Bengal gram (*Cicer arientinum*). Electronic Journal of Biotechnology, 8, 2016, p. 3-12.

[31] AGARRY, S.E., OWABOR, C.N. and AJANI, A. Modified Plantain Peel As Cellulose- Based Low-Cost Adsorbent for the Removal of 2, 6-Dichlorophenol From Aqueous Solution : Adsorption Isotherms, Kinetic Modeling, and Thermodynamic Studies. Chemical Engineering Communications, 200(8), 2013, p. 37–41.

[32] ELADLANI, N., DAHMANE, E.M., RHAZI, M. TAOURIRTE, M. and HABIBI, Y. Complexation of chromium (III) ions with chitosan and its derivatives, nanoparticles and whiskers. Fresenius Environmental Bulletin, 23, 2014, p. 3278–3285.

[33] ZAZOULI, M.A., EBRAHIMI, P. and ARDEBILIAN, M.B. Study of Cd (II) and Cr (VI) biosorption by mesocarps of orange and sour orange from aqueous solutions. Environmental Engineering and Management Journal, 13(2), 2014, p. 345-355.

[34] HAPPI-EMAGA, T., ANDRIANAIVO, R.H., WATHELET, B., TCHANGO, J.T. and PAQUOT, M. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. Food Chemistry, 103 (2), 2007, p. 590–600.

[35] PEHLIVAN, E., TUTAR KAHRAMAN, H. and PEHLIVAN, E. Hexavalent chromium removal by Osage Orange. Food Chemistry, 133(4), 2012, p. 1478–1484.

[36] RODRÍGUEZ, L. y HUMBERTO, U.D. Plátano, para la eliminación de hierro y manganeso en aguas provenientes de pozos profundos [online]. 2016. Disponible: http://https://www.academia.edu/13385751 /[citado 15 de Septiembre de 2016].

[37] MEMON, J.R., MEMON, S.Q., BHANGER, M.I., EL-TURKI, A., HALLAM, K. R. and ALLEN, G.C. Banana peel: A green and economical sorbent for the selective removal of Cr (VI) from industrial wastewater. Colloids Surfaces B: Biointerfaces, 70(2), 2009, p. 232–237.

[38] ADÃO, R.C. and GLÓRIA, M.B.A. Bioactive amines and carbohydrate changes during ripening of Prata banana (*Musa acuminata* x M. balbisiana). Food Chemistry, 90(4), 2005, p. 705–711.

[39] TORRES, L., CARDENAS, J. y MARTINEZ, J. Remoción de cromo hexavalente por la cascara de Plátano (*Musa cavendishii*). Avances en Ciencias e Ingeniería, 3(2), 2012, p.1-9.

[40] PINZÓN-BEDOYA, M.L., MARÍA, A. y TAMAYO, C. Influencia del pH en la bioadsorción de Cr (III) sobre cáscara de naranja: Determinación de las condiciones de operación en proceso discontinuo. Bistua, 2010, p. 11-23

[41] ANNADURAI, G., JUANG, R.S. and LEE, D.J. Adsorption of Heavy Metals From Water Using

Banana and Orange Peels. Water Science and Technology, 47, 2002, p. 185–190.

[42] AHMED, I., ZIA, M.A., HUSSAIN, M.A., AKRAM, Z, NAVEED, M.T. and NOWROUZI, A. Bioprocessing of citrus waste peel for induced pectinase production by *Aspergillus niger*; its purification and characterization. Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 9(2), 2016, p. 148-154.

[43] ANHWANGE, B., TORSHIAN, J. and NYATAGHER, T.D. Chemical Composition of *Musa sepientum* (Banana) Peels. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 8(6), 2009, p. 437-442.

[44] TEJADA, B.L., TEJADA, T.C., MARIMÓN, B.W. and VILLABONA, O.A. Estudio de modificación química y física de biomasa *(Citrus sinensis* y *Musa paradisiaca)* para la adsorción de metales pesados en solución. Revista Luna Azul, 39, 2014, p. 124–142.

[45] SUD, D., MAHAJAN, G. and KAUR, M.P. Agricultural waste material as potential adsorbent for sequestering heavy metal ions from aqueous solutions - A review. Bioresource Technology, 99(14), 2008, p. 6017–6027.

[46] SHAHEEN, S.M., EISSA, F.I., GHANEM, K.M.,GAMAL EL-DIN, H.M. and AL ANANY, F.S. Heavy metals removal from aqueous solutions and wastewaters by using various byproducts. Journal of Environmental Management, 128, 2013, p. 514–521.

[47] GAO, H.Y., ZENG, L., XU, W., LI, T. and XIA, W. Characterization of Cr (VI) removal from aqueous solutions by a surplus agricultural waste—Rice straw. Journal of Hazardous Materials, 150(2), 2008, p.446-452.

SEGUIMIENTO DE LA MOLIENDA ABRASIVA DEL GRANO DE AMARANTO PARA LA OBTENCIÓN DE DOS FRACCIONES CON POTENCIAL INDUSTRIAL

CONTROL OF ABRASIVE GRINDING OF AMARANTH GRAIN TO OBTAIN TWO FRACTIONS WITH INDUSTRIAL POTENTIAL

CONTROLO DA MOAGEM ABRASIVO DE AMARANTO GRÃO PARA A OBTENÇÃO DE DUAS FRACÇÕES COM POTENCIAL INDUSTRIAL

DIEGO ROA-ACOSTA[1], CARLOS GONZÁLEZ-CALLEJAS[2], YIMY CALDERÓN-YONDA[3]

RESUMEN

El interés por el grano de amaranto se ha incrementado en los últimos años gracias a su gran potencial como alimento funcional. Se investigó el efecto de las condiciones de molienda abrasiva sobre el contenido de proteína, el índice de área aparente y los parámetros de color de la fracción almidonosa (FA). Se utilizó un diseño experimental Box-Benhken, involucrando 3 factores: humedad (8-12%b.s.), Carga del molino (100-200 g) y tiempo de procesamiento (30-90 min). Se usó el análisis de imagen para determinar el área aparente y el fotocolorímetro para determinar los cambios de color del grano procesado. El contenido de proteína/ grasa, coordenadas CIELAB y área aparente fueron afectados por los tres factores, siendo poco significativo el efecto de la húmedad. Los resultados mostraron la formación de fracciones almidonosa y lipoproteica (FLP), la fracción FA puede ser utilizada directamente en la molienda humeda para la extracción de almidón,

Recibido para evaluación: 30 de Noviembre de 2016. **Aprobado para publicación:** 2 de Marzo de 2017.

1 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias. Ph.D. Quimica Industrial. Popayán, Colombia.
2 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias. MBA. Popayán, Colombia.
3 Fundación PRODESIC, Coordinación Agroindustrial. Ing. Agroindustrial. Popayán, Colombia.

Correspondencia: droa@unicauca.edu.co

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Edición Especial No. 1 (59-66) Enero _ Junio 2017

mientras que, la fracción FLP tiene gran potencial para la extracción de polipeptidos en el área nutraceutica.

ABSTRACT

Interest in the grain amaranth has increased in recent years due to its great potential as a functional food. The investigation showed the effect of milling abrasive conditions on protein/fat contain apparent area index and color parameters of the starchy fraction (FA) of the amaranth grain. It used a experimental design Box-Benhken, involving three factors: humidity (8-12%b.s.), mill feed (100-200 g) and process time (30-90 min). Image analysis was used to determine apparent area index, while chroma meter was used to determine color changes. Protein/fat contains, the CIELAB coordinates and apparent area index were affected by three factors, being little significant effect of the humidity. Results showed the formation of a starchy fraction and other lipoprotein fraction (FLP). The starchy fraction can be used directly in wet milling to obtain native starch, while lipoprotein fraction has great potential in the extraction of polypeptides to nutraceutical area.

PALABRAS CLAVE:
Amaranto, Molienda, Almidón, Proteína

KEYWORDS:
Amaranth, Milling, Starch, Protein.

PALAVRAS-CHAVE:
Amaranto, Fresagem, Amido, Proteìna.

RESUMO

O interesse em amaranto grãos aumentou nos últimos anos graças ao seu grande potencial como um alimento funcional. Efeito das condições abrasivas de moagem sobre o conteúdo proteínas, índice de área aparente e parâmetros CIELAB da fração amido (FA) foi investigada. Foi utilizado desenho experimental Box-Benhken envolvendo três factores: umidade (8-12%b.s.), carga de moinho (100-200 g) e tempo de processamento (30-90 min). A análise de imagem foi usada para determinar a área aparente e colorimetria para determinar a mudança de cor. Conteúdo da proteína/gordura, coordenadas CIELAB e área aparente foram afetadas por três fatores, o efeito de a humidade não foi significativa. Os resultados mostraram a formação de fracções de amido e gorduproteica (FLP). A fracção amilácea pode ser utilizado na moagem por via húmida para obtenção de amido nativo. A fracção gorduproteica tem um grande potencial na área nutracêutico.

INTRODUCCIÓN

El amaranto es un grano pequeño aproximadamente de 0,9 a 1,7 mm. Las semillas son lisas, brillantes y de color amarillo crema, doradas y hasta negras, poseen notables propiedades nutricionales y se considera un pseudocereal [1]. Al amaranto se le han atribuido propiedades curativas, las cuales pueden asociarse a la fracción lipídica, a la fracción fenólica y la fibra dietética, es decir al contenido de ciertos tipos de lípidos, como el escualeno, los fitoesteroles y polifenoles existiendo numerosos trabajos en la bibliografía que demuestran sus propiedades antioxidantes [2, 3, 4]. Los estudios sobre el amaranto se han centrado en la extracción del almidón a partir del grano entero [5]. Se ha empleado la molienda húmeda asistida mediante molino planetario para disminuir los tiempos de maceración del grano y lograr un proceso más eficiente [6]. Sin embargo, son pocos

los estudios que se han enfocado en la separación de las partes anatómicas del grano para lograr obtener la fracción rica en proteínas y lípidos (propiedades funcionales). Por esta razón se propone un proceso de molienda abrasiva para la obtención de dos fracciones con diferente composición química, esto con el fin de ampliar los usos industriales a este grano andino.

MÉTODO

Materiales

El material usado fue el grano de amaranto (*Amaranthus cruentus*) el cual fue provisto por Cereales Naturales S.R.L (Lomas del Mirador, Argentina) el cual fue cosechado al oeste de la provincia de Buenos Aires. Los granos se tamizaron con el fin de remover el material extraño y luego fueron almacenados en bolsas de polipropileno a 4°C hasta su uso. El grano entero y las fracciones FA y FLP obtenidas mediante la molienda abrasiva fueron sometidas a los métodos oficiales para determinar su composición química: contenido de agua (AOAC 2000, 925.09 método); almidón (AACC 1995, 76–11 método); proteína (AOAC 2005, 960.52 método); grasa (AOAC 2005, 925.12 método) estos métodos son utilizados para determinar la composición en los granos [1].

Molienda abrasiva

La fracción almidonosa y la fracción lipidoproteica se obtuvieron por el método de molienda abrasiva, usando un molino de laboratorio Suzuki MT- 95 (Suzuki, San Pablo, Brazil), mediante el cual se logra un rendimiento de separación del 70% para la fracción FA y del 28% para FLP [7].

Diseño experimental Box-Benhken

Para analizar el efecto de las condiciones de operación como la humedad, carga y tiempo, sobre el índice de área aparente (IAP), concentración de proteína y grasa, grado de homogenización aparente (HA) y parámetros de color CIELAB* (Comisión Internacional de la Iluminación), se empleó el método de superficies de respuesta (MSR) bajo el diseño experimental Box-Benhken. Los rangos de humedad (8%-12%b.s.), bach (100-200 g) y tiempo de procesamiento (30-90min) fueron estimados con base en ensayos preliminares.

El diseño Box-Benhken se comporta según la función polinómica de segundo grado en términos de variables codificadas:

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^{n} a_i x_i + \sum_{i=1}^{n} a_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=2}^{n} a_{ij} x_i x_j \quad \text{(Ec.1)}$$

Dónde a_0, a_i y a_{ii} representan los coeficientes correspondientes a los términos constante, lineal y cuadrático respectivamente. La interacción entre los factores estudiados está dada por el coeficiente a_{ij}. Se aplicó una codificación lineal asignando los valores codificados 1 y -1 a los extremos superior e inferior del rango experimental establecido para cada una de las variables. Los factores codificados fueron X1 para la humedad, X2 para la cantidad de grano en la cámara de pulido y X3 para el tiempo de operación [7]. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el programa estadístico Statgraphics Plus ® versión 5.1 (Statistical graphics Corporation, Princeton, New Jersey, Estados Unidos de América).

Determinación del índice del área aparente

Las imágenes fueron adquiridas por triplicado mediante un scanner Hewlett-Packard PSC 1610. Para mejorar el estudio de las imágenes se empleó un fondo negro y se adoptó una escala milimetrada como patrón de referencia. Cada imagen contenía entre 250-300 granos de amaranto procesado (FA).

La imagen obtenida se procesó con el software ImageJ (versión 1.51i) de acceso libre en http://rsb.info.nih.gov/ij/index.html). Para el correcto análisis de imagen se normalizó la escala de trabajo (7800 pixel/mm), luego se binarizó la imagen (8 bit) [8], y se procesó con la función “Otsu”.

La determinación del tamaño de partícula se realizó dentro del rango 0,2-1,4 mm^2. Este rango resultó de ensayos previos donde se encontró que valores menores a 0,2 mm^2 eran polvo o aglomeración de polvos, y valores mayores a 1,4 mm^2 indicaban la unión de semillas.

El programa ImageJ proporciona la distribución de área aparente: A_{10}, A_{50}, A_{90} (que representan los respectivos percentiles).

Determinación del índice de procesamiento abrasivo de las fracciones FA

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Edición Especial No. 1 (59-66) Enero _ Junio 2017

El índice de procesamiento abrasivo (IPA) se calculó con base a la ecuación (2) utilizando las áreas aparentes de la fracción FA obtenidas por el procesamiento de las imágenes [7]:

$$\mathrm{IPA} = 100\left(\frac{\mathrm{AC} - \mathrm{AA}}{\mathrm{AC}}\right) \quad \text{(Ec.2)}$$

Donde el término (AA: es el área aparente de la fracción FA obtenida por el procesamiento de la imagen) y (AC: es el área aparente de la fracción FA en tiempo cero obtenida por el procesamiento de la imagen).

Determinación del grado de homogeneidad aparente (HD) de las fracciones FA

El valor de la homogeneidad aparente (HD) se determinó con base a la frecuencia acumulada de las áreas aparente obtenidas bajo las diferentes condiciones del diseño experimental. La homogeneidad se determinó según Roa (2015) [7]:

$$\mathrm{HD} = \frac{\mathrm{AA}_{90} - \mathrm{AA}_{10}}{\mathrm{AA}_{50}} \quad \text{(Ec.3)}$$

Dónde AA_{10}, AA_{50} y AA_{90} son los valores del área aparente correspondientes al 10%, 50% y 90% de la distribución acumulada.

Determinación de los parámetros CIELAB de las fracciones FA

Se utilizó un fotocolorímetro Minolta modelo CM-508-d (Japón) con el iluminante CIE D65 y un ángulo de observación de 2º. Las componentes del sistema CIELAB (L, a, b) y la función ΔE se midieron por triplicado para cada muestra de la fracción FA. El ΔE se calculó mediante la ecuación (4).

$$\Delta \mathrm{E} = (\Delta \mathrm{L}^2 + \Delta \mathrm{b}^2 + \Delta \mathrm{a}^2)^{0.5} \quad \text{(Ec.4)}$$

RESULTADOS

Selección del rango de humedad

Humedades inferiores a 12% b.s son consideradas como seguras para mantener la calidad físico química y microbiológica de los cereales en condiciones de almacenamiento. Por otro lado, conseguir que el grano obtenga humedades inferiores a 8% b.s requiere tiempos largos de secado y un gran costo energético, ya que valores de humedad del 8%b.s. son cercanos a los valores de humedad de monocapa (zona donde el agua interactúa fuertemente con la matriz solida). Por lo tanto el rango de humedad elegido fue entre 8 y 12% b.s.

Selección del rango de la cantidad de granos en el molino

La cámara del molino de laboratorio Suzuki MT-95 fue diseñada para manejar un volumen de 160 cm^3 de arroz, con el propósito de mantener la eficiencia de la cámara, se determinó que 128 (g) de amaranto equivalen al volumen arrocero, por lo tanto, para explorar el efecto del volumen de amaranto en la cámara de pulido se eligió una masa máxima de 200 (g) y una mínima de 100 (g).

Selección del tiempo de operación

Se prepararon 7 muestras (128 g) por duplicado y se procesaron durante tiempos comprendidos entre 0 y 120 minutos. Se realizó la captura de las imágenes de las fracciones FA obtenidas a diferentes tiempos y posteriormente se analizaron por medio del programa ImageJ obteniendo los valores de área aparente (AA). Se determinó que el tiempo de operación adecuado es de 90 minutos, ya que tiempos superiores de procesamiento provocan el empastamiento del molino y la aglomeración de polvo en las fracciones FA. Los efectos de adversos se vieron favorecidos por el aumento de temperatura.

Diseño box-behnken

En el cuadro 1 se logra observar las diferentes condiciones experimentales codificadas y el punto central del diseño identificado con las coordenadas 0,0,0. Se observó un descenso en el contenido de proteína desde 13,9% b.s hasta 4,96% b.s lo que equivale a una reducción del 64%, este contenido fue superior a los encontrados por Tosí (2000) [9] y Lindemboom (2005) [12], los contenidos superiores de proteína recuperada se deben al largo tiempo de operación. El contenido de grasa se comportó de una manera similar al contenido de proteína, indicando que durante el proceso de abrasión ocurre pérdida de estos compuestos, evidenciando la separación del germen del resto del grano. Se observó un cambio en el valor de ΔE desde 6,38 hasta 22,71 lo que indica que efectivamente la operación de abrasión cambió la propiedad física del color. Lo anterior se ve reflejado en el aumento

Cuadro 1. Factores y variables de respuesta del diseño Box Benhken.

X1	X2	X3	Proteína (%b.s.)	Grasa (%b.s.)	IAP	HA	ΔE	L	a	b
0	1	1	11,30	5,22	35,80	0,30	9,94	63,53	3,41	20,45
0	0	0	9,26	4,10	40,34	0,15	17,28	70,54	1,56	17,14
1	1	0	9,35	4,13	31,82	0,31	12,40	67,81	2,76	21,24
1	0	-1	13,90	6,36	15,72	0,21	6,38	66,84	3,72	24,36
0	0	0	8,71	3,48	41,29	0,18	19,44	72,25	0,92	15,95
0	1	-1	12,84	6,75	25,19	0,38	7,47	60,64	3,61	21,78
-1	0	-1	11,01	4,80	21,40	0,27	12,24	67,62	2,55	21,33
-1	0	1	6,72	2,53	37,50	0,19	19,69	72,89	0,90	16,30
0	-1	-1	11,91	5,14	32,77	0,21	12,92	69,28	2,30	22,74
0	-1	1	4,96	1,54	40,65	0,21	16,98	71,38	1,51	18,98
1	0	1	10,42	4,72	38,45	0,31	14,21	67,50	2,02	18,42
-1	-1	0	7,83	2,87	39,39	0,16	19,03	73,47	0,98	18,17
1	-1	0	5,59	1,86	40,34	0,20	22,71	75,96	0,24	15,45
-1	1	0	9,58	3,92	42,23	0,32	13,87	68,12	2,46	19,38
0	0	0	9,71	4,73	42,23	0,16	18,92	71,96	1,09	16,37

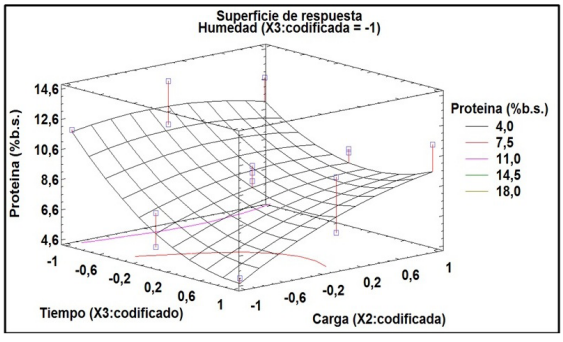
X1 (humedad), X2 (carga), X3 (tiempo), Factores codificados (variables operativas). IAP: índice de área aparente. HA: homogeneidad aparente. ΔE: variación del color. L,a,b parámetros CIELAB

de la luminosidad (L) y en el descenso del parámetro (a). Otro cambio en las variables de respuesta fue el aumento del índice IAP, esto significa que durante la abrasión, el amaranto pierde área superficial.

Efecto de las condiciones de operación sobre las respuestas del diseño.

Los efectos de las condiciones de operación se estudiaron mediante las superficies de respuesta para cada punto del diseño. Las figuras muestran los efectos principales de dos factores y mantiene constante el factor de menos relevancia. La figura 1 muestra el

Figura 1. Superficie de respuesta para el contenido de proteína.



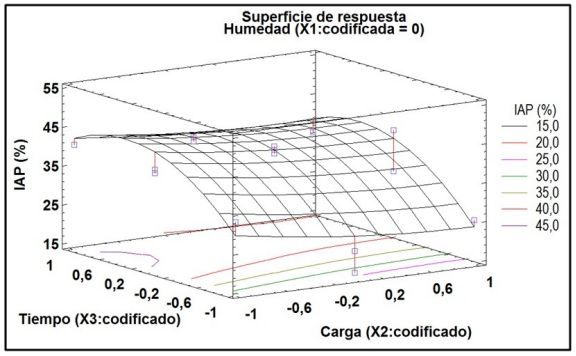
efecto del tiempo de procesamiento y la cantidad de amaranto en la cámara de pulido. Puede observarse niveles bajos de proteína (región azul) en la fracción FA, cuando el grano es sometido a humedades bajas (X1= -1), tiempos altos y baja carga en la cámara de pulido. El análisis de los principales efectos mostro que el tiempo y la carga tiene un efecto lineal (p-value<0,05) sobre el contenido de proteína remanente, esto quiere decir que cuando aumenta el tiempo de operación y disminuye la carga del grano, el contenido de proteína en FA disminuye.

Tosí (2000) [9] observó que el tiempo de operación y la temperatura de secado influenciaban de manera significativa la recuperación de una fracción proteica. La función del polinomio modela los datos con un R^2 de 0,88. El contenido de grasa en la fracción FA se comportó de manera similar al contenido de proteína, siendo los principales efectos el tiempo y la carga en la cámara de pulido.

En la figura 2 puede observarse el comportamiento del índice de área aparente con relación al tiempo de proceso y a la alimentación en el molino. El análisis estadístico mostró que el tiempo de operación fue la única variable que afectó significativamente el índice de área aparente, el

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Edición Especial No. 1 (59-66) Enero _ Junio 2017

Figura 2. Superficie de respuesta para el índice de abrasión aparente.

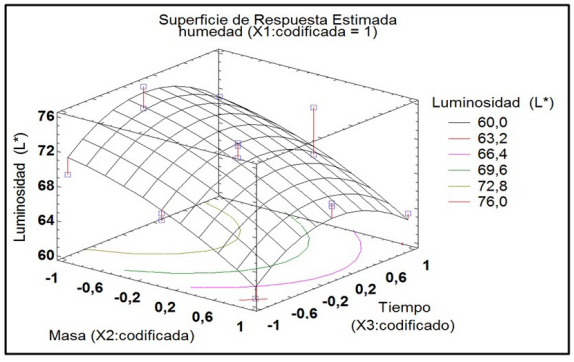


IAP aumento con el incremento del tiempo, esto significa que el área del grano disminuye y simultáneamente la fracción FA pierde proteína y grasa.

El análisis estadístico evidenció el efecto cuadrático del tiempo, indicando que hay un tiempo óptimo de procesamiento, esto se debe a que durante el procesamiento la cámara de pulido eleva la temperatura e inician procesos de empastamiento y aglomeración de polvos sobre las fracciones FA, este fenómeno es evidente con la disminución gradual del IAP.

En la figura 3 se puede observar el comportamiento de la luminosidad (L). La carga en la cámara de pulido es la principal variable que afecta la luminosidad, cargas menores incrementan el valor de L, esto significa que la fracción FA incrementa su color blanco que corresponde al almidón nativo. En otras palabras, la operación de abrasión es más efectiva a niveles bajos de carga. En la figura 3 se observa una región de color naranja, en esta región se localiza los valores óptimos de la luminosidad (L= 75,3). Las condiciones operativas bajo las cuales se obtienen estos valores máximos

Figura 3. Superficie de respuesta de la luminosidad.



para la L es 100 (g) de amaranto con una humedad cercana al 12% b.s y un tiempo de molienda entre 60 a 69 minutos. Ponce (2015) [11] observó que en los tratamientos de molienda abrasiva o de trituración las propiedades física como el color cambian con la intensidad del tratamiento, ya sea que se incremente la luminosidad por el aumento del almidón o que se genere un cambio en el ΔE debido a procesos de oxidación de lípidos cuando las harinas son almacenadas.

Cada uno de los índices utilizados en el seguimiento de la molienda abrasiva indica regiones óptimas de trabajo diferente, por lo tanto, surge la necesidad de hacer un análisis de optimización multirespuesta. Las condiciones de operación multirespuesta son: (X1: -0,8); (X2: -1); (X3:0,6). La condición del diseño experimental que mejor satisface esta optimización es el punto 10, la cual corresponde a adecuar la humedad inicial del grano a 10%b.s, manteniendo la carga del grano en 100g en la cámara de pulido por un tiempo de procesamiento de 90 minutos.

El cuadro 2 muestra los contenidos de proteína, grasa y carbohidratos del grano entero de amaranto y de las dos fracciones FA y FLP que se obtienen después de la molienda abrasiva optimizada. Puede observarse un aumento significativo en los contenidos de grasa y de proteína en la fracción FLP, esto se debe a la acción abrasiva del molino, la cual desprende el germen y las capas constitutivas del pericarpio que son las partes anatómicas del grano ricas en estos compuestos. Por otro lado, el endospermo liberado del salvado constituye la fracción enriquecida en almidón o fracción amilácea (FA). Este comportamiento también fue registrado por Lindeboom (2005) [12] cuando utilizo un molino de abrasión tangencial para granos de quínoa. Por otra parte, en la cuadro 2 se detalla un incremento del 20% en el contenido de almidón en la fracción FA con respecto al grano entero, mientras que disminuyó considerablemente el conte-

Cuadro 2. Composición de las diferentes fracciones obtenidas por molienda abrasiva.

M	P (%)	L (%)	C (%)
A	16,8±0,1b	7,7±0,1b	73±0,4b
FA	5±0,1c	1,5±0,1c	87,7±0,1a
FLP	46,6±0,1a	23,2±0,1a	25,2±0,1c

M: muestra; **A:** grano entero; **FA:** fracción amilácea; **FLP:** fracción lipidoproteica; **P:** proteína; **L:** lípidos; **C:** carbohidratos. Las diferentes letras **(a-c)** indican diferencias significativas.

nido de proteínas (70%) y el de lípidos (80%).De la misma manera, el contenido de lípidos se triplica y el de proteínas se multiplica por 2,77 en la fracción FLP en relación al grano entero. Cabe señalar que los niveles de enriquecimiento en las fracciones FA y FLP en este artículo fueron similares a los obtenidos por Tosi *et al*. (2000) [9] quienes lograron separar las fracciones del grano de amaranto combinando procesos de secado y molienda diferencial.

Posibles usos industriales de las fracciones FA y FLP

La fracción FA está compuesta principalmente por almidón microgranular con un diámetro de 1mm [1], tamaño menor al almidón obtenido de las fuentes tradicionales como maíz, papa y mandioca. La temperatura de gelatinización esta entre los 65ºC y 75ºC y tienden a formar geles débiles debido a su bajo contenido en amilosa. Esta característica lo hace especial para la formulación de sopas instantáneas que no necesitan grandes cantidades de energía de gelatinización. Recientemente Roa y coautores [10] probaron la eficacia de esta fracción en procesos de encapsulación y retención de antioxidantes a diferentes condiciones de almacenamiento. Por otro lado, la fracción FLP ha mostrado interesantes propiedades farmacológicas, por ejemplo, en el uso de sus péptidos bioactivos. Estos péptidos tienen potencial como factores antitromboticos [3] y como agentes antioxidantes [5].

CONCLUSIONES

La molienda abrasiva se mostró como un método eficiente para obtener dos fracciones con composición química diferente a partir del grano entero de amaranto. Los diferentes métodos químicos y físicos utilizados para el seguimiento de la operación de molienda fueron exitosos, ya que indicaron rangos de operación similares; lo que permitió encontrar un punto óptimo de molienda donde se maximizó el rendimiento de almidón para el grano pulido y paralelamente se incrementó el porcentaje de proteína y grasa en el salvado. Por medio de la molienda de abrasión se obtuvo un subproducto de altísimo valor nutricional sin la necesidad de extracciones químicas y la posterior generación de efluentes. La molienda abrasiva se perfila como un pretratamiento necesario a la molienda humeda, que podría influir positivamente en los rendimientos de extracción del almidón nativo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de INNOVACAUCA y de la Universidad del Cauca por la financiación y divulgación de este artículo.

REFERENCIAS

[1] ROA, D.F., SANTAGAPITA, P.R., BUERA, M.P. AND TOLABA, M.P. Amaranth milling strategies and fraction characterization by FTIR. Food and Bioprocess Technology, 7, 2014, p. 2723-2731.
[2] QUIROGA, A., BARRIO, D. and AÑÓN M. Amaranth lectin presents potential antitumor properties. LWT - Food Science and Technology, 60, 2015, p. 478-485.
[3] SABBIONE, A.C., SCILINGO, A. and AÑON, M.C. Potential antithrombotic activity detected in amaranth proteins and its hydrolysates. LWT-Food Science and Technology, 60, 2015, p. 171-177.
[4] MORONTA, J., SMALDINI, P., DOCENA, G. and AÑÓN, M. Peptides of amaranth were targeted as containing sequences with potential anti-inflammatory properties. Journal of Functional Foods, 21, 2016, p. 463-473.
[5] ORSINI, M., TIRONI, V.A. and AÑÓN, M.C. Antioxidant activity of amaranth protein or their hydrolysates under simulated gastrointestinal digestion. LWT - Food Science and Technology, 44, 2011, p. 1752-1760.
[6] Roa, D.F., BAEZA, R., Buera, M.P. and Tolaba, M.P. Effect of ball milling energy on rheological and thermal properties of amaranth flour. Journal of Food Science and Technology, 52, 2015, p. 8389–8394.
[7] ROA D. Dry and wet grinding methods in planetary ball mill to obtain and characterize fractions of amaranth and its application as an encapsulating agent [Ph.D. Thesis Industrial Chemical]. Buenos Aires (Argentina): University of Buenos Aires, Faculty of Exact Sciences, 2015, p 40.
[8] AGUDELO, L., SCHEBOR, C. and BUERA, M. P. Water content effect on the chromatic attributes of dehydrated strawberries during storage, as evaluated by image analysis. LWT-Food Science 52, 2014, p 157–162
[9] TOSI, E., RE, E., LUCERO, H. and MASCIARELLI, R. Amaranth (*Amaranthus* spp.) grain conditioning to obtain hyperproteic flour by differential milling. Food Science and Technology International.5, 2000, p .60–63.

[10] Roa, D.F., BAEZA, R., Buera, M.P. and Tolaba, M.P Encapsulation and stabilization of β-carotene in amaranth matrices obtained by dry and wet assisted ball milling. Food and Bioprocess Technology, 2016, p. 1-10
[11] PONCE, N. Apuntes de tecnología de cereales y oleaginosas [online]. 2015. Disponible:https.ri.uaemex.mx/bitstream/ha.dle/20.500.11799/32457/secme8641. [citado 16 de enero de 2016]
[12] LINDEBOOM N. Studies on the characterization, biosynthesis and isolation of starch and protein from quinoa (*Chenopodium quinoa willd*.) [Ph.D. Thesis, Engineering of Food]. Saskatoon (Canada): University of Saskatchewan, Department of Applied Microbiology and Food Science, 2005, p. 22, 57-59, 78-83.