

PORTADA
Silvio Andres Mosquera
Grupo CYTBIA
Departamento de Agroindustria
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad del Cauca

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

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

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

Vicerrectoría de Investigaciones
Universidad del Cauca - VRI -

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

ISSN - 1692-3561
Versión Impresa

Universidad del Cauca

ISSN - 1909-9959
Versión Electrónica

Vol 12 No. 2 Julio - Diciembre 2014

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

Catalina Garcia 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

Maite del Pilar Rada. Ph. D.
Universidad del Cauca
Departamento de Química

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

COMITÉ CIENTÍFICO

Nelson Vivas Quila – M. Sc.
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
Leadith Alexandra Gutiérrez Vélez

DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN
Maritza Martínez Andrade

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
ZORAIDA RAMIREZ

Vicerrector de Investigaciones
HUGO COSME VARGAS

Vicerrector de Cultura y Bienestar
PALOMA MUÑOZ

Secretaria General
LAURA ISMENIA CASTELLANOS VIVAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Decano
JOSÉ FERNANDO GRASS RAMIREZ

Secretaria General
TANIA MARITZA PABÓN RUÍZ

Jefe Departamento Agroindustria
CARLOS ALBERTO GONZALES

Jefe Departamento Ciencias Agropecuarias
DIEGO VERGARA COLLAZOS

Coordinador Programa Ingeniería Forestal
JUAN CARLOS VILLALBA MALAVER

Coordinador Programa de Ingeniería Agroindustrial
ANA DE DIOS ELIZALDE

Coordinador Programa de Ingeniería Agropecuaria
HUGO HERNAN ERAZO

Coordinador Programa de Tecnología Agroindustrial
RAQUEL DE LA CRUZ

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

10 **Artículos de Investigación Científica y Tecnológica**

10 **APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES COMO BIOCOMBUSTIBLE Y BIOREFINERÍA**
Deyanira Muñoz-Muñoz, Alvaro Javier Pantoja-Matta, Milton Fernando Cuatin-Guarin

20 **BIODEGRADACIÓN ANAEROBIA DE UN MATERIAL BIODEGRADABLE BAJO DIGESTIÓN ANAEROBIA TERMÓFILA**
Ricardo Camacho-Muñoz, Jose Luis Hoyos-Concha

30 **EFECTO DE RECUBRIMIENTO DE ALMIDÓN DE YUCA Y CERA DE ABEJAS SOBRE EL CHONTADURO**
Zulma Lizeth Tosne, Silvio Andrés Mosquera, Héctor Samuel Villada

40 **EVALUACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICAS DE BIOPLÁSTICOS TERMO-COMPRIMIDOS ELABORADOS CON HARINA DE YUCA**
Diana Paola Navia-Porras, Nathalia Bejarano-Arana

49 **EVALUACIÓN in vitro DE LA ACCIÓN DE *Lactobacillus plantarum* CON CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS SOBRE *Yersinia pseudotuberculosis***
Henry Jurado-Gámez, Javier Andrés Martínez B., Aura Magdalena Chaspuengal T., Fredy Yesid Calpa Y.

60 **FIBRAS DE FIQUE UNA ALTERNATIVA PARA EL REFORZAMIENTO DE PLÁSTICOS. INFLUENCIA DE LA MODIFICACIÓN SUPERFICIAL**
Mario Fernando Muñoz-Velez, Miguel Angel Hidalgo-Salaza R., Jose Herminsul Mina-Hernandez

71 **GUARANGO (*Mimosa quitensis*) OPCION FORRAJERA PARA SISTEMAS GANADEROS DE CLIMA FRIO**
Jamir Achipiz-Fajardo, Geison Mauricio Gálvez-Campo, Sandra Morales-Velasco, Nelson Jose Vivas-Quila

81 **MODELACIÓN DE LA SEPARACIÓN DE PARTÍCULAS NO RETENIDAS EN LA ETAPA DE SEDIMENTACIÓN EN CANALES: PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ALMIDÓN DE YUCA**
Patricia Torres-Lozada, Yelena Carolina Valencia, Teresita Canchala

90 **PROPIEDADES FUNCIONALES DEL ALMIDON DE SAGU (*Maranta arundinacea*)**
Clemente Granados C., Luis Enrique Guzman C., Diofanor Acevedo C., María Díaz M., Ana Herrera A.

97 **UTILIZACIÓN DE ALMIDÓN DE MALANGA (*Colocasia esculenta L.*) EN LA ELABORACIÓN DE SALCHICHAS TIPO FRANKFURT**
Alberto Luis Torres- Rapelo, Piedad Margarita Montero-Castillo, Lesbia Cristina Julio-González.

106 **DIVERSIDAD GENÉTICA DE *Diaphorina citri* EN CULTIVOS CÍTRICOS DEL VALLE DEL CAUCA Y QUINDÍO (COLOMBIA)**
Miguel Angel Moncayo-Donoso, Martha Isabel Almanza-Pinzón, Ana Milena Caicedo-Vallejo, Jaime Eduardo Muñoz-Flórez, James Montoya-Lerma, Arturo Carabalí-Muñoz.

115 **EVALUACIÓN DE ACTIVIDADES ENDOGLUCANASA, EXOGLUCANASA, LACASA Y LIGNINA PEROXIDASA EN DIEZ HONGOS DE PUDRICIÓN BLANCA**
Sandra Montoya B., Óscar Julián Sánchez T. , Laura Levin

125 **RECUENTO DE COLIFORMES Y *Escherichia coli* EN CANALES BOVINAS SOMETIDAS A TRATAMIENTOS FÍSICOS Y QUÍMICOS**
Eduardo Javid Corpas-Iguarán, Juan Sebastián Arcila-Henao

134 **FILMS DE ALMIDÓN TERMOPLÁSTICO. INFLUENCIA DE LA INCORPORACIÓN DE HIDROXIPROPIL-METIL-CELULOSA Y ÁCIDO CÍTRICO**
Rodrigo Ortega-Toro, Alberto Jiménez M., Pau Talens O., Amparo Chiralt B.

142 **EFECTO DEL MARINADO CON NaCl Y TRIPOLIFOSFATO-SÓDICO SOBRE LAS PROPIEDADES BROMATOLÓGICAS EN CARNE DE CABRA**
Ricardo Peña F., Daniel Salvador Duran O., Luis Carlos Baleta M.

151 **AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE UNA LEVADURA FLOCULANTE PARA PRODUCIR ETANOL DEL BANANO DE RECHAZO**
Carlos Guevara-Bravo, José Acevedo, Carlos Peláez-Jaramillo

160 **TRANSPORTE DE MATERIA ORGANICA PARTICULADA EN UNA CORRIENTE ALTOANDINA: QUEBRADA ARRAYANALES (CAUCA – COLOMBIA)**
Margarita del Rosario Salazar-Sánchez, Monica Patricia Valencia-Rojas, Apolinar Figueroa-Casas

170 **Artículos de Estudio de Caso**

170 **LOS ABONOS ORGÁNICOS Y LA AGREMIACIÓN CAMPESINA: UNA RESPUESTA A LA AGROECOLOGÍA**
Nubia Zoraida Plazas-Leguizamón, José Francisco García-Molano

177 **PROPUESTA PARA LA FORMULACIÓN E IMPLEMENTACIÓN DE UNA ESTRATEGIA DE INNOVACIÓN EN GRUPOS DE INVESTIGACIÓN. APLICACIÓN EN UN GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN AGROINDUSTRIA**
Gina Lia Orozco-Mendoza, Jhon Wilder Zartha-Sossa, Bibiana Arango-Alzate, Lina Maria Vélez-Acosta

185 **RELACIÓN ENTRE LOS USOS POPULARES DE LA GRANADILLA (*Passiflora ligularis Juss*) Y SU COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA**
Luz Marina Carvajal-De Pabón, Sandra Turbay, Lizeth Marelly Álvarez, Adalberto Rodríguez, Julie Maritza Alvarez, Karla Bonilla, Sara Restrepo, Marisol Parra

197 **Artículo Estado de Arte**

197 **EL GUANDUL (*Cajanus cajan*) UNA ALTERNATIVA EN LA INDUSTRIA DE LOS ALIMENTOS**
Carmen Lucia Navarro V., Diego Restrepo M., Jaime Perez M.

207 **Artículo Corto - Estudio de Caso**

207 **RELACION BOSQUE COMUNIDAD: ESTUDIO DE CASO VEREDA CLARETE ALTO, MUNICIPIO DE POPAYÁN**
Juan Pablo Paz-Concha, Román Ospina-Montealegre

Editorial

LOS RETOS DE LA FORMACIÓN POSGRADUAL

El entorno laboral actual exige que los profesionales se cualifiquen de manera permanente y posean competencias específicas que les permitan desempeñarse de manera apropiada en un entorno cada vez más competitivo y cambiante, para poder afrontar los retos que impone una sociedad exigente e identificada con los procesos de globalización que buscan dar cuenta de las múltiples oportunidades que prevalecen en el mercado.

La oferta y la demanda de programas académicos de formación posgradual se ha incrementado de forma considerable, convirtiéndose en un reto para las instituciones de educación superior la formulación de propuestas que sean consecuentes con las necesidades de enriquecimiento profesional para acceder a mejores condiciones salariales, así como también con los sectores que hacen parte de la sociedad, los cuales demandan la ejecución de acciones puntuales encaminadas a la solución de problemas diversos que afectan la estabilidad, rentabilidad y competitividad de las organizaciones.

La Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca no es ajena a este sentir y busca la inserción de profesionales de alto nivel académico y con conocimientos sólidos que fortalezcan la relación universidad entorno a través de estrategias de formación avanzada que redunden en mejores condiciones de operación para las instituciones de los sectores público, privado y solidario de la región, que visualicen su desempeño integral a la par de las mejores en el mercado. Para afrontar el reto y alcanzar las metas se ofertarán programas académicos de posgrado como el Doctorado en Ciencias Agrarias y Agroindustriales, las maestría en Agroindustria y en Ciencias Agrarias y las especializaciones en Sanidad y Sistemas Integrados de Producción y en Manejo Integral del Recurso Hídrico, entre otros temas que están en proceso administrativo.

M.Sc. SILVIO ANDRÉS MOSQUERA SÁNCHEZ

Comité Editorial

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (10-19) Julio - Diciembre 2014

Artículos de Investigación Científica y Tecnológica

APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES COMO BIOCOMBUSTIBLE Y BIOREFINERÍA

UTILIZATION OF AGROINDUSTRIALES RESIDUES AS BIOFUELS AND BIOREFINERY

UTILISATION DES RESIDUS AGRO-INDUSTRIELS COMME LES BIOCARBURANTS ET BIORAFFINERIE

Deyanira Muñoz-Muñoz[1], Alvaro Javier Pantoja-Matta[2], Milton Fernando Cuatin-Guarin[3]

RESUMEN

El aprovechamiento de residuos generados en procesos agroindustriales, es de interés en el ámbito mundial. En la actualidad se investiga en biomasa lignocelulósica para obtener energía, combustibles, biomateriales y productos químicos, mediante tecnologías limpias y sistemas cerrados que permitan conservar el medio ambiente. En esta investigación, a partir de características de residuos agroindustriales típicos del Departamento del Cauca, bagacillo de caña, polvillo de fique, afrecho de yuca y sus mezclas, se evalúo el aprovechamiento como biorefinería. Se determinaron las propiedades térmicas, físicas químicas y morfológicas en siete muestras de residuos, se realizaron ensayos exploratorios de pre-tratamientos y posibles usos. Se concluye que la muestra M6 con el 9,93% de humedad, 4,12% de ceniza, 43,97% de carbono, 5,86% de hidrogeno, 0,43% nitrógeno, poder calorífico inferior de 15MJ/kg y con 22,25% de celulosa, 9,30% de hemicelulosa y 4,56% de lignina, presenta características apropiadas para ser utilizada en hornos y calderas de menor potencia para el sector rural por la cantidad de ceniza, la cual mantiene estable el poder calorífico inferior y reduce la emisión

Recibido para evaluación: 13 noviembre de 2013. **Aprobado para publicación:** 25 mayo de 2014

1 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Agroindustria, Grupo Diseño Procesos y Energía. Msc en Ingeniería énfasis ingeniería Sanitaria y Ambiental. Popayán, Colombia.

2 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Agroindustria, Grupo Diseño Procesos y Energía. Ingeniero Agroindustrial. Popayán, Colombia.

3 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Agroindustria, Grupo Diseño Procesos y Energía. Ingeniero Agroindustrial. Popayán, Colombia.

Correspondencia: demunoz@unicauca.edu.co.

de material particulado. Por las características térmicas, físicas, químicas y morfológicas, todas las muestras de M1 a M7, pueden ser hidrolizadas, densificadas y aprovechadas como biocombustible y/o biorefinería.

ABSTRACT

The use of residues generated in the process agro-industrials are interest worldwide. At present, research is this in lignocellulosic biomass for energy, fuels, chemicals and biomaterials through clean technologies and closed systems that conserve the environment. In this research, based on the characteristics of the typical agro-industrial residues of Cauca Department, sugarcane bagasse, sisal dust, cassava bran and the mixtures, was evaluated use as biorefinery. Were determined the thermal, physical chemical and morphologic properties in seven samples of residues, were performed exploratory tests, were determined pretreatments and applications and the possible use were identified. We conclude that the sample M6 with 9,93 % moisture, 4,12% ash, 43,97% carbon, 5,86% hydrogen, 0,43% nitrogen, 15 MJ/kg of lower heating value and 22,25%of cellulose, 9,30% of hemicellulose and 4,56% lignin, presents characteristics appropriate to be used in furnaces and boilers less power for the rural sector by the amount of ash, which keeps the low heating power stable and reduces the emission of particulate matter. For the thermal, physical, chemical and morphological characteristics, all the samples of M1 to M7, they can be hydrolyzed, densified and taken advantage like biofuel and / or biorefinery

PALABRAS CLAVES:
Propiedades, Bioenergía, Biomasa.

KEY WORDS:
Properties, Bioenergy, Biomass.

PALAVRAS-CHAVE:
Propriétés,Bioénergie, Biomasse.

RESUMO

A utilização de resíduos gerados no processo agro- industriais são o interesse mundial. Actualmente, a investigação é esta em biomassa lignocelulósica para a energia, combustíveis, produtos químicos e biomateriais através de tecnologias limpas e sistemas fechados que conservam o meio ambiente.Nesta pesquisa, com base nas características dos resíduos típicos agro-industriais de Departamento de Cauca, bagaço de cana, pó de sisal, farelo de mandioca e das misturas, foi avaliado o uso como biorrefinaria. Foram determinadas as propriedades químicas, físicas e morfológicas térmicos em sete amostras de resíduos, foram realizados testes exploratórios, foram determinados pré-tratamentos e aplicações e foram identificados o uso possível. Conclui-se que a amostra de M6 com 9,93% de humidade, 4,12% de cinzas, 43,97% de carbono, 5,86% de hidrogénio, 0,43% de azoto, 15 MJ/kg de poder calorífico inferior e 22,25% de celulose, 9,30% de hemicelulose e lignina 4,56%, apresenta as características adequadas para ser utilizado em fornos e caldeiras de menos energia para o sector agrícola por a quantidade de cinzas, o que mantém a potência de aquecimento de baixa estabilidade e reduz a emissão de partículas em suspensão. Para as características térmicas, físicas, químicas e morfológicas, todas as amostras de M1 a M7, que pode ser hidrolisado, densificada e aproveitado como biocombustíveis e / ou biorrefinaria.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (10-19) Julio - Diciembre 2014

INTRODUCCIÓN

En el ámbito mundial existe interés por la conservación del medio ambiente, los recursos renovables y no renovables, y el aprovechamiento de residuos generados en los procesos agroindustriales. Los residuos de tipo lignocelulósico ricos en polímeros de celulosa y hemicelulosa alrededor del 75-80%, se pueden degradar por procesos químicos, físicos y/o biológicos para obtener azucares y la posterior conversión a un biocombustible [1,2,3].

Investigaciones en biomasa, plantean que materiales lignocelulósicos tienen usos en la producción animal y consumo humano. El polisacárido xylan presente en la hemicelulosa es usado en el desarrollo de tecnologías para la producción de alcohol, xilosa, xilitol y xilo-oligosacaridos. Este último por contener fibras dietéticas con actividad prebiótica, favorece funciones inmune, antimicrobial y otros beneficios a la salud [4,5].

Los esfuerzos se enfocan en el desarrollo de tecnologías que empleen residuos agroindustriales como fuente renovable en la fabricación de alimentos y biocombustibles, de acuerdo a sus características, que generalmente se definen mediante los análisis elemental e inmediato. En biomasa, el análisis elemental reporta valores típicos del 50% en carbono, 5,5% en hidrógeno, valores menores al 1% en nitrógeno, 40% en oxígeno y valores despreciables en azufre [6,7,8,9,10].

En el análisis inmediato, los valores típicos de las cenizas o residuos sólidos no quemados varían entre 2 y 5%, cuando es superior al 15% incide negativamente en el rendimiento energético debido a que no es posible el aprovechamiento de la energía útil y genera problemas de sinterización. Los valores de la humedad libre superficial y la retenida en los poros de la biomasa, están alrededor del 8% al 50% y para la materia volátil, el valor es mayor al 65%[6,10].

El poder calorífico es la cantidad de calor liberado durante la combustión por unidad de masa, a presión constante y a 25ºC. Según el estado de los productos: El Poder Calorífico Superior (P.C.S.) incluye el calor latente, mientras el Poder Calorífico Inferior (P.C.I.), no lo considera. La biomasa tiene un poder calorífico 50% menor que el resto de los combustibles, excepto al carbón [6,10].

En los materiales fibrosos las propiedades energéticas, la estructura física, composición química y morfológica varían según la planta y el cultivo, éstas permanecen homogéneas en la mayoría de los residuos y conservan las características originales de los materiales de origen.

Es de interés conocer la composición del residuo para la adecuada selección de la tecnología y el aprovechamiento. Por lo tanto la característica típica de cada material lignocelulósico, indica cual debe ser la aplicación más adecuada ya sea como textiles, empaques, extracción de esteroides, pulpa de papel, material de construcción, abonos y alimentos [8,9,11, 13,14].

El tamaño de partícula, es una de las características físicas de la biomasa, de mayor relevancia, cuando se va a someter a posteriores tratamientos. En la etapa de pretratamiento (molienda) del residuo para obtener bioetanol, la reducción del tamaño de partícula, disminuye el tiempo de digestión de la biomasa entre el 23–59% [1]. En bagazo molido las investigaciones reportan para una cantidad de 12,43% un tamaño de partícula alrededor de 0,387 mm, que influye significativamente en el tiempo de degradación de la fibra [13,14].

Las propiedades químicas de un material lignocelulósico generalmente se divide en tres componentes principales: 30 a 50% de celulosa, 15 a 35% de hemicelulosa, 10 a 20% de lignina. La celulosa y hemicelulosa corresponden aproximadamente al 70% del total de la biomasa [15,16,17]. La composición química que las investigaciones reportan para bagazo son: celulosa (45%-47%), hemicelulosa (27%-28%), lignina (22%-23%), cenizas de 2,3% y otros constituyentes solubles e insolubles de 0,8% [17,18].

Tallos de yuca antes y después de un pre-tratamiento alcalino muestran que los porcentajes de los componentes en material pre-tratado se incrementan de 38,4% a 56,5% en celulosa, de 7,2% a 12,6% en hemicelulosa y de 11,8% a 12,2% en lignina [19].Las propiedades morfológicas proporcionan información sobre los cambios físicos que ocurren durante los procesos de pre-tratamientos de un material [20].

El aprovechamiento térmico de la biomasa, es posible en el ámbito mundial [21, 22], por ejemplo en Europa, las aplicaciones térmicas con producción de calor y agua caliente son las más comunes en el sector de la biomasa [23, 24].

Las tecnologías de pre-tratamiento producen cambios físicos y/o químicos en la biomasa con el propósito de romper el recubrimiento de lignina, solubilizar la

hemicelulosa y alterar la estructura cristalina de la celulosa [25]. Las alternativas para transformar biomasa lignocelulósica son: combustión, gasificación, síntesis y pirolisis, hidrólisis fermentación, separación del producto y tratamiento de los efluentes [25].

La biorefineria es una instalación industrial que procura el uso integral de la biomasa de forma sostenible para la producción de biocombustibles, energía, materiales y productos químicos con valor agregado [26,27]. Considerando que es política nacional conocer el potencial energético de los residuos de los sectores regionales [4, 8], el propósito de este trabajo es evaluar, a partir de las características de los residuos agroindustriales bagacillo de caña, polvillo de fique, afrecho de yuca y mezclas provenientes del departamento del Cauca, el aprovechamiento como biocombustible y biorefinería.

MÉTODO

Fuente de biomasa

Las muestras de biomasa residual utilizadas corresponden a la generada en el proceso de transformación de la fibra de los cultivo de caña de azúcar, fique y yuca. En el caso de caña de azúcar, se utilizó el bagacillo generado de la etapa de molienda de caña y de filtrado, proveniente del ingenio Rio-paila Castilla S.A. En el caso del fique, el polvillo generado en el proceso de transformación de la fibra a productos, de la empresa Empaques del Cauca y para el caso de la yuca, el afrecho de yuca generado en la obtención del almidón de la Rayanderia La nueva Zelandia.

Preparación de muestras para ensayos de caracterización

En la adecuación de los tres residuos agroindustriales, bagacillo de caña, polvillo de fique y afrecho de yuca, se aplicaron operaciones de: secado a 70ºC hasta peso constante en deshumidificador Binder, reducción de tamaño con un molino de martillos Penagos, y tamizado. Se estableció como óptimo un tamaño inferior al tamiz Nº. 40, considerando que el tamaño de partícula es un factor importante que incide sobre la modificación del componente lignocelulósico de cada residuo.

Se utilizó la técnica de muestreo para formar siete muestras (cuadro1), considerando los tres tipos de residuos: bagacillo de caña, polvillo de fique, afrecho de yuca y mezclas de ellos en distintas proporciones.

Cuadro 1. Composición de muestras.

Muestra	Bagacillo de Caña	Polvillo de Fique	Afrecho de Yuca
M1	100%	-	-
M2	-	100%	-
M3	-	-	100%
M4	33,33%	33,33%	33,33%
M5	10%	45%	45%
M6	10%	30%	60%
M7	10%	60%	30%

El procedimiento de muestreo fue: se formó una pila, se dividió en tres partes: 1/3 (parte cónica), 2/3 (parte central) y 3/3 (base), de cada parte se tomó una cantidad de muestra en cuatro puntos alrededor de pila y otra en el centro y se formaron incrementos por parte. Luego éstos se extendieron formando un cuadrado y de cada parte se tomó una cantidad repitiendo el procedimiento hasta obtener un peso de 1 kg de muestra.

Determinación de las características de la biomasa

Se determinaron las características térmicas, físicas y químicas y morfológicas de los residuos de estudio: siete (7) mezclas formadas por biomasa residual: Los ensayos se realizaron con los protocolos de los laboratorios de combustibles y combustión de la Universidad del Valle, laboratorio de forrajes del CIAT y laboratorio de operaciones unitarias, laboratorio de microscopia óptica y análisis industriales de la Universidad del Cauca.

Se determinaron propiedades especificas relacionadas a los procesos de combustión y generación de energía: el porcentaje de humedad, cenizas carbono, hidrogeno, nitrógeno, poder calorífico superior e inferior mediante los análisis elemental y proximal. Se aplicaron los procedimientos de la norma ASTM D-7582, ASTM D-5373,ASTM D-5865 y ASTM D-6054.y se analizó la participación de éstas características en la generación de energía térmica.

Se realizó el análisis granulométrico a muestras de bagacillo de caña (M1), polvillo de fique (M2) y afrecho de yuca (M3), tal como provenían del sitio de generación y después de un proceso de molienda. El procedimiento usado fue el establecido por la guía No. 4: “Reducción de Tamaño y Tamizado” del laboratorio de Operaciones Unitarias I. Se usó un juego de tamices ASTM (10,16,20,30,40,50,60 y 70), Ro-tap, balanza electrónica y molino de martillos.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (10-19) Julio - Diciembre 2014

Las cantidades de celulosa, hemicelulosa y lignina en cada una de las muestras sin y con pre-tratamiento (autoclave ó autoclave más bisulfito de sodio), se cuantificaron con el método Van Soest, mediante el análisis de fibra detergente neutro (%FDN), fibra detergente acido (%FDA) y % lignina. Se compararon las composiciones de los materiales lignocelulósicos del estudio y se identificaron posibles aplicaciones.

La caracterización morfológica se realizó, con la técnica de tinciones para células vegetales. Se tomaron a las muestras sin y con pre-tratamiento micrografías 10X y 40X, con el microscopio óptico de alta resolución. Se analizó si la pared celular sufrió alguna modificación, como apertura de la pared celular, deslignificación, exposición de celulosa y hemicelulosa

Aprovechamiento de los residuos agroindustriales

Se evaluó el potencial de aprovechamiento con un enfoque hacia la producción de biocombustible de segunda generación, generación térmica y biorefineria.

En la generación térmica, se evalúo su potencial como combustible sólido (briqueta combustible) y combustible gaseoso (gasificación de biomasa), para generación de vapor y potencia en los ingenios, en calderas, hornos en industrias de menor tecnología y en motores de combustión interna.

En la producción de biocombustible, la muestra adecuada se sometió a pre-tratamiento (inyección de vapor), hidrólisis enzimática, fermentación alcohólica y destilación del filtrado de la fermentación, adaptando procedimientos de otros investigadores. Del filtrado por duplicado de la muestra M2, se realizó análisis de cromatografía de gases con detección de masas en la Unidad de Análisis Industriales de la Universidad del Cauca.

Como biorefineria, se analizaron posibles aplicaciones, para el sector industrial, agroindustrial, alimentario y ambiental considerando los residuos estudiados como fuente de biomasa para la producción de biocombustibles, energía, materiales y productos químicos con valor agregado.

Se consideraron los avances tecnológicos en el ámbito mundial, respecto a materiales, procesos, operaciones unitarias y productos, las alternativas tecnológicas como digestión anaerobia, gasifica-ción/ pirolisis, gasificación/fermentación, la generación de empleo, los recursos naturales y los residuos agroindustriales del Departamento del Cauca para proponer una biorefineria.

RESULTADOS

Evaluación conjunta de características y aprovechamiento de los residuos del Cauca

Los valores de las propiedades térmicas, físicas, químicas y morfológicas de los residuos del estudio: bagacillo de caña, polvillo de fique y afrecho de yuca y mezclas, (cuadro 2), indican que las muestras evaluadas con más ventajas para ser usadas en la elaboración de un biocombustible y en una biorefineria son M1, M2 y M6.

La muestra M1, bagacillo de caña sin mezclar, es la biomasa con el mayor contenido de %C y es comparable al polvillo de fique (M2) y afrecho de yuca (M3). Este valor está en el rango mundial y nacional y es superior a los residuos agrícolas de cultivos (RAC).

El %H en el polvillo de fique sin mezclar y en una mezcla M6 (con el 30%), es más alto respecto a las otras muestras estudiadas, con un valor de 61% mayor al del carbón vegetal.

La mezcla M6 (10% bagacillo de caña, 30% polvillo de fique y 60% afrecho de yuca), presenta el mayor contenido de agua (9,93%),por lo cual en un proceso de combustión consumirá mayor cantidad energía para iniciar el proceso de quema o en la adecuación antes de entrar a la caldera, horno y cámara de combustión.

Además M6, presenta mayor ahorro energético comparado con la cascarilla de café y los RAC. Las muestras M2 y M7 pueden aportar mayor contenido de cenizas en un proceso de combustión. El poder calorífico inferior de todos los residuos están dentro del rango nacional y cerca al rango mundial.

Las muestras sometidas a molienda, con Diámetro de partícula de corte (Dp_c**)** ubicadas en los tamices 30 para M1, M3 y 40 para M2, tienen una cantidad y un tamaño de partícula finas apropiado para iniciar el pre-tratamiento químico, enzimático y la hidrólisis enzimática. En M2 se espera obtener rendimientos teóricos en la hidrolisis alrededor del 90%, tal como lo han planteado otras investigaciones.

En el caso de M1: bagacillo de caña, por las características se le puede dar aprovechamiento térmico (cuadro

Cuadro 2. Evaluación conjunta de características de residuos agroindustriales.

Características	Residuos y Mezclas	Valoración
Térmicas	M1, M2,M3	Alto % carbono (45,92%,44,61%,43,44%)
	M2, M7	Alto % ceniza (8,37%, 7,02%)
	M2, M6	Alto % hidrógeno (5,95%, 5,86%)
	M6	Altos contenidos de carbono (43,97%), hidrogeno (5,86%) y materia volátil, menor cantidad de ceniza (4,12%), PCI (15,04 MJ/kg)
	Todos los residuos	PCI, en el rango nacional (16 a 20 MJ/kg) y próximo al mundial (8,00 a 20 MJ/kg)
Físicas	M1, M2,M3 sin molienda	Tienen materiales de gran tamaño, afectan el % peso retenido por cada tamiz
	M3	Tiene mayor densidad aparente, las partículas medianas y grandes son desintegradas eficientemente en el tamiz inicial
	M1, M2	Altos volúmenes con pesos bajos
	M2 sin molienda	En el tamiz 40 tienen mayor porcentaje de peso retenido (7,25%), cantidad (83,17%) y tamaño de partícula finas apropiado(0,0165 mm)
	M1, M3 con molienda	En el tamiz 40, tienen mayor porcentaje de peso retenido (47,8%) cantidad (23,9%) y tamaño de partícula finas apropiado(0,0165 mm)
Químicas	M2	Altos contenidos de grasa (10,39%), proteína (2,1 mL)
	M3	Un alto porcentaje de materia seca, hay incremento de grasa
	M1 sin y con pre-tratamiento	El mayor contenido de celulosa (42%, 46,28%)
	M3, M4	Alto contenido de hemicelulosa
	M2, M4 sin y con pre-tratamiento	La mayor cantidad de lignina (14,86%,19,82% La menor cantidad de lignina (6,42%%,6,36%)
	M1, M2, M4, M7	Factibilidad de aplicar pretratamientostérmicos, químicos y fisicoquímicos
	M6 sin pre-tratamiento	Altos contenidos de celulosa (22,,25%), hemicelulosa (9,3), Bajo contenido de lignina (4,65%)
Morfológicas	Todos los residuos M1 a M7	Ataque solo superficial, no se rompen los enlaces de la estructura, se conserva la formación celulosa, hemicelulosa y lignina, requieren de tratamiento mucho más agresivo
	M3	Partículas redondas y aglomeración de partículas pequeñas y finas
	M1 con y sin pretratamiento	Porosidad, con fragmentos de corteza y similitud entre las estructuras

3), como biocombustible o biorefinería. Mientras para M2: polvillo de fique, por presentar mayor porcentaje de peso retenido en el tamiz 40, mayor cantidad de partículas finas, alto contenido de constituyentes químicos, de celulosa, proteína y grados Brix, el uso debe ser enfocado a biocombustible y biorefineria.

En la muestra M2, es recomendable aplicar pre-tratamiento químico, para lograr mayor exposición de celulosa y hemicelulosa, reducir la cristalinidad de la estructura celular, aumentar la porosidad y el área de contacto para facilitar otros procesos hidrólisis y fermentación.

La mezcla M6: 10% bagacillo de caña, 30% polvillo de fique y 60% afrecho de yuca, por tener altos contenidos de carbono (39,6%, 43,97%) e hidrogeno (5,28%, 5,86%), la materia volátil es muy alta. Entonces esta mezcla se puede quemar en hornos domésticos y en calderas de menor potencia para sector rural, mante-

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (10-19) Julio - Diciembre 2014

Cuadro 3. Aprovechamiento de residuos agroindustriales.

Aprovechamiento		Usos
Térmico	M6	Densificación de biomasa para el uso en hornos domésticos y en calderas , combustible sólido
	M1 a M7	producto energético: electricidad y calor
	M1,M3, M6	Gasificación, gas de síntesis, producto energético: biometano
Biocombustible	M1, M2	Biocombustible, bioetanol, bio-H2, etanol
	M1, M3	Biometano
	M2, M4	Biodiesel
Biorefineria	M2	Farmacéutico, alimentario, agroindustrial, Cosmetológicos.orellanas, alimentación de rumiantes, abono orgánico, lombricultura, materiales compuestos
	M3, M7	En harinas, glucosa
	M1	Glucosa, ácidos orgánicos, químicos y polímeros, alimentos, concentrados para animales
	M1, M3	Fertilizantes
	M4, M6	Fabricación de pellets,
	M2, M4	Lignina, glicerina
M1: 100% bagacillo de caña; M2 : 100%Polvillo de fique; M3: 100% afrecho de yuca; M4: 33% M1+33%M2+33%M3; M5: 10'% M1+45%M2+45%M3; M6: 10% M1+30%M2+60%M3;M7: 10% M1+60%M2+30%M3		

niendo por mayor tiempo la duración del combustible con la menor generación de ceniza (4,12%, 4,57%), respecto a cualquier mezcla de los residuos de estudio.

Comparando las características con las muestras del estudio, se tiene que M3: 100%afrecho de yuca y M6: 10% bagacillo de caña, 30% polvillo de fique y 60% afrecho de yuca, tienen posibilidades para ser gasificadas, por sus propiedades similares a la madera de algarrobo [9]. El polvillo de fique, pretratado con inyección de vapor, hidrolizado con la enzima Alternafull, fermentado y destilado, es rico en el componente etanol (95% en promedio), con un rendimiento estimado de 1mL de etanol por 1,66 g de polvillo de fique. Por lo tanto el polvillo de fique, representa una fuente no convencional de energía apta, para iniciar el desarrollo de las energías renovables en el Departamento del Cauca.

Propuesta de aprovechamiento de residuos agroindustriales

La biorefinería planteada para aprovechar los residuos agroindustriales de la región del Cauca, como el bagacillo de caña, polvillo de fique, afrecho de yuca y las mezclas, (figura 1), involucra en los procesos mecánicos y físicos, la separación, pre-tratamientos, destilación y peletización; en los químicos, las reacciones químicas, metanización, hidrólisis e hidrogenación; en el bioquímico, la fermentación; en los termoquímicos, la gasificación, pirolisis y combustión.

CONCLUSIONES

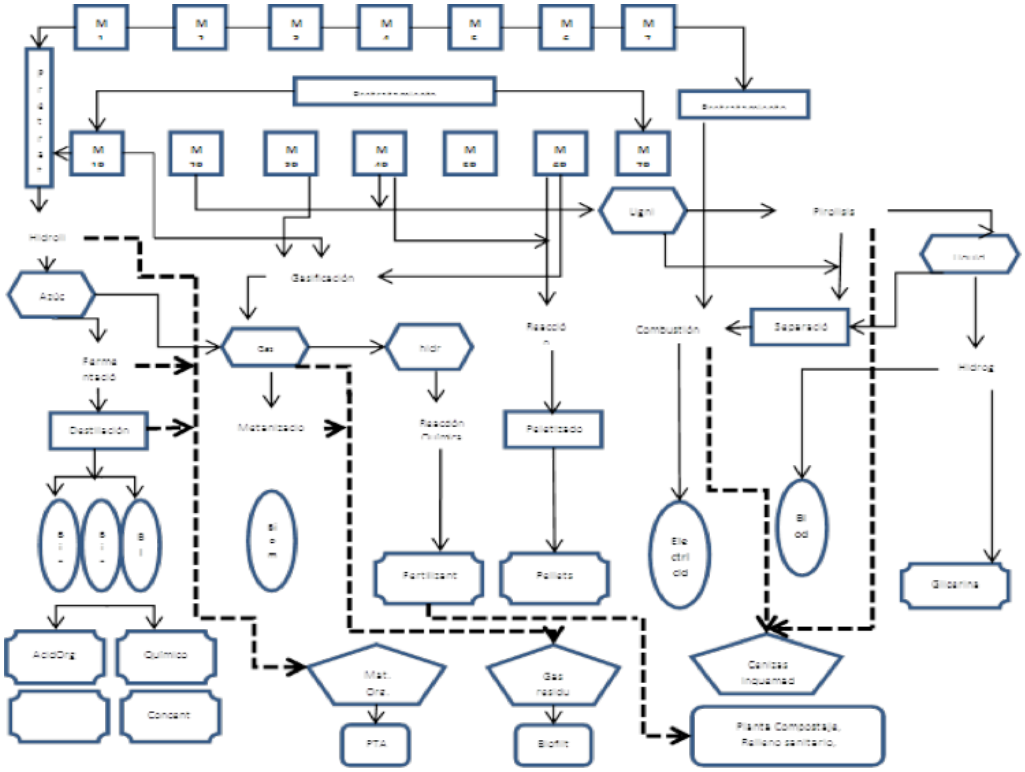
Por las características térmicas, físicas, químicas y morfológicas, todas las muestras M1 a M7, tienen posibilidad de ser hidrolizadas, M1, M2 y M3 densificadas y M1, M2 y M6 aprovecharse como biocombustible y/o biorefinería.

Todos los constituyentes de los residuos agroindustriales del estudio cumplen con los rangos de la biomasa residual del sector agrícola en el ámbito mundial y nacional.

Los valores de los constituyentes de la biomasa le otorgan características energéticas apropiadas para la producción de energía térmica a los procesos de combustión y a la generación de energía en forma controlada.

Del análisis comparativo del estudio se concluye que los residuos del Cauca, tienen propiedades térmicas muy similares a las biomasas lignocelulósicas reportadas por la literatura.

Figura 1. Biorefineria a partir de residuos Agroindustriales.



Según las características de físicas de M1, M2 y M3, la molienda como pre-tratamiento físico, es una etapa preliminar necesaria para continuar con el pre-tratamiento químico, enzimático y la hidrólisis enzimática.

Debido a que todas las muestran después de la molienda se ubican en los tamices 30 para M1, M3 y 40 para M2, éstas generan una cantidad y un tamaño de partícula finas apropiado para iniciar cualquier tipo de proceso.

Los residuos, donde se aplicaron ensayos preliminares de pre-tratamientos térmicos, químicos y fisicoquímicos, muestran en general incrementos de celulosa y hemicelulosa y disminución de lignina.

Del estudio se concluye, tal como lo recomienda otros investigadores, aplicar pre-tratamientos químicos en biomasa lignocelulósica, con contenidos de lignina máximo del 18% y fisicoquímicos máximo 15%.

La muestra 10% bagacillo de caña+60% polvillo de fique+30%afrecho de yuca, presenta el 65% de reducción de lignina, indicando que es la mejor mezcla con características adecuadas para obtener buenos resultados en la obtención de glucosa.

El residuo de afrecho de yuca sin pre-tratamiento, presenta bajo contenido de lignina, de celulosa y hemicelulosa, que puede afectar el rendimiento de glucosa, sin embargo la presencia de almidones, puede compensar este efecto, el cual puede confirmarse en investigaciones futuras, donde se evalúen el efecto de la deslignificación y la hidrólisis enzimática en la obtención de glucosa.

AGRADECIMIENTOS

Al grupo de investigación: Diseños, Procesos y Energía de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca, por ensayos de caracterización.

REFERENCIAS

[1] GUARNIZO, F.A., MARTINEZ, Y.P.N. y PINZON, B.M.L. Azucares del pseudotallo de plátano: una opción para la obtención de alcohol de segunda generación. Revista Bistua, 10(1), 2012, p.39-51.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (10-19) Julio - Diciembre 2014

[2] JUÁREZ-BARRIENTOS, J.M., RAMIREZ-RIVERA, E.J.,RAMÍREZ-FIGUEROA, E., RAMÓN-CANUL, L.G. y RODRIGUEZ-MIRANDA, J.Aplicación y comparación de pre tratamientos totalmente libres de cloro en residuos de piña y zapote mamey para la obtención de carboximetilcelulosa. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos, 2(1), 2011, p.108-126.

[3] REQUEJO, A.,RODRIGUEZ, A., COLODETTE, J.L. and JIMENEZ, L. TCF bleachingsequence in kraft-pulping of olive treepruningresidues. Bioresource Technology, 2012, 4(84), p. 117-123.

[4] CARVALHO, A.F., NETO, P., FERNANDES, D. and PASTORE, G.M. Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis. Food Research International, 51, 2013, p. 75–85.

[5] ARGENTINA. MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA. Relevantamiento de proyectos bioenergéticos. Buenos Aires (Argentina): 2012, 6 p.

[6] ENERGÍA TÉRMICA CON BIOMASA. Generación de energía térmica con biomasa: equipos e instalaciones [online] . sf. Disponible http://www.fototermic.com/Pdf/Biomassa/Generacion_de_energia_termica_con_biomasa_SODEAN.pdf [citado 3 de marzo de 2013] .

[7] ORTIZ, D.C., SABOGAL,J. y HURTADO, E. Una revisión a la Reglamentación e incentivos de las energías renovables en Colombia. Revista Facultad de Ciencias Económicas,22(2), 2012, p.55-67.

[8] TECNOLOGIAS PREVENTIVAS. Cálculos y Convenios UIS– IDEAM [online] .sf. Disponible: http//www.tecnologiaslimpias-.org/html/central/311801/311801_alt.htm. [citado 21 de marzo de 2013] .

[9] CABRERA, C.G., MADRIÑAN, M.S. y MUÑOZ, M.D. Caracterización del gas de síntesis obtenido a partir de algarrobo y bagazo de caña. Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial, 10(1), 2012, p. 166-172.

[10] EUROPA. PRESS/JAEN. La provincia de Jaén lidera el consumo de biomasa para usos térmicos en la comunidad[online] . 2012. Disponible: http://www.ideal.es/jaen/20120815/local/jaen/provincia-jaen-lidera-consumo-2012081-511-57.html [citado 25 de febrero de 2013] .

[11] VALDÉS, A. Impactos utilización los residuos agrícolas de la cosecha cañera (RAC) como biocombustible. Cali (Colombia): Memoria del Seminario Internacional Residuos para biocombustibles y biorefinerías, 2011.

[12] LÓPEZ, U.Y. y ZAPATA, H.J. Energías renovables en Colombia. Cali (Colombia):Memoria del Seminario Internacional Residuos para biocombustibles y biorefinerías, 2011.

[13] ALVARES, A, SALGADO,R., GARCIA, E., y DOMINGUEZ, M.M. Aprovechamiento integral de los materiales lignocelulósicos. Revistalberoamericana de Polímeros, 13(4), 2012, p. 140-150.

[14] LIMAYEM, A. and RICKE, S.C. Lignocellulosic biomass for bioethanol production: Current perspectives, potential issues and future prospects. Progress in Energy and Combustion Science, (38), 2012, p. 449-467.

[15] WEITZ, D.A. y FELDMAN, S.R. Energías renovables para desarrollo sostenible: Producción de bioetanol a partir de biomasa lignocelulósica en ambiente rural. RevistaVirtualPro, 122(3), 2012.

[16] DOHERTY, W.O.S., MOUSAVIOUN, P. and FELLOWS, C.M. Value-adding to cellulosic ethanol: Lignin polymers. Industrial Crops and Products, (33),2011, p. 259–276.

[17] SALCEDO, J. Hidrólisis enzimática de residuos de la cosecha de la caña de azúcar (hoja y cogollos) para la producción de etanol [Tesis Ph.D. en Ingeniería Química] . Cali (Colombia): Universidad del Valle, Escuela de Ingeniería Química, 2011, 28 p.

[18] GANDOLFI, S., OTTOLINA, G., RIVA,S., and PEDROCCHI, G.Complete chemical analysis of carmagnole hemp hurd and structural features of its components. BioResources, 8(842), 2013, p. 2641-2656.

[19] ASTAÑO, H., ZAPATA, J. y REALES, J. Producción de etanol de segunda generación a partir del cultivo de yuca. roducciónmásLimpia, 7(1), 2012, p.88-100.

[20] DE MORAES, G.J., MARTIN, C., BARBOSA, I., SOUTO, A.M., MACEDO, H. and MORAES, C.A.Dilute mixed-acid pretreatment of sugarcane bagasse for ethanol production. Biomass and Bioenergy, (35), 2011, p. 663-670.

[21] USOS DE LA BIOMASA. Energía térmica con renovables [online].sf. Disponible: http://www.agenbur.com/-es/contenido/index.asp?iddoc=410 [citado 20 de junio de 2013].

[22] AGENCIA ANDALUZA DE LA ENERGIA. CONSEJERIA DE ECONOMIA. Innovación, ciencia y empleo. [online].sf. Disponible: http://www.agenciaandaluzade-laenergia.es/empresas/ener-

gia-termica con reno-vables [citado 20 de junio de 2013] .
[23] CERDÁ, E. Energía obtenida a partir de biomasa. Cuadernos Económicos del ICE, 2012, p. 117-124.
[24] COMUNIDAD DE MADRID. Jornada sobre biomasa para usos térmicos [online] . 2011. Disponible: http://www.fe-nercom.com/pdf/formacion/Jornadas-sobre biomasa-para-usos-térmicos-fenercom 2011.pdf [citado 25 de junio de 2013].
[25] ALMENARES, J.F. y SERRAT, D.M. Aspectos tecnológicos generales para la conversión a etanol de la biomasa lignocelulósica II. Tecnología Química, 31(3), 2011, p.45-56.
[26] GIRIO, F. Biorefinerias de biocombustibles. La importancia de la sostenibilidad. Cali (Colombia): Memoria del Seminario Internacional Residuos para biocombustibles y biorefinerías, 2011.
[27] PROGRAMA IBEROAMERICANO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA (CYTED). Red Temática: La producción de biocombustibles y su impacto alimentario, energético y medio ambiental. Cali (Colombia): Memoria del Seminario Internacional Residuos para biocombustibles y biorefinerías, 2011.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (20-29) Julio - Diciembre 2014

BIODEGRADACIÓN ANAEROBIA DE UN MATERIAL BIODEGRADABLE BAJO DIGESTIÓN ANAEROBIA TERMÓFILA

ANAEROBIC BIODEGRADATION OF A BIODEGRADABLE MATERIAL UNDER ANAEROBIC - THERMOPHILIC DIGESTION

BIODEGRADAÇÃO ANAERÓBICA DE UM MATERIAL BIODEGRADÁVEIS EM DIGESTÃO ANAERÓBIA TERMOFÍLICA

RICARDO CAMACHO-MUÑOZ[1], JOSE LUIS HOYOS-CONCHA[2]

RESUMEN

Este trabajo determinó la biodegradación anaerobia de un polímero (muestra de ensayo) obtenido por extrusión de almidón nativo de yuca, ácido poliláctico y policaprolactona. Inicialmente se preparó un inóculo metanogénico termófilo a partir de desechos sólidos urbanos. La concentración final de metano en el gas generado y pH del medio, alcanzaron valores del 59,6% y 7,89 respectivamente. El montaje del ensayo de biodegradación se efectuó según los estándares contenidos en la norma ASTM D5511. Los porcentajes de biodegradación obtenidos después de 15 días de digestión fueron: 77,49%, 61,27%, 0,31% para la referencia positiva, la muestra de ensayo y referencia negativa respectivamente. Debido a que la referencia positiva presenta valores de biodegradación superiores al 70%, se deduce que el inoculo utilizado presenta características y actividad microbiana adecuada. Un 61,27% de biodegradación, una concentración de metano en gas de 59,35% y un pH final de 7,71 en los reactores correspondientes a la muestra de ensayo, revelan la capacidad que tiene el polímero extruido para ser degradado en condiciones anaerobias termófilas de altas concentraciones de sólidos.

Recibido para evaluación: 12 diciembre de 2013. **Aprobado para publicación:** 15 junio de 2014

1 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agroindustria. Grupo ASUBAGROIND. Ingeniero Agroindustrial. Popayán, Colombia

2 Universidad del Cauca, Profesor, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agroindustria. Grupo ASUBAGROIND. Ingeniero agroindustrial, MSc. Popayán, Colombia.

Correspondencia: rcmunoz@unicauca.edu.co

ABSTRACT

This paper dertermined the anaerobic biodegradation of a polymer obtained by extrusion process of native cassava starch, polylactic acid and polycaprolactone. Initially a thermophilic - methanogenic inoculum was prepared from urban solid waste. The gas final methane concentration and medium's pH reached values of 59,6% and 7,89 respectively. The assay assembly was carried out according ASTM D5511 standard. The biodegradation percent of used materials after 15 day of digestion were: 77,49%, 61,27%, 0,31% for cellulose, sample and polyethylene respectively. Due cellulose showed biodegradation levels higher than 70% it's deduced that the inoculum conditions were appropriate. A biodegradation level of 61,27%, 59,35% of methane concentration in sample's evolved gas and a medium's finale pH of 7,71 in sample's vessels, reveal the extruded polymer´s capacity to be anaerobically degraded under thermophilic - high solid concentration conditions.

PALABRAS CLAVE:
Almidón, Acido poilil̀actico, Policaprolactona.

KEYWORDS:
Starch, Polylactic acid, Polycaprolactone

PALAVRAS-CHAVE:
Amido, Ácido polilático, Policaprolactona.

RESUMO

Este estudo determino a biodegradação anaeróbica de um polímero obtido por extrusão de amido de mandioca nativo, ácido polilático e policaprolactona. Inicialmente, um inóculo methanogenic thermophilic foi preparado a partir de resíduos sólidos urbanos. A concentração final de gás de metano gerado e o pH do meio, atingiu valores de 59,6% e 7,89 respectivamente. Montagem do ensaio de biodegradação foi realizado de acordo com as normas contidas na norma ASTM D5511. As taxas de biodegradação do material 3 sob teste, após 15 dias de digestão foram 77,49%, 61,27%, 0,31% de celulose, e polietileno de amostra de teste, respectivamente . Uma vez que a celulose não tem valores superiores a 70% de biodegradação, verifica-se que as condições de inoculo utilizado eram adequadas. A biodegradação 61,27%, uma concentração de gás de metano de 59,35% e um pH final de 7,71 na amostra de ensaio correspondente para os reactores, revelam a capacidade do polímero para ser extrudido condições degradadas termofílica anaeróbica de alto teor de sólidos.

INTRODUCCIÓN

Actualmente el uso de polímeros sintéticos en diversas actividades humanas constituye un problema ambiental grave. Mundialmente, se consumen más de 140 millones toneladas de plástico anuales, de las cuales más del 60% se acumulan anualmente en vertederos o ambientes marinos, amenazando así, la integridad de algunos ecosistemas y su importancia biológica [1].

En esfuerzos por mitigar los impactos negativos generados por la mala disposición de polímeros derivados de poliolefinas, en ocasiones, estos compuestos son adicionados con agentes pro-oxidantes que aceleran el proceso de foto/termo-degradación, sin embargo la bioasimilación o mineralización de los oligómeros o monómeros resultantes no ha sido totalmente comprobada [2].

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (20-29) Julio - Diciembre 2014

Durante los últimos 30 años se han desarrollado compuestos plásticos biodegradables provenientes de diferentes fuentes animales, vegetales y microbianas. Los residuos producidos a partir de esta nueva generación de plásticos pueden emplearse, junto a desechos orgánicos, como sustrato en procesos de degradación aerobia o anaerobia, en plantas de compostaje o biogasificación [3]. No obstante, es necesario validar su capacidad de biodegradación en ambientes naturales mediante protocolos normalizados.

Este trabajo plantea la necesidad de validar la biodegradación anaerobia de películas termoplásticas a base de almidón nativo de yuca, en las cuales es necesario evaluar y comprobar si el material que las compone se puede considerar biodegradable según normatividad vigente, por lo que se busca implementar un método de biodegradación para materiales biodegradables, que simule las condiciones presentes en un sistema de biogasificación termófila (>40ºC) bajo altas concentraciones de sólidos totales (>20%), basado en el estándar ASTM D5511.

MÉTODO

La metodología planteada a continuación tuvo como propósito evaluar el ritmo de biodegradación anaerobia termófila de empaques biodegradables bajo altas concentraciones de sólidos con base al estándar ASTM D 5511-02.

Preparación del Inóculo

Formulación y caracterización de los residuos orgánicos. Se obtuvo el material orgánico acorde al cuadro 1. [4]:

Mediante el uso de una balanza JAVAR CW 15 (máx= 15 kg+/-0,5) se pesaron los componentes de la formulación, se trituraron hasta un tamaño de partícula menor a 3 mm y se caracterizaron mediante la valoración de los siguientes parámetros:

Carbono orgánico total. Se determina mediante el protocolo descrito por Nelson & Somers [5].

Materia seca o sólidos totales. Determinada a 105°C según lo precisado por la norma APHA 2540 B (Solidos totales por secado a 103-105°C).

Nitrógeno total (NH^+_4 – N). La prueba se efectúo según las pautas establecidas por la norma ASTM D 3590 “Metodologías para la evaluación de Nitrógeno Total Kjeldahl en agua”

Acondicionamiento del Inóculo

El sustrato empleado como medio de cultivo, se preparó a partir de la mezcla de materia orgánica triturada, agua libre de cloro y rumen bovino líquido y fresco según las proporciones consignadas en el cuadro 1.

En principio, se valoró el pH de la mezcla con ayuda de un pH metro OAKTON referencia ARCON pH 5, previa calibración de dos puntos en buffers DIN (pH=7, pH=4) como indica la norma ASTM 1293 “Metodologías para la evaluación de pH en agua”, y se ajustó con carbonato de calcio y bicarbonato de sodio en proporción 2:1, hasta un valor cercano a 6,5. Por último se cargó, cerró y encendió el digestor anaerobio y se inició al proceso a 52ºC. Durante la primera etapa del proceso (etapa acidogénica) fue necesario llevar registro diario de la evolución del pH en la mezcla degradada. Para ello se extrajo una pequeña muestra de material contenido en el biorreactor. Debido a la elevada acidez y contenido de materia orgánica de la mezcla de residuos, fue necesario ajustar los niveles de pH con carbonato de calcio y bicarbonato de sodio, a valores cercanos a 6,5, durante los primeros 5 días de degradación.

A un tiempo de retención aproximado de 55 días y proporción de metano de 55% (medido con ayuda del

Cuadro 1. Formulación de residuos orgánicos.

Componente	Proporción	Formulación para 40 (kg)
Materia Orgánica Total	50,00%	20
Cáscara de papa	13,33%	2,66
Cáscara papa criolla	13,33%	2,66
Desechos de zanahoria	13,33%	2,66
Desechos de lechuga	13,33%	2,66
Cáscara de naranja, mandarina, otros	13,33%	2,66
Cáscara de plátano	13,33%	2,66
Cáscara de arveja	13,33%	2,66
Desechos de yuca	6,70%	1,34
Agua	35%	14
Rumen líquido de bovino	15%	6

Fuente: Los Autores

sensor infrarrojo de CH_4 HITECH referencia HITOX IR 600) se detuvo la digestión y se extrajo el exceso de líquido mediante tamizado hasta una concentración aproximada de 20% sólidos totales. Posteriormente el inóculo se llevó a post-fermentación durante 7 días a 55°C.

El equipo para la preparación del inóculo anaerobio, comprendió un reactor de aluminio de 40 L inmerso en un baño maría termostatado. El reactor se encontraba acoplado a un sistema de recolección de gas (equipado con un sensor de metano de lectura por infrarrojo HITECH referencia HITOX IR 600) y a un sistema de toma de muestra. El gas producido diariamente se retuvo en un cilindro plástico invertido, mediante la aplicación de presión negativa generada por el peso de una columna de agua, que fue elevada con el uso una bomba de vacío.

Caracterización del inóculo

El inóculo obtenido se diluyó en agua destilada en proporción 5:1 (agua: Inóculo) y se efectuaron las siguientes pruebas por triplicado.

Medición de pH. Mediante el uso de pH metro marca OAKTON referencia ARCON pH 5 calibrado, basándose en el estándar ASTM D1293.

Nitrógeno total (NH^+_4 – N). Mediante el Método Macro-Kjeldahl según ASTM D3590.

Ensayo de Biodegradación Anaeróbica

Materiales de Prueba. Para el ensayo se emplearon tres tipos de materiales de prueba:

Filtro delgado Scheleicher & Schuel 595 (Peso específico: 85 g/m^2, Espesor: 0,19 mm, %Celulosa > 95%), como referencia positiva.

Polietileno de baja densidad (LDPE) (Densidad: 0,95 g/cm^3. Espesor: 0,3 mm) suministrado por la empresa "Popaplast S.A.", como referencia negativa.

Polímero Biodegradable (muestra de ensayo), obtenido en el laboratorio de reología y empaques de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca por extrusión en tornillo simple de una mezcla de almidón termoplástico (TPS), ácido poliláctico (PLA), policaprolactona (PCL) y un agente acoplante.

Caracterización de los materiales de Prueba. Se efectuaron mediciones de Carbono Total Oxidable (Matus, *et al*., 1997), sólidos volátiles (Métodos Estandarizados 2440E.), sólidos totales (Métodos Estandarizados 2440B.), nitrógeno total (NH^+_4 – N) (ASTM D3590), para cada uno de los materiales de prueba.

Montaje y seguimiento del ensayo de biodegradación anaerobia. En el montaje y seguimiento del ensayo de biodegradación anaerobia, se empleó un equipo compuesto por un grupo de 12 biorreactores de vidrio, con capacidad máxima de 800 mL, sumergidos en sistema de baño maría termostatado y conectados tanto a un sistema patronado de acumulación de gases mediante columna de agua a presión negativa (el agua debe ser llevada a pH = 2,0 mediante adición de ácido clorhídrico para impedir la disolución del CO_2 en el agua) como a un sensor infrarrojo de metano HITECH referencia HITOX IR 600.

Se dispusieron grupos de tres repeticiones para cada material de prueba y se procedió a cargar cada biorreactor con aproximadamente 500 g de inóculo homogenizado previamente. Con ayuda de una balanza analítica SCALTEC SBA 32 (máx= 120 g d=0,0001) se pesan por triplicado aproximadamente 5 g de muestra de ensayo, 2,5 g de referencia positiva (celulosa) y 5 g de referencia negativa (polietileno LDPE) (pulverizadas en molino analítico) y se incorporaron individualmente a los grupos de biorreactores según correspondía.

La prueba se inició el día cero al término del encendido del equipo y de la estabilización de la temperatura a 52°C ± 2°C y se prolongó durante 30 días. El volumen de gas recolectado se mide diariamente y los porcentajes de metano en el instante en el que los acumuladores alcanzan su máximo nivel.

Cálculo, Reporte y Análisis estadístico

Se convirtieron los volúmenes de gas medidos a volúmenes de gas a condiciones estándares de temperatura y presión, y se efectuó la debida corrección por humedad [6]:

$$Vtc = \left(\frac{P_{atm} - P_w}{P_{atm}}\right) * Vt$$

$$Vt(\ esp) = \left(\frac{273}{T_r}\right) * \left(\frac{P_{atm}}{1013}\right) * Vtc \qquad \text{(Ec.1)}$$

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (20-29) Julio - Diciembre 2014

Dónde:

Vtc = Volumen total corregido, en litros.

P_{atm} = Presión atmosférica en el laboratorio a temperatura ambiente del laboratorio, en hPa.

P_w = Presión del agua a temperatura ambiente del laboratorio, en hPa.

$Vt_{=}$ Volumen total de gas producido durante el experimento, en litros.

Vt (esp) = Volumen de gas corregido a condiciones de temperatura y presión estándar, en litros.

T_r = Temperatura ambiente del laboratorio, en grados Kelvin (K).

Posteriormente se calculó la cantidad de carbono gaseoso producido en cada ensayo en gramos, según la ley de gases ideales:

$$C_g = \frac{Vt(esp)}{22,4} * 12 \qquad \text{(Ec.2)}$$

Luego se determinó el porcentaje de biodegradación de la siguiente manera:

$$\%Biodegradación = \frac{C_g - C_{gb}}{C_t} * 100 \qquad \text{(Ec.3)}$$

Dónde:

C_g = Carbono gaseoso de la muestra, en gramos.

C_{gb} = Carbono gaseoso en el blanco, en gramos.

C_t=Carbono total en la muestra en gramos.

Se calcularon los errores estándar de los porcentajes de biodegradación así:

$$S_e = \left[\sqrt{\left(\frac{s_m^2}{n1}\right) + \left(\frac{s_b^2}{n2}\right)}\right] * \left(\frac{100}{C_t}\right) \qquad \text{(Ec.4)}$$

Dónde:

Se = Error estándar del porcentaje de biodegradación.

^{S}m, ^{S}b = Desviaciones estándar de las cantidades de carbono gaseoso en la muestra y el blanco respectivamente.

n1, n2 = número de repeticiones (triplicado) para la muestra y el blanco respectivamente.

Finalmente se halló el intervalo de confianzacon una confiabilidad del ((1-α)*100%) para el porcentaje de biodegradación de la siguiente manera:

$$Ic(\ 1-\alpha)*100\%[\mu] = \bar{X}_n \pm \left(t * S_e\right), \alpha = 0,05 \qquad \text{(Ec.5)}$$

t representa el valor de la distribución t para un α=0,05 con ($n_1 + n_2$ - 2) grados de libertad (t=4) y μ la media poblacional.

RESULTADOS

Preparación del Inóculo

Caracterización de los residuos orgánicos. El cuadro 2 presenta los resultados correspondientes al proceso de caracterización de la materia orgánica acopiada. La relación carbono/nitrógeno óptima para el desarrollo de procesos de biodegradación anaerobia se encuentra en el intervalo de 25/1 a 30/1. Como se observa en el cuadro 2, la materia orgánica obtenida presento valores ligeramente superiores al intervalo óptimo aconsejado. Esta condición se evidencia en el descenso de pH observado durante los primeros días de fermentación, debido a la acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV) provenientes de la hidrolisis y acidogenesis de del exceso de carbono presente [7].

Acondicionamiento del Inóculo. Las figuras 1, 2 y 3, presentan los volúmenes de gas, niveles de pH y porcentajes de metano obtenidos durante los 55 días

Cuadro 2. Relación carbono/nitrógeno de la materia orgánica empleada en la preparación del inóculo.

Parámetro	Valor ± ε abs[2] (α = 0,05)
Nitrógeno[1]	1,17 ± 0,05%
Carbono total[1]	39,48 ± 0,67%
Carbono/Nitrógeno	33,74
Solidos Totales	19,98 ± 1,05%

[1] Porcentajes expresados en base seca.

[2] Error absoluto.

Figura 1. Valores de producción de gas respecto al tiempo de digestión anaerobia.

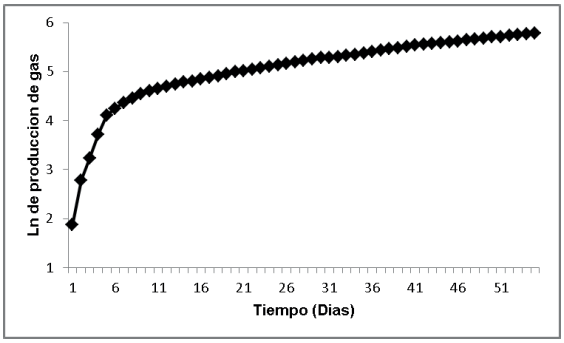


Figura 2. Evolución de los porcentajes de metano durante la preparación del inóculo.

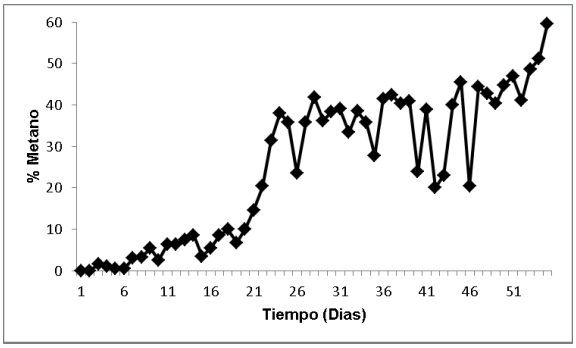
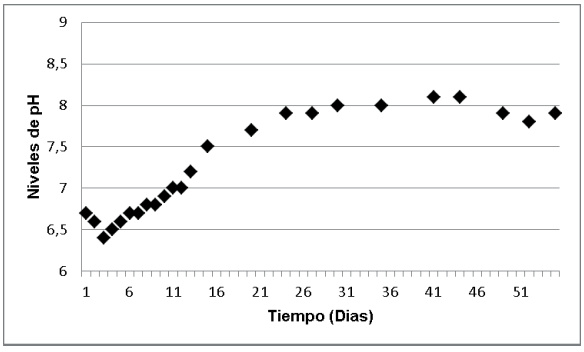


Figura 3. Evolución de los niveles de pH durante la preparación del inóculo.



que permaneció en digestión anaerobia la mezcla de residuos orgánicos, agua y rumen líquido de bovino.

Producción de gas. Sobre los altos volúmenes de gas obtenidos durante los primeros 11 días de digestión (etapa acidogénica), influye la adición de bicarbonato de sodio y carbonato de calcio que tienden a generar considerables cantidades de gas (CO_2). A partir del día 11, hasta finalizar la degradacion de la mezcla, los volúmenes de gas producidos tienden a estabilizarse, exhibiendo una disminución en el ritmo de producción de gas respecto a la etapa acidogénica.

Porcentajes de metano. Los porcentajes de metano en gas en el transcurso de los primeros 20 días de degradación no superan el 10% debido, probablemente, a la ausencia o baja concentración de sustratos metanogénicos (acetato principalmente) y las altas concentraciones de H_2 que pueden reducir la actividad de las bacterias metanogénicas [8]. En este punto las bajas cuotas de metano generado son producto de la actividad de bacterias metanogénicas utilizadoras de hidrógeno.

A partir del día 34 los porcentajes de metano exhiben un acentuado aumento debido, probablemente, a la disminución del CO_2 en el gas por solubilización y por el aumento de la actividad de las bacterias metanogénicas acetoclásticas, finalizando al termino del día 55 en 59,6%, valor que similar al alcanzado por López, 2005. Este porcentaje final de metano, revela la aptitud del inóculo en la medida que se asemeja a el valor mínimo sugerido por Yagi [9]

pH del medio. Durante los 5 días posteriores al inicio de la digestión anaerobia, se observó un leve descenso del pH respecto a los valores iniciales. Este descenso se presentó debido a una acusada solubilización de macromoléculas en el medio, y a su consecuente conversión hacia ácidos propíonico y butírico principalmente [10].

La acumulación de estos ácidos junto a la baja alcalinidad del medio condujo a una disminución de los valores de pH descritos. Así mismo, debido a la incapacidad del sistema para amortiguar estos cambios de pH fue necesario ajustar este parámetro (a valores superiores a 6,5) mediante la adición de bicarbonato de sodio y carbonato calcio.

Durante periodo comprendido entre los días 11 y 30, se observa un incremento paulatino de los niveles de pH (que se atribuyen a un aumento de la solubilidad del CO_2 y por ende de la eficacia del tampón CO_2/HCO_3-) que posteriormente se estabilizan hasta alcanzado el día 44 de degradación. Esto es un indicio de que el sistema es capaz de autorregularse y ha alcanzado el equilibro de poblaciones microbianas y procesos químicos que propenden hacia la metalogénesis. Sin embargo, durante los últimos 6 días de digestión se advierte una leve disminución del pH que puede resultar de la disminución de la alcalinidad debido a las

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (20-29) Julio - Diciembre 2014

modificaciones en el equilibrio CO_2/HCO_3 cuando las cantidades de gas comienzan a disminuir [8].

Caracterización del Inóculo

Las características químicas valoradas en el inóculo metanogénico logrado se resumen en el cuadro 3.

Las pruebas de caracterización revelan la capacidad del inóculo para ser empleado en el ensayo de biodegradación, ya que el cuadro 5 revela que los valores medidos coinciden con los rangos establecidos por la norma ASTM D5511.

Ensayo de Biodegradación anaerobia

Caracterización de los materiales de prueba. Los resultados de las pruebas de caracterización de los materiales empleados en el ensayo se resumen en el cuadro 4.

Los valores plasmados en el anterior cuadro, se emplean en la determinación del parámetro Ct de la ecuación 3.

Cuadro 3. Caracterización del inóculo.

Parámetro	Valor ± ε abs (α=0,05)	ASTM D5511
pH	7,89 ± 0,04	7,5 a 8,5
Nitrógeno total	<1,8 g/kgBH[1]	<2 g/kgBH
Solidos Totales	20.71 ± 0,75	>20%

[1]g/kgBH = gramos de nitrógeno por kilogramo de muestra en base húmeda

Cuadro 4. Caracterización de los materiales de prueba.

Muestra	Carbono total[1,3]	Sólidos totales[3]	Sólidos Volátiles[1.3]
Celulosa	41,65 ± 0,66	90,81 ± 1,22	99,88 ± 0,04
Polietileno[2]	85,56	99,40 ± 0,01	98,96 ± 0,03
Muestra	38,92 ± 1,01	89,15 ± 0,43	99,54 ± 0,05

[1] Porcentajes medidos en base seca

[2] Valor obtenido por cálculo teórico

[3] Porcentajes (%) ± ε abs (α=0,05)

Cuadro 5. Pesos de muestra e inóculo cargados en los biorreactores.

Biorreactor	Muestra	Peso del inóculo en gramos	Peso de la muestra en gramos
1,2,3	Ensayo	510	4,67 ± 0,06
4,5,6	Celulosa	520	2,32 ± 0,01
7,8,9	Polietileno	510	5,31 ± 0,53
10,11,12	(Blanco)	516	No

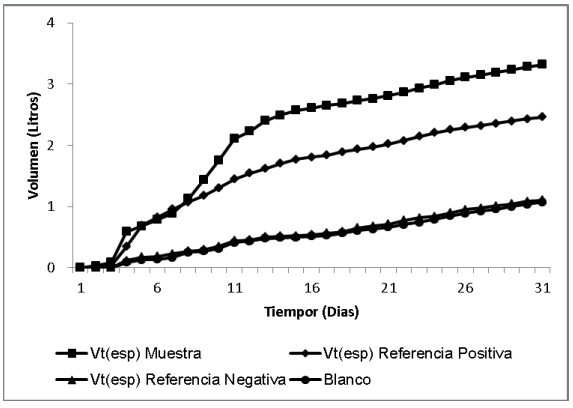
Montaje del ensayo de biodegradación anaerobia. El cuadro 5, resume las cantidades de material e inóculo cargadas en cada biorreactor. En este caso se decidió usar valores inferiores a 5 g de muestra por 300 g de inóculo para evitar la acidificación del reactor por acumulación de ácidos grasos volátiles o la perturbación del equilibrio de microorganismos en el inóculo.

Producción de biogás. Las cantidades y desviaciones estándar de la producción total de gas en Vt (esp) tras 30 días de digestión, están resumidas en la figura 4. Como se puede observar a partir de los niveles de producción de gas alcanzados, la actividad del inóculo (blanco) es menor comparado con los volúmenes generados por las referencias positivas y la muestra, lo que revela que el inóculo fue estabilizado durante el periodo de post fermentación.

Tanto el blanco como la referencia negativa presentan un incremento lineal de los volúmenes diarios de gas producidos, tendencia que se adjudica a la degradacion de los residuos de materia organica aun presentes en el inóculo.

Por otro lado, las elevadas pendientes observadas en las curvas de producción de gas de la muestra de en-

Figura 4. Volúmenes de gas corregidos en condiciones de temperatura y presión estándar.



sayo y referencia positiva durante los primeros 13 días de degradación se deben esencialmente a la naturaleza altamente hidrolizable de los enlaces glucosídicos o éster presentes en el almidón termoplástico y/o en la celulosa respectivamente. Por otro lado, los cambios apreciados en la curva de producción de gas de la muestra de ensayo durante los dias 4 al 12, pueden corresponder a los cambios de sustrato sufridos por el metabolismo bacteriano debido a la heterogeneidad de este material. Finalmente a partir del día 13 los volumenes de gas generados por la muestra de ensayo y referencia positiva se estabilizan y adquieren un comportamiento ascendente similar a la del blanco. Lo que señala que los sustratos susceptibles de biodegradación se han agotado.

Porcentajes de biodegradación. La figura 5, resume los porcentajes de biodegradación de la referencia positiva respecto al tiempo de degradación.

Transcurridos 15 días de ensayo, la muestra de celulosa alcanza un porcentaje de biodegradación del 77,49% ± 2,05. Según la norma, la idoneidad del inóculo se verifica si tras un periodo de 15 días la celulosa exhibe valores de biodegradación superiores al 70%. Se puede comprobar la eficacia del inóculo (para degradar sustratos biodegradables) mediante este parámetro establecido por la norma ASTM D5511. Durante los últimos 5 días de ensayo los porcentajes de degradación de la celulosa llegan a sus límites máximos (85%) y que concuerdan con los obtenidos por diferentes autores [11]

La figura 6, resume los porcentajes de biodegradación y metano de la muestra de ensayo respecto al tiempo de degradación. La muestra de ensayo presentó, tras 30 días de digestión, un nivel de biodegradación de 65,89%. Es posible distinguir una fase de latencia de 3 días del inóculo microbiano y una fase exponencial escalonada hasta el término del día 15, momento en el cual se comienza a apreciar una disminución del ritmo, pero manteniendo un ligero incremento en el porcentaje de biodegradación. La primera tendencia se atribuye al fenómeno de adaptación del conjunto microbiano al material o al proceso de estabilización del mismo después del estrés sufrido durante su transferencia desde el recipiente de acondicionamiento hasta los biorreactores donde se desarrolló el ensayo. La fase exponencial escalonada posiblemente sobreviene debido a que la muestra de ensayo comprende una asociación de cuatro diferentes componentes. En la última etapa, a pesar que disminuye el ritmo de degradación,

Figura 5. Porcentajes de biodegradación y metano de la referencia positiva.

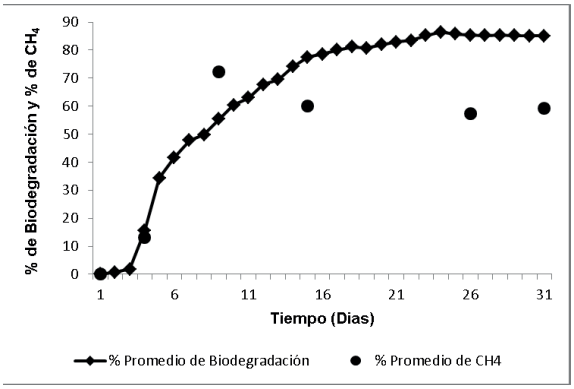
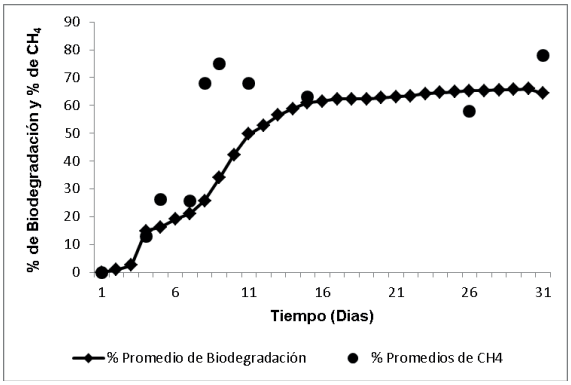


Figura 6. Porcentajes de biodegradación y metano de la muestra de ensayo.



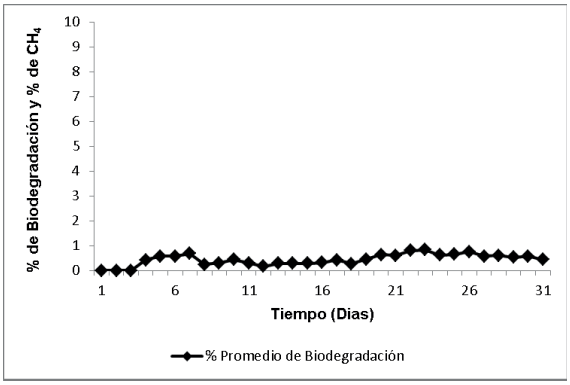
el porcentaje de biodegradación conserva un comportamiento levemente ascendente, posiblemente debido a la lenta degradación de los residuos no solubilizados de almidón, aun acoplado a la mezcla binaria por efecto del agente acoplante y las bajas tasas de degradación que presenta el PLA (especialmente su porción cristalina) a temperaturas menores a 58°C y reducidos tamaños de partícula [12]

En la figura 7, se presentan los porcentajes de biodegradación de la referencia negativa respecto al tiempo de degradación. Como era de esperarse, la prueba reveló porcentajes despreciables de biodegradación para el polietileno de baja densidad. Este compuesto altamente recalcitrante de gran peso molecular e hidrófobo, presenta condiciones adversas para el ataque microbiológico. [13].

Se debe aclarar que debido a la asunción teórica de que los porcentajes de gases suplementarios (H_2S, H_2, CO), comprenden cerca del 1 a 2% del total de gas

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (20-29) Julio - Diciembre 2014

Figura 7. Porcentajes de biodegradación de la referencia negativa.



generado por la degradacion los materiales de prueba, los porcentajes de biodegradación reales serán levemente menores.

Porcentajes de metano. Los porcentajes de metano medidos durante el proceso de degradación de la muestra de ensayo y referencia positiva, presentan un marcado aumento durante los primeros 10 días de digestión, con picos máximos de 79% y 71% respectivamente, que se derivan del consumo de sustratos metanogénicos generados durante las etapas previas (a la metalogénesis) del proceso de degradación anaerobia (hidrogeno, dióxido de carbono y acetato principalmente). Estos valores coinciden aproximadamente, con el momento en el cual se percibe una disminución del ritmo de la producción de gas, como consecuencia de la finalización de las etapas hidrolítica y acetogénica que tienden a generar los mayores volúmenes [8].

La disminución de los porcentajes de metano advertidos a partir del día 10 en la muestra de ensayo y del día 9 en la referencia positiva se atribuyen al agotamiento de los sustratos metanogénicos y la hidrólisis/acidogénesis de los residuos de polímeros resistentes (almidón acoplado, PLA y fracciones cristalinas de celulosa) y a la leve disminución del pH del medio que puede reducir la solubilidad del CO_2 en la fracción líquida [14].

El aumento final (al día 30 de ensayo) de estos valores (porcentajes de metano en gas) en ambos grupos de biorreactores (muestra de ensayo y referencia positiva) se atribuye, posiblemente, al consumo de los productos de hidrólisis de los fragmentos persistentes mencionados (almidón acoplado, PLA y fracciones cristalinas de celulosa).

CONCLUSIONES

La ASTM no define criterios cuantitativos para certificar la potencial biodegradabilidad anaerobia de polímeros ya que los efluentes anaerobios requieren procesos aerobios posteriores para estabilizarse completamente. Sin embargo su estudio es imperante ya que estos plásticos son muchas veces desechados en ambientes anaerobios. Algunos autores indican que porcentajes de mineralización superiores al 60% manifiestan la aptitud del polímero para ser degradado biológicamente. Por lo tanto bajo las condiciones de la prueba, la muestra de ensayo exhibe niveles adecuados de biodegradación en ambientes anaerobios termófilos de altas concentraciones de sólidos al presentar un 63% de biodegradación en 30 días.

Igualmente, debido a que los porcentajes de metano en la muestra de ensayo alcanzan niveles elevados (mayor a 55%) y el pH final de los reactores mantiene valores (7,73; 7,71; 7,80; y 7,72 para la referencia positiva, muestra de ensayo, referencia negativa y blanco respectivamente) favorables para el desarrollo de bacterias metanogénicas, se puede inferir que el material es adecuado para ser sometido a sistemas de biodegradación anaerobia termófila en altas concentraciones de sólidos.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad del Cauca, al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y al Centro Regional de Productividad e Innovación del Cauca.

REFERENCIAS

[1] SIVAN. S. New perspectives in plastic biodegradation. Current Opinion in Biotechnology, 22(3), 2011, p. 422–426

[2] ABRUSCI, C., PABLOS, J. L., CORRALES, T., LÓPEZ-MARÍN, J., MARÍN, I. and CATALINA, F. Biodegradation of photo-degraded mulching films based on polyethylenes and stearates of calcium and iron as pro-oxidant additives. International Biodeterioration & Biodegradation, 65, 2011, p. 451-459.

[3] YAGI, H., FUMI, N., MASAHIRO, F. and MASAO, K. Anaerobic biodegradation tests of poly(lactic acid) and polycaprolactone using new evaluation

system for methane fermentation in anaerobic sludge. Polymer Degradation and Stability, 94, 2009, p. 1397-1404.

[4] LÓPEZ-MARTÍNEZ, G. Digestión anaerobia de residuos sólidos orgánicos urbanos: Revista Científica Universidad de los Andes, 2005.

[5] ARTEAGA, G.A., HUERTA, A.I., GARCÍA, E. y MARTÍN, G.A. Almacenes de carbono y estabilidad de la materia orgánica del suelo en un agroecosistema cafetalero en la sierra sur de Oaxaca, México. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 15, 2012, p. 611 – 620.

[6] YAGI, H. Anaerobic biodegradation tests of poly (lactic acid) and polycaprolactone using new evaluation system for methane fermentation in anaerobic sludg. Polymer Degradation and Stability, 94, 2009, p. 1397-1404.

[7] KHALID, A., ARSHAD, M., ANJUM, M., MAHMOOD, T. and DAWSON, L. The anaerobic digestion of solid organic waste. Waste Management, 31(8), 2011, p. 1737–1744

[8] LI, Y., PARK, S.Y. and ZHU, J. Solid-state anaerobic digestion for methane production from organic waste. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 15, 2011, p. 821–826.

[9] YAGI, H., NINOMIYA, F., FUNABASHI, M. and KUNIOKA, M. Thermophilic anaerobic biodegradation test and analysis of eubacteria involved in anaerobic biodegradation of four specified biodegradable polyesters. Polymer Degradation and Stability, 98, 2013, p. 1182-1187

[10] CHANDRA, R., TAKEUCHI, H. and HASEGAWA, T. Methane production from lignocellulosic agricultural crop wastes: A review in context to second generation of biofuel production. Renewable and Sustainable Energy Reviews 16(3), 2012, p. 1462–1476

[11] KOLSTAD, J., VINK, E., DE WILW, B. and DEBEER, L. Assessment of anaerobic degradation of Ingeo Polylactides under accelerated land□ll conditions. Polymer Degradation and Stability, 97, 2012, p. 1131-1141.

[12] YAGI, H. Anaerobic Biodegradation of Poly (Lactic Acid) Film in Anaerobic Sludge. Journal of Polymers and the environment, 20, 2012.

[13] CHO, H.S., MOON, H.S., KIM, M., NAM, K. and KIM, J.Y. Biodegradability and biodegradation rate of poly(caprolactone)-starch blend and poly(butylene succinate) biodegradable polymer under aerobic and anaerobic environment. Waste Management, 2011. p. 475–480

[14] FERNÁNDEZ, J. Optimización de la digestión anaerobia seca de la Fracción Orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos (FORSU) en reactores en fases de temperatura [Tesis Doctoral Ingeniería] . Cádiz (España): Universidad de Cádiz, Departamento de Ingeniería Química, Tecnología de Alimentos y Tecnologías del Medio Ambiente, 2010, 373 p.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (30-39) Julio - Diciembre 2014

EFECTO DE RECUBRIMIENTO DE ALMIDÓN DE YUCA Y CERA DE ABEJAS SOBRE EL CHONTADURO

CASAVA STARCH AND BEE WAX COATING EFFECT ON THE CHONTADURO FRUIT

EFEITO DE REVESTIMENTO DE FÉCULA DE MANDIOCA E CERA DE ABELHA NO CHONTADURO

Zulma Lizeth Tosne[1], Silvio Andrés Mosquera[2], Héctor Samuel Villada[3]

RESUMEN

El chontaduro tiene alto valor nutritivo y es uno de los frutos más completos como alimento, sin embargo, es altamente perecedero lo que lo hace susceptible a sufrir daños que afectan su calidad y aceptación. Por lo anterior, se evaluó el efecto de un recubrimiento a base de almidón de yuca (variedad SM 707-17) modificado enzimáticamente y cera de abejas sobre la pérdida de peso, la firmeza, los grados Brix, la acidez titulable y la tasa respiratoria de frutos variedad roja en etapa pos cosecha, almacenados bajo condiciones ambientales (18°C y 77,7% de humedad relativa). Se usó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos: T1 muestra testigo, T2 con 0,5% de cera de abejas, T3 con 1,5% de cera de abejas, T4 con 2,5% de cera de abejas, todos adicionados de almidón de yuca modificado (al 4%), glicerina y carboximetilcelulosa (CMC). Se realizaron 3 réplicas y los resultados se sometieron a un análisis de varianza ($\alpha=0,05$) usando el software SPSS 19, con un nivel de significancia ($p<0,05$) en las variables de respuesta, identificando T3 como el tratamiento con mayor incidencia, manteniendo las condiciones de calidad del chontaduro por un periodo adicional de 4 días.

Recibido para evaluación: 12 septiembre de 2013. **Aprobado para publicación:** 5 de marzo de 2014

1 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias. Departamento de Agroindustria. Ingeniera Agroindustrial. Popayán, Colombia

2 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agroindustria. Grupo Investigación CYTBIA. Mg. Ingeniería. Popayán, Colombia

3 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agroindustria. Grupo Investigación CYTBIA. Ph.D. Ingeniería Alimentos. Popayán, Colombia

Correspondencia: smosquera@unicauca.edu.co

ABSTRACT

The chontaduro has a high nutritive value and it is one of the more complete fruits as a food, it is highly perishable, making it susceptible to damage and affecting its quality and acceptance. Because of that, the effect of coating based on enzimatically modified cassava starch (variety SM 707-17) and bees wax effect was evaluated on the weight loss, firmness, Brix grades, titratable acidity and the respiratory rate of the red variety fruits in post harvest step, stored under environmental conditions (18°C of temperature and 77,7 % of relative humidity). A complete random design with four treatments and three replicates was used; the treatments were: T1 control sample without no treatment, T2 with 0,5 % bees wax, T3 with 1,5 % bees wax, T4 with 2,5 % bees wax, all treatments were added with modified cassava starch (4% concentration), glycerin and carboximetilcelulose (CMC). The results were analyzed by an ANOVA ($\alpha=0,05$) using the SPSS 19 software, with a level of significance ($p<0,05$) in the response variables, identifying T3 as the treatment with the higher incidence, maintaining the quality conditions of chontaduro for 4 additional days.

PALABRAS CLAVE:
Bactris gasipaes, Manihot esculenta Crantz, Maturação pupunha, Vida útil de pupunha.

RESUMO

O chontaduro tem alto valor nutritivo e é um dos frutos mais completos como alimento, no entanto, é altamente perecível, o que torna suscetível a danos que afetem a sua qualidade e aceitação. Portanto, avaliou-se o efeito de um revestimento a base de amido de mandioca modificado enzimaticamente (variedade SM 707-17) e cera de abelha na perda de peso, firmeza, graus Brix, a acidez titulável e ritmo respiratório de frutos variedade vermelho em fase pós-colheita, armazenada sob condições ambientais (18oC e 77,7% de humidade relativa). Usou-se um design inteiramente casualizado com quatro tratamentos: T1 mostra testemunha, T2 com 0,5 de cera de abelhas, T3 com 1,5 de cera de abelha, T4 com 2,5 de cera de abelhas, adicionados de amido de mandioca modificado (ao 4%), glicerina e carboximetilcelulose (CMC). Três (3) réplicas foram feitas e os resultados foram submetidos à análise de variância ($\alpha=0,05$) utilizando o software SPSS 19, encontrando diferenças ($p<0,05$) nas variáveis de resposta, identificando o T3 como o tratamento com maior incidência, mantendo a qualidade das condições do Chontaduro, por um período adicional de 4 dias.

KEYWORDS:
Bactris gasipaes, Manihot esculenta Crantz, Chontaduro ripenning, Chontaduro shelf life.

PALABRAS CLAVE:
Bactris gasipaes, Manihot esculenta Crantz, pós-colheita

INTRODUCCIÓN

El fruto de chontaduro (*Bactris gasipaes*) es uno de los alimentos de mayor valor nutritivo ya que contiene aminoácidos esenciales (6,24 g/100 g de materia seca), proteínas (33%), grasas insaturadas (4,6%), vitaminas A, B, C y minerales [1], siendo las etapas de cosecha, pos cosecha y comercialización las que más afectan su calidad y aceptación.

Los recubrimientos son una matriz continua, líquida y delgada conformada por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de los mismos, más aditivos y compuestos antimicrobianos [2], que

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (30-39) Julio - Diciembre 2014

se aplican sobre el alimento para evitar el intercambio de agua y de gases, mejorar la integridad mecánica y ralentizar los cambios químicos que pueden afectar el color, aroma o valor nutricional [3].

El almidón usado en recubrimientos se modifica para romper algunas o todas las moléculas y realzar o inhibir propiedades como consistencia, viscosidad, poder aglutinante, estabilidad a cambios en el pH y temperatura y mejorar su gelificación, dispersión o fluidez [4,5], se han observado buenos resultados con glicerol en aguacates [6], en tomate de mesa [7], en papayas [8], en plátanos (*Musa paradisiaca*) al mezclarse con ácido ascórbico (6 g/L) y N-acetil cisteina (8 g/L) [9], en guayaba (*Pisidium guajava)* en combinación con aloe vera (*Persea americana*) y cera de carnauba [10]. Otra buena alternativa es la cera de abejas que contiene ácidos libres, ésteres y otros componentes naturales que aportan propiedades emulsificantes, plasticidad y olor agradable [11] usada con hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) sobre ciruelas [12] y sobre mango en combinación con cera de carnauba [13].

Es evidente que se deben buscar alternativas para la conservación de la calidad de frutos, como la aplicación de recubrimientos naturales que permitan extender el tiempo de vida útil y mejorar la estabilidad y calidad durante el almacenamiento. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de un recubrimiento a base de almidón de yuca (*Manihos esculenta* Crantz) modificado y cera de abejas sobre la pérdida de peso, firmeza, grados Brix, acidez titulable y tasa respiratoria, bajo condiciones ambientales.

MÉTODO

El proyecto se desarrolló en la Planta Piloto de Vegetales y el Laboratorio de Reología, Empaque y Textura de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca, ubicada en el Municipio de Popayán, Departamento del Cauca, a una altura de 1.880 msnm, temperatura de 19°C y humedad relativa de 77,75%.

Materiales

Frutos. Se utilizaron chontaduros variedad roja en grado de madurez 5 (color rojo intenso), producidos en el corregimiento de Cuatro Esquinas en el Municipio de El Tambo (Cauca) a una altitud de 1.269 msnm, con temperatura que oscila entre 22 y 28°C, precipitaciones anuales entre 1.500 y 2.500 mm/año y humedad relativa entre 70 y 80%.

Almidón de yuca modificado. Se utilizó almidón de yuca variedad SM 707-17, modificado enzimáticamente con alfa-amilasa, con un grado de modificación del 10% D.E. (Dextrosa Equivalente). Adicionalmente, se empleó Glicerina USP TK 45Y con pureza del 99,9% como agente plastificante, cera de abejas en estado sólido adquirida en la Cooperativa de Apicultores del Cauca (COOAPICA) como componente hidrofóbico y carboximetilcelulosa (CMC) como ligante, espesante, emulsificante y estabilizante que mejora el brillo y apariencia [14].

Diseño experimental

Se evaluaron 4 tratamientos con un diseño experimental completamente al azar, con 3 réplicas y 3 repeticiones para cada tratamiento, asignando los 4 tratamientos en forma completamente aleatoria a las unidades experimentales, con una variación en la concentración de cera de abejas, mientras que los porcentajes de almidón de yuca (4%), glicerina (2%) y CMC (0,5%) se mantuvieron constantes de acuerdo a lo sugerido por [7]. Las formulaciones se presentan en el cuadro 1:

Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza empleando el software estadístico SPSS versión 19 y posteriormente se aplicó la prueba de Tukey para determinar diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 1. Características de los tratamientos

Tratamiento	% de almidón de yuca	% de glicerina	% de Carboximetil-celulosa (CMC)	% de cera de abejas
T1 (testigo)	0	0	0	0
T2	4	2	0,5	0,5
T3	4	2	0,5	1,5
T4	4	2	0,5	2,5

Procedimientos

La cosecha se realizó de forma manual y de los racimos obtenidos se seleccionaron 324 frutos para las tres (3) réplicas, considerando diámetro entre 30 y 40 mm, longitud entre 31 y 50 mm y peso entre 30 y 48 g, con superficie lisa, de forma ovoide y sin daños causados por hongos y/o bacterias [13]. Los chontaduros se lavaron por inmersión con agua potable durante 30 minutos para retirar las impurezas y suciedad superficial y se desinfectaron con Tego 51 a una concentración de 0,5% [16]. La cera de abejas se fraccionó por macerado y se llevó a baño María hasta alcanzar el punto de fusión entre 62 y 65 ºC.

Preparación y aplicación del recubrimiento. La mezcla se sometió a baño María hasta 70ºC por 15 minutos con agitación constante y, posteriormente, se dejó enfriar hasta 19ºC. Se cubrieron los chontaduros por inmersión durante 30 segundos y se dejaron secar a temperatura ambiente de 19ºC [16].

Medición de variables

Se realizó por triplicado, durante 16 días, cada dos días, a las 8:00 am, descartando las muestras utilizadas en cada medición, valorando las siguientes variables de respuesta:

Pérdida de peso. Mediante el registro de la variación en el peso en Balanza analítica LEXUS, referencia MIX-SL 600 con precisión de 0,1 g, usando las siguientes expresiones (ecuaciones 1 y 2):

$$PP\ (g) = (Pi - Pf) \qquad \text{(Ec.1)}$$

Donde:

PP(g) = Pérdida de peso (g)

P_i = Peso inicial (g)

P_f = Peso final (g).

$$\%\ PP = \frac{Pi - Pf}{Pi} \times 100 \qquad \text{(Ec. 2)}$$

Donde:

% PP = Pérdida de peso (en porcentaje)

P_i = Peso inicial (g)

P_f = Peso final (g)

Tasa de respiración. En un equipo pettenkofer para medir la tasa respiratoria al capturar del CO_2 liberado por los frutos y obtener la intensidad de respiración en mg CO_2/kg/h así (ecuación 3):

$$IR = \frac{(Vb - Vm) * N * 22 * 60}{W * t} \qquad \text{(Ec. 3)}$$

Donde:

Vm= Volumen de ácido oxálico para titular la muestra (mL)

Vb= Volumen de ácido oxálico para titular el blanco (mL)

N= Normalidad del ácido oxálico (meq/L)

22 = Peso miliequivalente del CO_2 (g/meq)

60= Factor de conversión para el tiempo (min/h)

t= Tiempo de barrido (min)

W= Peso de la muestra (Kg).

Firmeza. Se midi**ó** en la máquina universal de ensayos *SHIMADZU* referencia EZ-L para medir la penetración y fuerza ante la compresión ejercida por los frutos. Se midión sobre el eje ecuatorial de los frutos, a una velocidad de celda de 3 mm/min usando un punzón con punta cónica de 4,63 mm de diámetro, expresando los resultados como fuerza máxima ante la penetración (Newtons).

Grados Brix. Con refractómetro Atago con escala 0-32 °Brix para medir la concentración de sólidos solubles totales, mediante la refracción de la luz al pasar por los cristales de azúcar. Se obtuvo la muestra a 20ºC para evitar la corrección de los sólidos solubles [17].

Acidez titulable. Como porcentaje de ácido cítrico usando la ecuación 4:

$$\%\ acidez = B * N * K * 100/W \qquad \text{(Ec. 4)}$$

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (30-39) Julio - Diciembre 2014

En donde:

B = NaOH consumido en la titulación (mL)

N = Normalidad del NaOH (0,1N)

K = constante de acidez del ácido predominante en la fruta (ácido cítrico)= 0,064

W = Peso o volumen de la muestra (mL).

RESULTADOS

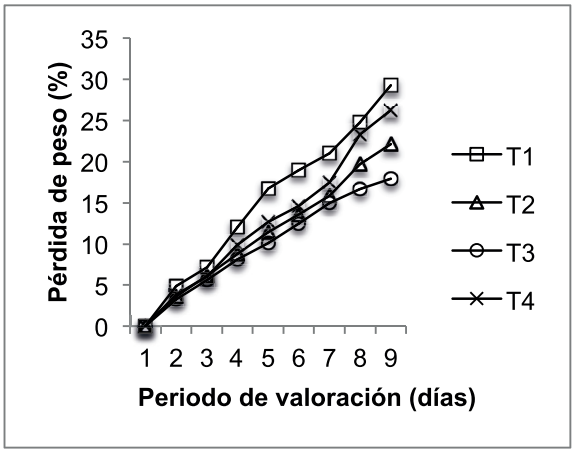
El seguimiento se realizó durante 16 días pero los frutos de la muestra testigo (T1) se deterioraron y contaminaron con hongos el día 12, sin embargo, fueron tenidos en cuenta para el ANOVA. Para el análisis de los resultados se consideraron cinco momentos: los tres primeros en los días 8,10 y 12 al observarse el pico climatérico en los tratamientos T1, T2, T3, y los otros dos en los días 14 y 16 al presentar cambios drásticos en la fisiología de los chontaduros.

Pérdida de peso

La pérdida de peso es consecuencia de la transpiración por la migración de agua desde los espacios intercelulares hasta la cutícula, la disolución y difusión de las moléculas de agua a través de la membrana cuticular y la desorción en la superficie exterior [18]. En esta investigación los frutos disminuyeron su peso en todos los tratamientos (figura 1): el Análisis de Varianza del día 8 mostró diferencias significativas ($p<0,05$) indicando que el recubrimiento incidió sobre la pérdida de peso: la prueba de Tukey generó tres grupos, el primero con T3 y T2 cuyas medias no difirieron significativamente (p-valor= 0,341) indicando que la pérdida de peso fue similar; el segundo con T4 y T2 con un nivel de significancia de 0,385 y el tercero con T1.

En los días 10 y 12, hubo diferencias significativas ($p<0,05$) y la prueba de Tukey arrojó dos grupos, el primero con T2,T3,T4 (pérdida de peso de 13,55%, 12,46% y 14,62% en el día 10 y de 15,85%, 14,96% y 17,50% en el día 12, respectivamente) y el segundo con T1 (18,93% y 21,03%) porcentajes menores porque la aplicación del componente hidrofóbico (CA) aumentó la resistencia de la cutícula a la difusión de agua, aportando una barrera adicional ante la deshidratación [12].

Figura 1. Pérdida de peso durante el periodo de evaluación.



Período de valoración (días): 1= Día 0; 2: Día 2; 3= Día 4; 4= Día 6; 5= Día 8; 6= Día 10; 7= Día 12; 8= Día 14; 9= Día 16.

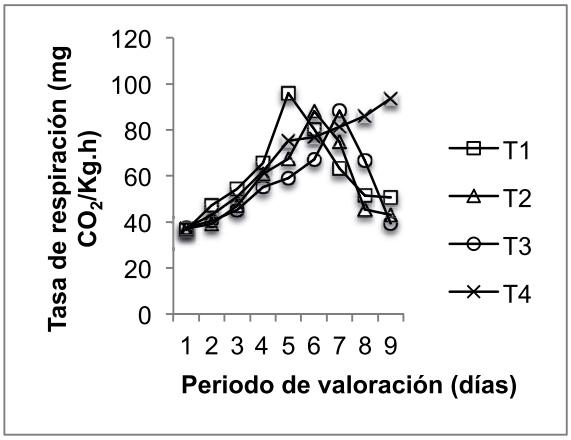
Para los días 14 y 16 también hubo diferencias significativas ($p<0,05$) y la prueba de Tukey formó 3 grupos: el primero con T3 que presentó una menor pérdida de peso, el segundo con T2 y el tercero con T4 y T1 que perdieron mayor peso, indicando comportamiento similar. El tratamiento T3 con 1,5% de cera de abejas redujo las pérdidas de peso casi en un 50% frente a la muestra testigo, situación que difiere con los frutos de T4, debido a que se pudo iniciar la anaerobiosis interna con pérdida de estructura celular que indujo la deshidratación y la consecuente pérdida de peso [10] y por la reducción en la difusión de agua al aumentar el contenido en lípido que no mejora las propiedades de barrera, tal como sucedió en ciruelas [12], por lo que se puede indicar que en este caso hubo saturación del sistema a partir de 2,5% de CA, por exceso del lípido o por un defecto de emulsificante (CMC) que crearon una atmósfera modificada generando la fermentación interna en los chontaduros.

Tasa de respiración

El patrón de respiración corresponde al de un fruto climatérico, alcanzando el pico en los días 8, 10 y 12 para T1, T2 y T3 respectivamente (figura 2), mientras que en T4 no se evidenció debido a que el porcentaje de CA generó una protección al fruto que pudo afectar el intercambio gaseoso.

El ANOVA del día 8 arrojó diferencias significativas ($p<0,05$) por lo cual se rechazó la hipótesis nula (Ho) y se aceptó la hipótesis alterna (Ha) indicando que la aplicación del recubrimiento incidió sobre la tasa de

Figura 2. Tasa de respiración durante los días de evaluación.



Período de valoración (días): 1= Día 0; 2: Día 2; 3= Día 4; 4= Día 6; 5= Día 8; 6= Día 10; 7= Día 12; 8= Día 14; 9= Día 16.

respiración, por esta razón, se aplicó la prueba de Tukey que formó 4 grupos: el primero con T3, el segundo con T2, el tercero con T4 y el último con T1, resultados que permiten inferir que los valores promedio entre los tratamientos aplicados fueron totalmente distintos, debido a que en cada uno de ellos el proceso evolutivo de respiración transcurrió hasta el día 8 a velocidades diferentes, en los frutos sin recubrimiento fue mayor la intensidad respiratoria alcanzando el pico climatérico con una tasa de 96,06 mg CO_2/Kg.h a causa del deterioro de la estructura de los frutos y a la presencia de contaminación microbiana, superado por [17] quienes manifestaron que el chontaduro puede llegar a alcanzar los 80 mg CO_2/Kg.h en etapas de almacenamiento.

El análisis estadístico para los días 10 y 12 ratifica las diferencias significativas entre los tratamientos T2 y T3 ($p<0,05$) y entre los frutos con y sin recubrimiento, con lo que se puede corrobar la efectividad del tratamiento T3 debido a que la formulación combinada entre CA y almidón de yuca modificado creó una barrera contra los gases sin ocurrencia de anaerobiosis.

El Análisis de Varianza de día 14 mostró diferencias significativas ($p<0,05$) y la prueba de Tukey conformó 4 grupos, cada uno con un tratamiento, lo que evidencia que los valores promedio fueron distintos, posiblemente porque los procesos metabólicos de respiración se dieron a velocidades diferentes ya que en la primera fase se alcanza un consumo elevado de nutrientes que posteriormente disminuye; sin embargo, los frutos con el T4 fueron los únicos que no presentaron tal comportamiento, por el contrario, incrementaron aún más la respiración, pasando de 81,24 mg CO_2/Kg.h en el día 12 a 86,11 mg CO_2/Kg.h en el día 14, sugiriendo que hay una elevada actividad debido a que el proceso de respiración se desvió hacia una ruta anaerobia [7].

En el día 16 hubo diferencias significativas y la prueba de Tukey formó tres grupos: el primero con T3 y T2, el segundo con T1 y el tercero con T4, lo que significa que T1 y T4 difieren significativamente entre sí y de los demás tratamientos ya que el efecto fue negativo a diferencia de T3 y T2. T4 siguió presentando un incremento pasando de 86,11 mg CO_2/Kg.h en el día 14 a 93,73 mg CO_2/Kg.h en el día 16, siendo éste el valor más elevado, probablemente, a que se generó una barrera excesiva de protección al fruto, que pudo afectar el intercambio gaseoso y limitar la presencia de O_2 necesario para una respiración aeróbica en el interior del fruto, no apreciándose el pico climatérico.

Este resultado presentó un comportamiento similar al obtenido en aguacate [19], con la diferencia de que para efectos de la presente investigación las consecuencias fueron negativas al no generar una atmósfera equilibrada que aunque retardó la intensidad respiratoria al lograr su valor máximo de CO_2 liberado, en el día 16 con 93,73 mg CO_2/Kg.h, comparado con 96,06 mg CO_2/Kg.h liberados en el día 8 para el tratamiento testigo, provocó daño metabólico en el producto generando anaerobiosis debido a que en T4 se formó una atmósfera enriquecida en CO_2 acompañada de defectos físicos en la fase final de seguimiento (día 16) como decoloración del epicarpio, pardeamiento de los tejidos de la pulpa y un apreciable olor a fermentado, lo que sugiere el requerimiento de entre 1 y 3% de oxígeno para prevenir la respiración anaeróbica, con cierta permeabilidad al oxígeno y al dióxido de carbono con el fin de evitar fenómenos de anaerobiosis interna que podrían inducir desórdenes fisiológicos y pérdida rápida de la calidad y vida útil en los productos [11].

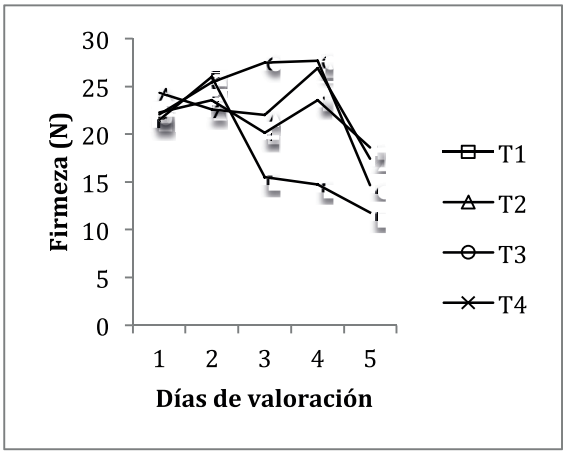
Firmeza

En la figura 3 se aprecia que la firmeza disminuyó con el tiempo, siendo más notoria para los frutos testigo (T1) que presentaron menor resistencia.

El análisis de varianza del día 8 no arrojó diferencias significativas ($p= 0,090$) por lo que se aceptó la hipótesis nula (Ho) indicando que la aplicación de los recubrimientos no incidió sobre la firmeza de los frutos, sin embargo, cabe resaltar que los frutos de T1 tuvieron menor

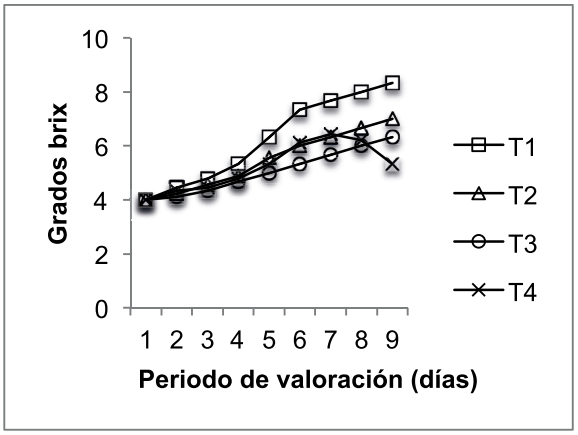
Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (30-39) Julio - Diciembre 2014

Figura 3. Firmeza durante los días de evaluación.



Perdiodo de valoración (días): 1= Día 0; 2: Día 4; 3= Día 8; 4= Día 12; 5= Día 16.

Figura 4. Grados Brix durante los días de evaluación.



Perdiodo de valoración (días): 1= Día 0; 2: Día 2; 3= Día 4; 4= Día 6; 5= Día 8; 6= Día 10; 7= Día 12; 8= Día 14; 9= Día 16.

firmeza (15,5011 N) que los recubiertos (T2,T3,T4) con valores superiores a 20 N. El análisis estadístico para el día 12 arrojó diferencias significativas ($p<0,05$) por lo que se aplicó la prueba de Tukey obteniendo 2 grupos: el primero con T1 y T4 y el segundo con T4,T2 y T3, con firmeza de 14,7550 N en T1, 26,9006 N en T2 , 27,6828 N en T3 y 23,5428 N en T4.

En el día 16 no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) indicando que la variación de la firmeza fue similar, sin embargo, los frutos recubiertos presentaron mayor firmeza en comparación con los frutos testigo, posiblemente porque la aplicación de los recubrimientos crea una atmósfera que redujo la actividad enzimática de pectinesterasas y galacturonasas que se activan durante la maduración y causan la degradación de los componentes de las paredes celulares y consecuente ablandamiento de la pulpa [12].

Grados Brix

En la figura 4 se observa que los grados Brix mostraron incremento hasta el día 16 para los tratamientos T1, T2 y T3, mientras que para el tratamiento T4 el incremento se presentó solamente hasta el día 12, luego del cual disminuyó.

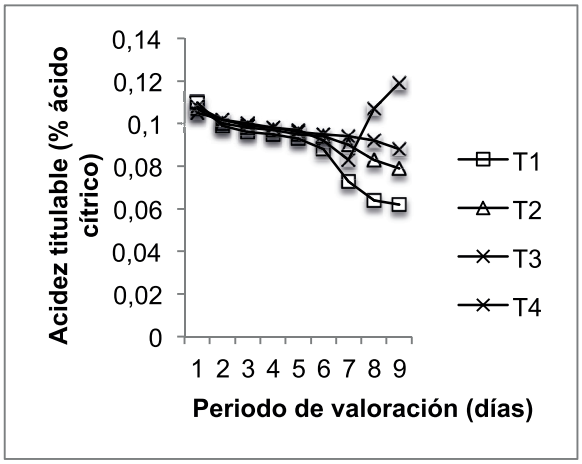
El ANOVA para los días 8,10,12 y 14 mostró diferencias significativas entre los tratamientos ($p<0,05$) y al aplicar la prueba de Tukey se obtuvieron dos (2) subconjuntos: los frutos recubiertos (T2,T3,T4) formando el primero y los frutos testigo (T1) el segundo, lo cual significa que la aplicación de los recubrimientos incidió sobre el comportamiento de este parámetro, sin embargo, para T2 y T3 se incrementó en menor proporción con valores de 6,67 y 6,00 °Brix respectivamente en el día 14, comparado con 8,00 °Brix reportados para T1, debido a que las protopectinas se hidrolizan a pectinas solubles que pudieron contribuir al aumento de la concentración de los SST [20], tendencia relacionada con el retraso de la maduración por el efecto barrera otorgado por T3 respecto a T2 (0,5% CA) y el testigo, debido al mayor contenido en cera de abejas (1,5%), mientras que en T4 (2,5% CA) se presentó una leve tendencia a disminuir a partir del día 14, con un descenso progresivo hasta el día 16.

El análisis estadístico para el día 16 arrojó diferencias significativas ($p<0,05$) y la prueba de Tukey generó 3 subconjuntos: T4 en el primero con 5,33 °Brix, T2 y T3 en el segundo con 7,00 y 6,33 °Brix respectivamente y, finalmente, T1 con 8,33 °Brix), ratificando la efectividad de T3, infiriendo que se superó un límite critico de cera de abejas que condujo a un proceso interno de fermentación con degradación de almidón en azúcares mucho más rápida, al usarlos como sustratos en el metabolismo fermentativo de la fruta para la síntesis de otros compuestos como acetaldehídos y etanol [10].

Acidez titulable (% ácido cítrico)

En la figura 5 se observa que hasta el día 10 hubo disminución similar en todos los tratamientos, debido al proceso metabólico que está en correspondencia con su estado de madurez por el consumo de ácidos orgánicos que se incrementa al no existir reservas de almidón [20].

Figura 5. Acidez titulable durante los días de evaluación.



Perdiodo de valoración (días): 1= Día 0; 2: Día 2; 3= Día 4; 4= Día 6; 5= Día 8; 6= Día 10; 7= Día 12; 8= Día 14; 9= Día 16.

El ANOVA de los días 8 y 10 no encontró diferencias significativas ($p>0,05$) indicando comportamiento similar y que la aplicación de los recubrimientos no incidió sobre la acidez de los frutos. A partir del día 12 se presentaron diferencias significativas y se formaron 3 subconjuntos: el primero con T1 cuyos frutos evidenciaron una disminución marcada del contenido de ácido por el uso como sustrato respiratorio durante la maduración y porque en la respiración son generados ácidos orgánicos que luego se volatilizan [10]. El segundo con T2 y T3 con efecto similar, mientras que T4 formó el tercer subconjunto al evidenciarse una leve tendencia decreciente, con posterior incremento durante los días 14 y 16 en los cuales cada tratamiento se diferenció en un grupo, evidenciando diferencias significativas entre todos los tratamientos, posiblemente porque los valores promedio obtenidos fueron completamente diferentes, posiblemente porque en los frutos de T2 y T3 se retrasó la volatilización de ácidos orgánicos frente a los de T1 con la mayor disminución (0,062%), mientras que en T4 se incrementó drásticamente alcanzando valores de 0,119% hasta el día 16, por una posible desviación en el metabolismo de los frutos al pasar a la vía fermentativa [21] y al posible desarrollo de microorganismos que toman como sustrato los azúcares aumentando a su vez la concentración de ácidos orgánicos (láctico, acético y succínico), en lugar de descender como es normal en la evolución de la madurez [10], además, en el climaterio ocurren reacciones que ocasionan la liberación de ácidos orgánicos que incrementan la acidez [22].

CONCLUSIONES

El recubrimiento de T3 retardó el proceso de deterioro de los frutos de chontaduro sin afectar las características organolépticas y físico-químicas de los frutos, permitiéndoles alcanzar un tiempo de conservación de hasta 16 días, a diferencia de los frutos control (T1) que solo alcanzaron una vida útil de 12 días.

La aplicación del recubrimiento con cera de abejas al 1,5% (T3) tuvo efecto positivo al reducir la pérdida de peso y de firmeza, retrasar el desarrollo de la madurez y la tasa de respiración, manteniendo las características físicas, lo que se traduce en un valor agregado que puede facilitar e impulsar los procesos pos cosecha, beneficiando a los productores e intermediarios y brindando al consumidor final un producto de mayor calidad.

Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey demuestran que aplicaciones con CA son muy eficientes como barrera al vapor de agua y gases, sin embargo, el uso en porcentaje superior al 2,5% (T4) no mejoró las características físicoquímicas evaluadas, dificultando el aspecto y brillo de los mismos, además de inducir procesos metabólicos de anaerobiosis interna que afectaron la calidad y conservación.

En futuras investigaciones se puede contemplar la evaluación en frutos de chontaduro almacenados bajo condiciones de refrigeración, la cuantificación de la producción de etileno, la evaluación de la permeabilidad al vapor de agua y las propiedades mecánicas del recubrimiento, así como la tensión de tracción máxima, la tensión a la rotura y el porcentaje de elongación máximo con el fin de conocer más detalladamente su comportamiento reológico. Se puede determinar por cromatografía, el contenido de CO_2 y O_2 interno y también las concentraciones de etanol y acetaldehído en zumo de frutos recubiertos, para evaluar la repercusión del incremento de cera de abejas en la concentración de estos parámetros y la atmosfera interna del fruto, los cuales fue evidente que influyeron sobre la calidad de los chontaduros.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad del Cauca por el suministro de los recursos necesarios para el desarrollo de la investigación.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (30-39) Julio - Diciembre 2014

REFERENCIAS

[1] ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). Perspectivas de cosechas y situación alimentaria [en línea]. 2009. Disponible: http://www.fao.org/docrep/012/ak340s/ak340s00.htm. [citado 18 de Junio de 2012].

[2] QUINTERO, J. y FALGUERA, V. Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. Revista Tumbaga, 2010, 1(5), p. 93-118.

[3] SÁNCHEZ, L., VARGAS, M., GONZÁLEZ, M.C., CHÁFER, M. y CHIRALT, M. Incorporación de productos naturales para la conservación de alimentos. Valencia (España): VIII Congreso SEAE Bullas, Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Tecnología de Alimentos, Instituto Universitario de Ingeniería de alimentos para el desarrollo, 2008.

[4] ARISTIZÁBAL, J. y SÁNCHEZ, T. Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca. Roma (Italia): Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), 2005, 134 p.

[5] VELASCO, R., LUNA, W., MERA, J. y VILLADA, H. Producción de dextrinas a partir de almidón nativo de yuca por ruta seca en una agroindustria rural. Información Tecnológica, 2008, 19(2), p. 15-22.

[6] AGUILAR, M.A., MARTÍN, S., ESPINOZA, N., SÁNCHEZ, M., CRUZ, A., y RAMÍREZ, M. Caracterización y aplicación de películas a base de gelatina-carboximetilcelulosa para la preservación de frutos de guayaba. Superficies y Vacío. Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales, 2012, 25(1), p. 1-7.

[7] BARCO, L., BURBANO, A., MOSQUERA, S.A, VILLADA, H. y NAVIA, D. Efecto del recubrimiento a base de almidón de yuca (*Monihot sculenta* Crantz*)* modificado sobre la maduración del tomate de mesa bajo condiciones ambientales. Revista Lasallista de Investigación, 2011, 8(2), p. 96-103.

[8] ALMEIDA, A., REIS, J., SANTOS, D., VIEIRA, T. y DA COSTA, M. Estudio de la conservación de la papaya (*Carica papaya* L.) asociado a la aplicación de películas comestibles. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos, 2011, 2(1), p. 49-60.

[9] PALACIN, J. Yuca, ácido ascórbico, N-acetil-cisteína en la calidad del plátano (*Musa paradisiaca*). Medellín (Colombia): Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Facultad de Ciencias Agrarias, 2012.

[10] ACHIPIZ, S.M., CASTILLO, A.E., MOSQUERA, S.A., HOYOS, J.L. y NAVIA, D.P. Efecto de recubrimiento a base de almidón sobre la maduración de la guayaba (*Psidium guajava*). Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, 2013, edición especial no. 2, p. 92-100.

[11] BÓSQUEZ, E. Desarrollo de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para la conservación de frutas [en línea]. 2008. Disponible : http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/MA025_RECUBRIMIENTOS.pdf.[citado 22 de Junio de 2012].

[12] NAVARRO, M., MASSA, A. and PÉREZ, M. Effect of beeswax content on hydroxypropyl methylcellulose-based edible film properties and postharvest quality of coated plums (Cv. Angeleno). LWT- Food Science and Technology, 2011, 44, p. 2328- 2334.

[13] DANG, K., SINGH, Z. and SWINNY, E. Edible coatings influence fruit ripening, quality and aroma biosynthesis in mango fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(4), p. 1361-1370.

[14] VALLE, S., LOPEZ, O., REYES, M., CASTILLO, J. y SANTOS A. Recubrimiento comestible basado en goma arábiga y carboximetilcelulosa para conservar frutas en atmósfera modificada. Revista Chapingo, 2008, 14(3), p. 235-241.

[15] SINISTERRA, M., ARDILA, X. y CERON, R. Manual para el manejo post-cosecha y comercialización del chontaduro (*Bactris gasipaes* H.B.K). Popayán (Colombia): CORPOTAMBO, PRONATTA, SENA Regional Cauca, 2003.

[16] OLARTE, J. Propuesta y documentación para la implementación de buenas prácticas de manufactura en las plantas piloto de alimentos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca [Tesis Ingeniería Agroindustrial]. Popayán (Colombia): Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agroindustria, 2005.

[17] SERRANO, M., UMAÑA, G. y SÁENZ, M. Fisiología post-cosecha, composición química y capacidad antioxidante de frutas de pejibaye (*Bactris gasipaes Kunth)* CV. Tuira Darién cosechadas a tres diferentes edades. Revista Agronomía Costarricense, 2011, 35(2), p. 75-87.

[18] ALVAREZ, R. Formulación de un recubrimiento comestible para frutas cítricas, estudio de su

impacto mediante aproximación metabolómica y evaluación de la calidad post-cosecha. Medellín (Colombia): Universidad de Antioquia, Facultad de Química Farmacéutica, 2012, 207 p.

[19] PINEDA, L. y SOLÍS, D. Efecto de la aplicación de un recubrimiento de almidón hidrolizado de yuca (*manihot sculenta* crantz) sobre la maduración del aguacate (*Persea americana* Miller) variedad Hass. Popayán (Colombia): Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Agroindustria, 2011, 57 p.

[20] AVILA, H., CUSPOCA, R., FISCHER, G., LIGARRETO, G. y QUICAZÁN, M. Caracterización fisicoquímica y organoléptica del fruto de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) almacenado a 2°C. Revista Facultad Nacional Agronomía, 2007, 60(2), p. 4179- 4193.

[21] CORTEZ, J., YAH, A., DUCH, E. y DE LOURDES, M. Industrialización de la Pitahaya (*Hylocereus undatus*): Una nueva forma de comercialización. Revista Mexicana de Agronegocios, 2005, 9(16), , p. 498-509.

[22] CASTRICINI, A. Aplicação de revestimentos comestíveis para conservação de mamões (*Carica papaya* L.) 'Golden'. Rio de Janeiro (Brasil): Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Seropédica, 2009,117 p.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (40-48) Julio - Diciembre 2014

EVALUACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICAS DE BIOPLÁSTICOS TERMO-COMPRIMIDOS ELABORADOS CON HARINA DE YUCA

EVALUATION OF PHYSICAL PROPERTIES OF THERMOPRESSING BIOPLASTICS MADE FROM CASSAVA FLOUR

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICAS DE TERMO-COMPRIMIDOS BIOPLÁSTICOS FEITOS A PARTIR DE FARINHA DE MANDIOCA

Diana Paola Navia-Porras[1], Nathalia Bejarano-Arana[2]

RESUMEN

Las innovaciones tecnológicas en materiales plásticos elaborados con recursos naturales renovables requieren el conocimiento de sus propiedades y características funcionales para identificar sus potencialidades y ventajas competitivas frente a los materiales elaborados con recursos no renovables. En este trabajo, se estudió el comportamiento de las propiedades mecánicas, densidad y color (L a* y b*) en bioplásticos elaborados con harina de yuca de variedad MPER-183 gelatinizada, reforzados con fibra de fique. Los bioplásticos fueron obtenidos mediante la técnica de moldeo por compresión variando la presión (0, 20 y 40 psi) y la temperatura (180, 190 y 200°C). Las variables temperatura y presión de compresión afectaron significativamente ($p<0,05$) las propiedades mecánicas, el color y la densidad de los bioplásticos, identificando las condiciones de temperatura de 180°C y presión de 0 psi como las más favorables para L*, a* y b*, altos valores de esfuerzo de flexión, modulo elástico de flexión y baja densidad, mientras que la temperatura de 190°C y presión de 0 psi, fueron apropiadas para obtener altos valores de esfuerzo de tensión y modulo elástico de tensión.*

Recibido para evaluación: 10 de octubre de 2013. **Aprobado para publicación:** 16 mayo de 2014

1 Universidad de San Buenaventura sede Cali, Facultad de Ingeniería, Grupo de Investigación Biotecnología. Magister en Ingeniería de Alimentos. Cali, Colombia.

2 Universidad de San Buenaventura sede Cali, Grupo de Investigación Biotecnología. Estudiante de Ingeniería Agroindustrial. Cali, Colombia.

Correspondencia: dpnavia@usbcali.edu.co

ABSTRACT

Technological innovations in plastics made from renewable resources require knowledge of their properties and functional characteristics to identify their qualities and competitive advantages over materials made from nonrenewable resources. This report aims to study, the behavior of the mechanical properties, density and color (L a* and b*) of bioplastics made from gelatinized cassava flour of variety MPER-183, reinforced with fique fiber. Bioplastics were obtained by compression molding technique by varying the pressure (0, 20 and 40 psi) and temperature (180, 190 and 200°C). The variables temperature and compression pressure significantly affected (p<0,05) the mechanical properties, color and density of bioplastics, identifying conditions at 180°C and 0 psi pressure, as the most favorable for L * a * b *, high values of flexural strength, flexural elastic modulus and low density, while the temperature of 190°C and pressure of 0 psi, were suitable for obtaining higher values of tensile strength and tensile elastic modulus.*

PALABRAS CLAVE:
Flexión, Color, Densidad, Biopolímeros

KEYWORDS:
Flexion, Color, Density, Biopolymers

PALAVRAS-CHAVE:
Flexão, Cor, Densidade, Biopolímeros.

RESUMO

As inovações tecnológicas em plásticos feitos a partir de recursos renováveis exigem o conhecimento das suas propriedades e características funcionais para identificar seus pontos fortes e vantagens competitivas sobre os materiais feitos a partir de recursos não-renováveis. Neste relatório o comportamento das propriedades mecânicas, densidade e cor (L a* e b*) de bioplásticos feitos a partir de farinha de mandioca gelatinizado da variedade MPER-183, reforçado com fibras de fique, foi estudada. Bioplásticos foram obtidos pela técnica de moldagem por compressão através da variação da pressão (0, 20 e 40 psi) e temperatura (180, 190 e 200°C). As variáveis de temperatura e de pressão de compressão afectam significativamente (p<0,05) as propriedades mecânicas, a cor e densidade de bioplásticos, identificando as condições de 180°C e à pressão de 0 psi como o mais favorável para L*, a* e b*, de alta valores da esforço de flexão, módulo de elasticidade de flexão e baixa densidade, enquanto a temperatura de 190°C e à pressão de 0 psi, sendo assim adequadas para a obtenção de maiores valores de resistência à tracção e módulo de elasticidade à tracção.*

INTRODUCCIÓN

Los plásticos provenientes de fuentes petroquímicas son ampliamente usados en los sectores de la economía mundial, tales como el industrial, el agrícola, el pecuario y de servicios, debido a que cuentan con propiedades que favorecen sus aplicaciones y comercialización. La demanda de estos materiales ha aumentado progresivamente, y en consecuencia también su participación en la producción de desechos sólidos [1], en razón a su baja tasa de degradación. No obstante, existen otras alternativas para la disposición final de los plásticos provenientes de hidrocarburos, como la incineración, pero esta técnica genera perjuicios ambientales por la producción de gases tóxicos [2]; por su parte, el reciclaje, implica posibilidades de

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (40-48) Julio - Diciembre 2014

contaminación de los materiales recolectados y sus costos de separación y procesamiento son aspectos de amplia discusión [3].

En el contexto de estos aspectos ambientales, las investigaciones en plásticos biodegradables han ganado interés desde hace algunos años, y a la fecha, el almidón y el ácido poliláctico, son considerados las materias primas principales para la obtención y comercialización de bioplásticos para empaques y otras aplicaciones industriales [4]. En general, los recursos amiláceos son prominentes a nivel mundial para la producción de bioplásticos, en razón a su abundancia, disponibilidad y facilidad para la plastificación a través de diversas técnicas de procesamiento como extrusión, termo-compresión o termoformado [5].

El moldeo por compresión en caliente o termocompresión es una **técnica** con poca generación de desperdicios, y que debido a la baja orientación en las piezas moldeadas, permite la distribución apropiada de los rellenos fibrosos en la matriz polimérica, manteniendo las propiedades mecánicas del producto obtenido [6]. Estos aspectos son relevantes, dado que los recursos amiláceos pueden mezclarse con fibras naturales para favorecer las propiedades mecánicas de los bioplásticos fabricados [7,8]. En Colombia, la fibra natural de mayor producción es el fique [9] y su agroindustrialización esta direccionada principalmente a la producción de sacos para empaques, dado su resistencia mecánica, por lo que su uso como componente reforzante en bioplásticos es una alternativa viable.

Como antecedentes de este trabajo, se han desarrollado materiales semirrígidos utilizando harina de yuca, mezclada con fique y glicerol mediante moldeo por compresión [10], obteniendo resultados prometedores en cuanto a su funcionalidad mecánica, sobresaliendo la variedad de yuca MPER 183 sobre otras estudiadas [11].

Con el propósito de fortalecer algunas de las propiedades de los bioplásticos desarrollados en estudios previos con harina de yuca nativa, se requiere hacer modificaciones al proceso y/o materias primas; en consecuencia, el objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades mecánicas tensión y flexión, densidad y color (L*, a* y b*) en materiales biocompuestos elaborados con harina de yuca gelatinizada incorporando fibra de fique en la matriz termoplástica.

MÉTODO

Los bioplásticos fueron elaborados con harina gelatinizada de yuca con un contenido de humedad de 11 $\pm$ 0,5% (base húmeda), fibra de fique con humedad de 10% (base húmeda) molida y tamizada (tamaño $\leq$ 250 μm), y plastificante (glicerol USP Disan, Colombia). La harina fue obtenida de la molienda de trozos secos de raíces de yuca de la variedad MPER 183 cultivada en la zona norte del Departamento del Cauca (Colombia). La fibra fue extraída de las hojas de fique (*Furcraea* sp.) y adquirida en la Cooperativa Agropecuaria de Paniquitá Ltda. (Cauca, Colombia), posteriormente se redujo su tamaño en un molino de martillos/cuchillas (Penagos, TP8) y fue tamizada en un tamizador eléctrico vibratorio.

Preparación de las muestras

La gelatinización del almidón se realizó a partir de dispersiones acuosas de harina de yuca (30% p/p), en un baño termostatado a 75°C durante 20 min. Posteriormente, la fibra y glicerol fueron incorporados a la mezcla hasta obtener una masa moldeable con un contenido de humedad del 40 $\pm$ 1%, la cual fue termo-comprimida durante 5 min bajo las condiciones descritas en el cuadro 1, en una prensa neumática (Plasmega, Colombia). Estas condiciones fueron empleadas para elaborar los bioplásticos y evaluar sus propiedades mecánicas, color y densidad.

Evaluación mecánica

Las propiedades de flexión se evaluaron bajo las especificaciones de la norma ASTM D790 [12]. Se determinó el esfuerzo en la rotura ($\sigma\Phi$) y el modulo elástico (EF) en muestras previamente acondicionadas durante diez días a 23 $\pm$ 1ºC y 50 $\pm$ 1% de humedad relativa (HR). Se evaluaron 7 muestras por tratamiento.

Las propiedades de tensión fueron evaluadas de acuerdo a la norma ASTM D638 [13]. Se determinó el esfuerzo en la rotura (σT) y el modulo elástico (ET) en muestras tipo I, previamente acondicionadas durante diez días a 23 $\pm$ 1ºC y 50 $\pm$ 1% de HR. Se evaluaron 7 muestras por tratamiento.

Para la evaluación de las pruebas de tensión y flexión se utilizó un texturómetro (Shimadzu, EZ Test L, Japón), equipado con una celda de carga de 500 N.

Densidad

La densidad fue calculada como la relación entre el peso y el volumen medida a 23 ± 1ºC, en muestras de 2 cm de largo, 2 cm de ancho y 3 mm de espesor. El peso fue obtenido con balanza analítica Ohaus (PA214C,USA) y el volumen midiendo las dimensiones con calibrador digital (Control Company, 3415, USA). Los valores reportados corresponden al promedio de 10 mediciones de cada tratamiento.

Color

El color de los bioplásticos fue determinado usando un colorímetro (CM-600d, Konica Minolta Optics Inc., Japón). Se obtuvieron coordenadas de color CIEL*a*b* (L*, a*, y b*) empleando como referencia el iluminante D65 con observador de 10°. El rango de los parámetros de color fue L*= 0 (negro) hasta 100 (blanco), a*= -60 (verde) hasta +60 (rojo), y b*= -60 (azul) hasta +60 (amarillo). Los valores reportados corresponden al promedio de cinco mediciones en cada tratamiento. Las mediciones se realizaron en las muestras obtenidas en la prueba de flexión.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se empleó un diseño experimental factorial con dos factores y tres niveles por factor (Cuadro 1), con un total de nueve tratamientos (Cuadro 2). Los resultados de las variables de respuesta de tensión, flexión, densidad y color, fueron analizados con el programa SPSS versión 20, mediante análisis de varianza (nivel de confianza del 95%) debido a que los datos obtenidos se ajustaron a una distribución normal. Posteriormente se usó la prueba de *Tukey* para la comparación de medias, teniendo en cuenta que se presentaron varianzas homogéneas.

Cuadro 1. Diseño experimental.

Factores	Niveles	Variables de Respuesta
T (°C)	180	Propiedades de flexión Propiedades de tensión Color Densidad
	190	
	200	
Presión (psi)	0	
	20	
	40	

Cuadro 2. Codificación de los experimentos.

Tratamiento	Temperatura (°C)	Presión (psi)
A	180	0
B	180	20
C	180	40
D	190	0
E	190	20
F	190	40
G	200	0
H	200	20
I	200	40

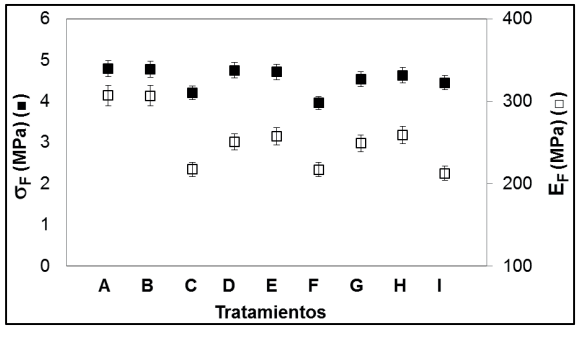
RESULTADOS

Propiedades mecánicas

La figura 1 representa el comportamiento del esfuerzo de rotura y módulo elástico de flexión y la figura 2 muestra los valores de esfuerzo de rotura y modulo elástico de tensión. El análisis de varianza estableció que la temperatura, presión e interacción entre ambos factores influenciaron significativamente ($p<0,05$) todos los valores de las propiedades mecánicas evaluadas. Asimismo, la presión tuvo mayor efecto que la temperatura en los valores de σ_F, E_F, σ_T, y E_T. Todos los tratamientos fueron significativamente diferentes en las cuatro propiedades ($p<0,05$), siendo "A" el de mayor valor en las propiedades de flexión con 4,7 MPa (σ_F), y 307,1 MPa (E_F) y "D" en tensión con 1,85 MPa (σ_T), y 515,8 MPa ($E_{T)}$.

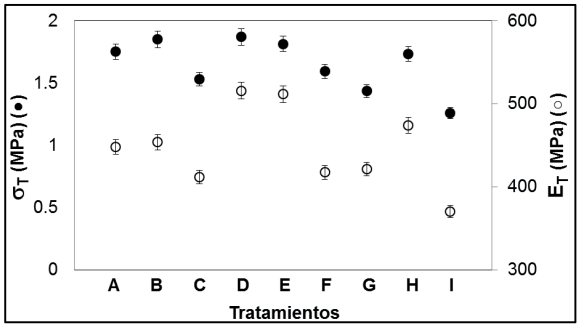
Puede notarse una tendencia a la disminución en los valores de σF y EF, con el incremento simultaneo en la temperatura y presión de compresión. Este comportamiento generalizado para flexión y tensión (comparando los tratamientos de 180 y 200°C), se relaciona posiblemente con un cambio estructural de la matriz

Figura 1. Propiedades de flexión.



Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (40-48) Julio - Diciembre 2014

Figura 2. Propiedades de tensión.



termoplástica ocasionado por la acción combinada de calor y alta presión a la que fue sometida en la termo-compresión, en donde posiblemente se generaron aglomerados de amilosa/amilopectina con fracciones proteicas y de fibra desnaturalizadas por la acción de las temperaturas cercanas a 200°C. Estas aglomeraciones, desfavorecen la plastificación uniforme del biopolímero, ya que concentran la capacidad de resistencia mecánica en algunos puntos del material, debilitando las zonas restantes, ocasionando que su respuesta ante los esfuerzos mecánicos disminuya.

Al respecto, algunos investigadores han argumentado que las técnicas de procesamiento que involucran calor y presión, generan modificaciones en la estructura del material, como disociación de las macromoléculas poliméricas, pero a la vez, pueden formarse acumulaciones en puntos específicos de la matriz termo-plastificada, que no favorecen su desempeño mecánico. En este sentido, se ha reportado que en materiales extruidos de almidón, las altas temperaturas de procesamiento pueden desnaturalizar las proteínas las cuales forman aglomeraciones con el almidón gelatinizado, minimizando el esfuerzo de tensión [14].

Por su parte, el incremento de la temperatura de moldeo podría ocasionar la degradación en los componentes del material, perjudicando la resistencia mecánica del mismo. De acuerdo con Navia (2011) [15] la degradación del fique evaluada por la técnica de análisis termo gravimétrico inicia entre 190 y 200°C, indicando que es posible la presencia de fracciones degradadas de este componente en las muestras obtenidas a estas temperaturas. Además, la harina de yuca de la variedad estudiada tiene alrededor del 3% de proteína [15], la cual es sensible a la desnaturalización y degradación por las altas temperaturas de procesamiento [16]. Este fenómeno, también ha sido reportado por Jansens *et al*., (2013) [17], quienes manifestaron una disminución en el esfuerzo de flexión por causa de la degradación de la fracción proteica en bioplásticos obtenidos por termo-compresión a 170°C a partir de gluten de trigo.

De otro lado, en la evaluación de tensión se presentó un fenómeno contrario al anteriormente discutido, en donde los tratamientos a 190°C presentaron respuestas más altas con respecto a los elaborados a 180°C, principalmente para los valores de E_T. La comparación de medias de *Tukey*, estableció un comportamiento equivalente en los valores de E_T para los tratamientos "D" y "E", que fueron los más altos respecto a esta propiedad. De acuerdo con Mohammadi *et al*., (2013) [18] el aumento de la temperatura de moldeo favorece la plastificación homogénea del material, promoviendo la formación de enlaces almidón-plastificante, y consecuentemente la plastificación del polímero, razón por la cual los tratamientos D y E, tienen valores más altos en E_T.

Los tratamientos "A", "B", "D" y "E" fueron agrupados por *Tukey* como similares para los valores más altos de σ_F y σ_T, y para E_F fueron "A" y "B". De esta manera, puede afirmarse que la presión de 40 psi y la temperatura de 200°C no beneficiaron las propiedades mecánicas de los bioplásticos evaluados en este estudio.

El comportamiento mecánico (σ_F, σ_T, y E_T) de los materiales de este estudio fue superior a los bioplásticos obtenidos por Navia *et al*., (2011) [11]. Estos investigadores reportaron valores de 3,5 MPa (σ_F), 1,8 MPa (σ_T), y 366,7 MPa (E_T) en muestras fabricadas con harina de yuca variedad MPER 183, glicerol y polvillo de fique por termo-compresión. Este comportamiento puede ser atribuido al uso de harina gelatinizada previo al procesamiento del bioplástico por la técnica de termo-compresión, la cual, favorece la adherencia de los componentes en el material, potenciando su resistencia ante los esfuerzos mecánicos ejercidos. Luo *et al.*, (2012) argumentan que el uso del almidón gelatinizado promueve la adhesión interfacial entre los componentes de la matriz termoplástica favoreciendo sus propiedades funcionales [19].

En otros estudios, se han reportado valores en propiedades mecánicas similares a los encontrados en esta investigación, tal es el caso de bioplásticos basados en almidón de yuca con alcohol polivinílico (PVOH) y aceites esenciales elaborados por termo-compresión con s_T de 6 MPa [20]; materiales espumados obtenidos por extrusión de almidón de papa reforzados con

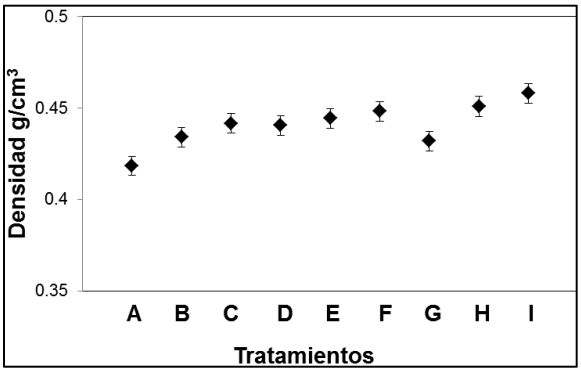
fibra de coco cuyo s_T <1 MPa [21], y bioplásticos elaborados por termo-compresión a partir de harina de yuca incorporando arcilla como componente reforzante con valores de s_T de 1,2 MPa [22]. Por su parte, Moreira *et al*., (2012) [23] reportaron valores de s_T entre 0,8 y 5,2 MPa y de E_T entre 7,7 y 202,7 MPa en muestras obtenidas por compresión en caliente, a partir de almidón de maíz y pectina.

Densidad

Los valores bajos de densidad son una característica deseada en los bioplásticos obtenidos en este estudio, debido a la disminución de costos al utilizar menor cantidad de material [24], por otro lado, el producto tendría menor peso favoreciendo sus condiciones de comercialización. El menor valor obtenido para este parámetro físico fue 0,41 g/cm^3 en el tratamiento "A". El análisis de varianza estableció que la temperatura, presión e interacción entre ambos factores influenciaron significativamente ($p<0,05$) la densidad de los bioplásticos evaluados, siendo la presión el factor de mayor efecto versus la temperatura. Igualmente, se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p<0,05$) y la prueba de comparación de medias de *Tukey* los agrupó en tres subconjuntos (A); (B hasta G) y (H, I).

En la figura 3, puede notarse que el incremento en la presión como factor de mayor influencia, aumentó los valores de densidad de las muestras. Este fenómeno, obedece a que los valores altos de presión en el proceso de compresión obstaculizan la salida del vapor de agua desde el interior de la muestra, y consecuentemente, se limita la formación de poros y espacios intersticiales en la estructura del bioplástico, los cuales promueven la expansión de la estructura del material,

Figura 3. Densidad de los bioplásticos.



por lo tanto, el aumento en la presión de compresión no favoreció la densidad del bioplástico.

Por su parte, la incidencia de la temperatura sobre la densidad, posiblemente obedece a que la salida del vapor de agua ocurre más rápido, dado que a mayor temperatura la energía cinética de las moléculas aumenta, formando así espacios vacíos más reducidos, reflejándose en un aumento de la densidad.

Otros estudios han reportado valores de densidad, en materiales espumados obtenidos por termo-compresión a partir de almidón y fibras de caña de azúcar entre 0,19 y 0,29 g/cm^3 [25], en bandejas biodegradables obtenidas por termo-compresión a partir de almidón, reforzadas con fibras de celulosa entre 0,45 y 0,68 g/cm^3 [26], bandejas termo-comprimidas obtenidas a partir de almidón de yuca, quitosano y fibras naturales con valores entre 0,12 y 0,15 g/cm^3 [27] y bandejas fabricadas a partir de almidón de yuca, con proteína de maíz, soya y trigo y fibras de kenaf, obtenidas por termo-compresión entre 0,2 y 0,8 g/cm^3 [24].

Si bien, la densidad de los bioplásticos es similar a las reportadas en otros materiales obtenidos de forma similar, ésta, es aún muy alta comparada con la del poliestireno expandido que está entre 0,05 y 0,09 g/cm^3 [24], que es el polímero sintético fósil objetivo de sustitución con los materiales obtenidos en este estudio, por lo tanto, podría considerarse como alternativa incorporar agentes de expansión durante el procesamiento, que favorezcan la disminución de la densidad de los bioplásticos.

Color

Los parámetros de color evaluados se presentan en el cuadro 3. El análisis de varianza estableció que la temperatura, presión e interacción entre ambos factores influenciaron significativamente ($p<0,05$) los valores de L* de los bioplásticos, siendo la temperatura el factor de mayor efecto versus la presión. Sin embargo, solo el factor temperatura presento efecto significativo ($p<0,05$) sobre a* y b*. Asimismo, se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos para el parámetro L* ($p<0,05$), mientras que a* y b* no presentaron diferencias ($p>0,05$). La prueba de comparación de medias de *Tukey* agrupo los tratamientos en tres subconjuntos para L*: (A); (B hasta F) y (G hasta I).

La luminosidad (L*) de las muestras fue positivamente influenciada por la más baja presión y temperatura eva-

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (40-48) Julio - Diciembre 2014

Cuadro 3. Parámetros de color (L*, a* y b*).

Tratamiento	L*	a*	b*
A	69,211	7,411	27,652
B	67,518	7,746	27,511
C	66,087	7,751	27,267
D	67,759	7,634	26,940
E	66,469	7,748	26,873
F	66,011	7,714	26,574
G	65,376	7,690	26,674
H	64,833	7,723	26,241
I	64,859	7,752	26,324

luadas, ya que a menor temperatura y presión el valor de L* fue más alto, significando que los bioplásticos obtenidos con el tratamiento A fueron los que presentaron mayor claridad frente a los demás tratamientos.

Aunque los valores de a* y b*, no fueron estadísticamente diferentes, puede apreciarse una leve variación entre ellos (cuadro 3). En a*, los valores son más altos en los tratamientos con mayor temperatura y presión, inversamente, los tratamientos con menor temperatura y presión evidenciaron valores más altos en b*. Estos resultados, pueden relacionarse con el efecto independiente de la temperatura que se evidenció en el análisis de varianza, y también corresponden a lo evidenciado por L*, indicando que las muestras más rojizas y con mayor tendencia a presentar color azul corresponden a las más oscuras, es decir, las obtenidas con 200ºC y 40 psi.

Teniendo en cuenta que el mercado objetivo para los bioplásticos estudiados corresponde a menaje para contener y/o empacar alimentos, se considera que las muestras elaboradas a 180ºC y 0 psi, son las más apropiadas, dado que bajo estas condiciones, los parámetros L*, a* y b* indicaron que las muestras obtenidas fueron las de color más claro. En este sentido, Fama *et al*., (2009) [28] evaluaron muestras de almidón de yuca plastificadas con glicerol y reforzadas con salvado de trigo y argumentaron que el oscurecimiento de los bioplásticos utilizados en coberturas o empaques de alimentos no es favorable.

Resultados similares se han presentado en bioplásticos amiláceos obtenidos por termo-compresión [29] donde los valores de L* oscilaron entre 63,9 y 73,5, y b* entre 13,6 y 24,8. Kaisangsri *et al*., (2012) [27], reportaron valores de L* entre 67,9 y 70,5, en bandejas fabricadas con almidón de yuca, quitosano y fibras naturales moldeadas por compresión.

CONCLUSIONES

Los bioplásticos obtenidos por termo-compresión bajo las condiciones de 180ºC, y 0 psi presentaron los mayores valores de σ_F y E_F mientras que, el tratamiento de 190ºC y 0 psi, evidenció el mayor valor de s_T y E_T. La presión de 40 psi y la temperatura de 200ºC son condiciones de moldeo que no favorecieron el comportamiento mecánico de los bioplásticos elaborados con harina de yuca gelatinizada.

Los valores de densidad incrementaron con el aumento de presión y temperatura. Los bioplásticos con menor densidad fueron obtenidos a 180ºC y 0 psi. De la misma forma, estos últimos presentaron valores más altos del parámetro L*, indicando que son los de color más claro, con respecto a los demás.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección de Investigaciones de la Universidad San Buenaventura Cali y al grupo de investigación CYTBIA de la Universidad del Cauca.

REFERENCIAS

[1] PRAKASH, J., SIVAKUMAR, V., THIRUGNANASAMBANDHAM, K., and SRIDHAR, R. Degradation behavior of biocomposites based on cassava starch buried under indoor soil conditions. Carbohydrate Polymers 101(1), 2014, p. 20-28.

[2] ILES, A., and MARTIN, A. Expanding bioplastics production: sustainable business innovation in the chemical industry. Journal of Cleaner Production 45(1), 2013, p. 38-49.

[3] SOROUDI, A., and JAKUBOWICZ, I. Recycling of bioplastics, their blends and biocomposites: A review. European Polymer Journal 49(10), 2013, p. 2839-2858.

[4] REDDY, M., VIVEKANANDHAN, S., MISRA, M., BHATIA, S., and MOHANTY, A. Biobased plastics and bionanocomposites: Current status and future opportunities. Progress in Polymer Science, 38(10-11), 2013, p. 165-1689.

[5] XIE, F., POLLET, E., HALLEY, P., and AVÉROUS, L. Starch-based nano-biocomposites. Progress in Polymer Science 38(10-11), 2013, p. 1590-1628.

[6] SEYMOUR, R., and CARRAHER Jr, C. Introducción a la química de los polímeros. 2 ed. Barcelona (España): Reverté S.A., 2002, 716 p.

[7] SOYKEABKAEW, N., LAOSAT, N., NGAOKLA, A., YODSUWAN, N., and TUNKASIRI, T. Reinforcing potential of micro and nano-sized □bers in the starch-based biocomposites. Composites Science and Technology, 72(7), 2012, p. 845-852.

[8] FARUK, O., BLEDZKI, A., FINK, H., and SAIN, M. Biocomposites reinforced with natural fibers: 2000–2010. Progress in Polymer Science, 37(11), 2012, p. 1552- 1596.

[9] HIDALGO, M., MINA, J., and HERRERA, P. The effect of interfacial adhesion on the creep behavior of LDPE–Al–Fique composite materials. Composites: Part B, 55(1), 2013, p. 345-351.

[10] VILLADA, H., NAVIA, D., and CASTAÑEDA, J. Biodegradable packaging obtained from cassava flour and fique fiber and their manufacture process. WO 2013042094 A1, Clases C08L3/02, B65D65/46, B29C43/02, C08J5/04. Popayán (Colombia): 2013.

[11] NAVIA, D., VILLADA, H., y AYALA, A. Evaluación mecánica de bioplásticos semirrígidos elaborados con harina de yuca. Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial, Ed especial No. 2, 2013, p. 77-84.

[12] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM D790: Standard Test Methods for Flexural Properties of Unreinforced and Reinforced Plastics and Electrical Insulating Materials. Pennsylvania (United States): 2010, 11 p.

[13] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM D638: Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics. Pennsylvania (United States): 2010, 16 p.

[14] GONZÁLEZ, J., PARTAL, P., GARCÍA, M., and GALLEGOS, C. Effect of processing on the viscoelastic, tensile and optical properties of albumen/starch-based bioplastics. Carbohydrate Polymers, 84(1), 2011, p. 308-315.

[15] NAVIA D. Desarrollo de un material para empaques de alimentos a partir de harina de yuca y fibra de fique [Tesis de maestría Ingeniería en Alimentos]. Cali (Colombia): Universidad del Valle, 2011, 127 p.

[16] CIANNAMEA, E., STEFANI, P., and RUSECKAITE, R. Physical and mechanical properties of compression molded and solution casting soybean protein concentrate based films. Food Hydrocolloids, 38(1), 2014, p. 193-204.

[17] JANSENS, K., HONG, N., TELEN, L., BRIJS, K., LAGRAIN, B., VAN VUURE, A., VAN ACKER, K., VERPOEST, I., VAN PUYVELDE, P., GODERIS, B., SMET, M., and DELCOUR, J. Effect of molding conditions and moisture content on the mechanical properties of compression molded glassy, wheat gluten bioplastics. Industrial Crops and Products, 44(1), 2013, p. 480-487.

[18] MOHAMMADI, A., MORADPOUR, M., SAEIDI, M, and KARIM, A. Thermoplastic starches: Properties, challenges, and prospects. Starch/Starke, 65(1-2), 2013, p. 61-72.

[19] LUO, X., LI, J., and LIN, X. Effect of gelatinization and additives on morphology and thermal behavior of corn starch/PVA blend □lms. Carbohydrate Polymers, 90(4), 2012, p. 1595-1600.

[20] DEBIAGI, F., KOBAYASHI, R., NAKAZATO, G., PANAGIO, L., and MALI, S. Biodegradable active packaging based on cassava bagasse, polyvinyl alcohol and essential oils. Industrial Crops and Products, 52(1), 2014, p. 664–670.

[21] AGUILAR, E., ZAZUETA, J., JIMÉNEZ, O. and MARTÍNEZ, F. Mechanical and structural properties of expanded extrudates produced from blends of native starches and natural fibers of henequen and coconut. Starch – Stärke, 59(11), 2007, p. 533-542.

[22] KAEWTATIP, K., and TANRATTANAKUI, V. Structure and properties of pregelatinized cassava starch/kaolin composites. Materials and Design, 37(1), 2012, p. 423-428.

[23] MOREIRA, F., MARCONCINI , J., and MATTOSO, L. Analysis of the influence of composition and processing parameters on the mechanical properties of biodegradable starch/pectin blends. Polymer Bulletin, 69 (5), 2012, p. 561-577.

[24] KAISANGSRI, N., KERDCHOECHUEN, O. and LAOHAKUNJIT, N. Characterization of cassava starch based foam blended with plant proteins, kraft □ber, and palm oil. Carbohydrate Polymers, Article in Press, 2014, 29 p.

[25] VERCELHEZE, A, FAKHOURI, F., DALL-ANTÔNIA, L., URBANO, A., YOUSSEF, E., YAMASHITA, F., and MALI, S. Properties of baked foams based on cassava starch, sugarcane bagasse □bers and montmorillonite. Carbohydrate Polymers, 87(2), 2012, p. 1302-1310.

[26] SALGADO, P., SCHMIDT, V., MOLINA, S., MAURI, A., and LAURINDO, J. Biodegradable foams based on cassava starch, sunflower proteins and cellulose fibers obtained by a baking process. Journal of Food Engineering, 85(3), 2008, p. 435-443.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (40-48) Julio - Diciembre 2014

[27] KAISANGSRI, N., KERDCHOECHUEN, O. and LAOHAKUNJIT, N. Biodegradable foam tray from cassava starch blended with natural fiber and chitosan. Industrial Crops and Products, 37(1), 2012, p. 542– 546

[28] FAMÁ, L., GERSCHENSON, L., and GOYANES, S. Starch vegetable fibre composites to protect food products. Carbohydrate Polymers, 75(2), 2009, p. 230-235.

[29] POLAT, S., USLU, M., AYGÜNB, A., and CERTEL, M. The effects of the addition of corn husk □bre, kaolin and beeswax on cross-linked corn starch foam. Journal of Food Engineering, 116(2), 2013, p. 267-276.

EVALUACIÓN in vitro DE LA ACCIÓN DE *Lactobacillus plantarum* CON CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS SOBRE *Yersinia pseudotuberculosis*

EVALUATION in vitro OF THE ACTION OF *Lactobacillus plantarum* WITH PROBIOTIC CHARACTERISTICS ON *Yersinia pseudotuberculosis*

AVALIAÇÃO in vitro DA AÇÃO DE *Lactobacillus plantarum* COM CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS SOB *Yersinia pseudotuberculosis*

Henry Jurado-Gámez[1,3], Javier Andrés Martínez B.[2,3],
Aura Magdalena Chaspuengal T.[3], Fredy Yesid Calpa Y.[3]

RESUMEN

Con el objetivo comprobar el potencial probiótico de Lactobacillus plantarum sobre una de las enfermedades más frecuente en cuyes (Cavia porcellus) causada por Yersinia pseudotuberculosis, se efectuaron pruebas de inhibición y comparación frente a antibióticos, mostrando resultados favorables, al inhibir a la bacteria patógena. Se valoró por HPLC los posibles péptidos producidos por L. plantarum, evidenciándose la presencia de dos péptidos. Se realizaron pruebas de selección de la bacteria láctica la cual mostró el siguiente perfil: catalasa negativa, no productora de gas, resistente a sales biliares (0,5%, 1%, 2% y 3%), pH (2,5, 3,5 y 7,6)

Recibido para evaluación: 31 de enero de 2014. **Aprobado para publicación:** 30 mayo de 2014

1 Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Departamento de Producción y Procesamiento Animal, Programa de Zootecnia. Ph.D en Ingeniería de Alimentos. Pasto, Colombia.
2 Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Departamento de Producción y Procesamiento Animal, Programa de Zootecnia. Magister en Ciencias en Industria Pecuaria. Pasto, Colombia.
3 Grupo de Investigación en Procesos Biotecnológicos Aplicados a la Producción Animal - Fisiología y Etología Animal (PROBIOTEC-FISE). Zootecnista. Pasto, Colombia.

Correspondencia: henryjugam@gmail.com.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (49-59) Julio - Diciembre 2014

y temperatura de 38 a 45°C. Además, se determinó las características de la cinética de fermentación, utilizando dos medios, donde se evaluó UFC/mL, pH, consumo de azúcares totales (mg/L) y producción de ácido láctico (%); Lactobacillus plantarum alcanzó la fase exponencial de crecimiento en los medios MRS y Pro, a las 12 y 14:24 horas, con valores de 7,0x10^{11} UFC/mL y 5,0x1013 UFC/mL, respectivamente. Se aplicó un diseño de bloqueas al azar con dos tratamientos y once bloques, el resultado permitió determinar que no existe diferencias estadísticas significativas (P>0,05) entre los medios propuestos, pero si entre las horas de evaluación (P<0,05).

ABSTRACT

With the objective to check the potential probiotic of Lactobacillus plantarum on one of themost frequent diseases in guinea pig (Cavia porcellus) caused by Yersinia pseudotuberculosis, tests were conducted of inhibition and comparisonin front of antibiotics, showing favorable results, the inhibitt othe pathogenic bacterium. It valued by HPLC the possible peptides produced by L. plantarum, characterizing an presence of two peptides. Tests were performed for the selection of lactic bacteria which showed the following profile: catalase-negative, not producer of gas, resistant to bile salts (0, 5%, 1%, 2% and 3%), pH (2,5, 3,5 and 7,6) and temperature of 38 at 45°C. Also determined the characteristics of the kinetics of fermentation, using two mediums, where it is evaluated CFU/mL, pH, consumption of total sugars (mg/L) and production of lactic acid (%); Lactobacillus plantarum reached the exponential phase of growth in the mediums MRS and Pro, at the 12 and 14:24 hours, with values of 7,0x10^{11} UFC/mL and 5,0x10^{13} UFC/mL, respectively. A design of blocks was applied at random with two treatments and eleven blocks, the result allowed to determine that it doesn't exist significant statistical differences (P>0,05) between the proposed means, but if between the hours of evaluation (P <0,05).

PALABRAS CLAVE:
Probióticos, Bacteria patógena, Inhibición, Bacteria láctica, Cinética de fermentación.

KEYWORDS:
Probiotics, Bacteria pathogen, Inhibition, Lactic bacteria, Kinetics of fermentation.

PALAVRAS-CHAVE:
Probióticos, Bacteria patógeno, Inibição, Bactérias lácticas, Cinética de fermentação.

RESUMO

Com o objetivo comprovar o potential probiótico de Lactobacillus plantarumsobre uma das doenças mais freqüentes em cuyes (Cavia porcellus) causada por Yersinia pseudotuberculosis, efectuaram-se testes de inibição e comparação em frente a antibióticos, mostrando resultados favoráveis, ao inhibir à bactéria patogénica. Valorizou-se por HPLC os possíveis péptidos produzidos por L. plantarum, evidenciándose a presença de duas péptidos. Realizaram-se testes de seleção dabactérias láctica a qual mostrou o seguinte perfil: catalase negativo, não produtor de gás, resistente a sais biliares (0,5%, 1%, 2% e 3%), pH (2,5, 3,5 e 7,6) e temperatura de 38 a 45°C. Além disso, determinaram-se as características da cinética de fermentação, utilizando dois meios, onde se avaliou UFC/mL, pH, consumo de açúcares totais (mg/L) e produção de ácido láctico (%); Lactobacillus plantarum alcançaram a fase exponencial de crescimento nos meios MRS e Pro, às 12:00 e 14:24 horas, com valores de 7,0x10^{11} UFC/mL e 5,0x10^{13} UFC/mL, respectivamente. Aplicou-se um desenho de blocos ao acaso com dois tratamentos e onze blocos, o resultado permitiu determinar

que não exista diferenças estatísticas significativas (P>0,05) entre os meios propostos, mas se entre as horas de avaliação (P <0,05).

INTRODUCTION

At present, the use of probiotics takes importance to be considered as the cultivation of one or more living microorganisms, that to be supplied in the diet have an influence on the microflora already established, producing a positive effect very marked on the health and development of the host [1]. The benefits of the probióticos are multiple, between them is outlined the production of antibacterial substances that improve the defense against the invasion of other microorganisms; and they help to populate the intestinal flora that can turn altered by the administration of antibiotics [2], being considered therefore with therapeutic effects or preventive in the guest [3].

The use of bacteria of the kind *Lactobacillus* specially the species *L. plantarum*, has been used widely *in vivo* and *in vitro,* demonstrating his antimicrobial capacity against different bacteria gram positive and gram negative like *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Salmonella tiphymurium, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*, between others [4,5,6]; is capable of tolerating low pH and bile salts, has antagonistic activity against pathogenic intestinal such as the enterobacterias [7], and corresponds to the microorganisms GRAS, that is to say Generally Recognized As Safe [8]. These properties turn it into a promissory probiotic as food additive and therapeutic.

The main infectious agent within guinea pigs productions in the department of Nariño is *Yersinia pseudotuberculosis,* which causes mortalities between 7 and 60% of the population and almost 20% morbidity, causing great economic losses [9]. In the actuality do not report neither is offered by the biological commercial houses for the control of this illness [10], by which formulate medicines of other species without knowing his action or residual effects that can generate.

Therefore the objective of this research was to evaluate the action *in vitro* of *Lactobacillus plantarum* with probiotic characteristics on *Yersinia pseudotuberculosis*, as an alternative to control yersiniosis in guinea pigs.

METHOD

Study site

The present investigation realized in the Laboratory of Sciences Pecuarias of Zootecnia, section of Microbiology, of the University of Nariño, Pasto, Nariño, Colombia.

Microorganism's employees

Were used two strains of collection, the probiotic strain *Lactobacillus plantarum* ATCC® 8014 and pathogenic *Yersinia pseudotuberculosis* NCTC 8580. Both strains were reactivated in accordance to the instructions of the manufacturer.

Cultivation of the inoculum of *Lactobacillus plantarum*. Inoculum is a hoe of strain in an Erlenmeyer flask containing 40 mL of sterile commercial MRS broth, was incubated at 37°C/24 hours. Then there was a chime of 4 mL of the same to other 40 mL of MRS broth and was incubated in the above mentioned conditions. According to Crueger and Crueger [11], the percentage of inoculum must be adjusted to 10% v/v, to start the fermentation and one must calculate the number of bacteria per mL. When presented greater population of the established sterile broth was added taking into account the following mathematical calculation of proportionality according to Guerrero quoted by Montes *et al.* [12].

Is the value of X_1

M_1 ------M_2

M_2--------- X_1

$$X_1 = \frac{M_2 * V_1}{M_1}$$

It is then V_2

$V_2 = V_1 - X1$

Finally gets the value of X_2

V_1 ------V_2

V_3--------- X_2

$$X_2 = \frac{V_3 * V_2}{V_1}$$

M_1= population or cell density that must be adjusted.

M_2= 1,50 x 10^8 bact/mL. Density used for the first fermentation.

V_1= 1 mL from the inoculum volume total to obtain the dilution 10^{-1}.

V_2= what is added to 1 mL to adjust to 1,50 x 10^8 bact/mL.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (49-59) Julio - Diciembre 2014

V_3 = 100 mL total quantity of inoculums.X_2 = amount of sterile commercial MRS broth that is added to V_3 for the population to adjust the value of M_2.

Inhibition tests and compared against pathogens to antibiotics

Test of *in vitro* inhibition of *Lactobacillus plantarum* against *Yersinia pseudotuberculosis*. The test was conducted using the technique of agar diffusion, was taken of agar discs impregnated with the lactic bacteria in different quantities and placed into the previously Mueller Hinton agar impregnated with the pathogenic bacteria; planted the petri dishes were incubated at 32°C/18 hours, after this time you proceeded to carry out the reading of halos formed. The critical size of the halo to determine if there is inhibition was considered to be equal or superior to 2 mm [13].

Inhibitory test for supernatants (bacteriocins). Was centrifuged 1,5 mL sample of the culture the lactic bacteria to 4°C/15 minutes and 1000 rpm, the supernatant was filtered in membrane of 0,45 μm. The bactericidal activity was assessed using two modified methods of diffusion: discs and plastic cylinders, on Mueller Hinton agar inoculated with the pathogenic strain. By the method with discs, was added 50 μl, 75 μl and 100 μl of the bacteriocin in discs of filter paper of 8mm diameter pre-sterilized for 15 minutes at 121°C and 15 psi. Later on the surface of the agar were placed the discs in the bacteriocin in study, the petri dishes were incubated at 35°C/18 hours. In the method with cylinders, used sterile tips cut from 8mm in diameter, which were placed in the petri dishes and on which is added the different amounts of the supernatant and carried to incubation time and described above. The inhibition was determined by the halo produced around sensidisco and cylinder; was measured distance from the end discs and the edge of cylinder halo.

Antimicrobial susceptibility testing of antibiotics against *Yersinia pseudotuberculosis* and *Lactobacillus plantarum.* Through the Kirby Bauer method was compared the inhibitory action of eight commercial antibiotics (Gentamicin Cn 10 μg, Penicillin GP 10 IU, Ciprofloxacin Cip 5 μg, Dicloxacillin Dcx 1 μg, Cefepime Fep 30 μg, Cephalotin Kf 30 μg, Enrofloxacin Enr 5 μg and Trimethoprim sulfamethoxasole Cot 25 μg) against the pathogen and the lactic bacteria. The inhibition was determined by the diameter of the halo occurred around the sensidiscos after 18 hours of growth in the middle where grew the pathogenic bacteria.

Identification of peptides from the supernatant by HPLC-DAD. The sample was prepared as follows: strain grown in MRS broth at 32°C/24 hours, then was adjusted spectrophotometric ally to an optical density of 0,125 at a 0,5 Mc Farland scale equivalent to a concentration of 1,5x 10^8 bacteria/mL; samples were transferred to eppendorf tubes and centrifuged to 4°C/30 minutes and 18.000 rpm; the supernatant was filtered using a 0,2 micron PVDF membrane and was read [14]. The analysis conditions were: Equipment: HPLC Waters Binary Pump 1525. Column: C18 300A. Detector: PDA 2998-214 and 280 nm, Scan (200-350nm). Injector: Rheodyne Loop of 20 μL. Composition: A (water: TFA 0.1%) B (water: acetonitrile: TFA, 0.1%).

Viability study versus concentration of bile salts. Using the method of Cai *et al* [15] and Cai *et al.* [16]. The strain was incubated in medium Pro during 48 hours testing concentrations of 0,5%, 1%, 2% and 3% of bile salts w/v, and was subsequently made the plate count.

Gas production. Following the methodology of Cai *et al.* [16], using MRS broth with 5% glucose and placing Durham tubes to verify the presence of gas.

Catalase activity. Using hydrogen peroxide over a colony of lactic bacteria [17].

Viability at different concentrations of pH. According to the methodology of Cai *et al.* [16], with pH 2,5, 3,5 and 7,6 .

Resistance to different temperature levels. According to the methodology of Cai *et al.* [15], at temperatures of 38 and 45°C.

Kinetics of fermentation

Two proposed culture media, commercial media MRS and Pro formulated from white sugar (10g/L), soy milk (15 g/L), milk powder (150 g/L) and wheat bran (15 g/L) [18]. The kinetics was performed in an Erlenmeyer flask with 600 mL of the medium and the probiotic bacteria set to an initial concentration of 1,50 x 10^8 bact/mL (540 mL of the medium and 60 mL of inoculum) carried to continuing unrest in incubator shaker at 100 rpm and 32°C.The variables evaluated during the kinetics were: production of biomass by counting of viable microorganisms in plate (CFU/mL), sugar consumption total by the anthrone method to 625 nm, determination of pH measured with pHmetro digital

and production of lactic acid by titration with sodium hydroxide 0,1 N. Sampling was carried out in duplicate from time zero and subsequently each 2:24 hours for 24 hours for a total of 11 times in order to determine the parameters of fermentation.

Experimental design

For counting of viable microorganisms in plaque CFU/mL obtained during fermentation kinetics adopted a randomized block design (DBA) given the number of data used, the means were considered as the two treatments and assessment hours corresponded to the blocks (11 times), the behavior was assessed from time 0 (zero hour), up to 11 time (24 hours), considered two replicas for each medium, and time.

The data obtained were analyzed S.A.S. Version 9.1.3 2007 and were subjected to analysis of variance ANOVA and Tukey's test of significance to compare changes that are statistically significant (P less than 0,05) [19].

Mathematical model for randomized block design

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} = score of subject *i* under the experimental condition or treatment *j.*

μ = the overall mean of all the experimental data.

α_i = effect of treatment i that is common to all individuals receiving this treatment.

β_j = effect of block j that is common to all treatments that were applied in that block.

ε_{ij} = the residual or random error (within).

To analyze pH, total sugar consumption (mg/L) % lactic acid and result of kinetic analysis was applied to each variable regression compared to CFU / mL formed. The mathematical model used was as follows:

$y = \beta_0 + \beta_1 x + \varepsilon$,

y = Dependent variable .

β_0 = Intercepted the origin.

β_1 = Slope of the line.

x = Independent variable.

ε = Error.

RESULTS

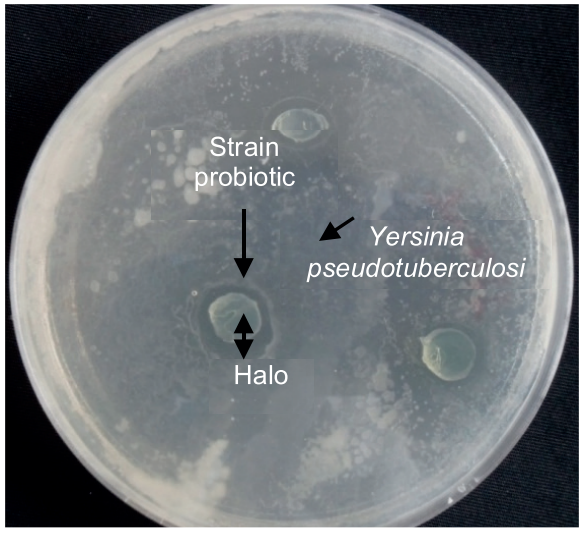
In testing the inhibitory action, *L. plantarum* presented inhibition against *Y. pseudotuberculosis,* the form of halos 2 and 4 mm to a quantity of 25 μl, 100 μl and 50 μl respectively (figure 1). Measures of greater magnitude (>8 mm) were reported using BAL against to *Yersinia enterocolitica* [20]. While other authors using *L. casei,* reported equal ranges for the inhibition against *Y. pseudotuberculosis* [21].

The employment of the supernatant using the two proposed methods revealed that a quantity of 75 μl and 100 μl if inhibition was presented in front of *Y. pseudotuberculosis*, the form of halos 2 and 3 mm, respectively these antibiotics, since these will inhibit its antimicrobial effect (figure 2).

These results indicate that very possibly this action is due to the bacteriocins [22]. However, must not be overlooked that there are several types of compounds that produce lactic acid bacteria and that exert inhibitory action [23], it is recommended to carry out tests of molecular identification to check what types of substances are acting.

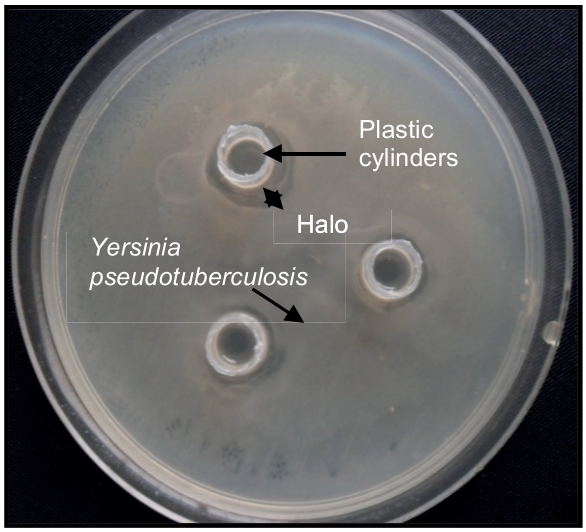
Test the antimicrobial susceptibility of antibiotics against pathogenic bacteria (table 1), indicates that *Y.*

Figure 1. Inhibitory action of *Lactobacillus plantarum* against *Yersinia pseudotuberculosis.*



Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (49-59) Julio - Diciembre 2014

Figure 2. Inhibition halos of supernatant with plastic cylinders of *L. plantarum* against *Y. pseudotuberculosis.*



pseudotuberculosis showed resistance to Kf 30 μg, Fep 30 μg, Dcx 1 μg and G P 10 IU; sensitivity to Cip 5 μg, CN 10 μg, Enr 5 μg and Cot 25μg, being the last two antibiotics most commonly used by the producers of guinea pigs as curative and preventive measure against yersiniosis, although they are not drugs themselves for the species cuyícola. For its part, the lactic bacteria revealed only resistance to G P 10 IU, and sensitivity to other antibiotics, these values suggest that *L. plantarum* could not.

Table 1. Testing of antibiotics against *Y pseudotuberculosis* and *Lactobacillus plantarum.*

	Diameter of inhibition zone in mm			
Antibiótics	**Y. p NCTC 8580**	**S.I**	**L. p NTCC 8014**	**S.I**
KF 30 μg	12	- [24]	51	+[24]
FEP 30 μg	11	- [24, 25]	35	+ [24]
CIP 5 μg	30	+ [24, 25]	33	+[24, 25]
DCX 1 μg	9	- [24]	29	-[25]
Enr 5 μg	30	+ [24]	34	+[24]
CN 10 μg	23	+ [24, 25]	28	+[24, 25]
G P 10 IU	0	- [24]	24	-[25]
COT25μg	17	+ [24, 25]	30	+[24, 25]

Y.p: *Yersinia pseudotuberculosis,* ***L.p***: *Lactobacillus plantarum ATCC8014,* **S.I** Sensitivity level (+ Sensitive –Resistant)

According to the UV spectra taken at 214 and 280 nm the sample revealed the presence of peptides (figure 3), which according to characteristics of chromatographic separation by RP-HPLC of the peptides are hydrophilic character. In the sample, the peak No 9 (tr = 12,1 min), has a similar time to the peak No. 2 retaining calibration standard, therefore possibly the peptide of the present sample an amino acid chain comprising TIR-VAL-VAL (MW = 379,5). The UV spectra show similar absorption maximum lengths. The No. 3 standard peak, which corresponds to peptide methionine enkephalin acetate composition (TIR-GLI-GLI-FA-MET) M6638 (MW = 573,7 for free base) has a similar retention time to peak sample 12. The maximum absorbance of the spectra show very close lengths absorption maximum (figure 4).

The result of the test of gas production to *L. plantarum* was negative, and this is a favorable property that must comply with the lactic acid bacteria used in animal feed, in order to prevent the animal manifest problems of bloat and in severe cases the death of the same.

The strain probiotic manifested a negative catalase activity by the absence of gas, general feature of the genus *Lactobacillus,* since species composition is strict or facultative anaerobic lacking this enzyme [6].

In the test at different pH values of 2,5, 3,5 and 7,6 is a high viability at time t0 (time 1), T1 (time 2) and T2 (time 3), introducing similar results of $3{,}0x10^{12}$, $5{,}1x10^{8}$ y $1{,}2x10^{11}$ UFC/mL, indicating that if the lactic bacteria is fed to guinea pigs, up to three hours, maintain a high viability, exercising its probiotic effects against the pathogenic bacteria. Also, the values found are of great importance, in so far as they enable know if strain probiotics to use is capable of surviving a pH values slightly acidic and basic, such as that found in the duodenum of the guinea pig, which reaches a value of 7,6.

L. plantarum showed that different concentrations of bile salts do not have a significant impact for its growth, noting that at concentrations of 2 and 3% in dilutions of 10^{9} and 10^{10} were found counts of $1{,}1x10^{11}$, $1{,}62x10^{12}$ and $2{,}26x10^{11}$ and $1{,}19\ x10^{12}$ CFU/mL. This is an important characteristic, because the resistance to bile salts is a critical condition inside the evaluation of stumps probiotics [26].

Figure 3. Peptides representing different wavelengths (280 nm black, blue 214 nm).

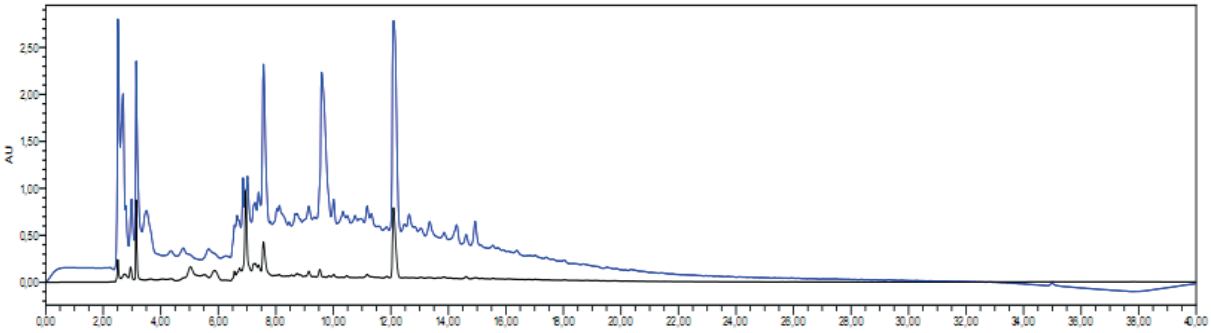
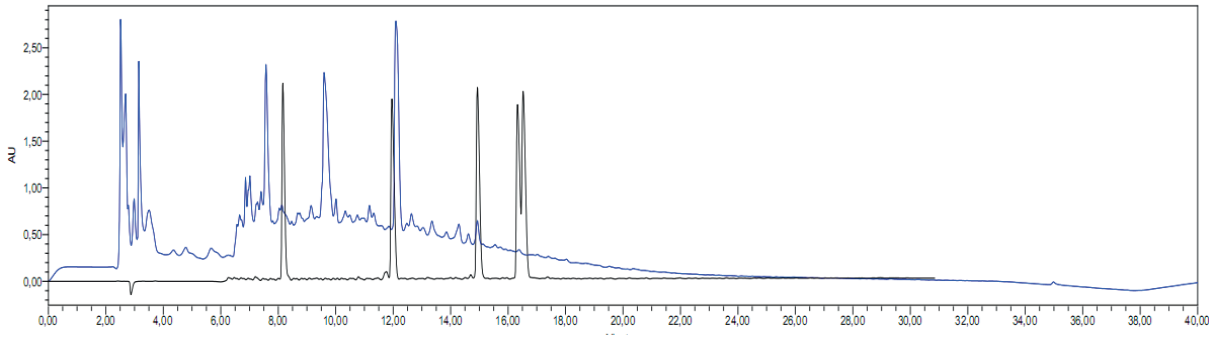


Figure 5. Chromatogram of the sample at 214 nm (blue) and the calibration standard peptide (black)



In the test of temperature to 38°C the lactic bacteria indicated a growth of 1,25x10^{8}, 1,0x10^{8}, 1,4x10^{9}, 3,4x10^{10} and 8,6x10^{11} CFU/mL. At 45°C there was a growth of 7,2x107, 1,6x10^{8}, 4x10^{8}, 1,48x10^{11} and 3x10^{10} CFU/mL. It can be inferred that in addition to the optimum temperature for growth (32°C) *L. plantarum* can be developed at higher temperatures as to 38 and 45°C.

Kinetics of fermentation

In figure 5 shows that *L. plantarum* in the media MRS and Pro reaches the exponential phase of growth, at 12 and 2:24 hours of kinetics with a values 7x10^{11} CFU/mL and 5x10^{13} CFU/mL, respectively. The values obtained coincide with those of other authors where *L. plantarum* obtained the maximum growth at 12 hours with values of 3,0x10^{12} CFU/mL and 2,0x10^{12} CFU/mL and 9,6x10^{11} CFU/mL and 8,2x10^{11} CFU/mL [18]. The statistical analysis reported no significant differences between the treatments ($P>0,05$) but if between the blocks ($P<0,05$) the above enables us to conclude that the only effect that produces a significant change in the CFU/mL are the hours of evaluation more not the effect that produces the environment where it is cultivated the lactic bacteria. The evolution of the pH in the MRS medium and Pro submitted values of 6,87 and 6,78 respectively at 12 and 2:24 hours initiated the kinetics (figure 6). Values of 6,41, 6,13 is reported for *L. plantarum* isolated from feces of children, in medium with milk [6]. It should be noted that although most generally develop *Lactobacillus* pH below 5, there are some that can grow LAB from pH 3,2 to 9,6 [27]. Regression analysis showed values of B_1, -0,63 in the MRS medium and B_1, -0,14 in the Pro medium, which means that for every unit of CFU/mL that increases, the pH decreases in -0,36 and -0,14 units of pH in each medium.

The total sugar for *L. plantarum* in MRS medium and Pro (figure 7) presented values of 13,76 mg/L and 37,66 mg/L respectively at 12 and 2:24 hours made the kinetics. The evidence as *L. plantarum* more efficiently utilizes the substrate in the medium Pro, consumption reflected in higher biomass production at the end of the exponential growth phase. These results may be due to the sufficient concentration of nutrients from the raw materials used in the preparation of the probiotic medium. The regression analysis showed values of B_1 -0,56 for the MRS medium and B_1 -1,16 for

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (49-59) Julio - Diciembre 2014

Figure 6. CFU/mL of the probiotic strain grown in the media MRS and Pro for 24 hours.

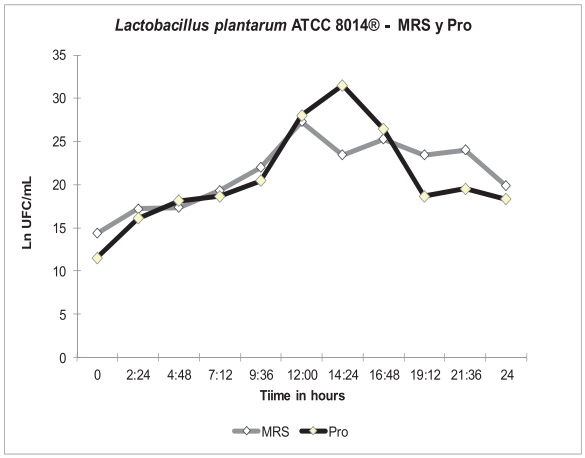
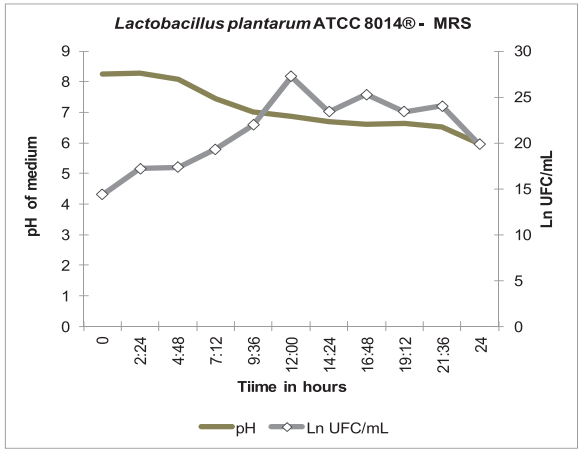


Figure 7. pH of MRS and Pro medium and CFU/mL of the probiotic strain cultivated for 24 hours.



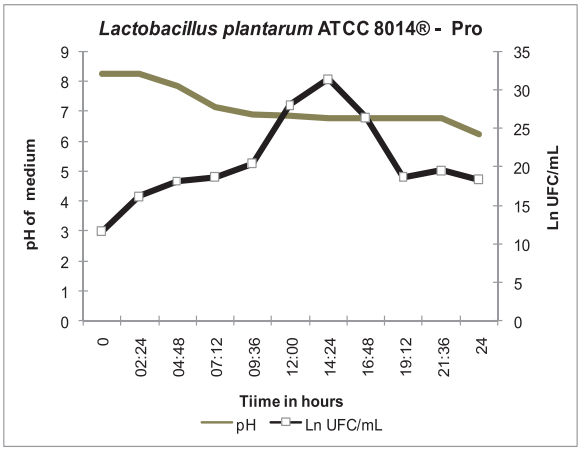
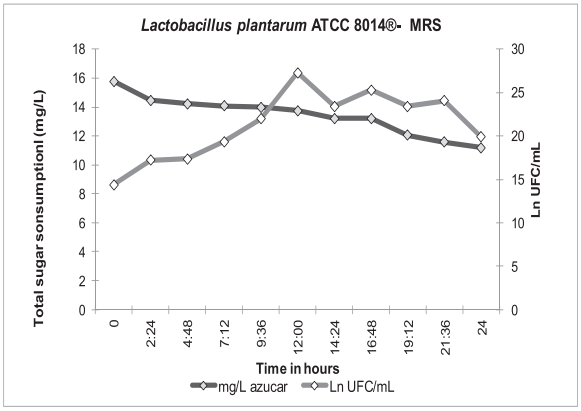
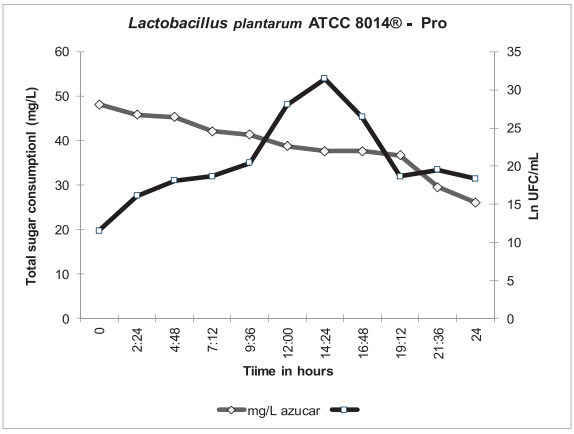


Figure 8. Total sugar consumption (mg/L) and growth CFU/mL medium MRS and Pro.



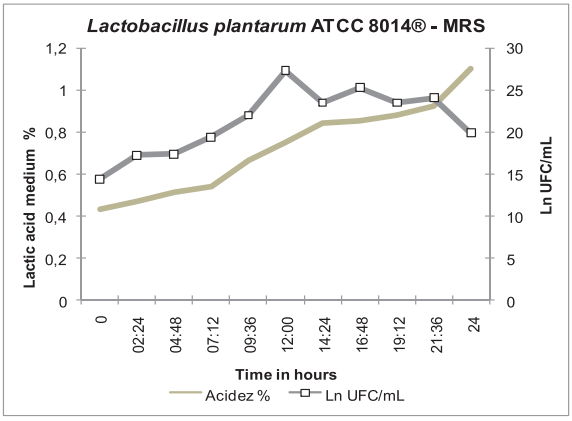


the medium Pro, which indicates that on average 0,56 mg/L and 1,16 mg/L consumed by each increase of one unit of CFU/mL in each medium.

The values obtained for the production of lactic acid in the MRS medium and Pro at 12 and 2:24 hours presented a value of 0,75% and 0,7% respectively (figure 8). In this way, the production of lactic acid by *L. plantarum* is an important factor, taking into account that its production decreases the pH creating unfavorable conditions for the growth of the pathogenic bacteria, which has the capacity to grow in ranges from 4 to 10 [28,29]. The regression analysis indicated that the percentage of lactic acid is increased more in the MRS medium that has a value of 0,086 %, for every increase in a unit of CFU/mL, compared with the medium Pro that for every increase in a unit of CFU/mL, the acidity increases by 0,037 %.

According to the data obtained during the kinetics (table 2), it was found that both media (MRS and Pro) are found to be suitable for the development of seeds, to

Figure 9. Acidity (%) of MRS and Pro medium and CFU/mL of strain probiotic cultivated for 24 hours.



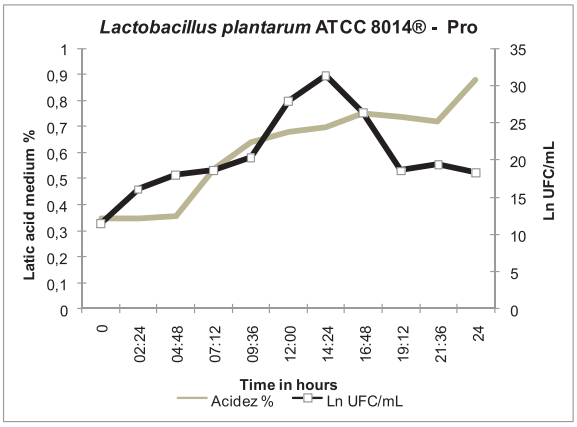


Table 2. Kinetic data of bacterial growth of *Lactobacillus plantarum* in two culture media.

Lactobacillus plantarum	Medium	
	MRS	Pro
Phase latency (lat)	0	0
Specific growth rate (μ h^{-1})	2,3079	3,073
End log phase(h)	12:00	14:24
Doubling time (min)	18,02	13,53
Increase cel. Total	4E+08	9E+07
Increase cel. End log phase	7E+11	5E+13
% Total sugars consumed	29,19	45,86
% Sugars consumed so log phase	16,33	21,88
R2	0,907	0,923

achieve a specific growth rate of 2,307 and 3,073 μ h^{-1}, values that favor a proper training of biomass at the end of the logarithmic phase. Although it should be noted that the medium Pro offers greater advantages with regard to MRS medium, highlighting a lower cellular duplication time which is reflected in having reached a higher formation of CFU/mL in the logarithmic phase, as well as production costs that are much more economical in the east that the commercial Pro.

CONCLUSIONS

The results of the tests of inhibition propose to *L. plantarum* as a strain with great potential probiotic, capable of acting against *Yersinia pseudotuberculosis,* and propose as a valuable alternative and safe in the replacement or supplementation of the antibiotic action in future investigations *in vivo*. Likewise the viability assays compared to bile salt concentration and pH, gas production, the catalase activity and resistance to different levels of temperature, corroborated his potential probiotic. The determination of the characteristics of the kinetic (pH, acidity, sugar consumption, growth medium, time), made it possible to verify and optimize the best conditions for the growth of probiotic bacteria, results that will ensure the increased production of biomass to be used in the elaboration of inoculants probiotics.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the Vicerretoria Investigation, Postgraduate and International Relations and the staff of the Specialized Laboratories and Microbiology of the University of Nariño.

REFERENCES

[1] JURADO, H., AGUIRRE, D. y RAMÍREZ, C. Caracterización de bacterias probióticas aisladas del intestino grueso de cerdos como alternativa al uso de antibióticos. Revista MVZ Córdoba, 14(2), 2009, p. 1723-1735.

[2] MARÍN, Z., CORTÉS, M. y MONTOYA, O. Evaluación de la viabilidad de crecimiento de la cepa nativa *Lactobacillus plantarum* LPBM10 y la cepa comercial *Lactobacillus casei* ATCC 393 en pulpa de uchuva y en solución isotónica de glucosa. Revista VITAE, 16(2), 2009, p. 210-217.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (49-59) Julio - Diciembre 2014

[3] MENNICKENT, S. y GREEN, K. Los probióticos y su utilidad terapéutica. Ciencia Ahora, 24(12), 2009, 32 p.

[4] ATASSI, F. and SERVIN, AL. Individual and co-operative roles of lactic acid and hydrogen peroxide in the killing activity of enteric strain *Lactobacillus johnsonii* NCC933 and vaginal strain *Lactobacillus gasseri* KS120.1 against enteric, uropathogenic and vaginosis-associated pathogens. FEMS Microbiology Letters, 304, 2010, p. 29-38.

[5] ZAPATA, S., MUÑOZ, J., RUIZ, O., MONTOYA, O. y GUTIERREZ, P. Aislamiento de *Lactobacillus plantarum* LPBM10 y caracterización parcial de su bacteriocina. Revista Facultad de Química Farmacéutica, 16(1), 2009, p. 75-82.

[6] RODRÍGUEZ, M. Aislamiento y selección de cepas del genero *Lactobacillus* con capacidad probiótica e inmunomuladora [Tesis Doctoral]. Barcelona (España): Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Biociencies, 2009, 197 p.

[7] DOBSON, A., COTTER, P., ROSS, R. and HILLB, C. Bacteriocin Production: a Probiotic Trait? Applied Environment Microbiology, 2012, 78, p. 1-6.

[8] JURADO, H., RAMÍREZ, C. y MARTÍNEZ, J. Evaluación *in vivo* de *Lactobacillus plantarum* como alternativa al uso de antibióticos en lechones. Revista MVZ Córdoba, 14(Supl), 2013, p. 3648-3657.

[9] PATIÑO, R., JARAMILLO, A. y RODRIGUEZ J.L. Caracterización molecular de cepas de *Yersinia pseudotuberculosis* aisladas de lesiones en *Cavia porcellus* (Cuyes) del departamento de Nariño y su relación epidemiológica con la presentación de *Yersiniosis*. Pasto (Colombia): 2007, 74 p.

[10] AMAYA, M. y CALLE, L. Avances en la producción de una vacuna viva contra *Yersinia pseudotuberculosis* y evaluación de su efectividad mediante un ensayo de infección experimental en *Cavia porcellus* [Tesis Médico Veterinario]. Bogotá (Colombia): Universidad de la Salle, Facultad de Medicina Veterinaria, 2008, 65 p.

[11] CRUEGER, W. y CRUEGER, A. Biotecnología: Manual de Microbiología Industrial. Traducido por Paloma Liras Padín. 3 ed. Madrid (España): Acribia, 1993, 413 p.

[12] MONTES, A., SANTACRUZ, A. y SAÑUDO, J. Efecto *in vitro* de *Lactobacillus casei subsp. rhamnosus* sobre el crecimiento de un aislado de *Helicobacter pylori* [Tesis Biólogo]. Pasto (Colombia): Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, 2003, 85 p.

[13] ESTRADA, A., GUTIÉRREZ, L. y MONTOYA, O. Evaluación *in vitro* del efecto bactericida de cepas nativas de *Lactobacillus sp.* contra *Salmonella sp.* Y *Escherichia coli*. Revista Facultad Nacional Agropecuaria Medellín, 58(1), 2005, p. 2601-2609.

[14] HIGUERA, B. Estudio por HPLC de la acción de dos elicitores bióticos sobre la producción in vitro de metabolitos secundarios en células de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.). Revista Colombiana de química, 29(1), 2000, p. 9-17.

[15] CAI, Y., BENNO, Y., NAKASSE, T. and OH, T.K. Specific probiotic characterization of Weissella hellenica DS-12 isolated from flounder intestine. Journal of General Applied Microbiology, 4(4), 1998, p. 311-316.

[16] CAI, Y., SUYANANDANA, P., SAMAN, P. and BENNO, Y. Classification and characterization of lactic acid bacteria isolated from the intestines of common carp and freshwater prawns. Journal of General Applied Microbiology, 45, 1999, p. 177-184.

[17] DAHL, T., MIDDEN, R. and HARTMAN, P. Comparation of Killing of Gram-negative and Gram-positive Bacteria by Pure Singlet Oxygen. Journal of Bacteriology, 171(4), 1989, 5 p.

[18] JURADO, H. Evaluación de bacterias ácido-lácticas con características probióticas en la alimentación de lechones en fase de precebo como alternativa al uso de antibióticos [Tesis Doctorado Ingeniería de Alimentos]. Cali (Colombia): Universidad del Valle, Escuela de Ingeniería de Alimentos, 2010, 94 p.

[19] SOLARTE, C., GARCIA, H. e IMUES, M. Bioestadística: Aplicaciones en producción y salud animal. Pasto (Nariño): Universidad de Nariño, 2009, 304 p.

[20] PALOMINO-CAMARGO, C. y TOMÉ-BOSCHIAN, E. Biopreservación de productos pesqueros por Bacterias ácido lácticas (BAL). Vitae, 19(1), 2012, p. 108-110.

[21] CALPA, F. y CHASPUENGAL, A. Evaluación *in vitro* de *Lactobacillus casei* con características probióticas sobre *Yersinia pseudotuberculosis*. [Tesis de Zootecnista]. Pasto (Colombia): Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, 2013, 107 p.

[22] RUIZ, F. Bacteriocinas para la estabilización microbiológica y reducción de la dosis de SO_2. Villafranca del Penedés (España): Simposio Internacional de Microbiología y Seguridad Alimentaria del Vino “Microsafetywine”, 2007, 13 p.

[23] MONROY, M.*C*., CASTRO, T., FERNENDEZ, F.J. y MAYORGA, L. Revisión bibliográfica: Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. Contáctos, 73, 2009, p. 63-72.
[24] CLINICAL AND LABORATORY STANDARD INSTITUTE. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty - First Information Supplement, 31(1), 2011, 172 p.
[25] EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 2.0, validfrom [online]. 2012. Disponible: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/Breakpoint_table_v_2.0_120221.pdf. [Citado 2 octubre de 2013].
[26] BOLADO-MARTÍNEZ, E., ***PÉREZ-MORALES, R.*** and ACEDO-FÉLIX, E. An alternative method for evaluation of resistance to Low ph and bile salts in probiotic characterization of *lactobacillus reuteri* strains. A technical note. Revista Científica, FCV-LUZ, XIX(1), 2009, p. 93–96.
[27] RAMÍREZ C. Uso de bactérias lácticas probióticas na alimentação de camarões Litopenaeus vannamei como inibidoras de microrganismos patogênicos e estimulantes do sistema imune [Tese de doutorado Proccessos Biotecnologicos]. Curitiba (Brasil): Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, 2005, 173 p.
[28] AYAD, E., NASHAT, S., EL-SADEK, N., METWALY, H. and EL-SODA, M. Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological Criteria. Food Microbiology, 21(21), 2004, p. 715- 725.
[29] JIMÉNEZ, S. Identificación de proteínas de secreción con capacidad inmunogénica de aislamientos de *Yersinia pseudotuberculosis* provenientes de planteles cuyícolas del departamento de Nariño [Tesis Magíster en Ciencias Biológicas]. Bogotá (Colombia): Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, 2011, 123 p.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (60-70) Julio - Diciembre 2014

FIBRAS DE FIQUE UNA ALTERNATIVA PARA EL REFORZAMIENTO DE PLÁSTICOS. INFLUENCIA DE LA MODIFICACIÓN SUPERFICIAL

FIQUE FIBER AN ALTERNATIVE FOR REINFORCED PLASTICS. INFLUENCE OF SURFACE MODIFICATION

FIBRAS DE FIQUE UMA ALTERNATIVA PARA REFORÇAR MATERIAIS PLÁSTICOS. INFLUÊNCIA DA MODIFICAÇÃO SUPERFICIAL

MARIO FERNANDO MUÑOZ-VELEZ[1], MIGUEL ANGEL HIDALGO-SALAZA R. [2] ,
JOSE HERMINSUL MINA-HERNANDEZ[3]

RESUMEN

En este trabajo se estudian las propiedades fisicoquímicas, mecánicas y térmicas de fibras naturales de fique, susceptibles de ser usadas como refuerzo de matrices poliméricas. Las fibras fueron sometidas a modificaciones superficiales a partir de tratamientos químicos que convencionalmente son empleados para promover la compatibilidad de las fibras naturales (hidrofílicas) con matrices de naturaleza polimérica (hidrofóbicas). El proceso de modificación superficial de las fibras se llevó a cabo mediante un tratamiento de alcalinización con NaOH, seguido del injerto de un agente de acoplamiento tipo silano y finalmente una preimpregnación con polietileno. Mediante la ejecución de ensayos de FTIR se logró observar los grupos funcionales típicos de las fibras nativas y se corroboró la correcta ejecución de las modificaciones superficiales propuestas; de igual manera, la caracterización térmica por TGA permitió evidenciar la pérdida de hemicelulosa y lignina que fueron removidas con el tratamiento alcalino, y la aparición de una

---

Recibido para evaluación: 12 de junio de 2012. **Aprobado para publicación:** 3 febrero de 2014

1 Universidad del Valle, Escuela de Ingeniería de Materiales, Grupo de Materiales Compuestos (GMC). Cali, Colombia.

2 Universidad Autónoma de Occidente, Departamento de Energética y Mecánica, Grupo en tecnología para la manufactura (GITEM). Cali, Colombia.

3 Universidad del Valle, Grupo de Materiales Compuestos (GMC).Dr. en ingeniería con énfasis en materiales. Cali, Colombia.

Correspondencia: mariof85@hotmail.com

nueva transición debida al polietileno depositado posteriormente con el tratamiento de preimpregnación. Finalmente, se encontró que el tratamiento alcalino condicionó las propiedades mecánicas de las fibras tratadas, siendo despreciable la influencia de la silanización y la preimpregnación en esta caracterización.

ABSTRACT

In this paper are studied the physicochemical, mechanical and thermal properties of the natural fique fibers, that can be used as reinforcement of polymeric matrices. The fibers were subjected to superficial modifications from chemical treatments which are conventionally used to promote the compatibility of natural fibers (hydrophilics) with matrices of polymeric nature (hydrophobics). The superficial modification process of the fibers was carried out by alkalinization treatment with NaOH, followed by grafting of a coupling agent type silane and then a pre-impregnation with polyethylene. By running FTIR tests, it was possible to observe functional typical groups of native fibers and confirmed the proper execution of the superficial modifications proposed; in the same way, the thermal characterization by TGA allowed to demonstrate the loss of hemicellulose and lignin, that were removed with alkaline treatment, and the appearance of a new transition due to the polyethylene deposited subsequently with the pre-impregnate treatment. Finally, it was found that the alkaline treatment conditioned the mechanical properties of the treated fibers, being negligible the influence of silanization and the pre-impregnation in this characterization.

PALABRAS CLAVES:
Fique, Fibras naturales, Tratamientos químicos, Desempeño físico-mecánico, Refuerzo fibroso.

KEYWORDS:
Fique, Natural fibers, Chemical treatments, Physical-mechanical performance, fibrous reinforcement.

RESUMO

Este documento estuda as propriedades físico-químicas, mecânicas e térmicas de fibras naturais de fique, susceptíveis para ser usados como reforço de matrizes poliméricas. As fibras foram sujeitas a modificações superficiais a partir de tratamentos químicos que convencionalmente são utilizados para promover a compatibilidade das fibras naturais (hidrofílicas) com matrizes de natureza poliméricas (hidrofóbicas). O processo de modificação superficial das fibras foi realizado por um tratamento de alcalinização com NaOH, seguido do enxerto de um agente de acoplamento tipo salino, e finalmente, uma pre-impregnação com polietileno. Através da execução dos ensaios de FTIR, foi possível observar os típicos grupos funcionais das fibras nativas e foi corroborada a correta execução das modificações superficiais propostas; também a caracterização térmica por TGA, permitiu evidenciar a perda de hemicelulose e lenhina, que foram removidas com o tratamento alcalino e, o aparecimento de uma nova transição devido ao polietileno depositado subsequentemente com o tratamento de pre-impregnação. Finalmente, foi encontrado que o tratamento alcalino condicionou as propriedades mecânicas das fibras tratadas, sendo insignificante a influência da silanização e, a pré- impregnação presente nesta caracterização.

PALAVRAS-CHAVE:
Fique, Fibras naturais, Tratamento químico, Desempenho físico-mecânico, reforço fibroso.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (60-70) Julio - Diciembre 2014

INTRODUCCIÓN

Las fibras naturales tienen cabida en muchos campos relacionados con la industria de un país, es por esto que en el mundo se ha desarrollado un gran número de investigaciones en las cuales se estudia, entre otras cosas, el potencial de las fibras naturales como refuerzo de materiales compuestos de matriz polimérica [1-6]. Estas investigaciones han demostrado que los materiales son renovables y se encuentran disponibles en abundancia; sin embargo tienen algunos inconvenientes como la incompatibilidad con algunas matrices poliméricas, menor resistencia mecánica que las fibras sintéticas, variación dimensional y alta absorción de humedad. No obstante, defensores de las fibras naturales han resaltado algunas ventajas de sus propiedades frente a las de fibras de mayor uso en compuestos de matriz polimérica, como son las fibras de vidrio. Una de las ventajas más importantes de las fibras naturales frente a las fibras de vidrio, es la neutralidad de dióxido de carbono, debido a que la liberación de este gas es una de las causas principales del efecto invernadero, que genera cambios climáticos en el planeta [7]. El uso de fibras de vidrio en compuestos de matriz polimérica se ha visto desplazado por el de fibras naturales, en aplicaciones de baja exigencia estructural, este es el caso de componentes para automóviles, que actualmente están siendo fabricados con compuestos bioamigables [8]. Otros factores que resaltan las bondades de las fibras naturales son: disponibilidad, baja densidad, facilidad de separación, alta dureza, buena resistencia a la corrosión natural, bajo costo, buenas propiedades térmicas, reducción de la irritación cutánea y respiratoria, menos desgaste de los equipos en el procesamiento, renovación y biodegradabilidad [9].

De acuerdo al tipo de aplicación y a los requerimientos necesarios de un material para el cumplimiento de una función específica, deben ser escogidas las fibras así como debe ser definida su disposición en el material. Sin embargo, en algunos casos es conveniente que las fibras naturales sean modificadas y/o tratadas con el fin de suministrar propiedades a las mismas que por naturaleza carecen, algunas de estas características son: homogenización de las fibras (propiedades físico-mecánicas), grado de polimerización y cristalización, mejoramiento de la adhesión fibra-matriz, impermeabilidad, característica ignifugas, estabilidad térmica [9].

Entre las fibras naturales hay que resaltar el fique, debido a que es la fibra de mayor producción en Colombia, generando un promedio de aproximadamente 11200 empleos anuales directos en más de 17000 Has. distribuidas en diferentes departamentos del país, principalmente en Cauca, Nariño, Santander y Antioquia, departamentos que producen el 98 % de la fibra en el país [10]. Delvasto *et al*. [11], reportaron algunas de las características y propiedades de la fibra de fique (cuadro 1), donde se puede observar la gran variabilidad de diámetros que se pueden obtener en muestras de un mismo lote e incluso a lo largo de la misma fibra, como es usual en las fibras naturales.

Por su parte, Gañan *et al*. [12], realizaron un análisis de las propiedades térmicas de la fibra, por medio de Termogravimétria, en donde observaron que el fique puede soportar hasta aproximadamente 220°C sin degradarse. Los autores reportaron una densidad aparente de 0,870 g/cm^3, siendo un valor importante en términos de las propiedades específicas del material. De igual manera, en cuanto a las propiedades mecánicas, obtuvieron una resistencia a la tracción de 237 MPa, un módulo de elasticidad de 8,010 GPa y una deformación de 6,020% hasta la ruptura. Datos que se asemejan o caben dentro de los intervalos establecidos por Delvasto *et al*. [11].

Debido a la importancia de establecer la relevancia del uso de fibras de fique como refuerzo de una matriz polimérica, y cuantificar el efecto de los tratamientos superficiales que frecuentemente se emplean para mejorar su desempeño en este tipo de matrices, en este trabajo se realizó la caracterización de fibras de fique nativas y con modificaciones superficiales basadas en tratamientos de alcalinización, silanización y preimpregnación. La evaluación de los materiales se llevó a cabo, principalmente, mediante el empleo de la técnica de Espectroscopia de Infrarrojo con Trans-

Cuadro 1. Características de la fibra de fique [11].

Característica	Fique	Media
Diámetro equivalente, (mm)	0,160 – 0,420	0,240
Densidad aparente, (gr/cm^3)	0,720	----
Densidad específica, (gr/cm^3)	1,740	---
Absorción de agua, (%)	60	
Resistencia máxima a la tensión, (MPa)	43 – 571	132,400
Elongación ultima, (%)	9,800	
Módulo de elasticidad	8,200 – 9,100	

formada de Fourier (FTIR), para la determinación de grupos funcionales de las fibras, Análisis Termogravimétrico (TGA), para la estimación de la estabilidad térmica y pruebas de tracción para el estudio del desempeño mecánico del material.

MÉTODO

Materiales

Las fibras de fique usadas, cuentan con una densidad de 1,102 gr/cm^3 y fueron obtenidas de mantas industriales suministradas por la empresa Compañía de empaques de Medellín S.A. Las fibras se modificaron superficialmente con tratamientos de alcalinización usando hidróxido de sodio (NaOH) de Merk, silanización con un silano Tris (2-methoxyethoxy) (vinyl) "A-172" de Sigma Aldrich y pre-impregnación con polietileno de alta densidad.

Tratamientos químicos superficiales realizados a las fibras de fique

Primero las fibras fueron sometidas a un tratamiento de alcalinización, el cual se realizó de manera similar a como lo hicieron Herrera et al. [13] en fibras de henequén. Aquí las fibras de fique fueron sumergidas en una disolución acuosa de hidróxido de sodio (NaOH) al 2% p/v, durante una hora a 25°C, a continuación las fibras fueron lavadas con agua destilada buscando eliminar por completo el NaOH remanente. Finalmente, los filamentos fueron sometidos a un proceso de secado que se llevó a cabo en dos etapas: primero las fibras se secaron a temperatura ambiente durante 12 h, y posteriormente en un horno a 60°C durante 24 h.

Posteriormente, las fibras se injertaron con un agente de acoplamiento tipo silano; donde durante 1 hora fueron inmersas en una disolución agua-metanol, a una relación 50/50 v/v, en la que previamente se dispersaron 1 y 0,500% de silano y peróxido de dicumilo (porcentaje en peso con respecto a la fibra), respectivamente. Se ajustó el pH de la disolución a 3,500 y se agitó durante 30 min. Después se efectuó un decantado y secado de las fibras por un periodo de 24 horas a 60°**C**, para luego ser sometidas a un curado durante dos horas a 120°**C**. Los reactivos usados en la investigación para este tratamiento fueron: el silano Tris (2-methoxyethoxy) (vinyl) "A-172", peróxido de dicumilo, ácido acético, para ajustar el pH del agua desionizada y metanol.

Por último, las fibras de fique previamente modificadas con los tratamientos superficiales anteriores se pre-impregnaron con una disolución de polietileno al 1,500 % p/p en xileno, a una temperatura de 120°C, manteniendo el sistema con una agitación constante a una velocidad de 100 rpm, durante 1 hora. Después de esto, se secaron las fibras a 60°C durante 24 horas. En todos los tratamientos, fue necesario usar una relación de 300 mL de disolución por cada 25 g de fibras de fique modificadas.

Espectroscopia Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR)

Se realizó el ensayo mediante el uso de un Equipo PerkinElmer-Spectrum 100, con un sistema ATR (reflectancia total atenuada). Se ejecutaron 20 barridos a una resolución de 2 cm^{-1}, esta técnica se llevó a cabo en la región de absorción comprendida entre 650 - 4000 cm^{-1}.

Análisis Termo gravimétrico (TGA)

Se estudió el comportamiento térmico de cada uno de los tipos de fibras trabajados; para esto se utilizó un equipo TGA Q500 de TA Instruments, con una atmosfera protectora de nitrógeno, el ensayo se ejecutó a una velocidad de calentamiento de 10°C/min y un intervalo de temperaturas entre 25 y 550°C. El peso promedio de las muestras ensayadas fue de 3 mg aproximadamente.

Caracterización de los parámetros geométricos de las fibras de fique

Se determinó el diámetro aparente y el área de la sección transversal de las fibras antes y después de haber sido sometidas al tratamiento alcalino. Las fibras fueron embebidas en resina epóxica, para luego por medio de un micrótomo obtener cortes de la sección transversal de las fibras a espesores de 30 μm, que luego se observaron y fotografiaron a aumentos de 5X con ayuda de un microscopio óptico PHYSIS modelo M3B. La medición de las áreas se realizó con un software analizador de imágenes (Image Pro-Plus V). Se evaluó una población de 400 fibras. Posteriormente, haciendo uso del área se determinó el diámetro equivalente asumiendo que las fibras tienen una sección transversal geométricamente circular.

Resistencia a la tensión

El desempeño mecánico a tensión de las fibras de fique con los diferentes tratamientos superficiales, se

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (60-70) Julio - Diciembre 2014

evaluó según la norma ASTM D3822-07. Para este ensayo se seleccionó una muestra de 15 fibras de cada uno de los tratamientos, posteriormente se llevaron las muestras a un microscopio óptico PHYSIS modelo M3B para fotografiar a 5X la sección lateral de la fibra; y por medio de un software analizador de imágenes (Image Pro-Plus V 5.1) determinar el diámetro aparente. Finalmente, el ensayo de tensión se realizó en una maquina universal de ensayos marca INSTRON modelo 3366, con mordazas neumáticas especiales para ensayos en fibras y una celda de carga de 100 N. Las fibras fueron evaluadas en función de su longitud, se emplearon 5 longitudes de ensayo (50, 25,400, 19,050, 12,700 y 6,350 mm); la velocidad de desplazamiento de las mordazas durante las pruebas fue igual a (10% de la longitud de ensayo)/ min, de acuerdo al estándar.

Ángulo de contacto

Con el fin de determinar el grado de mojabilidad e hidrofilicidad de las fibras con y sin tratamiento, se midió el ángulo de contacto entre éstas y agua destilada empleada como líquido de referencia. El ensayo se realizó ubicando una pequeña gota del líquido en la superficie de la fibra, luego se tomó una fotografía de la morfología de dicha gota y por medio de un analizador de imágenes (Image Pro-plus) se determinó el ángulo que se formó con las diferentes fibras de fique empleadas en la investigación.

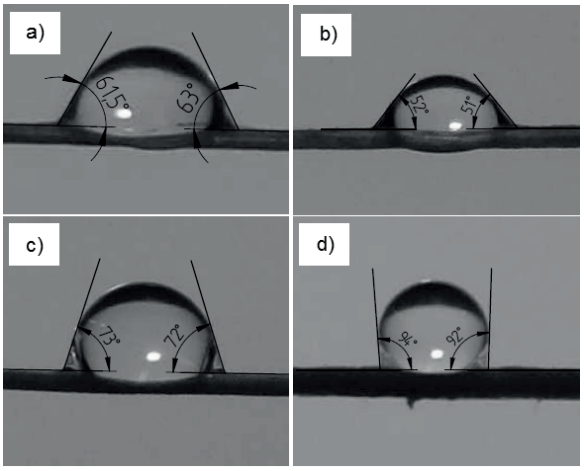
En la figura 1 se presentan imágenes correspondientes al ensayo de determinación de los ángulos de contacto para: (a) las fibras de fique sin tratamiento, (b) las tratadas con NaOH, (c) las modificadas con NaOH + silano y (d) las que contenían todos los tratamientos químicos (NaOH + silano + pre-impregnado).

RESULTADOS

Espectroscopia Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR)

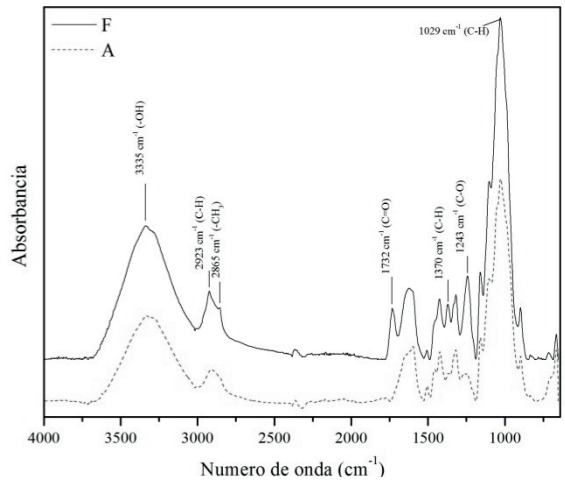
Al realizar el análisis mediante la técnica FTIR sobre las fibras de fique sin tratamiento (F), fue posible observar algunas bandas características de los componentes de las fibras naturales, como lo son las bandas a 3335, 2923, 1029 cm^{-1}; atribuidas a los grupos OH, C-H y aromáticos respectivamente, que se encuentran asociados a la estructura de la celulosa, hemicelulosa y lignina [14].

Figura 1. Ángulo de contacto entre el agua y la superficie de las diferentes fibras evaluadas.



En la figura 2, se muestran los espectros FTIR para las fibras de fique sin tratamiento y previamente tratadas con NaOH. Al comparar los espectros de los dos tipos de fibras se pudo apreciar que al aplicar el tratamiento de alcalinización desaparecen las bandas a 2865, 1370 y 1243 cm^{-1} atribuidas a los enlaces -CH_3, C-H y C-O presentes en la lignina. Lo mismo pasó con la banda a 1732 cm^{-1} que se asocia a la presencia de grupos carbonilo en la fibra, provenientes de la hemicelulosa y las pectinas. Lo anterior reflejó que por lo menos a nivel superficial se generó la remoción de estos componentes en las fibras de fique tratadas con NaOH; resultados similares han sido publicados por otros investigadores en el estudio de tratamientos de alcalinización en fibras naturales [1, 12, 14, 15].

Figura 2. Espectro FTIR de fibra sin tratamiento (F) vs alcalinizada (A).



Los espectros obtenidos para la fibra tipo S (tratada con NaOH + agente de acople tipo silano) y la fibra tipo A (tratada con NaOH), se muestran en la figura 3, aquí se pudo observar que las señales de absorción más significativas en la fibra tipo S se presentaron en la región comprendida entre 650 y 1400 cm^{-1}; donde los picos a 1150, 1102, 700 cm^{-1} y la banda comprendida entre 950-1150 cm^{-1} aumentaron de manera significativa su intensidad, relacionándose esto con la presencia de polisiloxanos (-SI-O-SI-) y enlaces -Si-O-C- que evidenciaron la generación de una reacción entre el silano y las fibras de fique. Por otra parte, nuevas bandas de absorción en la fibra tratada con NaOH y silano (S), fueron apreciadas a 1205 y 1370 cm^{-1}, las cuales corroboraron la existencia de enlaces -SI-O-C- en la fibra, mostrando que efectivamente se dio la reacción de condensación entre el silano y la fibra de fique, posterior a la hidrolisis del agente de acoplamiento [15, 16].

Es importante comentar que la pertinencia de combinar los tratamientos de alcalinización y silanización ha sido validada en investigaciones preliminares [17] donde reportan que al realizar el tratamiento de silanización en una fibra natural con un tratamiento previo con NaOH, se mejora la reacción entre el grupo silicofuncional del silano y la fibra, debido a la remoción de algunos componentes de ésta; facilitando una mayor interacción del silano con los grupos hidroxilo de la celulosa.

Finalmente, se realizó la comparación de los espectros de las fibras de fique tratadas con NaOH + silano (S) y las modificadas con NaOH + silano + Pre-impregnación (P) (figura 4). El espectro infrarrojo de la fibra tipo

Figura 3. Espectro FTIR de fibra alcalinizada (A) vs fibra alcalinizada y silanizada (S).

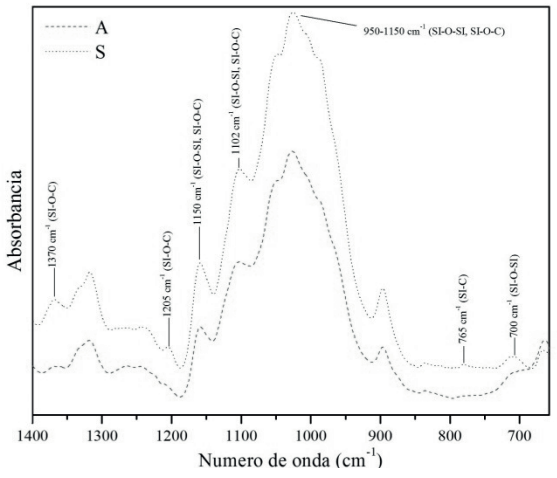
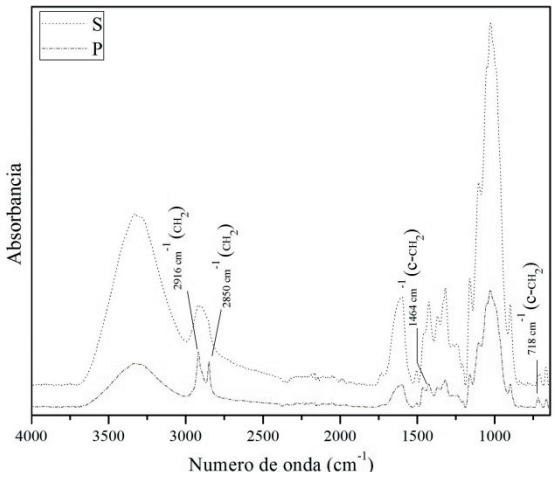


Figura 4. Espectro FTIR de fibra tipo S vs tipo P.



P mostró bandas de absorción bien definidas en 2850 y 2916 cm^{-1}, las cuales no se apreciaron en el espectro de la fibra de fique tipo S. Estas son bandas típicas del polietileno y pertenecen al estiramiento simétrico y asimétrico en tensión de los enlaces metilenicos -CH_2, esto permitió confirmar que efectivamente se alcanzó el recubrimiento superficial de polietileno esperado con el tratamiento de pre-impregnación, tal como se ha reportado en trabajos similares [16, 18, 19].

Por otra parte, las bandas de absorción a 718 y 1464 cm^{-1}, fueron apreciadas en el espectro de la fibra de fique tipo P, las cuales son atribuidas a movimientos asimétricos del grupo C-CH_2. La presencia de estas bandas podría estar confirmando la reacción entre el grupo organofuncional del silano y el polietileno [16].

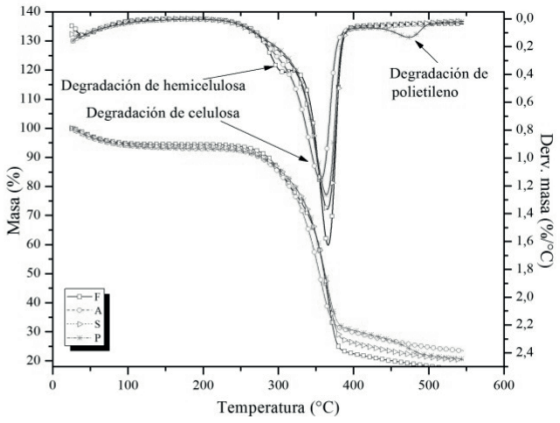
Análisis Termogravimétrico (TGA)

En la figura 5, se muestran los termogramas para los cuatro tipos de fibra (F, A, S y P), donde se observó que se presenta una pérdida de masa entre el 5 y 6 %, para todas las fibras a intervalos de temperatura entre los 23 y 100°C, lo cual fue atribuido a la evaporación de agua absorbida por la fibra debido a su carácter hidrofílico.

El termograma de la fibra de fique sin tratamiento presentaron dos etapas de pérdida de masa adicionales a la evidenciada por la evaporación de agua, una de ellas se dio en el intervalo entre 200-325°C, presentando la mayor rapidez de pérdida de masa a 304,820°C, correspondiendo al 17,890% de la masa total de la muestra de ensayo; esta inflexión en la curva de la fi-

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (60-70) Julio - Diciembre 2014

Figura 5. Termograma TGA para los diferentes tipos de fibras de fique.



bra F, es atribuida a la despolimerización de la hemicelulosa. Lo anterior fue corroborado con el termograma de la fibra modificada con NaOH, donde por medio del tratamiento se retiró hemicelulosa y parte de lignina; en el gráfico de TGA de las fibras con tratamiento de alcalinización previo, no se evidenció está pérdida de masa presente en la fibra F.

Sin embargo, para todas las fibras de fique se apreció una pérdida importante de masa dada en el intervalo de 325 a 400°C, para la fibra sin tratamiento y entre 200 y 400°C para las fibras con tratamiento alcalino previo; correspondiendo esta disminución a la degradación térmica de la celulosa y con ello la descomposición de la fibra. Esta degradación anteriormente comentada, se dio en un porcentaje de 54 y 65% aproximadamente para la fibra F y las fibras A, S y P, respectivamente. El aumento aparente en el contenido de celulosa para las fibras tratadas inicialmente con NaOH, se debió a la eliminación de hemicelulosa y parte de lignina de la fibra, lo que repercutió en el incremento de la proporción celulosa/fibra.

El porcentaje de hemicelulosa, celulosa y lignina fue estimado previamente mediante el método de Van Soest [20], el cual es comúnmente usado para determinar el contenido de estos componentes en fibras naturales. Los resultados obtenidos se muestran en el cuadro 2, donde se puede apreciar que el contenido de hemicelulosa fue similar al porcentaje de masa pérdida en la segunda etapa del termograma para la fibra sin tratamiento; lo cual ratifica que esta pérdida de masa se debe a la degradación de la hemicelulosa.

Por otra parte, el termograma perteneciente a la fibra de fique tipo P, mostró una etapa de pérdida de masa

Cuadro 2. Contenido de componentes de fibra de fique sin tratamiento [21].

Muestra	F	Reportado
Peso, (gr)	1	---
Hemicelulosa, (%)	16,700	---
Celulosa, (%)	68,360	73,800
Lignina, (%)	7,230	11,300
Cenizas, (%)	0,740	0,700

adicional después de la degradación de la celulosa, la cual se presentó alrededor de los 474 °C. Araújo *et al*. [22], exponen que la temperatura de degradación térmica del polietileno se presenta a 476°C; esto conlleva a corroborar que el tratamiento de pre-impregnación con polietileno fue llevado a cabo.

Caracterización de los parámetros geométricos de las fibras de fique

En la figura 6, se puede observar el histograma normal del área de la sección transversal para las fibras sin tratamiento (F) y tratadas con NaOH (A), donde se presentaron valores promedios de 0,036±0,016 y 0,024±0,011 mm², para las fibras tipo F y tipo A respectivamente; las grandes desviaciones estándar son asociadas a las variaciones de la sección transversal a lo largo de la fibra, atribuidas a las diferentes morfologías de los filamentos.

Los valores conseguidos para el diámetro equivalente de las fibras de fique sin tratamiento y previamente tratadas con NaOH, fueron de 0,209±0,050 y 0,171± 0,040 mm respectivamente (figura 7). Estos valores resultaron ser similares a los reportados en diferentes investigaciones [11, 23, 24].

Figura 6. Histogramas de distribución de áreas de la sección transversal de las fibras de fique tipo F y A.

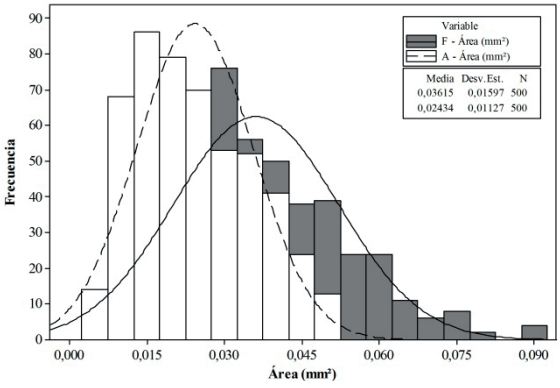
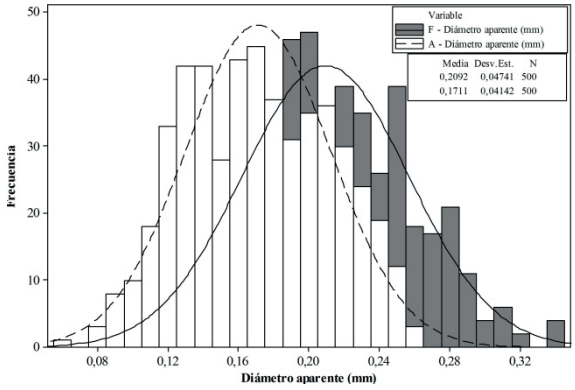


Figura 7. Histogramas de distribución normal del diámetro equivalente de las fibras de fique tipo F y A.



El área de la sección transversal de la fibra tratada con NaOH disminuyó en un 32,670% con respecto al área de la fibra sin tratamiento, mientras que el diámetro equivalente presentó una disminución del 18,160%, lo que confirmó la remoción de sustancias como la hemicelulosa y parte de lignina en las fibras alcalinizadas.

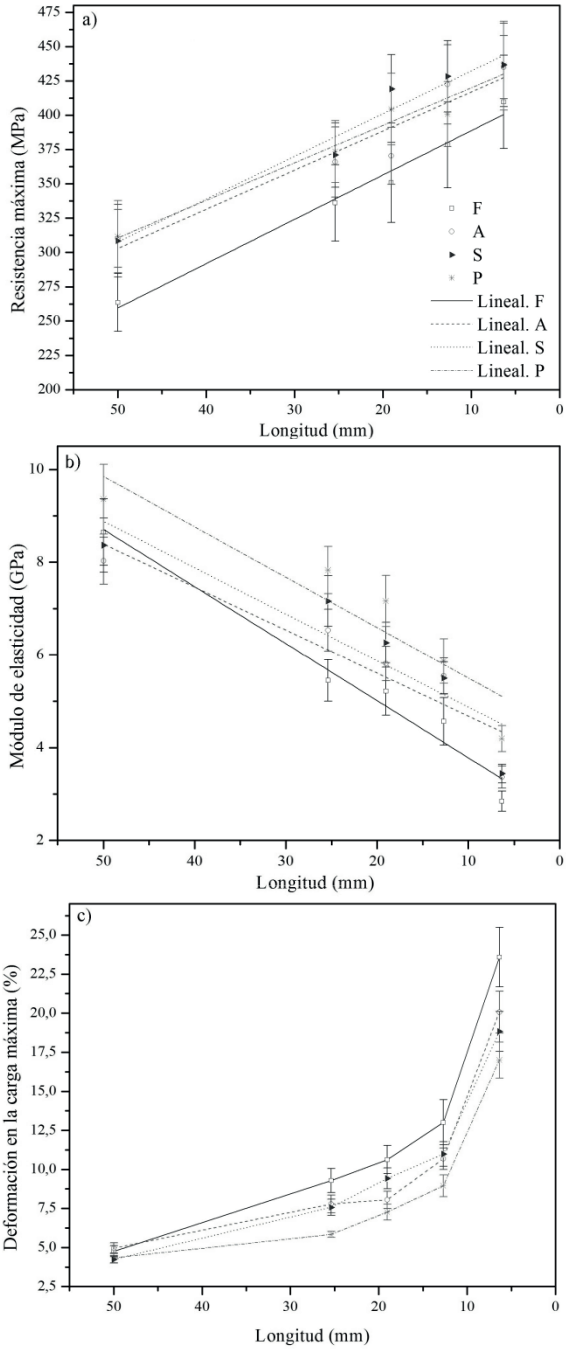
Resistencia a la tensión

En la figura 8 se muestran los resultados obtenidos para la resistencia máxima (a), el módulo de elasticidad (b) y la deformación en la carga máxima (c) a tensión evaluadas a diferentes longitudes de fibras.

Para la fibra de fique sin tratamiento los resultados obtenidos en la resistencia máxima y el módulo de elasticidad, a 50 mm de longitud de ensayo, fueron de 263,550 MPa y 8,640 GPa, respectivamente. Siendo estos valores similares a los reportados por Gañan y Mina [23, 24].

En cuanto a la influencia de los tratamientos superficiales sobre las propiedades a tensión de las fibras naturales, fue posible apreciar un aumento en la resistencia máxima y el módulo de elasticidad en las fibras con un tratamiento de alcalinización previo (A, S y P) (figura 8-a y b), mientras que la capacidad de deformación del material se redujo, con respecto a la fibra sin tratamiento (F) (figura 8-c). Esta aparente rigidización de la fibra de fique después de ser tratada con NaOH, puede ser atribuida a la generación de cambios en la proporción fibra-matriz (considerando la fibra como un compuesto donde las fibrillas de celulosa son el refuerzo de una matriz de hemicelulosa y lignina) del compuesto, asociados a la

Figura 8. Propiedades a tensión de las diferentes fibras de fique en función de la longitud de ensayo.



eliminación de hemicelulosa y parte de lignina. Por otra parte, este cambio en las propiedades a tensión de las fibras naturales generado por el tratamiento alcalino, también se debió a variaciones en la orientación molecular de las cadenas de celulosa, las cuales experimentan una transición del tipo I al

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (60-70) Julio - Diciembre 2014

tipo II como consecuencia del tratamiento efectuado [12, 23, 25]. Así mismo, vale la pena resaltar que los resultados indicaron que no existe una diferencia significativa en las propiedades mecánicas a tensión para todas las fibras que en alguna de sus etapas contaron con un tratamiento con NaOH, sugiriendo esto que la incorporación del agente acoplante y el proceso de pre-impregnación de la fibra no repercute en el desempeño mecánico del material.

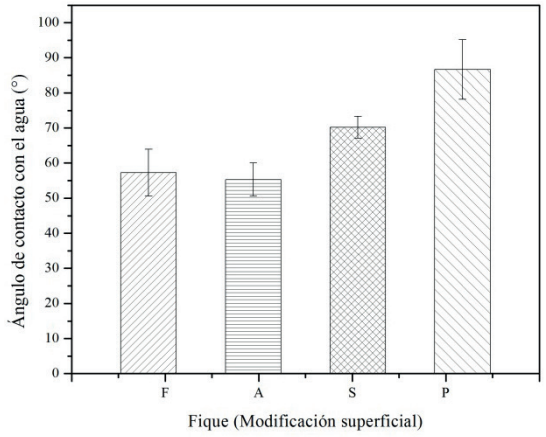
La longitud del filamento influye en gran medida en las propiedades a tensión de las fibras naturales; la resistencia máxima y la deformación aumentaron en cuanto disminuyó la longitud, mientras que el módulo de elasticidad presentó una caída. El incremento en la resistencia máxima y la deformación podría estar relacionado con la presencia de defectos en la fibra, en este sentido mayores longitudes en el ensayo de tensión implican un aumento en la probabilidad de encontrar estas irregularidades en los filamentos, y por tanto la generación de propiedades mecánicas inferiores. Por otro lado, el decremento del módulo de elasticidad puede estar relacionado con la disminución de la velocidad de desplazamiento de las mordazas en el ensayo, la cual por norma se establece como del 10% de la longitud del filamento, por tanto la velocidad será menor en la medida que la longitud de las fibras se reduzca; lo anterior podría generar un aumento de la fluencia en las cadenas moleculares de la fibra, por una mayor respuesta de tipo viscoso.

Es importante aclarar que las grandes desviaciones estándar obtenidas para la resistencia máxima, el módulo de elasticidad y la deformación porcentual en la carga máxima, estarían atribuidas a que el área de la sección transversal y la geometría varían a lo largo de los filamentos del fique, condicionando la dispersión en los resultados mecánicos del material. Esta heterogeneidad de las fibras naturales se constituye en una de las desventajas que presentan cuando se trabajan como refuerzo en materiales compuestos [23, 26].

Ángulo de contacto

En la figura 9 se muestran los ángulos de contacto observados en la superficie de las diferentes fibras empleadas. Se presentó un ángulo de 57,28° entre el agua y la superficie de la fibra sin tratamiento, lo que permite predecir una alta polaridad de la fibra y mojabilidad con este líquido, características normalmente de materiales hidrofilicos [12].

Figura 9. Ángulos de contacto para las superficies de las diferentes fibras con agua.



Por su parte, el agua en la superficie de la fibra tratada con NaOH, mostró un ángulo de contacto inferior al presentado en la fibra sin tratamiento, implicando un aumento en la polaridad de la fibra; este comportamiento se puede atribuir al incremento en la cantidad de grupos hidroxilo de la celulosa, que quedan expuestos al remover algunos componentes de la fibra (hemicelulosa, ceras, pectinas y parte de lignina); y que pueden interactuar con las moléculas de agua a partir de la formación de enlaces de hidrógeno.

Sin embargo, en las fibras con tratamiento previo de NaOH + silano; se puede identificar un aumento en el ángulo de contacto que forman con la gota de agua, lo que muestra una disminución en la polaridad del fique; lo anterior, sería debido a que parte de los grupos hidroxilo de la celulosa expuestos por la eliminación de sustancias con el tratamiento alcalino, han reaccionado con los grupos OH del silano, disminuyendo la compatibilidad con el agua.

El ángulo de contacto entre la gota de agua y la superficie de la fibra tipo P, mostró que el valor del ángulo fue mayor que en las fibras sin tratamiento de pre-impregnación con polietileno, alcanzando un valor promedio de 86,660°, este valor permite corroborar una vez más, la correcta ejecución de ésta modificación superficial, debido a que el ángulo forma aproximadamente 90° con la superficie, valor que usualmente es obtenido en superficies de carácter hidrofóbicas [27], tal como la del polietileno de alta densidad. Por otra parte, el alto valor de ángulo de contacto permite intuir una disminución importante en la polaridad de la superficie de la fibra; permitiendo tener mayor compatibilidad con matrices termoplásticas, normalmente de naturaleza apolar [12].

CONCLUSIONES

A partir de las técnicas de FTIR, TGA, Microscopia óptica, la realización de ensayos de tensión y ángulo de contacto, se pudo corroborar la correcta realización de las modificaciones superficiales planteadas para las fibras de fique (alcalinización, silanización, preimpregnación).

En cuanto a las fibras tratadas con NaOH, fue posible identificar una remoción de componentes, en especial de hemicelulosa y lignina; que permite concentrar el porcentaje de celulosa, mejorando las propiedades mecánicas de las fibras. Además una cantidad mayor de grupos hidroxilo de la celulosa quedan expuestos para que la reacción con el silano se facilite.

De acuerdo a los ángulos de contacto determinados experimentalmente, las fibras de fique podrían aumentar levemente su polaridad con el tratamiento de alcalinización; no obstante, al injertar un silano y/o pre-impregnar la superficie de la fibra con polietileno de alta densidad, se estaría disminuyendo la polaridad de la fibra, haciéndola mas compatible con matrices termoplásticas, normalmente apolares.

Lo anterior deja intuir que las fibras de fique son susceptibles de ser utilizadas como refuerzo de matrices de naturaleza polimérica, en particular de polietileno, empleando los tratamientos superficiales planteados en el presente estudio.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la empresa Compañía de empaques de Medellín S.A por suministrar y permitir hacer uso de las mantas industriales de fique, empleadas en esta investigación. De igual manera, se expresa el agradecimiento a la Universidad del Valle y la Universidad Autónoma de Occidente, por facilitar los reactivos, equipos y espacios necesarios para el desarrollo de esta investigación.

REFERENCIAS

[1] CASTRO, C. y PALENCIA, A. Evaluación de la influencia de diferentes condiciones de tratamientos superficiales sobre el comportamiento de fibras de fique [Tesis Ingeniería Quxímica]. Medellín (Colombia): Universidad Pontificia Bolivariana, Facultad de Ingeniería Química, 2006.

[2] HIDALGO, M.A., MUÑOZ, M.F y QUINTANA, K. Análisis mecánico del compuesto polietileno aluminio reforzado con fibras cortas de fique en disposición bidimensional. Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales, 32, 2011, p. 89-95.

[3] HIDALGO, M.A., MUÑOZ, M.F and QUINTANA, K.J. Mechanical Behavior of Polyethylene Aluminum Composite Reinforced with Continuous Agro Fique Fibers. Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales, 31, 2011, p. 187-194.

[4] HIDALGO, M.A. y MUÑOZ, M.F. Interacción Interfacial del Compuesto LDPE/Al Reforzado con Fibra de Fique: Influencia de la Temperatura. Santiago de Chile (Chile): XI IBEROMET CONAMET SAM, 2010.

[5] HIDALGO, M.A. y MUÑOZ, M.F. Efecto de la absorción de agua en tableros rígidos de compuesto LDPE/Al-fique. Santiago de Chile (Chile): XI IBEROMET CONAMET SAM, 2010.

[6] HIDALGO, M.A., MUÑOZ, M.F., MINA, J. and OSSWALD, T. Study of the interfacial properties of fique fiber reinforced polyethylene aluminium. Newtown (USA): The International Plastics Showcase, ANTEC, 2012.

[7] WAMBUA, P., IVENS, J. and VERPOEST I. Natural fibres: can they replace glass in fibre reinforced plastics?. Composites Science and Technology, 63, 2003, p. 1259-1264.

[8] LEAO, A., ROWELL, R. and TAVARES, N. Applications of natural fibres in automotive industry in Brazil-thermoforming process. Science and Technology of Polymers and Advanced Materials, 1997, p. 755–60.

[9] BLEDZKI, A.K. and GASSAN, J. Composites reinforced with cellulose based □bres. Progress in Polymer Science, 24, 1999, p. 221-274.

[10] MOURAD, A.L., GARCÍA, E.C. and VON ZUBEN, F. Influence of recycling rate increase of aseptic carton for long-life milk on GWP reduction. Resources, Conservation and Recycling, 52, 2008, p. 678-689.

[11] DELVASTO, S., TORO, E., PERDOMO, F. and MEJÍA R. An appropriate vacuum technology for manufacture of corrugated fique fiber reinforced cementitious sheets. Construction and Building Materials, 24, 2010, p. 187-192.

[12] GAÑAN, P. and MONDRAGÓN, I. Surface modification of fique fibers: effects on their physicomechanical properties. Polymer Composites, 23, 2002, p. 383-394.

[13] HERRERA, P.J. and VALADEZ, A. Mechanical properties of continuous natural fibre-reinforced

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (60-70) Julio - Diciembre 2014

polymer composites. Composites: Part A., 35, 2004, p. 339–345.

[14] SINHA, E. and ROUT, S.K. Influence of fibre-surface treatment on structural, thermal and mechanical properties of jute fibre and its composite. Bulletin of Materials Science, 32, 2009, p. 65-76.

[15] VALADEZ, A. Efecto del tratamiento superficial de fibras de henequén sobre la resistencia interfacial fibra-matriz y en las propiedades efectivas de materiales compuestos termoplásticos [Tesis Ph.D]. México D.F. (México): Universidad Autónoma Metropolitana, División de Ciencias Básicas e Ingeniería, 1999.

[16] AHMED, G.S., GILBERT, M., MAINPRIZE, S. and ROGERSON, M. FTIR analysis of silane grafted high density polyethylene. Plastics, Rubber and Composites, 38, 2009, p. 13-20.

[17] VALADEZ, A., CERVANTES, J.M., OLAYO, R. and HERRERA, P. Chemical modification of henequén fibers with an organosilane coupling agent. Composites: Part B., 30, 1999, p. 321-331.

[18] GULMINE, J.V., JANISSEK, P.R., HEISE, H.M. and AKCELRUD, L. Polyethylene characterization by FTIR. Polymer Testing, 21, 2002, p. 557-563.

[19] LEE, C., WU, T., CHEN, Y. and WU, J. Characteristics and discrimination of five types of woodplastic composites by FTIR spectroscopy combined with principal component analysis. Holzforschung, 64, 2010, p. 699-704.

[20] RODRÍGUEZ, J. Valor nutritivo de la Bora Eichhornia Crassipes (mart.) Solms en relación a su utilización como forraje. Zootecnia Tropical, 15, 1997, p. 51-65.

[21] SUÁREZ, H. Guía ambiental del subsector fiquero. 2 ed. Bogotá (Colombia). Cadena Productiva Nacional del Fique (CADEFIQUE), 2006, 122 p.

[22] ARAÚJO, J.R., WALDMAN, W.R. and DE PAOLI, M.A. Thermal properties of high density polyethylene composites with natural fibres: Coupling agent effect. Polymer Degradation and Stability, 93, 2008, p. 1770-1775.

[23] MINA, J.H. Preparación y caracterización físicoquímica y mecánica de materiales compuestos de PLA/PCL/TPS reforzados con fibras de fique [Tesis Ph.D.]. Cali (Colombia): Universidad del Valle, Facultad de ingeniería, 2010.

[24] GAÑAN, P. and MONDRAGÓN, I. Fique fiber-reinforced polyester composites: Effects of fiber surface treatments on mechanical behavior. Journal of Materials Science, 39, 2004, p. 3121-3128.

[25] CYRAS, V., VALLO, C., KENNY, J. and VASQUEZ, A. Effect of chemical treatment on the mechanical properties of starch-based blends reinforced with sisal fibre. Journal of Composite Materials, 38, 2004, p. 1387-1399.

[26] VALLEJOS, M.E. Aprovechamiento integral del cannabis sativa como material de refuerzo /carga del polipropileno [Tesis Ph.D.] Girona (España): Universitat de Girona, 2006.

[27] JARAMILLO. D.F. Repelencia al agua en suelos: Una síntesis. Revista Academía Colombiana de Ciencias, 3, 2006, p. 115.

GUARANGO (*Mimosa quitensis*) OPCION FORRAJERA PARA SISTEMAS GANADEROS DE CLIMA FRIO

GUARANGO (*Mimosa quitensis*) AN FORAGE OPTION FOR COLDWEATHER LIVESTOCK SYSTEMS

Guarango (*Mimosa quitensis*) COMO OPÇÃO DE FORRAGEM PARA O GADO DE SISTEMAS DO TEMPO FRIO

Jamir Achipiz-Fajardo[1], Geison Mauricio Gálvez-Campo[1], Sandra Morales-Velasco[2], Nelson Jose Vivas-Quila[3]

RESUMEN

La investigación se realizó en los municipios de Popayán, Silvia, Puracé y Totoró del Departamento del Cauca entre los 2000 a 3000 m.s.n.m. El objetivo fue determinar la capacidad forrajera y su potencial en sistemas ganaderos de clima frío. Se evaluaron aspectos productivos (capacidad de rebrotes, vigor, diámetro, peso y altura), al igual que parámetros biométricos como área de sombrío y formas de uso frecuentes de la especie en la zona. Para las pruebas de germinación de semillas se compararon cuatro tratamientos de escarificación (T1: Lija y remojo en agua climatizada; T2: ácido sulfúrico al 40% durante 10 minutos; T3: agua caliente a 80ºC por 2 minutos; T4: testigo sin ningún tratamiento) y cuatro repeticiones bajo un diseño experimental completamente al azar, evaluándose calidad y viabilidad. Los resultados bromatológicos muestran que sus contenidos de taninos y fibra detergente neutra son altos, por otra parte las pruebas de escarificación permitieron identificar que los tratamientos T1 y T3, presentaron mejores resultados en los procesos de germinación, siendo esto importante para el establecimiento de viveros dirigidos a fomentar la especie en la zona.

Recibido para evaluación: 15 de septiembre de 2013. **Aprobado para publicación:** 18 de mayo de 2014

1 Universidad del Cauca. Ingeniero Agropecuario. Popayán, Colombia.
2 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Ciencias Agropecuarias. Ecologa- MSc. Popayán, Colombia.
3 Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Ciencias Agropecuarias. Zootecnista- PhD. Popayán, Colombia.

Correspondencia: nutrifaca@unicauca.edu.co

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (71-80) Julio - Diciembre 2014

ABSTRACT

The research was make in the municipalities of Popayan, Silvia, Puracé and Totoro of the Cauca town between 2000 to 3000 m.a.s.l. The objective was to determine the ability to forage and its potential in cold weather livestock systems. Assessed productive aspects (capacity of regrowth, force, diameter, weight and height), as well as biometric parameters such as area of gloomy and forms frequent use of the species in the area. For seed germination tests were compared four scarification treatments (T1: sandpaper and soak in heated water;) T2: sulfuric acid 40% for 10 minutes; T3: hot water at 80°C for 2 minutes; T4: witness without any treatment) and four replicates under a completely randomized experimental design, assessing quality and viability. The bromatological results showed that the contents of tannins and neutral detergent fiber are high, on the other way the scarification tests helped identify that treatments T1 and T3 presented better results in the germination process, this aspect is important for the tree nursery establishment to encourage the species in the area.

PALABRAS CLAVE:
Producción de forraje, Viabilidad de Semillas.

KEY WORDS:
Forage production, Seed viability.

PALAVRAS-CHAVE:
A produção de forragem, Aviabilidade das sementes.

RESUMO

A pesquisa foi realizada nos municípios de Popayan, Silvia, Puracé e Totoro de entre 2000 a 3000 m.a.n.m, no Departamento de Cauca. O objetivo foi determinar a capacidade de forragem e seu potencial em sistemas pecuários no tempo frio. Avaliados aspectos produtivos (capacidade de rebrota, força, diâmetro, peso e altura), bem como parâmetros biométricos como área de sombrio e formulários de uso freqüente das espécies na área. Para a germinação de sementes, testes foram comparados quatro tratamentos de escarificação (T1: lixa e mergulhe em água aquecida;) T2: ácido sulfúrico 40% por 10 minutos; T3: água quente a 80°C durante 2 minutos; T4: testemunha sem nenhum tratamento) e quatro repetições sob um sem reservas delineamento experimental, avaliando a qualidade e viabilidade. Os resultados de bromatológico mostram que seus taninos e conteúdo de fibra detergente neutro é elevado, os outros testes de escarificação mão ajudado a identificar que tratamentos T1 e T3, mostrou melhor resultados na germinação processo, sendo este importante para a criação de viveiros para incentivar as espécies na área.

INTRODUCCIÓN

El Instituto Internacional de Investigacion en Ganadería, prevee que la demanda de leche y carne se duplicará en 2020, correspondiendo el mayor aumento a los países en desarrollo con la limitada oferta de concentrados, que se constituye en el principal obstáculo para satisfacer la demanda creciente de la alimentación animal, sobre todo para los pequeños agricultores [1] .

En Colombia, gran parte de la producción de leche se concentra en el clima frío, donde hay limitantes en la cantidad de la oferta forrajera y en el uso de árboles forrajeros, los cuales son alternativa nutricional en los sistemas agroforestales y de alimentación del ganado, dado a los multiples beneficios que ofrecen para el productor como el uso para madera, protección del

suelo, capacidad fijadora de nitrógeno y el confort que le ofrece a los animales [2] .

Hasta hace poco los árboles como recurso alimenticio habían sido ignorados debido al desconocimiento de su uso potencial y a la carencia de iniciativa para desarrollar sistemas alimenticios más innovadores [3]. Sin embargo actualmente los sistemas de producción agropecuarios han retomado como objetivo alcanzar una comunidad estable con varios estratos de plantas productoras de follaje y/o frutos con valor nutritivo complementario a los monocultivos que son básicamente gramíneas con sistema radicular poco profundo y por lo tanto una limitada producción de forraje [3].

La leguminosa *Mimosa quitensis* conocida como guarango, es originaria de Colombia y norte de Ecuador se distribuye entre los 1700 m.s.n.m hasta los 3400 m.s.n.m [4], de características arbustivas y semiarbustívas, erecta, perenne, puede tornarse árbol de porte bajo cuando se somete a podas periódicas o se encuentra en asocio otras especies que por competencia estimulan su precozidad [4]. Es de copa redondeada, irregular, ligeramente abierta y rala, se encuentra de forma natural a orilla de carreteras, potreros abandonados y en bosques secundarios en etapas tempranas.

En este sentido el estudio de especies regionales como el guarango (*Mimosa quitensis*) cobra importancia para el diseño de sistemas ganaderos que incluyan este componente arbóreo en aquellas zonas del trópico alto caucano, logrando así mejorar los parámetro productivos y reducir los efectos derivados de esta actividad económica. Sumado a lo anterior, los escasos estudios referentes a cualidades agronómicas y productivas de la especie hacen necesario que se adelanten investigaciones para evaluar el verdadero potencial como fuente de forraje, debido a que en Colombia apenas se está generando el proceso de desarrollo, conocimiento y valoración científica de los sistemas de producción silvopastoriles que permitan recomendar especies promisorias para agroecosistemas específicos y sistemas de producción pecuaria tanto en funciones de productividad de biomasa como en su valor nutritivo [3].

MÉTODO

Área de Estudio

La zona de estudio está localizada en los Municipios de Popayán, Silvia, Totoró y Puracé del Departamento del Cauca con suelos de origen volcánico y un material parental constituido principalmente por cenizas volcánicas que descansan sobre rocas ígneas, especialmente andesitas, basaltos y diabasas con perfil franco- arcilloso, de aridez mediano-fuerte, altos contenidos de gas carbónico, azufre, aluminio y otros [5]; en donde información representativa de la especie con la ayuda de productores y/o ganaderos de las zonas (Figura 1).

Métodos

En esta fase se evaluaron las siguientes variables.

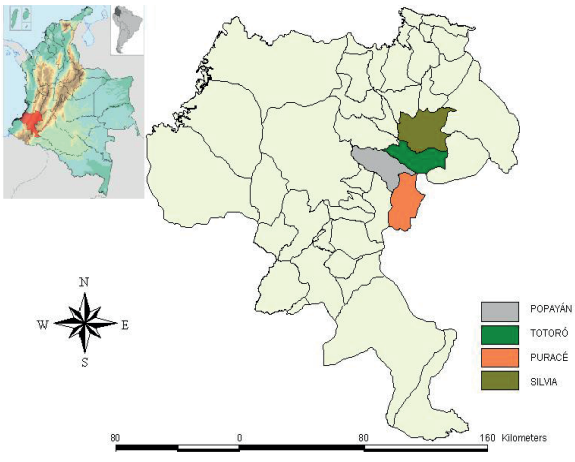
Aspectos Productivos y nutricionales de la especie. Se realizaron cortes de estandarización a 15 plantas, a las cuales se les practicó una soca a una altura de 50 cm [6]. Luego de 8 semanas de recuperación se contaron los rebrotes, midiéndose el diámetro y altura alcanzada por las plantas (Figura 2).

Unido a lo anterior, se corto el forraje verde producido en kg/planta para el análisis bromatológico, tomandosé una sub muestra, enviada al laboratorio de forrajes del CIAT, donde se analizó contenido de proteína cruda (PC), digestibilidad in vitro de materia seca (DIVMS), fibra detergente neutra (FDN), fibra detergente ácida (FDA), fenoles totales y taninos totales.

Evaluación de las semillas

Se realizaron pruebas de viabilidad, germinación y emergencia [7].

Figura 1. Localización de la zona de estudio.



Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (71-80) Julio - Diciembre 2014

Figura 2. Socas de *Mimosa quitensis*.





Prueba de viabilidad de Tetrazolio. Las 40 semillas colectadas en los diferentes municipios fueron hidratadas durante 48 horas para estimular la actividad de las enzimas deshidrogenasas y ablandar los tejidos; facilitando de esta manera el corte longitudinal separarando los cotiledones y permitir el contacto con el tetrazolio. Cada grupo de semillas fue puesto en cajas de petri. Posteriormente se le adiciono el compuesto cloruro de tetrazolio al 1%, dejando actuar la mezcla durante 2 horas en ausencia de luz. Se contaron las semillas teñidas de coloración purpura se determinó el porcentaje de viabilidad.

Germinación y Emergencia. Se evaluaron diferentes tipos de escarificación, utilizandose un diseño experimental blosques completamente al azar. En cada tratamiento fueron colocadas 100 semillas, en un sustrato compuesto por arena y cascarilla de arroz en una proporción de 2:1. Los Tratamientos fueron el T_1 - Lija y remojo en agua climatizada; T_2 - ácido sulfúrico al 40% durante 10 minutos; T_3 - agua caliente a 80ºc por 2 minutos; T_4 testigo sin tratamiento.

Considerando algunos aspectos metodológicos [8], se identificaron características apropiadas para el uso de esta especie en sistemas silvopastoriles como:

Área de sombrío. Medida del diámetro de la sombra proyectada en el suelo por la copa del árbol. Esta actividad se realizó a medio día puesto que durante esta hora los rayos solares caen perpendicularmente.

Especies asociadas a su área de sombra. Muestreo de las plantas asociadas, que fueron colectadas y clasificadas en el herbario de la Universidad del Cauca.

Uso de *Mimosa quitensis.* Se visitaron sistemas productivos y se registraron los usos actuales de la especie.

RESULTADOS

Variables Productivas del Guarango (*Mimosa quitensis*)

Del total de árboles evaluados, el promedio de producción de forraje verde/árbol fue de 444.7 gr, con un valor máximo de 809 g/planta y un valor mínimo de 170 g/planta, directamente proprcional con el número de rebrotes que en promedio fueron de 145,3 rebrotes/planta (cuadro No.1).

Es de resaltar que la especie responde bien a los cortes (298 rebrotes), pero la producción de forraje (FV) es bajo comparado con las producciones alcanzadas en otras especies bajo corte para suplementarción animal como *Gliricidia sepium* (14,2 T/ha/corte), *Trichantera gigantea* (12,57 T/ha/corte), *Leucaena leucocephala* (14 T/ha/corte) [8], lo que se puede explicar con la altura del corte; ya que las plantas cortadas por encima de los 50 cm del suelo tienen la capacidad de recuperarse, el contenido de proteína no sufre alteraciones notables y los contenidos de fosforo, potasio, calcio y

Cuadro 1. Descriptores estadísticos para variables productivas.

	Peso FV gr.	No. Rebrotes	Diám. (cm)	Altura (cm)	Vigor (1-5)
Media	444,7	145,1	101,6	89,0	3,0
Desviación estándar	242,1	86,3	42,5	40,2	1,25
Coef. de variación	0,5	0,6	0,42	0,45	0,42
Máximo	809	298	146	165	5,0
Mínimo	170	34	8	10	1,0

Cuadro 2. Análisis Bromatológico del follaje de *Mimosa quitensis*.

Análisis	Porcentaje (%)
PC	20,23
DIVMS	65,65
FDN	58,70
FDA	25,15
Fenoles Totales	25,15
Taninos Totales	33,06

PC: Proteína cruda DIVMS: Digestibilidad in vitro de materia seca. FDA: Fibra detergente acida FDN: Fibra detergente neutra.

magnesio son adecuados; que unido a la frecuencia de poda, que para algunos investigadores es de 90 días pudieron limitar la producción de la especie [8].

Calidad nutricional del forraje de *Mimosa quitensis.* En el cuadro 3, se muestran los resultados del análisis bromatológico.

Como lo muestran los resultados, se puede asegurar que el contenido de proteína cruda (PC) del follaje de *Mimosa quitensis* es similar a los contenidos proteicos de otras especies forrajeras como, *Cajanus cajan* (20 a 23%), *Erythrina edulis* (24%), *Leucaena leucocephala* (12 a 25%), *Gliricidia sepium* (20 a 30%), *Alocasia macrorrhyza* (22,4 %), e incluso superior a los contenidos proteicos encontrados en follajes de especies como *Trichantera gigantea* (18%), *Acacia decurrens* (18%), *Malvaviscus arboreus* (19%), *Tithonia diversifolia* (18%), entre otras.

Se hallaron altos contenidos de FDN (58,78%) y taninos totales (36,06%), factores que pueden limitar el consumo de materia seca y la digestibilidad de la proteína [9], inhibiendo la acción de enzimas y la actividad de los microorganismos en el rumen limitando la degradación de nutrientes reduciendo la producción de ácidos grasos como productos finales de la degradación [9]. De igual manera, la Fibra Detergente Neutra FDN (58,7%) fue alta, pudiendo afectar la producción de leche la cual disminuyo en la medida que se incrementaba en la dieta la FDN, pero no afecto el consumo en MS [10]. Sin embrago, los niveles adecuados de taninos en la dieta protegen parte del nitrógeno de la degradación ruminal y favorecen la utilización más eficiente en el tracto posterior [9,10]. Por otra parte, la presencia de estos compuestos puede modificar las rutas de excreción del nitrógeno, disminuyendo la cantidad eliminada a través de la orina e incrementándose la cantidad excretada en las heces [9], lo que puede conducir a efectos positivos sobre la fertilidad de los suelos, disminución de gases de efecto de invernadero, proyectando al guarango en calidad nutricial como una de las especies con potencial forrajero en ecosistemas de clima frío Colombiano.

El potencialidad de la especie debe ser evaluada bajo practicas de manejo y sobre sistemas silvopastoriles con arboles fijadores de nitrógeno (AFN), creando interacciones biológicas, ecológicas y económicas, las cuales pueden contribuir a lograr una producción sostenible [11].

Adicional a lo anterior, la inclusión de sistemas arbóreos en potreros mejora las condiciones paisajísticas de los predios, se constituye en habitad de muchas especies de animales aumentando así los índices de diversidad animal, es fuente de leña como material combustible entre otros. Por lo tanto, a pesar de que la especie evaluada tiene factores anti nutricionales que pueden afectar la digestibilidad de su forraje, deben tenerse en cuenta los demás factores mencionados permitiendo así el diseño de sistemas ganaderos más eficientes.

Evaluación de semillas

Prueba de viabilidad en tetrazolio. En la figura 3 se observan las semillas despues de realizada la prueba de tetrazolio mostrando el alto poder germinativo de estas a traves de una tincion total de las semillas como consecuencia de la respuesta frente al reactivo.

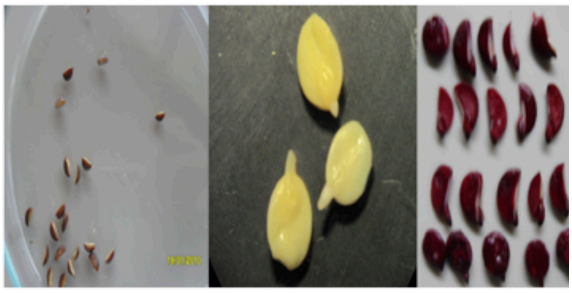
Se encontró que las semillas colectadas tuvieron alta viabilidada en particular en los municipios de Popayán y Silvia con el 100%, mientras que para los municipios Puracé y Totoró del 90%. Esto a lo mejor dado a la producción permanente de semillas y a las bajas temperaturas (16^{o}C en promedio) que favorecen la conservación de las mismas.

Evaluación del porcentaje de germinación en semillas de *Mimosa quitensis*. Hubo un mejor efecto en la germinación, cuando las semiilas fueron sometidas a los tratamientos T1 y T3 comparado con los tratamientos T2 y T4 (figura 4).

Del mismo modo se observa que para T1 y T3 el mayor número de semillas germinadas se dio entre los tres y nueve días después de la aplicación de los tratamientos, característica que no se presenta en el caso de los otros tratamientos

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (71-80) Julio - Diciembre 2014

Figura 3. Semillas viables en tetrazolio.



Al realizar el análisis de varianza, se hallaron diferencias estadísticas significatias ($P \leq 0,05$) entre los tratamientos y la prueba de de Duncan, muestra dos conjuntos homogéneos el primero conformado por el T1 (Lija y remojo en agua climatizada) y T3 (Agua caliente a 80ºC durante dos minutos), los cuales presentaron promedios de germinación de 93,75% y 87,5% respectivamente.

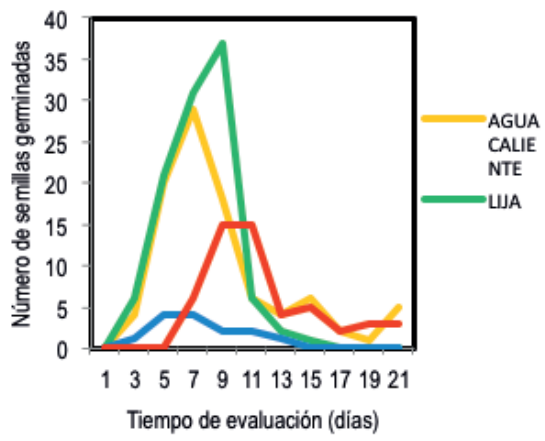
El segundo conjunto, dado por el tratamiento testigo y el, T2 (ácido sulfúrico al 40% durante 10 minutos); indicando que la utilización del ácido sufúrico afectó negativamente el potencial germinativo por causa del calor extremo que se produce al lavar con ácido, o por la penetración del ácido que daña el embrión [12,13].

Aspectos biométricos

En el cuadro 4 se presentan los valores hallados.

Los valores para el DAP y altura de los árboles, presentan coeficientes de variación (0,29 y 0,31) mostrando una tendencia de la homogeneidad de los datos, mientras que para el caso del radio de la sombra alcanzada por la cobertura de la copa mayor heterogeneidad de los datos, por lo que puede considerarse el guarango como una especie de copa extendida la cual ofrece una sombra rala, que sumado al tamaño y forma de las hojas y foliolos garantiza un mayor paso de luz solar permitiendo así el mayor crecimiento de plantas pertenecientes a la familia Poaceae [3,14].

Figura 4. Curva de germinacion de semillas.



Cuadro 4. Descriptores estadísticos para variables biométricas.

	DAP (cm)	Altura (m)	Radio sombra (m)
Media	36,5	5,3	3,1
Desviación estándar	10,58	1,64	1,23
Coeficiente de variación	0,29	0,31	0,4
Valor máximo	55	8	5
Valor mínimo	21	3	2

Es de resaltar que el promedio de altura (36 cm) indicador para el diseño de sistemas agroforestales de múltiples estratos a través de la asociación con otras especies de porte alto.

Especies asociadas a su área de sombra. En el cuadro 5, se presenta el listado de las 16 familias y veintiséis especies, asociadas bajo la cobertura de la copa de *Mimosa quitensis*.

Lo anterior confirma que el grado de luminosidad bajo la copa de los árboles facilita el crecimiento de estas plantas, permitiendo que especies con altos requerimientos luminícos (C_4) crezcan, indicando el potencial de la especie para ser aprovechado en arreglos silvopastoriles con pasturas mejoradas [5].

Uso frecuentes de la especie. De un total de 30 registros realizados en campo se encontró que dentro de las formas de uso en sistemas ganaderos el 86,67% esta siendo utilizado en potreros, 10% como cercas vivas y solo un 3,33% como cultivo, resaltando que en los municipios de Silvia y Sotará, el guarango esta siendo manejado con podas y raleos [13,15].

Lo anterior muestra que a pesar de ser una especie potencialmente utilizable para mejorar los parámetro productivos de los sistemas ganaderos en ecorregiones de clima frio, es escaso el avance entorno a prácticas culturales y diseño de sistemas agrofo-

Cuadro 5. Especies asociadas bajo el sombrío de *Mimosa quitensis* en la zona de estudio.

Familia	Nombre Científico	Nombre Común
Asteraceae	Bidens pilosa	Pacunga o cadillo
	Calea glomerata	Carrasposa
	Chromolaena odorata	
Commenilaceae	Trasdescantia multiflora	Suelda con suelda
Cyperaceae	Rhynchospora nervosa	Cortadera
Fabacea	Arachis pintoi	Maní forrajero
	Trifolium repens	Trébol
Gesneriaceae	Kohleria digitalliflora	Doncella
Gramineae	Cynodon dactylon (L.)	Grama común
Lamiaceae	Hyptis sidifolia	Botoncillo
Loranthaceae	Lorantus leptotachyus	Matapalo
Malvaceae	Sida rhombifolia	Escoba negra
Mimosaceae	Mimosa pigra	Zarza, espino
	Mimosa albicans	Zarza
Mirtaceae	Psidium guajava	Guayaba
Poaceae	Andropogon sp.	Pasto rabo de zorro
	Isachne sp.	Gramilla
	Lasiacis cfdivaricata	
	Paspalum sp.	Trencilla o grama
	Melinis minutiflora	Yaragúa
Pteredaceae	Pteridium aquilinum	Helecho marranero
	Rubus urticifolius	Mora de monte
Rosaceae	Rubus floribundus	Zarzamora o mora silvestre
	Coccocypselum lanceolatum	
Verbenaceae	Lantana rugulosa	

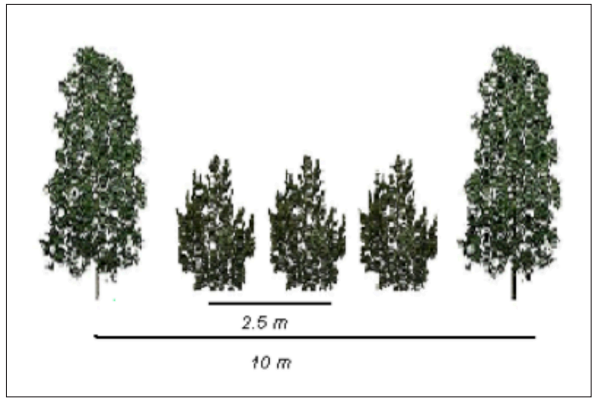
restales, lo cual se ve reflejado en el alto porcentaje de árboles que crecen en potreros sin ningún tipo de manejo.

Alternativas de uso. Teniendo en cuenta que las malas practicas ganaderas han traido efectos negativos al medio ambiente como contaminación de fuentes hídricas, procesos erosivos, pérdida de biodiversidad, se plantean diseños y prácticas alternativas agroforestales que permitan contribuir con la fertilidad de los suelos, microclimas más favorables para los animales, fuente de forraje adicional para los animales en periodos críticos etc, a continuación se proponen algunas formas de uso posibles de la especie en los ecosistemas regionales.

Cercas vivas. La utilización de árboles en potreros es una práctica tradicional, pero es poco el uso del guarango bajo este arreglo encontrado en el área de estudio. En la figura 5, se muestra un esquema propuesto para un arreglo de cercas vivas de guarango (*Mimosa quitensis*) en asocio con aliso (*Alnus acuminata*)

Es frecuente que la cerca viva cumpla con la función principal de impedir el paso de personas y animales pero su potencial productivo (madera, leña, forraje, frutos, abono verde) y otros servicios (diversificación del paisaje, regulación climática, habitad de fauna local, acumulación de CO_2) que no son realmente valorados. A la vez, es una especie que por ser ramoneada por los animales ofrece una fuente de forraje adicional en épocas críticas, dado a que sus raíces se desarrolla a partir de una radícula con su posterior alargamiento, forma un casquete fuerte llamado caliptra o cofia capaz de penetrar suelos duros, no presenta competencia por nutrientes a nivel superficial ya que es capaz

Figura 5. Esquema vertical de un arreglo guarango-aliso como cerca viva.



Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (71-80) Julio - Diciembre 2014

de penetrar en las capas profundas del suelo, aprovechando el agua y los minerales que las gramíneas no pueden alcanzar [5,15].

Para su instalación se recomienda manejar distancias de 2,5 m entre árboles si se utiliza como única especie, sin embargo se puede asociar con otras especies arbóreas encontradas en la zona como aliso (*Alnus acuminata*), lechero (*Euphorbia lauriformis*) entre otras. En este caso, pueden establecerse cercas de múltiple estrato manejando distancias de 10 m entre árboles para el caso del aliso, 3 m para en guarango y 1,5 m en el caso del lechero.

Setos. Se recomienda el establecimiento de surcos a distancias de 1 m entre árboles siguiendo las curvas de nivel para el caso de terreno quebrados, con el propósito de reducir la velocidad del agua lluvia además de mejorar la fertilidad del suelo a partir de la fijación natural de nitrógeno atmosférico. Del mismo modo proporciona un mejor aspecto visual en términos paisajísticos [13,15].

Á**rboles en potreros.** En la figura 6 se presenta un esquema de árboles en potreros sembrados a tresbolillo.

Pueden ser sembrados a una distancia de 5 m entre árboles y 8 m entre surcos, bajo arreglos de doble estrato combinados con especies de mayor altura como acacias (*Acacia sp*), aliso (*Alnus acuminata*) entre otros [13,15].

Considerando los sistemas agroforestales multiestrato como una forma de producción agroforestal que se acerca a la estructura y dinámica de los bosques naturales, la combinación de especies de diferentes alturas permite un mejor aprovechamiento horizontal y vertical del suelo y por lo tanto debe ser una herramienta que debe ser aprovechada para el diseño de arreglos arbóreos en los sistemas ganaderos. En la figura 7, se presenta un esquema de un arreglo de doble estrato para el trópico alto compuesto por *Alnus acuminata* y *Mimosa quitensis.*

Este es un arreglo que puede ofrecer varios beneficios en los sistemas ganaderos del trópico alto como mejorar la fertilidad natural del suelo a través de la fijación de nitrógeno, a la vez aportar sombra a los animales dado la generación de microclimas más adecuados para los bovinos. Del mismo modo es una opción de forraje complementario para los animales a través del ramoneo a la vez que mejora las características paisajísticas de los predios.

Figura 6. Esquema de árboles distribuidos en potreros sembrados a tresbolillo.

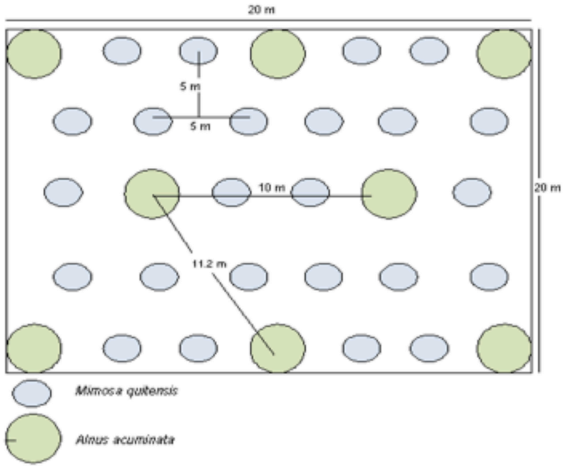


Figura 7. Esquema vertical de un arreglo de doble estrato Aliso-guarango.



Por lo tanto, la agroforestería en el ámbito ganadero debe ser una opción de mayor interés por parte de los productores e instituciones interesadas en el fomento de una actividad ganadera que reduzca los impactos ambientales en los diferentes ecosistemas regionales.

CONCLUSIONES

El follaje de *Mimosa quitensis* presenta altos contenidos de proteína con una buena DIVMS, con altos contenidos de taninos y FDN se presentan como limitantes para el nivel de consumo voluntario y la asimilación de la proteína en el tracto digestivo bovino. Sin embargo deben ser consideradas otras ventajas de tipo ambiental que ofrece la especie para el diseño de sistemas silvopastoriles.

El guarango es una especie de alta frecuencia de aparición en la zona de estudio, lo cual se sustenta a partir del alto porcentaje de viabilidad de las semillas a través de la prueba de tetrazolio, mostrando niveles de germinación del 100% para las semillas colectadas en las localidades de Popayán y Silvia y 90% para Puracé y Totoró. Adicional a lo anterior, características como frutos dehiscentes y semillas de pequeño tamaño se asocian a mecanismos de dispersión como hidrocoria.

Dentro de las pruebas de escarificación evaluadas, se encontró que las semillas de guarango respondieron bien cuando fueron escarificadas con lija y remojo en agua a temperatura ambiental y cuando fueron tratadas en inmersión en agua caliente durante dos minutos. Por el contrario, el tratamiento con ácido sulfúrico tiene efectos negativos sobre el potencial germinativo de las semillas al afectar la viabilidad de los embriones.

El guarango es una especie que responde bien a prácticas de manejo como podas, sin embrago los niveles de producción de forraje son bajos comparado al de otras especies.

Es necesario realizar estudios de tipo agronómico y prácticas de manejo para evaluar el comportamiento de la especie frente a diferentes prácticas de cultivo que permitan mejorar las condiciones de producción de forraje para los animales.

Deben realizarse estudios más detallados a nivel químico para determinar el tipo de taninos contenidos en el forraje de la especie estudiada y así poder determinar con mayor precisión el efecto producido sobre la digestibilidad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a los productores de los municipios de Popayán, Silvia, Totoró y Puracé y a la Universidad del Cauca, por proveer todas herramientas necesarias para el desarrollo de esta investigación.

REFERENCIAS

[1] INSTITUTO INTERNACIONAL DE INVESTIGACION EN GANADERÍA (ILRI). Sustainable livelihoods through livestock farming in East Africa [online]. 2012. Available:http://de.slideshare.net/ILRI/sustainable-livelihoods-through-livestock-farming-in-east-africa [Citado 15 febrero de 2013].

[2] PIZA, P., JIMÉNEZ, A. y PRIETO J. Estado del arte de algunos sistemas de producción ganadera de clima frío en Colombia y el Mundo. Revisa Inventum, 11, 2011, p. 48-53.

[3] MURGUEITIO, E., CHARÁ, J., SOLARTE, A., URIBE, F., ZAPATA, C. y RIVERA, J. Agroforestería Pecuaria y Sistemas Silvopastoriles Intensivos (SSPi) para la adaptación ganadera al cambio climático con sostenibilidad. Revista Colombiana de Cienciencias Pecuarias, 26, 2013, p. 313-316.

[4] MISSOURI BOTANICAL GARDEN–W³. Specimen Data Base [online]. 2010. Available: http://www.mobot.org/ [citado en febrero 16 de 2012].

[5] CALLE, Z., MURGUEITIO, E. and CHARÁ, J. Integrating forestry, sustainable cattle-ranching and landscape restoration Rome (Italy): FAO, Unasylva 239, 63, 2012, p. 31-40.

[6] GAMARRA, J.R. Documentos de trabajo No. 95 sobre Economía Regional, La Economía del Departamento del Cauca Concentración de Tierra y Pobreza. Bogotá (Colombia): Banco de la República, Centro de Estudios económicos regionales, 2007, p. 7-10.

[7] VIVAS, N. Evaluación agronómica de 137 accesiones de *Desmodium velutinum* en la estación experimental CIAT, Santander de Quilichao [Tesis de Maestría en Producción Animal Tropical]. Palmira (Colombia): Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Facultad de Ciencias Agrarias, 2005, p. 42.

[8] PRIETO, J., PRIETO, F., HERNÁNDEZ, N., DOMÍNGUEZ, J., y ROMÁN, A. Métodos comparativos del poder germinativo en *Hordeum distichon* L. calidad maltera. Multiciencias, 11(2), 2011, p. 121–128.

[9] FALCÃO, R., BARBOSA-DA SILVA, J., FONSECA, L., LUCENA, I. e ZUNETE, M. Características biométricas de mudas de castanha-do-gurguéia em função de calagem e NPK1 Biometric characteristics of Gurguéia nut seedlings as a function of liming and NPK. Revista Ciência Agronômica, 42(4), 2011, p. 940-949.

[10] LOMBO, F.D. Evaluación de la disponibilidad de biomasa y capacidad de rebrote de leñosas forrajeras en potreros del trópico seco de Nicaragua [Tesis de Maestría en Agroforestería]. Turriabla (Costa Rica): CATIE, 2012, 86 p.

[11] PINTO-RUIZ, R., HERNADEZ, D., AVILÉS, L., SANDOVAL, C., COBOS, M. y GÓMEZ, H. Taninos y fenoles en la fermentación in vitro de leñosas forrajeras tropicales. Agronomía Mesoamericana, 20(1), 2009, p. 15-23.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (71-80) Julio - Diciembre 2014

[12] LEZCANO, Y., SOCA, M., OJEDA, F., OLIVERA, Y., MONTEJO, I. y SANTANA, H. Caracterización cualitativa del contenido de metabolitos secundarios en la fracción comestible de Tithonia diversifolia (Hemsl.) A. Gray. Pastos y Forrajes, 35(3), 2012, p. 283-292.

[13] OSPINA, S., RUSCH, G., PEZO, D., CASANOVES, F. and SINCLAIR, F. More Stable Productivity of Semi Natural Grasslands than Sown Pastures in a Seasonally Dry Climate. PLoS ONE, 7(5), 2012, p.1371–1381.

[14] MEDINA, M., GARCÍA, D., MORATINOS E. y COVA, L. Comparación de tres leguminosas arbóreas sembradas en un sustrato alcalino durante el período de viveramiento y Variables morfoestructurales. Pastos y Forrajes, 34(1), 2011, p. 234–245.

[15] ARBOLEDA, D., TOMBE, A., MORALES-VELASCO, S. y VIVAS-QUILA, N. Propuesta para el establecimiento de especies arbóreas y arbustivas con potencial forrajero: en sistemas de producción ganadera del trópico alto colombiano. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 11(1), 2013, p. 154–163.

MODELACIÓN DE LA SEPARACIÓN DE PARTÍCULAS NO RETENIDAS EN LA ETAPA DE SEDIMENTACIÓN EN CANALES: PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ALMIDÓN DE YUCA

MODELING OF THE SEPARATION OF PARTICLES NOT RETAINED IN THE STAGE OF SEDIMENTATION ON CHANELS: EXTRACTION PROCESS CASSAVA STARCH

MODELAGEM DA SEPARAÇÃO DE PARTÍCULAS NÃO RETIDAS NA FASE DE SEDIMENTAÇÃO EM CANAIS: PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE AMIDO DE MANDIOCA

Patricia Torres-Lozada[1], Yelena Carolina Valencia[2], Teresita Canchala[3]

RESUMEN

En la etapa de sedimentación en canales del proceso de extracción de almidón de yuca se genera alrededor del 80% del total del agua residual del proceso. Este estudio tuvo como objetivo realizar la modelación teórica de la separación de las partículas no retenidas en los canales de sedimentación, basándose en el análisis de sedimentación de partículas discretas entre 2 y 8 µm y usando el principio de la Ley de Stockes. La modelación teórica mostró que la velocidad de sedimentación oscila entre 0,007 y 0,112 cm/min. Con este rango de velocidad y un caudal crítico de 1,5 L/s, para la remoción total de las partículas se requeriría una estructura con un área superficial de 1.288 m², altura de 1 m y TRH de 10 días aproximadamente. Este estudio demuestra que no es económica ni técnicamente

Recibido para evaluación: 11 de marzo de 2012. **Aprobado para publicación:** 16 de mayo de 2014

1 Universidad del Valle, Escuela de Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente (EIDENAR), Grupo Estudio y Control de la Contaminación Ambiental. Ingeniera Sanitaria, Ph.D. Cali, Colombia.
2 Universidad del Valle, Grupo Estudio y Control de la Contaminación Ambiental. Ingeniera Sanitaria. Cali, Colombia.
3 Universidad del Valle, Grupo Estudio y Control de la Contaminación Ambiental. Ingeniera Sanitaria. Cali, Colombia.

Correspondencia: patricia.torres@correounivalle.edu.co

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (81-89) Julio - Diciembre 2014

viable la sedimentación convencional ni la de alta tasa para la retención de estas partículas, siendo recomendable evaluar mecanismos diferentes para mejorar la eficiencia de separación de las mismas que pueda potencializar su aprovechamiento y evitar contaminar los cuerpos receptores de estos efluentes.

ABSTRACT

On the settling stage in channels of the extraction process of the cassava starch, is generated around 80% of the total wastewater from the process. On this study, we analyze the theoretical modeling of the particles that are not retained in the channels basing on the analyses of settling of discrete particles with sizes between 2 and 8 microns, using the Stockes Law. The theoretical modeling showed that the sedimentation rate is between 0,007 and 0,112 cm/min. With this rate range and a critical flow rate of 1,5 L/s, for the total removal of the particles, it is required a structure with a surface area of 1288 m^2, height of 1 m and approximately 10 days. This study shows that is not economically or technically feasible the conventional nor high settling to retain this type of particles, being advisable to evaluate different mechanisms to improve the separation efficiency of particles that may potentiate their use and to avoid the contamination of the receiving bodies of these effluents.

PALABRAS CLAVE:
Rallandería de Yuca, Sedimentación de Partículas Discretas, Separación de Mancha.

KEYWORDS:
Cassava Rallanderia, Discretes Particles Settling, Stain Separation.

PALAVRAS CHAVE:
Rallanderia de Mandioca, Sedimentação de Partículas Discretas, Separação da Mácula

RESUMO

Na fase de sedimentação em canais do processo de extração de amido de mandioca, é produzido perto de 80% do total das águas residuárias do processo. Neste estudo, foi realizada a modelagem teórica da separação das partículas não retidas nos canais de sedimentação de partículas discretas entre 2 e 8 μm; usando o princípio de Lei de Stockes. A modelagem teórica mostrou que a velocidade de sedimentação varia entre 0,007 y 0, 112 cm/min. Nesta faixa de velocidade e uma vazão crítica de 1,5 L/s, para a remoção total das partículas seria requerida uma estrutura com uma área superficial de 1.288 m^2, altura de 1 m e TRH de 10 dias aproximadamente. Este estudo mostra que não é econômica nem tecnicamente viável a sedimentação convencional nem de alta taxa para a retenção destas partículas, sendo recomendável avaliar mecanismos diferentes para melhorar a eficiência de separação das partículas que possa potenciar o seu aproveitamento e evitar contaminar os corpos de água que recebem estas águas residuárias.

INTRODUCCIÓN

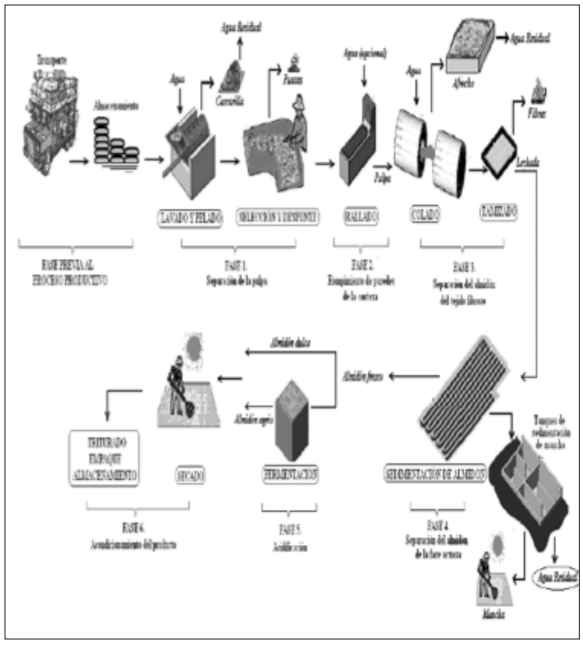
En el mundo se extraen aproximadamente 60 millones de toneladas anuales de almidón de una gran variedad de cultivos (cereales, raíces y tubérculos) para uso en una amplia gama de productos [1]. Según [2], el 43% del almidón que se produce en el mundo proviene del maíz y otro 46% procede de la yuca (23%) y de las dextrinas y almidones modificados (23%).

El almidón que se produce con las raíces de la yuca, es competitivo por contener más almidón por peso seco que cualquier otro cultivo alimentario y porque su almidón es fácil de obtener con tecnologías simples. En América Latina y el Caribe casi la totalidad se produce en fábricas pequeñas y medianas, con mano de obra intensiva y técnicas tradicionales, destacándose la producción de Brasil y Colombia [1].

La producción de almidón de yuca (dulce o agrio) se realiza a través de un proceso de extracción por vía húmeda [3]; en Colombia, el 80% de la producción nacional de almidón agrio se concentra en 150 rallanderías ubicadas en la región norte del Departamento del Cauca, las cuales pueden procesar el almidón en forma manual, semimecanizada o mecanizada completamente [4], pero la más empleada es la semi-mecanizada que consta de las etapas que se esquematizan en la Figura 1.

En un estudio realizado por Sajeev *et al.* [5], sobre sedimentación de partículas de almidón en columnas se encontró que para suspensiones diluidas (concentraciones menores a 6% V/V) se presentan características similares a la sedimentación de partículas discretas y floculentas, mientras que para suspensiones más concentradas (superiores a 10% V/V) el comportamiento se asimila a la sedimentación de zona o interferida y de compresión; por su parte, Torres *et al* [6] establecieron que las partículas que salen en el sobrenadante de los canales de sedimentación del almidón, presentan tamaños entre 2 y 8 μm y una concentración menor a 6%, por lo tanto, para este caso se espera que se presenten características de sedimentación de partículas discretas y floculentas.

Figura 1. Extracción de almidón de yuca.



Fuente: [4]

Tradicionalmente, estas partículas que no se retienen en la etapa de sedimentación son comúnmente denominadas mancha [7], las cuales se caracterizan por presentar un elevado nivel proteico, lo que puede hacerlas potencialmente aprovechables como alimento para porcinos y bovinos y para la obtención de compost entre otras actividades [8].

Si estas partículas no son separadas de manera eficiente, entran a hacer parte de las aguas residuales efluentes de la etapa de sedimentación, la cual constituye alrededor del 80% del total del agua residual generada en el proceso de extracción de almidón de yuca [9]. Esta agua residual presenta una carga contaminante total promedio de 3.464,6 mg/L expresada en términos de DQO, según la evaluación ambiental del proceso de extracción de almidón de yuca, realizada por Colin *et al* [10], siendo el 28,23% atribuible a los sólidos suspendidos presentes en el flujo.

En este estudio se realizó la modelación teórica de la separación de las partículas no retenidas en los canales de sedimentación del proceso de extracción de almidón de yuca, asumiendo el comportamiento de la sedimentación de partículas discretas, las cuales de acuerdo con autores como Richter [11], Spellman [12] y Di Bernardo y Sabogal [13], sedimentan por gravedad sin alterar su forma, tamaño y densidad, no forman aglomerados y las concentraciones volumétricas son bajas.

MÉTODO

El estudio se basó en el análisis teórico de sedimentación de partículas discretas entre 2 y 8 μm, con variaciones de 0,2 μm de acuerdo con la clasificación reportada por Torres *et al.* [6] y Yang *et al.* [14], tomando como referencia una rallandería del norte del Departamento del Cauca.

La evaluación se realizó teniendo en cuenta que la rallandería opera con un caudal que oscila entre 0,82 y 1,44 L/s y realiza la sedimentación de las partículas de

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (81-89) Julio - Diciembre 2014

almidón en 11 canales (Figura 2), cuya sección transversal es de 0,3 m de altura por 0,4 m de ancho y una longitud total de 165 m [6].

Velocidades de sedimentación

Para establecer el comportamiento de las velocidades de sedimentación, se empleó una hoja de cálculo en Excel asumiendo partículas esféricas en un fluido Newtoniano [14] y empleando la Ecuación de velocidad de sedimentación teórica – V_s (Ecuación 1) propuesta por George Gabriel Stokes quien estableció que la sedimentación de las partículas discretas se gobierna por la acción de su propio peso [11, 12 y 13].

$$V_s = \frac{g}{18}\left(\frac{\rho_p}{\rho_a} - 1\right)\frac{d_p{}^2}{\mu} \qquad \text{(Ec. 1)}$$

Donde,

V_s: Velocidad de sedimentación (m/s)

g: Aceleración de la gravedad (m/s^2)

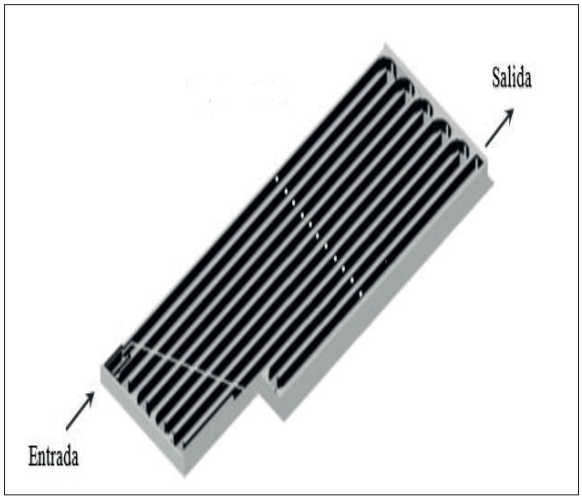
d_p: Diámetro de la partícula (m)

μ: Viscosidad cinemática del agua (m^2/s^1)

ρ_p: Densidad de la partícula (kg/m^3)

ρ_a: Densidad del fluido (kg/m^3)

Figura 2. Canales de sedimentación del almidón.



La V_s enunciada en la Ley de Stokes, depende de las características físicas de la partícula (densidad y tamaño), de la fuerza que ejerce la gravedad sobre la misma y densidad del fluido. Para el presente estudio se utilizaron como datos iniciales los obtenidos en el estudio realizado por Torres et al. [6]: densidad del almidón 1.500 $kg.m^{-3}$, densidad del agua 998 $kg.m^{-3}$ y viscosidad dinámica 9,41E-7 m^2/s para una temperatura del agua de 23°C.

El número de Reynolds (Re) de la partícula se estimó de acuerdo con la Ecuación 2, en donde Re determina un factor de forma dentro de la ecuación de Stokes y debió chequearse para establecer el efecto del régimen de flujo originado en la caída de la partícula; éste debía ser menor a 1 para considerarse como flujo laminar.

$$Re = \frac{V_s \times d_p}{\mu} \qquad \text{(Ec. 2)}$$

Una vez obtenido el Re de la partícula, se determinó el coeficiente de arrastre de Newton C_D (Ecuación 3), definido como un factor que aumenta las fuerzas de oposición al descenso de la partícula. El C_D es una función del número de Reynolds (Re), adicionalmente si d< 0,085 mm, Re< 1 entonces prevalece flujo laminar

$$C_D = \frac{24}{Re} \qquad \text{(Ec. 3)}$$

Finalmente, se calculó el valor de la velocidad de sedimentación real de las partículas mediante la Ecuación 4, utilizando el C_D para verificar que la velocidad de sedimentación teórica coincidiera con la velocidad de sedimentación real de Newton (V_s*).

$$V_s^* = \sqrt{\frac{4}{3} \times \frac{g}{C_D} \times \frac{(\tilde{n}_p - \tilde{n}_a)}{\tilde{n}_a} \times d_p} \qquad \text{(Ec. 4)}$$

Área superficial

Las velocidades de sedimentación fueron determinadas para unidades de flujo horizontal en las cuales existe una relación teórica entre el área superficial de la unidad (A_s), el caudal de aplicación y la velocidad de sedimentación (V_s) de la partícula a remover, ya que la carga superficial de un sedimentador ideal es igual a la velocidad de sedimentación de la partícula [14].

Teniendo en cuenta la afirmación anterior y luego de encontrar las velocidades reales de sedimentación para las partículas entre 2 y 8 μm, se estableció una relación teórica entre el área de la unidad y la velocidad de sedimentación de la partícula a remover [6]. El A_s se calculó mediante la Ecuación 5 para un rango de caudales a la salida de los canales de sedimentación de 0,85 a 1,5 L/s y variaciones de 0,5 L/s, con ayuda de una hoja de cálculo en Excel.

$$C_s = V_s = \frac{Q}{A_s} \quad \text{(Ec. 5)}$$

Donde,

C_s: Carga superficial (m/s)

Q: Caudal (m^3/d)

A_s: Área superficial (m^2)

Tiempo de retención hidráulico teórico en la unidad-TRH

La eficiencia de la sedimentación no depende únicamente de la tasa superficial o velocidad de sedimentación de la partícula sino también de la altura de sedimentación (h) y del tiempo de retención hidráulico teórico en la unidad-TRH (Ecuación 6), por ello se establecieron estos valores para unidades de sedimentación ideal para las condiciones de la rallandería.

$$TRH = \frac{V}{Q} \quad \text{(Ec. 6)}$$

Donde,

TRH: Tiempo de retención hidráulico (d).

Q: Caudal de operación rallandería (m^3/d).

V: Volumen de sedimentación (m^3).

La altura de sedimentación (h) fue asumida teniendo en cuenta las recomendaciones del Reglamento Técnico del Sector de Agua Potable y Saneamiento Básico – RAS 2000 [15] para el diseño de sedimentadores primarios, donde se sugieren profundidades para las unidades ideales entre 1,5 y 3,0 m aproximadamente, para facilitar los fenómenos de la sedimentación de partículas discretas. En esta parte del análisis, se seleccionaron: 1,0, 1,5 y 2,0 m, para evaluar el comportamiento de las partículas a diferentes alturas de sedimentación.

En el diseño de las unidades de sedimentación ideal se debe considerar flujo uniforme y régimen laminar del fluido, para la aplicación de la ley de Stockes, por ello, en la determinación del tipo de flujo se emplea el número adimensional de Reynolds del fluido (Re*) (Ecuación 7), clasificando el flujo en régimen laminar (Re < 2.000) y turbulento (Re > 2.000) [11].

El Re depende del área superficial del sedimentador, así que para el cálculo se empleó el A_s que se denominó crítica (área superficial necesaria para garantizar la velocidad de sedimentación de la partícula de menor tamaño, evaluada con el máximo caudal 1,5 L/s en este caso).

$$Re^{(*)} = \frac{Q}{v \times a \times 2h} \quad \text{(Ec. 7)}$$

Donde,

$Re^{(*)}$: número de Reynolds del fluido.

v: Viscosidad dinámica (m^2/s).

Q: Caudal de operación rallandería (m^3/s).

a: Ancho del sedimentador (m).

h: Altura del sedimentador (m).

Una vez establecido el tipo de régimen de flujo y con el área crítica superficial, se determinó el volumen del sedimentador (Ecuacións 8) para las diferentes profundidades de sedimentación, que finalmente, permitieron calcular el TRH asociado a diferentes alturas y caudales de operación.

$$V = A \times h \quad \text{(Ec. 8)}$$

RESULTADOS

Velocidades de sedimentación

El comportamiento de las velocidades de sedimentación de las partículas de almidón entre 2 y 8 μm estudiadas bajo el principio de Stockes, se presenta en el Cuadro 1.

Estos valores, mostraron una tendencia de crecimiento proporcional al tamaño de las partículas, las cuales, presentaron números de Reynolds (Re) menores a 1, indicando que todas poseen un régimen de flujo la-

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (81-89) Julio - Diciembre 2014

Cuadro 1. Velocidad de sedimentación y Re partícula.

Ø (μm)	V_s (cm/min) teórica	Re	c_D	V_s^* (cm/min) Real
2	0,007	2,48E-06	9,70E+06	0,007
2,2	0,008	3,29E-06	7,28E+06	0,008
2,4	0,010	4,28E-06	5,61E+06	0,010
2,6	0,012	5,44E-06	4,41E+06	0,012
2,8	0,014	6,79E-06	3,53E+06	0,014
3	0,016	8,35E-06	2,87E+06	0,016
3,2	0,018	1,01E-05	2,37E+06	0,018
3,4	0,020	1,22E-05	1,97E+06	0,020
3,6	0,023	1,44E-05	1,66E+06	0,023
3,8	0,025	1,70E-05	1,41E+06	0,025
4	0,028	1,98E-05	1,21E+06	0,028
4,2	0,031	2,29E-05	1,05E+06	0,031
4,4	0,034	2,64E-05	9,11E+05	0,034
4,6	0,037	3,01E-05	7,97E+05	0,037
4,8	0,040	3,42E-05	7,01E+05	0,040
5	0,044	3,87E-05	6,21E+05	0,044
5,2	0,047	4,35E-05	5,52E+05	0,047
5,4	0,051	4,87E-05	4,93E+05	0,051
5,6	0,055	5,43E-05	4,42E+05	0,055
5,8	0,059	6,04E-05	3,98E+05	0,059
6	0,063	6,68E-05	3,59E+05	0,063
6,2	0,067	7,37E-05	3,25E+05	0,067
6,4	0,072	8,11E-05	2,96E+05	0,072
6,6	0,076	8,90E-05	2,70E+05	0,076
6,8	0,081	9,73E-05	2,47E+05	0,081
7	0,086	1,06E-04	2,26E+05	0,086
7,2	0,091	1,15E-04	2,08E+05	0,091
7,4	0,096	1,25E-04	1,91E+05	0,096
7,6	0,101	1,36E-04	1,77E+05	0,101
7,8	0,106	1,47E-04	1,63E+05	0,106
8	0,112	1,58E-04	1,51E+05	0,112

* Re < 1: Flujo laminar

minar; con esto se garantizó exactitud en el valor del coeficiente de arrastre y un cálculo adecuado de la velocidad de sedimentación para las mismas.

Las velocidades de sedimentación variaron entre 0,007 y 0,112 cm/min, valores acordes al estudio de [6] para tamaños entre 4 y 27 μm, quienes reportaron que en los primeros 112 m de canales de sedimentación, la concentración de partículas y las velocidades de sedimentación son mayores, mientras en los últimos 53 m las partículas encontradas variaban entre 2 y 8 μm y su concentración era menor, siendo los fenómenos más comunes la sedimentación de partículas discretas y floculentas.

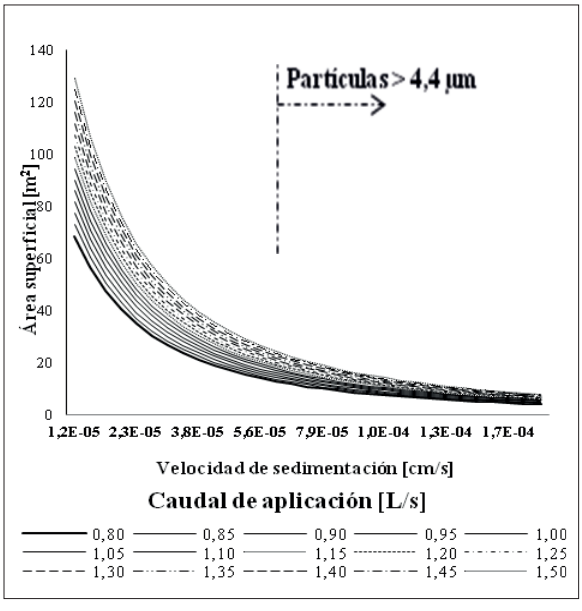
Se espera que a medida que el tamaño de las partículas de almidón disminuye, las fuerzas gravitacionales se hacen menos importantes mientras que las fuerzas hidrodinámicas adquieren mayor relevancia para su sedimentación; es así como las partículas que no son retenidas en los canales (2 a 8 μm), catalogadas como micro-partículas, por efecto de su disminución de tamaño, aumentan la superficie en contacto con el fluido, lo que implicaría una aglomeración de éstas [16].

Área superficial

En la Figura 3 se muestra el comportamiento de las áreas superficiales encontradas para las diferentes velocidades de sedimentación teniendo en cuenta el rango de caudales de operación de la rallandería en estudio (0,8 a 1,5 L/s) Se observa una relación inversamente proporcional entre el tamaño de las partículas y el requerimiento de área, donde el tamaño de la partícula y el caudal de operación afectan sustancialmente el área superficial de sedimentación.

Las áreas superficiales estimadas implican zonas excesivamente grandes para obtener una completa sedimentación de partículas. Ésta aumentaba a medida que el tamaño de partícula disminuía, haciéndose más notorio

Figura 3. Área superficial asociada a V_s.



para las partículas de diámetro menores a 4,4 μm, pues se observó que a partir de este tamaño la gráfica presentó una caída abrupta en su comportamiento, indicando que las partículas menores son la que limitan el proceso de sedimentación. Respecto a los diferentes caudales evaluados, el área requerida es mayor a medida que los caudales aumentan, siendo el más crítico 1,5 L/s.

Considerando como críticos el mayor caudal de operación (1,5 L/s[1]) y el menor tamaño de partícula (2 μm) a remover, el área superficial necesaria para su sedimentación debería ser del orden de 1.288 m^2, situación inviable considerando la poca disponibilidad de terreno en la zona de estudio y los altos costos que implicarían la construcción de una estructura de estas dimensiones.

Tiempo de retención hidráulico teórico en la unidad-TRH

El área superficial y el caudal de operación implican un TRH para la sedimentación del material, por ello se evaluaron diferentes alturas de sedimentación, que garantizaran la existencia de régimen de flujo laminar. En las Figuras 4 y 5 se presentan los valores de régimen de flujo y TRH asociados a las alturas 1,0; 1,5 y 2,0 m, con el objetivo de contrastar la diferencia generada al emplear cada una en el cálculo.

Los números de Reynolds para las profundidades asumidas estuvieron por debajo de 2.000 implicando régimen laminar para el flujo del sobrenadante de los canales de sedimentación del almidón, lo que permitió chequear el cumplimiento de las condiciones para aplicar la ley de Stockes.

Con estos resultados, es factible la utilización de las diferentes alturas evaluadas para el diseño del sedimentador, pues cumplen los requerimientos hidráulicos necesarios en la sedimentación del material a remover mediante fenómenos de partículas discretas; sin embargo, los TRH (días) encontrados en la Figura 5, presentaron una disminución de su valor a medida que el caudal aumentó y el volumen del tanque disminuyó. Se obtuvo un máximo de 37 días (Ø de 2 μm, volumen de 2.575 m^3 y caudal de 0,8 L/s) y un mínimo de 10 días (Ø de 8 μm, volumen de 1288 m^3 y caudal de 1,5 L/s), siendo este último el más favorable para el tratamiento, pues implica una menor profundidad (1,0 m) y reducción en el volumen del tanque a construir.

Figura 4. Re a láminas de agua de 1,0; 1,5 y 2,0 m.

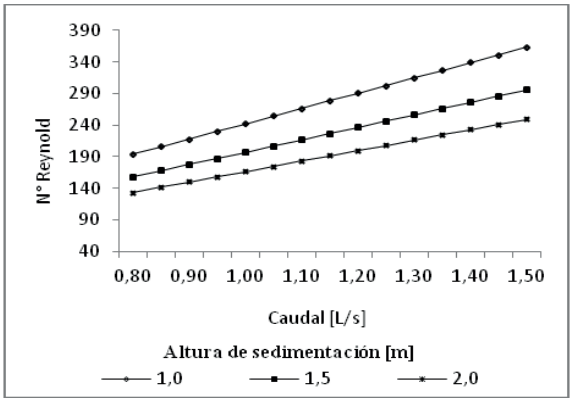
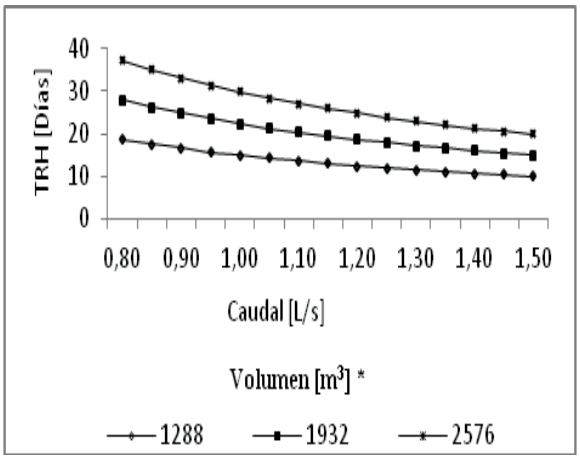


Figura 5. TRH a diferentes volúmenes de tratamiento asociados a láminas de agua de 1,0; 1,5 y 2,0 m .



En las rallanderías como la estudiada, el sobrenadante de los canales es conducido a tanques (denominados tanques de sedimentación de mancha) que operan con TRH menores a 24 horas, lo que indica la baja retención de estas partículas en estas unidades. En estudios exploratorios sobre el comportamiento del fluido al interior del tanque de sedimentación de la mancha, la OPS [18] encontró que el caudal tratado en el tanque no supera los 0,4 L/s, al existir una estructura de rebose encargada de controlar el volumen de agua que permanece en el tanque, por lo que más del 50% del sobrenadante de los canales sería conducido directamente a la fuente de agua superficial o a la planta de tratamiento de aguas residuales (si existe), pues en la rallandería se generan caudales hasta 1,44 L/s valor que se encuentra por encima del retenido en el tanque de sedimentación.

El TRH encontrado por la OPS [17], generalmente es inferior a 6 horas, por lo que no se logra superar el tiempo teórico requerido para la sedimentación de las partículas entre 2 y 8 μm, los cuales varían entre 10 y

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (81-89) Julio - Diciembre 2014

37 días. Se puede establecer que la estructura de sedimentación de la mancha tiene poca influencia en la separación de las partículas presentes en el sobrenadante de los canales de sedimentación del almidón, al no cumplir con los requerimientos hidráulicos necesarios.

A pesar de la factibilidad de aplicar de manera ideal los resultados obtenidos para la sedimentación de partículas a través de sedimentadores convencionales, en una estructura que cuente con área superficial de 1.288 m^2, altura de 1,0 m y TRH de 10 días aproximadamente, a nivel real no es económica y tecnológicamente viable, teniendo en cuenta que estas estructuras se sugieren para remover partículas entre 0,2 mm y 0,05 mm [16, 17], por lo tanto es recomendable evaluar una forma de separación de partículas entre 2 y 8 μm de manera más eficiente.

De esta manera, las partículas entre 2 y 8 μm para ser retenidas con mayor eficiencia requieren de mecanismos diferentes a la sedimentación convencional e incluso a la sedimentación de alta tasa, la cual fue evaluada por Ayala [18] empleando módulos con ductos de sección cuadrada en donde se encontró que dichas estructuras no permiten mejorar la eficiencia de remoción de material sedimentable.

CONCLUSIONES

Las partículas que no se retienen en la etapa de sedimentación en canales en el proceso de extracción de almidón de yuca, comúnmente denominadas mancha, presentan tamaños entre 2 y 8 μm; la modelación teórica de la sedimentación de las mismas, mostró velocidades de sedimentación entre 0,007 y 0,112 cm/min.

Para lograr la separación de las partículas menores en forma convencional, se requeriría un área superficial de 1.288 m^2, altura de 1,0 m y TRH de 10 días aproximadamente, condiciones de difícil obtención por los altos costos y requerimientos excesivos de área que implicaría.

Dado que estas partículas se caracterizan por presentar un elevado nivel proteico, lo que puede hacerlas potencialmente aprovechables como alimento para porcinos y bovinos y para la obtención de compost entre otras actividades, se recomienda evaluar alternativas más eficientes que la sedimentación convencional o de alta tasa. Esta separación también permitiría evitar contaminar los cuerpos receptores de estos efluentes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar sus agradecimientos a la Universidad del Valle y Colciencias por el apoyo económico otorgado para la realización del proyecto “Producción Limpia aplicada al proceso de extracción de almidón de yuca” y al propietario de la rallandería Piedras Negras, donde fue desarrollado el estudio.

REFERENCIAS

[1] ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca. Boletin de servicios agrícolas de la FAO [online]. 2007. ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1028s/a1028s.pdf. [citado 24 octubre 2010].

[2] OSPINA, B. Producción de mandioca y almidón en América. Tendencias y futuro de la producción. Resultado de investigaciones en el sector. Asunción (Paraguay): Seminario Internacional de Mandioca y Almidón, 2012, 39 p.

[3] ARISTIZÁBAL, J., SÁNCHEZ, T. y MEJÍA, D. Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca. Roma (Italia): Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO, 163, 2007, p. 1-13.

[4] TORRES, P., PÉREZ, A., MARMOLEJO, L.F., ORDOÑEZ, J.A. y GARCÍA, R.E. Una mirada a la agroindustria de extracción de almidón de yuca, desde la estandarización de procesos. Revista EIA, 14, 2010, p. 23-38.

[5] SAJEEV, M.S., KAILAPPAN, R., SREENARAYANAN, V.V. and THANGAVEL, K. pH-Postharvest Technology: Kinetics of Gravity Settling of Cassava Starch in its Aqueous Suspension. Journal of Biosystems Engineering, 83(3), 2002, p. 327-337.

[6] TORRES-LOZADA, P., MARMOLEJO, L. and CAJIGAS, A. Cassava starch separation: evaluation of sedmientation by gravity in channels. Ingeniería e investigación, 34(1), 2014, p. 42-47.

[7] BALLESTEROS, C.A.C. y VERGARA, U.E. Estudio de la Sedimentación del Residuo Mancha en el Proceso de Extracción de Almidón Agrio de Yuca. Revista Ingeniería Hoy, 26, 2007, p. 20-26.

[8] MARMOLEJO, L.F., PÉREZ, A., TORRES, P., CAJIGAS, A.A. and CRUZ, C.H. Utilization of the solid wastes generated in small scale cassava starch production. Livestock Research for Rural Development, 20(7), 2008, p. 1–17.

[9] PÉREZ, A., TORRES, P. y SILVA, J. Tratamiento anaerobio de las aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca: optimización de variables ambientales y operacionales. Revista Dyna, 76(160), 2009, p. 139-148.
[10] COLIN, X., FARINET, J.L., ROJAS, O. and ALAZARD, D. Anaerobic treatment of cassava starch extraction wastewater using a horizontal flor filter with bamboo as support. Journal of Bioresource Technology, 98(8), 2007, p. 1602-1607.
[11] RICHTER, C.A. Água: Métodos e tecnologia de tratamento. 1 ed. São Paulo (Brasil): Blucher, 2009, 340 p.
[12] SPELLMAN, F.R. Handbook of water and wastewater treatment plant operations. 2 ed. Boca Ratón (Estados Unidos): CRC Press Taylor & Francis Group, 2009, 826 p.
[13] DI BERNARDO, L. e SABOGAL-PAZ, L.P. ,eleção de tecnologias de tratamento de água, São Paulo (Brasil): LDiBe Ltda. Ed, 2009. 1560 p.
[14] YANG, C.Y., DING, Y., YORK, D. and BROECKX, W. Numerical simulation of sedimentation of microparticles using the discrete particle method. Journal of Particuology, 6(1), 2008, p. 38-49.
[15] COLOMBIA. MINISTERIO DE DESARROLLO ECONÓMICO. Resolución 1096: Reglamento Técnico del Sector de Agua Potable y Saneamiento Básico (RAS) 2000. Bogotá (Colombia): 2000.
[16] SALINAS, G., RUIZ, I. y BABICK, F. Análisis de la función de corrección de la velocidad de sedimentación para micropartículas. Revista Chilena de Ingeniería, 15(3), 2007, p. 283-290.
[17] PERÚ. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD - OPS. Guía para el diseño de desarenadores y sedimentadores. Lima (Perú): 2005, 34 p.
[18] AYALA, D. Evaluación de la separación física del almidón y de la mancha en el proceso de extracción de almidón agrio de yuca [Tesis Ingeniería Sanitaria]. Cali (Colombia): Universidad del Valle, Facultad de Ingeniería Cali, 2005, 65 p.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (90-96) Julio - Diciembre 2014

PROPIEDADES FUNCIONALES DEL ALMIDON DE SAGU (*Maranta arundinacea*)

FUNCIONALES PROPERTIES SAGO STARCH (*Maranta arundinacea*)

PROPRIEDADES FUNCIONAIS DO AMIDO DE ARARUTA (*Maranta arundinacea*)

Clemente Granados C.[1], Luis Enrique Guzman C.[2], Diofanor Acevedo C.[3]*, María Díaz M.[4], Ana Herrera A.[4]

RESUMEN

El sagú (Maranta arundinacea) cuyo rizoma es utilizado en algunas zonas de Colombia para la elaboración de productos destinados a la alimentación humana. Se extrajo el almidón y se determinaron las propiedades funcionales, los almidones presentaron alta capacidad de retención de agua % CRA (162,8% para el sagú, respecto al 226% de la yuca), un alto índice de absorción de lípidos, % I.A.L (51% para sagú, respecto al 82,25% del almidón de yuca. La temperatura de gelatinización es relativamente baja (65-75ºC a 10 minutos para sagú respecto al almidón de yuca con 70-75ºC en 20 minutos), posee un alto porcentaje de amilopectina (77% para el almidón de sagú, en comparación con 83,3% para el almidón de yuca) por tanto es un gel que no retrograda y forma una pasta estable. Por lo que se concluye que se puede usar como alternativa promisoria en la industria alimentaria.

ABSTRACT

Maranta arundinacea sago whose rhizome is used in parts of Colombian for the production of products intended for human consumption. Starch was extracted and

Recibido para evaluación: 14 junio de 2012 . **Aprobado para publicación:** 3 febrero de 2014

1 Universidad de Cartagena. M. Sc. Ciencia y Tecnología de Alimentos, Docente del Programa Ingeniería de Alimentos. Cartagena, Colombia.

2 Universidad de Cartagena. Esp. Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Docente del Programa Ingeniería de Alimentos. Cartagena, Colombia.

3 Universidad de Cartagena, Programa Ingeniería de Alimentos. Ph. D. Ingeniería Alimentos, Docente Facultad de Ingenierías. Cartagena, Colombia.

4 Universidad de Cartagena. Ingeniera de Alimentos. Cartagena, Colombia.

Correspondencia: diofanor3000@gmail.com

determined the functional properties of starches presented high water capacity % CRA (162,8% for sago, compared to 226% of cassava), a high rate of absorption of lipids % I.A.L (51% for sago, compared to 82,25% of cassava starch). Gelatinization temperature is relatively low (65-75ºC at 10 minutes compared to sago starch cassava with 70-75ºC in 20 minutes), has a high percentage of amylopectin (77% for sago starch, compared with 83,3% for cassava starch) is a gel so that no retrograde and from a stable paste. As it is concluded that can be used as an alternative promising in the food industry.

RESUMO

Maranta arundinacea araruta cujo rizoma é usado em partes da Colômbia para a produção de produtos destinados ao consumo humano. O amido foi extraído e determinado propriedades funcionais de amidos apresentado de água de alta-segurando% CRA capacidade (162,8% Para sagu, em comparação com 226% demandioca), uma alta taxa de absorção de lípidos %IAL (51% para *araruta*,em comparaçãocom 82,25% de fécula de Mandioca. A temperatura de gelatinização é relativamente baixa (65-75°C durante 10 minutos em comparação com sagu amido de mandioca com 70-75°C em 20 minutos), tem uma elevada percentagem de amilopectina (77% para o amido de sagu, em comparação com 83,3% de fécula de mandioca), por conseguinte, é um gel que se forma uma pastaretrógrada e estável. Como conclusão de que pode ser usado como uma alternativa promissora na indústria alimentar.

PALABRAS CLAVE:
Espuma, Solubilidad, Rizoma, Hinchamiento, Amilopectina.

KEYWORDS:
Foam, Solubility, Rhizome, Swelling, Amylopectin.

PALAVRAS-CHAVE):
Espuma, Solubilidade, Rizoma, Amilopectina, Inchaço.

INTRODUCCIÓN

Sagú (*Maranta arundinacea L.)* es una planta de la familia *Marantaceae*, reconocida como una manifestación de la biodiversidad silvestre y cultivada en el neotrópico, desde Panamá hasta Ecuador [1, 2, 3, 4]. Se propaga por rizomas (tallos subterráneos) cilíndricos, tuberosos y carnosos tradicionalmente utilizados para la fabricación de harina, almidón y afrecho y como fuente para alimentación de humanos y animales [1, 2]. De su familia, la *M. arundinacea* es la de mayor importancia económica, ya que sus raíces y tubérculos se utilizan como una fuente de almidón [1]. Las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los almidones de los vegetales promisorios estarán influenciadas en gran medida por sus estructuras granular y molecular [5].

El uso del almidón en la formulación y aplicaciones industriales dependen de propiedades como: Gelatinización, retrogradación; solubilidad, hinchamiento, absorción de agua, sinéresis y comportamiento reológico de sus pastas y geles [5]. El objetivo del presente trabajo fue la extracción y caracterización fisicoquímica y funcional del almidón de sagú (*M. arundinacea)*.

MÉTODO

El almidón de yuca utilizado en este trabajo como patrón de comparación es del tipo industrial y se adquirió en una distribuidora de productos químicos de la ciudad de Cartagena (Bolívar–Colombia).

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (90-96) Julio - Diciembre 2014

Obtención del almidón de sagú

Para la obtención del almidón, de las muestras de sagú, se siguió la metodología propuesta por el CORPOICA [6].

Lavado. Los rizomas se depositaron en un tanque y se remojaron durante una hora para que la tierra se ablande. Luego, con la ayuda de una pala de madera se agitaron hasta lograr el desprendimiento de la tierra, la arena y demás impurezas. A continuación se dejó el tanque en reposo para lograr la sedimentación de las impurezas pesadas y por encima de manera manual se retiraron las impurezas livianas que flotan en la superficie del agua. En este momento se retiró el agua con los lodos y el tanque se volvió a cargar con agua limpia y se repitieron las operaciones de agitación de los rizomas y sedimentación de las impurezas hasta que el agua salió limpia.

Rallado de los Rizomas. Para liberar el almidón de las células del rizoma es necesario romperlas, esto se realizó con el rallado donde la fibra se corta rompiendo las paredes celulares. El rallado se realizó manualmente con ralladores metálicos. Para la operación de tamizado se utilizó un marco de madera, con una malla de tela fina y resistente *(muselina)* soportada por una malla metálica. Este tamiz se coloca sobre canecas metálicas o plásticas, en las cuales se recibe el agua con el almidón en suspensión o "lechada".

Extracción del almidón. Para la extracción del almidón se siguió la metodología empleada por Hernández-Medina y sus colaboradores [2]. Los rizomas de sagú, se pelaron y rayaron; la masa resultante del rayado se depositó en unos recipientes con solución de bisulfito de sodio a 1.500 ppm de SO_2, en una relación 1:1 (v/v). Posteriormente, la lechada de almidón fue filtrada a través de un tamiz (Montinox, México®) de 80 μm de apertura de malla, eliminando la fibra. El filtrado se dejó sedimentar a 4°C, durante 4 h. Transcurrido este tiempo, la mayor parte del líquido sobrenadante se eliminó por sifoneo y la lechada de almidón se lavó tres veces con agua destilada; luego del último lavado se centrifugó a 2500 rpm, durante 12 min con la finalidad de recuperar el almidón. Posteriormente, se secó en una estufa de convección a 55°C durante 24 h y el producto obtenido fue molido usando un molino analítico (IKA, Alemania®) y tamizado a 100 μm. La muestra de almidón fue almacenada en frascos de vidrio con tapa hermética a temperatura ambiente (21-24ºC) para su posterior análisis.

Lavado del Almidón. El principal objetivo de esta operación fue obtener un almidón de buena calidad, desde el punto de vista de presentación, libre de residuos e impurezas. El lavado del almidón consistió en operaciones sucesivas de adición de agua, decantación del almidón y evacuación del agua.

Secado del Almidón. Después del lavado se realizó la operación de secado, para eliminar parte de la humedad del almidón. El secado del almidón se efectuó mediante la exposición a los rayos del sol, extendiéndolo en bandejas metálicas.

Empaque y Almacenamiento. Luego de secado, el almidón es recogido, desterronado y empacado en bolsas plásticas por libras.

Caracterización química

Los análisis realizados a los almidones de yuca y de sagú fueron: Humedad (Método 925.09), proteína cruda (Método 954.01), grasa cruda (método 920.39), fibra cruda (método 962.09), cenizas (método 923.03) y carbohidratos totales como Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) [7].

Estabilidad en refrigeración y congelación

Para evaluar la estabilidad en refrigeración y congelación se aplicó el método propuesto por Hernández-Medina y sus colaboradores [2]. Se realizó la gelificación y el almacenamiento a 4 y -10°C, respectivamente, luego se centrifugó y midió el agua separada del gel de almidón en períodos de 24 horas durante 240 h.

Solubilidad y la capacidad de hinchamiento

Para determinar la solubilidad y la capacidad de hinchamiento de los almidones se empleó la metodología propuesta por Hernández-Medina y sus colaboradores [2].

Capacidad de retención de agua (CRA)

Para determinar esta propiedad, se adicionó a un tubo de centrifuga 20 mL de la dispersión de almidón al 1% (p/p), se agitaron y colocaron en baño de maría a 80ºC durante 15 min, con agitación durante 5 y 10 minutos. Posteriormente, los tubos fueron centrifugados a 2300 rpm/15 min utilizando una centrifuga marca Wheaton, RMC 2®. El sobrenadante fue decantado y los tubos dejados en reposo. Después de 10 minutos los tubos

fueron drenados. Posteriormente fueron pesados y la ganancia en peso fue utilizada para calcular la capacidad de retención de agua según Bryant y Hamaker [8] (ecuación 1).

$$\%\text{C. R. A.} = \frac{ml\ de\ agua\ retenida}{gramos\ de\ muestra} \text{x} 100\% \qquad \text{(Ec.1)}$$

Determinación de la Viscosidad

Para determinar la viscosidad de las muestras se utilizó la técnica aplicada por Valdés y sus colaboradores [1]. Donde se empleó un viscosímetro Brookfield DV-E para leer la viscosidad en centipoises (cP). La viscosidad de un gel de almidón preparado por calentamiento indirecto es medida como una fuerza de torsión sobre una aguja rotante con temperatura y velocidad constante [9].

Densidad Aparente

La densidad aparente del almidón puede ser determinada utilizando la relación entre el peso del almidón que ocupa un volumen conocido [9], empleando la técnica usada por Smith y Bemiller [10].

Índice de absorción de lípidos (I.A.L)

Representa la cantidad de aceite adsorbida por 100 g de concentrado proteico [2]. Se utilizó la técnica empleada por Granito y sus colaboradores [11], en la cual se agregó un exceso de aceite (3 mL) a 0,5 g de muestra en tubos graduados de centrifuga, los cuales se agitaron por un minuto; luego se colocaron a 24ºC por 30 min y posteriormente se centrifugó a una velocidad de 3200 rpm, para finalmente medir el volumen de aceite excedente. El I.A.L se calcula mediante la ecuación 2.

$$\%I.A.L. = \frac{ml\ de\ aceite\ absorbido}{gramos\ de\ muestra} x100 \qquad \text{(Ec.2)}$$

Capacidad emulsificante

Para determinar ésta propiedad se utilizó la técnica empleada por Granito y sus colaboradores [11]. Para ello se mezcló 1 g de la muestra con 20 mL de agua, seguidamente se agitó durante 15 min ajustándose a pH 7,0 y por último se completó el volumen a 25 mL con agua destilada. Posteriormente, se mezclaron en una licuadora Oster (mod. 465) 25 mL de esta solución con 25 mL de aceite de maíz. El producto obtenido se centrifugó a 1300 rpm durante 5 min. La altura de la capa emulsificada con respecto al total del líquido se expresó en términos de porcentaje [12].

Capacidad espumante y estabilidad de la espuma

Para cuantificar estas propiedades funcionales se mezclaron 2 g de muestra con 100 mL de agua por 5 min a velocidad máxima, en una licuadora Oster (mod 465). Transcurrido este tiempo, se transfirió a un cilindro graduado y se midió el volumen final a los 30 s [13]. La capacidad espumante se expresó como el porcentaje de aumento en volumen, y la estabilidad de la espuma se midió a intervalos de tiempo de 10 y 30 min.

Temperatura de Gelatinización

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría; cuando estos se calientan en solución a temperaturas altas alcanzan una temperatura específica en la cual se inicia el hinchamiento de los gránulos. Esta temperatura es llamada temperatura de gelatinización [13]. Para medir la temperatura de gelatinización se empleó la técnica aplicada por Garnica [14]. Por lo cual se procedió a pesar 10 g de almidón, los cuales se disolvieron en agua destilada e inmediatamente se completó su volumen hasta 100 mL. Adicionalmente en un vaso de precipitados de 250 mL se calentó agua a 85°C; de la suspensión del almidón en agua se tomaron 50 mL y se transfirieron a un vaso de precipitados de 100 mL el cual se introdujo en el vaso de precipitados con el agua a 85°C; la suspensión de almidón se agitó constantemente hasta que se formó una pasta, registrando constantemente la temperatura con un termómetro hasta que ésta permaneció estable por unos segundos tomándose esta lectura como la temperatura de gelatinización. Los Valores de referencia para la temperatura de gelatinización en almidones de yuca varían entre 57,5 y 70°C.

RESULTADOS

Obtención del almidón y análisis fisicoquímico

El contenido de proteína de los almidones evaluados mostró diferencia estadística $p<0,05$. En la cuadro 1 se listan las composiciones de los dos almidones. Los bajos contenidos de proteína cruda del almidón de yuca 0,062%, se encuentran dentro del nivel permitido por la FDA para almidones de maíz (0,35%), los cuales los hacen factibles para la producción de jarabes con

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (90-96) Julio - Diciembre 2014

Cuadro 1. Composición química de los almidones.

% Componentes	Yuca	Sagú
Humedad	9,5	10,4
Proteína cruda	0,062	0,65
Grasa cruda	0,20	0,36
Fibra cruda	1,02	0,06
Cenizas	0,30	0,21
ELN	98,5	98,71

alto contenido de glucosa, evitándose así las reacciones de Maillard que se pueden presentar durante el proceso de producción de estos productos [2].

Estabilidad a la refrigeración y congelación

La evaluación de la estabilidad a la refrigeración y congelación consiste en verificar la expulsión del agua o sinéresis, contenida en los geles como consecuencia de la reorganización de las moléculas de almidón [2]. El almidón de yuca almacenado a temperatura de refrigeración de 4°C presentó una sinéresis de solo un 2%; menor que la presentada a temperatura de -10°C con un 2,6%.

Mientras que el almidón de Sagú presentó mayor sinéresis en el último día de almacenamiento en refrigeración, con 6% (cuadro 2) de agua expulsada, y en congelación la sinéresis fue más alta que en refrigeración y aumento con los días de almacenamiento, teniendo 10% (cuadro 3) de agua expulsada en el último día. SONI& SHARMA [2] mencionan que cuando los almidones se someten a sucesivos ciclos de congelación, su estructura se ve afectada, ya que hay una redistribución y dilución de las pastas de almidón por el crecimiento y disolución de los cristales de hielo. De acuerdo con estos resultados, los almidones de sagú pueden ser utilizados en aquellos alimentos que requieren ser almacenados en refrigeración y necesitan cierta exudación de humedad para proporcionar una apariencia fresca, como los flanes o salsas.

Solubilidad

Los resultados obtenidos muestran que el sagú tiene más baja solubilidad, que la yuca (cuadro 4). Este comportamiento también puede deberse al tamaño del granulo y la organización supra molecular de los componentes del almidón. El índice de solubilidad del almidón es la capacidad de reaccionar con agua y disolverse en ella, igualmente indica el grado de asociación existente (enlace intra-granular) entre los

Cuadro 2. Estabilidad a la refrigeración de almidones.

Días	% Sinéresis yuca	% Sinéresis Sagú
2	0	2
4	1	3
10	2	6

Cuadro 3. Estabilidad a la congelación (–10,C).

Día	% Sinéresis yuca	% Sinéresis Sagú
2	0	5
4	2	7
10	2.6	10

Cuadro 4. Determinación de solubilidad.

Tipo de almidón	Solubilidad (g/100 mL)
Sagú	4
Yuca	7

polímeros del almidón- amilosa/amilopectina [15]. El almidón de sagú mostró un bajo índice de solubilidad de 4 muy inferior al de la yuca con 7, lo que indica que se requiere una temperatura superior a 60°C para que los gránulos de almidón de sagú absorban agua.

Hinchamiento

El poder de hinchamiento se relaciona con la capacidad de absorción de agua de cada almidón. El poder de hinchamiento de los almidones es una propiedad de su contenido de amilopectina, siendo la amilosa un diluyente e inhibidor del hinchamiento [14]. Debido a lo anterior, el almidón de yuca fue el que presentó mayor poder de hinchamiento. (cuadro 5).

Capacidad de retención de agua

En los resultados obtenidos el porcentaje de retención de agua del sagú es inferior al de la yuca. Por lo anterior los datos obtenidos pueden ser atribuidos a la diferencia en la relación amilosa/amilopectina, así como también a la diferencia en la distribución en la longitud de la cadena como fue reportado en otros almidones [2]. (cuadro 6).

Cuadro 5. Capacidad de hinchamiento (% C.H.)

Tipo de almidón	% C.H.
Sagú	106
Yuca	112,7

Viscosidad

El almidón de sagú nativo presento los valores más altos de viscosidad en comparación con el almidón de yuca. (cuadro 7).

En la cuadro 8 se observa como la densidad aparente del almidón de yuca y el sagú no son tan significativas, acercándose a la del agua.

Contenido de amilosa y amilopectina

En la cuadro 9 se puede observar que el almidón de sagú tiene mayor porcentaje de amilosa; lo que indica que es más soluble y tiene mayor tendencia a presentar sinéresis que el de yuca.

Capacidad espumante

Estos resultados son similares a los obtenidos por Zhao y Wistler [16] puesto que la capacidad de espuma es baja en comparación con la de harina de trigo, pero es más alta la del almidón de sagú que el de yuca. Esta espuma es cremosa y de mayor estabilidad, lo que podría explicarse por el mayor porcentaje de proteínas en el sagú para incorporar aire, y reducir la tensión interfacial. (cuadro 10).

Índice de absorción de lípidos

La Cuadro 11 muestra que el índice de absorción de lípidos del almidón de sagú es inferior en comparación con el almidón de yuca.

Gelatinización

En la cuadro 12 se observa que el almidón de sagú gelifica a temperaturas y tiempos menores que el almidón de yuca. Estos datos concuerdan con los obtenidos por Shao y Tseng [17]. La gelatinización va a depender en alto grado del origen botánico del almidón, ya que este determina la relación entre las fracciones amilosa y amilopectina. Estos resultados surgieren la posibilidad de usar este almidón en la industria de alimentos y farmacéutica.

Cuadro 6. Capacidad de retención de agua.

Tipo de almidón	% C.R.A
Sagú	162,8
Yuca	226

Cuadro 7. Determinación de viscosidad.

Tipo de almidón	Viscosidad
Sagú	0,338
Yuca	0,344

Cuadro 8. Densidades aparentes.

Tipos de almidón	Densidad aparente (g/mL)
Sagú	0,97
Yuca	0,98

Cuadro 9. Capacidad de hinchamiento.

Grano	% Amilosa	% Amilopectina
Sagú	23	77
Yuca	16,7	83,3

Cuadro 10. Capacidad espumante.

Espuma	Sagú	Yuca
Volumen inicial de la espuma ml	3	2
Volumen final de la espuma ml	1	0
Estabilidad % a 10 min	34	0
Estabilidad % a 30 min	34	0

Cuadro 11. Índice de absorción de lípido.

Tipo de almidón	Aceite retenido (ml)	% I.A.L
Sagú	0,9	51
Yuca	1,4	82,25

Cuadro 12. Capacidad de gelatinización.

Tipo de almidón	Tiempo (Min)	Temperatura (ºC)
Sagú	10	65-75
Yuca	20	70-75

CONCLUSIONES

Los almidones presentaron alta capacidad de retención de agua, un alto índice de absorción de lípidos, la temperatura de gelatinización es relativamente baja, el almidón de sagú posee un alto porcentaje de amilopectina, por tanto, es un gel que no retrograda y forma una pasta estable. En general las propiedades fisicoquímicas y funcionales obtenidas anteriormente indican que el almidón de sagú se puede usar como alternativa promisoria en la industria alimentaria.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (90-96) Julio - Diciembre 2014

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos al grupo de Investigaciones Proyectos Alimentarios (PROAL) del programa Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Cartagena.

REFERENCIAS

[1] VALDÉS, M., ORTIZ, S. y SÁNCHEZ, T. Morfología de la planta y características de rendimiento y calidad de almidón de sagú. Acta Agronómica, 59(3), 2010, p. 372-380.

[2] HERNÁNDEZ-MEDINA, M., TORRUCO-UCO, J., CHEL-GUERRERO, L. and BETANCUR-ANCONA, D. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 28(3), 2008, p. 718-726.

[3] PIPERNO, D. Identifying crop plants with phytoliths (and starch grains) in Central and South America: a review and an update of the evidence. Quaternary International, 193(1–2), 2009, p. 146–159.

[4] CHEN, S. and SMITH, S. Phytolith variability in Zingiberales: A tool for the reconstruction of past tropical vegetation. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 370, 2013, p. 1–12.

[5] MONTEIRO, M.V. y VEASEY, E.A. Raíces y tubérculos tropicales olvidados o subutilizados en Brasil. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 3(1), 2009, p. 110-125.

[6] CORPORACIÓN COLOMBIANA DE INVESTIGACIÓN AGROPECUARIA (CORPOICA). El Almidón de Achira o Sagú (*Canna edulis*, *Ker*): Manual Técnico para su Elaboración. Tibaitatá (Colombia): 2003, 33 p.

[7] OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE AOAC INTERNATIONAL (AOAC). 18 th ed. W. Horowitz and G. W. Latimer Jr. Ed. Association of Analytical Chemists. Maryland (United States): 2005, 780 p.

[8] CASTILLO, V.K.C., OCHOA, M.L.A., FIGUEROA, C.J.D., DELGADO, L.E., GALLEGOS, I.J.A., y MORALES, C.J. Efecto de la concentración de hidróxido de calcio y tiempo de cocción del grano de maíz (Zea mays L.) nixtamalizado, sobre las características fisicoquímicas y reológicas del nixtamal. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 59(4), 2009, p. 425-432.

[9] ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). Guía técnica para producción y análisis de almidón de Yuca [online]. Disponible en: https://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1028s/a1028s03.pdf. [Citado 13 de Agosto de 2012].

[10] SMITH, J.R. and BEMILLER, N.J. In: Methods in Carbohydrate. Chemistry. London (England): Academic Press, 1964, p. 233-240.

[11] GRANITO, M., GUINAND, J., PÉREZ, D. y PÉREZ, S. Valor nutricional y propiedades funcionales de *Phaseolus vulgaris* procesada: un ingrediente potencial para alimentos. Interciencia, 34(2), 2009, p. 64-70.

[12] RODRÍGUEZ-MIRANDA, J., RIVADENEYRA-RODRÍGUEZ, J., RAMÍREZ-RIVERA, E., JUÁREZ-BARRIENTOS, J., HERRERA-TORRES, E., NAVARRO-CORTEZ, R. y HERNÁNDEZ-SANTOS, B. Caracterización fisicoquímica, funcional y contenido fenólico de harina de malanga (*Colocasia esculenta*) cultivada en la región de Tuxtepec, Oaxaca, México. Ciencia y Mar, 15(43), 2011, p. 37-47.

[13] GRANITO, M., GUERRA, M., TORRES, A. y GUINAND, J. Efecto del procesamiento sobre las propiedades funcionales de Vigna Sinensis. Interciencia, 29(9), 2004, p. 521-526.

[14] GARNICA, A., PRIETO, L., ROCÍO, A. y CERÓN, M. Características funcionales de almidones nativos extraídos de clones promisorios de papa (*Solanumtuberosum L. subespecie andigena*) para la industria de alimentos. Alimentos Hoy, 19(21), 2010, p. 125-129.

[15] MEDINA, C., PAREDES, A., RODRÍGUEZ, M., MORENO, M., BELÉN-CAMACHO, D., GARCÍA, D. y OJEDA, C. Evaluación de dos métodos de extracción de almidón a partir de cotiledones de mango. Bioagro, 22(1), 2010, p. 67-74.

[16] ZHAO, J. and WISTLER, R. L. Spherical aggregates of starch granules flavor carriers. Food Technology, 48(7), 1994, p. 104-105.

[17] SHAO, Y. and TSENG, K. Gelations mechanism and rheological of rice starch. Cereal Chemistry, 72(4), 1995, p. 393-400.

UTILIZACIÓN DE ALMIDÓN DE MALANGA (*Colocasia esculenta L.*) EN LA ELABORACIÓN DE SALCHICHAS TIPO FRANKFURT

UTILIZATION OF TARO STARCH (*Colocasia esculenta L.*) IN THE ELABORATION OF FRANKFURT SAUSAGES

UTILIZAÇÃO DE AMIDO DE MALANGA (*Colocasia esculenta L.*) NA ELABORAÇÃO DO TIPO SALSICHAS FRANKFURT

ALBERTO LUIS TORRES- RAPELO[1], PIEDAD MARGARITA MONTERO-CASTILLO[2], LESBIA CRISTINA JULIO-GONZÁLEZ.[3]

RESUMEN

El almidón es un importante ingrediente en la industria alimentaria; se utiliza como aglutinante, espesante, gelificante, aglutinante, humectante y texturizante; en la fabricación de salchichas y otros tipos de embutidos cocidos se emplea para dar consistencia al producto. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la sustitución de harina de trigo por almidón de malanga (Colocasia esculenta L.) de las variedades blanca y morada sobre las pérdidas por cocción y aceptabilidad de una emulsión cárnica. Para evaluar las pérdidas por cocción se prepararon tres formulaciones diferentes de salchichas Frankfurt, donde se sustituyó la harina de trigo, en un 50, 75 y 100% por almidón de malanga y un control. Para valorar la aceptabilidad de los productos se empleó un panel de degustación conformado por 50 jueces no entrenados, utilizando una escala hedónica gráfica de 5 puntos. Los resultados mostraron que todos los tratamientos con almidón de malanga presentaron menores pérdidas por cocción que el producto control ($p<0,05$).

Recibido para evaluación: 19 julio de 2013. **Aprobado para publicación:** 25 mayo de 2014

1 M.Sc. Ciencia y Tecnología de Alimentos. Docente, Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, Colombia.

2 M.Sc. Ciencia y Tecnología de Alimentos. Docente Programa Ingeniería de Alimentos. Grupo de investigación NUSCA. Universidad de Cartagena. Cartagena, Colombia.

3 Ingeniera de Alimentos. Joven Investigador. Grupo de investigación NUSCA. Universidad de Cartagena. Cartagena, Colombia.

Correspondencia: pmargaritamontero@hotmail.com , pmonteroc@unicaratgena.edu.co

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (97-105) Julio - Diciembre 2014

Así mismo, la inclusión de almidón de malanga no afectó la aceptabilidad del producto cárnico (p<0,05). Podemos concluir que incorporar almidón de malanga en la industria cárnica como sustancia de relleno y ligante en emulsiones cárnicas tipo salchichas es factible.

ABSTRACT

Starch is an important ingredient in the food industry where it is used as a binder, thickener, gelling agent, agglutinant, humectant, and texturizer. It is also used in the manufacture of sausages and other cooked processed meats to give consistency to the product. This study aimed to evaluate the effect of substitution of wheat flour for taro starch (Colocasia esculenta L.) obtained from white and purple varieties on cooking losses and acceptability of a meat emulsion. To evaluate the cooking losses, three different formulations of Frankfurt sausages were prepared, in which wheat flour was replaced by 50%, 75% and 100% of taro starch and one control. To assess the acceptability of the products was used a taste panel untrained composed of 50 judges and a 5 points-hedonic scale was used. The results showed that all treatments with taro starch had lower cooking losses than the control product (p<0,05). Likewise, the incorporation of taro starch did not affect the acceptability of the meat product (p<0,05). We conclude that taro starch incorporated in the meat industry as filler and thickener in sausages is achievable.

PALABRAS CLAVE:
Aceptabilidad, Emulsión cárnica, Aglutinante, Pérdidas por cocción.

KEY WORDS:
Acceptability, Meat emulsion, Binder, Cooking losses.

PALAVRAS-CHAVE:
Aceitabilidade, Emulsão de carne, Aglutinante, Perdas por cozimento.

RESUMO

O amido é um ingrediente importante na indústria alimentar; é usado como um agente de ligação, turvação, agentes de gelificação, aglutinante, humectante e um texturizador; na fabricação de salsichas e outros salsichas cozidas utilizadas para dar consistência ao produto. Esta pesquisa teve como objetivo avaliar o efeito da substituição do amido de farinha de trigo de taro (Colocasia esculenta L.) variedades de aceitabilidade branco e roxo em perdas de cozinha e de uma emulsão de carne. Para avaliar as perdas de cozinha três formulações diferentes de salsichas onde a farinha de trigo é substituída por 50, 75 e 100% de amido de inhame e um controle foram preparadas. Para avaliar a aceitação dos produtos de um painel gosto composta por 50 juízes não capacitados, usando a 5 pontos escala hedônica gráfica foi utilizada. Os resultados mostraram que todos os tratamentos tiveram menor perda de taro amido cozinhar do que o produto de controle (p<0,05). Do mesmo modo, a inclusão de amido malanga não afectar a aceitabilidade do produto de carne (p<0,05). Podemos concluir que o amido taro incorporados na indústria da carne como um enchimento e aglutinante em carne de salsicha emulsões tipo é viável.

INTRODUCCIÓN

El uso de almidones obtenidos a partir de raíces y tubérculos como materia prima en la elaboración de productos convencionales o en el desarrollo de nuevos productos, se ha convertido en una manera de promover e incre-

mentar la producción y demanda de los mismos [1]. Los almidones de raíces y tubérculos son más fáciles de extraer a diferencia de los almidones de cereales que demandan procesos industrializados más tecnificados [2].

El almidón es una materia prima con un amplio campo de aplicaciones que van desde la manufactura de papel, adhesivos y empaques biodegradables hasta aditivo para algunos alimentos [3]. En estos últimos, tiene múltiples funciones entre las que cabe destacar: adhesivo, ligante, enturbiante, formador de películas, estabilizante de espumas, conservante para el pan, gelificante, aglutinante, glaseante, humectante, texturizante y espesante [4], y se le utiliza en la fabricación de salchichas y otros tipos de embutidos cocidos para dar consistencia al producto [5].

El almidón, además de las características funcionales y sus múltiples aplicaciones, aporta aproximadamente del 70 al 80% de las calorías consumidas por los seres humanos [2], aspectos que lo convierten en el carbohidrato más importante de la industria alimentaria [6].

Mundialmente, la industria alimentaría del sector del almidón ha estado condicionada a unos cuantos cultivos tradicionales: maíz, papa, trigo, arroz y yuca. Desde hace algún tiempo se ha venido estudiando la incorporación en productos alimenticios, de materias primas no convencionales, (harina y almidones) provenientes de raíces y tubérculos de origen local, que sean de importancia comercial y nutricional. En este orden de ideas, la alta demanda que tienen en este momento las materias primas convencionales destinadas a la producción de almidón, convierte a la malanga (*Colocasia esculenta* L.) en una alternativa de fuente de carbohidratos importante para la elaboración de almidones que puedan remplazar a los que hoy se comercializan [7].

En Colombia existe una gran variedad de productos agrícolas que son de vital importancia en la alimentación diaria [2], de los cuales los cereales y los tubérculos proporcionan carbohidratos esenciales en el desarrollo del ser humano; dentro de estos tubérculos se destaca la malanga (*Colocasia esculenta* L.).

La malanga (*Colocasia esculenta* L.) es un tubérculo comestible perteneciente a la familia de las *Araceaes* originario de Asia, de forma ovoide-redonda con una pulpa blanca almidonosa y una cascara de color marrón obscura [6]; su valor radica en su alto contenido de almidón (30-85% base seca), proteínas (1,4-7%) además de ser una buena fuente de fibra (0,6-0,8%), vitamina A, C, calcio y fósforo [6]. En Colombia este producto agrícola es de vital importancia en la alimentación diaria y se constituye en un alimento especialmente energético, por su riqueza en carbohidratos [2].

Los tubérculos de la malanga representan una importante fuente de carbohidratos cuando son consumidos con carne u otros vegetales [8]. Han sido empleados principalmente en la elaboración de frituras y extruidos [9]. Estudios previos sobre las propiedades funcionales del almidón de este tubérculo, sugieren que se abre una vía para su uso industrial en productos cárnicos como salchichas [2, 7].

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la sustitución de harina de trigo por almidón de malanga de las variedades blanca y morada en las pérdidas por cocción y aceptabilidad de salchichas tipo Frankfurt.

MÉTODO

La investigación se llevó a cabo en las plantas pilotos y laboratorios de Bromatología de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD) y de la Universidad Popular del Cesar (UPC) del Departamento de Cesar, Colombia.

Se desarrolló un diseño experimental completamente al azar, con tres repeticiones; cada muestra se analizó por triplicado. Las variables independientes o factores fueron: los agentes de relleno o aglutinante representados por el almidón de malanga de las variedades blanca y morada, y los porcentajes de sustitución: 50%, 75% y 100% y un control con 100% de harina de trigo. Las variables respuestas fueron: las pérdidas por cocción y la aceptabilidad, las cuales, se realizaron por triplicado.

En el cuadro 1 se encuentran ilustrados los tratamientos que se definieron para la elaboración de la salchicha tipo Frankfurt.

Obtención del almidón

Para la obtención del almidón se utilizaron rizomas frescos de malanga blanca y morada procedentes de la Sierra Nevada de Santa Marta, Departamento de Cesar, Municipio de Valledupar - Corregimiento de

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (97-105) Julio - Diciembre 2014

Cuadro 1. Diferentes tratamientos para la elaboración de las salchichas.

Tratamiento	Almidón de Malanga Variedad Banca (%)	Harina de Trigo (%)	Almidón de Malanga Variedad Morada (%)
T1	50	50	0
T2	75	25	0
T3	100	0	0
T4	0	50	50
T5	0	25	75
T6	0	0	100
Control	0%	100%	0%

Mariangola; los cuales se pelaron y se cortaron en cubos de aproximadamente 3 cm por cada lado, luego se molieron en un procesador de alimentos marca MOULINEX, Modelo HV8 (Francia), durante 2 min para reducir el tamaño de partícula. La lechada de almidón fue filtrada en coladores de tela plástica (malla 80), para eliminar la fibra y otras partículas, y el filtrado se dejó sedimentar durante 4 h a 4°C. Transcurrido este tiempo, la mayor parte del líquido sobrenadante se decantó y la lechada de almidón se lavó tres veces con agua destilada, centrifugando en el último lavado con una centrifuga marca DOMUS Modelo P-7 (Barcelona); con la finalidad de recuperar el almidón sobrenadante. Posteriormente, se secó en una estufa de convección marca HACEB, Modelo ASSENTO L VF 76 (Medellín) a 55°C, durante 24 h. Luego se procedió a almacenar el almidón en frascos de plástico con cierre de tapa hermética para su posterior análisis [10].

Elaboración de las salchichas

Con los almidones obtenidos se prepararon los diferentes tratamientos, siguiendo la formulación indicada en el cuadro 2.

Para la elaboración de la salchicha se seleccionaron las carnes de acuerdo con lo establecido por la formulación. Las cuales se obtuvieron de un supermercado en la ciudad de Valledupar (Cesar), a 4°C y con un pH entre 5,8-6,4. Posteriormente se molieron con un disco de 3mm. Se preparó la emulsión en el cutter, adicionando los ingredientes según la formulación. Fue muy importante mantener la temperatura máxima a 10°C en el cutter para evitar el rompimiento de la emulsión. Luego se procedió a embutir la masa en una tripa de celulosa de calibre 18 mm. A continuación se

Cuadro 2. Formulaciones de las salchichas.

Materias Primas (%)	Tratamientos						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Control
Carne de res	25	25	2	25	25	25	25
Carne de cerdo	25	25	25	25	25	25	25
Tocino	15	15	15	15	15	15	15
Hielo en escarcha	28	28	28	28	28	28	28
Harina de trigo (H.T.)	3,5	1,75	0	3,5	1,75	0	7
Almidón de Malanga Variedad Blanca	3,5	5,25	7	0	0	0	0
Almidón de Malanga Variedad Morada	0	0	0	3,5	5,25	7	0
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100
Sal nitrada*	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Condimento para salchicha tipo Frankfurt*	1	1	1	1	1	1	1
Fosfato para embutido**	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Eritorbato**	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03

*Porcentaje calculado sobre el peso de la carne y la grasa.

** Gramos p= masa de la muestra antes de la cocción (g).

cocinaron las salchichas hasta que se mantuvo una temperatura interna entre 68°C y 72°C durante 15 min. Se enfriaron rápidamente con agua hasta alcanzar una temperatura de 25 a 30°C. Por último se dejaron reposar en cámara de frio a 4°C, para luego someterlas a evaluación.

Determinación de pérdidas por cocción

Las pérdidas por cocción en las salchichas, se determinó mediante el cálculo de la diferencia de peso de las muestras antes y después de la cocción, usando la Ec. 1 [11].

$$\%PC = \frac{(m_1 - m_2)}{m_1} * 100 \qquad \text{(Ec. 1)}$$

Dónde:

$=$ masa de la muestra antes de la cocción (g).

$=$ masa de la muestra al final de la cocción (g).

$=$ Pérdidas por cocción.

Para el análisis de los datos, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA), y cuando se detectó significancia de los efectos principales y de su interacción, se realizó un análisis de separación de medias, mediante un test de Tukey-Kramer, a un nivel de significancia a $p \leq 0,05$ [12], utilizando el programa Statgraphics Plus versión 5.1 [13].

Determinación de aceptabilidad

Para evaluar la aceptabilidad de los productos se empleó un panel de degustación no entrenado, constituido por 30 jueces de ambos sexos, en edades comprendidas de 20 a 30 años. Se utilizó una escala hedónica de 5 (cuadro 3), y se midió el grado de satisfacción que produce cada muestra al ser degustada por los panelistas, determinando así, el grado de aceptabilidad de cada formulación [14].

Cuadro 3. Escala hedónica para evaluar la aceptabilidad del producto.

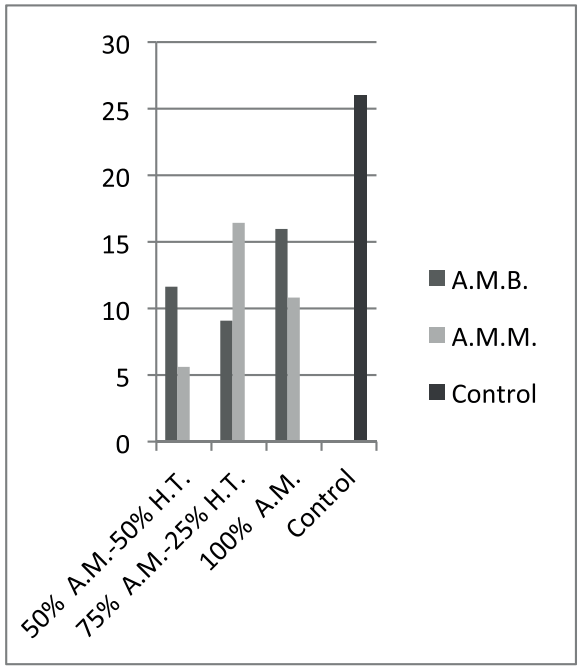
Grado de aceptabilidad	Puntuación
Me gusta mucho	5
Me gusta ligeramente	4
Ni me gusta ni me disgusta	3
Me disgusta ligeramente	2
Me disgusta mucho	1

A cada panelista evaluador, se le presentaron cuatro muestras de 15 g cada una y se ofrecieron a temperatura entre 30 y 40°C. Los panelistas fueron orientados para que expresaran su opinión acerca de la aceptabilidad de las salchichas. Los datos obtenidos se evaluaron mediante un ANOVA; los valores promedios de 1 a 3 se consideraron "desagrado" en la escala de 5 categorías, mientras que los valores superiores correspondieron a "agrado" por los productos evaluados. Para la separación de media se empleó el método de la Diferencia Mínima Significativa (DMS), $p \leq 0,05$. Para conocer la variabilidad de los datos se empleó una gráfica de caja y bigote de los valores dados por los panelistas para las salchichas y para conocer cual tratamiento fue mejor calificado se emplearon gráficos de medias para intervalos HSD de Tukey [15].

RESULTADOS

La figura 1 muestra los valores promedios de las perdidas por cocción de la salchicha tipo Frankfurt, para cada uno de los tratamientos propuestos.

Figura 1. Pérdidas por cocción en la salchicha.



Pruebas realizadas por triplicado (se reporta la media ± la DS).
[a,b,c,d] Medias con diferente superíndice difieren significativamente ($p < 0,05$)
A.M.= Almidón de malanga; **H.T.**= Harina de trigo; **A.M.B.**= Almidón malanga Blanca; **A.M.M.**= Almidón Malanga morada

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (97-105) Julio - Diciembre 2014

Los resultados muestran que las pérdidas por cocción varían según la variedad de malanga y el nivel de sustitución de la harina de trigo.

Al pasar de 50 a 75% de almidón de malanga, la pérdida por cocción disminuye significativamente ($p<0,05$) cuando se emplea almidón de malanga blanca (T2); mientras que aumenta de manera significativa ($p<0,05$) al usar almidón de malanga morada (T4). Al pasar de 75 al 100% de almidón de malanga blanca, esta tendencia se invierte, es decir, se incrementa la pérdida por cocción mientras que disminuye al añadir almidón de malanga morada. Las mayores pérdidas por cocción al añadir almidón de malanga blanca (T3) en comparación con el almidón de malanga morada (T6) pueden estar relacionadas con la facilidad de lixiviación del mayor contenido de amilosa presente en la variedad blanca [2]. Se obtuvieron resultados similares al evaluar las pérdidas por cocción en jamones elaborados con almidón de maíz rico en amilosa [16].

Las menores pérdidas por cocción se obtuvieron al adicionar 50% de harina de trigo y 50% de malanga morada (5,63% ± 0,09) lo que indica que la adición de almidón de malanga morada a esta proporción es útil en la retención de humedad en el producto.

En todos los tratamientos donde se añadió almidón de malanga, las salchichas presentaron menores pérdidas por cocción que la salchicha control elaborada con 100% de harina de trigo. Otro estudio realizado reportó mayores pérdidas por cocción, al elaborar jamón con almidón de maíz que en jamones elaborados con almidones de otras especies botánicas como frijol, tapioca y patata dulce [16]. Buenos rendimientos fueron reportados para un embutido escaldado tipo mortadela, utilizando almidón comercial de papa blanca y almidones nativos de clones promisorios de papa criolla como almidón alternativo para reemplazar a los almidones convencionales en la industria cárnica [17]. Estos resultados son consistentes con la reducción de las perdidas por cocción en salchichas elaboradas con almidón de papa modificado [18]. De igual forma, cuando se evaluaron las pérdidas por cocción en salchichas añadiendo harina de avena, se encontró que la harina de avena hidratada produjo una menor pérdida por cocción [19].

Cuando se evaluó la aceptabilidad de los productos, se obtuvieron valores de desviación estándar del conjunto de datos muy parecidos para todas las salchichas (DS = 1,0–1,1), lo que indica que la mayoría de los panelistas coincidieron en sus juicios ante los distintos tratamientos.

Para conocer la variabilidad de los datos se emplearon gráficas de caja y bigotes de los valores obtenidos del análisis estadístico mediante el programa Statgraphics para las salchichas elaboradas con almidón de malanga blanca (figura 2) y las salchichas elaboradas con almidón de malanga morada (figura 3).

La figura 2 indica que todos los tratamientos muestran similitud en la respuesta dada por los panelistas, a excepción de la salchicha elaborada con 75% de almidón de malanga blanca y 25% de harina trigo, donde las respuestas entre los panelistas presentaron mayor variabilidad.

En contraste, la figura 3 muestra que todos los tratamientos elaborados con almidón de malanga morada mostraron mayor variabilidad en las calificaciones dadas por los panelistas a cada tratamiento que cuando se utilizó almidón de malanga blanca.

Figura 2. Variabilidad de las calificaciones asignadas por los panelistas a salchichas elaboradas con AMB.

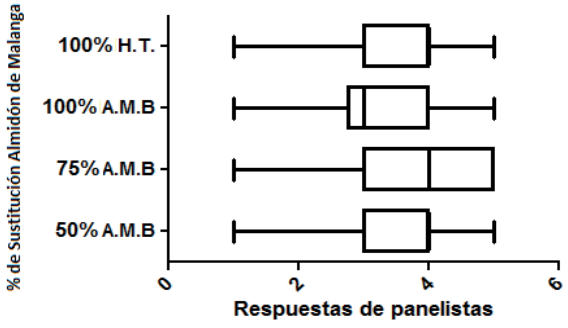
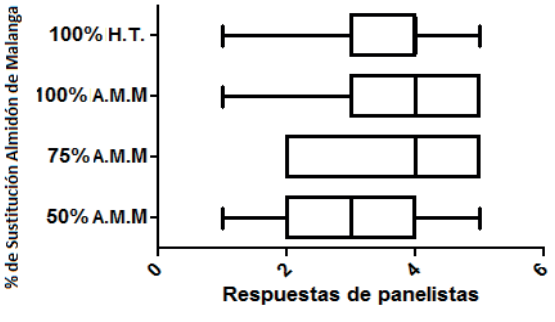


Figura 3. Variabilidad de las calificaciones asignadas por los panelistas a salchichas elaboradas con AMM.



Sin embargo, esto no indica cuál de los tratamientos es el mejor calificado, sólo revela una tendencia de los datos. Además se emplearon gráficos de medias para intervalos HSD de Tukey para las salchichas elaboradas con almidón de malanga blanca y morada (figura 4 y figura 5, respectivamente).

De acuerdo a la figura 4, se observa, que el tratamiento con 75% de almidón de malanga blanca mostro una media levemente más alta (3,76±1,0) al control (100% harina de trigo), sin embargo no hubo diferencia significativa entre estos dos tratamientos (p>5). En la figura 5, se observa que la muestra elaborada con 50% de almidón de malanga morada y 50% de harina de trigo tuvo la menor aceptabilidad pues la media está por debajo de 3. Además, las muestras elaboradas con 100% de almidón de malanga morada poseen la media más alta 3,76.

Figura 4. Medias para intervalos HSD de Tukey para salchicha elaborada con almidón de malanga blanca

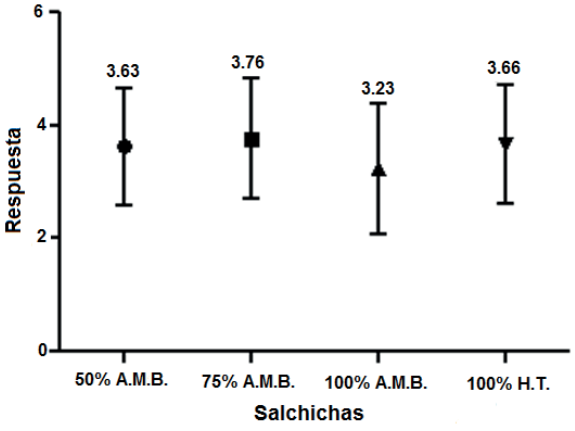
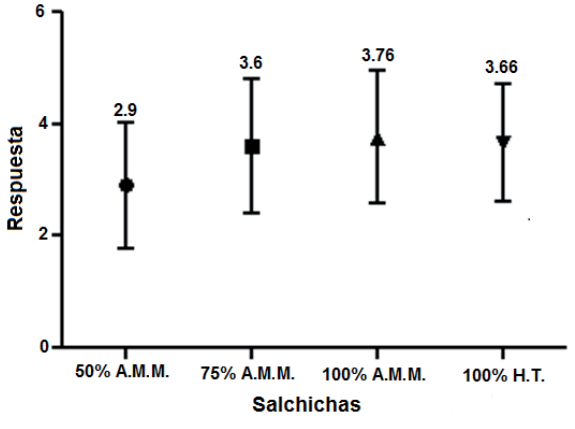


Figura 5. Medias para intervalos HSD de Tukey.



En el cuadro 4, se presenta la media de la prueba de aceptabilidad de cada una de las salchichas. Se observó una interacción significativa (p<0,05) entre los factores (variedad de malanga y porcentaje de sustitución de la harina de trigo por almidón de malanga), lo que indica que la aceptabilidad de la salchicha varía según la variedad de malanga y el porcentaje de sustitución.

De acuerdo a los resultados obtenidos se encontró que no hubo diferencia significativa (p<0,05), en los juicios emitidos por los panelistas para la salchicha elaborada con 75% de almidon de malanga blanca y el control; y entre la salchicha elaborada con 100% de almidon de malanga morada y el control.

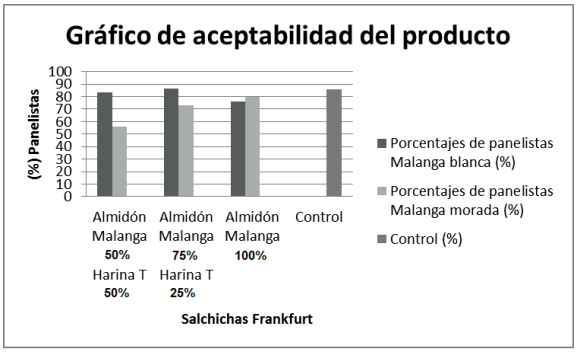
Considerando como patrón de aceptabilidad una puntación igual o superior de tres; se observa que el control y las salchichas elaboradas con 75% de almidón de malanga blanca y 25% de harina de trigo, presentaron el mayor porcentaje de aceptabilidad como se observa en la figura 6. Las salchichas elaboradas con 50% de

Cuadro 4. Valores promedios de la aceptabilidad.

Tipo de almidón	Porcentaje de Sustitución			
	50% A.M.- 50% H.T.	75% A.M.- 25% H.T.	100% A.M.	100% H.T. Control
A.M.B	$3,63^{b}$ ± 1,0	$3,76^{a}$ ±1,0	$3,23^{c}$±1,1	$3,66^{ab}$ ±1,0
A.M.M	$2,9^{c}$ ±1,1	$3,6^{b}$ ±1,1	$3,76^{a}$±1,1	

[a,b] Medias con diferentes superíndices entre columnas y filas difieren significativamente (p < 0,05).
A.M. = Almidón de malanga; **H.T.**= Harina de trigo; **A.M.B.**= Almidón malanga Blanca; **A.M.M.**= Almidón Malanga morada

Figura 6. Porcentaje de panelistas que calificaron la salchicha con puntajes igual o superior a tres.



Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (97-105) Julio - Diciembre 2014

almidón de malanga morada y 50% de harina de trigo solo fueron aceptadas por el 56,6% de panelistas.

En otro estudio realizado en salchichas Frankfurt, no se detectaron diferencias organolépticas sustanciales al incorporar harina de quinua como sustituto de harina de trigo, concluyendo que la harina de quinua es perfectamente utilizable como sustituto de la harina de trigo en las condiciones ensayadas [18]. Por otra parte, se reportó que la mayor aceptabilidad en una salchicha baja en grasa se alcanza cuando la harina de avena hidratada o tofu estaban en su nivel de adición del 15%, respectivamente [17].

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en esta investigación señalan que es posible remplazar la harina de trigo utilizada como sustancia de relleno por almidón de malanga (*Colocasia esculenta*) de las variedades blanca y morada, para disminuir las perdidas por cocción en salchichas tipo Frankfurt sin que ello tenga un efecto negativo en la aceptabilidad.

REFERENCIAS

[1] PACHECO, E. y TECHEIRA, N. Propiedades químicas y funcionales del almidón nativo y modificado de ñame (*Dioscorea, alata*). Revista Interciencia, 34(4), 2009, p. 280- 285.

[2] TORRES, A., MONTERO, P. y DURAN, M. propiedades fisicoquímicas, morfológicas y funcionales del almidón de malanga (C*olocasia esculenta).* Revista Lasallista de Investigación, 10(2), 2013, p. 52-61.

[3] HERNÁNDEZ, M., TORRUCO, J.G., CHEL, L. y BETANCUR, D. Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. Ciência e Tecnología de Alimentos, 28(3), 2008, p. 718-726.

[4] MIRANDA, P., MARRUGO, Y. y MONTERO, P. Caracterización funcional del almidón de frijol Zaragoza y cuantificación de su almidón resistente. Revista TecnoLogicas, 30, 2013, p.17-32.

[5] GUERRA, M. y CEPERO, Y. Utilización de almidones y gomas en productos cárnicos. Ciencia y Tecnología de Alimentos, 16(3), 2006.

[6] RODRÍGUEZ, J., RIVADENEYRA, J., RAMÍREZ, E., JUÁREZ, J., HERRERA, E., NAVARRO, R. y HERNÁNDEZ, B. Caracterización fisicoquímica, funcional y contenido fenólico de harina de malanga (*Colocasia esculenta*) cultivada en la región de Tuxtepec, Oaxaca, México. Ciencia y Mar, 15 (43), 2011, p. 37-47.

[7] NGUIMBOU, R., HIMEDA, M., NJINTANG, Y., TATSADJIEU, N., FACHO, B., SCHER, J. and MBOFUNG, C. Comparative physicochemical, thermal and microstructural properties of starches from two underutilized taro ecotypes. Journal International Journal of Biosciences (IJB), 2 (4), 2012, p. 64-74.

[8] AGAMA, E., GARCÍA, F., GUTIÉRREZ, F., SÁNCHEZ, M., SAN MARTIN, E. and BELLO, L. Isolation and partial characterization of Mexican taro (*Colocasia esculenta* L.) starch. Starch/Stärke, 63(3), 2011, p. 139-146.

[9] RODRÍGUEZ, J., RUIZ, I., HERMAN, E., MARTÍNEZ, C., DELGADO, E. and VIVAR, M. Development of extruded snacks using taro (*Colocasia esculenta*) and nixtamalized maize (*Zea mays*) flour blends. LWT - Food Science and Technology, 2011, 44(3), p. 673-680.

[10] HIMEDA, M., NJINTANG, N., NGUIMBOU, R., GAIANI, C., SCHER, J., FACHO, B., and MBOFUNG, C. Physicochemical, rheological and thermal properties of taro (*Colocassia esculenta*) starch harvested at different maturity stages. International Journal of Biosciences, 2(3), 2012, p.14-27.

[11] PACHECO, W., RESTREPO, D. y LÓPEZ, J. Evaluación de un extensor graso sobre las propiedades de calidad del chorizo Tipo Antioqueño. Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín 64(2), 2011, p. 6265-6276.

[12] MARRUGO, Y., MONTERO, M. y ACEVEDO, D. Evaluación de las propiedades reológicas de pastas de ajonjolí artesanal y tecnificada. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 16(1), 2013, p. 245-251.

[13] MANUGISTICS. STATGRAPHICS PLUS VERSIÓN 5.1, REFERENCE MANUAL. Rockville (USA): 1992.

[14] GARRIDO, F., JARA, K., WITTIG DE PENNA, E., MENDOZA, S. y GONZÁLEZ, S. Aceptabilidad de sopas deshidratadas de leguminosas adicionadas de realizadores del sabor (umami). Revista Chilena de Nutrición, 36(4), 2009, p. 1105-1112.

[15] ÁLVAREZ, Y., PEÑAFIEL, N., MURGUEYTIO, E., RIOFRÍO-VILLAR, M. y MANRESA, A. Análisis sensorial de bebidas extrudidas por niños prees-

colares de escasos recursos económicos en tres regiones del Ecuador y su relación con el estado nutricional. Revista Médica Vozandes, 22(1), 2011, p. 53-59.

[16] LI, J., and YEH, A. Effects of starch properties on rheological characteristics of starch/meat complexes. Journal of Food Engineering, 57(3), 2003, p. 287–294.

[17] ZÁRATE, L., OTÁLORA, N., RAMÍREZ, L., PRIETO, L., CERÓN, M. y POVEDA, J. Sustitución del almidón en la formulación de mortadela por almidón de clones promisorios (*S. tuberosum* grupo *Phureja*). Revista épsilon, 20(1), 2013, p. 41-58.

[18] PIETRASIK, Z. Effect of content of protein, fat and modified starch on binding textural characteristics, and colour of comminuted scalded sausages. Meat Science, 51(1), 1999, p. 17–25.

[19] YANG, H., CHOI, S., JEON, J., PARK, G., and JOO, S. Textural and sensory properties of low fat pork sausages with added hydrated oatmeal and tofu as texture-modifying agents. Meat Science, 75(2), 2007, p. 283–289.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (106-114) Julio - Diciembre 2014

DIVERSIDAD GENÉTICA DE *Diaphorina citri* EN CULTIVOS CÍTRICOS DEL VALLE DEL CAUCA Y QUINDÍO (COLOMBIA)

GENETIC *Diaphorina citri* DIVERSITY ON CITRUS CROPS OF THE VALLE DEL CAUCA AND QUINDÍO (COLOMBIA)

DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Diaphorina citri* NA CULTURA DOS CITROS DO VALLE DEL CAUCA E QUINDIO (COLÔMBIA)

MIGUEL ANGEL MONCAYO-DONOSO[1], MARTHA ISABEL ALMANZA-PINZÓN[2], ANA MILENA CAICEDO-VALLEJO[3], JAIME EDUARDO MUÑOZ-FLÓREZ[4], JAMES MONTOYA-LERMA[4], ARTURO CARABALÍ-MUÑOZ[5].

RESUMEN

El psílido asiático Diaphorina citri es el principal vector de la bacteria Candidatus Liberibacter que causa la enfermedad Huanglongbing, considerada devastadora en la citricultura mundial y aún no reportada en Colombia. La variabilidad genética poblacional de D. citri fue estudiada utilizando la técnica de secuenciación del gen COI mitocondrial como marcador molecular. Se realizaron colectas de adultos en zonas productoras de cítricos del Valle del Cauca y el Quindío. La amplificación se realizó con dos parejas de cebadores específicos para hemípteros. Los productos de la PCR fueron secuenciados en Macrogen-Korea obteniéndose un total de 124 secuencias. En el análisis bioinformático se utilizaron los programas Vector NTI 11.5, Arlequín V 3.5, MEGA 5 y MAFFT 6. Los índices de diversidad molecular fueron similares entre poblaciones, mostrando un mismo origen, separación re-

---

Recibido para evaluación: 23 Feb de 2014. **Aprobado para publicación:** 7 abril de 2014

1 Universidad del Valle, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Programa de Biología. Biólogo. Cali, Colombia.
2 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ciencias Agropecuarias. Ph.D. Popayán, Colombia.
3 Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ph.D. Palmira, Colombia.
4 Universidad del Valle, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Sección Entomología. Ph.D. Cali, Colombia.
5 Corporación Agropecuaria de Colombia, Entomología. Ph.D. Palmira, Colombia.

Correspondencia: miguelangelmoncayodonoso@gmail.com

ciente de poblaciones y que no existe diferenciación genética significativa que pueda albergar variantes de la bacteria; sin embargo, el índice de diversidad haplotípica fue más alto que el de diversidad nucleotídica y este último índice presentó bajo número de sitios polimórficos, indicando que las poblaciones de D. citri están en expansión. El estudio de la variabilidad genética del vector representa una herramienta para predecir escenarios probables de propagación de la enfermedad.

ABSTRACT

The Asiatic psyllid Diaphorina citri (Hemiptera: Psyllidae) is the main vector of Candidatus liberibacter, which causes the Huanglongbing HLB disease, known for devastating citrus in the world but not yet reported in Colombia. The genetic variability of the D. citri population was studied through sequencing the COI mitochondrial gene as molecular marker. Adults were collected in citrus producing zones of the Colombian Valle del Cauca and Quindío. Amplification was performed with two pairs of specific primers for Hemiptera. The PCR products were sequenced at Macrogen-Korea, obtaining a total of 124 sequences. For the bioinformatic analysis, the Vector NTI 11.5, Harlequin V 3.5, MEGA 5 and MAFFT 6 programs were used. The molecular diversity indices between populations were similar, revealing a common origin and a recent split of the populations excluding a significant genetic differentiation associated to variations of the bacterium, however the haplotype diversity index was higher than the nucleotide diversity index. The latter one showed a low number of polymorphic sites, indicating that the D. citri populations are expanding. The study of the vector's genetic variability is a tool for the prediction of likely scenarios for the spread of diseases.

PALABRAS CLAVE:
ADN Mitocondrial, Reverdecimiento de los Cítricos, Insectos Vectores, Huanglongbing, Psylido Asiático de los Cítricos.

KEYWORDS:
Mitochondrial DNA, Citrus Regreening, Vector Insects, Huanglongbing, Asiatic Citrus Psyllid.

PALAVRAS CHAVE:
DNA Mitocondrial, Citros Greening, Insetos Vetores, Huanglongbing, Psilídio Asiático dos Citros.

RESUMO

O psílido asiático Diaphorina citri, é o principal vetor da bactéria Candidatus Liberibacter que causa a doença Huanglongbing HLB, considerada devastadora na citricultura mundial e que ainda não foi registrada na Colômbia. A variabilidade genética populacional de D. citri foi estudada utilizando-se a técnica de seqüenciamento do gene COI mitocondrial como marcador molecular. Foram feitas coletas de adultos nas áreas produtoras de citros do Valle del Cauca e Quindío. A amplificação foi realizada com dois pares de iniciadores específicos para hemípteros. Os produtos de PCR foram seqüenciados em Macrogen-Korea obtendo-se um total de 124 seqüencias. Para as análises de bioinformática foram utilizads os programas Vector NTI 11.5, Arlequín V 3.5, MEGA 5 e MAFFT 6. Os índices de diversidade molecular foram similares entre populações, apresentando uma mesma origem, separação recente de populações, e que não existe uma diferenciação genética importante que possa abrigar variantes da bactéria; no entanto, o índice da diversidade haplotípica foi mais alto do que o da diversidade nucleotídica e este último índice apresentou um baixo número de sítios polimórficos, indicando que as populações de D. citri estão em expansão. O estudo da variabilidade genética do vetor representa uma ferramenta para predizer cenários prováveis de propagação da doença.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (106-114) Julio - Diciembre 2014

INTRODUCCIÓN

El psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama es importante por ser el vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter*, agente causal de la Huanglongbing HLB o enverdecimiento de los cítricos "greening", enfermedad devastadora de la citricultura mundial [1]. El insecto causa daños directos, al alimentarse de la planta e indirectos cuando transmite la bacteria causante de la enfermedad; afecta zonas de crecimiento de la planta ocasionando la caída y deformación de hojas, clorosis, necrosis, enanismo y disminución de la calidad de la fruta; las ninfas y los adultos ocasionan daños al extraer gran cantidad de floema de las hojas y los pecíolos; además, poblaciones altas del insecto causan la caída de flores y frutos pequeños [2]. La bacteria, se caracteriza como proteobacteria del genero *Candidatus Liberibacter* para la enfermedad Huanglongbing, enfermedad generada por *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Candidatus Liberibacter africanus* y *Candidatus Liberibacter americus*. La enfermedad tiene alta incidencia en Asia y África donde se señala como factor limitante para la producción de cítricos [3].

Existen diversos métodos y estrategias de control para enfrentar, tanto al vector como a la enfermedad, que incluyen la destrucción y eliminación de las fuentes de inóculo, la renovación de las plantaciones utilizando posturas sanas, el control o la erradicación del insecto vector mediante químicos y/o un programa de control integrado. En el caso de establecerse el vector y no detectarse la enfermedad, entonces se plantea la implementación de programas de control biológico. Sin embargo, hasta el momento no se conoce ningún método efectivo, aunque el control biológico clásico puede contribuir a la supresión de las poblaciones del psílido [6].

El insecto vector *D. citri* está ampliamente distribuido en las regiones tropicales y subtropicales de Asia [4]. A principios de 1998, fue descubierto en la isla de Guadalupe en el Caribe y luego en Argentina, Paraguay, Uruguay, Brasil, Venezuela, Colombia y México [5]. También, se encontró en la Florida y con alta probabilidad de dispersarse hacia los cítricos de Louisiana, Texas, Arizona y California [6]. El desarrollo del insecto es exclusivamente en plantas de la familia Rutaceae, particularmente en los géneros *Citrus* spp. y *Murraya* y en las especies, *Swinglea glutinosa* M., *Limonia acidissima* L. y *Citropsis schweinfurthii* S. y K. [1].

Colombia presenta una topografía y biomodalidad climática que favorece la diversidad de ambientes, además, las condiciones diferentes en que se cultivan los cítricos en el Valle del Cauca y en el Quindío, pueden generar diferentes ambientes que favorezcan la diferenciación génica en *D. citri*. Según [7], un análisis comparativo de las similitudes genotípicas de los haplotipos de poblaciones *D. citri* de Colombia con las del resto del mundo sugiere que las colombianas provienen del sudeste asiático, considerado el centro con mayor probabilidad de haber originado este psílido.

Es necesario conocer la diversidad genética de *D. citri a* nivel molecular para establecer estrategias de manejo. El ADN mitocondrial es una herramienta útil para estudios de filogenia, diversidad genética y estructura poblacional, dada su transmisión exclusiva por vía materna, sin recombinación y tasa de mutación relativamente rápida [9]. Esta última característica es conveniente para análisis genéticos intra e interespecíficos. Los genes de la citocromo oxidasa, subunidades I y II (COI y COII) son los más estudiados del ADN mitocondrial y las unidades terminales del análisis filogenético son los haplotipos mitocondriales o variantes del ADN mitocondrial. El número y estructura de los haplotipos presentes en las poblaciones de una especie aportan medidas de diversidad y estructura genética poblacional y permiten realizar inferencias sobre su historia evolutiva [3].

El presente estudio analizó la diversidad genética poblacional de *D. citri* mediante el análisis de las secuencias de los genes mitocondriales COI, en dos regiones productoras de cítricos en Colombia. Los resultados de estos análisis permitirán diseñar medidas de control de *D. citri*, identificar poblaciones de insectos con riesgo futuro de transmisión de la enfermedad HLB y establecer el potencial de dispersión y flujo genético de *D. citri*. Cabe destacar que este estudio es el primer trabajo de caracterización molecular de poblaciones de *D. citri* en Colombia.

MÉTODO

Material biológico

Los adultos de *D. citri* (48 ejemplares) fueron colectados manualmente en árboles de vivero y en producción, con pincel o con un aspirador, almacenados en viales con alcohol (96%) y rotulados con la información de localización, hospedero y fecha de colecta. En total ocho sitios de muestreo (cuadro 1).

Cuadro 1. Sitios de muestreo de *D. citri* en los departamentos del Valle del Cauca y el Quindío.

Sitios de Muestreo		Coordenadas
Valle del Cauca		
Rozo	Finca Brasil	3º36'53"N-76º23'10"W
Palmira	CORPOICA	3º34'59"N-76º15'0"W
Caicedonia	Finca Jamaica	4º19'58"N-75º49'59"W
La Unión	Finca La Rivera	4º31'47"N -76º6'31"W
Quindío		
La Tebaida	Finca San Juan	4º26'38"N-75º50'1"W
La Tebaida	Vivero Caracolines	4º26'55"N-75º48'50"W
Calarcá	Vía Calarcá	4º29'47"N-75º43'46"W
Calarcá	Calarcá	4º31'59"N-75º39'0"W

Extracción de ADN

El protocolo de extracción de ADN efectivo fue el basado en sales modificado del descrito por [10], se basa en un tampón de homogenización estéril (0,4 M de NaCl, 10 mM de Tris pH 8,0 y 2 mM EDTA pH 8,0), SDS al 20%, proteinasa K 20 mg/mL y NaCl 6M. La cuantificación se realizó visualizando el ADN en geles de agarosa al 0,8% en tampón TBE 0,5X (tris-borato 0,045M; EDTA 0,001M) a 100V durante una hora. Los geles se tiñeron con bromuro de etidio a una concentración final de 0,5 ug/mL. La cantidad de ADN extraído de buena calidad, se cuantificó comparándolo con ADN del bacteriófago Lambda a una concentración de 30 ng/μL La comparación se realizó usando 1 μL, 2 μL y 3 μL de Lambda para obtener una concentración de 30, 60 y 90 ng/μL, respectivamente.

Amplificación del ADN por PCR

Los amplificados del gen COI se obtuvieron por PCR a partir del ADN genómico, se obtuvo un fragmento de 375 pb aproximadamente, determinado por la migración en el gel de agarosa con respecto a un estándar de tamaños moleculares. La concentración de ADN varió entre 30 y 40 ng/mL. El coctel de reacción se llevó a un volumen final de 50 μL, 1,5 mM $MgCl_2$, 50-200 μM dNTP, 0,06 μM de cebadores C1-J-1763/C1-N-2096d, 1 ng de ADN, y 2 unidades de Taq polimerasa; en tampón de reacción 1X (50 mM KC1, 10 mM Tris, 0,1% Tritón X-100, pH 9,0 a 25°C). Se siguieron las condiciones de amplificación descritas por [11]: denaturación inicial a 94ºC por cuatro min, 25 ciclos a 95ºC por 40 seg; un minuto de alineamiento a 40-50ºC para el par de cebadores para la amplificación de ADN mitocondrial de *D. citri* y por último, un minuto de extensión a 72ºC. Los cebadores utilizados para la caracterización molecular (cuadro 2), amplifican para hemípteros, cubren las partes más variables de la COI y pueden emplearse para estudios genéticos a nivel intraespecífico [11]. La visualización de los productos de la PCR se realizó en un gel de agarosa al 1,2% y Teñido con bromuro de etidio en un transiluminador ultravioleta.

Secuenciación, edición y alineamiento de secuencias

Los productos de la PCR fueron secuenciados por la casa comercial Macrogen® (Seul, Korea) en un secuenciador automático 3730xl DNA analyzer™, en las dos direcciones por cada ejemplar, obteniéndose un total de 124 secuencias.

Las secuencias fueron editadas con el programa Vector 11.5, realizando una secuencia consenso para cada muestra a partir de las secuencias "reverse" y "forward"; y se corroboró su identidad biológica mediante un BLAST y en relación con las secuencias reportadas en las bases de datos para variantes génicas de la misma especie. Lo anterior se realizó con MAFFT vers. 6.

Análisis genético poblacional

El análisis estadístico de la información genética del *locus* COI, entre poblaciones de *D. citri*, fue inferido mediante la comparación de las secuencias de haplotipos, aplicando el programa Arlequín V. 3.5. Los índices de diversidad molecular aplicados fueron:

Cuadro 2. Descripción de los cebadores empleados en la caracterización molecular de *D. citri*.

Nombre común	UEA3	UEA4d
Nombre estándar	C1-J-1763	C1-N-2096d
Tamaño (bases)	24	25
Secuencia (5' - 3')	TATAGCATTCCCA-GCAATAAATAA	GANGTATT-WARRTTTC-GRTCWGTTA

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (106-114) Julio - Diciembre 2014

Índice de diversidad haplotípica (*H*). Estima la variabilidad genética en términos del número de haplotipos presentes en la muestra y sus respectivas frecuencias [12]. Es definido como la probabilidad de que dos haplotipos de la población, elegidos al azar, sean diferentes.

Índice de diversidad nucleotídica (π_n). Estima la variabilidad genética en términos del número promedio de nucleótidos diferentes por sitio entre pares de secuencias de haplotipos. Es definido como la probabilidad de que dos nucleótidos con homología de posición escogidos al azar sean diferentes [13, 14].

Número promedio de diferencias de bases entre las secuencias (*p*). Estima la variabilidad genética de nucleótidos por sitio entre dos haplotipos, considera que no todas las sustituciones tienen la misma probabilidad de ocurrir y corrige por las diferencias entre las tasas de sustitución de transición y las de transversión.

RESULTADOS

Distribución de Haplotipos

Los 24 individuos de *D. citri* que constituyeron la muestra del Quindío presentaron mayor cantidad de haplotipos diferentes en comparación con la muestra de igual número de individuos del Valle del Cauca (17 y 14 haplotipos, respectivamente) (cuadro 3). Estos primeros resultados indican que cada región geográfica registra una historia de 17 y 14 linajes matrilineales, respectivamente, sugiriendo que son muestras representativas de puestas o eventos mutacionales diferentes, por lo tanto, los resultados son válidos para realizar análisis de variabilidad genética intraespecífica en las dos regiones.

El Valle del Cauca presenta mayor cantidad de individuos que comparten haplotipos en comparación con el Quindío: los 15 y 11 individuos, respectivamente, comparten 5 haplotipos en 4 poblaciones (cuadro 3); las poblaciones de Jamaica y La Rivera y las de Brasil y Corpoica comparten 4 haplotipos y 1 haplotipo, respectivamente, mientras que en el Quindío, las poblaciones de San Juan y Calarcá comparten 3 haplotipos y las de Caracolines y la vía a Calarcá comparten 2 haplotipos.

Los haplotipos compartidos con frecuencia alta entre individuos de diferentes regiones podrían indicar: primero, que son haplotipos característicos de la especie *D. citri* para estas regiones y mientras más antiguos sean estos haplotipos, mayor será su distribución geográfica [15]); segundo, que existe un mismo origen compartido; tercero, según [16] estos haplotipos han sido conservados por selección natural debido a un mayor éxito reproductivo. Finalmente, el hecho de que se encuentren varios individuos asociados a un mismo haplotipo (en general existe un haplotipo mitocondrial preponderante por cada individuo) es un indicio de homoplasmia mitocondrial.

Cuadro 3. Distribución de haplotipos de *D. citri* en el Valle del Cauca y el Quindío.

Haplotipo	Valle del Cauca			
	Brasil	**Corpoica**	**Jamaica**	**La Rivera**
I	2	1		
2	1			
3	1			
4		1		
5		1		
6		1		
7		1		
8			3	1
9			1	1
10			2	1
11			2	1
12				1
13				1
14				1
Total	4	5	8	7
Haplotipo	Quindío			
	San Juan	Caracolines	Vía Calarcá	Calarcá
1	1			
2	1			1
3	2			
4	1			
5	1			1
6	1			1
7		1		
8		1	2	
9		1		1
10		1		
11		1		
12		1		
13			1	
14			1	
15				1
16				1
17				1
Total	7	6	4	7

El Valle del Cauca y Quindío presentan gran cantidad de haplotipos únicos (específicos o exclusivos), 9 y 12, respectivamente, y ningún haplotipo predominante. Según [17] los haplotipos únicos son resultado de mutaciones puntuales, y tienden a desaparecer de las poblaciones. [18] señala que la aparición de un número alto de haplotipos únicos es resultado de la ocurrencia de más de un caso de introducción dentro de las poblaciones en las cuales los grupos introducidos ya presentaban una variabilidad alta. [19] señalan que los plaguicidas ejercen una fuerte presión de selección y su aplicación periódica puede estar coincidiendo con la eliminación selectiva de haplotipos, lo que puede favorecer la expansión de los haplotipos únicos producidos por mutaciones puntuales sobre todo sí estos se asocian con los genes implicados en la resistencia a insecticidas.

Variabilidad Poblacional

Las dos regiones geográficas muestran alta variabilidad genética intrapoblacional que se refleja en sus altos índices de diversidad haplotica (H), siendo los índices H del Quindío más altos que los del Valle del Cauca (cuadro 4), resultado que concuerda con la mayor cantidad total de haplotipos presentes en la región del Quindío, y mayor cantidad de haplotipos únicos por región y por localidad. Es importante destacar que la similitud de los altos índices de diversidad haplotica de La Rivera en el Valle del Cauca con los índices de las localidades San Juan, Caracolines y Calarcá en el Quindío es debida probablemente a su relativa cercanía geográfica.

En la cuadro 4 se observa que a pesar de la alta diversidad haplotípica (H) de las dos regiones, la probabilidad de hallar un cambio nucleotídico en una posición concreta de la secuencia es reducida (baja tasa de sustitución nucleotídica); la región de Quindío presentó el mayor índice de diversidad nucleotídica en comparación con el Valle del Cauca, oscilando entre 0,0045±0,0039 y 0,0603±0,0346 y entre 0,0049±0,0036 y 0,0107±0,0081, respectivamente. Las poblaciones de San Juan, Calarcá y Caracolines (Quindío) presentaron relativamente los más altos índices de diversidad nucleotídica (0,0603±0,035, 0,024±0,014 y 0,0225±0,014, respectivamente); y los mayores promedios de diferencias de bases por sitio entre pares de secuencias (26,38±13,21, 8,86±4,65 y 8,33±4,50, respectivamente).

Los índices de diversidad nucleotídica obtenidos para *D. citri* son normales, según [20] las diferencias nucleotídicas dentro de las especies varía de 0 a 1,8%. Sin embargo, [18] indica que alta diversidad haplotípica acompañada de una baja diversidad nucleotídica significa que existen muchos haplotipos genéticamente similares, es decir, hay pocos cambios para proporcionar haplotipos diferentes, lo cual es característico de efectos de expansión de las poblaciones en un tiempo reciente. La expansión reciente de las poblaciones de *D. citri* también es apoyada por valores bajos de diversidad nucleotídica en relación al bajo número de sitios polimórficos, indicativo del crecimiento de las poblaciones o la presencia de un equilibrio en la selección [21].

Se observa una tendencia ascendente en relación con el número de sitios polimórficos en el corredor geográfico del Valle del Cauca al Eje Cafetero alcanzando 82 sitios en la población de San Juan (Quindío) (cuadro 4), debida probablemente a las diferentes condiciones climáticas/ ecológicas/geográficas y antrópicas de las dos regiones geográficas. El corredor se encuentra en gran parte de los Andes occidentales, al centro-occidente de Colombia entre las cordilleras Occidental y Central; presenta características de relieve andino donde predominan numerosas ciénagas y embalses y ríos de primer orden en el País como el Cauca y el Magdalena [22]. Además, el corredor tiene una fuerte influencia humana, el 24% de los cultivos de cítricos del País se encuentran entre el Valle del Cauca, Quindío y Antioquia, y existe una conexión en el transporte de cítricos, tanto de plántulas como de frutos [23]. Las condiciones mencionadas juegan un papel fundamental en la distribución y flujo génico de las poblaciones de una especie y favorecen la diversidad genética, aumentando el número de sitios polimórficos para las poblaciones de insectos ubicadas en éste corredor geográfico.

En las regiones estudiadas solo se observaron mutaciones puntuales siendo las más frecuentes, las transversiones que variaron entre 1 (Vía Calarcá) y 7 (Caracolines) en el Quindío mientras que las localidades de Jamaica y La Rivera en el Valle del Cauca no presentaron ninguna. Las transiciones fueron poco frecuentes: de 1 a 2 en el Valle del Cauca y de 2 a 3 en el Quindío (cuadro 4).

Los cambios en los niveles de diversidad genética de las especies o poblaciones son consecuencia de un balance entre procesos opuestos de ganancia (mutaciones y flujo génico) y perdida (deriva génica y selección natural) [3]. En insectos los cambios en la

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (106-114) Julio - Diciembre 2014

Cuadro 4. Diversidad genética de las poblaciones de *D. citri* en el Valle del Cauca y Quindío.

Indices de Diversidad Genética	Valle del Cauca			
	Brasil	**CORPOICA**	**Jamaica**	**La Rivera**
Tamaño de la Muestra	4	5	8	7
Número Nucleótidos (nt)	371	373	373	374
Número Haplotipos	3	5	4	7
Número Sitios Polimórficos	8	7	4	7
Número Transiciones (Ts)	2	2	1	1
Número Transversiones (Tv)	4	1	0	0
Razón Ts/Tv	0,5	2	1/0	1/0
Índice Diversidad Haplotípica (H)	1,0000±0,1768	1,0000±0,1265	1,0000±0,0625	1,0000±0,0764
Índice Diversidad Nucleotídica (π_n)	0,0107±0,0081	0,0085±0,0062	0,0049±0,0036	0,0081±0,0055
Número promedio diferencias bases	4,0000±2,5174	3,2000±1,9794	1,8571±1,1850	3,0476±1,8005
	Quindío			
	San Juan	Caracolines	Vía Calarcá	Calarcá
Tamaño de la Muestra	7	6	4	7
Número Nucleótidos (nt)	437	370	367	368
Número Haplotipos	6	6	3	7
Número Sitios Polimórficos	82	14	3	18
Número Transiciones (Ts)	3	3	0	2
Número Transversiones (Tv)	6	7	1	3
Razón Ts/Tv	0,5	0,4285	0	0,6666
Índice Diversidad Haplotípica (H)	1,0000±0,0764	1,0000±0,0962	1,0000±0,1768	1,0000±0,0764
Índice Diversidad Nucleotídica	0,0603±0,0346	0,0225±0,0140	0,0045±0,0039	0,0240±0,0144
Número promedio diferencias bases	26,380±13,210	8,3333±4,5030	1,6666±1,2161	8,8571±4,6543

variabilidad genética, probablemente ocurren más por perdida que por ganancia, debido a diferentes factores de disturbio en el ambiente, como las presiones de selección que ejercen los insecticidas, la disponibilidad de alimento, la resistencia que pueden generar las propias plantas hospederas y factores biológicos que intervienen en la dinámica poblacional: patrones de apareamiento, tipo de reproducción, tiempo de duración de las generaciones, tasas de mortalidad, migraciones, etc. [24]. En el caso de *D. citri* el corto tiempo de las generaciones y el número alto de ovoposiciones siempre aseguran el tamaño de la población. Estas características entre otras le permiten a este insecto adaptarse a las condiciones ambientales variables de la región donde se ubique [4].

CONCLUSIONES

Los índices de diversidad genética de las poblaciones de *D. citri* fueron relativamente similares indicando una separación reciente de las poblaciones y aportan evidencias respecto a que las poblaciones de *D. citri* en el Valle del Cauca y el Quindío se encuentran en expansión, sin embargo no existe una diferenciación genética importante que pueda generar nuevos biotipos de esta especie capaces de adaptarse a nuevos ambientes y con la capacidad de albergar otras variantes de la bacteria *Candidatus Liberibacter*.

La variabilidad genética reducida disminuye la capacidad de una población para adaptarse a cambios ambientales generando la disminución de la adaptación de los individuos. Por lo tanto, el manejo de estas plagas requiere disminuir o mantener baja la variabilidad genética.

Es necesario hacer muestreos y monitoreo por todo el país, en general, y en particular en las localidades cítricas de Colombia, para poder tener así un panorama completo de la genética poblacional de la especie.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo científico del Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, la asesoría y apoyo estadístico del Departamento de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca y la financiación del proyecto e intercambio de conocimientos al grupo de Investigación de Diversidad Biológica de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira.

REFERENCIAS

[1] CERMELI, M., MORALES, P., y GODOY, F. Presencia del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Venezuela. Boletín Entomológico Venezuela, 15(2), 2000, p. 235-243.

[2] REYES, R. Chicharrita (*Diaphorina citri*) amenaza para la citricultura en el Salvador. San Salvador (El Salvador): Programa Nacional de Frutas del Salvador, 2006, 4 p.

[3] LANTERI, A., LOIÁCONO, M.S. y MARGARÍA, C. Aportes de La Biología Molecular a la Conservación de los Insectos. Red Iberoamericana de Biogeografía y Entomología Sistemática, 2, 2002, p. 207–220.

[4] GARCÍA, C. *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemíptera: Psyllidae), vector de la bacteria que causa el Huanglongbing (HLB–Greening). Buenos Aires (Argentina): Ministerio de la Producción, Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, 2009, 18 p.

[5] HALBERT, S.E. and MANJUNATH, K.L. Asian citrus Psyllids (*Sternorrhyncha: Psyllidae*) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. Florida Entomologist, 87(3), 2004, p. 330-353.

[6] ALEMÁN, J., HEYKER, B. y RAVELO, J. *Diaphorina citri* y la enfermedad Huanglongbing: una combinación destructiva para la producción citrícola. Revista Protección Vegetal, 2(3), 2007, p. 154-165.

[7] HALL, D.G. Biology, history and world status of *Diaphorina citri*. Hermosillo (México): I Taller internacional sobre Huanglongbing de los citricos (*Candidatus* Liberibacter *spp*) y el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*), 2008, 11 p.

[8] INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO (ICA). Situación actual de HLB (huanglonbing) y su vector el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri* kuwayama) en Colombia. Bogotá (Colombia): Boletín Epidemiológico, 2010, 10 p.

[9] TABERLET, P. The Use of Mitochondrial DNA Control Region Sequencing in Conservation Genetics. En: Molecular Genetic Approaches in Conservation. New York (USA): Smith, T. B. and Wayne, R. K. (Eds), Oxford University Press, 1996, p. 125-148.

[10] ALJANABI, M. and MARTÍNEZ, I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucleic Acids Research, 25(22), 1997, p. 4692-4693.

[11] ZHANG, D. and HEWITT, G.M. Assessment of the universality and utility of a set of conserved mitochondrial COI primers in insects. Insect Molecular Biology, 6(2), 1997, p. 143-150.

[12] NEI, M. Molecular evolutionary genetics. New York, (USA): Columbia University Press, 1987, 512 p.

[13] NEI, M. and LI, W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 76, 1979, p. 5269-5273.

[14] NEI, M., and TAJIMA, F. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. Genetics, 97, 1981, p. 145-163.

[15] NEIGEL, J.E., and AVISE, J.C. Application of a random walk model to geographic distributions of animal mitochondrial DNA variation. Genetics, 135, 1993, p. 1209-1220.

[16] SAÉNZ, C.V. Genética de poblaciones y prevalencia del hongo patógeno *Batrachochytrium dendrobatidis* en anfibios de Papallacta y Guamaní, Ecuador [Tesis Ciencias Biológicas]. Quito (Ecuador): Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Escuela de Ciencias Biológicas , 2011, 98 p.

[17] BROWN, B.L., EPIFANIO, J.M., SMOUSE, P.E. and KOBAK, C.J. Temporal stability of mtDNA haplotype frequencies in American shad stocks: to pool or not to pool across years. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 53(10), 1996, p. 2274-2283.

[18] SARTORI, G.A. Diversidae genética de *Diaphorina citri* Kuwayama, (*Hemiptera: Psyllidae*) e caracterização molecular das linhagens de Wolbachia associadas [Tese de doutorado Entomología]. Sao Paulo (Brasil). Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2011,127 p.

[19] BASS, C. and FIELD, L.M. Gene amplification and insecticide resistance. Pest Management Science, 67(8), 2011, p. 886-890.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (106-114) Julio - Diciembre 2014

[20] MURRAY, D. and PASHLEY, D.P. Molecular phylogenetics and evolutionary history of the neotropical *Satyrine Subtribe Euptyciina* (Nymphalidae: Satyrinae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 34, 2005, p. 67-80.
[21] HAMILTON, M.B. Populations genetics. 1 ed. Chichester (England): Wiley-Blackwell, Oxford, 2009, 424 p.
[22] BARÓN, J.D. Geografía económica de los Andes occidentales de Colombia. Bogotá (Colombia): Banco de la Republica, 2009, 95 p.
[23] PEÑALOZA, M.C. y DÍAS, R.C. Así se maneja y controla el picudo de los cítricos *Compsus* sp. Bogotá (Colombia): Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), Produmedios, 2004, 30 p.
[24] SARMIENTO, L. Variabilidad genética de poblaciones mexicanas de la cochinilla rosada del hibisco, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) (Hemiptera: Pseudococcidae) [Tesis Maestro em Ciencias en Biotecnología Genómica]. Tamaulipas (México): Instituto Politécnico Nacional, 2008, 61 p.

EVALUACIÓN DE ACTIVIDADES ENDOGLUCANASA, EXOGLUCANASA, LACASA Y LIGNINA PEROXIDASA EN DIEZ HONGOS DE PUDRICIÓN BLANCA

EVALUATION OF ENDOGLUCANASE, EXOGLUCANASE, LACCASE, AND LIGNIN PEROXIDASE ACTIVITIES ON TEN WHITE-ROT FUNGI

AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES ENDOGLUCANASE, EXOGLUCANASE, LACASE E LIGNINA PEROXIDASE EM DEZ FUNGOS DA PODRIDÃO BRANCA

Sandra Montoya B.[1], Óscar Julián Sánchez T. [2], Laura Levin [3]

RESUMEN

Este trabajo presenta una vía de rastreo de producción de enzimas lignocelulolíticas en diez especies de hongos de pudrición blanca: *Lentinula edodes*, *Schizophyllum commune*, *Trametes trogii*, *Coriolus versicolor*, *Pycnoporus sanguineus*, *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Pleurotus ostreatus* y *Auricularia delicata*. Estas especies primero fueron rastreadas sobre medios de cultivo sólido que contienen carboximetil celulosa, celulosa cristalina, ABTS (2,2´-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)) y azure B, los cuales evidenciaron la producción de las enzimas endoglucanasa, exoglucanasa, lacasa y lignina peroxidasa (LiP). Las actividades celulolíticas fueron detectadas a los cinco días de

Recibido para evaluación: 23 nov de 2012. **Aprobado para publicación:** 21 mayo de 2014

1 Universidad de Caldas, Instituto de Biotecnología Agropecuaria. Magíster en Ingeniería Química. Manizales, Colombia.

2 Universidad de Caldas, Instituto de Biotecnología Agropecuaria. Doctor en Ingeniería. Manizales, Colombia.

3 Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Doctora en Ciencias. Buenos Aires, Argentina.

Correspondencia: osanchez@ucaldas.edu.co

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (115-124) Julio - Diciembre 2014

incubación con el indicador rojo congo, formándose un halo claro-blanco en las zonas donde se degrada la celulosa. Para las ligninasas, este rastreo consistió en el seguimiento a la formación de halos verdes por oxidación del ABTS para lacasa y halos de decoloración sobre el azure B para la LiP durante 14 días de incubación. De este rastreo cualitativo, se seleccionaron cuatro cepas (*G. lucidum*, *L. edodes*, *C. versicolor* y *T. Trogii*), como las mejores productoras de enzimas celulolíticas y ligninolíticas. Estas cuatro especies fueron inoculadas sobre un sustrato de aserrín de roble, obteniéndose 51,8% de lignina degradada por *L. edodes* y 22% de celulosa degrada por *C. versicolor*.

ABSTRACT

This paper presents a way of tracking the production of lignocellulolytic enzymes in ten species of white rot fungi: Lentinula edodes, Schizophyllum commune, Trametes trogii, Coriolus versicolor, Pycnoporus sanguineus, Ganoderma applanatum, Ganoderma lucidum, Grifola frondosa, Pleurotus ostreatus and Auricularia delicata. These species were first screened on solid culture media containing carboxymethyl cellulose, crystalline cellulose, ABTS (2,2´-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate)) and azure B, which showed the production of endoglucanase, exoglucanase, laccase and lignin peroxidase (LiP) enzymes. Cellulolytic activities were detected after five days of incubation with congo red indicator, forming a clear-white halo in areas where cellulose was degraded. For ligninases, the tracking consisted of the monitoring in the formation of green halos due to ABTS oxidation for laccase, and decolorization halos on azure B for LiP during 14 days of incubation. From this qualitative screening, four strains were selected (G. lucidum, L. edodes, C. versicolor and T. trogii) as the best producers of cellulolytic and ligninolytic enzymes. These four species were inoculated on a substrate of sawdust oak, yielding 51,8% of lignin degraded by L. edodes and 22% of cellulose degraded by C. versicolor.

PALABRAS CLAVE:
Celulasas, Ligninasas, *Lentinula edodes*, *Coriolus versicolor*, Celulosa.

KEYWORDS:
Cellulases, Ligninases, *Lentinula edodes*, *Coriolus versicolor*, Cellulose.

PALAVRAS-CHAVE:
Celulases, Ligninases, *Lentinula edodes*, *Coriolus versicolor*, Celulose.

RESUMO

Este trabalho apresenta uma maneira de seguir produção da enzimas lignocelulolíticas em 10 espécies de fungos da podridão branca: Lentinula edodes, Schizophyllum commune, Trametes trogii, Coriolus versicolor, Pycnoporus sanguineus, Ganoderma applanatum, Ganoderma lucidum, Grifola frondosa, Pleurotus ostreatus e Auricularia delicata. Estas espécies foram primeiramente rastreados em meio de cultura sólido contendo os reagentes de carboximetil celulose, celulose cristalina, ABTS (2,2 '-azinobis (3-etilbenztiazoline-6-sulfonato)) e azure B que mostrou a produção de enzimas de endoglucanase, exoglucanase lacase, peroxidase de lignina e (LiP). Actividades celulolíticas foram detectados após cinco dias de incubação com o indicador vermelho congo, formando um claro halo-branco em áreas degrada a celulose. Para ligninases, esta consistia de rastreamento faixa formação de halo verde por oxidação de ABTS a lacase e descoloração halos no lábio azure B, durante 14 dias de incubação. Esta triagem qualitativa, foram selecionados quatro cepas: G. lucidum, L. edodes, C. versicolor e T. trogii, cepas como os melhores produtores de enzimas

celulolíticas e ligninolíticas. Estas quatro espécies foram inoculados sobre um substrato de madeira de carvalho serradura, obtendo-se 51,8% de lignina por L. edodes degradad e 22% de celulose degradada por C. versicolor.

INTRODUCCIÓN

Las enzimas lignocelulolíticas juegan un rol importante en la conversión del complejo lignocelulósico en azúcares fermentables para la producción de alcohol carburante en la actualidad [1]. Las enzimas celulolíticas son consideradas de gran importancia industrial. Por ejemplo, ellas han sido ampliamente utilizadas para reemplazar la hidrólisis ácida como método de conversión de celulosa en azúcares fermentables, especialmente glucosa para la producción de etanol y otros alcoholes de importancia industrial, asimismo, para la glucosa obtenida es utilizada como materia prima para la manufactura de diferentes alimentos para animales, humanos y productos químicos. Las celulasas también son utilizadas en diversos procesos de fermentación para la producción de sustancias de uso industrial como el ácido láctico, en procesos de fermentación aceto-butílica; en el mejoramiento de la textura del papel (liso), biodesentintado para reciclado del papel utilizando una mezcla de celulasas, pectinasas, xilanasas y lipasas; en el biopulido de telas para el tratamiento superficial de las pelusas, en la elaboración de paños super absorbentes, en la extracción de jugos, aromas, aceites y pigmentos con agregados enzimáticos de celulasas, pectinasas y xilanasas, éstas rompen paredes celulares y hace más eficiente la extracción; en la elaboración de aditivos no calóricos [2,3,4,5]. De igual forma, las ligninasas son utilizadas para la deslignificación de los materiales lignocelulósicos dispuestos para alimentación de rumiantes. Por ejemplo, la industria de producción de carne bovina en el mundo presenta dificultades para mantener estable el suministro de alimentos para los animales. Uno de los principales inconvenientes es la variación del clima, lo que ha generado que este segmento de la industria alimentaria busque nuevas alternativas para el mantenimiento de la alimentación animal [6]. En el planeta se desechan grandes cantidades de materiales lignocelulósicos que generan contaminación y que pueden ser utilizados para este fin utilizando complejos de enzimas ligninolíticas para la degradación de la lignina y posteriormente realizar los ensilajes o las transformaciones y suplementaciones requeridas por los animales [7, 6].

La producción de enzimas degradadoras del complejo lignocelulósico, se realiza a partir de microorganismos que las producen, entre los que se encuentran los hongos de pudrición blanca [8]. Los materiales lignocelulósicos en promedio se componen de 40-50% de celulosa, 25-40% de hemicelulosa y 25-35% de lignina y otros monómeros en menor proporción [9]. Estos materiales pueden ser degradados en medios naturales por los hongos de pudrición blanca a través de las enzimas que excretan, como el complejo de celulasas celulasas: endoglucanasas, exoglucanasas, otras que degradan oligosacáridos como la β-glucosidasa, las óxidorreductasas, como lacasas, manganeso peroxidasa y lignina peroxidasa, las cuales son las enzimas responsables de la degradación del complejo lignocelulósico [10, 11].

Los materiales lignocelulósicos son los sustratos indicados para el desarrollo de muchos hongos. Estos materiales lignocelulósicos constituyen el principal componente de los vegetales y sus residuos, así como de residuos agroindustriales, forestales y residuos sólidos urbanos, entre otros [5]. Los hongos de pudrición blanca presentan como característica especial la capacidad de degradar la lignina hasta su mineralización a CO_2 y agua gracias a las grandes cantidades de óxidoreductasas que excretan. Además tienen la capacidad de producir y transformar sustancias no fenólicas en fenólicas para su fácil degradación y la obtención de sustancias aromáticas de menor tamaño que la lignina y de menor toxicidad. Aunque estos hongos no pueden usar el carbono obtenido como fuente de energía, ellos son considerados como los mejores organismos degradadores de sustancias aromáticas que han sido encontrados hasta el momento [12]. Estos hongos también degradan celulosa y hemicelulosa, cuya hidrólisis provee una fuente verdadera de energía [13, 3].

Entre los hongos de pudrición blanca como potentes agentes productores de enzimas lignocelulolíticas, se encuentran especies de los géneros *Auricularia*, *Schizophyllum*, *Lentinus*, *Polyporus*, *Pycnoporus* y *Trametes*, entre otros [14]. Especies de estos géneros como *Coriolus versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Ganoderma applanatum*, *Schizophyllum commune*, *Pycnoporus sanguineus*, *Pleurotus ostreatus*, *Grifola frondosa*, *Auricularia delicata*, *Trametes trogii* y *Lentinula edodes,* en la actualidad son reconocidas por su gran capacidad de degradación de celulosa y lignina. Asimismo, estos hongos han sido utilizados en diferentes procesos con fines de biodegradación de diferentes polímeros: carbohidratos, aromáticos, hidrocarburos, colorantes sintéticos, etc. [15-17].

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (115-124) Julio - Diciembre 2014

Los métodos cualitativos constituyen una buena herramienta para la búsqueda rápida (rastreo) de enzimas que degraden el complejo lignocelulósico [9, 18]. Estas pruebas proporcionan una indicación certera de la presencia de estas enzimas con el fin de realizar una adecuada selección de cepas de hongos respecto al grupo de enzimas que producen, disminuyendo la cantidad de pruebas cuantitativas, que son mucho más costosas y demandan mayor tiempo. Sin embargo, estos métodos tienen limitaciones especialmente de precisión, aunque juegan un rol importante en procesos de selección de cepas [19, 20].

Actualmente se emplean varios métodos cualitativos para la detección de celulasas, entre los que se encuentran los medios sintéticos con el reactivo específico sobre el cual actúa la enzima. Por ejemplo, para la detección de la endoglucanasa se emplea carboximetil celulosa (CMC), para exoglucanasas se usa celulosa cristalina o agar azure celulosa. Estas dos enzimas o grupo de enzimas generalmente se detectan por la formación de un halo blanco alrededor de la colonia. Para la β-glucosidasa se emplea agar esculina (6,7 dihidroxicumarino 6-glucósido) como fuente única de carbono. La enzima β-glucosidasa forma glucosa, la cual es excretada al medio y forma un halo negro en torno a la colonia; este halo negro también puede formarse cuando se realizan las pruebas para las enzimas celulolíticas, endoglucanasas y exoglucanasas [9, 21]. Para detectar ligninasas, se emplean reactivos que las óxido-reductasas puedan degradar. Por ejemplo, para la detección de ligninasas como la enzima lignina peroxidasa (LiP) se utiliza azure B, el cual se decolora por la acción de esta enzima [22] y la detección de lacasa se hace a través de la preparación de un medio con el reactivo ABTS (2,2'azino- bis (3-etilbenzo-tiazolin-6-ácido sulfónico)), el cual se oxida en presencia de la enzima lacasa [23, 24].

El objetivo de este trabajo fue determinar el microorganismo con mayor potencial para degradar celulosa y lignina sobre residuos lignocelulósicos mediante el rastreo de las enzimas lignocelulolíticas producidas por diez especies de hongos macromicetos: *L. edodes*, *S. commune*, *T. trogii*, *C. versicolor*, *P. sanguineus*, *G. applanatum*, *G. lucidum*, *G. frondosa*, *P. ostreatus* y *A. delicata*.

MÉTODO

Hongos

Los siguientes hongos de pudrición blanca empleados para el rastreo fueron obtenidos de la colección del Laboratorio de Macromicetos de la Universidad de Caldas: *L. edodes* (CICL54), *S. commune* (UCS004), *T. trogii* (BAFC463), *C. versicolor* (PSUWC430), *P. sanguineus* (UCS003), *G. applanatum* (UCS001), *G. lucidum* (UCC002), *G. frondosa* (PSUMCC 922), *P. ostreatus* (UCC001) y *A. delicata* (UCS002). Las cepas fueron mantenidas en caja de Petri con agar papa dextrosa (PDA) a 4°C.

Rastreo de celulasas

Los medios de cultivo para el rastreo de las actividades endoglucanasa y exoglucanasa, se formularon con 1,7% de agar-agar, y 0,1% de CMC para las endoglucanasas y 0,1% de celulosa cristalina para las exoglucanasas como única fuente de carbono. El medio fue auto clavado durante 15 minutos a 121°C. Las diez cepas de hongos fueron inoculadas en cuatro cajas de Petri por especie y por triplicado y se incubaron por 5 días a 25°C. Las colonias fueron reveladas con el colorante azoico rojo congo al 0,3% por 15 minutos con posterior lavado del colorante empleando una solución 1 N de NaCl [9]. En todos los casos se realizó observación y medición de la formación de halos de decoloración y del crecimiento micelial de cada una de las especies.

Rastreo de ligninasas

Para estimar la presencia de LiP se empleó el colorante heterocíclico azure B en una concentración de 50 μM en medio agar PDA. Para la enzima lacasa se empleó ABTS al 0,035% (p/v) en un medio heterogéneo con la siguiente composición en g/L: 10 glucosa, 2 K_2HPO_4, 0,5 $MgSO_4.7H_2O$, 0,2 extracto de levadura, 0,5 $(NH_4)_2SO_4$, 0,1 Cl_2Ca, 0,0064 $CuSO_4$, 22 agar-agar y 0,35 de ABTS. Se inocularon las diez cepas preseleccionadas en cuatro cajas de Petri por triplicado. Se incubaron por 14 días a 25°C. Posteriormente se determinó el halo de decoloración para los medios con azure B y la formación de halo verde para los medios con ABTS, así como el tamaño de la colonia en todos los casos [9].

Determinación del contenido de fibra de los sustratos

Para determinar el contenido de fibra fue necesario elaborar sustratos empleando 98% de aserrín de roble y 2% carbonato de calcio (porcentajes en base seca) al 60% de humedad y pH 5,5. El sustrato fue empacado en frascos de 125 mL con 30 g y llevados a esterilización a 121°C por 30 min. Posteriormente los

sustratos fueron inoculados al 4% con cada una de las cepas (cuatro frascos por cada especie) y se llevaron a incubación por 30 días en penumbra y 25°C. Luego del proceso de inoculación, los frascos fueron tapados con interlón y película parafinada con el fin de filtrar el aire enurante el tiempo de incubación. Este experimento se realizó por triplicado. La determinación de la fibra se realizó a partir de la medida de fibra detergente neutra, fibra detergente ácida y fibra lignino-ácida, a partir de las cuales fueron calculados los contenidos de fibra soluble, hemicelulosa, celulosa y lignina [25].

Determinación cuantitativa de actividades enzimáticas

Los extractos para la determinación de las actividades enzimáticas (celulolíticas y ligninolíticas) fueron obtenidos por la adición de 12 mL de agua destilada estéril neutra a 1 g de medio sólido fresco, sometido a ultrasonido por 5 min y agitación por 10 min con posterior filtración y centrifugación.

Hidrolasas. Para la determinación de la actividad endo-1,4-ß-D-glucanasa (E.C.3.2.1.4) se usó CMC como sustrato al 0,5% en buffer acetato de sodio pH 4,8 en reacción con 100 μL de extracto enzimático por 30 min a 50°C. La reacción enzimática se detuvo con la adición del reactivo DNS (ácido dinitrosalicílico) [26]. Se continuó con la reacción de DNS para la determinación de azúcares reductores, se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm. Una unidad de actividad enzimática fue definida como la cantidad de enzima que produce 1 μmol de azúcares reductores en un minuto. Para cuantificar la actividad se elaboró una curva patrón de azúcares reductores con distintas concentraciones de glucosa. Para la actividad exo-1,4-ß-D-glucanasa (E.C.3.2.1.91) se usó celulosa cristalina al 1% en buffer acetato de sodio con pH de 4,8 como sustrato, en reacción con 100 μL de extracto enzimático a 50°C por 60 min. La reacción se detuvo adicionando el reactivo DNS. Se continuó con la determinación de azúcares reductores por el método DNS y se centrifugó antes de leer la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm. Una unidad de actividad enzimática de exoglucanasa fue definida como la cantidad de enzima que produce 1 μmol de azúcares reductores en un minuto. La actividad β-glucosidasa (E.C.3.2.1.21) se determinó por la reacción que se produce entre el sustrato, *p*-nitrofenil β-*D*-glucopiranosido al 0,02%, en buffer acetato de sodio con pH de 4,8 y 100 μL de extracto enzimático a 50°C por 30 min. La reacción se detuvo adicionando solución buffer Clark y Lubs (pH 9,8) y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 430 nm ($\square_{430}$=18,5/mM cm) (Wood y Bhat, 1988). Una unidad de actividad enzimática β-glucosidasa se define como la cantidad de enzima que produce 1 μmol de producto (*p*-nitrofenol) en un minuto. Para cuantificar la actividad se elaboró una curva patrón con *p*-nitrofenol. La actividad endo-1,4-ß-D-xilanasa (E.C.3.2.1.8) se determinó mediante la reacción producida entre el sustrato xilano al 0,2% en buffer acetato de sodio con un pH de 4,8 y 100 μL de extracto enzimático a 50°C por 30 min. La reacción se detuvo adicionando DNS y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 540 nm. Una unidad de actividad enzimática de endo-1,4-ß-D-xilana se define como la cantidad de enzima que produce 1 μmol de azúcares reductores en un minuto. La curva patrón de azúcares reductores se elaboró con xilosa.

Actividades ligninolíticas. Para la determinación de la actividad lacasa (E.C.1.10.3.2) se utilizaron 0,5 mM de ABTS en una solución 0,1 M de buffer acetato de sodio a un pH de 3,6 como sustrato, según el método de Paszczynski y Crawford [27], leyendo el aumento de absorbancia a 420 nm ($\square_{420}$=36/mM cm) luego de 3 min de reacción a 30°C. Una unidad de actividad de lacasa fue definida como la cantidad de enzima requerida para oxidar 1 μmol de ABTS en 1 minuto. Para la cuantificación de la actividad lignina peroxidasa (E.C.1.11.1.14) se aplicó el método del azure B [22], que usa como sustrato una solución 32 μM de azure B, 100 μM de H_2O_2 y 150 μL de extracto enzimático. La mezcla de reacción se realizó en buffer tartrato de sodio 50 mM a un pH de 4,5 y se inició la reacción con una solución de peróxido de hidrógeno 100 μM. La lectura de la disminución de absorbancia se hizo a 650 nm. Una unidad actividad enzimática es equivalente al decrecimiento de 0,1 unidades de absorbancia por minuto y por mL (U/min/mL).

Análisis estadístico

Para la selección de las cepas con mejor comportamiento en la producción de enzimas celulolíticas y ligninolíticas se realizaron dos experimentos sucesivos. El primero, consistió en el seguimiento de las 10 cepas aplicando técnicas semi cuantitativas registrando el diámetro de los halos de decoloración /oxidación de los diferentes sustratos. El segundo experimento se deriva de los resultados del primero; a las cuatro cepas con mejor respuesta, se les realizó una prueba cuantitativa de degradación de fibra discriminada. En el primer caso, se realizó un diseño completamente aleatorizado a una vía donde la variable de respuesta

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (115-124) Julio - Diciembre 2014

fue la formación de los halos y el número de repeticiones fue de 12. Para el caso de las enzimas celulolíticas se tuvo en cuenta la formación del halo de degradación del colorante rojo congo (endoglucanasa y exoglucanasa). En el caso de las enzimas ligninolíticas se realizaron pruebas para la lacasa siendo su variable de respuesta la formación de halo de oxidación verdoso; también se hicieron pruebas para la LiP donde la variable de respuesta fue la formación de un halo de decoloración sobre el medio de cultivo con azure B. En el segundo experimento consistente en la determinación cuantitativa de la fibra, se realizó un análisis estadístico para determinar la capacidad de degradación de lignina, celulosa y hemicelulosa sobre aserrín de madera, incubado a 25°C durante 30 días.

Para la evaluación del rastreo de celulasas se realizó un análisis de varianza ANOVA a una vía, tomando como factor la cepa a 10 niveles y como variable de respuesta la formación de los halos. Se empleó el programa *Statgraphics®* Versión 5.1. También se evaluó la capacidad de degradación y las actividades enzimáticas lignocelulolíticas sobre sustrato lignocelulósico, de las cuatro especies de hongos preseleccionadas en las pruebas cualitativas. Para ello se realizó un ANOVA a una vía utilizando el mismo programa estadístico.

RESULTADOS

Rastreo en placa de enzimas celulolíticas

A las diez cepas pre-seleccionadas (*L. edodes*, *S. commune*, *T. trogii*, *C. versicolor*, *P. sanguineus*, *G. applanatum*, *G. lucidum*, *G. frondosa*, *P. ostreatus* y *A. delicata*) se les realizó un rastreo a fin de seleccionar las cepas con mejor comportamiento en la producción de las enzimas celulolíticas endoglucanasa y exoglucanasa. Se evaluó, luego de cinco días de incubación, el tamaño de los halos de degradación formados y el tamaño de la colonia en mm. Como resultado del ANOVA se obtuvo un valor $p<0,5$ (0,000), lo que mostró una diferencia estadísticamente significativa entre las cepas a un nivel de confianza del 95% para definir cuáles cepas fueron significativamente diferentes unas de otras. Se realizó una prueba de Tukey a fin de determinar que tratamientos fueron estadísticamente diferentes. Posteriormente, se realizó el análisis de los residuales de homocedasticidad y de normalidad siempre y cuando la varianza fuera homogénea. En ningún caso los residuales pasaron ambas pruebas (homocedasticidad y normalidad) por lo que se debió realizar la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. Esta prueba mostró diferencia significativa con valor $p<0,5$ (0,000) e indicó que las mejores cepas para la producción de enzimas celulolíticas fueron *G. lucidum*, *L. edodes* y *C. versicolor*.

No todas las cepas evaluadas resultaron capaces de crecer en medios con celulosa como única fuente de carbono. Algunas cepas crecieron muy poco o no presentaron crecimiento sobre ninguno de los dos medios (*G. frondosa*, *A. delicata*, *G. applanatum* y *S. commune*); sin embargo, en todos los casos se observó secreción de enzimas celulolíticas ya que se apreció un halo decolorado alrededor del inóculo, no superior en promedio a los 12 mm (Cuadro 1). Las cepas de *P. sanguineus*, *T. trogii* y *P. ostreatus* crecieron y decoloraron el rojo congo, pero en menor medida que las cepas de *L. edodes*, *G. lucidum* y *C. versicolor*, Entre ellas se destacó la cepa *C. versicolor*.

Rastreo en placa de enzimas ligninolíticas

La evaluación del rastreo de ligninasas (lacasa y LiP) se realizó con un ANOVA a una vía, tomando como factor la cepa a 10 niveles y como variable de respuesta la formación de los halos. Como resultado del ANOVA se obtuvo una valor $p<0,05$ (0,000), lo que mostró una diferencia estadísticamente significativa entre las cepas con un nivel de confianza del 95%. Para definir cuáles cepas fueron significativamente diferentes unas de otras se realizó una prueba de Tukey a fin de determinar que tratamientos fueron es-

Cuadro 1. Diámetros del halo de crecimiento micelial al quinto día de incubación.

Especie	Diámetro halo/crecimiento micelial (mm)
A. delicata	8
S. commune	6,5
T. trogii	26
*C. versicolor**	65
G. frondosa	10
*G. lucidum**	59
G. applanatum	12
P. sanguineus	27
*L. edodes**	62
P. ostreatus	31

*Estadísticamente diferentes a las demás especies en producción de celulasas

tadísticamente diferentes. Posteriormente, se realizó el análisis de los residuales de homocedasticidad y de normalidad, siempre y cuando la varianza fuera homogénea. En ningún caso los residuales pasaron ambas pruebas (homocedasticidad y normalidad) por lo que se debió realizar la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. Esta prueba arrojó diferencia significativa con valor $p<0,05$ (0,000) e indicó que los mayores productores de enzimas ligninolíticas fueron *T. trogii* y *C. versicolor*. En el cuadro 2 se muestran los resultados obtenidos de los ensayos con ABTS (para detectar lacasa) y azure B (para detectar LiP), donde (-) corresponde a un halo verdoso de oxidación del ABTS o blanquecino de decoloración del azure B menor a 1 cm de diámetro, (+) corresponde a un halo entre 1 y 2,9 cm de diámetro, y (++) corresponde a un halo mayor a 3 cm de diámetro a los 14 días de incubación. De las 10 cepas de hongos, solamente el *S. commune* dio negativa (-) en las tres repeticiones que se realizaron a cada cepa para las dos enzimas rastreadas (lacasa y LiP), lo que implica que para esta cepa debe realizarse una serie de pruebas adicionales a fin de corroborar su comportamiento frente a la producción de enzimas ligninolíticas. En las cajas de ABTS con *L. edodes*, *G. lucidum*, *C. versicolor* y *T. trogii* se observó un halo de oxidación verde intenso mayor a 3 cm de diámetro (++) y en las cajas con azure B, *T. trogii* y *C. versicolor* produjeron halos de decoloración mayores a 3 cm (++). Luego de realizar la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis a todos los datos obtenidos de estas pruebas cualitativas de rastreo de enzimas ligninolíticas se obtuvo diferencia significativa (valor $p<0,05$) entre las especies de hongos, resultando *C. versicolor* y *T. trogii* como las mejores cepas productoras de ligninasas.

Cuadro 2. Capacidad de oxidación del ABTS o decoloración del azure B.

Cepa	Oxidación del ABTS	Decoloración del azure B
L. edodes	++	-
A. delicata	+	-
G. frondosa	+	+
S. commune	-	-
G. applanatum	+	+
G. lucidum	++	+
*C. versicolor**	++	++
*T. trogii**	++	++
P. sanguineus	+	-
P. ostreatus	+	-

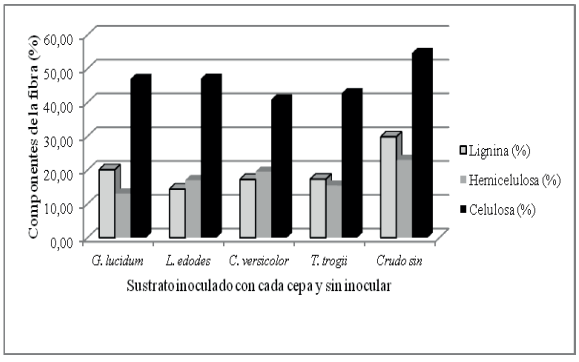
*Estadísticamente diferentes a las demás especies en producción de ligninasas

Capacidad de degradación de celulosa y lignina

De acuerdo con los resultados obtenidos del rastreo cualitativo realizado, en las cuatro cepas con mejor respuesta (*L. edodes*, *C. versicolor*, *G. lucidum* y *T. trogii*) se evaluó la capacidad de degradación de lignina y celulosa sobre un sustrato sólido a base de aserrín de roble durante 30 días de incubación (figura 1). A los resultados obtenidos de la degradación de los componentes de la fibra en forma discriminada por cada una de las cuatro especies de hongos preseleccionadas en las pruebas cualitativas, se les realizó un ANOVA a una vía arrojando como resultados que hubo diferencia significativa en la degradación de lignina con un valor-$p<0,05$ (valor $p=0,0219$). El hongo *L. edodes* degradó el mayor porcentaje de lignina (51,8%) correspondiente a una disminución de la cantidad de lignina del 29,86% en el sustrato crudo a 14,4% después de 30 días de incubación, seguido de *T. trogii* el cual a los 30 días de incubación dejó el sustrato con 14,94% de lignina. Asimismo, se realizó una prueba de comparación múltiple entre las cuatro especies de hongos y los datos finales de lignina obtenidos, ratificando que *L. edodes* fue la especie que degradó la mayor cantidad de lignina en 30 días de incubación con un nivel de significancia del 95%.

En referencia a la degradación de celulosa, se encontró que hubo diferencia significativa (valor–$p=0,0362$) entre las cuatro especies de hongos preseleccionadas corroborándose con una prueba de comparación múltiple a un nivel de significancia del 95%. *C. versicolor* degradó el mayor porcentaje de

Figura 1. Componentes de la fibra en los sustratos inoculados a los 30 días de incubación.



Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (115-124) Julio - Diciembre 2014

celulosa (22%) correspondiente a la disminución en la cantidad de celulosa de 59,56% en el sustrato crudo hasta 46,45% en el sustrato con 30 días de incubación, seguido de *G. lucidum* que redujo el porcentaje de celulosa en el sustrato hasta 46,95%. Sin embargo, dado que todas las cepas resultaron capaces de degradar porcentajes importantes de ambos polímeros, cualquiera de ellas podría utilizarse en la degradación de materiales lignocelulósicos; máxime teniendo en cuenta que los hongos de pudrición blanca pueden potenciar la acción de degradación de los componentes de la fibra variando las formulaciones de sustratos y las condiciones medio ambientales. Los resultados obtenidos en este trabajo tienen concordancia con trabajos realizados por otros investigadores en referencia a los hongos basidiomicetos y en especial los de pudrición blanca, como potentes degradadores de lignina y celulosa [28, 29].

En el cuadro 3 se detallan las actividades enzimáticas cuantitativas promedio (endoglucanasa, exoglucanasa, β- glucosidasa, endoxilanasa, lacasa y lignina peroxidasa) de los sustratos inoculados con las cuatro cepas preseleccionadas a los 30 días de incubación. *C. versicolor* y *T. trogii* exhibieron resultados significativamente diferentes de *G. lucidum* y *L. edodes* en cuanto a las actividades enzimáticas endoglucanasa (valor-p = $2{,}71\times10^{-5}$) y exoglucanasa (valor-p = $9{,}16\times10^{-5}$) se refiere, por lo que degradaron el mayor porcentaje de celulosa del sustrato (figura 1). Sin embargo, respecto a la actividad de la β-glucosidasa las especies significativamente diferentes fueron *L. edodes* y *C. versicolor* con un valor-p=0,0144. *L. edodes* mostró ser el hongo de mejor desempeño en cuanto a la degradación de lignina del sustrato utilizado (figura 1) a pesar de no haberse encontrado diferencias significativas en la producción de enzimas ligninolíticas entre las cuatro cepas. No obstante, al analizar los resultados obtenidos debemos tener en cuenta que el método de extracción utilizado puede no haber garantizado la extracción de todas las enzimas adsorbidas al sustrato.

Cuadro 3. Actividades enzimáticas por gramo de sólido seco (sustrato) inoculados con cuatro hongos durante 30 días de incubación.

Cepa	G. lucidum	L. edodes	C. versicolor	T. trogii
Endoglucanasa	3,872	3,371	9,798	10,514
Exoglucanasa	5,132	4,469	9,401	8,148
β- glucosidasa	1,896	4,436	3,496	4,024
Endoxilanasa	29,643	25,924	18,869	26,234
Lacasa	7,050	9,489	8,916	9,478
Lignina peroxidasa (LiP)	0,065	0,011	0,097	0,088

Las actividades enzimáticas están expresadas en [UE(μmol/g s.s min)], y la LIP en (U/mL/min)

CONCLUSIONES

A partir del rastreo cualitativo en placa de la producción de celulasas y ligninasas en 10 cepas fúngicas causantes de pudrición blanca, se seleccionaron cuatro hongos: *G. lucidum*, *L. edodes*, *C. versicolor* y *T. trogii* y se evaluó su capacidad para degradar la lignina y la celulosa durante la fermentación en estado sólido de aserrín de roble. De los resultados obtenidos surge que cualquiera de estas cepas que se utilice con fines de degradación de materiales lignocelulósicos probablemente será efectiva. Entre ellas, sin embargo, *L. edodes* degradó el mayor porcentaje de lignina (51,8%) al cabo de 30 días, y *C. versicolor* el mayor porcentaje de celulosa (22%). Lo cual demuestra su potencialidad en procesos industriales de producción de enzimas a partir de materiales lignocelulósicos residuales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Vicerrectoría de Investigaciones y Postgrados de la Universidad de Caldas (Colombia) por la financiación del presente trabajo y al Instituto de Biotecnología Agropecuaria de la misma institución por el apoyo material y de infraestructura. Asimismo, los autores expresan sus agradecimientos a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (Argentina) por su apoyo y asesoría durante la realización de este trabajo.

REFERENCIAS

[1] SÁNCHEZ, O.J. and CARDONA, C.A. Trends in biotechnological production of fuel ethanol from different feedstocks. Bioresource Technology, 99, 2008, p. 5270-5295.

[2] JOSHI, V.K. and PANDEY, A. Biotechnology. Food fermentation Vol. II. New Delhi (Indian): Educational Publishers & Distributors, 1999, 998 p.
[3] CARLILE, M., WATKINSON, S. and GOODAY, G. The fungi. 2 ed. London (England): Academic Press, 2001, 588 p.
[4] BOMMARIUS, A.S. and RIEBEL, B.R. Biocatalysis. Atlanta (USA): Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2004, 611 p.
[5] SÁNCHEZ, O.J. y CARDONA, C.A. Producción de Alcohol Carburante: Una Alternativa para el Desarrollo Agroindustrial. Manizales (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, 2007, 386 p.
[6] KOUTINAS, A.A., WANG, R. and WEBB, C. Restructuring Upstream Bioprocessing: Technological and Economical Aspects for Production of a Generic Microbial Feedstock From Wheat. Published online in Wiley InterScience, 2004, p. 1-15.
[7] WEINBERG, Z.G. Biotechnology in developing countries: opportunities in solid state fermentation applied in the agricultural industry. International Journal of Biotechnology, 2(4), 2000, p. 364-373.
[8] REDDY, C.A. The potential for white-rot fungi in the treatment of pollutants. Current Opinion in Biotechnology, 6, 1995, p. 320-328.
[9] POINTING, S.B. Qualitative methods for the determination of lignocellulolytic enzyme production by tropical fungi. Fungal Diversity, 2, 1999, p. 17-33.
[10] KIRK, T.K. and FARREL, R.L. Enzymatic combustion: the microbial degradation of lignin. Annual Reviews of Microbiology, 41, 1987, p. 465-505.
[11] ÂNGELO, A.S. Enzimas hidrolíticas. En: Fungos: Uma Introducâo à biologia, bioquimica e biotecnologia. Caxias do Sul (Brasil): Universidade de Caxias do Sul, 2004, p. 263-285.
[12] ARORA, D.S. and SHARMA, R.K. Ligninolytic fungal laccases and their biotechnological applications. Applied Biochemistry and Biotechnology, 160, 2010, p. 1760-1788.
[13] HUDSON, H. Fungal Biology. Maryland (usa): Edward Arnolds Eds, 1986, 298 p.
[14] MONTOYA, S., GALLEGO, J., SUCERQUIA, A., PELAEZ, B., BETANCOURT, O. y ARIAS, D. Macromicetos observados en bosques del Departamento de Caldas: su influencia en el equilibrio y la conservación de la biodiversidad. Boletín Científico Centro de Museos de Historia Naural, 14 (2), 2010, p. 57-76.
[15] ARORA, D.S., CHANDER, M. and GILL, P.K. Involvement of lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase in degradation and selective ligninolysis of wheat straw. International Biodeterioration & Biodegradation, 50, 2002, p. 115-120.
[16] LITTHAUER, *D.,* VAN VUUREN, M.J., VAN TONDER, A. and WOLFAARDT, F.W. Purification and kinetics of a thermostable laccase from *Pycnoporus sanguineus* (SCC 108). Enzyme and Microbial Technology, 40, 2007, p. 563-568.
[17] ELISASHVILI, V., KACHLISHVILI, E., KHARDZIANI, T. and AGATHOS, S.N. Effect of aromatic compounds on the production of laccase and manganese peroxidase by white-rot basidiomycetes. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 37, 2010, p. 1091-1096.
[18] NAZARENO, M.C., BUCSINSZKY, A.M.M., TOURNIER, H.A., CABELLO, M.N. and ARAMBARRI, A.M. Extracellular ABTS-oxidizing activity of autochthonous fungal strains from Argentina in solid medium. Revista Iberoamericana de Micología, 17, 2000, p. 64-68.
[19] MONTENECOURT, B.S. and EVELEIGH, D.E. Semi quantitative plate assay for determination of cellulase production by *Trichoderma viride*. Applied and environmental microbiology, 33(1), 1977, p. 178-183.
[20] TAKANO, M., NISHIDA, A., NAKAMURA, M. Screening of wood-rotting fungi for kraft pulp bleaching by the Poly R decolorization test and biobleaching of hardwood kraft pulp by *Phanerochaete crassa* WD 1694. Journal of Wood Science, 47, 2001, p. 63-68.
[21] ZHANG, H.P., HIMMEL, M.E. and MIELENZ, J.R. Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies. Biotechnology Advances, 24, 2006, p. 452-481.
[22] ARCHIBALD, F. A new assay for lignin-type peroxidases employing the dye Azure B. Applied Environmental Microbiology, 58, 1992, p. 3110-3116.
[23] THURSTON, C. The structure and function of fungal laccases. Microbiology-UK, 140, 1994, p. 19-26.
[24] EGGERT, C., TEMP, U., DEAN, J.F. and ERIKSSON, K.L. A fungal metabolite mediates degradation of non-phenolic lignin structures and synthetic lignin by laccase. FEBS Letters, 391, 1996, p. 144-148.
[25] LETERME, P. Análisis de alimentos y forrajes. (Protocolos de Laboratorio). Palmira (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, 2010, 66 p.
[26] MILLER, G.L. Use of Dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry, 31(3), 1959, p. 426-428.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (115-124) Julio - Diciembre 2014

[27] PASZCZYNSKI, A. and CRAWFORD, R.L. Degradation of azo compounds by ligninases from *Phanerochaete chrysosporium* Involment of veratryl alcohol. Biochemistry Biophysics resources communications, 178, 1991, p. 1056-1063.
[28] BALDRIAN, P. and VALASKOVÁ, V. Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. FEMS Microbiology Review, 32, 2008, p. 501-521.
[29] MARTÍNEZ-ANAYA, C., BALCÁZAR-LÓPEZ, E., DANTÁN-GONZÁLEZ, E. y FOLCH-MALLOL, J.L. Celulasas fúngicas: Aspectos biológicos y aplicaciones en la industria energética. Revista Latinoamericana de Microbiología, 50(3 y 4), 2008, p. 119-131.

RECUENTO DE COLIFORMES Y *Escherichia coli* EN CANALES BOVINAS SOMETIDAS A TRATAMIENTOS FÍSICOS Y QUÍMICOS

RECOUNT OF COLIFORMS AND *Escherichia coli* IN CATTLE CARCASSES UNDER PHYSICAL AND CHEMICAL TREATMENTS

CONTAGEM DE COLIFORMES E *Escherichia coli* EM CARCAÇAS DE BOVINOS SOB TRATAMENTOS FÍSICOS E QUÍMICOS

Eduardo Javid Corpas-Iguarán[1], Juan Sebastián Arcila-Henao[2]

RESUMEN

Se evaluó el recuento de coliformes totales y Escherichia coli en canales bovinas sometidas a diferentes tratamientos que incluyeron combinaciones de los métodos de lavado, desinfección y vaporización, utilizando el diseño completamente aleatorizado de un factor con 3 repeticiones. El muestreo se realizó mediante frotis de superficie en tres áreas diferentes de la muestra (espalda, pecho y anca), que fueron posteriormente analizadas mediante el método de recuento en placa. Al aplicar secuencialmente los métodos de remoción microbiana se apreció la disminución progresiva en el recuento de coliformes totales y E. coli, y en la variabilidad de los datos, principalmente en los tratamientos C, D y E. La prueba de contrastes múltiples de Friedman mostró la inexistencia de diferencias estadísticas entre los recuentos de los tratamientos C y E en la muestra 2, indicando la ineficacia de la vaporización como coadyuvante de la acidificación para disminuir el recuento de los microorganismos de estudio. Las pruebas de comparación en muestras independientes mostraron resultados idénticos a la prueba de Friedman, excepto

Recibido para evaluación: 17 de noviembre de 2013. **Aprobado para publicación:** 4 marzo de 2014

1 Universidad Católica de Manizales, Instituto de investigación en Microbiología y Biotecnología Agroindustrial, Grupo de Investigación y Desarrollo Tecnológico para el Sector Agroindustrial y Agroalimentario. Especialista en Microbiología Industrial. Manizales, Colombia.

2 Universidad Católica de Manizales, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Grupo de Investigación en Desarrollos Tecnológicos y Ambientales. Magister en Ingeniería Química - Automatización. Manizales, Colombia.

Correspondencia: ecorpas@ucm.edu.co; eduardocorpas@hotmail.com

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (125-133) Julio - Diciembre 2014

para el recuento de E. coli entre los tratamientos D y E, sugiriendo que la vaporización tiene efecto significativo para potenciar la disminución del recuento del microorganismo en las canales.

ABSTRACT

We evaluated the recount of total coliforms and Escherichia coli in cattle carcasses submitted to different treatments which included combinations of the methods of washing, disinfecting and vaporizing, using the completely randomized design of a factor with 3 replications. Sampling was carried out by swab surface in three different areas of the simple. (back, chest and rump), which were subsequently analyzed by the plate count method. When applying sequentially microbial removal methods, was observed the progressive decrease in total coliform counts and E. coli, and variability of the data, mainly in treatments C, D y E. Multiple contrasts proof of Friedman revealed the no statistical differences between counts of the treatments C and E in the sample 2, indicating the inefficacy of vaporization as coadjuvant of the acidification to decrease counting of the microorganisms of study. Comparison tests on independent samples showed identical results to the Friedman test, except for counting of E. coli between treatments D y E, suggesting that vaporization has significant effect to enhance the diminution of count of microorganisms on carcasses.

PALABRAS CLAVE:
Agentes de Control de Microorganismo, Bovinos, Inocuidad de los Alimentos, Ácidos Orgánicos, Vapor.

KEYWORDS:
Cattle, Control Agents for Microorganisms, Food Safety, Organic Acids, Steam.

RESUMO

Foi avaliada a contagem de coliformes totais e Escherichia coli em carcaças de bovinos submetidos a tratamentos diferentes, os quais incluíam combinações dos métodos de lavagem, desinfecção e vaporização, utilizando um delineamento experimental inteiramente casualizado dum fator com 3 repetições. A amostragem foi feita por esfregaço de superfície em três áreas diferentes da amostra (costa, peito e anca), que foram posteriormente analisadas pelo método de contagem em placa. Ao aplicar seqüencialmente os métodos de remoção microbiana foi observada uma redução progressiva na contagem de coliformes totais e E. coli, e na variabilidade dos dados, principalmente nos tratamentos C, D e E. O teste de contrastes múltiplos de Friedman, mostrou a ausência de diferenças estatísticas entre as contagens dos tratamentos C e E na amostra 2, indicando a ineficácia da vaporização como um adjuvante da acidificação para diminuir a contagem dos microrganismos de estudo. Os testes de comparação em amostras independentes mostraram resultados idênticos aos do teste de Friedman, salvo para a enumeração de E. coli entre os tratamentos D e E, sugerindo que a vaporização tem efeito significativo para reforçar a diminuição do número de microrganismos nas carcaças.

PALAVRAS-CHAVE:
Ácidos Orgânicos, Agentes de Controle de Microrganismos, Bovinos, Inocuidade dos Alimentos, Vapor.

INTRODUCCIÓN

Actualmente existe un interés creciente en los tratamientos de descontaminación efectiva de las canales cárnicas por la probable presencia de patógenos [1], transferidos a partir de materia fecal desde las pezuñas, el cuero o el intestino durante el faenado [2]. La seguridad en la producción alimentaria depende de la

garantía de inocuidad en cada lote de producción, el manejo apropiado de los programas prerrequisitos y la aplicación correcta de sistemas como el Análisis de Peligros y determinación de Puntos Críticos de Control (HACCP), basado primordialmente en una cultura de prevención [3].

Para la aplicación del sistema HACCP, se tiene como herramienta el uso de indicadores microbiológicos que sugieren la posible prevalencia de patógenos, entre los que se encuentra el recuento de coliformes y de *E. coli* [4]. Se ha demostrado que el control de estos migroorganismos guarda relación con el desarrollo de estrategias integrales que involucran la higiene en las instalaciones, la capacitación del personal y la higiene en el proceso de desposte [5]. Así mismo, la minimización de la posibilidad de presencia patógena se garantiza por medio de tratamientos como el lavado con altas presiones hidrostáticas [5], el tratamiento térmico de canales [6 – 9] y la acidificación con ácidos orgánicos, [8, 10, 11]. Además se ha estudiado el efecto descontaminante del vapor combinado con ultrasonido para reducción de *Campylobacter* alcanzando disminuciones significativas en condiciones de procesamiento industrial [12].

Otras estrategias complementarias son, la disminución de la aparición fecal de cepas patógenas a través del uso de dietas a base de granos y forrajes [13], vacunación contra patógenos [14]; además de actividades desarrolladas con el ganado en pie, entre las que figuran, el uso de probióticos aditivos alimentarios, que concomitantemente con las medidas de durante el beneficio del ganado, favorecen la la prevalencia de patógenos como *E. coli* serotipo O157H:7 en las canales [15], cuya prevalencia del 2% es netamente de origen fecal [16].

Igualmente, se ha demostrado que el músculo bovino es estéril [7], por lo cual, si se controla la contaminación cruzada no es necesaria la adopción de estrategias adicionales después del lavado de las canales [17], incluso en fases tan susceptibles como la evisceración [18]. Sin embargo, la realidad de las empresas en Colombia es que por tener notables falencias higiénico-sanitarias y limitadas estrategias que trasciendan los programas de capacitación hacia la sensibilización del operario, se ven abocadas a utilizar tratamientos subsecuentes al lavado para asegurar la eliminación de los patógenos. Teniendo en cuenta los planteamientos anteriormente mencionados, se evaluó el efecto de diferentes métodos físicos y químicos sobre el recuento de coliformes totales y *E. coli* en las canales bovinas.

MÉTODO

Lugar de estudio

Las actividades de muestreo se llevaron a cabo en un frigorífico ubicado en la ciudad de Manizales, mientras el análisis microbiológico de las muestras se realizó en el laboratorio de análisis de alimentos del Instituto de Investigación en Microbiología y Biotecnología de la Universidad Católica de Manizales (Colombia).

Diseño experimental

Análisis estadístico aplicado. Se realizó el análisis para dos tipos de muestras de canal bovina, basado en el diseño de un factor completamente aleatorizado con repeticiones; cada muestra fue sometida a condiciones de tratamientos parcialmente distintas y secuenciales, y para cada tratamiento se analizaron tres áreas diferentes de la muestra (espalda, pecho y anca), en consonancia con las indicaciones del decreto 1500 [19] y la resolución 2905 [20]. Para el análisis de la información se utilizó una prueba no-paramétricas debido a la violación de los supuestos de Normalidad y homocedasiticidad en los resultados de las variables de respuesta. En primera instancia se utilizó la prueba no paramétrica de Friedman para muestras relacionadas o dependientes, con el fin de encontrar diferencias entre los tratamientos, en cada tipo de muestra de canal bovino, basado en la media de los rangos establecidos en la prueba, bajo un nivel de significancia de 0,05. Posteriormente se realizó la prueba de Mann Whitney, para contrastar la diferencia entre tratamientos independientes, entre los dos tipos de muestra de canal bovino, con el mismo nivel de significancia.

Se evaluaron secuencialmente los recuentos de coliformes totales y *E. coli* después de aplicar los métodos de lavado y acidificación de las canales sin vaporización para la muestra 1, y lavado, vaporización y acidificación para la muestra 2. Específicamente, se tuvieron en cuenta los tratamientos (Tto.): Tto A (antes del lavado), Tto B (lavado), Tto C (lavado–vaporización), Tto D (lavado–acidificación) y Tto E (lavado–vaporización– acidificación), aplicados a las canales como métodos de remoción microbiana (cuadro 1). Es importante aclarar que el Tratamiento A no corresponde a un método de eliminación de microorganismos, sino que constituye una línea base en ambas muestras.

Variable de respuesta. Las variables de respuesta fueron, el recuento de coliformes totales, como indi-

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (125-133) Julio - Diciembre 2014

Cuadro 1. Muestreo de las canales bovinas teniendo en cuenta los tratamientos suministrados.

	Tto. A	Tto. B	Tto. C	Tto. D	Tto. E
Muestra 1	3 R	3 R		3 R	
Muestra 2	3 R	3 R	3 R		3 R
R= Repeticiones.					

cador de la presencia de patógenos [21], y el recuento de *E. coli* como representante común de los patógenos zoonoticos [22]. Los datos fueron analizados mediante el software estadístico SPSS versión 18® y Matlab versión 11ª ®.

Prueba de Hipótesis. Se establecieron las siguientes afirmaciones, para las pruebas de contraste:

H_0: No hay diferencia entre las medias de los rangos de las variables analizadas.

H_1: Hay diferencia entre las medias de los rangos de las variables analizadas.

Procedimiento experimental

Las canales fueron seleccionadas por medio de la técnica de muestreo al azar, y el muestreo se realizó inmediatamente después de cada tratamiento, exceptuando las muestras correspondientes a los tratamientos D y E, que fueron tomadas 24 horas después de la adición del ácido orgánico utilizado, pesto que se requiere un tiempo similar para lograr el efecto desinfectante [23]. Los procedimientos de remoción microbiana evaluados tuvieron las siguientes condiciones:

Lavado. Se adicionó agua potable a la superficie de la canal con suficiente presión durante 30 segundos, efectuando la actividad desde el área superior de la canal izada (pierna trasera), hasta su área inferior (pierna delantera).

Vaporización. Se inyectó vapor de agua a la superficie de la canal a 85°C durante 20 segundos a una distancia promedio de 3 cm.

Acidificación. Se asperjó durante 30 segundos una mezcla comercial (Citrosan) de ácido cítrico y ácidos orgánicos, preparada en volumen de 3 mL/ L.

Toma de Muestra. Se humedeció el aplicador estéril en un tubo que contenía cinco ml de caldo letheen (Merck, Alemania) y se frotó con este un área de 100 cm^2 de la superficie de la canal a muestrear. El escobillón fue introducido en el tubo respectivo, el cual fue cerrado, mantenido en refrigeración a 4±2°C y llevado inmediatamente al laboratorio para el análisis respectivo en el término de las siguientes 2 horas posteriores al muestreo.

Método de Análisis Microbiológico. El método de análisis microbiológico utilizado se denomina recuento en placa sugerido por el Standard Methods, fundamentado en el crecimiento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) al mezclar en cajas de Petri estériles, 1 mL de los microorganismos contenidos en la suspensión de caldo letheen y 18-20 mL de agar Cromocult (Merck, Alemania) estéril, a temperatura entre 40 y 45°C. Las cajas se incubaron durante 48h, a una temperatura de 35±2°C.

RESULTADOS

Comportamiento del recuento de coliformes totales en las canales bovinas

Los resultados de ambas muestras bovinas expresan dinámicas similares, en cuanto a la diferente y decreciente variabilidad de los datos obtenidos a lo largo de los tratamientos, existiendo recuentos mayores en los tratamientos A y B, en comparación con los subsecuentes a estos (figura 1). Este resultado confirma la condición de variabilidad diferente entre los tratamientos de remoción microbiana en las canales bovinas reportada en otro estudio [24]. Igualmente, los resultados de ambas muestras indican que el lavado de las canales (tratamiento B) no fue suficiente para lograr una remoción óptima de coliformes totales, por lo cual se requiere potenciar su efecto, con el generado por los otros tratamientos de remoción.

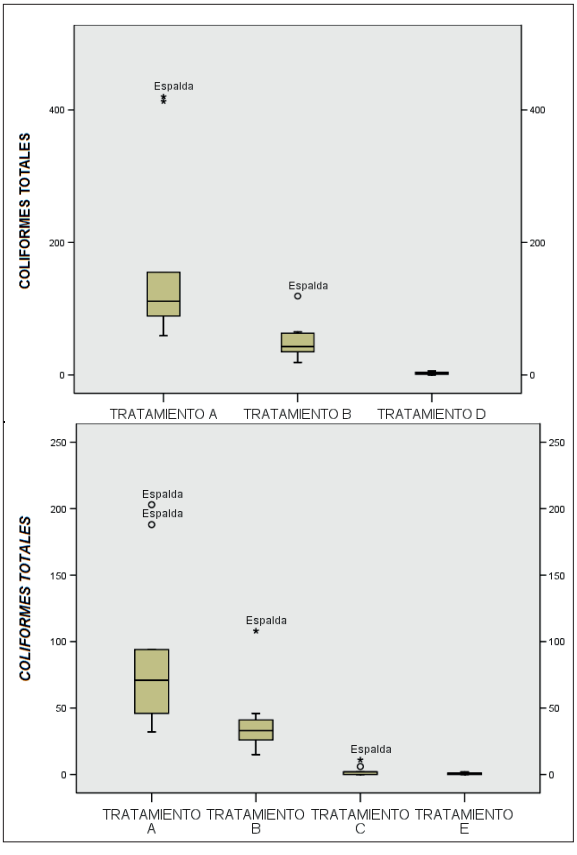
Además se pueden observar algunos datos atípicos, principalmente en los tratamientos A y B (figura 1), correspondientes a unidades de muestra tomadas del área de espalda, en contraste con otro estudio, en el cual, la mayor tasa de contaminación correspondió al área del pecho [24]. Este comportamiento podría estar relacionado con la susceptibilidad de la zona a ser contaminada con microorganismos desde utensilios de corte y por arrastre durante el lavado de la canal, donde los microorganismos del área de pierna y anca podrían ser trasladados hacia la espalda. Esta condición sin embargo, no parece repercutir en la eficacia final de eliminación de coliformes totales cuya tenden-

cia es cercana a 0 UFC/100 cm^2 después de los tratamientos D (figura 1, arriba) y C y E (figura 1, abajo).

Por otra parte, en la figura 1 se observa que el tratamiento D (figura 1, arriba) y los tratamientos C y E (figura 1, abajo) muestran una distribución de datos casi constante y menor a la obtenida en los datos correspondientes a los tratamientos A y B, lo que indica que la combinación entre métodos de lavado, desinfección y vaporización promueven la estabilidad en cuanto a remoción de coliformes totales. La reducción de los recuentos de coliformes totales a menos de 3 UFC/100 cm^2 en cada uno de estos tratamientos deriva en una menor posibilidad de la presencia de bacterias patógenas en las canales, por cuanto los coliformes totales constituyen un indicador higiénico sanitario.

Posteriormente, se aplicó el análisis de varianza a los datos de recuento de coliformes totales provenientes de los tratamientos de las canales bovinas, encontrándose, para las muestras 1 y 2, P-valores ($1.1139e^{-4}$ para la muestra 1 y $2.3145e^{-6}$ para la muestra 2) inferiores al nivel de significancia de la prueba, que correspondió a $\alpha=0,05$, indicando la existencia de diferencias estadísticas entre los tratamiento aplicados.

Figura 1. Diagrama de caja para los recuentos de coliformes totales en muestras 1 (arriba) y 2 (abajo).



Además de esto, se determinó, mediante el estadístico de chi cuadrado de Friedman, que las interacciones entre los tratamientos y el lugar de la toma de datos no presentan relación alguna dentro de los recuentos de coliformes totales obtenidos.

Comparación de rangos múltiples aplicado a la remoción de coliformes totales para la muestra 1. Al emplear la prueba de contrastes múltiples de Friedman se encontró que los recuento de coliformes totales obtenidos al aplicar el tratamiento A eran estadísticamente distintos de los generados al emplear el tratamiento D (figura 2). Este hallazgo corrobora el comportamiento denotado en el respectivo análisis del diagrama de caja y bigote para la muestra 1 (figura 1, izquierda), confirmando además, la condición determinante de aplicar el método de acidificación para alcanzar mayores niveles de remoción, lo cual ha sido previamente confirmado en otros estudios [10, 11].

Igualmente, se corroboró la apreciación inicial, en la cual, debido a la variabilidad de los datos no se pudieron establecer diferencias entre los tratamientos B y D, pero además, la variabilidad del tratamiento B, por causa de recuentos significativamente menores, en comparación con los recuentos promedios, podría ser una indicación en la cual, la reducción de la contaminación cruzada a partir de prácticas apropiadas de higiene, derivaría en procesos que no requerirían métodos adicionales de eliminación de coliformes totales. Previos estudios han indicado que el lavado favorece significativamente la reducción de microorganismos [5].

Comparación de rangos múltiples aplicado a la remoción de coliformes totales para la muestra 2. La figura 3 es consecuente con el diagrama de caja y bigote (figura 1, abajo) en cuanto a la reducción paulatina del recuento de coliformes totales, a medida que se ejecutan los diferentes tratamientos de remoción, pero además se puede establecer que los recuentos obtenidos en los tratamientos C y E presentan diferencias respecto al proceso A.

Igualmente, se puede apreciar que el método de acidificación incluido en el tratamiento E potencia la reducción ejercida por el tratamiento C (que incluye la vaporización), aunque no existen diferencias estadísticas entre estos tratamientos. La eficacia del proceso

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (125-133) Julio - Diciembre 2014

Figura 2. Comparación de rangos de Friedman para el recuento de coliformes totales en la muestra 1.

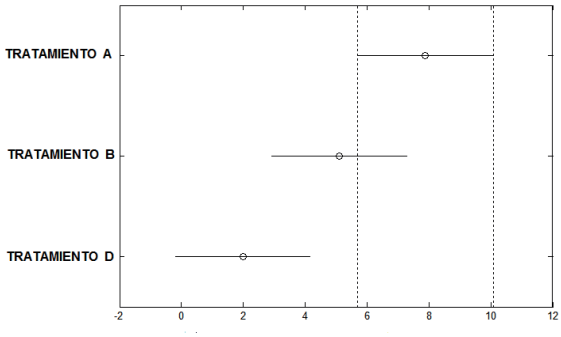


Figura 3. Comparación de rangos de Friedman para el recuento de coliformes totales en la muestra 2.

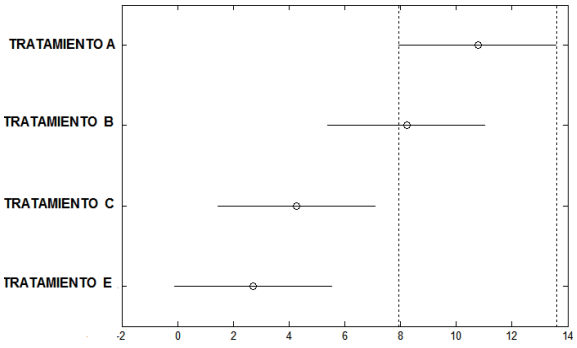
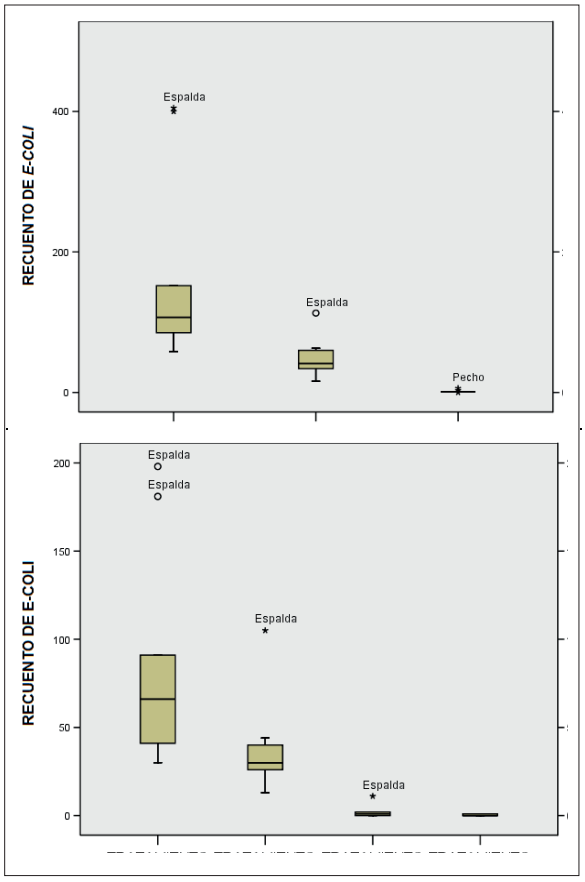


Figura 4. Diagrama de caja para los recuentos de *E. coli* en muestras 1 (arriba) y 2 (abajo).



de vaporización frente a otros métodos de remoción microbiana se ha relacionado con la capacidad de penetración en áreas de difícil acceso [9], y con el control de factores operacionales como temperatura y distancia de la superficie blanco, y del producto, como la carga microbiológica inicial y el tipo de microorganismo [7]; mientras la eficacia de la remoción a partir del uso de ácidos orgánicos se afecta por el tipo de tejido, carga microbiológica inicial, concentración y temperatura de la solución [8].

Comportamiento del recuento de *E. coli* en las canales bovinas

Al igual que ocurrió con la población de coliformes totales, se observa que a medida que transcurrieron las etapas de los tratamientos utilizados para la remoción de *E. coli*, la variabilidad de los datos disminuyó hasta obtenerse una distribución uniforme cuyo valor medio se aproxima a cero (figura 4); y se presentaron datos atípicos en cada tratamiento, excepto en el proceso E de la muestra 2. Además, los tratamientos D (en la muestra 1) y C y E (en la muestra 2), generaron un recuento de *E. coli* cercano a 0 UFC/100cm^2.

Al efectuar el respectivo análisis de varianza a los datos provenientes de cada tratamientos de remoción de *E. coli* en las canales bovinas para las muestras 1 y 2, se encontraron diferencias, bajo un nivel de significancia de $\alpha=0,05$ entre los recuentos obtenidos en los tratamientos A, B y D para la muestras 1 (con un P-valor de 2,7472e^{-5}) y entre los procesos A, B, C y E para la muestra 2 (con un valor P-valor de 2.3855e^{-5}). Al igual que ocurrió con la remoción de coliformes totales, no se presentó relación entre los tratamientos de remoción de *E. coli* y el área de la canal a partir de la cual se tomaron los datos.

Comparación de rangos múltiples aplicado a la remoción de *E. coli* para la muestra 1. La prueba de comparación de rangos múltiples de Friedman aplicada a la remoción de *E. coli* en los diferentes tratamientos

incluidos en la muestra 1, indica que las diferencias estadísticas obtenidas en el análisis de varianza aplicado, provienen específicamente de los recuentos generados en los tratamientos A y D (figura 5). Además, no se evidencian diferencias entre los tratamientos B y D, lo cual, en coherencia con el comportamiento del recuento de *E. coli* denotado en el diagrama de caja y bigote (figura 4, izquierda), podría ser causa de la variabilidad de los datos provenientes del tratamiento B en la muestra 1.

Comparación de rangos múltiples aplicado a la remoción de *E. coli* para la muestra 2. La prueba de comparación de rangos de Friedman muestra la existencia de diferencias a favor de los tratamientos C y E en comparación con el tratamiento A (figura 6), comprobándose la eficacia de los métodos de acidificación y vaporización, incluidos en estos tratamientos, para potenciar la remoción de *E. coli*. Las reducciones de los recuentos son comparables a las presentadas por otros estudios utilizando agua a entre 80 y 85°C [6, 7] o ácidos orgánicos al 2% [25].

Figura 5. Comparación de rangos de Friedman en cuanto al recuento de *E. coli* para la muestra 1.

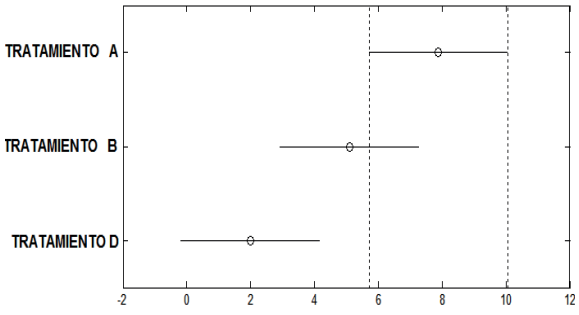
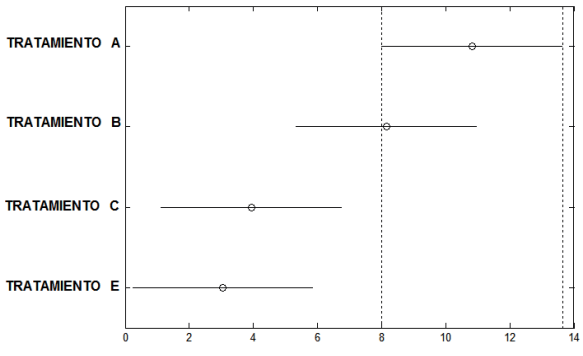


Figura 6. Comparación de rangos de Friedman en cuanto al recuento de *E. coli* para la muestra 2.



Por otra parte, al comparar los tratamientos C y E se denota la inexistencia de diferencias en los recuentos obtenidos, lo cual indica que el uso de vaporización no garantiza una eliminación significativamente mayor de *E. coli* con respecto a los recuentos obtenidos después de la acidificación. A pesar de esto, es importante tener en cuenta que el recuento máximo de *E. coli* en el ttratamiento E fue de 1 UFC/cm^2, donde además, no se presentaron datos atípicos, lo cual podría ser relevante para la empresa al momento de garantizar las condiciones regulatorias establecidas en la resolución 2905, donde se establece que en un consecutivo de 13 muestras, no deben existir más de 3 que superen el límite superior del rango marginal correspondiente a 100 UFC/cm^2 [20].

Comparación del recuento de coliformes totales en muestras independientes. Se aplicó la prueba de Mann Whitney buscando establecer diferencias entre dos muestras independientes no secuenciales correspondientes a los tratamientos C (muestra 2), D (muestra 1) y E (muestra 2). En la comparación 1 (cuadro 2), el valor P del estadístico de prueba fue de 0,04, menor que el nivel de significancia de 0,05 que especifica el test, lo cual indica una diferencia entre las medias de los rangos de los tratamientos, equivalente a un menor valor de rango medio en el tratamiento D (lavado–acidificación); mientras en la comparación 2, el valor P correspondió a 0,86 frente al mismo nivel de significancia, indicando que no existe diferencia entre las medias de los tratamientos D (lavado–acidificación) y E (lavado–vaporización-desinfección).

Ambos resultados indican que la vaporización no potencia significativamente la disminución en el recuento de coliformes totales ejercida por la desinfección.

Comparación del recuento de *E. coli* en muestras independientes. La prueba de Mann Whitney, en relación a las diferencias de los recuentos de *E. coli* entre las muestras no secuenciales arrojó un valor P de 0,483, mayor al nivel de significancia de 0,05 en la comparación 1 (cuadro 3), indicando que no existen diferencias entre los recuentos de *E. coli* obtenidos en los tratamientos C y D; en contraste, la comparación 2 reveló un valor P de 0,013 que corresponde a la existencia de diferencias entre los tratamientos D y E, en favor del tratamiento E. Contrario a los resultados obtenidos para el recuento de coliformes totales, la comparación indicó que la vaporización se presenta como una mejor alternativa para potenciar la disminución del recuento de *E. coli* en comparación con el tratamiento que utiliza acidificación sin vaporización. Esta circuns-

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (125-133) Julio - Diciembre 2014

Cuadro 2. Comparación de rangos medios en los tratamientos en cuanto al recuento de coliformes.

	Tratamientos	Media de rangos	Suma de Rangos
Comparación 1	Tto C	6,50	19,5
	Tto D	3,30	16,5
Comparación 2	Tto E	4,93	34,5
	Tto D	5,25	10,5

Cuadro 3. Comparación de rangos medios en los tratamientos en cuanto al recuento de *E. coli*.

	Tratamientos	Media de rangos	Suma de Rangos
Comparación 1	Tto C	8,67	78,0
	Tto D	10,33	93,0
Comparación 2	Tto E	6,67	60,0
	Tto D	12,33	111,0

tancia podría estar relacionada con la condición de termorresistencia propia de *E. coli* en comparación con los coliformes totales.

CONCLUSIONES

Los tratamientos que incluían los métodos de vaporización y acidificación fueron los más eficientes para la reducción del recuento de coliformes totales y *E. coli*, generando disminuciones promedio menores a 3 UFC/100cm^2 en las canales; sin embargo, la prueba de comparación de rangos de Friedman demostró la inexistencia de diferencias estadísticas al comparar el recuento de las poblaciones de estudio entre los tratamientos C y E, indicando que la integración de la vaporización como proceso coadyuvante de la acidificación para la remoción de los microorganismos de estudio, no se considera indispensable. Las pruebas de comparación en muestras independientes mostraron idénticos resultados, excepto para el recuento de *E. coli* al aplicar los tratamientos D y E, sugiriendo que la vaporización tiene efecto significativo para potenciar la disminución del recuento del microorganismo en las canales.

AGRADECIMIENTOS

A la universidades Católica de Manizales y el frigorífico Friogan S.A. por el apoyo para el desarrollo del proyecto respectivo (acuerdo 2010-016 del 27-01-2011).

REFERENCIAS

[1] LORETZ, M., STEPHAN, R. and ZWEIFEL, C. Antibacterial activity of decontamination treatments for cattle hides and beef carcasses. Food Control, 22 (3–4), 2011, p. 347–359.

[2] GREIG, J., WADDELL, L., WILHELM, B., WILKINS, W., BUCHER, O., PARKER, S. and RAJIĆ, A. The efficacy of interventions applied during primary processing on contamination of beef carcasses with *Escherichia coli*: A systematic review-Meta-Analysis of the published research. Food Control, 27 (2), 2012, p. 385–397.

[3] WALLACE, C., HOLYOAK L., POWELL, S. and DYKES, F. HACCP – The difficulty with Hazard Analysis. Food Control, 35 (1), 2014, p. 233–240.

[4] MILIOS, K., DROSINOS, E. and ZOIOPOULOS, P. Food Safety Management System validation and verification in meat industry: Carcass sampling methods for microbiological hygiene criteria. A review. Food Control, 43 (1), 2014, p. 74–81.

[5] LINDBLAD, M. and BERKING, C. A meat control system achieving significant reduction of visible faecal and ingesta contamination of cattle, lamb and swine carcasses at Swedish slaughterhouses Food Control, 30(1), 2013, p. 101–105.

[6] LORETZ, M., STEPHAN, R. and ZWEIFEL, C. Antibacterial activity of decontamination treatments for pig carcasses. Food Control, 22(8), 2011, p. 1121–1125.

[7] HUFFMAN, R. Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. Meat Science, 62(3), 2002, p. 285–294.

[8] KOUTSOUMANIS, K., ASHTON, L., GEORNARAS, I., BELK, K., SCANGA, J. and KENDALL, P. Effect of single or sequential hot water and lactic acid decontamination treatments on the survival and growth of *Listeria monocytogenes* and spoilage microflora during aerobic storage of fresh beef at 4, 10, and 25°C. Journal of Food Protection, 67(12), 2004, p. 2703–2711.

[9] JAMES, C., JAMES, S., HANNAY, N., PURNELL, G., BARBEDO-PINTO, C. and YAMAN, H. Decontamination of poultry carcasses using steam or hot water in combination with rapid cooling, chilling or freezing of carcass surfaces. International Journal of Food Microbiology, 114(2), 2007, p. 195–203.

[10] ZWEIFEL, C. and STEPHAN, R. Microbial decontamination of poultry carcasses. International Microbial Decontamination in the Food Industry, 2012, p. 60–65.

[11] DIKICI, A., ARSLAN, A., YALCIN, H., OZDEMIR, P., AYDIN, I. and CALICIOGLU, M. Effect of Tween 20 on antibacterial effects of acidic, neutral and alkaline decontaminants on viability of *Salmonella* on chicken carcasses and survival in waste decontamination fluids. Food Control, 30(2), 2013, p. 365–369.

[12] MUSAVIAN, H., KREBS, N., NONBOE, U., CORRY, J. and PURNELL, J. Combined steam and ultrasound treatment of broilers at slaughter: A promising intervention to significantly reduce numbers of naturally occurring campylobacters on carcasses. A review. International Journal of Food Microbiology, 176(1), 2014, p. 23–28.

[13] DOYLE, M. and ERICKSON, M. Opportunities for mitigating pathogen contamination during on-farm food production. International Journal of Food Microbiology, 152(3), 2012, p. 54–74.

[14] CALLAWAY, T., ANDERSON, R., EDRINGTON, K., GENOVESE, K., HARVEY, R. and POOLE, T. Novel methods for pathogen control in livestock pre-harvest: an update. Advances in Microbial Food Safety, 2013, p. 275–304.

[15] HALBERG, M., DALMASSO, M., INGMER, H., LANGSRUD, S., MALAKAUSKAS, M. and MADER, A. Persistence of foodborne pathogens and their control in primary and secondary food production chains. Food Control, 44(1), 2014, p. 92-109.

[16] MÁTTAR, S., PIEDRAHITA, D. y MÁRQUEZ, T. Detección de *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella spp*., en cerdos del departamento de Córdoba. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 9(1), 2004, p. 386-392.

[17 OQUENDO, M. Incidencia de *Escherichia coli* serotipo O157:H7 en carne proveniente de ganado bovino de mataderos de Puerto Rico [Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos]. Mayagúez (Puerto Rico): Universidad de Puerto Rico, Facultad de Ciencias Agrícolas, 2006, 76 p.

[18] BLANCO, D., MEDEL, I., MARTÍN, M., CALVO, B., SIPAN, A. y SIERRA, I. Influencia del faenado y la estación sobre la contaminación microbiana superficial en canales de "Ternasco de Aragón". XXVI Jornadas Científicas y V Internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Sevilla (España): 2001, p.167-176.

[19] COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto número 1500: Sistema oficial de inspección, vigilancia y control de la carne, productos cárnicos comestibles y derivados cárnicos. Bogotá (Colombia): 2007, 41 p.

[20] COLOMBIA. MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Resolución número 2905: reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios y de inocuidad de la carne y productos cárnicos comestibles. Bogotá (Colombia): 2007, 75 p.

[21] SAVICHTCHEVA, O. and OKABE, S. Alternative indicators of fecal pollution: Relations with pathogens and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives. Water Research, 40(13), 2006, p. 2463–2476.

[22] GWYTHER, C., JONES, D., GOLYSHIN, P., EDWARDS-JONES, G. and WILLIAMS, A. Fate of pathogens in a simulated bioreduction system for livestock carcasses. Waste Manage, 32 (5), 2012, p. 933–938.

[23] CUDJOE, K. The effect of lactic acid sprays on the keeping qualities of meat during storage. International Journal of Food Microbiology, 7(1), 1998, p. 1–7.

[24] UNTERMANN, F., STEPHAN, R., DURA, U., HOFER, M. and HEIMANN, P. Reliability and practicability of bacteriological monitoring of beef carcass contamination and their rating within a hygiene quality control programme of abattoirs. International Journal of Food Microbiology, 34(1), 1997, p. 67–77.

[25] BOSILEVAC, J., NOU, X., BARKOCY-GALLAGHER, G., ARTHUR, T. and KOOHMARAIE, M. Treatments using hot water instead of lactic acid reduce levels of aerobic bacteria and *Enterobacteriacea*e and reduce the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 on preevisceration beef carcasses. Journal of Food Protection, 69(8), 2006, p. 1808–1813.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (134-141) Julio - Diciembre 2014

FILMS DE ALMIDÓN TERMOPLÁSTICO. INFLUENCIA DE LA INCORPORACIÓN DE HIDROXIPROPIL-METIL-CELULOSA Y ÁCIDO CÍTRICO

THERMOPLASTIC STARCH FILMS. INFLUENCE OF INCORPORATION OF HYDROXYPROPYL-METHYL-CELLULOSE AND CITRIC ACID

FILMES DE AMIDO TERMOPLÁSTICO. INFLUÊNCIA DA INCORPORAÇÃO DA HIDROXIPROPIL-METIL-CELULOSE EO ÁCIDO CÍTRICO

Rodrigo Ortega-Toro[1], Alberto Jiménez M.[2], Pau Talens O.[3], Amparo Chiralt B.[4]

RESUMEN

En este trabajo se analiza la influencia de la adición de ácido cítrico (CA) e hidroxipropil-metil-celulosa (HPMC) en películas de almidón termoplástico obtenidas por moldeo-compresión. Se consideraron dos proporciones de HPMC respecto al almidón (10% y 20%) siendo la proporción almidón: CA de 1: 0,01. Las películas se

---

Recibido para evaluación: 21 de enero de 2014. **Aprobado para publicación:** 20 mayo de 2014

1 Universitat Politècnica de València, Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimentos. Magister en Ciencia e Ingeniería de Alimentos. Valencia, Spain

2 Universitat Politècnica de València, Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimento. Doctor en Ciencia Tecnología y Gestión Alimentaria. Valencia, Spain.

3 Universitat Politècnica de València, Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimento. Doctor en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Valencia, Spain.

4 Universitat Politècnica de València, Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Departamento de Tecnología de Alimento. Doctor en Ciencias Químicas. Valencia, Spain.

Correspondencia: rodorto@etsiamn.upv.es

caracterizaron a nivel micro- y nano-estructural mediante las técnicas de microscopia electrónica de barrido (SEM) y difracción de rayos-X. Además, se caracterizó la solubilidad en agua de las películas y CA ligado, así como las propiedades mecánicas, térmicas y barrera. Las películas de almidón-HPMC mostraron separación de fases a nivel micro-estructural aunque el análisis de la transición vítrea pone de manifiesto miscibilidad parcial del almidón y HPMC que se acentúa con la adición de CA. La incorporación de HPMC y CA supuso la disminución de la permeabilidad al vapor de agua y un ligero incremento de la permeabilidad al oxígeno. La adición de CA dio lugar a valores mayores del módulo de elasticidad y descenso de la extensibilidad de los films, en concordancia con la formación de entrecruzamiento de cadenas. Las propiedades ópticas revelan la disminución de la compacidad del material con la presencia CA dando por resultado mayor transparencia.

ABSTRACT

The aim of this work was to analyze the influence of citric acid (CA) and hydroxypropyl-methyl-cellulose (HPMC) addition in thermoplastic starch films obtained by compression-molding. Two ratios of HPMC- starch (10% and 20%) were considered while starch: CA ratio was of 1: 0,01. The films were characterized as to micro- and nano-structure using Scanning Electron Microscopy (SEM) and X-ray diffraction. Further, the water solubility, CA linked, mechanical and thermal properties were characterized. The starch-HPMC films showed phase separation although the glass transition analysis showed partial miscibility of the starch and HPMC which is accentuated with the addition of CA. The incorporation of HPMC and CA promoted the decrease of water vapor permeability and a slight increase in the oxygen permeability. The CA addition resulted in an increase of the elasticity modulus and decrease in the extensibility of films, which agrees with the cross-linking effect. The optical properties show a decrease in the material compactness with the CA presence causing higher film transparency.

PALABRAS CLAVE:
Moldeo-compresión, Entrecruzamiento, Micro- Nano-estructura, Miscibilidad parcial.

KEYWORDS:
Compression molding, Cross-linking, Micro-Nano-structure, Partial miscibility.

PALAVRAS-CHAVE:
Modelagem-compressão, Cruzamento, Micro-Nano-estrutura, Miscibilidade parcial.

RESUMO

Neste artigo analisa-se a influência da adição de ácido cítrico (CA) e hidroxipropil-metil-celulose (HPMC), em películas de amido termoplásticas, que foram obtidos pela modelagem-compressão. Se considerarem duas proporções de HPMC em respeito ao amido (10% e 20%), sendo a proporção de amido: CA de 1: 0,01. As películas caracterizaram-se ao nível micro- e nano –estrutural, a traves de técnicas de microscopia eletrônica de varredura (SEM) e difração de raios-X. Além de isso caracterizou-se a solubilidade da agua das películas e a ligação CA, mesmo assim como as propriedades mecânicas, térmicas e de varrera. As películas de amido – HPMC mostraram separação de fase ao nível micro-estrutural, porém a analise da transição vítrea apresenta miscibilidade parcial do amido e HPMC, que é acentuado com a adição de CA. A incorporação de HPMC e CA assumiu uma redução acentuada da permeabilidade ao vapor de água e um ligeiro aumento na permeabilidade ao oxigénio. A adição de CA resultou em valores maiores do modulo de elasticidade e o descenso da extensibilidade dos films, em conformidade com a formação de ligação cruzada de

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (134-141) Julio - Diciembre 2014

cadeias. As propriedades óticas manifestam a diminuição da compacidade do material com a presença CA, resultando em uma maior transparência.

INTRODUCCIÓN

Actualmente debido al creciente interés por la protección del medio ambiente y el uso sostenible de los recursos naturales existe gran interés en el desarrollo de materiales de envase biodegradables. Debido su compatibilidad total con los productos alimentarios, los polímeros naturales se han utilizado tradicionalmente como materia prima para obtener films y recubrimientos biodegradables. En este sentido, numerosos estudios han sido publicados en los últimos años utilizando polímeros tales como proteína de suero [1], gelatina [2], caseinato de sodio [3], derivados de celulosa [4] o almidón [5, 6].

Muchos de los trabajos llevados a cabo con estos biopolímeros se basan en la obtención de films utilizando la técnica de vertido o *casting*, lo que dificulta la obtención de materiales de envase a nivel industrial. A pesar de esto, existen algunos polímeros que pueden ser procesados utilizando equipos convencionales para el procesado de termoplásticos. Uno de estos polímeros es el almidón. Otras ventajas del almidón son su carácter renovable, amplia disponibilidad y bajo precio [7].

El almidón permite obtener films continuos y homogéneos y con baja permeabilidad al oxígeno, en comparación con otros biopolímeros [8]. A pesar de esto, los films de almidón presentan algunos inconvenientes como alta sensibilidad a la humedad y pobres propiedades mecánicas, afectadas en gran medida por la retrogradación del almidón con el tiempo [6]. Uno de los métodos que pueden aplicarse para limitar la retrogradación del almidón es su utilización en combinación con otros biopolímeros en estado amorfo.

En este sentido, polímeros como la hidroxipropil-metilcelulosa (HPMC) y el caseinato de sodio han sido utilizados para este fin con resultados prometedores [9].

Una de las características más interesantes en relación a la obtención de materiales de envase que presenta la HPMC es que puede procesarse utilizando equipamiento industrial, por lo que sus mezclas con el almidón podrían ofrecer resultados adecuados. En relación a esto se ha observado mediante microscopía electrónica de barrido, que existía separación de fases entre ambos polímeros [9]. En cualquier caso hay que destacar que la alta movilidad molecular existente cuando se obtienen los films por *casting*, no es comparable a la que tiene lugar durante un procesado termoplastico.

La separación de polímeros en mezclas de distintos polisacáridos ha sido reportada por otros investigadores [10]. Una forma de incrementar el número de interacciones entre polímeros y de incrementar su compatibilidad es la adición de agentes de entrecruzamiento. Entre los agentes de entrecruzamiento utilizados se incluyen distintos compuestos orgánicos como el ácido ferúlico [10], ácido tánico [11], y acido cítrico [12]. Éste último es un ácido orgánico barato y ampliamente utilizado en la industria agroalimentaria que actúa como agente de entrecruzamiento gracias a la presencia de varios grupos carboxilo en su estructura [13]. Además, estos grupos pueden formar puentes de hidrógeno con los grupos hidroxilo de las moléculas de almidón, previniendo la recristalización y la retrogradación del polímero [14]. En la literatura pueden encontrarse distintos trabajos en los que se ha utilizado el ácido cítrico como agente *cross-linking* para mejorar las propiedades de films de almidón y mejorar la compatibilidad entre las cadenas de diferentes polímeros [12, 13, 14]. Con base a la información anterior, el objetivo del presente trabajo es el estudio de la influencia de la incorporación de HPMC y ácido cítrico en las propiedades y estabilidad de películas a base de almidón de maíz, obtenidas mediante el método de moldeo-compresión.

MÉTODO

Materiales

Para la elaboración de films biodegradables se utilizó almidón de maíz (Roquette S.A, Laisa, España), glicerol (Panreac Química S.A., Castellar del Vallés, Barcelona), hidroxipropil-metil-celulosa (Aldrich Chemistry, Sigma-Aldrich Co. LLC Madrid, España) y ácido cítrico como agente de entrecruzamiento (Fisher Scientific Afora, Valencia, Spain).

Preparación de las formulaciones

Se prepararon seis formulaciones usando glicerol a una relación 1: 0,3 Polímero: glicerol. El HPMC fue solvatado (5% p/p) en agua fría usando agitación continua. La dispersión de HPMC y el almidón nati-

vo fueron mezclados en diferentes proporciones para obtener las mezclas 1: 0,1 y 1: 0,2 almidón: HPMC. Posteriormente, el ácido cítrico (CA) fue mezclado para obtener cuatro mezclas con y sin AC, la proporción almidón: CA fue 1: 0,01. Por otro lado, la formulación control fue la mezcla almidón-glicerol. Las abreviaciones usadas para las formulaciones fueron SG: almidón-glicerol; SG-CA: almidón-glicerol-CA; SG-H10: almidón-glicerol-HPMC(10%); SG-H10-CA: almidón-glicerol-HPMC(10%)-CA; SG-H20: almidón-glicerol-HPMC(20%); SG-H20-CA: almidón-glicerol-HPMC(20%)-CA.

Obtención de los films

Se utilizó una mezcladora μ-Scientific de dos rodillos de sobremesa (LABTECH Engineering, Tailandia). La velocidad de los rodillos fue de 8 rpm y la temperatura de 160ºC. El proceso de mezclado se realizó durante 30 minutos. El ácido cítrico se mezcló en todos los casos 10 minutos antes del proceso de homogenización en la mezcladora de rodillos. Posteriormente, se almacenaron las masas durante 72 h a 25ºC, en un desecador a 53% HR, utilizando una disolución saturada de nitrato de magnesio 6-hidrato (Panreac Química, S.A. Castellar del Vallés, Barcelona, España). Transcurrido ese tiempo, se realizó el prensado de la masa en una prensa hidráulica μ-Scientific de sobremesa (LABTECH Engineering, Tailandia). Inicialmente se precalienta la mezcla durante 5 minutos a 160 ºC, luego se prensa a 30 bares durante 2 minutos seguido de 130 bares durante 6 minutos manteniendo la misma temperatura. Por último, se realiza una etapa de enfriamiento durante 3 minutos. Se prensaron 4 g de mezcla para obtener cada película. Los films fueron almacenados en desecadores herméticos a 25 °C y 53% HR durante 1 semana para su caracterización.

Caracterización de los films

Grosor, contenido de humedad (Xw) y extensibilidad de los films. El espesor de las películas se midió con un micrómetro digital electrónico (Palmer–Comecta, Spain, +/-0,001 mm) en 6 posiciones aleatorias. Para la determinación de humedad los films previamente acondicionados a 53% HR fueron secados a 60°C durante 24 h en una estufa de convección natural (J.P. Selecta, S.A. Barcelona, España) y posteriormente, almacenados en un desecador hermético durante dos semanas a 25ºC y 0% HR trasladados a un desecador hermético, utlizando pentóxido de fósforo (Panreac Química, S.A. Castellar de Vallés, Barcelona) a 25°C. Por otro lado, se determinó la extensibilidad de los films, entendiéndose como el área por unidad de masa ocupada por los films después del prensado.

Propiedades nano-y micro-estructurales

Microscopía Electrónica de Barrido (SEM). El análisis de la microestructura de los films se realizó a través de Microscopia Electrónica de Barrido (SEM). La determinación SEM se realizó tal como describen [9].

Difracción de rayos X. Se utilizó un difractómetro (XRD, Bruker AXS/D8 Advance) trabajando con un objetivo de tubo de rayos X de cobre fijado a 40 kV y 40 mA, cámaras de 1 mm, 8 mm y un filtro de níquel. Los patrones de difracción se registraron desde 2θ: 5º a 30º en muestras de 4 x 4 cm.

Análisis térmico. Se empleó un calorímetro diferencial de barrido (DSC 1 Star System, Mettler-Toledo Inc., Suiza). Las muestras se introdujeron en crisoles sellados y pinchados para favorecer la pérdida de humedad. Las curvas fueron obtenidas usando doble barrido, en el primer barrido se eliminó la humedad. Primero se empleó un barrido de 0ºC a 160ºC a una velocidad de 50ºC/min. A continuación, se enfrió hasta 0ºC utilizando la misma velocidad y por último, se calentó nuevamente hasta 160ºC a una velocidad de 50ºC/min (en este barrido se analizó la transición vítrea del almidón). Se registró el peso inicial y final del crisol para valorar la pérdida de agua durante el primer calentamiento.

Análisis físico-químico

Propiedades mecánicas. Las propiedades mecánicas de los films fueron determinadas con una prensa universal (TA.XT.plus model, Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra) de acuerdo al método estándar [15] y la metodología propuesta por [9].

Solubilidad en agua y ácido cítrico ligado. Se introdujeron muestras en agua bidestilada en proporción de 1: 10 film: agua durante 48 h en reposo. Se separó el agua sobrenadante del material sólido, éste fue trasladado a una estufa de convección natural (J.P. Selecta, S.A. Barcelona, España) durante 24 h a 60ºC para eliminar el agua libre. Por último, se traslado a un desecador con pentóxido de fósforo a 25°C durante 15 días para eliminar el agua ligada. Se tomó el peso inicial y final de la muestra, siendo la diferencia la masa de film disuelta en agua. En el agua de la prueba de dilución

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (134-141) Julio - Diciembre 2014

se determinó el ácido cítrico liberado del film mediante valoración con NaOH (0,1 N).

Propiedades barrera. Para las determinaciones de permeabilidad al vapor de agua (WVP) y permeabilidad al oxígeno (OP) se siguió la metodología empleada por [9], siguiendo el método gravimétrico [16, 17] para WVP y el método estándar [18] para OP.

Propiedades ópticas. La transparencia de los films se determinó a partir de los espectros de reflexión (400-700 nm) medidos sobre fondo blanco y fondo negro, usando un espectrocolorímetro MINOLTA, modelo CM-3600d (Minolta Co., Tokio, Japón). La teoría de Kubelka-Munk de dispersión múltiple se aplicó para obtener la transmitancia interna de los films (Ti).

Análisis estadístico. Se realizó mediante el análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el programa Statgraphics Plus para Windows 5,1 (Manugistics Corp., Rockville, MD). Para discernir entre las medias se utilizó el procedimiento de las menores diferencias significativa de Fisher con un nivel de confianza del 95 %.

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se observan los datos de grosor, humedad y extensibilidad de las formulaciones estudiadas. Se aprecia que los valores de extensibilidad, entendida como la superficie que ocupa 1 g de formulación al ser sometida al proceso de moldeo compresión, se hace mayor con la adición de HPMC y CA. Por otra parte, todas las formulaciones tienen un espesor entre 158 a 268 μm siendo SG la de mayor grosor. Se observa que el grosor disminuye significativamente ($p < 0,05$) con el contenido de HPMC y CA lo cual se relaciona directamente con la movilidad molecular de la matriz durante el proceso de precalentamiento y moldeo aumentando con la adición de HPMC y acido cítrico. En cuanto a la humedad se observa que disminuye ligeramente con la adición de CA y HPMC aunque en algunos casos esta disminución no fue significativa.

En la Figura 1 se muestran las micrografías de sección transversal de las películas estudiadas. En la primera formulación se puede observar como la adición de CA conlleva a una matriz con menor cantidad de grietas las cuales son provocadas al momento de la fractura con nitrógeno líquido en la preparación de las muestras. Además, la acidez del ácido cítrico promueve la fragmentación y disolución de los gránulos de almidón y además junto al glicerol provocan la disrupción de los puentes de hidrógeno inter- e intra-moleculares plastificando el almidón bajo condiciones de cizalla y temperatura [19] por lo que finalmente la matriz tiene una apariencia más homogénea y menos frágil. En las formulaciones con HPMC se observa como este polímero se encuentra disperso en una fase continua de almidón lo cual se hace más evidente con el aumento del HPMC en la formulación. A este nivel no se aprecian diferencias concretas entre las matrices con y sin ácido cítrico en las formulaciones que contienen HPMC.

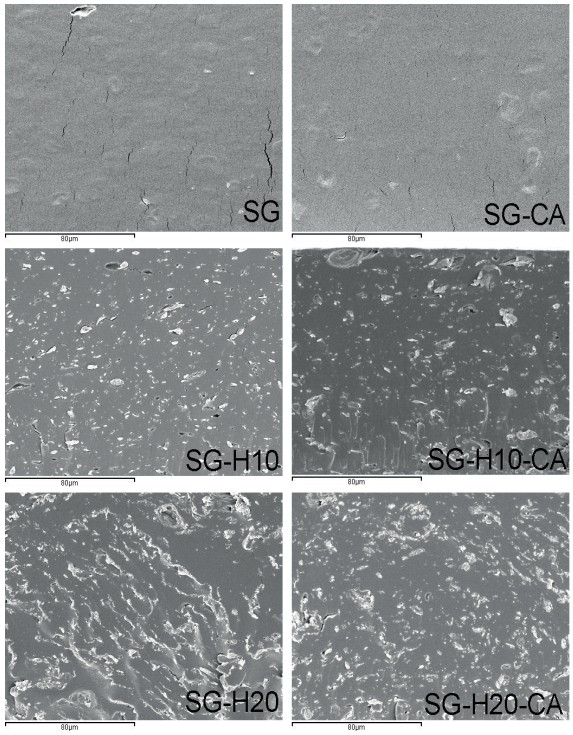
Los patrones de difracción de rayos-X de las películas mostraron formas cristalinas típicas de amilosa V a 2 θ: $\sim$ 7, 14, 20° tal como observaron otros autores [20]. Se observó desplazamiento de los picos al agregar HPMC y CA lo que indica la formación otras formas polimórficas. El pico 2θ a 7,8° se potencia al adicionar HPMC y CA siendo más evidente en la formulación que contiene 20% de HPMC. En trabajos anteriores [9] se reportó el espectro de difracción de rayos-X del HPMC correspondiente a una matriz totalmente amorfa. Dada la aparición de un pico a 2θ 7,8° al adicionar HPMC y teniendo en cuenta que no es característico de ningún

Cuadro 1. Grosor (mm), humedad (g agua/ g película seca) y extensibilidad del material (cm2/g) en el prensado. Valores medios, desviación estándar y grupos homogéneos.

Película	Extensibilidad	Grosor	Humedad
SG	23 (2)^{a}	268 (28)^{a}	0,062 (0,002)^{a}
SG-CA	31 (4)^{b}	217 (22)^{cd}	0,059 (0,002)^{ab}
SG-H10	27 (2)^{c}	257 (19)^{b}	0,056 (0,004)^{b}
SG-H10-CA	31 (1)^{c}	229 (13)^{c}	0,054 (0,003)^{b}
SG-H20	36 (4)^{d}	204 (18)^{d}	0,055 (0,002)^{b}
SG-H20-CA	41 (5)^{e}	158 (13)^{e}	0,054 (0,003)^{b}

Diferentes letras superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0,05$).

Figura 1. Micrografías de sección transversal.



polímero de forma individual, podría indicar que dentro de la matriz se esté generando interacciones entre las cadenas poliméricas de almidón, especialmente de la amilosa, y de este con el HPMC siendo favorecida por la presencia de CA.

El Cuadro 2 presenta las propiedades térmicas (temperatura inicial de transición vítrea (Tg_o), temperatura en el punto medio media de la transición vítrea (Tg_m) y cambio de calor específico (ΔCp)) y propiedades mecánicas (módulo de elasticidad (EM), fuerza de tensión al punto de fractura (TS) y elongación en el punto de fractura (E)) de las películas analizadas. Se observa una reducción progresiva de la Tg al adicionar HPMC, potenciándose dicho efecto al adicionar el CA. Esto indica una miscibilidad parcial del HPMC con el almidón que tiende a plastificar la matriz. La presencia de CA potencia estos efectos. La disminución de la Tg con el ácido cítrico confirma que su presencia mejora la compatibilidad entre los dos biopolímeros.

Por su parte, en las propiedades mecánicas se observa que EM aumenta significativamente ($p < 0,05$) con la adición de CA y disminuye E, lo que podría relacionarse con el entrecruzamiento de cadenas al adicionar ácido cítrico; entre los polímeros presentes en la matriz existe mayor probabilidad de reacción de los grupos -OH terminales de la amilopectina por estar presentes en mayor abundancia en la matriz y ser más reactivos por su accesibilidad en la cadena. El HPMC provoca un descenso en EM dándole menor rigidez al material sin modificar significativamente la TS y E.

Diferentes letras superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0,05$).

El Cuadro 3 muestra los valores de solubilidad en agua, proporción de ácido cítrico ligado respecto al ácido cítrico total añadido, propiedades barrera (permeabilidad al vapor de agua y permeabilidad al oxígeno) y transmitancia interna a 450nm, de las películas estudiadas. Se observa que al adicionar CA se incrementa significativamente ($p < 0,05$) la solubilidad en agua mientras que la adición de HPMC no afecta este valor.

Es de esperar que al haber mayor cantidad de grupos éster en la matriz la solubilidad en agua debería disminuir por tener características más hidrofóbicas, sin embargo, se observa un incremento que puede ser debido a un efecto simultáneo de hidrólisis de las uniones glucosídicas por efecto de la acidez, lo cual reduciría el tamaño de las cadenas, aumentando la solubilidad. La proporción de ácido cítrico ligado parece aumentar con la adición de HPMC aunque sin diferencias significativas, posiblemente debido a la interacción con los grupos hidroxilo del grupo hidroxipropil del HPMC.

Cuadro 2. Propiedades térmicas y mecánicas. Valores medios, desviación estándar y grupos homogéneos.

Película	Tg_o (°C)	Tg_m (°C)	ΔCp (J/g°C)	EM (MPa)	TS (MPa)	E (%)
SG	102 (2)^{c}	113 (1)^{c}	0,160 (0,007)^{a}	278 (75)^{a}	10 (2)^{a}	28 (10)^{a}
SG-CA	111 (1)^{b}	125 (4)^{b}	0,11 (0,02)^{cd}	316 (90)^{ab}	8 (2)^{b}	11 (3)^{b}
SG-H10	106 (2)^{c}	119 (2)^{bc}	0,13 (0,02)^{bc}	271 (54)^{a}	10 (1)^{ab}	27 (6)^{a}
SG-H10-CA	105 (1)^{c}	114 (7)^{cd}	0,08 (0,03)^{d}	319 (78)^{ab}	8 (1)^{b}	13 (6)^{b}
SG-H20	85 (5)^{e}	100 (3)^{e}	0,13 (0,03)^{bc}	262 (70)^{a}	10 (1)^{a}	21 (7)^{a}
SG-H20-CA	94 (1)^{d}	112 (3)^{d}	0,16 (0,02)^{ab}	380 (90)^{b}	9 (1)^{ab}	12 (7)^{c}

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (134-141) Julio - Diciembre 2014

Cuadro 3. Solubilidad en agua (g película disuelta/ g película seca), proporción de ácido cítrico ligado (g ácido cítrico ligado/ g ácido cítrico), permeabilidad al vapor de agua (WVP), permeabilidad al oxígeno (OP) y transmitancia interna a 450nm (Ti). Valores medios, desviación estándar y grupos homogéneos.

Película	Solubilidad en agua	Ácido cítrico ligado	WVP ($g \cdot mm \cdot kPa^{-1} \cdot h^{-1} \cdot m^{-2}$)	OP · 10^{13} ($cm^3 \cdot m^{-1} \cdot s^{-1} \cdot Pa^{-1}$)	Ti
SG	0,19 (0,07)^{a}	---	18,2 (1,4)^{a}	---	77 (1)^{ab}
SG-CA	0,35 (0,03)^{b}	0,80 (0,03)^{a}	12,4 (1,4)^{b}	2,6 (0,5)^{a}	80,9 (0,5)^{c}
SG-H10	0,15 (0,02)^{a}	---	12,9 (0,3)^{b}	1,4 (0,3)^{a}	75 (0,5)^{d}
SG-H10-CA	0,32 (0,06)^{b}	0,83 (0,04)^{a}	11,4 (1,3)^{b}	2,2 (0,2)^{a}	78,2 (0,2)^{a}
SG-H20	0,18 (0,02)^{a}	---	11,8 (1,2)^{b}	4,5 (0,4)^{b}	74 (1)^{d}
SG-H20-CA	0,31 (0,05)^{b}	0,89 (0,09)^{a}	9 (1)^{c}	5 (1)^{b}	76 (1)^{b}

Respecto a las propiedades de barrera, se observa una diminución significativa ($p < 0,05$) de WVP con la presencia de HPMC, aunque el CA tiene un efecto más marcado ya que la formación de enlaces éster aumenta la hidrofobicidad del material. Por su parte, OP aumenta con la presencia de CA de acuerdo a la esterificación de grupos –OH, potenciándose la solubilidad del gas. El incremento de OP con el ácido cítrico puede deberse a la formación de grupos éster hidrofóbicos, químicamente más compatibles con el oxigeno. También se presenta un aumento claro en estos valores al adicionar HPMC ya que tiene lugar un reordenamiento de la matriz facilitando el paso de moléculas. En el Cuadro 3 no se presentan valores para la formulación control ya que el equipo OX-TRAN Model 2/21 ML Mocon usado para esta determinación tiene un rango de sensibilidad que escapa a esta formulación siendo estas películas muy poco permeables al oxigeno.

En relación a los valores de transmitancia interna se observa un aumento significativo con la adición de CA haciendo a las películas más transparentes. Este efecto se relaciona con un aumento en el índice de refracción del material y por tanto con la disminución de la compacidad al adicionar CA, lo que es coherente con el aumento en los valores de solubilidad en agua. Por el contrario, al adicionar HPMC disminuye la transparencia ya que la presencia de una fase dispersa en el material hace que aumente la dispersión de la luz, siendo menos transparente a medida que aumenta el contenido de fase dispersa.

Diferentes letras superíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas entre formulaciones ($p < 0,05$).

CONCLUSIONES

Las películas de almidón-HPMC mostraron separación de fases a nivel micro-estructural aunque el análisis de la transición vítrea de las películas pone de manifiesto un cierto grado de miscibilidad del almidón y HPMC que se acentúa con la adición de ácido cítrico. La incorporación de HPMC y ácido cítrico supuso una disminución de la permeabilidad al vapor de agua y un ligero incremento de la permeabilidad al oxígeno. La adición de ácido cítrico dio lugar a valores mayores del módulo de elasticidad y un descenso de la elongación de los films, en concordancia con el entrecruzamiento de cadenas. Las propiedades ópticas revelan la disminución de la compacidad del material con la adición de ácido cítrico, dando como resultado mayor transparencia. Por el contrario, la incorporación de HPMC aumentó la opacidad de las películas en coherencia con su dispersión en la matriz.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al comité organizador del Seminario Internacional en Empaques Biodegradables de la Universidad del Cauca (Colombia) por la invitación a participar en el evento. También agradecen el apoyo financiero del Ministerio Español de Educación y Ciencia a través del proyecto AGL2010-20694. Rodrigo Ortega-Toro agradece a la Conselleria de Educació de la Comunitat Valenciana por la beca Santiago Grisolía.

REFERENCIAS

[1] PÉREZ-GAGO, M.B., SERRA, M., ALONSO, M., MATEOS, M. and DEL RÍO, M.A. Effect of whey

protein and hydroxypropyl methylcellulose based edible composite coatings on color change of fresh cut apples. Postharvest Biology and Technology, 36(1), 2005, p. 77-85.

[2] CAO, N., FU, Y. and HE, J. Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid. Food Hydrocolloids, 21(4), 2007, p. 575-584.

[3] FABRA, M.J., JIMÉNEZ, A., ATARÉS, L., TALENS, P. and CHIRALT, A. Effect of fatty acids and beeswax addition on properties of sodium caseinate dispersions and films. Biomacromolecules, 10(6), 2009, p. 1500-1507.

[4] SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L., PASTOR, C., VARGAS, M., CHIRALT, A., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. and CHÁFER, M. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil o quality and safety of cold-stored grapes. Postharvest Biology and Technology, 60(1), 2011, p. 57-63.

[5] LAI, T.Y., CHEN, C.H. and LAI, L.S. Effects of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum-based active coatings on the quality of minimally processed carrots. Food and Bioprocess Technology, 6(1), 2011, p. 249-258.

[6] JIMÉNEZ, A., FABRA, M.J., TALENS, P. and CHIRALT, A. Effect of re-crystallization on tensile, optical and water vapour barrier properties of corn starch films containing fatty acids. Food Hydrocolloids, 26(1), 2012a, p. 302-310.

[7] LOURDIN, D., DELLA VALLE, G. and COLONNA, P. Influence of amylose content on starch films and foams. Carbohydrate Polymers, 27(4), 1995, p. 261–270.

[8] LIU, Z. Edible films and coatings from starch. In J. H. Han (Ed.), Innovations in food packaging. London (England): Elsevier Academic Press, 2005, p. 318-332.

[9] JIMÉNEZ, A., FABRA, M.J., TALENS, P. and CHIRALT, A. Influence of hydroxypropylmethylcellulose addition and homogenization conditions on properties and ageing of corn starch based films. Carbohydrate Polymers, 89(2), 2012b, p. 676-686.

[10] MATHEW, S. and ABRAHAM, T.E. Characterisation of ferulic acid incorporated starch-chitosan blend films. Food Hydrocolloids, 22 (5), 2008, p. 826-835.

[11] PRODPRAN, T., BENJAKUL, S. and PHATCHARAT, S. Effect of phenolic compounds on protein cross-linking and properties of film from fish myofibrillar protein. International Journal of Biological Macromolecules, 51(5), 2012, p. 774-782.

[12] REDDY, N. and YANG, Y. Citric acid cross-linking of starch films. Food Chemistry, 3(1), 2010, p. 702-711.

[13] GHANBARZADEH, B., ALMASI, H. and ENTEZAMI, A.A. Physical properties of edible modified starch/carboxymethyl cellulose films. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 11(4), 2010, p. 697-702.

[14] GHANBARZADEH, B., ALMASI, H. and ENTEZAMI, A.A. Improving the barrier and mechanical properties of corn starch-based edible films: Effect of citric and carboxymethyl cellulose. Industrial Crops and Products, 33(1), 2011, p. 229-235.

[15] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Standard D882. Annual book of American Standard Testing MethodsAmerican Society for Testing and Materials, Philadelphia (USA): 2001, p. 162–170. D882.

[16] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Standard test methods for water vapour transmission of materials. In Annual book of ASTM standards. Philadelphia (USA): Standard Designations: E96-95, 1995, p. 406–413..

[17] MCHUGH, T.H., AVENA-BUSTILLOS, R. and KROCHTA, J.M. Hydrophilic edible films: modified procedure for water vapour permeability and explanation of thickness effects. Journal of Food Science, 58(4), 1993, p. 899–903.

[18] AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). Standard test method for oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometric sensor (D 3985-95). In Annual book of ASTM standards. Philadelphia (USA): D 3985-95, 2002, p. 472–477.

[19] JIUGAO, Y., NING, W. and XIAOFEI, M. The effects of citric acid on the properties of thermoplastic starch plasticized by glycerol. Starch/Stärke, 57 (10), 2005, p. 494-504.

[20] LESMES, U., COHEN, S.H., SHENER, Y. and SHIMONI E. Effects of long chain fatty acid unsaturation on the structure and controlled release properties of amylose complexes. Food Hydrocolloids, 23, 2009, p. 667–675.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (142-150) Julio - Diciembre 2014

EFECTO DEL MARINADO CON NaCl Y TRIPOLIFOSFATO-SÓDICO SOBRE LAS PROPIEDADES BROMATOLÓGICAS EN CARNE DE CABRA

MARINATED WITH EFFECT OF NaCl AND SODIUM TRIPOLYPHOSPHATE BROMATOLOGICAL PROPERTIES ON THE MEAT GOAT

EFEITO DO MARINADO COM NaCl E TRIPOLIFOSFATO DE SÓDIO EM PROPRIEDADES BROMATOLÓGICAS NA CARNE DE CAPRINOS

Ricardo Peña F.[1], Daniel Salvador Duran O.[2], Luis Carlos Baleta M.[3]

RESUMEN

La carne de cabra reúne todas las características nutricionales apreciables por los consumidores siendo una excelente alternativa de alimentación; por lo tanto, en este estudio se propone la utilización de una mezcla de NaCl, Tripolifosfato sódico, extractos de romero y laurel como agentes marginadores, empleando la técnica de maceración como sistema facilitador del marinado y aplicando el empacado al vacío y la conservación en refrigeración en una estrategia global de tecnificación. En el producto terminado se evaluaron variables bromatológicas de pH, grasa, proteína, capacidad de retención de agua, terneza y humedad durante los días 0, 7, 14, 21 y 28 de almacenamiento en refrigeración. Los resul-

---

Recibido para evaluación: 11 de julio de 2012. **Aprobado para publicación:** 6 mayo de 2014

1 Universidad de Pamplona. Microbiólogo, Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Pamplona, Colombia.

2 Universidad de Pamplona, Grupo de investigación en Ingeniería y Tecnología de Alimentos (GINTAL). Ingeniero de alimentos, PhD. Pamplona, Colombia.

3 Universidad de Pamplona. Microbiólogo, Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Pamplona, Colombia.

Correspondencia: ricardopfl@hotmail.com.co

tados demostraron que la aplicación del tratamiento de marinado mejora la capacidad de retención de agua, la retención de proteínas y eleva el pH del producto desde el primer día de almacenamiento por cuanto se puede afirmar que la aplicación del proceso de marinado por maceración influye de manera significativa sobre las propiedades bromatológicas de la carne de cabra de raza santandereana, constituyéndose en una alternativa de industrialización.

ABSTRACT

Goat meat has all the significant nutritional characteristics by consumers to be an excellent alternative supply; therefore, this study proposes the use of a mixture of NaCl, sodium tripolyphosphate, laurel and rosemary extracts as marginalisers agents using maceration technique marinade as facilitator system and applying vacuum packaging and storage at refrigeration of an overall strategy of modernization. In the finished product bromatologic variables pH, fat, protein, water holding capacity, tenderness and moisture during the days 0, 7, 14, 21 and 28 were evaluated in chilled storage. The results showed that the treatment is marinated improves water retention, protein retention and raises the pH of the product from the first day of storage because we can say that the application of the marinating process by mashing influences bromatological significantly on properties of meat goat breed Santander , becoming an alternative to industrialization.

RESUMO

Carne de cabra tem todas as características nutricionais significativas por parte dos consumidores a ser uma excelente alternativa de abastecimento; por conseguinte, este estudo propõe o uso de uma mistura de cloreto de sódio, tripolifosfato de sódio, extractos de louro e rosmaninho como agentes marginalisers utilizando a técnica de marinada com maceração como sistema facilitador e aplicar a embalagem a vácuo e armazenamento sob refrigeração de uma estratégia global de modernização. Nas variáveis bromatológicas do produto acabado pH, gordura, proteína, capacidade de retenção de água, maciez e umidade durante os dias 0, 7, 14, 21 e 28 foram avaliados em armazenamento refrigerado. Os resultados mostraram que o tratamento é marinado melhora a retenção de água, a retenção de proteínas e eleva o pH do produto a partir do primeiro dia de armazenagem, porque pode-se dizer que a aplicação do processo de marinada triturando influências significativamente em propriedades bromatológica de caprino raça Santander, tornando-se uma alternativa para a industrialização.

PALABRAS CLAVES:
Cabra de raza santandereana, Marinado por maceración, Capacidad de retención de agua, pH.

KEY WORDS:
Santander race goat, Marinated by soaking, Water holding capacity, pH

PALAVRAS CHAVE:
Cabra raça Santander, Marinados por imersão, Capacidade de retenção de água, pH

INTRODUCCIÓN

La cabra fue introducida a Colombia por los españoles, en el año de 1524 desde la isla de Jamaica y se estableció en las regiones que le son más propicias por el clima y la vegetación. Se encuentra en un 95% como raza

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (142-150) Julio - Diciembre 2014

criolla, el 5% restante son cruces con las razas Nuvia, Saanem, Alpina y Toggenburg, originados por importaciones iniciadas desde el año 1930. Los departamentos con mayor población caprina en su orden son: La Guajira, Santander, Magdalena, Boyacá, Norte de Santander, Cesar y Córdoba [1].

Según la FAO (2005), la producción de carne ovina y caprina en Colombia era de 13.363 ton, de las cuales la carne de cabra corresponde al 49% del total, es decir, alrededor de 6.673 ton de carne y la población caprina para ese año alcanzaba 1.200.000 ejemplares [2]. La carne de cabra reúne los parámetros más importantes de calidad y tiene un elevado valor biológico (60,4), además presenta un coeficiente de digestibilidad del 97% [3]. Madruga *et al,* [4] demuestran que la composición del carne de cabra es similar a la de vacuno, pollo cerdo y cordero, al comparar las cantidades de agua, ceniza y proteínas; la carne de cabra contiene 74,30±0,33% de humedad, 1,07±0,01% de cenizas, 18,49 ±0,66% de proteínas y 1,72±0,17% de grasa [5] lo cual la hace una de las carnes con menor porcentaje de grasa dentro de los animales de abasto. Las canales de cabras jóvenes presentan porcentajes altos de músculo y bajos porcentajes de hueso así como de grasa intramuscular y epidérmica, cuando se comparan con canales de la oveja en los mismos rangos de edad [6, 7].

El valor de la carne de cabra puede ser aumentado a través de prácticas de producción o de procesamiento de carne que promuevan su industrialización aumentando el valor de los animales vivos [8]. Estos procesos están dirigidos a aumentar la vida útil de los productos, permitiendo la producción de diferentes sabores y el uso de las carnes que serían de difícil comercialización en su estado natural [9].

Varios estudios describen el uso de carne de cabra en la elaboración de productos cárnicos [10, 11, 12]. Ibarra [13], afirman que “la carne de cabra es aceptable, como parte de las recetas preparadas, y como producto elaborado”.

En general, el mercado de carne de cabra presenta un potencial de crecimiento bueno, debido a la demanda alta de productos con calidad [9]. Con el interés de proponer nuevas estrategias de Industrialización y conservación de la carne de cabra, este trabajo evalúa el efecto del marinado por maceración sobre las propiedades bromatológicas de la carne de cabra de raza santandereana, almacenada en condiciones de refrigeración.

MÉTODO

Materias primas

Se utilizaron 4 ejemplares machos, de 9 meses de edad, pertenecientes a la raza caprina Santandereana (previa certificación veterinaria) Estos, fueron transportados al aprisco del campus de la Universidad de Pamplona (N.S), los animales fueron mantenidos aislados y en ayuno para facilitar las labores de faenado. El sacrificio de los animales se realizó por personal calificado y siguiendo las pautas dadas por la ley 84 de 1989 por la cual se adopta el Estatuto Nacional de Protección de los Animales. Una vez obtenida la carne madurada en canal, se procedió a realizar el despiece, pesaje e identificación de las piezas comerciales de carne a utilizar (pierna, brazo y costillar) como porciones comerciales.

Marinado y empacado al vacío

Se procedió a realizar la elaboración de los productos marinados y sin marinar, la solución de marinado estaba compuesta de NaCl (2%), TPS (de la mezcla lista de polifosfatos) (0,5%), 0,5% de extracto de romero y 0,5% de laurel molido según Pawar *et al,* [14]; Alper Ônenc *et al.* [15] y Bowlin *et al.* [16]. Posteriormente las muestras fueron empacadas al vacío según las experiencias de Babji *et al.* [17] y Morales de la Nuez, *et al.* [18] modificando la cantidad de vacío inducido que para este caso fue del 95%.

Análisis bromatológicos

Las piezas de carne preparadas fueron sometidas a evaluación bromatológica durante los días 0, 7, 14, 21 y 28 del almacenamiento en refrigeración realizando análisis tanto al producto marinado como sin marinar, se determinó la cantidad de proteínas mediante la aplicación del método Kjeldahl según norma ISO 937 de 1978, cuantificación de la grasa mediante la utilización del método Soxhlet según norma ISO 1443 de 1979, contenido de humedad utilizando el método gravimétrico en la balanza de humedad Ohaus M35 según Argote *et al.* [19] determinación de pH según Garrido y Bañón, [20] y evaluación de la capacidad de retención de agua (CRA) según el método propuesto por Pla [21].

Análisis estadístico

Todas las pruebas fueron practicadas por triplicado bajo un diseño experimental de bloques completos al

azar y se aplicaron análisis estadísticos ANOVA a un facto en busca de diferencias estadísticamente significativas (DMS) con un valor $p \leq 0,05$ entre los tratamientos de marinado y sin marinar a cada uno de las variables anteriores y así determinar la favorabilidad de la aplicación de los tratamientos de conservación en la carne de cabra de raza santandereana.

RESULTADOS

Rendimiento del proceso de marinado

Luego de evaluar el peso de cada una de las piezas comerciales de carne de cabra obtenidas tras la aplicación del proceso de marinado propuesto, el índice de ganancia de peso de cada una presentó un porcentaje de ganancia de 12±4,42, correspondiente a 0,14±0,08 kg por pieza tratada lo que demuestra el buen rendimiento tecnológico y excelentes perspectivas de ganancia industrial.

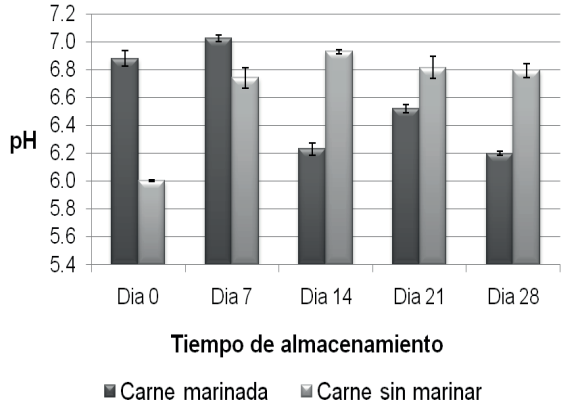
La ganancia de peso registra una relación directa de proporcionalidad, ya que mientras más grande es la pieza de carne sometida al proceso de marinado y masajeo, mayor es la ganancia de peso en la misma, debido a que existe una relación directa entre la capacidad de absorción de salmuera y la superficie de contacto de la carne. Estos resultados concuerdan con los reportados por Wattanachant *et al.* [22] quienes registraron ganancias importantes de peso escurrido en carne de cabra Anglonubia y Saanen enlatadas en salmuera.

El proceso de masajeado propuesto ayuda de manera importante a la penetración de la solución marinadora en el producto ya que la acción mecánica ejercida rompe la estructura celular de la superficie del músculo y esta acción produce un exudado proteico cremoso que funciona como agente ligante. Internamente, las piezas de carne, ven favorecidos la distribución y penetración de la salmuera. Otro efecto asociado al proceso de marinado es el ascenso de la temperatura en las piezas de carne tratada debido a la fricción de los trozos. Según Wistreich [23] la penetración de la sal en la carne se realiza en mayor índice cuando el proceso de marinado se ejecuta por encima de 15°C.

Análisis bromatológicos practicados

El pH de la carne de cabra. La figura 1 ilustra el registro del pH en las muestras de la carne de cabra

Figura 1. Evolución del pH en la carne de cabra durante el almacenamiento.



marinada y sin marinar durante el tiempo de almacenamiento y demuestra diferencias estadísticamente significativas con un valor $p \leq 0,05$ entre los dos tratamientos con tendencias contrarias a la alcalización y la acidificación paulatinas. Las muestras del día 0, para los dos casos analizados, presentan diferencias debido a que la carne marinada se adicionó solución de plifosfatos, la cual tiene la capacidad de elevar el pH del producto [24], mientras que el pH de la muestra sin marinar fue de 6,00 ± 0,007, originado por el normal proceso de maduración de la carne y se ajusta a valores altos de pH final de la maduración en la carne, lo cual indica animales estresados durante el manejo *pre-mortem* [22].

La lenta acidificación del producto marinado durante el almacenamiento supone que no se presenta importante proliferación de bacterias ácido–lácticas como *Lactobacullus spp., Carnobacterium spp* y *Leuconostoc spp*; que es el tipo de microbiota normalmente presente en carnes empacadas al vacío [25], originado por el alto pH inicial sobre todo para la carne de cabra marinada (pH inicial la carne de cabra marinada = 6,88±0,05). Estos resultados están de acuerdo con Grau [26,27] en cuanto a los valores de los recuentos microbianos para carne envasada al vacío de pH alto.

Es importante resaltar el característico comportamiento evolutivo de los valores de pH en la carne de cabra sin marinar empacada al vacío, la cual inicia con un pH normal pero al transcurrir el tiempo de almacenamiento se presenta una clara tendencia a la alcalinización del producto con un notorio comportamiento uniforme, alcanzando valores cercanos a 7,00. Este comportamiento es originado probablemente por el crecimiento de algunos géneros de enterobacterias

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (142-150) Julio - Diciembre 2014

característicos durante el almacenamiento y la acumulación de metabolitos de la acción bacteriana en el producto originados por la desaminación de proteínas [28]. Brightwell *et al.* [29] mostraron que en los paquetes de carne fresca, almacenados a 4°C se registro un número alto de enterobacterias del tipo anaerobias facultativas de los géneros: *Enterobacter spp, Serratia spp, Hafnia spp, Rahnella spp* y *Clostridium spp*, que metabolizan los aminoácidos para producir aminas, amoníaco, sulfuro de dimetilo y mercaptanos, debido a la producción de aminas y amoníaco, el pH de la carne tiende a ser alcalino. El proceso de alcalinización registrado en el producto sin marinar es concordante con los resultaros obtenidos por Bhat *et al.* [30] en Harrisa hecha a partir de carne de cabra.

La proteína en la carne de cabra. En la figura 2 se muestran los resultados de los análisis de proteína practicados a las muestras de carne de cabra durante el periodo de almacenamiento propuesto y se puede observar una clara tendencia a la diminución de dicho porcentaje para los dos tratamientos evaluados. Los resultados correspondientes al día 14, presentaron diferencias significativas, entre los dos tratamientos y se evidencia un comportamiento que continúa durante los días 21 y 28, mostrando un descenso en los índices con una pendiente de reducción mayor en la carne de cabra sin marinar pero sin presentar diferencias estadísticamente significativas entre los dos tratamientos durante éste último periodo.

La reducción en las cantidades de proteínas en el músculo se puede explicar por la continua degradación proteica durante el almacenamiento originada por la desnaturalización de las cabezas de miosina, hecho que es independiente de la temperatura de almacenamiento [31]. La disminución paulatina de las cantidades de proteínas del producto durante su almacenamiento se contraponen con los resultados reportados por Bhat *et al.* [30]

Contenido de grasa en la carne de cabra. La figura 3 muestra variación del contenido de grasa en las muestras sometidas a análisis durante los días de almacenamiento propuestos y se puede determinar la presencia de dos tendencias de comportamiento características, por lo tanto los resultados se pueden dividir de la siguiente manera: en un primer grupo los resultados de las muestras marinadas y sin marinar de los días 0 y 28. En un segundo grupo los resultados de las muestras marinadas y sin marinar de los días 7, 14 y 21. Entre los dos grupos de datos existieron diferencias estadísticamente significativa con un valor $p \leq 0,05$ debido a que las piezas con mayores índices de grasa, correspondientes al primer grupo eran en su mayoría costillas mientras que las del segundo grupo fueron principalmente piernas, lo que demuestra que existen diferencias importantes en el contenido de grasa intramuscular de los diferentes grupos anatómicos, sin embargo, no se presentaron diferencias en las cantidades de grasa intramuscular de las mismas partes anatómicas de diferentes individuos caprinos de la misma edad.

Los resultados obtenidos contrastan con las cantidades de grasa intramuscular determinada en cabras reportada por Madrugada *et al.* [32] y con los resultados en cabras indígenas surafricanas obtenidos por Sheradin *et al.* [33]. En cuanto a la cantidad general de grasa intramuscular no se cuenta con reportes de la comprobación de las cantidades de grasa entre grupos musculares anatómicos de animales de la misma raza, como

Figura 2. Evolución del contenido de proteína en la carne de cabra.

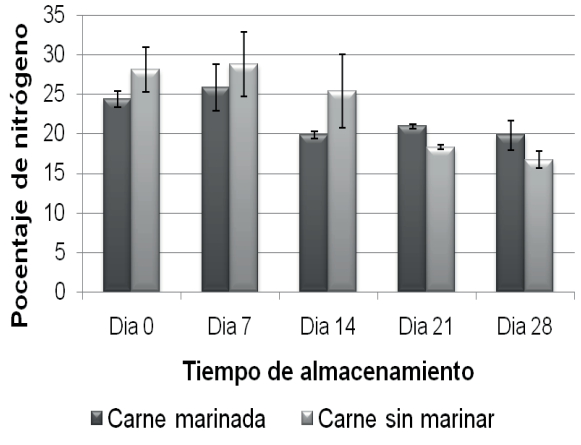
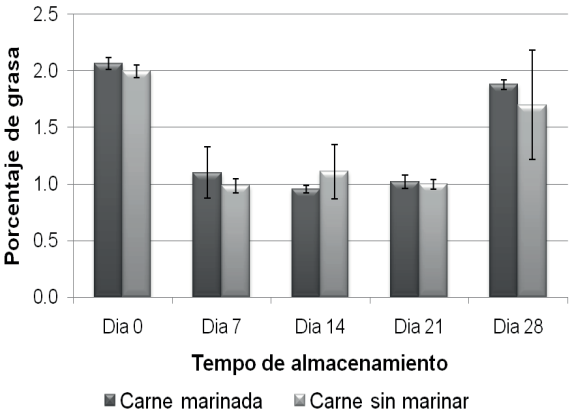


Figura 3. Evolución del contenido de grasa en la carne de cabra



en este caso. Sin embargo se debe aclarar que la composición de ácidos grasos de diferentes grupos musculares varía en cuanto a la relación de ácidos saturados, monosaturados y polinsaturados para los diferentes músculos analizados por Park y Washington [34].

Capacidad de retención de agua (CRA) de la carne de cabra. La figura 4 muestra la variación de la capacidad para retener agua del producto durante el tiempo de almacenamiento y se evidencia que existen diferencias significativas entre la carne marinada y sin marinar con un valor $p \leq 0,05$ en todos los días de análisis, así como la ocurrencia de mayor CRA en la carne de cabra marinada durante todo el ensayo debido a la importante actividad de las sales agregadas, las cuales sirven como moléculas que aportan cargas y permiten establecer enlaces dipolo-dipolo con las moléculas de agua y las proteínas sarcoplasmáticas [35].

La capacidad de las muestras de carne para retener el agua de su constitución es un aspecto muy importante desde el punto de vista de la industria agroalimentaria, ya que del agua dependen aspectos tan fundamentales como la apariencia, jugosidad y dureza durante la masticación, determinantes de la calidad de la carne a la hora del consumo. Además, la pérdida de peso de la carne fresca durante su procesado debido a las pérdidas de agua es de gran importancia desde un punto de vista económico.

Otro importante hecho que aumenta la capacidad de retención de agua en las muestras marinadas es el elevado pH registrado en estas, con un valor de pH más alto se puede esperar un mayor índice de CRA gracias a que los fosfatos interfieren cambiando el pH desde el punto isoeléctrico de las proteínas, que se encuentra entre 5,0 a 5,4 y donde la capacidad de retención de agua es más bajo que a un pH más alcalino. Hamm [36], encontró que la capacidad de retención de agua de la carne mejora notoriamente a pH de 7,5.

No se hallaron diferencias de la capacidad de retención de agua entre los diferentes grupos musculares estudiados. González *et al.* [37] tampoco encuentran diferencias en la capacidad de retención de agua en los músculos de cabras. Sin embargo, estos resultados contradicen las apreciaciones de Matassino *et al.* [38] y Argüello *et al.* [39].

Contenido de humedad en la carne de cabra. La figura 5 resume las variaciones registradas en las cantidades de humedad de carne de cabra marinada y sin marinar, almacenadas en refrigeración y muestra una tendencia a la paulatina reducción tanto en la carne de cabra marinada como sin marinar. El índice de humedad en el día 0 para la carne marinada, es estadísticamente más alto que los valores registrados los días 21 y 28 en la carne sin marinar lo que denota una mayor pérdida de humedad a través del tiempo en la carne de cabra sin marinar. La disminución paulatina en la humedad del producto contrasta con los resultados reportados por Bhat *et al.* [31].

La pérdida de humedad del producto se justifica en el proceso de autodegradación enzimática que sufre la carne durante el almacenamiento ya que al degradar las estructuras proteicas miofibrilares se libera parte del agua contenida en ellas, sin embargo, la mayor hu-

Figura 4. Evolución de la CRA en la carne de cabra durante el almacenamiento.

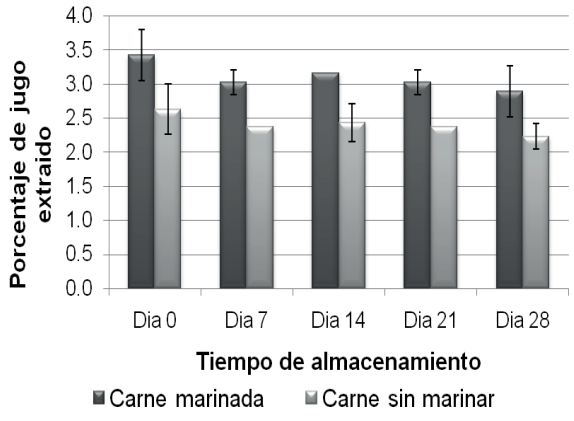
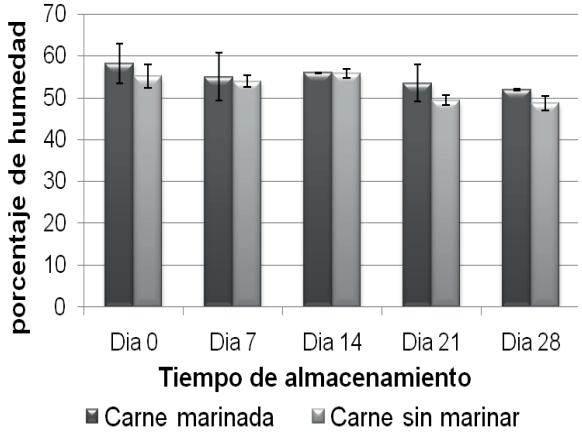


Figura 5. Evolución del contenido de humedad en las muestras de carne de cabra.



Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (142-150) Julio - Diciembre 2014

medad de las muestras de carne de cabra marinada se debe a la capacidad para retener agua miofibrilar, la cual es originada por la repulsión electrostática entre las proteínas de las miofibrilas (miofilamentos), que resulta en la turgencia de las miofibrillas. En algunos casos, con la adición de sales a un pH alto, como el polifosfato, incluso con una solubilización parcial en los filamentos, se estimula potentemente las repulsiones entre las moléculas individuales [40]. Igualmente la adición de NaCl en la solución marinadora difunde a hasta alcanzar los sarcómeros y se une a las miofibrillas, ya que NaCl posee un catión kosmotropico y un anión caotrópico, se acumulan en la interface proteína-agua, haciéndolos más hidrófilo [41].

CONCLUSIONES

La utilización de NaCl y polifosfatos sódico en el proceso de marinado de la carne de cabra aumenta la capacidad de retención de agua y disminuye así la perdida de jugos del producto manteniendo la riqueza proteica y peso escurrido en el producto, mejorando el rendimiento y potenciando a la carne de cabra marinada como una excelente alternativa tecnológica de industrialización.

Se concluye que, la aplicación de marinado por maceración afecta de forma importante las características bromatológicas de las piezas comerciales de carne de cabra de raza santandereana empacada al vacio, mejorando su condición y convirtiéndolo en una importante alternativa de desarrollo tecnológico.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue realizada en al marco del trabajo de tesis de grado de maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, denominado “Efecto del marinado por maceración sobre las propiedades bromatológicas de la carne de cabra de raza santandereana empacada al vacio y almacenada en refrigeración” desarrollado durante los años 2011 y 2012 en el grupo de investigación en Ingeniería y Tecnología de Alimentos (GINTAL) de la Universidad de Pamplona, a cuyos docentes y trabajadores, las más infinitas gracias.

REFERENCIAS

[1] SALAZAR, P.A. La Cabra en Colombia. Bucaramanga (Colombia): Editorial SENA, 1985,

[2] ESPINAL, C.F., MARTÍNEZ, H. y AMÉZQUITA, V.E. La Cadena Ovinos Y Caprinos en Colombia. Bogotá (Colombia): Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Observatorio Agrocadenas, Documento de trabajo no. 125, 2006, 20 p.

[3] LAWRIE, R.A. Lawrie’s Meat Science. 6 ed. Cambridge (England): Woodhead Publ. Ltd., 1998, 336 p.

[4] MADRUGA, M.S., LACERDA DE MEDEIROS, E.J., DE SOUSA, W.H., CUNHA, M.G., PEREIRA-FILHO, J.M. e DO EGYPTO-QUEIROGA, R.C. Composição química e perfil lipídico da carne caprina de grupos genéticos terminados em confinamento. Revista brasileira de zootecnia, 38(3), 2009, p. 547–552.

[5] FÉLIX-URIETA, L., FÉLIX-URIETA, D., RUBIO-LOZANO, M.S, MÉNDEZ-MEDINA, M.D. y TRUJILLO-GARCÍA, A.M. Análisis comparativo de la carne y productos cárnicos de cabrito alpino francés (3/4) con Boer (1/4). Técnica pecuaria en México, 39(3), 2001, p. 237-244.

[6] SANTOS, V.A., SILVA, S.R and AZEVEDO, J.M. Carcass composition and meat quality of equally mature kids and lambs. Journal of Animal Science, 86, 2008, p. 1943–1950.

[7] STANISZ, M., SLÓSARZ, P. and ADAM, G. Slaughter value and meat quality of goat kids with various share of Boer blood. Animal Science Paper and Reports, 27, 2009, p. 189–197.

[8] Mc MILLIN, K.W., and BROCK, A.P. Production practices and processing for value-added goat meat. Journal of Animal Science, 83, 2005, p. E57- E68.

[9] MADRUGA, M.S and BRESSAN, M.C. Goat meats: Description, rational use, certification, processing and technological developments. Small Ruminant Research, 98(1-3), 2011, p. 39–45.

[10] METRI, J.C., ANDRADE, S.A., MACHADO, E.C., SHINOHARA, N.K. e BISCONTINI, T.M. Controle bacteriológico de carne caprina para elaboração de hambúrguer caprino de fumado. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 58, 2006, p. 427–431.

[11] MADRUGA, M.S., SANTOS, N.M., COSTA, R.G., MEDEIROS, A.N., QUEIROGA, R.C., SCHÜLLER, A.R., ALBUQUERQUE, C.L., GALVÃO, M.S., CAVALCANTI, R.N. and CAMPOS, R.J. Fat components from precooked–buchadall: an edible goat meat by product. Ciencia y Tecnología Alimentaria, 5(4), 2007, p. 265–270.

[12] DÁLMAS, P.S., COUTINHO, E.P., MORREIRA, R.T., FÉLEX, S.S., MADRUGA, M.S. Avaliação sensorial de um embutido tipo chouriço elaborado a partir desubprodutos do abate de caprinos. Prelo (Brasil): Anais do II Simpósio de Ciênciae Tecnologia de Alimentos, 2010.
[13] IBARRA, P.I. Qualitative aspects of goat meat including processing, storage, and organoleptic factors. In: Devendra, C. (Ed.), Proceedings of International Workshopon Goat Meat Production in Asia. Tando, Jam Pakistan, 1988. pp.100–108.
[14] PAWAR, V.D., VEER, D.G and MACHEWAD, G.M. Effect of sodium chloride and sodium tripolyphosphate on the quality attributes of goat meat patties. Journal of Food Science and Technology, 42, 2005, p. 331–336.
[15] ALPER-ÔNENC, MELTEM SERDAROG˘LU, and KIYALBEK ABDRAIMOV. Effect of various additives to marinating baths on some properties of cattle meat. Euro Food Research Technology, 218, 2004, p 114–117.
[16] BOWLING, R.A., SMITH, G.C., CARPENTER, Z.L., MARSHALL, W.H and SHELTON, M. Blade tenderization of wholesale cuts from ram lambs and kid goats. Journal of Animal Science, 43, 1976, p. 122–130.
[17] BABJI. Y., MURTHY, T.R and ANJANEYULU, A.S. Microbial and sensory quality changes in refrigerated minced goat meat stored under vacuum and in air. Small Ruminant Research, 36, 2000, p 75-84.
[18] MORALES-DE LA NUEZ, A., MORENO-INDIAS, I., FALCÓN, A., ARGÜELLO, A., SÁNCHEZ-MACIAS, D., CAPOTE, J. and CASTRO, N. Effects of various packaging systems on the quality characteristic of goat meat. Asian-Aust. Journal of Animal Science, 22(3), 2009, p. 428–432
[19] ARGOTE. F., VELASCO. R and PAZ. P. Estudio de métodos y tiempos para obtención de carne de cuy (*Cavia Porcellus*) empacada al vacío. Revista Biotecnología en el sector agropecaurio y agroindustrial, 5(2), 2007, p. 103-111.
[20] GARRIDO, M.D. y BAÑÓN, S. Determinación instrumental de la calidad de la carne. Medida del pH. En: Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes. Madrid (España): Ministerio de Ciencia y Tecnología-INIA, 2000, p. 147-155.
[21] PLA, M. Determinación instrumental de la calidad de la carne. Medida de la capacidad de retención de agua. En: Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne ene rumiantes. Madrid (España): Ministerio de Ciencia y Tecnología-INIA, 2000, p. 147-155.
[22] WATTANACHANT, S., SORNPRASITT, T. and POLPARA, Y. Quality characteristics of raw and canned goat meat in water, brine, oil and Thai curry during storage, Songklanakarin Journal of Food Science and Technol*ogy,* 30(Suppl.1), 2008, p. 41–50.
[23] WISTREICH, J. Ham curing. Food Technology, 11, 1960, p. 549–551.
[24] GIRARD, J.P. Tecnología de la carne y de los productos cárnicos. Zaragoza (España): Acriba, 1991, 321 p.
[25] INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). Microorganismos de los Alimentos 6. Ecología Microbiana de los productos alimentarios. Zaragoza (España): Acribia, 1998, 593 p.
[26] GRAU, F.H. Inhibition of the anaerobic growth of brochothrix thermosphacta by lactic acid. Applied Environmental Microbiology, 40(3), 1980, p. 433–436.
[27] GRAU, F.H. Role of pH, lactate and anaerobiosis in controlling the growth of some fermentative gram negative bacteria. Applied Environmental Microbiology, 4286), 1981, p. 1043–1050.
[28] BACHHIL, V.N. Influence of lower storage temperatures of keeping quality of fresh goat meat. Indian Journal of Veterinary Medicine, 6, 1982, p. 105-106.
[29] BRIGHTWELL, G., CLEMENS, R., URLICH, S. and BOEREMA, J. Possibleminvolvement of psychrotolerant *Enterobacteriaceae* in blown pack spoilage of vacuum-packaged raw meat. International Journal of Food Microbiology, 119(3), 2007, p. 334–339.
[30] BHAT, Z.F., PATHAK, V., BUKHARI, S.A., AHMAD, S.R. and BHAT, H. Quality changes in chevon harrisa (meat based product) during refrigerated storage. International Journal of Meat Science, 1(1), 2010, p. 52–61.
[31] VARNAM, A.H y SUTHERLAND, J.P. Carne y productos cárnicos, Tecnología, Química y microbiología. Zaragoza (España): Acriba, 1995, 438 p.
[32] MADRUGA, M.S., RESOSEMITO, F.S., NARAIN, N., SOUSA, W.H, CUNHA, M.G y RAMOS, J.L. Efecto de las condiciones de crecimiento de cabras en la calidad fisicoquímica y química de su carne. Ciencia y Tecnología Alimentaria, 5(2), 2006, p. 100–104.
[33] SHERADIN, R., HOFFMAN, L.C and FERREIRA, A.V. Meat quality of Boer kids and Mutton Merino

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (142-150) Julio - Diciembre 2014

lambs 1 commercial yields and chemical composition. Animal Science, 76, 2003, p. 63–71.
[34] PARK, Y.W and WASHINGTON, A.C. Fatty acid composition of goat organ and muscle meat of Alpine and Nubian breeds. Journal of Food Science, 58, 1993, p. 245–253.
[35] CARBALLO, B. y LÓPEZ-DE TORRE, G. Manual de bioquímica y tecnología de la carne. Madrid (España). Iragra, S.A., 1991, 171 p.
[36] HAMM, R. Uber das Wasserbindungsvermögen des Fleisches. Fleischerei, 33, 1982, p. 590–599.
[37] GONZÁLEZ, F.A., OWEN, J.E and CERECERES, M.T. Studies on the criollo goat of northern Mexico: part 2- physical and chemical characteristics of the musculature. Meat Science, 9(4), 1983, p. 305–314.
[38] MATASSINO, D., CONGIU, F., GIROLAMI, A. and COSENTINO, E. Myorheological, chemical and colour characteristics of meat in lambs and kids slaughtered at 28, 35 and 42 days. 32 Annual Meeting of EAAP, 1981.
[40] ARGÜELLO, A., GINÉS, R., CAPOTE, J. y LÓPEZ, J.L. Aproximación al estudio de las características físicas de la carne de cabrito de la agrupación caprina canaria. Producción Ovina y Caprina, XXIII, 1998, p. 141-144.
[41] PUOLANNE, E, and HALONEN, M. Theoretical aspects of water-holding in meat. Meat Science, 86, 2010, p. 151–165.
[42] DÉR, A., KELEMEN, L., FÁBIÁN, L., TANEVA, S.G., FODOR, E., PÁLI, T., CUPANE, A., CACACE, M.G. and RAMSDEN, J.J. Interfacial water structure controls protein conformation. Journal of Physical Chemistry B, 111, 2007, p. 5344−5350.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE UNA LEVADURA FLOCULANTE PARA PRODUCIR ETANOL DEL BANANO DE RECHAZO

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF FLOCULANT YEAST TO PRODUCE ETHANOL FROM BANANA REFUSE

ISOLAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UMA LEVEDURA FLOCULANTE NA PRODUÇÃO DE ETANOL DA REJEIÇÃO DE BANANA

Carlos Guevara-Bravo[1], José Acevedo[2], Carlos Peláez-Jaramillo[3]

RESUMEN

Fue aislada y caracterizada una cepa de levadura Saccharomyces cerevisiae LEG-06, con características floculantes para fermentar jugo de banano extraído bajo condiciones básicas. Los rendimientos de etanol fueron comparados con levaduras comerciales y además fueron evaluados los efectos del pH y del agente neutralizante. Adicionalmente se evaluó el efecto sobre la eficiencia de 10 fermentaciones sucesivas usando la misma levadura. Finalmente, se escaló la fermentación a 40 L en reactor tubular con agitación mecánica y se determinaron los parámetros cinéticos de la levadura. Las condiciones ideales fueron: pH 5,5 utilizando ácido cítrico como neutralizante, 23,8 g/L de levadura, 14,5°Brix. La eficiencia estuvo entre 82-84% y el pH óptimo de floculación entre 5,5 y 6,0. La concentración de etanol obtenido en las mejores condiciones alcanzó el 7,5%. Estos resultados demuestran la levadura como la metodología usada, presentan las características adecuadas y deseadas para desarrollar un proceso a nivel de planta piloto para la producción de etanol a partir de banano de rechazo.

Recibido para evaluación: 16 de noviembre de 2013. **Aprobado para publicación:** 15 marzo de 2014

1 Universidad del Quindio. Químico, Doctor en Ciencias Químicas, Profesor. Armenia, Colombia.
2 Universidad de Antioquia. Biólogo, Coordinador área de microbiología, Grupo GIEM. Medellín, Colombia.
3 Universidad de Antioquia. Director grupo GIEM. Medellín, Antioquia.

Correspondencia: caguevara@uniquindio.edu.co

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (151-159) Julio - Diciembre 2014

ABSTRACT

Was isolated and characterized a flocculant yeast strain Saccharomyces cerevisiae (LEG-06), to ferment banana juice, extracted under basic conditions. Yield ethanol was compared with commercial yeasts and were also evaluated the effects of pH and neutralizing agent. Additionally, the effect on efficiency of 10 successive fermentations using the same yeast. Finally, the fermentation was scaled in a 40 L tubular reactor with mechanical agitation and the kinetic parameters were determined from yeast. Ideal conditions were: pH 5,5 using citric acid as a neutralizer, 23,8 g/L yeast 14,5°Brix. The efficiency was between 82-84% and the optimum pH between 5,5 and 6,0 flocculation. The concentration of ethanol obtained under optimum conditions was 7,5%. These results demonstrate the yeast as the methodology used, have the right characteristics and desired to develop a process to pilot plant for the production of ethanol from banana rejection

PALABRAS CLAVES:
Fermentación, Jugo, Cinética, Comparación.

KEYWORDS:
Fermentation, Juice, Isolation, Characterization

PALAVRAS CHAVE:
Comparação, Cinética, Fermentação, Suco.

RESUMO

Foi isolado e caracterizado uma estirpe de levedura Saccharomyces cerevisiae LEG-06, floculantes para fermentar características banana suco extraído sob condições básicas. Rendimiento de etanol foi comparado com leveduras comerciais e também foram avaliados os efeitos do pH e um agente de neutralização. Além disso, o efeito sobre a eficácia de 10 fermentações sucessivas, utilizando o mesmo levedura. Finalmente, a fermentação foi escalado em um reactor tubular, de 40 L, com agitação mecânica e os parâmetros cinéticos foram determinados a partir de levedura. As condições ideais foram: pH 5,5 usando ácido cítrico como um neutralizador, 23,8 g/L de levedura 14,5°Brix. A eficiência foi entre 82-84% e o pH óptimo entre 5,5 e 6,0 de floculação. A concentração de etanol obtido nas melhores condições foi de 7,5%. Estes resultados demonstram a levedura como a metodologia utilizada, têm as características certas e desejado desenvolver um processo de instalação piloto para a produção de etanol a partir da rejeição de banana.

INTRODUCCION

Colombia es el segundo país productor de etanol en América Latina, después de Brasil, produciendo aproximadamente 1.050.000 L/día [1] a partir de caña de azúcar.

Es posible utilizar el banano no apto para exportación (banano de rechazo) y que no es consumido por el mercado nacional, en la producción de etanol. Este sustrato posee tres características fundamentales: La fruta está concentrada en las empacadoras, alto contenido de carbohidratos (22-28%) en peso húmedo [2] y su volumen de producción que actualmente alcanza las 116.000 ton/año. Estudios previos en laboratorio, han demostrado que a partir del jugo banano maduro es posible obtener fermentos con alto contenido alcohólico, utilizando levaduras comerciales [3]. Para mejorar el proceso fermentativo, se utilizan levaduras aisladas del medio, con características deseadas, como la propiedad de floculación [4].

La floculación en levaduras es un proceso reversible, asexual y dependiente de calcio, en el cual las células se adhieren para formar floculos consistentes en miles de células [5]. Estas levaduras han sido utilizadas para facilitar la recuperación de la biomasa de los productos de fermentación, a bajo costo [6] y sin pérdidas de viabilidad y vitalidad. Además se obtienen ventajas operativas que reducen los gastos energéticos y la compra de equipos. Por ejemplo, incrementando las densidades celulares dentro de los reactores para reducir los tiempos de proceso, eliminando el uso de centrifugas en el reciclaje levaduras para fermentaciones sucesivas (sistema "Melle-Boinot") y prescindiendo de agentes inmovilizadores para retener y proteger las levaduras dentro del reactor.

Se han empleado las levaduras floculantes para producir alcohol, por ejemplo, a partir de remolacha azucarera usando sacarificación secuencial o simultánea y comparando el rendimiento por el obtenido con levaduras no floculantes [7], También, Fermentaciones continuas, utilizando vinazas recirculadas para determinar su efecto sobre el rendimiento [8], hidrolizados enzimáticos de residuos de cocina [9], melazas no tratadas con H2SO4 [10], medios sintéticos con glucosa [11], hidrolizados enzimáticos de cassava [12].

El presente trabajo significó el aislamiento y caracterización de una cepa floculante de Saccharomyces cerevisiae (LEG-06), obtenida de fermentaciones espontáneas con características deseadas para la fermentación eficiente y sucesiva de jugo de banano. Esta cepa fue comparada con levaduras comerciales, caracterizada bioquímicamente y evaluada de acuerdo a la capacidad para fermentar el jugo a diferente pH y con diferentes agentes neutralizantes. Posteriormente se evaluó el efecto de diez fermentaciones sucesivas sobre la eficiencia, viabilidad y capacidad de floculación sin ajuste de pH. Finalmente, bajo condiciones óptimas de fermentación, se establecieron los parámetros cinéticos, el pH óptimo de floculación a escala de 40 L.

MÉTODO

Análisis cuantitativo

La cuantificación del etanol se realizó en un cromatógrafo de gases Agilent 6890N, con detector FID, H2 como gas de arrastre, columna carbowax 20 M de 50 m de longitud; la metodología fue la siguiente: 50ºC durante 1 minuto, calentamiento a 20ºC/min hasta 150ºC, y estabilización por 2 minutos, rampa a 30ºC/min hasta 200ºC y estabilización por 1 minuto. La concentración celular fue determinada por turbidimetría, por diluciones adecuadas de una alícuota de suspensiones de células, con agua destilada estéril, hasta obtener una densidad óptica no superior a 0,60 de Absorbancia (donde se encuentra linealidad entre la densidad óptica y la concentración celular) a 700 nm. La Absorbancia fue convertida a peso seco usando curvas de calibración. Los Carbohidratos totales fueron cuantificados por reacción con el reactivo de antrona, la absorbancia del complejo fue medida a 625 nm y la concentración se determina por interpolación en la curva de calibración.

La determinación de sólidos solubles reportados como °Brix en el medio de fermentación fue realizada por medición directa en refractómetro óptico (Marca: American Optical ABBE). La viabilidad celular fue determinada a través de la técnica de reducción de azul de metileno [13, 14]. Este método se basa en que las células vivas reducen el colorante azul de metileno a azul leucometileno, tornándose incoloras. Las células muertas no presentan esa capacidad y continúan azules cuando son observadas al microscopio. La viabilidad fue calculada siguiendo la ecuación:

Viabilidad celular (%) = (número de células vivas / número de células totales)*100. (Ec. 1)

Medios de Crecimiento y fermentación

Medio de aislamiento. Agar saboreau conteniendo en g L-1, Dextrosa 40,0, Peptona de Caseína 5,0, digerido Pancreático de Tejido Animal 5,0, Agar Bacteriológico 15,0, pH 5,6 ± 0,2. **Medio de pre-inoculación**. YPD líquido, conteniendo en (g L -1): glucosa 20,0; peptona 20,0; extracto de levadura 10,0. **Medio de crecimiento para inoculación de las fermentaciones.** Bananos sometidos a hidrólisis endógena, fueron molidos enteros y mezclados con una solución acuosa al 10% (p/v) de Ca(OH)2 a 80ºC, para aglomerar los sólidos y extraer los azúcares fermentables. El volumen de la solución corresponde al 10% del peso de bananos utilizados. Después de 15 minutos, se procedió a la filtración, neutralización con H2SO4 concentrado hasta pH 5,5, esterilización a 121ºC durante 15 minutos en autoclave y finalmente filtración. Este medio fue suplementado con (NH4)2SO4 (5,0 g L-1 en relación al N) como fuente de Nitrógeno, K2HPO4 (2 g L-1) como fuente de Fosforo, MgSO4.7H2O (1 g L-1) como fuente de Magnesio. **Medio de fer-**

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (151-159) Julio - Diciembre 2014

mentación. El jugo de banano obtenido anteriormente sin suplementar nutientes

Microorganismos

Fueron utilizadas levaduras de diferentes fuentes: Levadura floculante aislada de fermentaciones espontáneas de jugos de banano a pH inicial de 3,5, usando el método de siembra por agotamiento sobre Agar saboreau. Levaduras comerciales secas para la producción de etanol Ethanol-Red®, marca Fermentis (nombrada, Comercial 1) y de panadería, marca Mauripan ® (nombrada, Comercial 2). Levadura comercial marca Mauripan y utilizada en varias fermentaciones con jugo de banano antes de las pruebas (nombrada, Comercial adaptada).

Selección y caracterización de levadura floculante

Selección. Las levaduras aisladas (en agar saboreau), de las fermentaciones espontaneas de banano a pH 3,5, fueron sembradas individualmente en tubos de ensayo conteniendo medio YPD líquido, en buffer citrato a pH 6,0. Después de 72 horas a 30°C, los tubos fueron agitados fuertemente hasta la visualización de floculos [15, 16].

Comparación con levaduras comerciales. Para todos los ensayos, las levaduras usadas (levadura floculante, Comercial 1, Comercial 2, Comercial adaptada), fueron propagadas en jugo de banano suplementado, agitadas y aireadas durante 48 horas, recolectadas en plena fase exponencial con una viabilidad superior al 98%, centrifugadas y lavadas dos veces con agua destilada.

Se realizaron micro fermentaciones en recipientes cilíndricos de vidrio de 110 mL de capacidad (acoplados a trampas de agua), donde se depositaron 70 mL del jugo de banano clarificado y esterilizado, sin suplementar. Los jugos de banano a 13 ºBrix y pH 5,5 se inocularon con cada una de las levaduras por triplicado, a una concentración aproximada de 4 g L-1. La fermentación se llevó a cabo por 48 horas en agitador orbital a 125 rpm. Tanto al inicio como al final de la fermentación se determinó la concentración celular, % v/v de etanol, concentración de azúcares totales, ºBrix.

Caracterización bioquímica de LEG-06. Se empleó la galería API 20C AUX®, constituida por 20 cúpulas que contienen 19 sustratos deshidratados para ensayos de asimilación. Las cúpulas se inoculan con un medio mínimo semi-agar. La lectura se realizó a las 24 y 48 horas después de inoculación. Para la identificación se empleó la base de datos proporcionada por el proveedor. También se realizaron pruebas de crecimiento sobre Nitrato, Urea y Lisina. Además de la determinación de la morfología celular.

Efecto del pH sobre fermentación. El jugo de banano a 16 Brix, fue ajustado con H2SO4 a diferentes pH (6,0, 5,5, 5,2, 4,6, 4,2).

La concentración de levadura LEG-06 inicial fue 5 g L-1. El tiempo de fermentación fue de 48 horas. Los experimentos se realizaron por triplicado.

Efecto del agente neutralizante y suplemento. El jugo de banano encalado (adición de Ca(OH)2) fue neutralizado con diferentes agentes: Acido Sulfúrico y Acido Cítrico hasta pH 5,5 y con CO2 a pH 6,8, para determinar el efecto del neutralizante sobre la concentración final de etanol. Además, se evaluó el efecto conjunto de todos los agentes neutralizantes con la adición de urea a 0,5 g L-1. Los experimentos fueron realizados por triplicado. La biomasa inicial fue a 5 g L-1. El tiempo de fermentación fue de 48 horas.

Efecto de fermentaciones sucesivas. Se desarrollaron 10 fermentaciones sucesivas, utilizando concentraciones de levadura a 20 g L-1, por duplicado, de la siguiente forma: La agitación fue parada después de completar la primera fermentación en bache y el fermento fue mantenido quieto por 60 minutos para esperar la separación de las levaduras floculantes. Entonces la fase líquida fue decantada y el reactor era cargado con un volumen igual de jugo de banano para arrancar la siguiente fermentación. El fermento extraído era utilizado para la cuantificación de etanol, la viabilidad y % de floculación de las levaduras. Para el siguiente ciclo fermentativo generalmente fue necesario extraer levaduras del recipiente para obtener la concentración de inoculo deseado.

Fermentaciones de 40 L

Cinética de la Fermentación con LEG-06. El Jugo de banano a 14,5 Brix, pH 5,5, fue inoculado con 4,0 g/L de levadura. Se tomaron muestras de 2 mL cada 2 horas durante 24 horas. El experimento se realizó por duplicado.

Las fermentaciones se realizaron en un reactor tubular de 50 L de capacidad, equipado con agitador rotatorio, chaqueta para calentamiento y enfriamien-

to, dotado con medidores en línea de pH, oxigeno disuelto y temperatura.

Parámetros cinéticos. La concentración celular producida de acuerdo a la siguiente ecuación: X = Xf - X0, donde X = Concentración celular producida, (g L-1 de materia seca); Xf = Concentración celular final (g L-1 de materia seca); X0 = Concentración celular inicial (g L-1 de materia seca); Porcentaje de células producidas X% = (X/Xf)*100; Consumo de azúcar : S = (S0–Sf), donde: S = azúcar usado (g L-1 de carbohidratos totales); Sf = Concentración final de azúcares (g L-1 de carbohidratos totales); S0 = Concentración inicial de azúcares (g L-1 de carbohidratos totales); Factor de conversión para el sustrato a biomasa: Y x/s = X/S; Etanol producido: P = Pf - Pi, donde: P = Etanol producido (g L-1); Pf =Concentración final de etanol (g L-1); Pi =Concentración inicial de etanol (g L-1); Factor de conversión para el sustrato a etanol: Y P/S = P/S; Productividad de etanol: PR=P/t (g L-1 h-1), t = Periodo de fermentación (h); Eficiencia de la fermentación basado en el rendimiento teórico obtenido de la ecuación de Gay-Lussac (51,1 g de etanol por 100 g de glucosa). η p(%) = (Y p/s / 0,511) * 100. Adicionalmente se cálculo la relación de (g/L) de etanol producido/ (g/L) de biomasa * hora.

Rango de pH de la floculación en el fermento. Terminada la fermentación del numeral 4.3.3. las levaduras suspendidas en el fermento fueron distribuidas en 7 recipientes que fueron ajustados pH 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0 con NaOH concentrado. Cada recipiente fue colocado en agitación a 400 rpm durante 10 minutos y posteriormente dejadas en reposo por otros 10 minutos. Transcurrido éste tiempo, se tomaron alícuotas de 0,2 mL a 0,5 cm por debajo del tope del líquido. Los 0,2 mL de muestras fueron diluidos con 0,8 mL de solución EDTA 25 mM y 1,0 mL de agua destilada, para eliminar los floculos. Finalmente, se leyeron las Absorbancias a 700 nm para determinar la concentración de células en suspensión en cada recipiente. Se construyó una curva donde se relaciona el % de células floculadas (% de células en suspensión – 100) vs pH.

RESULTADOS

Aislamiento de levaduras

Fueron analizados 20 aislados de la fermentación espontánea del jugo de banano y solo uno de ellos dio prueba positiva de floculación. Este aislado fue denominado LEG-06. Las levaduras provenientes de otras fuentes habían sido reportadas como no floculantes.

Caracterización de levadura LEG-06

La caracterización Morfológica y Bioquímica arrojó los siguientes resultados: células ovaladas, redondeadas. textura cremosa, superficie lisa y brillante, bordes lobulados. Crecimiento en Nitrato (-), Prueba de Ureasa (+). Formación de ascosporas (+), Test agar lisina (-). (Cuadro 1).

Mediante el test de consumo de diferentes fuentes de Carbono, se determinó que la cepa LEG-06 es Saccharomyces cerevisiae con un 98,7% de probabilidad.

Comparación de levaduras

El análisis ANOVA, determinó que hay diferencias estadísticamente significantes El P-valor (<0,05) para las concentraciones de etanol producido, concentración celular y azúcares residuales, entre las levaduras (figura 1). Con un nivel de confianza del 95%. Con el test de rango múltiple por el método LSD, se pudieron identificar tres grupos homogéneos con respecto a la producción de alcohol: Grupo 1: Comercial 1 y LEG-06 que producen la mayor concentración de alcohol (7,08 y 6,76 % v/v de alcohol respectivamente); Grupo 2: Comercial 2 y Grupo 3: Comercial adaptada

Cuadro 1. Ensayos de asimilación de sustrato.

Sustrato		Sustrato	
D-Glucosa	+	N-Acetil-Glucosamina	-
Glicerol	-	D-Celobiosa	-
D-Sorbitol	-	D-Lactosa	-
L-Arabinosa	-	D-Maltosa	+
D-Xilosa	-	D-Sacarosa	+
Adonitol	-	D-Trehalosa	-
Xilitol	-	D-Melezitosa	-
D-Galactosa	+	D-Rafinosa	+
Inositol	-	Lisina	-
2-ceto-Gluconato cálcico	-	Metil-α-D-Glucopiranosido	-
Ureasa	+		

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (151-159) Julio - Diciembre 2014

Figura 1. Comparación de levaduras.

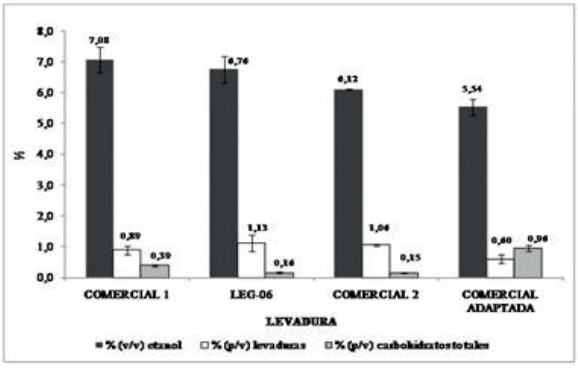
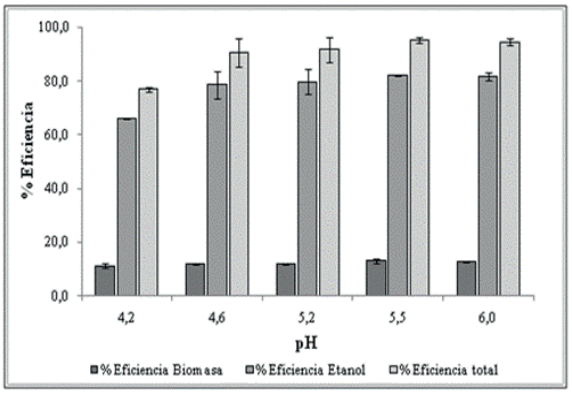


Figura 2. Efecto del pH.



Bajo el mismo test, se pudieron identificar 3 grupos homogéneos con respecto al crecimiento celular. Nuevamente la cepa LEG-06 hace parte del grupo con mayor producción junto a Comercial 2 (1,13 y 1,06 % (p/v) de biomasa en peso seco). Esta producción de biomasa es conveniente si se tiene en cuenta su valor agregado como proteína unicelular.

Aunque la cepa LEG-06 ocupa el segundo lugar con respecto a la producción de etanol después de comercial 1, presenta dos características fundamentales: Permite tener independencia con respecto al suministro del inoculo y además de separarse fácilmente del fermento debido a su capacidad de floculación. Por tanto, analizando los anteriores resultados, se tomó la decisión de usar la cepa LEG-06 para los siguientes ensayos.

Efecto del pH sobre la fermentación

En la determinación del efecto del pH sobre las fermentaciones con LEG-06 (figura 2), el análisis ANOVA, indica que hay diferencias estadísticamente significantes entre la concentración de etanol final de un valor de pH y otro (P-valor es $< 0,05$). Con un nivel de confianza del 95%. El test de rango múltiple por el método LSD indica las fermentaciones realizadas a pH inicial de 4,2, presentan las menores concentraciones de etanol final con eficiencias cercanas al 68%. Los demás tratamientos forman un grupo homogéneo, con eficiencias entre el 80 y 83%. Por lo tanto el rango óptimo de la fermentación con la levadura LEG-06 ubicado entre los pH 4,6 y 6,0. No hay diferencias estadísticamente significantes (P-valor $> 0,05$), en la producción de biomasa entre los tratamientos. El pH utilizado en los siguientes experimentos fue 5,5.

Efecto del agente neutralizante y el suplemento

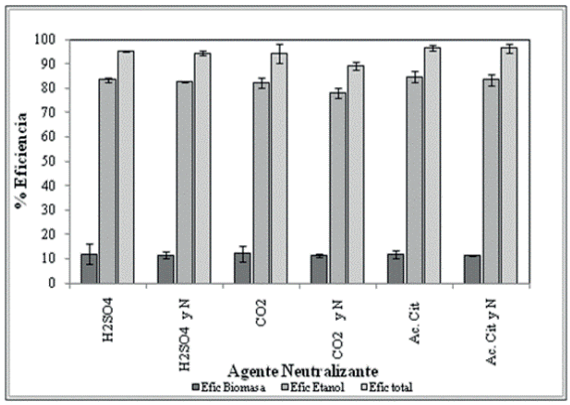
En la determinación del efecto del agente neutralizante y el suplemento (figura 3), se presenta que, El P-valor del F-test es menor que 0,05, por tanto, hay una diferencia estadísticamente significativa entre la medida "eficiencia etanol" desde un nivel de neutralizante a otro a un nivel de confianza del 95,0%. El agente neutralizante CO2 con la adición de Urea presenta las menores eficiencias de fermentación (78%). Los restantes tratamientos forman un grupo homogéneo y sus eficiencias varían entre 81 y 84%. El P-valor del test F es más grande que 0,05, No hay diferencias estadísticamente significantes entre la medida "Eficiencia Biomasa" de un nivel de " Neutralizante" a otro, con un nivel del 95,0% de confianza. La adición de N (0,5 g/L) en forma de Urea, no aumentó la eficiencia de la fermentación en ninguno de los tratamientos.

Efecto de las fermentaciones sucesivas

Se utilizaron los neutralizantes CO2 y Acido cítrico, como alternativas al H2SO4 que tiene restricciones comerciales y además produce altas concentraciones de H2S durante la metanogénesis de las vinazas. El CO2, es producido durante la fermentación y no tiene costo, pero el pH final del jugo neutralizado es de 6,8, por la formación de un buffer de carbonatos, que podría favorecer la contaminación bacteriana. El Acido cítrico es de fácil adquisición y el Citrato de calcio formado en la neutralización tiene valor comercial para la alimentación humana o animal.

Durante los diez ciclos no hubo reducción significativa de la eficiencia, pérdida de viabilidad, aunque la floculación se no fue rápida (60 minutos) porque no se ajustó el pH. Los valores en términos de eficiencia

Figura 3. Efecto del agente neutralizante.



de la fermentación fluctuaron entre un mínimo de 79% y un máximo de 89%. La viabilidad durante todos los experimentos no se redujo más del 94%. El porcentaje de floculación se redujo durante las últimas fermentaciones a cerca del 80% (figura 4).

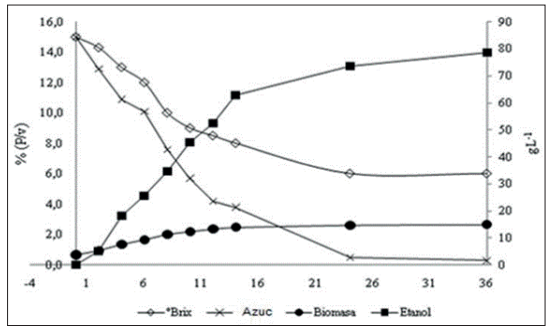
Fermentaciones a nivel de 40 L

Cinética de la fermentación. A partir de la cinética de fermentación realizada por duplicado a 40 L (figura 5) se obtuvieron los parámetros cinéticos del cuadro 2. Las productividades mayores a 1 gL-1 h-1, son valores normales para un sistema en batch. Para sistemas continuos las productividades pueden alcanzar 10 g L-1 h-1 o más.

En procesos industriales, un valor de μmax es útil para la comparación del desempeño de una cepa en relación con otra; es deseable que el valor de éste parámetro quede en torno a 0,50 h1, el cual es considerado satisfactorio para la fermentación [17]. En los anteriores experimentos no se determinó el valor de μ a diferentes concentraciones de sustrato, solo en los rangos de trabajo, por lo que el valor obtenido es más bajo.

Floculación. De acuerdo a la figura 6, se puede concluir que existe un rango optimo de floculación en

Figura 5. Cinética de la fermentación a 40 L.



Cuadro 2. Parámetros cinéticos de levadura LEG-06.

Parámetros	LEG-06		Unidad
t	36	30	h
Xo	3,8	5,1	g L^{-1}
Xf	15,0	17,3	g L^{-1}
X%	74,7	70,8	%
S	147	146	g L^{-1}
Y x/s	0,076	0,084	
P	62,8	60,8	g L^{-1}
Y p/s	0,43	0,42	
$\eta_{p(\%)}$	83,6	81,5	%
μ	0,28	0,25	h^{-1}
Productividad	1,74	2,03	g L^{-1} h^{-1}

Figura 4. Efecto de las Fermentaciones sucesivas.

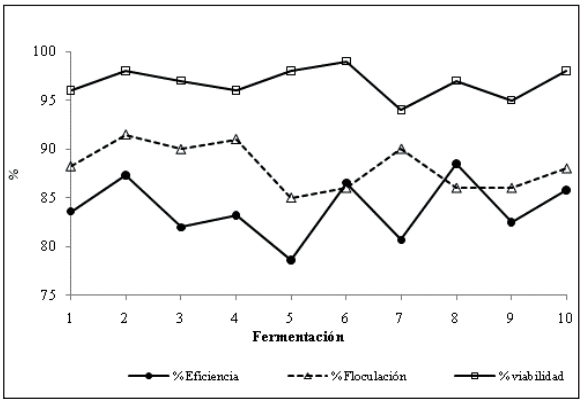
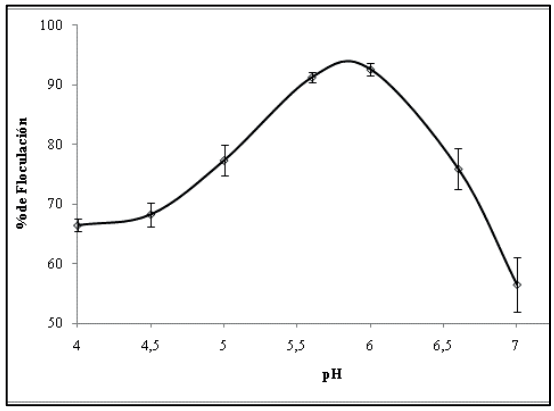


Figura 6. Determinación del pH optimo de floculación.



Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (151-159) Julio - Diciembre 2014

el fermento en el pH comprendido entre 5,5 y 6,0. Que es un rango muy estrecho, a diferencia de los encontrados con levaduras floculadas en medios de crecimiento [15], lo que hace pensar sobre el efecto de las sales u otro tipo de sustancias en el fermento en la floculación.

CONCLUSIONES

Fue aislada una cepa de Saccharomyces cereviseae (llamada LEG-06) de las fermentaciones espontáneas de banano con características floculantes deseadas

La cepa LEG-06 fue comparada con cepas comerciales para determinar su capacidad para producir alcohol.

Fueron determinados los efectos del pH y agente neutralizante sobre la eficiencia de la fermentación.

La floculación de la levadura LEG-06 puede ser utilizada a nivel industrial en fermentaciones sucesivas, usando altas concentraciones de celulares para disminuir los tiempos de fermentación y manipulando los rangos pH óptimo durante la floculación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Colciencias por la financiación de éste estudio.

REFERENCIAS

[1] FEDECOMBUSTIBLES. Federación Nacional de Biocombustibles [online]. 2013. Available: http://www.fedebiocombustibles.com/files/Cifras%20Informativas%20del%20Sector%20Biocombustibles%20-%20ETANOL(52).pdf [citado 6 de Diciembre 2013].

[2] AUROREA, G. and FAHRASMANEB, L. Bananas, raw materials for making processed food products. Trends in Food Science & Technology, 20, 2009, p. 78-91.

[3] HAMMOND, J.B., DIGGINS, D. and COBLE, C.G. Alcohol From Bananas. Bioresource Technology, 56, 1996, p. 125-130.

[4] XIN-QING, Z., QIAN, L., LEI-YU, H., FAN, L., WEN-WEN, Q. and FENG-WU, B. Exploration of a natural reservoir of flocculating genes from various Saccharomyces cerevisiae strains and improved ethanol fermentation using stable genetically engineered flocculating yeast strains. Process Biochemistry, 47, 2012, p. 1612-1619.

[5] STRATFORD, M. Yeast flocculation: calcium specificity. Yeast, 5, 1989, p. 487-496.

[6] VERSTREPEN, K.J. and KLIS, F.M. Flocculation, adhesion and biofilm formation in yeasts. Molecular Microbiology, 60(1), 2006, p. 5–15.

[7] ZHANG, N., GREEN, S., GE, X., SAVARY, B. and XU, J. Ethanol fermentation of energy beets by self-flocculating and non-flocculating yeast. Bioresource Technology, 155, 2014, p. 189-197.

[8] ZI, L.H., LIU, C.G., XIN, C.B., and BAI, F.W. Stillage backset and its impact on ethanol fermentation by the flocculating yeast. Process Biochemisry, 48, 2013, p. 753-758.

[9] TANGA, Y., LIUA, K., ANA, M., MORIMURA, S., WUC, X. and KIDAA, K. Ethanol production from kitchen waste using the flocculating yeast Saccharomyces cerevisiae strain KF-7. Biomass and Bioenergy, 32, 2008, p. 1037-1045.

[10] YUE-QIN, T., MING-ZHE, A., YA-LING, Z., MORIMURA, S., XIAO-LEI, W. and KENJI, K. Continuos ethanol fermentation from non-sulfuric acid-washed molasses using traditional stirred tank reactors and the flocculating yeast strain KF-7. Journal of Bioscience and Bioengineering, 109(1), 2010, p. 41-46.

[11] ANDRIETTA S.R. Seleção de leveduras floculantes para uso em reatores (tipo torre) fluidizados na produção de etanol. Campinas (Brasil): Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas – CPQBA, Divisão de Biotecnologia e Processos, 2004, p. 2-15.

[12] CHOI, G.W. and MOON, S.K. Repeated-batch fermentation using flocculent hybrid, Saccharomyces cerevisiae CHFY0321 for efficient production of bioethanol. Applied Microbiology and Biotechnology, 84, 2009, p. 261-269.

[13] YOSHIDA, N., MINAMIMURA, T., YOSHIDA, T. and OGAWA, K. Effect of hypergravitational stress on microbial cell viability. Journal of Bioscience and Bioengineering, 88, 1999, p. 342-344.

[14] MORENO, A., IBARRA, D., BALLESTEROS, I., GONZÁLEZ, A. and BALLESTEROS, M. Comparing cell viability and ethanol fermentation of the thermotolerant yeast Kluyveromyces marxianus and Saccharomyces cerevisiae on steam-exploded biomass treated with laccase. Bioresource Technology, 135, 2013, p. 239-245.

[15] STRATFORD, M. Induction of flocculation in brewing yeasts by change in pH value. FEMS Microbiology Letters, 136, 1996, p. 13-18.
[16] MONDAL, S., LEONG, Y., LIOW, J., and WICKRAMASINGHE, S. Flocculation of yeast suspensions by a cationic flocculant. Powder Tecnology, 235, 2013, p. 426-430.
[17] STEKELBERG, C. Caracterização de leveduras de processos de fermentação alcoólica utilizando atributos de composição celular e características cinéticas [Tese de doutorado]. Campinas (Brasil): Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2001, 215 p.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (160-169) Julio - Diciembre 2014

TRANSPORTE DE MATERIA ORGANICA PARTICULADA EN UNA CORRIENTE ALTOANDINA: QUEBRADA ARRAYANALES (CAUCA – COLOMBIA)

TRANSPORT OF PARTICULATE ORGANIC MATTER IN AN ANDEAN MOUNTAIN STREAM: CREEK ARRAYANALES (CAUCA – COLOMBIA).

TRANSPORTE DE PARTÍCULAS ORGÂNICAS EM UM FLUXO ALTO ANDINA: ARRAYANALES QUEBRADO (CAUCÁ - COLÔMBIA)

Margarita del Rosario Salazar-Sánchez[1], Monica Patricia Valencia-Rojas[1], Apolinar Figueroa-Casas[2]

RESUMEN

Se determinó la dinámica temporal de la materia orgánica particulada en la quebrada Arrayanales (Cauca), teniendo en cuenta los eventos de precipitación y su efecto sobre la cantidad de materia orgánica particulada fina (MOPF), gruesa (MOPG) y total (MOPT) que ingresa y es transportada aguas abajo de la Quebrada. Se planteó como objetivo establecer la cantidad y la variación de las entradas laterales, verticales y el transporte de materia orgánica particulada alóctona (MOP), contando a la precipitación y el caudal como variables hidroclimáticas para ello se determinó el peso seco libre en cenizas (PSLC) de MOP vertical, lateral capturada y transportada. Los resultados demuestran que la Quebrada Arrayanales, es un ecosistema con tendencia al transporte de grandes cantidades de MOPG, con bajo potencial de almacenamiento y mecanismos para el ingreso de materia orgánica alóctono, que dependen del régimen de precipitaciones. Las precipitaciones se relacionaron mayormente con el transporte de MOPG, que con la MOPF. Los aportes verticales y laterales fueron dominados por MOPG, con promedios totales de 10,86 g PSLC m^{-2} y 6,05 g PSLC m^{-2} respectivamente. El transporte en el tramo de estudio fue de 37,83 g m^{-3} MOPT, 32,88 g m^{-3} MOPG y 4,94 g m^{-3} MOPF.

Recibido para evaluación: 11 de septiembre de 2013. **Aprobado para publicación:** 27 de marzo de 2014

1 Universidad del Cauca, Grupo de Estudios Ambientales (GEA). M.Sc. Bióloga. Popayán, Colombia.

2 Universidad del Cauca, Director del Doctorado en Ciencias Ambientales, Director del Grupo de Estudios Ambientales (GEA). Ph.D.. Popayán, Colombia.

Correspondencia: margaritasalaz@gmail

ABSTRACT

The temporal dynamics of particulate in the Arrayanales Creek (Cauca), organic matter was determined taking into account the events of rainfall and its effect on the amount of fine particulate organic matter (FPOM), coarse (CPOM), and total (TPOM) which input and is transported downstream from the Creek. It was raised as a aims to establish the amount and variation of lateral, vertical inputs and the transport of organic matter particulate (MOP), counting the precipitation and flow as hydroclimatic variables for this purpose ash-free dry weight (AFDW) in vertical, lateral MOP captured and transported was determined. The results show that the Arrayanales Creek is an ecosystem with a tendency towards the transport of large quantities of MOPG, with low storage and potential mechanisms for input of organic matter replanted, depending on rainfall. Precipitation mostly related to the transport of MOPG, than with MOPF. Vertical and lateral contributions were dominated by MOPG, with overall averages of 10,86 AFDW g m^{-2} and 6,05 g AFDW m^{-2} respectively. Transport in the section of study was 37,83 g m^{-3} TPOM, 32,88 g m^{-3} CPOM and 4,94 FPOM g m^{-3}.

PALABRAS CLAVE:
Dinámica de la materia orgánica**,** Aportes, Transporte.

KEY WORDS:
Organic matter dynamics, Inputs, Transport.

PALAVRAS-CHAVE:
Dinâmica da matéria orgánica, Insumos, Transporte.

RESUMO

A dinâmica temporal de partículas de matéria orgânica quebrada Arrayanales (Cauca), foi determinada tendo em conta os eventos de precipitação e seu efeito sobre a quantidade de matéria orgânica particulada bem (MPF), espesso (MOPG) e total (MOPT) que entra e é transportada a jusante do quebrada. Surgiu como uma meta estabelecer a quantidade e a variação do lateral, entradas verticais e o transporte de orgânicos importam aloctona partículas (MOP), contando a precipitação e o fluxo como variáveis de hydroclimatic, determinou-se o peso seco sem cinzas (PSSC) na MOP lateral, vertical capturado e transportado. Os resultados mostram que a Quebrada Arrayanales, é um ecossistema com uma tendência para o transporte de grandes quantidades de MOPG, com armazenamento baixo e mecanismos potenciais para a entrada de matéria orgânica aloctona, dependendo das chuvas. Precipitação, principalmente relacionada ao transporte de MOPG, com o MPF. Contribuições verticais e laterais foram dominadas pela MOPG, com média total de 10.86 PSSC g m^{-2} e 6,05 g PSSC m^{-2}, respectivamente. Transporte na seção de estudo foi 37,83 g m^{-3} MOPT, 32,88 g m^{-3} MOPG e 4,94 MPF g m^{-3}.

INTRODUCCION

Los ambientes acuáticos altoandinos son extremadamente sensibles a la variación estacional climática, debido a que la inmensa mayoría depende de la precipitación y su distribución anual. Los niveles de agua en el río y los caudales de la mayoría de ecosistemas lóticos se vinculan a la precipitación a corto plazo de modo muy directo. La temperatura del aire también condiciona los sistemas acuáticos a través de su influencia directa en la temperatura del agua, que a su vez afecta a los procesos metabólicos y biogeoquímicos que suceden en los ecosistemas acuáticos [1, 2]. Por otra parte, las influencias climáticas indirectas como

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (160-169) Julio - Diciembre 2014

el viento, radiación solar son muy importantes en los ambientes acuáticos continentales de montaña, ya que éstos resultan dependientes de la dinámica de la cuenca hidrográfica, por tanto, los efectos del cambio climático sobre los suelos y la vegetación de aquélla tendrán también unos efectos adicionales sobre los ambientes acuáticos [2, 3, 4], también sobre las comunidades biológicas como macroinvertebrados, bacterias, perifiton y fitoplancton.

En quebradas de primer orden, como la quebrada Arrayanales, la materia orgánica particulada alóctona (MOP) que recibe proviene de la vegetación riparia y es considerada como la mayor fuente de energía para sus comunidades acuáticas [5, 6, 7]; y como fuente de energía en los sistemas acuáticos incluye: i) a la materia orgánica particulada gruesa (MOPG), hojas, troncos, flores y otros materiales en descomposición (hojarasca), y ii) a la Materia Orgánica Particulada Fina (MOPF), como material vegetal que ya ha sido descompuesto, cuya descomposición provee de iones al sistema [8]. La importancia de la entrada del detrito alóctono y su influencia en la estructura de la comunidad bentónica [9], es así como en el concepto de Río Continuo, la materia orgánica proveniente de la vegetación ribereña, que es transportada en la corriente de agua, se convierte en un recurso energético que es explotado por las comunidades acuáticas [10].

Teniendo en cuenta lo anterior, la quebrada Arrayanales, recibe la materia orgánica particulada (MOP) proveniente de la vegetación riparia, con este estudio se espera generar una base conceptual y metodológica de una herramienta de evaluación para la función en este tipo de ecosistemas fluviales, con mediciones de parámetros funcionales, complementarios a las variables físicas, químicas y biológicas, utilizados tradicionalmente como criterios para evaluar el estado de conservación de sistemas fluviales. Es por ello que se planteó conocer la dinámica de materia orgánica particulada alóctona en la quebrada Arrayanales durante un periodo de seis meses que se logró con el desarrollo de los objetivos de este proyecto donde se propuso determinar la cantidad y la variación de las entradas laterales, verticales y el transporte de materia orgánica particulada alóctona (MOP) en un tramo de la quebrada alto andina "Arrayanales", sobre el flanco occidental de la cordillera Central – Colombia, haciendo énfasis en el efecto de la variabilidad climática como magnitud de la precipitación y el caudal, sobre las entradas de MOP. Las entradas verticales de MOP gruesa (MOPG vertical) y laterales de MOP gruesa (MOPG lateral) y MOP fina (MOPF lateral) correspondientes a los seis meses de muestreo fueron tomadas como $g.m^{-1}$ de peso seco libre de cenizas (PSLC) respectivamente.

MÉTODO

Área de estudio

La quebrada Arrayanales, está ubicada en el noreste del municipio de Popayán, sobre el flanco occidental de la cordillera Central, en el Departamento del Cauca (Colombia). Hace parte de la subcuenca alta del Río Las Piedras, las coordenadas de tramo de estudio en la Quebrada Arrayanales son: Longitud 02º41'71,45'', Latitud 76º09'47'',37 - Longitud 02º89'61,47'', latitud 76º19'31'',93. La subcuenca de la Quebrada Arrayanales limita al norte con la cuenca del Río Palacé, al sur con las cuencas de los ríos San Francisco y Vinagre, al oriente con los cerros de Pusná y Cargachiquillo, y al occidente con el Río Cauca. Abarca un total de aproximadamente 605,42 Ha, con un perímetro de cuenca de 70,02 km [11].

La zona de estudio se encuentra a una altura aproximada de 2600 msnm. Los rangos promedio anual de temperatura, precipitación, humedad relativa, brillo solar, tensión de vapor y nubosidad son 18,4ºC, 172,9 mm, 84 mm, 123 horas, 17,5 Mbar y 5,8 horas [12] y se encuentra dentro del bosque pluvial montano alto (bp-MA) y corresponde a Selva Andina [13].

En cuanto a geomorfología, presenta relieve montañoso; en la parte alta y media presenta pendientes fuertes, largas y rectilíneas; en la parte baja hay pendientes suaves y cóncavas. Los suelos están formados principalmente por cenizas volcánicas; presentan textura media franco-arcillosa poco estructurada y bien drenada; poseen acidez baja con pH entre 5,0 y 5,9 unidades, saturación de aluminio y bajas cantidades de calcio, magnesio y fósforo; son suelos con buenas propiedades físicas y limitadas propiedades químicas que influyen negativamente en la fertilidad [14].

Variables hidroclimáticas

Las variables hidroclimáticas incluidas en el estudio fueron el caudal y la precipitación, datos que fueron tomados cada muestreo con un molinete y por la estación hidroclimática ubicada en la Quebrada Arrayanales por la Fundación Pro-Cuenca Río las Piedras.

Muestreo de Materia Orgánica Particulada

Para lograr los objetivos propuestos se realizaron muestreos, sobre el cauce principal de la quebrada Arrayanales, de los aportes verticales, laterales de materia orgánica particulada alóctona y los aportes por deriva sobre el cauce, cada 30 días durante seis meses de muestreo (julio (M1), agosto (M2), septiembre (M3), octubre (M4), noviembre (M5) y diciembre (M6) de 2012), durante 24 horas, en un tramo que tengan similares características geomorfológicas que comprendan zonas de rápidos y remansos [15].

Las entradas laterales también consideradas como indirectas de material alóctono se muestrearon mediante ocho trampas laterales de malla con poro de 1 mm ubicadas en pares a cada orilla de la quebrada, separadas 50 m una de la otra, las trampas se anclaron mediante estacas, orientadas hacia al ambiente terrestre.

Para los aportes verticales se dispusieron ocho trampas de malla de 0,25 m^2 de captación y malla de 1 mm de poro, ubicadas en cada orilla de la quebrada, separadas 50 m una trampa de la otra, se realizó distinción del material colectado como MOPG y MOPF, para lo cual se consideró como materia orgánica particulada gruesa con diámetro mayor a 1000 μm y fina como aquella con diámetro entre 1000 μm y 1 μm.

Para los aportes en el tramo muestreado por deriva se utilizó una estructura de filtración a través de un muestreo discreto de transporte de MOPG y MOPF utilizando tres redes Surber (ojo de malla de 250 μm), se dispuso una en cada sitio de muestreo, siguiendo la metodología propuesta por [15, 16, 17], la trampa se colocó una dentro del cauce del río, se midió el caudal en la entrada de la trampa, y se dejaron las trampas instaladas para la colecta de fracciones de MOPF y MOPG durante 24 horas para cada muestreo.

Análisis estadístico

Para el análisis de la información obtenida sobre los aportes de materia orgánica particulada, se calculó la homogeneidad de varianza y normalidad, por lo que se utilizó el programas estadístico SPSS 11.5, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0,05$), y un análisis de coeficiente de correlación de Spearman (r^2).

RESULTADOS

Variables climáticas caudal y precipitación

Los muestreos desarrollados durante M4 y M6 (Octubre y Diciembre 2012) mostraron un valor de precipitación promedio significativamente mayor en comparación con el período de bajas precipitaciones correspondiente a M1, M2, M3 y M5 (Julio, Agosto Septiembre y Noviembre 2012) (K-W=22,87, p=0,0004, n=48), aunque en términos generales se presentó un régimen de precipitación constante con valores bajos (cuadro 1).

Se presentó una diferencia significativa entre el período de alto caudal correspondiente a M5 y M6 (valor promedio de 2,25 $L.s^{-1}$) y el período de bajo caudal (M1, M2, M3 y M4), que mostró un valor promedio de 1,69 $L.s^{-1}$ (K-W=44,77, p=0000, n=48), aunque en términos generales el régimen de descarga fue constante (Cuadro 1).

Entradas de MOP

Un aspecto importante de la ecología de ríos es evaluar la importancia relativa de los recursos alóctonos para la biota del río. Todos los niveles tróficos involucrados en las comunidades acuáticas, dependen de la explotación

Cuadro 1. Caudal y precipitación reportados para cada mes de muestreo.

VARIABLE	MUESTREO											
	M1		M2		M3		M4		M5		M6	
	$\overline{X}$	±SD	$\overline{X}$	±SD	$\overline{X}$	±SD	$\overline{X}$	±SD	$\overline{X}$	±SD	$\overline{X}$	±SD
Caudal ($L.s^{-1}$)	8,35	0,14	9,80	0,30	9,57	0,14	7,53	0,24	12,45	0,26	14,46	0,21
Precipitación ($mm.d^{-1}$)	1,25	3,54	0,00	0,00	0,00	0,00	9,50	6,26	7,50	7,01	13,00	10,09

$\overline{X}$: Promedio; ±SD: Desviación Estándar. Fuente: Fundación Pro-Cuenca Río las Piedras.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (160-169) Julio - Diciembre 2014

de los recursos disponibles, y de la eficiencia con que estos recursos son transformados en nueva biomasa [18]. Ya que, la entrada de los detritos en ríos y arroyos, constituye una de las fuentes de carbono orgánico más importante para las comunidades acuáticas [10, 19] teniendo en cuenta que la hojarasca representa el componente principal de entrada en la Quebrada. Las cantidades acumuladas de MOPTG vertical y MOPTG lateral correspondiente al tiempo de muestreo fueron 574,87 g PSLC m^{-2} y 256,23 g PSLC m^{-2} respectivamente, con valores promedio de entradas por muestreo de 1,57 g PSLC m^{-2}, y 0,70 g PSLC m^{-2} respectivamente.

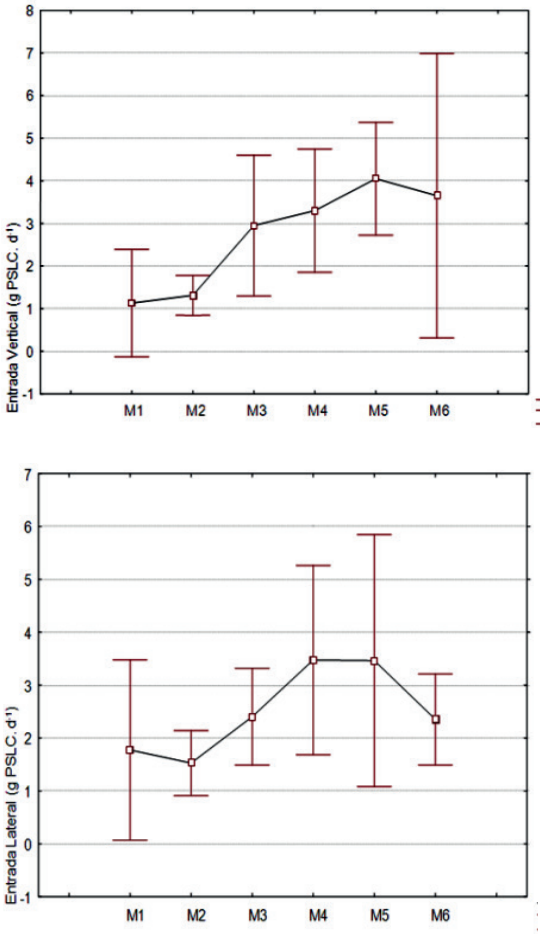
La entrada de MOPG vertical para el período de baja precipitación fue de 0,78 (±0,33) g PSLC m^{-2} d^{-1} y para el período de lluvias fue de 1,59 (±0,89) g PSLC m^{-2} d^{-1}. La cantidad promedio de MOPG lateral para el período de baja precipitación fue de 0,57 (±0,32) g PSLC m^{-2} d^{-1} y para el período de lluvias fue de 0,54 (±0,16) g PSLC m^{-2} d^{-1}.

En cuanto a las entradas de MOPG vertical mostraron su mayor registro en M6 con un valor de 2,22 g PSLC m^{-2} d^{-1} y una diferencia significativa en estos aportes con respecto al resto de muestreos que correspondieron a menores intensidades de precipitación (K-W=23,91, p=0,0002, n=48). En términos descriptivos, la Figura 1a muestra que el pico máximo de entrada de esta materia se presentó en M6, correspondiente al período de mayor intensidad de la precipitación, la asociación entre éstas es significativa (r_s= 0,29, p=0,04, n=48). Para el período de Agosto se muestra una tendencia al incremento en la MOPG vertical como sucede con las otras entradas de MOP.

Las entradas de MOP laterales presentaron su mayor valor en M5 (0,97 g PSLC m^{-2} d^{-1}) mostrando diferencias significativas con los otros muestreos y con la intensidad de la precipitación (K-W=13,68, p=0,017, n=48). No se presentaron diferencias entre los incrementos de estos aportes alóctonos de MOPG y la intensidad de la precipitación, lo cual es sustentado por una correlación no significativa (r_s= 0,14, p=0,33, n=48).

En términos generales, en la Quebrada Arrayanales, se presentaron picos de incremento en los aportes de MOP vertical y lateral en los meses de septiembre y diciembre, correspondiente a M3 y M6, generados por umbrales de precipitación. Estos registros guardan relación con estudios desarrollados en el trópico con un patrón similar [20, 21]. Se destacan los trabajos desarrollados en la Ciudad de Bogotá por [16, 21, 22, 23, 24] quienes encontraron una asociación entre la producción de hojarasca en términos de peso seco con la precipitación para la Quebrada La Vieja (Bogotá).

Figura 1. Entradas de MOP en g PSLC.d^{-1} (A. Entradas Vertical; B. Entrada Lateral).



Comparando este estudio con los trabajos que se han realizado en Colombia (cuadro 2) se encuentran que los mayores aportes están representados por los aportes verticales de MOPG como aporte vertical que lateral a excepción de lo reportado en el río Gaira (Santa Marta) donde se presentó un mayor aporte lateral debido que la zona de muestreo se vio afectada por precipitaciones constantes; este estudio presentó similares aportes a los evidenciados en la quebrada la Vieja (Bogotá), con cambios en los aportes debidas a la variabilidad y cambio climático en la zona.

Y teniendo en cuenta que la variación temporal en los aportes de MOPG alóctona se ha descrito a escala de paisaje [25, 26] debido a la variabilidad de los par-

Cuadro 2. Estudios realizados en Colombia.

*MOPG		Lugar
Vertical	Lateral	
**1300 g m^{-2} $año^{-1}$		Quebrada La Vieja (Bogotá) [20]
**920 g m^{-2} $año^{-1}$		Robledales y Bosque Altoandino de la Sabana de Bogotá [17]
450,8 g m^{-2}	191 g m^{-2}	Quebrada la Vieja (Bogotá) [18]
718,3 g m^{-2}	2197,4 g m^{-2}	Río Gaira (Santa Marta) [16]
574,87 g m^{-2}	256,23 g m^{-2}	Quebrada Arrayanales (Cauca) [Presente estudio]

*Valor expresado como Peso Seco Libre de Cenizas (PSLC). **No específica tipo del aporte.

ches o mosaicos que forman la vegetación riparia, la fenología de la vegetación y el efecto de las lluvias y la sequía [27]. En el presente estudio se pudo encontrar que el aporte de materiales fue más o menos constante durante los seis meses de muestreo, aunque la MOPG vertical se incrementó en período de lluvias y se puede deducir que existen diferencias en las cantidades de los aportes de MOP para eventos de alta y baja precipitación. Además se presentan umbrales de precipitación que se traducen en incrementos significativos de MOPG vertical.

Dado que estos aportes de material alóctono como MOPG juegan un papel relevante en términos de energía para comunidades acuáticas, como sucede en épocas de primavera en regiones holárticas, donde existe una mayor proporción de flores que caen al lecho de las Quebradas, las cuales ofrecen un mayor aporte energético a comunidades bioticas en comparación con las hojas [28] y palizadas [29]; en los estudios realizados en Colombia, los aportes de la vegetación riparia encontraron valores máximos de MOPG por la caída de hojarasca en relación con el período de lluvias, con species como: *Clusia multiflora, Vaccinum sp.* y *Weinmania tomentosa* como las especies dominantes en el aporte de MOPG al mantillo del suelo ripario [16, 20]; debido a que las entradas de hojas de los árboles riparios son, por lo general, la mayor fuente de energía para los organismos heterotróficos [29].

En la quebrada Arrayanales se presentó un aporte relevante en la producción alóctona por el bosque ripario, en especial de la fracción gruesa (hojarasca, semillas, flores, y pequeños troncos) de las familias de Melostomataceae, Fagaceae, Polygonaceae y Asteraceae, siendo las especies vegetales riparias más abundantes en el tramo estudiado: *Coraria Ruscifolia, Rubus adenotrichos, Desmodium adscendens, Erato vulcanica, Bidens sp., Chromalaena odorata, Piper lacunosum, Danthonia secundiflora, Bomarea sp., Croscomia x crocosmiflora, Cleome arborea, Palicurea abgustifolia, Solanun ovalifolium, Wedelia sp., Ageratia tinifolia, Plantago sp., Euphorbia laurifolia, Meriania splendens, Tibouchina mollis, Salvia scutellarioides, Oxalis sp., Equisetum bogotensis, Psammisia graebneriana*.

Con lo anterior, el incremento de MOP en la Quebrada presenta un patrón similar reportado en los trabajos de [21, 22, 23, 29] en donde los incrementos en la MOP alóctona tiene una relación significativa con eventos hidroclimáticos extremos como las tormentas sobre Quebradas de Norteamérica.

Otros trabajos que demuestran como la interacción bosque-río en las cabeceras de las montañas se da por la relación directa entre la densidad del bosque ripario y el efecto o cambio hidroclimático [16]. Entonces, en la Quebrada Arrayanales los cambios en el caudal se producen como respuesta a los incrementos en la intensidad de la precipitación, mientras que la respuesta en las entradas y el transporte de MOP en la Quebrada Arrayanales, son el reflejo de un sistema conservado que presenta una buena cobertura vegetal riparia.

Transporte de MOP

El transporte promedio de MOPG, MOPF y MOP total (MOPT= MOPG+MOPF) en el tramo de estudio fue de 37,83 g m^{-3}, 32,88 g m^{-3} y 4,94 gm^{-3} respectivamente. Los valores de pérdidas por transporte de MOPF para el período de bajo caudal fue de 4,36 (±0,71) g m^{-3} y para el período alto caudal fue 5,71 (±2,59) g m^{-3}. La cantidad promedio de MOPG transportada aguas abajo para el período de bajos caudales fue de 30,56 (±3,23) g m^{-3} y para el período de latas precipitaciones fue de 37,54 (±3,03) g m^{-3}. Finalmente los valores encontrados para la MOPT, correspondientes a la sumatoria de la MOPG y la MOPF transportada durante el período de sequía fue de 34,93 (±6,21) g m^{-3}, y para el período de lluvias fue de 43,66 (±3,43) g m^{-3}. (Cuadro 3).

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (160-169) Julio - Diciembre 2014

La MOPG transportada presentó el mayor registro con un valor promedio de 140.5 g PSLC m^{-3}, simultáneo al período de mayor precipitación correspondiente al mes de diciembre (M6); este incremento se debe al aumento del caudal. No se presentó una variación en el transporte de MOPG en relación con el resto de muestreos representados por una regular intensidad del caudal (K-W= 5,18, p=0,39, n=48).

La asociación entre el caudal y el transporte de MOPG, fue muy baja y poco significativa (r_s= 0,25, p=0,07, n=48). Cabe resaltar que la menor cantidad de MOPG transportada se presentó durante los muestreos M1, M2, M4 y M5 (figura 2a).

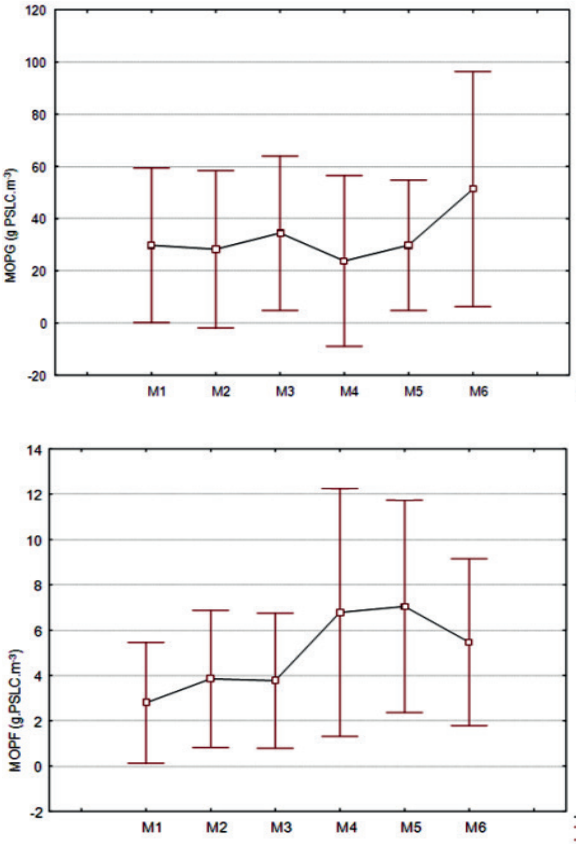
Se presentó un valor máximo de 15,36 g PSLCm^{-3} en el mes de noviembre (M5), correspondiente al período de bajo caudal, aunque su incremento fue más prolongado que lo mostrado por la MOPG, ya que permaneció desde M3 hasta M5 (figura 2b). No se presentaron diferencias en estos aportes de MOPF con respecto al resto de muestreos correspondientes a bajos caudales (K-W= 5,88, p=0,31, n=48). La asociación entre esta variable y la magnitud del caudal fue muy alta (r_s= 0,14, p=0,34, n=48), debido a los datos se presentaron valores casi constantes.

Las pérdidas totales de MOP fueron expresadas en términos de la MOPT transportada aguas abajo (MOPG+MOPF). Se presentó una alta asociación entre la MOPT y el transporte de MOPF (r_s= 0,35, p=0,01, n=48) pero fue mayor la correlación entre MOPT y el trasporte de MOPG (r_s= 0,90, p=0,00, n=48) debido a que la MOPG aportó casi la totalidad de la MOP en deriva (MOPT).

De acuerdo a los resultados obtenidos, no se presentaron diferencias estadísticas en la cantidad de MOPT transportada en el tramo a escala temporal.

La MOPG aportó en su mayoría la totalidad de la materia orgánica particulada total comparando con el aporte de la MOPF que fue menor; Según [5], tramos de cabecera

Figura 2. Transporte de MOP en g PSLC.m^{-3} (A. MOPG; B. MOPF; C. MOPT).



presentan una relación MOG/MOPF >1. Es muy probable que grandes cantidades de MOPG sean retenidas por el lecho de la Quebrada, a diferencia de la MOPF, la cual tiende a ser movilizada aguas abajo en mayores cantidades, como sucedió en el tramo de la Quebrada Arrayanales.

Esto se sustenta como una relación altamente positiva, entre la descarga y el transporte de MOPT. [16] encontraron en quebradas en la Quebrada la Vieja, el exporte de MOP estuvo relacionado con patrones de descarga, particularmente relacionados con periodos de lluvias posteriores a períodos de baja precipitación.

Cuadro 3. Cantidad de MOP reportada para cada mes de muestreo.

Transporte	Unidad	Muestreo					
		M1	M2	M3	M4	M5	M6
MOPF	g PSLC.m^{-3}	2,79	3,85	3,77	6,78	7,05	5,47
MOPG	g PSLC.m^{-3}	29,78	28,24	34,44	23,78	29,80	51,31
MOPT	g PSLC.m^{-3}	32,56	32,09	38,21	30,55	36,85	56,77

Relación MOPG/MOPF transportada

La heterogeneidad que presentó el tramo de la Quebrada Arrayanales (debido a las características geomorfológicas del cauce como la presencia de parches de palizadas, piedras de grande tamaño, presencia de rápidos y remansos) pudo haber influenciado para la poca movilidad de la MOPT. [25] mencionan que estos factores son relevantes en la dinámica de las entradas, retención y pérdidas por transporte de MOP en quebradas [16].

El balance de entradas y salida de MOPG/MOPF en la Quebrada, demuestra un dominio en las entradas y retención de MOPG, que también dominó en las salidas o pérdidas por transporte aguas abajo. Este balance de materiales se destaca si se quieren desarrollar aproximaciones en cuanto al flujo de MOP en la interacción bosque-río [30], estudios aplicativos en restauración de quebradas de cabecera, efecto hidroclimático en la dinámica de la MOP y comparaciones con teorías desarrolladas en sistemas lóticos [9], y los cambios que ocurren a nivel de la vegetación ribereña van a afectar significativamente la estructura y funcionamiento de las comunidades de los macroinvertebrados bentónicos, ya que no solo la utilizan como fuente de energía sino también como refugio o para la construcción de sus habitáculos [30].

CONCLUSIONES

La dinámica del material orgánico que ingresó, se almacenó y se transportó, se caracterizó por una alta variabilidad temporal a lo largo del tramo de la Quebrada Arrayanales durante los meses de muestreo, en donde se pudo apreciar mediante el coeficiente de variación del almacenamiento, entradas y transporte de MOP, explicado por la distribución de la vegetación riparia y las acumulaciones de material orgánico en el canal, así como por la variabilidad temporal del transporte de estos materiales a causa de los cambios hidroclimáticos, basados en la correlación entre los aportes laterales, verticales y los aumentos de precipitación y caudal.

Se observó una marcada tendencia a la homogeneidad en el caudal, lo cual está relacionado con el régimen de precipitaciones. Esta poca variación en el caudal tiende a producir una mínima variación en la distribución espacial de los substratos, de tal forma que las variaciones en la cobertura vegetal, es controlada por aportes alóctonos puntuales. En cuanto a la correlación entre la materia orgánica y las variables hidroclimáticas en la Quebrada Arrayanales se encontró, en donde las entradas verticales y laterales se incrementaron al inicio de la época de altas precipitaciones por lo tanto de caudales, de igual forma el transporte de MOP.

El transporte de la materia orgánica particulada, la gruesa fue la que aporto en mayor proporción al porcentaje de materia orgánica total, mientras que el transporte de la fracción fina mantuvo un comportamiento más estable durante el periodo de muestreo y el balance de entradas y salida de MOPG/MOPF en la Quebrada, mostró un dominio en las entradas y transporte de MOPG, este balance de materiales se destaca ya que los aportes y cambios que ocurren a nivel de la vegetación riparia que pueden llegar a afectar significativamente la estructura y funcionamiento de las comunidades bentónicas, ya que no solo utilizan la MOP como fuente de energía sino también como refugio o para la construcción de su habitát.

La variabilidad y cambio climático podría generar entre otros efectos en la precipitación y caudal en la Quebrada Arrayanales que incrementa las concentraciones de nutrientes y la calidad del agua, que requiere continuar con investigaciones al respecto, ya que son escasas hasta ahora en ecosistemas altoandinos. Actualmente, ya se conoce que la capacidad de retención de nutrientes y la autodepuración disminuyen con el caudal en ríos en condiciones naturales no obstante, quedan muchos aspectos por discernir sobre la interacción entre caudal, temperatura, carga de nutrientes y usos del territorio en las cuencas hidrográficas hasta obtener una parametrización que permita aplicaciones y predicciones.

AGRADECIMIENTOS

A COLCIENCIAS por la financiación del Proyecto “Influencia de uso del suelo sobre una comunidad de Amphipodos en un ecosistema Altoandino, río las Piedras- Cauca” (Convocatoria 525/2011-2012 – ID3424) en el marco del programa de Jóvenes Investigadores e Innovadores, a la Vicerrectoría de Investigaciones de La Universidad del Cauca y a la Fundación Pro-Cuenca río las Piedras por el apoyo para la realización del presente trabajo. Igualmente a los revisores anónimos por sus sugerencias y comentarios.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (160-169) Julio - Diciembre 2014

REFERENCIAS

[1] ZEIGLER, M.P. Evidence of Recent Climate Change within the Historic Range of Rio Grande Cutthroat Trout: Implications for Management and Future Persistence. Transactions of The American Fisheries Society, 141(4), 2012, p. 1045-1059.

[2] CATALAN, J., PLA-RABÉS, S., WOLFE, A.P., SMOL, J.P., RÜHLAND, K.M., ANDERSON, N.J and RENBERG, I. Global change revealed by palaeolimnological records from remote lakes: a review. Journal of Paleolimnology, 49(3), 2013, p. 1-23.

[3] SPRINGER, M. Biomonitoreo acuático. Revista de Biología Tropica, 58, 2010, p. 53-59.

[4] CARPENTER, S.R., STANLEY, E.H., and VANDER ZANDEN, M.J. State of the world's freshwater ecosystems: physical, chemical, and biological changes. Annual Review of Environment and Resources, 36, 2011, p. 75-99.

[5] BLOOR M.C. Dietary Preference of *Gammarus pulex* and *Asellus aquaticus* during a Laboratory Breeding Programme for Ecotoxicological Studies. International Journal of Zoology, 2011, 2011, 5 p.

[6] CUMMINS, K.W. and KLUG, M.J. Feeding Ecology of Stream Invertebrates. Annual Review of Ecology and Systematics, 10(1), 1979, p. 147-172.

[7] HUANG, T.H., FU, Y.P., PEI-YI, C. and CHEN-TUNG, A. Fluvial carbon fluxes in tropical rivers. Current Opinion in Environmental Sustainability, 4(2), 2012, p.162-169.

[8] FRAUENDORF, T.C., COLÓN-GAUD, C., WHILES, M.R., BARNUM, T.R., LIPS, K.R., PRINGLE, C.M., and KILHAM, S.S. Energy flow and the trophic basis of macroinvertebrate and amphibian production in a neotropical stream food web. Freshwater Biology, 58(7), 2013, p. 1340-1352.

[9] VANNOTE, R.L., MINSHALL, G.W. CUMMINS, K.W., SEDELL, J.R. and CUSHING, C.E. The River Continuum Concept. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37, 1980, p. 130-137.

[10] ROLDÁN–PÉREZ, G. Desarrollo de la limnología en Colombia: cuatro décadas de avances progresivos. Revista Actualidades Biológicas, 31(91), 2012, p. 227-237.

[11] RECAMAN, L. Estudio de oferta y demanda del río Las Piedras [Tesis Maestría en Recursos Hidrobiológicos]. Popayán (Colombia): Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación, 2006, 104 p.

[12] CORPORACIÓN AUTÓNOMA REGIONAL DEL CAUCA (CRC). Plan de ordenación y manejo de la subcuenca hidrográfica del río Las Piedras, Cauca. Popayán (Colombia): Corporación Autónoma Regional del Cauca (CRC), 2006, 457 p.

[13] CUATRECASAS, J. Aspectos de la vegetación natural de Colombia. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 10(40), 1958, p. 221-264.

[14] POZO, J., ELOSEGI, A., DIEZ, J., y MOLINERO J. En: Conceptos y técnicas en ecología fluvial. Dinámica y relevancia de la materia orgánica. Barcelona (España): Fundación BBVA, 2009, p. 141-148

[15] GUTIÉRREZ, J.D. Caracterización del metabolismo y de la oferta de recursos de materia orgánica para la fauna de macroinvertebrados bentónicos en una quebrada de montaña de orden menor. [Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas]. Bogotá (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, 2006, p. 60.

[16] RODRIGUEZ-BARRIOS, J., OSPINA-TORRES, R. y GUTIÉRREZ, J.D. Entradas y transporte de materia orgánica en una quebrada tropical de montaña. Bogotá, Colombia. Caldasia, 30, 2008, p. 421-440.

[17] FERREIRA, V., LÍRIO, A.V., ROSA, J., and CANHOTO, C. Annual organic matter dynamics in a small temperate mountain stream. Annales de Limnologie-International Journal of Limnology, 49(1), 2013, p. 13-19.

[18] FELLMAN, J.B., PETTIT, N.E., KALIC, J., and GRIERSON, P.F. Influence of stream-floodplain biogeochemical linkages on aquatic foodweb structure along a gradient of stream size in a tropical catchment. Freshwater Science, 32(1), 2013, p. 217-229.

[19] ZHOU, W.J., ZHANG, Y.P., SCHAEFER, D.A., SHA, L.Q., DENG, Y., DENG, X.B., and DAI, K.J. The Role of Stream Water Carbon Dynamics and Export in the Carbon Balance of a Tropical Seasonal Rainforest, Southwest China. PloS one, 8 (2), 2013, p. 1-9.

[20] RODRÍGUEZ-BARRIOS, J., OSPINA-TORRES, R. and TURIZO-CORREA, R. Grupos funcionales alimentarios de macroinvertebrados acuáticos en el río Gaira, Colombia. Revista de Biología Tropical, 59(4), 2011, p. 1537-1552.

[21] LEÓN, M. y QUIROGA, R. Producción de materia orgánica en dos bosques circundantes a la Sabana de Bogotá [Tesis de pregrado en Biología]. Bogotá (Colombia): Universidad Nacional de

Colombia, Facultad de Ciencias Exactas y de la Educación, 1987, p. 78.

[22] ARENAS, H. Producción y descomposición de hojarasca en un bosque nativo y un bosque de Eucaliptus en la región de Monserrate [Tesis de pregrado en Biología]. Bogotá (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Exactas y de la Educación, 1988, p. 112.

[23] HERNÁNDEZ, M.L. Estimación de la productividad primaria de *Espeletia grandiflora H* and B y *Pinus patula Schl and Cham* en el páramo "el Granizo", Cundinamarca Colombia [Tesis de pregrado en Biología]. Bogotá (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Exactas y de la Educación, 1994, p. 45.

[24] TORRES, A.M., PEÑA, E.J., ZÚÑIGA E.O., and PEÑA, J.A. Impact assessment of anthropic activities on carbon in plant biomass storage in colombian high sierra andean ecosystems. Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural, 16(1), 2012, p. 132-142.

[25] FULLER, R.L., DENNISON, J., DOYLE, S., LEVY, L., OWEN, J., SHOPE, E. and DOYLE, M.W. Influence of flood history and hydrology on transport of organic matter in a frequently flooded river. Journal of Freshwater Ecology, 29(1), 2014, p. 37-51.

[26] FLORES, L., DÍEZ, J.R., LARRAÑAGA, A., PASCOAL, C., and ELOSEGI, A. Effects of retention site on breakdown of organic matter in a mountain stream. Freshwater Biology, 58(6), 2013, p. 1267–1278.

[27] MACKENZIE, R.A., WIEGNER, T.N., KINSLOW, F., CORMIER, N., and STRAUCH, A.M. Leaf-litter inputs from an invasive nitrogen-fixing tree influence organic-matter dynamics and nitrogen inputs in a Hawaiian river. Freshwater Science, 32(3), 2013, p. 1036-1052.

[28] JUTRAS, M.F., NASR, M., CASTONGUAY, M., PIT, C., POMEROY, J.H., SMITH, T.P., ZHANG, C.F., RITCHIE, C.D., MENG, F.R., CLAIR, T.A. and ARP, P.A Dissolved organic carbon concentrations and fluxes in forest catchments and streams: DOC-3 model." Ecological Modeling, 222(14), 2011, p. 2291-2313.

[29] FREDERIKSEN, J.S., and LIN, H. Tropical-Extratropical Interactions of Intraseasonal Oscillations. Journal of the Atmospheric Sciences, 70(10), 2013, p. 3180–3197.

[30] LIGEIRO, R., HUGHES, R.M., KAUFMANN, P.R., MACEDO, D.R., FIRMIANO, K.R., FERREIRA, W.R. and CALLISTO, M. Defining quantitative stream disturbance gradients and the additive role of habitat variation to explain macroinvertebrate taxa richness. Ecological Indicators, 25, 2013, p. 45-57.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (170-176) Julio - Diciembre 2014

Artículos de Estudio de Caso

LOS ABONOS ORGÁNICOS Y LA AGREMIACIÓN CAMPESINA: UNA RESPUESTA A LA AGROECOLOGÍA

ORGANIC FERTILIZER AND PEASANT UNIONIZATION: A RESPONSE TO AGROECOLOGY

FERTILIZANTE ORGÂNICO E CAMPONESAS SINDICALIZAÇÃO: UMA RESPOSTA A AGROECOLOGIA

NUBIA ZORAIDA PLAZAS-LEGUIZAMÓN[1], JOSÉ FRANCISCO GARCÍA-MOLANO[2]

RESUMEN

El arte de cultivar la tierra, con el uso de los recursos naturales, ha sido una actividad en donde el hombre obtiene del suelo y el clima: el color, aroma y sabor expresado en las diferentes estructuras vegetales. Por esto, campesinos, profesionales, empresarios, científicos y amantes de este oficio, se han dedicado a obtener alimento, piensos, fibras, maderas, entre otros productos para su bienestar. Sin embargo, con el desarrollo de esta actividad se ha degradado la naturaleza; lo que desencadenó el interés por realizar procesos agropecuarios que afecten menos a los entornos. Una de las posibilidades, es la de producir abonos orgánicos, a partir del manejo adecuado de desechos biodegradables, desde la interacción del conocimiento empírico y científico. Situación por la cual el grupo de investigación de Abonos Orgánicos Fermentados (AOF) busca analizar la dinámica de asociación de agricultores entorno a la fabricación de compostajes en el marco de la agroecología; con el fin de convalidar el conocimiento campesino, en torno a la generación de empresas; aspectos que han permitido la articulación de la academia con los saberes locales.

Recibido para evaluación: 17 julio de 2012. **Aprobado para publicación:** 5 abril de 2014

1 Fundación Universitaria Juan de Castellanos, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de investigación Abonos Orgánicos Fermentados. Ingeniera Agrónoma, Magister en Desarrollo Rural, Profesora. Tunja, Colombia.

2 Fundación Universitaria Juan de Castellanos. Ingeniero Agrónomo, Doctor en Biología vegetal, Director Grupo de investigación Abonos Orgánicos Fermentados, Director del Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias IICA. Tunja, Colombia.

Correspondencia: nplazas@jdc.edu.co

ABSTRAC

The art of cultivating the land, with the use of natural resources, has been an activity where the man gets off the ground and climate: the color, aroma and flavor expressed in different plant structures. Therefore, farmers, professionals, entrepreneurs, scientists and lovers of this job have been dedicated to obtaining food, feed, fiber, wood, and among other wellness products. However, with the development of this activity has been degraded nature; what triggered the interest in conducting agricultural processes that affect the environment less. One possibility is to produce organic fertilizers from proper management of biodegradable waste from the interaction of empirical knowledge and scientific. Situation in which the research group of Fermented Organic Fertilizers (FOF) analyzes the dynamics of association of farmers around making composting under agroecology; in order to validate the farmer knowledge about generating companies; aspects that have allowed the joint academy with local knowledge.

PALABRAS CLAVE:
Nutrición vegetal, Empresa, Conocimiento, Suelo, Entornos socioculturales.

RESUMO

A arte de cultivar a terra, com o uso de recursos naturais, tem sido uma atividade onde o homem sai do chão e clima: a cor, aroma e sabor expressa em diferentes estruturas da planta. Portanto, agricultores, profissionais liberais, empresários, cientistas e amantes deste oficio têm sido dedicados à obtenção de alimentos, rações, fibras, madeira e outros produtos para seu bem-estar. No entanto, com o desenvolvimento desta atividade foi degradado a natureza; o que desencadeou o interesse na realização de processos agrícolas que afetam menos o ambiente. Uma possibilidade é a produção de adubos orgânicos a partir de uma gestão adequada dos resíduos biodegradáveis a partir da interação do conhecimento empírico e científico. Situação em que o grupo de Abonos Orgânicos Fermentados (AOF) pesquisa analisa a dinâmica da associação de agricultores de todo fazer compostagem em agroecologia; a fim de validar o conhecimento do agricultor sobre as empresas geradoras; aspectos que permitiram a academia conjunta com o conhecimento local.

KEYWORDS:
Plant nutrition, Enterprise, Knowledge, Soil, Sociocultural environments.

PALABRAS-CHAVE:
Nutrição mineral de plantas, Enterprise, Conhecimento, Solo, Ambientes socioculturais.

INTRODUCCIÓN

La evolución de la agricultura refleja de manera clara la relación del hombre y la naturaleza a partir de la obtención de alimentos, así se evidencia en las etapas de recolección de frutos, domesticación de especies, hasta las formas extractivas de los recursos, en donde problemáticas como la pobreza y pérdida de la diversidad en los ecosistemas han llevado a establecer estrategias de producción alternativas y sustentables, que permitan a las comunidades retomar los saberes locales fundamentados desde la investigación [1].

Pese a los impactos de la agricultura, la naturaleza presenta resiliencia [2], sin embargo, esevidente que los recursos naturales se agotan y se genera degradación ambiental, por lo cual se requiere que los agroecosistemas se fundamenten en la estabilidad y productividad de los sistemas naturales [3].

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (170-176) Julio - Diciembre 2014

Entonces, se requiere buscar las causas que afectan la producción y haceruso de insumos alternativos, que permitan abordar los agroecosistemas desde la integración cultural, socio-económica, biofísica y técnicas [4,5], en aras de producciones sostenibles, con balance apropiado de suelos, cultivos, nutrientes, luz solar, humedad, basado en el sinergismo entre los organismos existentes en cada localidad [6]. De esta manera, los agroecosistemas son productivos debido al balance y las condiciones óptimas prevalentes, en donde además las plantas cultivadas resisten la adversidad.

Por lo anterior, en la producción agrícola se ha dado uso a la incorporación de enmiendas, que aporten a la planta los nutrientes necesarios para lograr su expresión genética y mejoren las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo [7,8], en donde además, el rendimiento de un cultivo depende de la especie, variedad, nutrición, clima, suelo y manejo [9].

Sin embargo, el uso del suelo durante largo tiempo disminuye su vocación y capacidad productiva [10]. De esta manera, la agricultura convencional ha provocado degradación, limitando la productividad de los agroecosistemas al erosionar el suelo, contaminar y agotar el agua, fomentar el uso de semillas foráneas, incrementando la pérdida de diversidad vegetal, microbiológica, animal y cultural. En contraposición, los Abonos Orgánicos Fermentados (AOF) junto con buenas prácticas agrícolas permiten la recuperación de la capa arable, para dar sostenibilidad a los agroecosistemas, desde la recuperación de la diversidad de los mismos.

En concordancia, los AOF han permitido experimentar con materias primas y estudiar los diferentes procesos que ocurren al interior de un montón de compostaje, por tal razón se ha estudiado la calidad del producto, para conocer acerca de los efectos que se presentan al aplicarlos en el suelo y el aporte a la nutrición vegetal [11]. Además, este trabajo grupal ha conducido también a plantearse interrogantes sobre cuál ha sido el impacto sociocultural, económico y medioambiental de la fabricación de los aof en las comunidades rurales.

Así, se evidencia cómo el conocimiento científico junto con el saber local conduce a la obtención de aof a partir de diferentes materias primas, bajo diversas condiciones climáticas locales, evaluando la caracterización físicoquímica, mineral y población microbiana; siendo éstas el soporte para estandarizar procesos [12], cantidades y tiempos; así como parámetros de calidad respecto a: pH, capacidad de intercambio catiónico (CIC), conductividad eléctrica (CE), carbono oxidable (CO), retención de humedad, relación carbono-nitrógeno (C/N), elementos disponibles para las plantas (N, P, K, Ca, Mg, S, Zn, Mn, Cu, B, Fe, Co, Mo), presencia de metales pesados [13,14,15], poblaciones microbianas presentes (fijadores de Nitrógeno, solubilizadores de fósforo, descomponedores de celulosa), patógenos (*Salmonella* sp., enterobacterias totales) [16] y moléculas orgánicas (% de: proteína, celulosa, hemicelulosa y aminoácidos) [17,18].

Esto ha fundamentado el quehacer del grupo, con base en el intercambio de saberes [19], al interactuar con los agricultores que han conformado empresas productoras de abonos orgánicos en Boyacá como: Agroindustrias Tibaná, Centro Ecológico M&C y Capiorgánicos con quienes se ha enfatizado en parámetros de estandarización del proceso, evaluación de la calidad y trámites para legalización de su producción, dando la posibilidad de la construcción del protocolo para la fabricación de AOF, con el fin de establecer los requisitos que se deben tener en cuenta para su producción. Como resultado se ha logrado la participación activa de los productores, en asocio con el ICA, SENA y Universidades como Uniminuto y Fundación Universitaria Juan de Castellanos. También se han adelantado actividades científicas con ponencias en Seminarios y Congresos en donde se han expuesto artículos que discuten los resultados de investigación.

Por esta razón, se pretendeanalizar desde la localidad, la dinámica de asociación de agricultores entorno a la fabricación de AOF, teniendo como marco de referencia la agroecología, debido a que como ciencia permite integrar los contextos socioculturales, económicos, políticos e institucionales [20] de los Sistemas Integrados de Producción Agropecuaria SIPAS.

Un ejemplo de los fines agroecológicos, está en la organización de los productores, a través de cooperativas, empresas asociativas de trabajo, ONGs, sin embargo esta iniciativa no ha sido muy acogida, debido a que el entorno ha mostrado la quiebra de varias agremiaciones, lo que ha generado una latente desconfianza [21].

Lo anterior, ha conducido al grupo aof a entregar a los productores soluciones sobre los problemas técnicos, que han sido resueltos a través de la investigación científica. Este planteamiento deja claro que los usuarios de un producto de investigación, no deben ser ajenos al proceso sino que deben estar vincula-

dos de manera directa; así su conocimiento empírico contribuye a resolver la pregunta de investigación [22] desde su creatividad e innovación, como se evidencia en la producción de las diferentes fábricas donde han incorporado actividades de su quehacer cotidiano al proceso; esto ha facilitado el trabajo mecánico, sin alterar los resultados del producto final. Por ejemplo, la conveniencia del uso de una materia prima específica, la forma de aplicación de un insumo para que su distribución sea más homogénea en la mezcla, la adaptación de un implemento para mejorar el empacado, el uso de un determinado empaque para retener humedad, entre otras.

Al respetarse el aporte del usuario, se establecen vínculos de confianza y se estrechan las relaciones entre investigadores y campesinos, desde las ideas de los productores. Así, el intercambio de conocimientos se fundamenta con la investigación, donde participan las comunidades rurales y su conocimiento local [1], en consecuencia, se hace visible el resultado de esta propuesta, como lo demuestra la siguiente percepción que tienen de sus procesos:

"*Cuando empezamos el trabajo de la fábrica, mezclábamos muchas materias primas sin saber si esto estaba bien", simplemente nos guiábamos por los aportes de algunos profesionales; por ejemplo, nos aconsejaron adicionar* úrea *para subir el nitrógeno, pero esto fue un error porque al agregarle este producto no se aumenta el nitrógeno pero sí se disminuyen las poblaciones de bacterias fijadoras de nitrógeno, esto lo aprendimos cuando el grupo (AOF) nos mostró los resultados de las investigaciones que ellos estaban realizando y nos lo explicaron"* [23].

El anterior testimonio refleja la apropiación social del conocimiento, donde los productores han podido establecer la calidad del producto de acuerdo a los estándares de calidad de la norma 5167/2004 (modificada en el 2011) [24].

De esta manera, la investigación participativa permite la integración social, cultural, técnica y científica a partir de la innovación y creatividad local [23], generando "*interrelaciones complejas conocimientos, métodos innovadores y estrategias de recontextualización entre los saberes ancestrales acumulados a lo largo del tiempo y la generación de nuevos conocimientos"* [25].

En consecuencia, la producción de abono orgánico en las empresas, que se han vinculado a esta investigación, nace de los mismos campesinos desde un acercamiento a la agroecología. La idea de producir abonos orgánicos, nace motivadapor organizaciones internacionales, gobierno nacional, local y municipal con diferentes proyectos, que en algunos casos no han prosperado. Sin embargo, estas propuestas de producción se convirtieron en una alternativa de manejo de desechos agroindustriales, oportunidad de negocio y/o de empleo o una opción para producir insumos a bajos costos.

Sin embargo, existe en la cultura boyacense una prevención al trabajo comunitario, manifestado en el rechazo a las ideas de sus coterráneos y apoyo a ideas foráneas: "*Al comienzo de la empresa fue difícil porque los mismos vecinos se van en contra de uno, acus*ándolo de contaminar el agua, de producir malos olores, de producir moscas y hasta me acusaron con las autoridades para que me cerraran la empresa*; pero cuando uno está haciendo las cosas bien se sale adelante. A mí la autoridad ambiental me autorizo para seguir, porque el único mal que estoy haciendo es dándole trabajo a la gente. En cambio el Municipio, no nos apoyó, porque hasta el Alcalde no nos quería dejar trabajar y nos exigía cosas que no son necesarias como análisis de laboratorio que no le exigían a la competencia, y eso que ellos solo venden gallinaza con cal*" [26].

Al parecer la idea de convertirse en empresario motiva a las personas a asociarse, sin tener mayor información de las implicaciones a que esto conlleva; las formas de evidenciar esto son: *"cuando me propusieron el negocio me pareció muy fácil, porque simplemente era preparar el abono y pensaba que con algunos ahorros era suficiente para crear la empresa, pero al llevarlo a la práctica aparecen otros gastos con los que no se cuenta como los gastos administrativos y de legalización, además no hay incentivo del gobierno, ni créditos de las entidades financieras para este tipo de actividades, por lo que muchas veces pensé en renunciar a la idea, pero después de haber invertido tiempo, dinero y trabajo no valía la pena dejar todo votado, sabiendo que estábamos cumpliendo con todo lo exigido y sacando un producto de calidad* " [27].

*"Nosotros empezamos como una asociación de familias, donde todos trabajábamos hombro a hombro, no sólo en la preparación del abono sino en otras actividades de la finca, al comienzo todos colaborábamos con mucho entusiasmo, pero como todos estábamos aprendiendo, algunas veces las cosas no sal*ían *como las planeábamos y seguramente las personas espera-*

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (170-176) Julio - Diciembre 2014

ban ver resultados económicos de manera inmediata, lo cual en este tipo de actividades no es posible"[28].

Existen varios supuestos respecto a la motivación que tienen los agricultores para asociarse, porque tienen como propósito establecer una competencia con empresas productoras de insumos; su interés está en manejar insumos locales que generan contaminación, mejorar su fuente de ingresos o crear microempresas; así aportar a la reducción de los costos de producción, dado que la fertilización corresponde al 20% delos costos totales [29].

Lo anterior, ha generado otras satisfacciones y seguridad a los productores: "*cuando uno usa estos abonos, tanto en el suelo como en la rama, yo me he dado cuenta que se usan menos líquidos para controlar plagas y enfermedades, yo me imagino que eso debe ser por los sulfatos que se le hecha*" [26], "*yo he usado el abono líquido puro, chuztaquiando el cultivo y noto que la reacción de la planta es rápida y crece como con más vigor y no se usan tantos líquidos para la plaga*" [30].

En consecuencia, los abonos orgánico se convirtieron en una disculpa para hablar de agroecología porque se piensa que al utilizarlos como fertilizante, éstos mejoran las condiciones químicas, físicas y biológicas del suelo [2], lo que es relativamente cierto, pero a la luz de la agroecología el abono es un insumo que debe ser preparado con el conocimiento suficiente sobre su calidad [24], de manera que éste responda a las expectativas de los usuarios y no se convirtiera en un problema, como la salinización del suelo, a partir del uso de la materia orgánica y los sulfatos, que se agregan para la producción de los AOF.

Por esta razón, se requiere interacción en aspectos técnicos con los propietarios de las empresas para que puedan complementar su conocimiento empírico: *"nosotros no teníamos conocimiento de los temas que se necesita saber para producir un abono orgánico pero a partir del trabajo con el grupo de investigación hemos aprendido cosas esenciales de microbiología y química para el proceso de obtención del abono orgánico*" [31]. Estas afirmaciones dejan ver que cuando existe la fundamentación científica de un proceso, las personas se sienten más seguras de su quehacer tanto en lo teórico como en lo práctico.

Así, se resalta que el aporte de información de los productores hacia el grupo ha sido relevante, dado que ellos conocen sus entornos locales y a partir de su experiencia, transmiten conocimiento, de esta manera se ha logrado integrar su quehacer práctico con la teoría y el proceso de investigación; de donde el grupo ha fundamentado su actividad científica y académica en cinco principios:

- autonomía, soberanía y seguridad alimentaria,
- nutrición de planta, animales, microorganismos y humana,
- *diversidad de flora, fauna, microbiológica y cultural,*
- *uso y manejo de suelo, agua y medio ambiente,*
- *Investigación local y tecnología apropiada* [32].

Así, queda planteado cómo se ha llevado a cabo la tarea de interacción [22], reafirmando lo que comenta Morales [1]: "… *los procesos de desarrollo rural implican lo ambiental, social, político y cultural; pero no fragmentados en ramas particulares, sino en interacción que dé cuenta de la complejidad presente en las relaciones entre las sociedades y la naturaleza"*, ejemplo de esto ha sido la participación de los productores en la elaboración de protocolos para la fabricación de los AOF.

CONCLUSIONES

En procesos como la creación de empresas, en torno a los abonos orgánicos fermentados,se requiere de la interacción científica y técnica, que brinde la confianza y seguridad necesarias para mantener motivados a los integrantes.

La investigación científica convalida el conocimiento campesino que es producto de un proceso de práctica, donde ellos aportan ingenio y creatividad para mejorar sus labores cotidianas en sus entornos locales.

Las actividades agrícolas provocan un impacto en lo ambiental, cultural, social y económico que la investigación científica no debe aislar.

REFERENCIAS:

[1] MORALES, J. Sociedades rurales y naturaleza. En busca de alternativas hacia la sustentabilidad. León (México): Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente ITESO, Universidad Iberoamericana León Boulevard Jorge Vértiz Campero, 2000, 71 p.

[2] ZAPATA, R. y OSORIO, N. Ciencia del suelo principios básicos. La materia orgánica del suelo. 2

ed. Bogotá (Colombia): Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, 2013, p. 361-388.

[3] RODRÍGUEZ, R. Agricultura Tropical con enfoque humano y visión sistémica. La Cosmopolitana. Bogotá (Colombia): Fundación y Centro Agroecológico, 2007, 317 p.

[4] AMÉZQUITA, E., VOLVERÁS, B. y TÁFUR, H. Efecto del tiempo de uso en las condiciones físicas del suelo andino en el Departamento de Nariño, Colombia. 2011. Disponible: http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/9741 [Citado agosto 11 de 2011]

[5] PRIMAVESI, A. Manejo Ecológico del Suelo. 5 ed. Buenos Aires (Argentina): El Ateneo editorial, 1982, 495 p.

[6] ALTIERI, M. ¿Por qué estudiar la agricultura tradicional?. Disponible: http://www.clades.cl/revistas/1/rev1art2.htm. [citado agosto 11 de 2011].

[7] BURBANO, H. El suelo: una visión sobre sus componentes biorgánicos. Pasto (Colombia): Universidad de Nariño, Serie investigaciones No. 1, 1989, 447 p.

[8] HANKE, F. La nutrición de la planta y su problemática en la agricultura. Tunja (Colombia): Fundación Universitaria Juan de Castellanos, 2008, 236 p.

[9] GARCÍA, F. Relación entre la población microbiológica y el contenido de nutrientes en un abono orgánico fermentado (AOF). Revista Cultura Científica, 3, 2005, p. 5-12.

[10] CASTRO, H. Fundamentos para el conocimiento y manejo de suelos agrícolas. Tunja (Colombia): Editorial FUJC, 1998.

[11] GÓMEZ, I. y CASTRO, H. Ciencia del suelo: principios básicos. Fertilidad de suelos y fertilizantes. 2 ed. Bogotá (Colombia): Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, 2013, p. 217-298.

[12] GARCÍA, F., GIL, P. y CARRILLO, A. Caracterización y calidad de un abono orgánico fermentado (AOF), preparado con residuos del proceso de industrialización de la papa *Solanum tuberosum* L. Revista Logo, Ciencia y Tecnología, 1(1), 2009, p.67-80.

[13] RUSSI, S. Composición físicoquímica de los compostajes fabricados a partir de los residuos orgánicos urbanos en Ventaquemada Boyacá [Tesis Ingeniería Agropecuaria]. Tunja (Colombia): Fundación Universitaria Juan de Castellanos, Facultad de Ciencias Agrarias, 2014.

[14] ROSAL, A., PÉREZ, J., ARCOS, M. y DIOS, M. La incidencia de metales pesados en compost de residuos sólidos urbanos y en su uso agronómico en España. 2007. Disponible:www.scielo.cl/pdf/infotec/v18n6/art10.pdf. [Citado febrero 13 de 2014].

[15] PUERTA, S. Los residuos sólidos municipales como acondicionadores de suelos. Revista Lasallista de Investigación, 1(1), 2004, p. 56-65.

[16] GONZÁLEZ, A. Microorganismos patógenos presentes en compostajes fabricados a partir de los residuos orgánicos urbanos en Ventaquemada Boyacá [Tesis Ingeniería Agropecuaria]. Tunja (Colombia): Fundación Universitaria Juan de Castellanos, Facultad de Ciencias Agrarias, 2014.

[17] GARCÍA, F., GIL, P., GALVIS, L. y GALINDO, W. Cuantificación de tres microorganismos en el proceso y dinámica de los abonos orgánicos fermentados (AOF). Revista Cultura Científica, 6, 2008, p. 65-66.

[18] GARCÍA, F., MEDINA, M., GUARÍN, J. y ROA, C. La disponibilidad de nutrientes parra las plantas, consecuencia de interacción, química, biológica y bioquímica. Revista Cultura Científica, 5, 2007, p. 21-28.

[19] FREIRE, P. La educación como práctica de la libertad. Madrid (España): Siglo XXI Editores, 2007, 35 p.

[20] ALTIERI, M y TOLEDO, V. La revolución agroecológica en Latinoamérica. Bogotá (Colombia): Sociedad Científica Latinoamericana de Agroecología (SOCLA), 2011, 33 p.

[21] ESPINOSA, N. Economía campesina, sistemas de producción y viticultura en el Valle del Sol (Boyacá). Revista Cultura Científica, 6, 2008, p. 56-61.

[22] PLAZAS, N., GARCÍA, F., CORTÉS, D. y RODRÍGUEZ, Y. Procesos agroecológicos, en Ventaquemada Boyacá.
Revista Cultura Científica, 9, 2011, p. 68-75.

[23] MORENO, J., CASTILLO, I. Entrevista personal, agosto 22 de 2009.

[24] INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS (ICONTEC). Norma Técnica 5167: Materiales Orgánicos Utilizados como Fertilizantes o Acondicionadores de Suelos. Bogotá (Colombia): 2004.

[25] MONJE, J. La agroecología como marco referencial para las investigaciones en agriculturas alternativas. 2010. Disponible:
http://lunazul.ucaldas.edu.co/index.php?option=content&task=view&id=615. [Citado agosto de 2011].

[26] GARZÓN, L. Entrevista personal, 13 de octubre de 2009

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (170-176) Julio - Diciembre 2014

[27] ROA, M. Entrevista personal, febrero de 2011
[28] PERALTA, L. y ORJUELA, G. Entrevista personal, agosto de 2009
[29] GUERRERO, R. Fertilización de cultivos en clima frío. Bogotá (Colombia): Monómeros Colombo Venezolanos S.A., 1998, 370 p.
[30]CASTILLO, I. Entrevista personal, 13 de octubre de 2010
[31]ORJUELA, G. entrevista personal, 13 de octubre de 2010
[32] GARCÍA, F. Principios generales de agricultura orgánica. Tunja (Colombia): Fundación Universitaria Juan de Castellanos, 2005.

PROPUESTA PARA LA FORMULACIÓN E IMPLEMENTACIÓN DE UNA ESTRATEGIA DE INNOVACIÓN EN GRUPOS DE INVESTIGACIÓN. APLICACIÓN EN UN GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN AGROINDUSTRIA

PROPOSAL FOR THE FORMULATION AND IMPLEMENTATION OF AN INNOVATION STRATEGY IN RESEARCH GROUPS. APPLICATION IN A RESEARCH GROUP IN AGRIBUSINESS

PROPOSTA PARA A FORMULAÇÃO E IMPLEMENTAÇÃO DE UMA ESTRATÉGIA DE INOVAÇÃO EM GRUPOS DE PESQUISA. APLICAÇÃONUM GRUPO DE PESQUISA EM AGROINDÚSTRIA

Gina Lia Orozco-Mendoza[1], Jhon Wilder Zartha-Sossa[2], Bibiana Arango-Alzate[3], Lina Maria Vélez-Acosta[4]

RESUMEN

Este artículo describe los resultados de una investigación cuyo propósito era la formulación y generación de un plan de implementación de una estrategia de innovación mediante la aplicación de la metodología de Melissa Schilling, 2010 para un

Recibido para evaluación: 17 de julio de 2013. **Aprobado para publicación:** 16 de mayo de 2014

1 Universidad Pontificia Bolivariana, Escuela de Ingenierías. Magíster en Gestión Tecnológica. Medellín, Colombia.
2 Universidad Pontificia Bolivariana, Escuela de Ingenierías. Magíster en Gestión Tecnológica. Medellín, Colombia.
3 Universidad Pontificia Bolivariana, Escuela de Ingenierías. PhD. en Recursos Forestales. Medellín, Colombia.
4 Universidad Pontificia Bolivariana, Escuela de Ingenierías. Magíster en Desarrollo. Medellín, Colombia.

Correspondencia: gina.orozco@upb.edu.co

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (177-184) Julio - Diciembre 2014

grupo de investigación en agroindustria de una universidad de la ciudad de Medellín- Colombia. Como resultado, se obtuvo: a) la identificación de brechas de innovación y tecnología, la definición de elementos claves para su orientación estratégica, b) la clasificación de sus proyectos en derivativos, de plataforma, de ruptura y de avanzada, dentro de la herramienta Mapa de proyectos de I+D+i, c) el análisis y establecimiento de formas de colaboración para cada proyecto, d) el establecimiento de mecanismos de protección de la innovación y, por último, se aplicaron metodologías para determinar un plan de implementación de la estrategia de innovación tales como: herramientas para la generación de nuevos servicios y productos, elección de formas de organización de sus equipos de proyectos y la identificación de parámetros de desempeño de curvas en S para analizar y comprender la difusión de futuras innovaciones. Los resultados de éste proyecto permitieron al grupo generar un plan estratégico coherente con sus capacidades.

PALABRAS CLAVES:
Plan estratégico, Mapa de proyectos De I+D+I, Curvas en S.

ABSTRACT

This paper describes the results of an investigation, which was aimed the formulation and generation of a plan for implementing an innovation strategy by application the methodology of Melissa Schilling, 2010, in a research group in agribusiness of a university of the city of Medellin- Colombia. As a result, was obtained: a) the identification of gaps of technological and innovation in the group, the definition of the key elements for the construction of its strategic direction, b) the classification of projects in derivatives, platform, rupture and advanced within the project Map tool R & D&i. c) analysis and establishment of forms of collaboration for each project, d) the establishment of mechanisms to protect innovation, finally, were applied methodologies to determine a plan for implementing the innovation strategy, such as, tools for generating new services and products, choice of organizational forms of project teams and the identification of the performance parameters of curves in "S", to analyze and understand the spreading of their future innovations. The results of this project enabled the group to generate a strategic plan consistent with their abilities.

KEYWORDS:
Strategic plan, R&D&i project map, S curves.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo a formulação e geração de um plano de implementação de uma estratégia de inovação a través da metodologia da Melissa Schilling (2010) para um grupo de pesquisa de agroindústria de uma universidade em Medellín, Colômbia. Entre os resultados obtidos se tem: a) A identificação de brechas de inovação e tecnologia no grupo, a definição dos elementos chaves para a construção da sua orientação estratégica, b) a classificação dos projetos em derivativos, de plataforma, de ruptura e avançada, dentro da ferramenta de mapa de projetos de I+D+i, c) o analises e estabelecimento de formas de colaboração para cada projeto, d) estabelecimento de mecanismos de proteção da inovação e, por último se aplicaram metodologias para determinar o plano de implementação da estratégia de inovação como: ferramentas para a geração de novos serviços e produtos, eleição de formas de organização de equipes de projetos e a identificação de parâmetros de desempenho de curvas em

PALAVRAS-CHAVE:
Plano estratégico, Mapa de projetos de I+D+i, Curvas em S.

S para analisar y compreender a difusão de futuras inovações. Os resultados obtidos permitiram ao grupo de pesquisa gerar um plano estratégico coerente com as suas capacidades.

INTRODUCCIÓN

Los países, sectores económicos y empresas que han alcanzado un mayor estado de desarrollo tecnológico, económico y mejores indicadores en bienestar social y calidad de vida son aquellos que han creado las dinámicas adecuadas en sus sistemas de innovación, de tal forma que les ha permitido generar flujos de información y conocimiento dentro de todos los actores y un aprendizaje interactivo que les ha permitido estar a la vanguardia en competitividad de la mano de la innovación [1].

Las universidades actualmente se encuentran enfrentadas a un continuo desarrollo, a la necesidad de adaptación y cambio ya que deben proyectarse y actuar en un mundo caracterizado por la explosión del conocimiento científico y tecnológico, las innovaciones tecnológicas, la competencia a todo nivel y la rapidez del cambio en todas las áreas. Todo esto conlleva a nuevos retos, especialmente para aquellas que buscan ser instituciones innovadoras [2], que justifican y valoran el desarrollo de procesos de direccionamiento y de pensamiento estratégico, que desean mantenerse a la vanguardia del desarrollo de la ciencia y la tecnología y, que principalmente, le apuestan a la transformación de la sociedad a través de la innovación de procesos, servicios y productos, estructuras organizacionales y resultados.

En Colombia en el año 2012 habían 299 grupos de investigación en la línea de ciencias agrarias, según Colciencias; de estos, 16 en el área de Recursos Forestales e Ingeniería Forestal, 43 en Zootecnia, 14 en Recursos Pesqueros e Ingeniería de Pesca, 110 en Agronomía, 52 en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 12 en Ingeniería Agrícola y los restantes 52 en el área de Medicina Veterinaria. Las orientaciones investigativas, en el tema agroindustrial, a nivel nacional están enfocadas principalmente hacia la elaboración de productos con valor agregado y hacia el desarrollo y aplicación de nuevas tecnologías en los sectores con mayor potencial [3].

Este artículo muestra la aplicación de varias metodologías para formular una estrategia de innovación [4, 5,6] y proponer un plan de implementación [7] de la misma en un grupo de investigación en temas agroindustriales, de esta forma se espera contribuir a que los grupos, además, de continuar con su producción en I+D, aseguren que sea de mayor aplicación para la sociedad y para los sectores económicos a través de la cadena I+D+i.

MÉTODO

Se seleccionó al grupo de investigación, cuyo objeto de investigación son los temas en torno a la agroindustria, entre 52 grupos de investigación de una universidad de Medellín-Colombia. El grupo seleccionado tiene como líneas de acción: Productos naturales, Formulación y conservación de alimentos y Transformación de residuos agroindustriales. Una vez seleccionado e identificado el propósito del grupo se aplicó la metodología de estrategia de innovación de Schilling [7]:

Formulación de la estrategia

Esta fase se dividió en varias etapas:

Etapa 1. Definición de estrategias: se identificó el tipo de estrategia o direccionamiento estratégico, plan estratégico o elementos de la estrategia con que contaba el grupo de investigación y se establecieron sugerencias en cuanto a la realización de un análisis estratégico básico para determinar la posición actual del grupo y definir su planeación o direccionamiento estratégico a futuro. La metodología empleada fue el desarrollo de talleres participativos en donde el grupo de investigación definió metodologías de análisis interno y externo tales como: análisis de la cadena de valor, un análisis de sus grupos de interés y aplicación de la herramienta Metodología de Gestión Tecnológica por Proyectos MGT [8,9].

Etapa 2. Clasificación de proyectos: se utilizó la herramienta mapa de proyectos de I+D [7] con el fin de clasificar los proyectos de investigación identificados en el diagnóstico y los proyectos futuros del grupo en proyectos derivativos, de plataforma, de rompimiento y de avanzada.

Etapa 3. Formas de colaboración*:* se revisaron las formas de colaboración o alianzas que utilizó el grupo en la ejecución de sus proyectos. Luego de obtener una información clara y detallada por parte del grupo, se explicaron y sugirieron algunos elementos clave o buenas prácticas que el grupo debía tener en cuenta en la escogencia de futuras formas de colaboración.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (177-184) Julio - Diciembre 2014

Etapa 4. Mecanismos de protección de la innovación: esta etapa fue realizada bajo la metodología de talleres. El grupo de investigación revisó las maneras o formas de protección utilizadas en sus proyectos y resultados.

Plan para la implementación de la estrategia de innovación

Etapa 1. Organización para la innovación*:* se analizó y se evaluó la estructura organizacional y el grado en el que son utilizados por el grupo de investigación los procedimientos y controles formales y estandarizados. Además, se explicó la estructura de una organización con I+D+i centralizada y descentralizada en productos/servicios y procesos y se solicitó que definieran en cuál de ellas o en que combinación de las mismas se encontraba enmarcado el grupo de investigación y la forma en que podría continuar trabajando.

Etapa 2. Gestión del proceso de desarrollo de nuevos productos/servicios: se propusieron algunas herramientas al grupo de investigación para la generación de productos/servicios, en especial la metodología STAGE-GATE o Etapa - Puerta [10].

Etapa 3. Estructura de equipos de desarrollo: se analizaron los diversos factores que afectan el desempeño de los equipos de desarrollo de proyectos, incluyendo el tamaño, composición, estructura, administración y liderazgo. Con base en la clasificación de proyectos que presentó el grupo de investigación, se propuso una forma de estructurar los equipos teniendo en cuenta la clasificación en: funcionales, peso liviano, peso pesado y autónomos [11] y especialmente la relación de los proyectos del Mapa de I+D+i previamente generado en el grupo con cada una de las estructuras de los equipos de desarrollo.

Etapa 4. Despliegue de la estrategia: se propuso una estrategia de despliegue a través del uso de curvas en S [7, 12,13] la cual permitirá conocer los ciclos de innovación y tomar mejores decisiones sobre la difusión de las innovaciones [14].

RESULTADOS

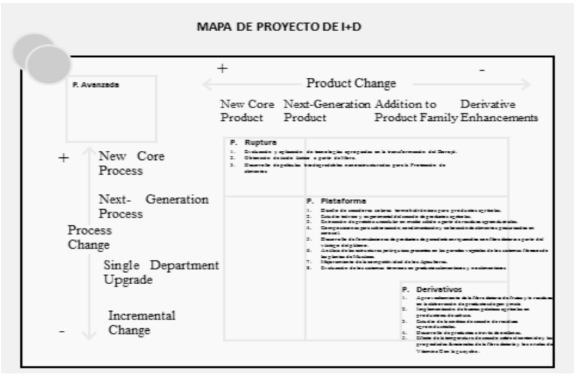
Formulación de las estrategias

Etapa 1. Definición de estrategias. En esta etapa, se aplicaron con el grupo herramientas claves para la definición de su plan o direccionamiento estratégico, entre estas están: Cadena de valor [15], Análisis de stakeholder[7] y la herramienta Metodología de Gestión Tecnológica por proyectos – MGT, la cual permitió diagnosticar la tecnología y el nivel de innovación que tenía el grupo en dos cuestionarios: Perfil tecnológico con 20 preguntas sobre 4 M's de la tecnología – Machines, methods, Management and Money, y el Perfil innovador con 50 preguntas sobre los componentes de innovación en producto/servicio, proceso, organizacional y mercado [8]; de esa forma se pudo plantear un plan de acción por objetivos, estrategias y proyectos sobre las brechas encontradas en los perfiles, el cual permitirá establecer como política en el grupo cada cierto tiempo un plan o direccionamiento claro de investigaciones e innovaciones que no solo revise los servicios que éstos pueden prestar si no que ayude a gestionar su tecnología y las dimensiones de la innovación. El plan estratégico de investigación propuesto plantea estrategias que apuntan a generar capacidades de innovación en el grupo, a implementar metodologías de gestión tecnológica y, sobre todo, a establecer relaciones con grupos de interés para la realización de proyectos de gran impacto.

Etapa 2. Clasificación de proyectos. En la figura 1 se presenta el mapa de proyectos generado por el grupo.

Se puede observar que el grupo de investigación no presenta proyectos de avanzada y de los 16 proyectos reportados el 50% pertenecen a proyectos de plataforma, el 31% a proyectos derivativos y el 19 % a proyectos de ruptura. Los resultados apuntan a que es necesario pensar en un redireccionamiento en los tipos de proyectos, con el fin de que se logre un equilibrio con los proyectos de rompimiento o ruptura, plataforma y derivativos.

Figura 1. Mapa de proyecto I+D+i del Grupo de investigación en agroindustria.



De acuerdo con el mapa de proyectos, es importante que exista un balance de proyectos que le permiten al grupo pensar en dar continuidad a su estrategia a largo plazo, por un lado los proyectos de avanzada y ruptura le garantizarían nuevos desarrollos, productos y servicios, por otro lado los proyectos derivativos con bajo grado de incertidumbre le garantizarán al grupo continuar con publicaciones, ponencias e impacto de docencia en pregrado. Es importante garantizar que las estructuras de equipos de desarrollo "pesos pesados" y "autónomos" estén presentes para desarrollar los proyectos de avanzada y ruptura.

El grupo debe anticiparse y tener en cuenta en su estrategia la forma en la que va a garantizar la existencia y permanencia de investigadores "Senior" para que las ideas para proyectos de avanzada y ruptura se materialicen y tengan continuidad en el tiempo.

Etapa 3. Formas de colaboración. El análisis de la información arrojada por el grupo reportó que en un proyecto utilizan más de una forma de colaboración (cuadro 1).

El análisis estadístico arrojó que el grupo de investigación utiliza con mayor frecuencia en sus proyectos las alianzas estratégicas, seguido de una organización colectiva de investigación. Se han identificado aspectos importantes a tener en cuenta para la actividad y para la proyección del grupo de investigación, tales como:

- Las alianzas estratégicas permiten la unión de recursos complementarios para un proyecto en particular o pueden permitir la transferencia de capacidades entre los socios.
- El licenciamiento es una forma rápida de acceder a una tecnología, pero ofrece pocas oportunidades para desarrollar nuevas capacidades de innovación.

Cuadro 1. Tabla de frecuencia relativa.

Estrategias de colaboración	Frecuencia relativa	Frecuencia acumulada
Desarrollo solo	14,29%	14,29%
Alianza estratégica	42,86%	57,14%
Joint Ventures	0,00%	57,14%
Licensing In	0,00%	57,14%
Licensing Out	0,00%	57,14%
Outsourcing	9,52%	66,67%
Organización de investigación colectiva	33,33%	100,00%

- La excesiva dependencia del outsourcing puede hacer que el grupo de investigación no genere ninguna capacidad ni fortalezca las existentes.
- Aumentar alianzas estratégicas con grupos o redes de investigación de carácter internacionales.
- Evidenciar en su plan estratégico cómo acceder a licenciamiento In.
- Pensar en el trabajo por medio de organizaciones colectivas de investigación para proyectos grandes o arriesgados.
- Tener en cuenta la teoría de los sistemas de innovación y sus formas de articulación, universidad líder, CDT líder o entidad de interfaz líder, empresa líder, prioridad del gobierno e incubadoras para escoger formas de colaboración.
- Es necesario tener claro las fortalezas de los grupos de interés, antes de elegir la forma de colaboración para cada proyecto.
- El desarrollo de mecanismos de control es necesario para asegurar que los socios entiendan sus derechos y deberes.
- Hacer preguntas claves, enel marco de un proyecto o una alianza, como: ¿Cuáles fueron las ventajas y desventajas de colaboración frente a las formas utilizadas?

Etapa 4. Protección de la innovación. En esta etapa se identificó que el grupo de investigación no presenta ninguna forma de protección a sus proyectos y se pudo concluir que no conoce a fondo las formas de proteger la innovación, ni posee los recursos suficientes para acceder a ellas. Teniendo en cuenta estos resultados se le plantearon al grupo unos factores que debe considerar en la formulación de su estrategia de protección.

- Establecer las diferencias entre proteger la innovación y difundirlos y decidir cuál es el mejor camino a seguir.
- Implementar la metodología canadiense de transferencia de tecnología y mecanismos de protección a proyectos [16]. Esta metodología facilita el proceso de toma de decisiones en una organización con el fin de seleccionar la ruta más apropiada para la transferencia de tecnología de instituciones y unidades que se dedican a la investigación.

Plan para la implementación de la estrategia de innovación

Etapa 1. Organización para la innovación. El grupo de investigación reconoce que su forma de organi-

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (177-184) Julio - Diciembre 2014

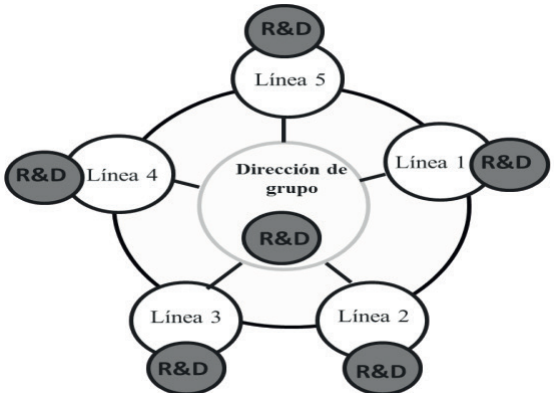
zación es centralizada, aunque se maneja líderes por cada una de las líneas que son objeto de su estudio, ya que sus proyectos de investigación y de transferencia, principalmente, son canalizados a través de un líder que es el director o coordinador del grupo.

Como sugerencia, y basados en las mejores prácticas de organizaciones innovadoras [7], se sugiere fortalecer la organización en donde se combinen la forma centralizada para productos/servicios nuevos o mejorados y la forma descentralizada para procesos, para que logre apalancar los desarrollos, investigaciones e ideas que se generan en cada departamento, en este caso línea de investigación. En la figura 2, se puede observar una propuesta para la estructura organizacional del grupo.

Como análisis adicional es importante aclarar que no existe una estructura organizacional más adecuada o menos adecuada para el cambio tecnológico, sin embargo, organizaciones exitosas en innovación han utilizado una mezcla de los dos tipos de estructura, centralizada y descentralizada al mismo tiempo, traducido a los grupos esto quiere decir que puede presentarse una centralización de ciertos servicios y productos y que definitivamente debe existir una descentralización por línea de investigación o área temática en otros servicios y especialmente en procesos.

Etapa 2. Gestión del proceso de desarrollo de nuevos productos / servicios. Se sugiere al grupo que implemente la metodología StageGate la cual permite desarrollar ideas innovadoras con una metodología estructurada y clara, controlar el avance y alineación de los proyectos, unificar el lenguaje, entregables y

Figura 2. Propuesta de organización para grupos.

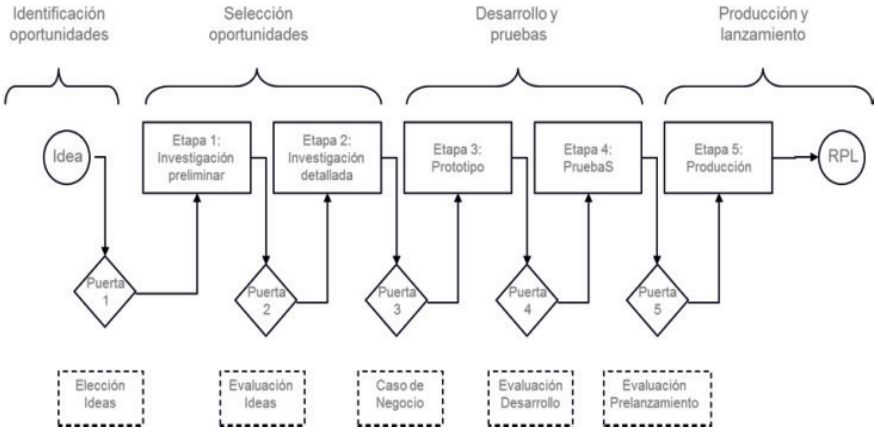


Fuente. Adaptado de Schilling, 2010.

criterios de selección de los proyectos, realizar un trabajo interdisciplinario y colaborativo y reducir el riesgo en los proyectos de innovación.

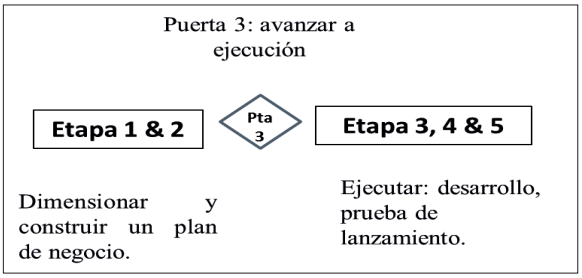
En cuanto al grupo de investigación, y de acuerdo al tipo de estructura de equipos más representativa (peso liviano), existen limitaciones en cuanto al tiempo de ejecución de proyectos, a esto se suma la existencia de modelos de gestión y certificación ISO que cargan a los grupos de labores administrativas; por lo anterior y de acuerdo a los tipos de State Gate [10], el grupo puede implementar una de cinco etapas para proyectos de avanzada y ruptura, que estén relacionados con innovaciones radicales y para los proyectos derivativos y de plataforma que tienen que ver con innovaciones incrementales un Stage Gate de dos etapas. De acuerdo con lo usado en centros de investigación la posible estructura de esos dos tipos de State Gate se muestra en las figuras 3 y 4:

Figura 3. State gate cinco puertas (SG completo).



Fuente. Cooper, 1993.

Figura 4. State gate dos puertas (SG light).



Fuente. Cooper, 1993.

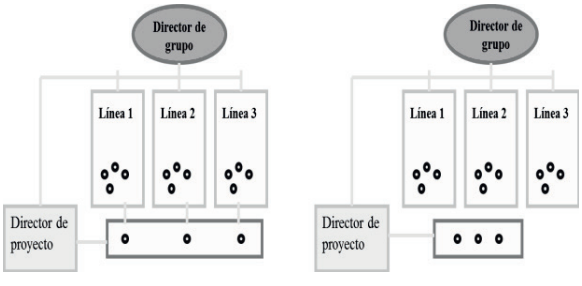
Etapa 3. Estructura de equipos de desarrollo. El grupo definió que su estructura de equipo de desarrollo es de peso liviano ya que están representados por una persona de enlace de cada área funcional o jefes de línea, generalmente gestionados por una persona de nivel medio o junior (coordinador o director del grupo), además, cumplen con algunas características como: Agrupación por disciplinas, las diferentes áreas o líneas realizan el proyecto a la par de sus actividades normales y el director del proyecto es el encargado de coordinar las diferentes funciones y actividades.

Se sugiere al grupo establecer una estructura de acuerdo al tipo de proyecto, es decir, para proyectos derivativos Estructura de Equipo Peso Liviano y para proyectos de ruptura/avanzada y de plataforma, Estructura Equipo Peso Pesado (figura 5).

Etapa 4. Despliegue de la estrategia. Schiling [7] propone varios acercamientos al despliegue o implantación de la estrategia, se sugirió al grupo que estudie, analice y revise la conveniencia de aplicar la metodología de Curvas en S, con base en los indicadores de los grupos.

Las Curvas en S [12] es una metodología que permite el análisis de la difusión de las innovaciones y de sus ciclos, tomando como variable dependiente alguno de

Figura 5. Propuesta de equipos de desarrollo de proyectos del grupo.



los parámetros de desempeño de innovación (eficiencia, ventas, número de usuarios, cantidad producida, entre otras), al graficar dicho parámetro acumulado en el tiempo se obtiene una curva en S. De esta forma se facilita el análisis del ciclo de la innovación del producto o servicio (CI) lo que permite tomar decisiones estratégicas sobre la implementación de innovaciones incrementales o radicales del producto. Sin embargo, cabe destacar que para lograr mayor impacto en el proceso de toma de decisiones de las empresas innovadoras es importante tener en cuenta analizar series de tiempos de mínimo 30 datos.

Los parámetros de desempeño sugeridos para los grupos y centros de investigación son:

- Número de patentes acumuladas.
- Números de usuarios de un servicio o producto acumulados.
- Porcentaje de penetración de mercado de un servicio o producto acumulado.
- Eficiencia acumulada en el tiempo (fruto del uso de un producto o servicio de un grupo o adaptación de un proceso del grupo).
- Número de artículos científicos acumulados sobre un tema específico.
- Capacidad de un dispositivo acumulado.
- Numero de citas acumuladas en el tiempo.

CONCLUSIONES

El grupo de investigación objeto de estudio, no cuenta con una estrategia de innovación definida o por lo menos no está madura ni explicita para ser aplicada en sus proyectos y garantizar en un mayor grado de certeza, que puedan ser catalogados como innovadores en producto, servicio y procesos.

Herramientas como MGT, Cadena del valor y Análisis de grupos de interés permiten que los grupos de investigación evalúen tanto su entorno interno como externo, logrando establecer un plan estratégico de investigaciones claro.

Establecer metodologías como el mapa de proyectos de I+D permite que los grupos de investigación apunten a generar ideas encaminadas a la realización de proyectos de avanzada.

El grupo de investigación no aplica formas de protección de la innovación de acuerdo con las meto-

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (177-184) Julio - Diciembre 2014

dologías para formular e implementar estrategias de innovación, con los estudios de caso de organizaciones innovadoras y con las características de las universidades innovadoras. El grupo debe comprender que proteger implica asegurar cuotas de retorno generados por sus innovaciones de producto/servicio, proceso, y que difundir promueve la tecnología acelerando su desarrollo y difusión.

El grupo, para generar sus ideas, realiza un proceso convencional de reuniones y análisis, esta investigación propone el Stage-Gate como estrategia para llevar las ideas de una forma segura hasta la validación comercial factor importante para determinar el éxito de una organización, este proceso permite que los grupos de investigación decidan si los proyectos son de suma importancia o no.

Cambiar la estructura de peso liviano del grupo permite mejoras en la generación de ideas y que sus procesos de desarrollo resulten efectivos. Tener un número considerable de miembros en un equipo de trabajo permitirá que se generen diversos puntos de vista y diferentes recursos para la ejecución de una propuesta. Trabajar de acuerdo al tipo de proyecto permitirá que los grupos experimenten menos problemas a la hora de ejecutar sus proyectos.

REFERENCIAS

[1] LISTERRI, J. y PIETROBELLI, C. Los sistemas Regionales de Innovación en América Latina. New York (USA): Banco Interamericano de Desarrollo, 2011, 123 p.

[2] BURTON, C. Creando universidades innovadoras: estrategias organizacionales para la transformación. México D.F. (México): Miguel Angel Porrua, 2000, 276 p.

[3] MONSALVE, L. Identificación de los retos de la investigación en agroindustria en el Departamento de Antioquia como elementos para el direccionamiento estratégico del grupo de investigación agroindustrial [Tesis Ingeniero Agroindustrial]. Medellín (Colombia): Universidad Pontificia Bolivariana, Facultad de Ingeniería Agroindustrial, 2012,118 p.

[4] ZARTHA, J.W., OROZCO, G.L., VERGARA, J. y MARTÍNEZ, D. Diagnóstico de Estrategia de Innovación en Grupos de Investigación. Journal of Technology Management and Innovation JOTMI, 2011, 6(3), p. 196-206.

[5] EROSA, V. y ARROYO, P. Administración de la tecnología: nueva fuente de creación de valor para las organizaciones. México D.F (México): Limusa, 2007, 266 p.

[6] TIDD, J. and BESSANT, J. Managing Innovation. Integrating Technological, Market and Organizational Change. 4 ed. West Sussex (England): Jhon Wiley and Sons, 2011, 638 p.

[7] SCHILLING, M. Strategic management of technological innovation. 4 ed. New York (USA): McGraw – Hill, 2012, 336 p.

[8] ZARTHA J.W y QUINTERO, S. Modelo Tecnológico por Proyectos: caso de aplicación. Medellín (Colombia): Universidad Pontificia Bolivariana, 2008, 254 p.

[9] GONZÁLEZ, J. Aplicación de la herramienta metodología de gestión tecnológica a 10 empresas de TI de la región metropolitana [Tesis Licenciatura en organización y gestión tecnológica]. Santiago de Chile (Chile): Universidad de Santiago de Chile, Facultad Tecnológica, 2011.

[10] COOPER, R. and EDGETT, S. Lean, Rapid and Profitable New Product Development. 1 ed. Canada: BookSurge Publishing, 2005.

[11] BURGELMAN, A. Strategic management, Integrating Technology and Strategy: a general Management Perspective. 5 ed. McGraw–Hill, 2009. 5(1), p.4.

[12] PÉREZ, C. El cambio tecnológico y las oportunidades de desarrollo como blanco móvil. Revista de la CEPAL, 2001, 75, p. 115-136.

[13] ZARTHA, J.W., AVALOS, A.F., AGUILAR, S. y CASTRILLÓN, F. Metodología para la medición de innovaciones tecnológicas aplicada a empresas del Sector agroindustrial. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 2009, 7(2), 2009, p. 89-98.

[14] FENN, J. and RASKINO, M. Mastering the hype cycle. How to choose the right innovation at the right time. Boston (USA): Gartner Inc., Harvard Business Press, 2008, 238 p.

[15] PORTER, M. Estrategia competitiva: técnicas para el análisis de los sectores industriales y de la competencia. México D.F. (México): Compañía Editorial Continental, 1996, 395 p.

[16] BELINKO, K., PATERSON, M. and DESCHATELETS, C. A Technology Transfer Decision Framework for Publicly Funded Research Organizations [online]. Available:http://www.fptt-pftt.gc.ca/pdf/tech_transfer_framework_e.pdf **[**Citado 15 de diciembre de 2012].

RELACIÓN ENTRE LOS USOS POPULARES DE LA GRANADILLA (*Passiflora ligularis Juss*) Y SU COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA

RELATIONSHIP BETWEEN THE FOLK USES OF THE GRANADILLA PLANT (*Passiflora ligularis Juss*) AND ITS PHYTOCHEMICAL COMPOSITION

RELAÇÃO ENTRE OS USOS POPULARES DO GRANADILLA (*Passiflora ligularis Juss*) E SUA COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA.

Luz Marina Carvajal-De Pabón[1], Sandra Turbay[2], Lizeth Marelly Álvarez[3], Adalberto Rodríguez[4], Julie Maritza Alvarez[5], Karla Bonilla[6], Sara Restrepo[7], Marisol Parra[8]

RESUMEN

Este artículo reporta los usos populares de la Passiflora ligularis juss entre los campesinos del departamento del Huila y los resultados preliminares sobre su composición fitoquímica. En la primera etapa de esta investigación se hizo un inventario de los usos que los agricultores hacen de distintas partes de la planta con base en una encuesta etnobotánica realizada a 42 familias. Este conocimiento

---

Recibido para evaluación: 6 de noviembre de 2011. **Aprobado para publicación:** 18 mayo de 2014

1 Universidad de Antioquia. Magister en Ciencias Agrarias. Medellín, Colombia.
2 Universidad de Antioquia, Grupo de investigación Medio Ambiente y Sociedad. Doctora en Ciencias Sociales (Antropología social y etnología), Profesora. Medellín, Colombia.
3 Universidad de Antioquia, Grupo de investigación Medio Ambiente y Sociedad. Magister en Antropología. Medellín, Colombia.
4 Centro de Investigación para la Gestión Tecnológica de Passiflora del Departamento del Huila (CEPASS). Ingeniero Agrónomo. Neiva, Colombia.
5 Universidad de Antioquia. Magister en ciencias farmacéuticas y alimentarias: alimentos. Medellín, Colombia.
6 Universidad de Antioquia. Ingeniera de alimentos.
7 Universidad de Antioquia. Profesional en Ciencia y Tecnología de alimentos. Medellín, Colombia.
8 Centro de Investigación para la Gestión Tecnológica de Passiflora del Departamento del Huila (CEPASS). Ingeniera agrícola. Neiva, Colombia.

Correspondencia: lcarvaja@une.net.co

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (185-196) Julio - Diciembre 2014

popular sirvió de punto de partida para seleccionar los análisis cualitativos básicos que permitieran identificar la actividad biológica de esta especie como la marcha fitoquímica, el análisis bromatológico y el análisis de minerales. Se encontraron 26 usos populares especialmente medicinales y alimenticios. Algunos usos medicinales podrían estar relacionados con la presencia cualitativa de compuestos hallados en la marcha fitoquímica. El empleo de la cáscara de granadilla para nutrición animal se encontró justificado por su aporte en calorías y en fibra. El estudio destaca el aporte de la pulpa de la fruta como fuente de magnesio para los niños menores de un año. Se encontraron diferencias significativas en la composición de la pulpa de granadilla de tres municipios debido a las condiciones agroecológicas y a la nutrición mineral a las que son sometidas las plantas.

ABSTRACT

This article reports the common uses of the Passiflora ligularis juss among the farm workers in the department of Huila and the preliminary results of its phytochemical composition. In the first phase of this investigation, an ethnobotany survey distributed among 42 families was consulted to create an inventory of the agricultural uses of the different parts of the plant. This information served as a starting point to select the basic qualitative analysis which allows the identification of biological activity of this species such as the phytochemical analysis, the bromatological analysis, and the mineral analysis. Twenty six common uses were discovered especially for medical and nutritional purposes. Some medicinal uses may be related to the qualitative presence of compositions found in the phytochemical analysis. The use of the grenade's outer shell for animal nutrition was found to be justified based on the calories and fiber. This study highlights the finding that the pulp of the fruit is a source of magnesium for children younger than a year. Significant differences were found in the composition of the grenade's pulp of three different areas due to agroecological conditions and the mineral nutrition that the plants receive.

PALABRAS CLAVE:
Etnobotánica, Compuestos bioactivos, Alimentos funcionales, Plantas medicinales.

KEY WORDS:
Ethnobotany, Bioactive compositions, Functional food, Medicinal plants.

PALAVRAS CHAVES:
Etnobotânica, Compostos bioativos, Alimentos funcionais, Plantas medicinais.

RESUMO

Este artigo apresenta os usos populares de Passiflora ligularis juss entre os agricultores familiares do departamento de Huila e os resultados preliminares sobre sua composição fitoquímica. Na primeira etapa desta pesquisa realizou-se um inventario dos usos que os agricultores fazem de distintas partes da planta com base em uma entrevista etnobotânica realizada a 42 famílias. Este conhecimento popular serviu de ponto de partida para selecionar as análises qualitativas básicas que permitiram identificar a atividade biológica desta espécie como a evolução fitoquímica, a análise bromatológica e a análise dos minerais. Encontrou-se 26 usos populares especialmente medicinais e alimentícios. Alguns usos medicinais poderiam estar relacionados com a presença qualitativa de compostos conforme a evolução fitoquímica. O emprego da casca de granadilla para nutrição animal se justificou por seu aporte em calorias e em fibras. O estudo destaca a contribuição da polpa da fruta como fonte de magnésio para as crianças menores de um ano. Encontraram-se diferenças signifi-

cativas na composição da polpa de granadilla em três municípios devido as condições agroecológicas e a nutrição mineral a que são submetidas as plantas.

INTRODUCCIÓN

La familia de las pasifloráceas está compuesta por 12 géneros distribuidos por todo el mundo. El género de las pasifloras es el mayor y cuenta con alrededor de 400 especies conocidas [1]. La mayoría son enredaderas y tienen interés ornamental o económico. En Colombia se han registrado 141 especies de esta familia, divididas en tres géneros; 48 de estas especies son endémicas y 45 son exclusivamente andinas [2]. Las especies de mayor interés comercial, por sus frutos comestibles, son la granadilla (*P. ligularis* Juss.), la maracuyá (*P. edulis*), la badea (*P. quadrangularis*), la cholupa (*P. maliformis*), la gulupa (*P. edulis* Sims.) y la curuba (*P. mollisima*). *P. ligularis* Juss es originaria de los Andes suramericanos y todavía se encuentran ejemplares de su forma silvestre en algunas regiones. Se extiende desde México hasta el norte de Argentina en altitudes comprendidas entre los 1700 y los 2600 msnm, con temperaturas entre los 15 y los 18ºC y precipitaciones anuales entre los 2000 mm y los 2500 mm, bien distribuidas en todos los meses; crece bien en suelos sueltos, aireados, ricos en materia orgánica, con pH entre 5,5 y 6,5 y humedad relativa entre 60 y 80% [3,4].

Entre los factores que favorecen la exportación de frutas tropicales y sus derivados hay que señalar, en primer lugar, la demanda creciente por jugos de frutas tropicales en Europa. Adicionalmente, se ha expandido el mercado de alimentos procesados que tienen componentes biológicos activos que favorecen la salud o que tienen efectos fisiológicos deseables, más allá de los que ofrece la nutrición básica. Colombia es el principal exportador de granadilla a nivel mundial y el departamento del Huila es el principal productor de esta fruta a nivel nacional [5]. Sin embargo, los productores colombianos todavía no cumplen con los estándares exigidos por los mercados de muchos países, no tienen un buen manejo de los problemas fitosanitarios, generan impactos ambientales negativos, desconocen el valor nutricional y las ventajas competitivas que podría tener su fruta en el mercado de alimentos funcionales y no han desarrollado alianzas significativas con la universidad y la industria para el diseño de nuevos productos.

Durante la última década investigadores de diversos países han estudiado aspectos biológicos y agronómicos de las pasifloras [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12]. Otros han explorado su composición química, sus efectos medicinales, sus propiedades nutricionales y su potencial para el desarrollo de productos alimenticios y farmacéuticos [13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20]. Finalmente algunos han analizado el mercado de las frutas y de los derivados de estas especies [21, 22]. En Colombia la investigación sobre este género se ha concentrado en el área de la agronomía [3, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29], de la genética [30, 31] y, en menor medida, en los campos de la etnobotánica, la química, la nutrición y la ingeniería de alimentos [1, 32, 5, 33, 34, 35, 36, 37].

Este artículo se propone analizar la composición fitoquímica preliminar de diferentes partes de la planta de la granadilla, *Passiflora ligularis juss*, a partir de análisis de laboratorio seleccionados después de inventariar los usos reportados por los campesinos del departamento del Huila, situado sobre la cordillera de los Andes, al sur de Colombia; estos usos se relacionan con la oferta agrícola en la región y la disponibilidad de recursos técnicos para su aprovechamiento. Los resultados de esta investigación pueden servir como insumo para el diseño de nuevos productos, para el fortalecimiento de la seguridad alimentaria y la diversificación de la economía campesina. Esta investigación se considera como una fase exploratoria que ofrece un aporte a la caracterización de los productos autóctonos nacionales para futuros desarrollos funcionales.

MÉTODO

La recolección de la información en campo estuvo a cargo de un ingeniero agrónomo y una antropóloga, quienes visitaron, durante el 2009 y el 2010, 42 familias con cultivos de *Passiflora ligularis* Juss en los municipios de Palestina, Garzón, Gigante, Íquira, La Argentina y Nátaga, del departamento del Huila, al sur de Colombia. Las fincas visitadas se encuentran ubicadas entre los 1800 y 2200 msnm. La mayor parte de las parcelas no superaban las dos hectáreas y ninguna sobrepasaba las seis hectáreas. Durante las visitas se realizaron recorridos por los cultivos y las zonas aledañas donde se tuvo en cuenta la dinámica de las poblaciones vegetales descritas por los campesinos, el número de individuos por unidad de área, la tasa de reproducción y la productividad de *Passiflora ligularis*. Además se hicieron entrevistas abiertas

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (185-196) Julio - Diciembre 2014

y semi-estructuradas que fueron sistematizadas por medio de software para investigación cualitativa Atlas. ti para su posterior análisis. En ellas se hizo énfasis en los conocimientos locales, las creencias y los usos de la especie.

La colecta etnobotánica se hizo siguiendo la propuesta de Martín [38] con algunas modificaciones, las cuales consisten en elegir la localidad y la población vegetal y enseguida determinar la parte de la planta que se colectaría; el material es prensado entre hojas de papel periódico y debe representar lo mejor posible las características morfológicas de la especie. También se hace una descripción de los rasgos ecológicos de la planta en su estado natural teniendo en cuenta el olor, color, sabor, tamaño, textura de las hojas, del tallo y los frutos ya que éstos se pierden luego de ser colectadas. Este método incluye anotaciones de los nombres locales, formas de vida, usos y preparaciones, datos sobre la persona que proporciona la información, zona ecológica a la cual pertenece, tipo de cultivo, tamaño de la parcela, uso de insumos agrícolas, control de plagas y usos locales de distintas partes de la planta.

Al tiempo que se obtenía la información etnobotánica, se enviaban muestras de los frutos, las hojas, las flores, cogollos y bejucos de las plantas cultivadas por cada productor entrevistado, a los laboratorios de Química Farmacéutica de la Universidad de Antioquia y de Ciencias de los Alimentos de la Universidad Nacional de Colombia (Sede Medellín), donde se hizo la marcha fitoquímica y el análisis bromatológico. Es importante resaltar que la marcha fitoquímica es importante para la realización de estudios posteriores; el análisis cualitativo no es una evidencia concluyente, porque la presencia de algunos metabolitos puede dar resultados falsos positivos. Este análisis fitoquímico se realizó mediante las siguientes pruebas cualitativas, todas por triplicado:

- Reacción de cloruro férrico para compuestos fenólicos (CF).
- Reacción de proteínas para taninos (TA).
- Reacción de Shinoda para flavonoides (FL).
- Reacción de Rosenheim para leucoantocianidinas (LE).
- Reacción de Kedde para compuestos lactónicos (CA).
- Método de espuma para saponinas (SA).
- Reacción Liebermann-Burchard para triterpenoides y/o esteroides (TE).
- Reacción de Borntranger para quinonas (QU).
- Reacción de fluorescencia (CU).
- Reacciones de Mayer, Valser, Reineckato de Amonio y Dragendorff para alcaloides (AL).

Se les determinó el contenido de humedad sometiendo a temperaturas entre 100 y 105ºC en estufa de aire, teniendo como referencia el método gravimétrico oficial No. 966.02 de la Association of Official Agricultural Chemists AOAC International.

Las cenizas se determinaron sometiendo las muestras a temperatura de 550ºC +/- 10ºC hasta combustión completa según el método directo AOAC internacional 923.03.

El extracto etéreo (grasa), se determinó sometiendo las muestras secas a reflujo con solvente orgánico en condiciones determinadas, con posterior eliminación del solvente y determinación gravimétrica del residuo, siguiendo el método Soxhlet 920.39 del AOAC internacional.

La fibra cruda se analizó por tratamiento de muestras secas y desengrasadas con soluciones ácida y alcalina diluidas y posterior calcinación del residuo insoluble según el método oficial AOAC internacional 962.09.

Los resultados de proteína cruda se obtuvieron de multiplicar el contenido de nitrógeno determinado por el procedimiento Kjeldahl, por el factor de transformación en proteína 6,25 método AOAC internacional 920.87.

La fibra dietaria total (F.D.T) se analizó tanto por el método enzimático-gravimétrico 993.21 adoptado por la AOAC internacional, en el cual duplicados de las muestras son suspendidas en agua e incubadas a 37ºC durante 90 min; posteriormente los componentes de la fibra dietaria solubles fueron precipitados con etanol al 95%, el residuo fue lavado secuencialmente con etanol al 78%, al 95% y acetona para luego ser secadas a 105ºC. En uno de los duplicados se analizó la proteína cruda y el otro las cenizas.

Para la determinación de fibra dietaria insoluble (F.D.I) se aplicó el mismo método descartando la precipitación de la fibra soluble en alcohol según el método 991.43G del AOAC internacional y para la determinación de la dietaria soluble (F.D.S) se trató igual la muestra pero retirando el residuo insoluble según el método 991.43H del AOAC internacional.

Los carbohidratos se calcularon a partir de los componentes de la siguiente manera: (100 - %Humedad

- %Proteínas - %Grasa - %Cenizas). Las calorías se calcularon a partir de a partir de los componentes de la siguiente forma: Calorías= (4 x %Carbohidratos) + (4 x %proteínas) + (9 x %grasa).

RESULTADOS

Usos de la granadilla, reportados por los productores del Huila (cuadro 1).

Marcha fitoquímica

En la marcha fitoquímica se obtuvo presencia positiva para compuestos fenólicos en flores y hojas, leucoantocianidinas en bejucos y triterpertenos o esteroides en hojas. (cuadro 2)

El uso reportado por los agricultores del cogollo de granadilla en infusión tranquilizante puede estar relacionado con la presencia de alcaloides; los agricul-

Cuadro 1. Usos de *Passiflora ligularis Juss* reportados por agricultores del Huila.

No.	Uso local	Parte de la planta	Estado	Modo de uso	Vía
1	Descongestionante nasal	Flor	Jóvenes	Se huele la flor cuando se abre en las mañanas	Aspiración
2	Para la tos	Flor	Jóvenes	Infusión	Vía oral
3	Para la tos de los bebés de tres meses en adelante	Fruto	Maduro	El jugo se cocina y se le adiciona miel de abejas	Vía oral
4	Gripa	Fruto	Maduro	Jugo	Vía oral
5	Regula la digestión	Fruto	Maduro	Jugo	Vía oral
		Fruto	Maduro	Consumo del fruto	Vía oral
		Hoja	Jóvenes	Infusión	Vía oral
		Cogollo (yema terminal)	Jóvenes	Infusión	Vía oral
6	Antidiarréico	Hoja	Jóvenes	infusión	Vía oral
		Fruto	Maduros	Se extrae el zumo sin semilla	Vía oral
		Flor	Maduras	Infusión	Vía oral
		Bejuco.	Joven	Infusión	Vía oral
7	Gastritis	Fruto	Madura	Consumo de fruta sin semilla en la mañana y en la noche.	Vía oral
8	Úlcera	Fruto	Maduro	Consumo sin semillas	Vía oral
9	Insomnio y tranquilizante	Fruto	Maduro	Consumo	Vía oral
		Cogollos	Jóvenes	Infusión	Vía oral
		Flor	Maduras	Infusión	Vía oral
10	Controlar ataques epilépticos	Flor	Maduras	Infusión	Vía oral
11	Alivia las contusiones	Cogollos	Jóvenes	Infusión y Cataplasma	Aplicación superficial
		Hoja	Jóvenes	Cataplasma	Aplicación superficial
12	Controla la presión arterial	Fruto	Maduro	Consumo de dos frutos en ayunas	Vía oral
13	Controla los síntomas del guayabo	Fruto	Maduro	Jugo	Vía oral
14	Crecimiento de los niños	Fruto	Maduro	El jugo	Aplicación superficial en articulaciones

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (185-196) Julio - Diciembre 2014

Continuación Cuadro 1.

15	Papcias (Paperas)	Hoja	Joven	La hoja se perfora con una aguja y se le adiciona aceite de almendras	Aplicación superficial en el are a del cuello
16	Produce estreñimiento	Fruto	Maduro	Consumo de más de 15 unidades	Vía oral
17	Curación de hernias	Bejuco.	Tallo de la planta en crecimiento	Se hace un corte longitudinal de por lo menos un metro. La idea es que quepa una persona. Posteriormente se hace pasar la persona de lado a lado del bejuco abierto tres veces; posteriormente se amarra el bejuco con una cabuya o hilo y en la medida que la planta sane, se va curando la persona.	Uso externo.
18	Consumo	Fruto	Maduro	Fruta fresca	Comestible
19	Alimento de bebés y niños en edad escolar	Fruto	Maduro	Se consume fresco habiendo retirado las semillas con un colador	Comestible
20	Elaboración de postres	Fruto	Maduro	Elaboración de tortas	Comestible
		Fruto	Maduro	Esponjado	Comestible
		Fruto	Maduro	Elaboración de compotas que regulan el estreñimiento de los niños.	Comestible
		Fruto	Maduro	Helado y frappé	Comestible
				Postres	Comestible
21	Elaboración bebidas	Fruto	Maduro	Jugos	Bebida.
		Fruto	Maduro	Jugo con pulpa de granadilla mezclada con piña y maracuyá	Bebida
		Fruto	Maduro	Coctel	Bebida
22	Consumo de animales	Fruto	Maduro	Alimentación de animales con fruta fresca	Comestible
		Cáscara	Madura	Se deja secar y se tritura	Comestible
23	Elaboración de abono orgánico	Fruto, hoja, tallo y flor	Desecho de cosecha	Bocachi: con miel de purga, levadura, capote de montaña y desechos de la finca.	Distribución en el suelo del cultivo
		Fruto, hoja, tallo y flor	Desecho de cosecha	Directamente al cultivo	Distribución en el suelo
24	Control fitosanitario orgánico	Flor	Madura no fecundada	Infusión	Aspersión por el cultivo
		Flor	Madura no fecundada	Sebo atrayente: Infusión con adición de proteína hidrolizada	La preparación se deposita en recipientes y se distribuyen por el cultivo.
25	Apicultura	Flor	Madura	Por las características aromáticas de las flores, se planta cerca al cultivo de abejas quienes también las polinizan.	Producción de miel de abejas
26	Para asar al carbón	Hoja	Maduras	Las hojas son usadas para asar las arepas en fogón de leña	Uso doméstico en preparación de alimentos

Cuadro 2. Resultados de marcha fitoquímica.

Metabolito secundario	Pulpa Palestina, El Roble	Flores Palestina, El Roble	Hojas Palestina, El Roble	Cogollos Palestina, Villa Macizo	Bejucos Garzón, Alto Líbano
Compuestos fenólicos	++	+ + +	+++	++	++
Cumarinas	-	+ +	-	-	++
Leucoantocianidinas	-	+ +	++	-	+++
Saponinas	-	±	+	++	-
Taninos	+	+ +	++	-	-
Flavonoides	-	+ +	-	++	+
Triterpenos y/o esteroides	++	+ +	+++	++	++
Quinonas	-	+ +	++	-	-
Alcaloides	-	-	-	++	-
Compuestos lactónicos	-	-	-	-	+

Negativo (-), Positivo (+), Muy positivo (++), Altamente positivo (+++), Dudoso (±)

tores reportaron que las flores tenían también propiedades tranquilizantes; sin embargo no se tiene el compuesto que produce este efecto.

Las hojas de granadilla fueron reportadas para aliviar contusiones; en la literatura se encuentra el reporte de la actividad anti-inflamatoria del extracto acuoso de *Pasiflora Edulis* [39].

Los flavonoides están presentes en las flores, los cogollos y los bejucos. En el Huila los campesinos reportan el uso de los bejucos como antidiarréico.

Investigaciones demuestran la eficacia de algunos flavonoides en el tratamiento de los síntomas de la diarrea [40].

La evidencia científica, indica que el consumo de frutas y hortalizas tiene un papel en el mantenimiento de la salud y la prevención de enfermedades. Algunos de estos efectos protectores pueden ser debidos a los flavonoides, que están ampliamente distribuidos en vegetales, semillas, frutas y bebidas como el vino y la cerveza. Su efecto positivo sobre la salud humana se debe a su acción antioxidante y a la eliminación de radicales libres [41].

El análisis para triterpenos y/o esteroides resultó positivo para la pulpa, las hojas, los cogollos, las flores y el bejuco. Se trata de moléculas muy abundantes en los vegetales y su clasificación se determina por el número de isoprenos que contienen: monoterpenos (dos isoprenos), diterpenos (4 isoprenos), triterpenos (6 isoprenos macromoléculas compuestas por un gran número de unidades de isopreno). Dentro de este grupo se incluyen los carotenoides y limonoides, generalmente se encuentran en los alimentos verdes, constituyen uno de los grupos más amplios de fitonutrientes. Actúan como antioxidantes protegiendo los lípidos del ataque de radicales libres [42].

Las quinonas presentes en las hojas y las flores actúan como compuestos laxantes ó purgantes según la dosis administrada, se hidrolizan en el intestino grueso teniendo acción sobre las células de la mucosa del colon. Industrialmente se usan antraquinonas como laxantes; sin embargo deben emplearse ocasionalmente ya que pueden causar dependencia. Otro tipo de quinonas se utiliza como pigmentos orgánicos proporcionan colores brillantes, normalmente rojos y amarillos, también se utilizan en tintes y reveladores fotográficos, uso que en las encuestas no se encuentra reportado. En las encuestas se registró el uso de infusiones de hojas para regular la digestión, aunque otras moléculas pueden tener el efecto digestivo incluyendo las quinonas, puede decirse que el uso que hacen de la *Passiflora ligularis* Juss en el Huila está relacionado con lo reportado en la literatura. Algunos de los agricultores también reportan el uso de la fruta de granadilla como laxante pero este estudio no arrojó resultados positivos de quinonas en la fruta.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (185-196) Julio - Diciembre 2014

Para todos los componentes de la pulpa de la granadilla la media de los valores encontrados muestra, con una confianza del 95%, que existe diferencia significativa en los datos (valor P< 0,0500). Las diferencias (cuadro 3), podrían responder a las condiciones agroecológicas de su producción, particularmente en los factores bioclimáticos para el desarrollo de las plantas (temperatura y la duración del día) y a la nutrición mineral a la que son sometidas. Se debe tener en cuenta que el nitrógeno se incorpora a las plantas en forma de aminoácidos; el fósforo, absorbido en forma de iones de fosfato inorgánico monovalente, se acumula en las regiones meristemáticas y su deficiencia retarda la maduración de las plantas; y el potasio actúa como un cofactor de muchas enzimas del metabolismo de carbohidratos y proteínas [43].

Análisis bromatológico de la cáscara de granadilla

Los resultados que arroja el análisis bromatológico de la cáscara de granadilla (cuadro 4), se pueden relacionar con el uso local de la misma para el consumo de animales. Este desecho de cosecha puede aportar a la dieta de animales 374,86 calorías/kg y 4,37% de proteína, teniendo en consideración que simultáneamente se está agregando una ingesta significativa de fibra bruta (50,77%).

López *et al.* [1] indican que la semilla también podría usarse en alimentación animal por su contenido en proteína y grasa. En un estudio realizado en el Ecuador (44) se halló que una dieta para ovinos que incluyera un 15% de cáscara de maracuyá era más económica que una dieta comercial y producía mejor peso final. La fibra en la cáscara de maracuyá reportada en ese estudio era inferior a la fibra presente en granadilla del Huila y la proteína era ligeramente superior.

Composición de minerales

El peso total de una granadilla puede variar entre 80-140 g (NTC 4101, 1997), el rendimiento de este producto como pulpa es aproximadamente del 35%, lo que indica que la parte comestible varía entre 28–59 g. La ingesta diaria de magnesio, recomendada para niños menores de un año varía entre 35-70 mg [45].

El aporte de magnesio por el consumo de una fruta de granadilla (pulpa y semilla) cultivada en el departamento del Huila, municipio de Palestina, puede ser de 5,6–11,8 mg de magnesio y el aporte de una granadilla silvestre, encontrada en el mismo municipio (vereda el Pato), variaría entre 8,4–17,7 mg de magnesio, por lo tanto, una fruta proveniente de un cultivo comercial proveería hasta el 24 % de las recomendaciones de consumo diario de magnesio en niños menores de un año, si consumiese la fruta entera (pulpa y semilla); considerando que el uso local recomendado es de solo pulpa, este aporte de magnesio sería menor; de la misma manera la granadilla silvestre aportaría hasta un 50,57 % de estas necesidades, si el consumo fuera de fruta y semilla. En estas condiciones, la pulpa de granadilla califica como alimento fuente de magnesio para niños menores de un año; "El magnesio es un mineral importante ya que hace parte de los huesos y dientes, participa en la activación de enzimas, en la estimulación nerviosa y en los procesos de contracción muscular" [46, p: 131]

Cuadro 3. Resultados de la composición de la pulpa de granadilla en tres municipios del Huila

Municipio	Proteínas % m/m seca	Carbohidratos % m/m seca	Grasas % m/m seca	Cenizas % m/m seca	FDT % m/m seca	Humedad % m/m seca	Kcal/100 g
Palestina	2,06[a]	21,17[c]	0,14[b]	0,95[a]	10,76[c]	75,78[a]	93,22
Argentina	2,72[b]	18,68[b]	0,17[a]	0,96[a]	9,37[b]	77.60[c]	85,95
Iquira	3,51[c]	15,48[a]	0,09[c]	1,02[b]	9,01[a]	76,96[b]	76,12
P-Valor	0,0000	0,0000	0,0000	0,0085	0,0000	0,0000	ND
Referencia*	2,20	23,38	0,70	0,80	10,4	72,93	97,00

*Los datos publicados fueron tomados de la base de datos de *USDA National Nutrient Database for Standard Reference Copyright © 2008 by U.S. Department of Agriculture.*

Numerales a,b,c) iguales indican grupos homogéneos

Cuadro 4. Análisis bromatológico de la cáscara de granadilla.

Parámetro analizado	Unidad	Cáscara seca, fruta de palestina
humedad	%	2,29
cenizas	%	4,52
grasa total	%	0,42
proteína total	%	4,37
carbohidratos	%	88,40
fibra bruta	%	50,77
calorías	kcal/1000 g	374,86

El consumo diario recomendado de zinc para niños menores de un año es 3 mg, el aporte de zinc de la granadilla procedente de un cultivo comercial en el departamento del Huila, municipio de Palestina, se encuentra entre 0,04–0,07 mg. El aporte de zinc es inferior al 2,3% de las necesidades de un niño menor de un año [45[. La granadilla silvestre proveniente de la vereda El Pato del mismo municipio, presenta un contenido de zinc entre 0,11–0,23 mg, esto indica que una granadilla silvestre puede suplir menos del 7,6 % del requerimiento diario. Con los datos logrados, no es posible validar el uso como aportes nutricionales del jugo de granadilla en niños menores de un año comparando sus aportes con los requerimientos de ingesta diaria de ZINC, de alto impacto en el desarrollo de los infantes.

CONCLUSIONES

Las entrevistas a 42 productores permitieron registrar 26 usos de la granadilla. Algunos de ellos ya habían sido reportados en otros países, como el aprovechamiento de las flores para el control de ataques epilépticos; el uso del jugo de la fruta para el control de la presión arterial, como tranquilizante e inductor del sueño, además de poseer propiedades digestivas y diuréticas; el empleo de las hojas para desinflamar y de las frutas para la producción de abono orgánico. Otros usos registrados en esta investigación no figuraban en la bibliografía revisada: inhalar las flores como descongestionante nasal; tomar jugo de la fruta para combatir la tos en niños, aliviar los síntomas de la deshidratación, de la gripa y el malestar general después del consumo de alcohol, y el uso de las hojas mezcladas con aceite de almendras para favorecer el proceso des inflamatorio de las paperas.

La marcha fitoquímica demostró la presencia de metabolitos cuya actividad es tranquilizante en los cogollos de la planta; esto puede relacionarse con el uso local

Cuadro 5. Composición de minerales.

Minerales	Unidades	Fruto (jugo y semilla) cultivado. Palestina, El Paraíso		Fruto silvestre, (jugo y semilla). Palestina, Rionegro, el Pato		***Referencia En pulpa	*Referencia En pulpa	Cáscara. Palestina, El Paraíso	
		Base Seca**	Base Húmeda**	Base Seca	Base Húmeda			Base Seca	Base Húmeda
Magnesio	%	0,12	0,02	0,15	0,03	0,03	0,03	0,1	0,10
Potasio	%	0,91	0,17	2,09	0,40	0,35	0.48	2,49	2,43
Sodio	%	0,08	0,02	0,08	0,02	0,03	0,02	0,07	0,07
Zinc	ppm	13	2,48	39	7,43	100	79		
Fósforo	%					0,07		0,13	0,13
Calcio	%					0,01		0,15	0,15
Cobre	ppm					86		8	7,82
Hierro	ppm					1600		105	102,60

* Recomendaciones de consumo diario de calorías y nutrientes para la población colombiana. ICBF. 1988

** Los valores dependen de la presencia de humedad en el alimento

***Los datos publicados fueron tomados de la base de datos de USDA National Nutrient Database for Standard Reference Copyright © 2008 by U.S. Department of Agriculture

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (185-196) Julio - Diciembre 2014

de los mismos para preparar una bebida tranquilizante. También se hallaron flavonoides en las hojas y en los cogollos lo cual puede explicar el uso local como desinflamatorio y el empleo de las hojas y cogollos en bebidas antidiarréicas. Los triterpenos están presentes en pulpa, hojas, cogollos, frutas, bejucos y flores.

El análisis bromatológico de la cáscara de granadilla respalda el uso local de la misma para la alimentación animal por su alto contenido de carbohidratos y de fibra. El estudio mostró variaciones significativas en la cantidad de carbohidratos de la pulpa de granadilla cultivada en tres municipios, pero son similares los valores de proteínas, grasas, cenizas, fibra dietaria total y humedad. Al comparar estas pulpas de granadilla cultivada con la pulpa de granadilla silvestre se halló que las diferencias no son significativas estadísticamente.

Finalmente, se encontró que la granadilla es una buena fuente de magnesio para niños menores de un año, porque el contenido de este mineral equivale al 24% de las recomendaciones de consumo diario de magnesio en niños menores de un año, si consumiese la fruta entera (pulpa y semilla).

Cabe resaltar que los estudios realizados sobre la composición de la fruta tienen un carácter preliminar. Es necesario continuar las investigaciones usando metodologías cuantitativas y determinando los metabolitos secundarios para obtener conclusiones más contundentes.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo financiero de la Universidad de Antioquia, del Ministerio de Agricultura, de la Corporación Centro de Investigación para la Gestión Tecnológica de Passifloras del Departamento del Huila (CEPASS), del Grupo Asociativo de Trabajo Agroindustrial Illari y de la Secretaría de Agricultura y Minería del Huila. Este estudio contó con el apoyo del Proyecto de Sostenibilidad de Grupos de Investigación 2013-2014 financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Antioquia concedido al Grupo de Investigación Medio Ambiente y Sociedad (MASO). Nuestro reconocimiento a todos los productores de los municipios de Palestina y Jericó que generosamente compartieron sus conocimientos con el equipo de investigadores y a los evaluadores anónimos de la revista por sus correcciones y aportes.

REFERENCIAS

[1] LÓPEZ, M.A., BELTRÁN, M.C., CARDONA, J.E. y YEPES, H. F. La fruta de la pasión, potencial contribución de la naturaleza a la seguridad alimentaria. Investigación Andina, XX(8), 2006, p. 57-66.

[2] HERNÁNDEZ, A. y BERNAL, R. Lista de especies de Passifloraceae de Colombia. Biota Colombiana, 1(3), 2000, p. 320-335.

[3] RIVERA, B., MIRANDA, D., ÁVILA, L. A. y VIELA, A.M. Manejo integral del Cultivo de Granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.). Manizales (Colombia): Editorial Litoa, 2002, 130 p.

[4] COLOMBIA. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Censo piloto de las principales frutas promisorias y agroindustria en seis municipios del departamento de Cundinamarca y dos municipios del departamento de Boyacá. Bogotá (Colombia): Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Dane, Asohofrucol, Fondo Nacional de Fomento Hortofrutícola, Sisac, 2003, 33 p.

[5] PARRA-MORERA, M., AGUILERA, W., ESCOBAR-TORRES, RUBIANO-ZAMBRANO, A. y RODRÍGUEZ CARLOSAMA. Agenda prospectiva de investigación. La cadena productiva de granadilla en el departamento del Huila. Bogotá (Colombia): Corporación Cepass Huila, 2011, 166 p.

[6] MADEIROS, K.M., PIEADEKILL, C., FEITOSA, I., BORGES, S., PITOMBEIRA, E. e DE ARAUJO, F. Ecologia da polinização do maracujá-amarelo, na região do vale do submédio são Francisco. Revista Brasilera de Fruticultura, 31(1), 2009, p. 1-12.

[7] GELAPE, F., VILELA, N.T. e FIDELES, M. Maracujá, germoplasma e melhoramento genético. Brasilia (Brasil): Embrapa Cerrados, 2007, 676 p.

[8] GELAPE, F., VILELA, N.T., JUNQUEIRA, M. e FIDELES, B. Caracterização de Germoplasma e melhoramento genético do Maracujazeiro Assistidos por Marcadores Moleculares: resultados de pesquisa 2005-2008. Brasilia (Brasil): Boletin de Pesquisa e Desenvolvimento, N. 207, Embrapa Cerrados, 2008, 58 p.

[9] YOCKTENG, R., and NADOT, S. Phylogenetic relationships among Passiflora species based on the glutamine synthetase nuclear gene expressed in chloroplast (ncpGS). Molecular Phylogenetics and Evolution, 31, 2004, p. 379–396

[10] MAGALHÃES, M., PALOMINO, T.N., SANTANA, M., GONZAGA , P. and PIO, A. Flow cytometric

analysis of genome size variation in some *Passiflora* species. Hereditas, 141, 2004, p. 31-38
[11] MUSCHNER, V.C., LORENZ, A.P., CERVI, A.C., BONATTO, S.L., SOUZA, T.T., SALZANO, F.M. and FREITAS, L.B.. A first molecular phylogenetic analysis of Passiflora (*Passifloraceae*). American Journal of Botany, 90(8), 2003, p. 1229-1238
[12] FRANCO, O., TOBAR, QUIJANO, R., GONZÀLEZ, A. y HUERTA. Caracterización preliminar de frutas de granada china (*Passiflora ligularis* Juss) en Hueyapan y Teziutlán, Puebla. Ciencia Ergo Sum, 15(1) p. 54-60.
[13] CASS, H. y COTT, J. Herbal Medicine. Handbook of complementary and alternatives therapies in mental health. 1 ed. Estados Unidos: Academic Press, Inc., 2002, p. 377-401
[14] DHAWAN, K., DHAWAN, S. and SHARMA, A. Passiflora: a review update. Journal of ethnopharmacology, 94, 2004, p. 1-23
[15] FIEBICH, B., KNÖRLE, R., WEISS, G. and Mc GREGOR, G. In vitro and in vivo evidencie of synergy between Hypericumand Passiflora in antidepresant pharmacological models. Olanta Mèdica, 76 (12), 2010, p. 644
[16] FRISANCHO, O. Impactación fecal de pepas de granadilla (*Passiflora ligularis*). Enfermedades del Aparato Digestivo, 5(4), 2002, p. 30-31.
[17] VASCO, C., RUALES, J. and KAMAL, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. Food chemistry, 111, 2008, p. 816-823
[18] WEISS, G., APPEL, K., ROSE, T. and KAMMLER, T. Effects of Passiflora incarnate L. on rat hippocampal 6 proten-coupled receptors (6PCRs). Planta Medica, 76(12), 2010, p. 606
[19] BOUZBOUZ, S. and COSSY, J. Enantioselective allytitanations: synthesis of proposed structures for passifloricin A. Tetrahedron Letters, 44, 2003, p. 4471-4473.
[20] AVULA, B., WANG, Y.H., RUMALLA, C.S., SMILLIE, T.J. and KHAN. I.A. Determination of alkaloids and flavonoids from Aerial Parts of *P. incarnata*, varios species and Dietary Supplements containing P. incarnata using UPLC-UV-MS and HPTLC Methods. Planta Medica, 76(5), 2010, p. 23.
[21] GUTIÉRREZ, M.A., DUQUE, A., CÁCERES, A. y BETACOURT, Y. El mercado potencial de ocho plantas medicinales latinoamericanas. Palmira (Valle): II Seminario Nacional y IV Internacional de plantas medicinales y aromáticas, 2004, 32 p.
[22] DUARTE, L., MAGALHÃES, L.E., CÂMARA, A.C., ANTUNES, A. WAGNER, A. e HORST, C. Custo de Produçao e rentabilidade do maracujazeiro no mercado agroindustrial da zona da mata mineira. Revista Brasileira de Fruticultura, 31(2), 2009, p. 397-407
[23] OCAMPO, J. y WYCKHUYS, K. Mejoramiento genético participativo de la granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) en Colombia. Neiva (Colombia): Memorias Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora, 2010, p. 2.
[24] POSADA, P., OCAMPO, J., GUILLERMO, L., DEBOUCK, D. y SCHELDEMAN, X. Estrategias para la conservación de semillas en tres especies cultivadas del género *Passiflora* L. en Colombia. Neiva (Colombia): Memorias Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora, 2010, p. 7.
[25] CARDENAS, J., CARRANZA, C., MIRANDA, D. y MAGNITSKIY, S.. Efecto del ácido giberélico y el despunte apical sobre la viabilidad y germinación de las semillas de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) bajo diferentes condiciones de luz y temperatura. Neiva (Colombia): Memorias Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora, 2010, p. 8.
[26] OCAMPO, J., POSADA, P., MEDINA, J., JARVIS, A. y VAN ZONNEVELD. M. Definición de zonas agroecológicas para mejorar los sistemas de producción del maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) y gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) en Colombia. Neiva (Colombia): Memorias Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora, 2010, p. 60.
[27] WYCKHUYS, K. Acercamientos multidisciplinarios para promover el manejo integrado de plagas en gulupa (*passiflora edulis* Sims.), granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) y maracuyá (*Passiflora edulis* f. flavicarpa) en Colombia). Neiva (Colombia): Memorias Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora, 2010, p. 67
[28] OSPINA, R., MEDINA, J., RAMÍREZ, R., NATES, G., AMAYA, M., MELO, D. y ÁNGEL, C. Eficiencia de las abejas polinizadoras de los cultivos de gulupa (*Passiflora edulis* Sims.) y granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) en Buenvaista-Boyacá, Colombia. Neiva (Colombia): Memorias Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora, 2010, p. 70
[29 SANDOVAL, A., FORERO, F. ZAPATA, Y. y PARRA, M. Caracterización de frutos de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.), maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) y cholupa (*Passiflora maliformis* L.). Neiva (Colombia): Memorias Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora, 2010, p. 110
[30] MARQUEZ, M.P., SOLANO, G., MORENO, J., FONSECA, N. y CASTAÑEDA, C. Caracterización de

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (185-196) Julio - Diciembre 2014

la diversidad genética de materiales cultivados de *Passiflora ligularis* Juss. Y *Passiflora edulis* Sims. Neiva (Colombia): Memorias Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora, 2010, p. 4

[31] SOLANO, G., MÁRQUEZ, M.P. y SCHULER, I. Optimización de la extracción de ADN de *Passiflora ligularis* para el análisis por medio de marcadores moleculares. Universitas Scientiarium, 14(1), 2009, p.16-22

[32] LÓPEZ, L.F., GONZÁLEZ, D., GÓMEZ, J.A. y ALBARRACÍN, C. Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de plantas aromáticas, medicinales, condimentarias y afines con énfasis en ingredientes naturales para la industria cosmética en Colombia. Bogotá (Colombia): Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Instituto Alexander von Humboldt, Universidad Nacional de Colombia y Cámara de Comercio de Bogotá, 2009, 182 p.

[33] MOGOLLÓN, M., PARRA, A., HERNÁNDEZ, J. y ACUÑA, J. Estudio fisiológico de la poscosecha de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) bajo dos condiciones de almacenamiento. Neiva (Colombia): Memorias Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora, 2010, p.108

[34] CARVAJAL, L.M., TURBAY, S., ÁLVAREZ, L., RODRÍGUEZ, A., ÁLVAREZ, M., RESTREPO, S., BONILLA, K. y PARRA, M. Identificación, valoración y uso potencial de las pasifloras del Huila. Neiva (Huila): Memorias Primer Congreso Latinoamericano de Passiflora, 2010, p.11

[35] TURBAY, S., CARVAJAL, L.M., ALVAREZ, L., RODRÍGUEZ, A., PARRA, M., BONILLA, K., RESTREPO, S. y ÁLVAREZ, M. Usos potenciales de las pasifloras del departamento del Huila para el impulso de proyectos productivos innovadores. Bogotá (Colombia): VII Seminario Internacional de Desarrollo Rural, Pontifica Universidad Javeriana, 2011 , p. 15.

[36] JIMÉNEZ, A.M., SIERRA, C.C., RODRÍGUEZ, F.J., GONZÁLEZ, M.L., HEREDIA, F.J. and OSORIO, C. Psycochemical characterisation of gulupa (*Passiflora edulis* Sims. fo *edulis*) fruit from Colombia during the ripening. Food Research International, 14(7), 2011, p. 1912-1918.

[37] LETERME, P., BULDGEN, A., ESTRADA, F. y LONDOÑO, A.M. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. Food Chemistry, 95, 2006, p. 644-652

[38] MARTIN, G. Etnobotánica. Pueblos y Plantas. Manual de conservación. Montevideo (Uruguay): Fondo Mundial Para la Naturaleza (WWF-UK), Organización de Naciones Unidas para la Educación, la Ciencias y la educación. (UNESCO), Royal Botanic Gardens, Kew, Reino Unido. Editorial Nordan Comunidad, 1997, 711 p.

[39] BENINCÁA, J.P., MONTANHERNEXT, A.B., ZUCOLOTTOB, S.M., SCHENKELB, E.P. and FRÖDEA, T.S. Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of *Passiflora edulis*. Food Chemistry, 104, 2007, p. 1097-1105.

[40] DE SOUSA, T.A., LEAL, N. and CAVALCANTI, E.L. A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from the local knowledge. Journal of Ethnopharmacology, 120, 2008, p. 72–80.

[41] MARTÍNEZ, S., GONZÁLEZ, J., CULEBRAS, J.M. y TUÑON, M.J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria, XVII (6), 2002, p. 271-278,

[42] QIONG, C., MIN, Z., HONG, J. and ZHI, Y. Ganoderma applanatum terpenes protect mouse liver against benzo(α) pyren-induced oxidative stress and inflammation. Environmental toxicology and pharmacology, 31, 2011, p. 460-468

[43] SALISBURY, F. y ROSS, C. Fisiología vegetal. México, D.F (México): Grupo Editorial Iberoamérica-na S.A., 1994, 759 p.

[44] BERMEO, R.E. Comportamiento productivo de borregas mestizas alimentadas con dietas en base a banharina y cáscara de maracuyá [Tesis en ingeniería zootecnista]. Chimborazo (ecuador): Escuela Superior Politécnica de la Provincia Chimborazo, 2005.

[45] INSTITUTO COLOMBIANO DEBIENESTAR FAMILIAR (ICBF). Recomendaciones de consumo diario de calorías y nutrientes para la población colombiana. Bogotá (Colombia): ICBF, 1988, 1 p.

[46] NABRZYSKI, M. Functional Role of Some Minerals in Foods. En: NRIAGU, J. O Y SZEFER, P. Mineral Components in Foods. Boca Raton (USA): CRC Press, 2007, p.123-1

Artículo Estado de Arte

EL GUANDUL (*Cajanus cajan*) UNA ALTERNATIVA EN LA INDUSTRIA DE LOS ALIMENTOS

PIGEON PEA (*Cajanus cajan*) AN ALTERNATIVE IN THE FOOD INDUSTRY

GUANDU (*Cajanus cajan*) UMA ALTERNATIVA NA INDÚSTRIA DOS ALIMENTOS

Carmen Lucia Navarro V.[1], Diego Restrepo M.[2], Jaime Perez M.[3]

RESUMEN

Debido a la situación actual de nutrición inadecuada en la población de muchos países, entre ellos Colombia, es necesario ofrecer alternativas de fuentes ricas en proteínas y de bajo costo. El guandul (Cajanus cajan) es una importante leguminosa que contiene una moderada cantidad de proteínas, calorías, ciertos minerales y vitaminas, su uso en alimentos es limitada por la presencia de factores antinutricionales, que pueden ser disminuidos o eliminados mediante la implementación de tratamientos. Las proteínas del guandul presentan buena calidad y propiedades funcionales adecuadas para la industria de alimentos que pueden ser aprovechas en productos cárnicos, lácteos y panadería. El propósito de esta revisión es presentar una visión general de las habilidades nutricionales, propiedades funcionales y oportunidades de aplicación del guandul en diversas aplicaciones en la industria de alimentos.

ABSTRACT

Due to the current situation of inadequate nutrition in the population of many countries, including Colombia. Search sources rich in proteins and low-cost alternatives. The pigeon pea (Cajanus cajan) is an important legume that contain a mo-

Recibido para evaluación: 5 de julio de 2012. **Aprobado para publicación:** 3 febrero de 2014

1 Ingeniera de Alimentos, Magister en ciencia y tecnología de alimentos.
2 Profesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias.
3 Profesor asistente, Universidad de Cartagena. Facultad de Ingenierías.

Correspondencia: c_lucianavarro@yahoo.com

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (197-206) Julio - Diciembre 2014

derate amount of protein, calories, vitamins and minerals, its use in foods is limited by the presence of anti-nutritional factors, which can be reduced or eliminated through the use of treatments. The proteins have functional properties that can be take advantage in meat, dairy and bakery products. The purpose of this review is to present an overview of the skills nutritional and functional properties of pigeon pea application opportunities in various applications in the food industry.

RESUMO

Devido à situação atual da nutrição inadequado na população de muitos países, entre eles Colômbia, é preciso procurar alternativas de fontes ricas em proteínas e baixo custo. O Guandul (cajan do Cajanus) é uma leguminosa importante que contem uma quantidade moderada de proteínas, calories, minerais e vitaminas, seu uso na alimentação é limitado pela presença dos fatores antinutricionais, alem estes fatores podem ser diminuídos ou eliminados por meio de tratamentos adequados. As proteínas têm propriedades funcionais que podem ser utilizadas em produtos cárneos, láteos e de padaria. O objetivo desta revisão é apresentar uma visão geral das propriedades nutricionais e funcionais habilidades de pombo oportunidades de aplicação de ervilha em várias aplicações na indústria de alimentos.

PALABRAS CLAVE:
Guandul, *Cajanus cajan*, Propiedades funcionales, Nutrición, Proteínas.

KEYWORDS:
Pigeon Pea, *Cajanus cajan*, Functional properties, Nutrition, Proteins.

PALAVRAS-CHAVE:
Guandu, *Cajanus cajan,* Propiedades funcionais, Nutricion, Proteinas

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años en Colombia, se presentan situaciones de inseguridad alimentaria, debido a la crisis alimentaria que se manifiesta en las diferentes regiones del país, la mayor inferencia se encontraron en los departamentos de la región Atlántica y región Pacífica [1]. Se hace necesario buscar alternativas altamente nutricionales que aporten a la población una mejor alimentación a un bajo costo. Dentro de las fuentes alimenticias se encuentran las leguminosas, las cuales contienen altos cantidades de proteínas (18-32%), además de proporcionar una fuente de aminoácidos esenciales, péptidos bioactivos y propiedades funcionales, mejorando la estabilidad, textura y la calidad nutricional que podría ampliar su uso potencial en el desarrollo de una amplia variedad de productos alimenticios [2, 3, 4].

El guandul (*Cajanus cajan*), conocido según la FAO [5] como Guandú, frijol de palo, guisante de paloma, gandul (Pigeon pea, red gram, dahl) o quinchoncho, es una leguminosa multipropósito de alto valor nutritivo, cultivada en países de Asia, África, Islas del caribe y sur América [6]. Se siembra de manera intensiva y en forma asociada con otros cultivos en pequeñas superficies, comercializándose los granos secos durante todo el año [7]. Son una rica fuente de proteínas, almidones, fibra y fitonutrientes bien adaptados para satisfacer las demandas de consumidores preocupados por su salud [8, 9], pueden usarse las semillas enteras, descortezadas o en harina, también como forraje y abono verde [10], su potencial se debe a que es un cultivo económico y de alto valor proteico [11]. Este artículo tiene por objetivo revisar y discutir los recientes trabajos sobre composición químí-

ca, factores antinutricionales, usos y propiedades funcionales que pueden ser aprovechadas en la industria de los alimentos.

DESARROLLO DEL TEMA

Calidad química y nutricional

El guandul es una leguminosa que ocupa un importante lugar en la dieta de muchas personas en Asia, África y Sur América, tiene baja concentración de grasa, moderada cantidad de fibra, buena cantidad de proteína, almidones y un razonable balance de los minerales esenciales de toda dieta [12, 13], es también una fuente rica en carbohidratos, minerales y vitaminas [14]. La calidad nutricional de los granos descascarillados de las variedades rojas y blanca contienen grasas, fibras, ácidos grasos esenciales y componentes de vitamina E (tocoferoles y trazas de tocotrienoles) [15]. Estudios en Colombia acerca de la composición nutricional y química del guandul son mostrados en el cuadro 1 y su comparación con el grano de soya [16].

Varios autores han determinado la composición nutricional y química de semillas de guandul cruda, los resultados son presentados en el cuadro 2, las variaciones en la composición proximal se deben a la variedad de la semilla, etapa de madurez, tipo de suelo y condiciones climáticas que pueden haber afectado los parámetros físico – químicos en el cultivo [17].

Cuadro 1. Composición nutricional del guandul y la soya.

Contenido en 100 g de parte comestible		
Descripción	**Soya**	**Guandul**
Calorias, cal	422	336
Humedad, g	9,5	14
Proteina, g	31	19,5
Grasa, g	16,1	1,4
Carbohidratos, g	38,1	61,4
Cenizas, mg	5,2	3,7
Calcio, mg	210	100
Fósforo, mg	500	400
Hierro, mg	8,9	5,2
Vitamina A, UI	40	90
Tiamina, mg	0,77	0,61
Rivoflabina, mg	0,15	0,10
Niacina, mg	2,2	2
Ácido ascórbico, mg	9	4

Ref. [16]

Cuadro 2. Composición química y nutricional semillas crudas

Paámetro	Autores		
	Butt y Batool [17]	**Akemnde *et al.* [18]**	**Etonihu *et al.* [19]**
Humedad (%)	11,07±0,5		6,49
Proteína seca (%)	22,01±1,00	21,03	18,65
Grasa cruda (%)	2,03±0,09	4,43	1,80
Fibra cruda (%)	8,19±0,37	7,16	10,27
Cenizas (%)	3,96±0,18	3,76	4,92
NFE (%)	63,80±2,90		57,87

Ref. [17, 18 y 19]

Otros estudios sobre la composición química de las semillas de guandul determinaron un contenido de proteínas del 20 al 22% [20].

Los perfiles de aminoácidos de las semillas crudas y cocidas de guandul son presentadas en el cuadro 3. Indicando que algunos aminoácidos (arginina, ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutámico, glicina, alanina, leucina y tirosina) son generalmente estables al calor. Las concentraciones de otros aminoácidos (lisina, histidina, prolina, cisteína, valina, metionina, isoleucina y fenilalanina) disminuyen con tratamientos con calor. Las proteínas de guandul son una rica fuente de aminoácidos esenciales como lisina, valina, treonina y fenilalanina pero por lo general son deficientes en el contenido de aminoácidos azufrados como cisteínas y metionina [18, 19, 21, 22]

El valor biológico de las proteínas depende de la composición de aminoácidos [23], las proteínas están formadas por aminoácidos (AA) y cada proteína tiene un número distinto de AA y en distinta proporción [24]. Akinhanmi *et al*., [25] estudiaron la fracción proteica de diferentes leguminosas y mostraron que el guandul está constituida en mayor proporción por globulinas 10,8± 0,5 g/100 g, albúminas 6,5±0,8 g/100 g, prolamina 0,3±0,0) g/100 g, glutelina ácida 0,2±0,1 g/100 g y glutelina alcalina 8,3±0,2 gr/100 g.

Usos del guandul

Se consume en forma de granos cocidos, guisos, arroces y dulces, representando una fuente econó-

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (197-206) Julio - Diciembre 2014

Cuadro 3. Perfiles de Aminoácidos de semillas crudas y cocidas de guandul (g/16 g N).

Aminoácidos	Semillas	
	Crudas	Cocidas
Lisina	7,79	7,55
Histidina	3,66	2,88
Arginina	5,86	6,18
Ác. Aspártico	11,56	12,20
Treonina	3,12	3,28
Serina	3,59	3,31
Ác. Glutámico	9,23	14,21
Prolina	3,17	3,16
Glicina	3,07	3,36
Alanina	3,79	4,06
Cisteína	1,19	0,69
Valina	5,85	4,87
Metionina	1,19	0,89
Isoleucina	3,47	2,73
Leucina	6,78	7,23
Tirosina	2,63	2,86
Fenilalanina	6,15	5,54
Triptófano	ND	ND

ND: NO DETERMINADOS

Ref. [18]

mica de proteínas, carbohidratos, fibra dietética, minerales y vitaminas principalmente las del grupo de las B [26, 27]. Entre los principales usos del guandul se encuentran:

Alimentación Humana. Como alimento humano, las semillas de guandul pueden ser usadas en diferentes formas [14]; en la India se consumen rodajas de cotiledones pelados de semillas de guandul cocidas para hacer *dalh* (sopa espesa) para comer con pan y arroz (figura 1(a); mientras en el sur y este de África y Sur América son usadas semillas secas enteras (figura 1(b). Las semillas pueden ser cosechadas en estado verde, usadas como vegetales frescos, congelados o enlatados, Figura 1(c) [6]. Por otra parte, la harina de guandul es usada como aditivo para otros alimentos como sopas y arroz [28] y una fuente ideal de suplementación de proteína para alimentos ricos en almidones como la yuca [29]. Es un excelente componente en la industria de snack, ha sido recomendado como un ingrediente para incrementar el valor nutricional de pastas afectando las propiedades sensoriales [13, 22]; teniendo buena aceptabilidad en la extensión de la sémola con harinas de leguminosas en la elaboración de pastas [30] y mejorando la calidad de la proteína [12]. En la industria de biscochos la sustitución de harinas de trigo por guandul incrementa los niveles de proteína y fibra, afectando la calidad sensorial [31].

Alimentación Animal. Las semillas se aprovechan como pienso para el ganado. El guandul puede ser usado como proteína suplementaria en la dieta diaria de vacas afectando la producción de leche, materia seca y ambiente ruminal [32]. La dieta a base de semillas de guandul cocidas para conejos machos favoreció el crecimiento óptimo de los cuerpos, peso de los órganos características testiculares a un nivel de inclusión del 20% [33].

Potencial como Planta Forrajera. El potencial como forraje verde es moderado. Como leguminosa forrajera, guandul se cultiva sobre todo como suplemento proteico para la alimentación durante los períodos de pastoreo de baja calidad [34]. Silva *et al*., [35], mostraron que en dietas experimentales con base de harina de forraje de la sandía y digestibilidad del heno de guandul fueron satisfactorias y proporcionaron una ingesta adecuada de materia seca para satisfacer las necesidades nutricionales de los ovinos en crecimiento.

Figura 1. Usos como alimento. (a) Rodajas de cotiledones pelados (*dalh*); (b) Semillas enteras secas de guandul; (c) Semillas verdes de guandul. [6]



a b c

Usos Medicinales. Saxena *et al*., [6] reportaron la importancia de la planta de guandul en la medicina étnica la cual es bien conocida en la prevención de enfermedades humanas como la disentería, enfermedades renales, inflamación y trastornos sanguíneos.

Factores antinutricionales

Las semillas de leguminosas contienen proteínas antinutricionales y compuestos no proteicos. La presencia de estos compuestos en las plantas es siempre el resultado de la adaptación el cual permite a la planta sobrevivir y completar el ciclo de vida en condiciones naturales, a pesar de las consecuencias negativas sobre la calidad y seguridad de los productos alimenticios [36].

Las semillas de guandul contienen en general factores antinutricionales como son los inhibidores de proteasa (tripsina y quimo tripsina) inhibidor de amilasa, poli fenoles (comúnmente conocidos como taninos), lectinas, ácido fítico y α-galac-tosidos (sacarosa, rafinosa, estaquiosa y verbascosa) los cuales son un problema conocido en la mayoría de las leguminosas, en el guandul la actividad inhibitoria de la tripsina es más baja que en la soya, arveja (*Pisum sativum*) y en frijol común [13, 22, 23, 37, 38, 39, 40, 41], algunos de estos factores antinutricionales son sensibles al calor como son las fitolectinas y son destruidos durante la cocción [6]. Empleando técnicas apropiadas y efectivas pueden ayudar a reducir o eliminar los efectos adversos de estos constituyentes antinutrientes en las fuentes de proteína [42].

Efecto del procesamiento sobre la calidad nutricional del guandul

Las leguminosas contienen una moderada cantidad de proteínas, calorías, ciertos minerales y vitaminas, su uso en alimentos es limitado por la presencia de factores antinutricionales, por esto se han utilizado algunos tratamientos tecnológicos adecuados y económicos como descascarado, lavado, cocción, fermentación y germinación que buscan reducir o remover los factores antinutricionales para su uso en la alimentación humana y promover la calidad nutricional del guandul [3, 7, 13, 22, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51].

Los tratamientos térmicos impactan sobre la funcionalidad de los productos (solubilidad, propiedades emulsificantes, gelificantes, capacidad de retención de agua y aceite), promueve la calidad nutricional de las leguminosas [52] y reducen drásticamente los factores anti nutricionales [53]. El tratamiento térmico de los subproductos sirve para mejorar el sabor, aumentar el valor nutritivo e inactivar los sistemas enzimáticos naturales [54].

Tiwari *et al*., [47,48] utilizando tratamientos hidrotérmicos en guandul encontraron alta capacidad de retención de agua y grasas con una reducción de la capacidad y estabilidad espumante, resultados similares obtuvieron otros investigadores [55] quienes determinaron que el procesamiento hidrotérmico y la fermentación natural afectan las propiedades funcionales en las harinas de fríjol, obteniendo un incremento en la capacidad de absorción de agua y aceite, pero con una disminución de la capacidad y estabilidad espumante. Este hallazgo permitió a los autores señalar que estas harinas pueden ser empleadas en formulaciones de alimentos viscosos, tales como sopas, salsa, masas y productos horneados, donde se requiera una buena interacción proteína – agua y una menor capacidad espumante.

La fermentación promueve el valor nutricional del guandul, reduce los compuestos no nutritivos mientras que incrementa la densidad y biodisponibilidad de los nutrientes [22]. Martínez-Villaluenga *et al*., [12], encontraron cantidades significativamente mayores de Gli, Ala y algunos aminoácidos esenciales como son Val, Leu, Lis y Thr en guandul fermentado.

La germinación causa importantes cambios en las características bioquímicas, nutricionales y sensoriales de las semillas de leguminosas [56], en el guandul es un proceso efectivo para cambios en los parámetros químicos y nutricionales en esta leguminosa, particularmente el incremento en vitaminas B2, E y C y la reducción de antinutrientes, como son los α-galactosidos, fosfato inositol e inhibidor de la actividad de la tripsina [13, 49], además causa una disminución en el contenido de Alanina mientras que aumenta significativamente los valores de aminoácidos esenciales como Leu, Thr y Trp[12]. Sangronis *et al.,* [7], observaron cambios en las propiedades funcionales de harinas de grano germinado y sugieren su utilización en productos tales como salchichas, postres y productos horneados. Estos resultados difieren a los obtenidos por Oloyo [51] quien obtuvo un incremento en el contenido de taninos, fenoles y actividad inhibidora de tripsina de las semillas durante la germinación progresiva. Ghavidel y Prakash, [57] demostraron que la combinación del proceso de descascarado y ger-

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (197-206) Julio - Diciembre 2014

minación en las leguminosas mejoraron la calidad por el aumento de la biodisponibilidad y digestibilidad de nutrientes y reducción de antinutrientes.

Productos a base de guandul y sus propiedades funcionales

Los productos desarrollados con proteínas de guandul incluyen: harina (<65%), concentrados (>65%) y aislados (>90%), los cuales han sido estudiados para evaluar las propiedades funcionales de sus proteínas, por la importancia que representan para la industria de los alimentos y cómo influyen en las características del producto final.

Harina de guandul. Las harinas son el resultado de la molienda de semillas de leguminosa y dependiendo del tamaño de las partículas pueden ser sémolas o harinas [58]. Estudios de las propiedades funcionales de las proteínas de la harina de guandul han sido realizados por muchos autores. Castilho *et al*., [59], obtuvieron valores satisfactorios para su aprovechamiento en la industria de los alimentos en algunas propiedades funcionales, como capacidad de retención de agua (CRA) 2,0–2,1 mg/g, capacidad de absorción de aceite (CAA) 1,0–1,1 g/g y capacidad emulsificante (CE) 155,21 g aceite/g proteína. Onweluzo y Nwabugwu, [44], hallaron un CRA de 1,42–2,19 g/g para harinas sin fermentar y fermentadas.

En harinas de guandul obtenidas por secado de doble tambor rotatorio Praderas *et al*., [60], obtuvieron como resultado un producto de alta solubilidad (83,5±0,25%) y capacidad de absorción de agua (4,7±0,03 g/g), además de poseer contenidos de almidón, proteína y fibra dietara adecuados para formular alimentos instantáneos de fácil y rápida preparación. Kaur, *et al.,* [61], señalan que la harina presentó una alta CRA de (1,37-1,39 g/g), debido al contenido alto en polisacáridos, la CAA fue 0,96-0,98 g/g, propiedad gelificante del 14% y la capacidad espumante de 34,5-37,3%.

En harina de guandul cruda y procesada con diferentes tratamientos el guandul presentó resultados similares a los de las harinas de soya, permitiendo usar en la industria de alimentos donde tradicionalmente la harina de soya ha sido usada como extensor cárnico y salsas, donde la formación y estabilización de emulsiones son importantes [62]. Mizubiti *et al*., [63], obtuvieron una solubilidad de proteína del 70% a un pH de 7,5, CRA fue 1,20 g/g; CAA 0,99 g/g; indicando una baja capacidad de formación de espuma (CF) 36; la capacidad de formación de geles (CG) fue del 20% (p/v) y la estabilidad de la emulsión (EE) fue de 87,50%. Así mismo la alta solubilidad de la proteína de fríjol guandul a pH alcalino sugiere su posible aplicación en fórmulas de quesos, salsas, sopas, productos de carne molida, masas, productos de panadería y confitería. Agunbiade y Longe, [64], reportan algunas de las propiedades físico-funcionales encontradas al guandul: alta densidad, baja actividad de agua (aw) 0,65+/-0,01, capacidad de retención de agua de 103,79 (% dwb) y capacidad de absorción de aceite (% dwb) de 79,937.

Concentrados proteicos de guandul. Son preparados de harina u hojuelas desgrasadas a los cuales le son removidos los azucares solubles y otros constituyentes menores, contienen un 70% mínimo de proteína en base seca [65]. Mizubiti *et al*., [63], indicaron la posibilidad de utilizar los concentrados proteicos de guandul en formulaciones de productos cárnicos como salchichas, análogos de carne, sopas y quesos, por presentar una alta solubilidad de proteína (70%), CRA (0,87 g), CAA (1,61 g), CE 191,66 g aceite /g proteína y estabilidad de la emulsión de (96,97%), PG (12%) p/v y una baja capacidad espumante (44,7 mL).

Aislados proteico de guandul. Es la proteína más refinada que existe y se caracteriza por un contenido de proteína mínima del 90% en base seca. Así como el concentrado, el aislado se prepara a partir de harinas u hojuelas desgrasadas. Los azúcares solubles y los polisacáridos insolubles de harinas desgrasadas, se extraen durante el procesamiento para conversión en aislado [65]. La solubilidad de proteína a un pH de 7 fue 68±3,09% [17], estos resultados son inferiores a los reportados por Mwasaru *et al*., [66] quienes obtuvieron un valor de 53,4%. La CRA y CAA, de aislados proteicos de guandul presentaron una baja absorción de agua (97±4,41%) y una alta absorción de aceite (168±11,72%) [17], estos valores son inferiores en la CRA por los presentados por Abdel *et al*., [20] y superior para la CAA que fueron 250,3% y 130% respectivamente, posibilitando el usos de los aislados proteicos de guandul en productos de panadería y cárnicos.

La actividad emulsificante del aislado proteico de guandul observada por Abdel *et al*., [20], fue de 120% a un pH 4,5 y una actividad estable, que no es afectada por los tratamientos de calor, este valor es superior a los presentados por Butt y Batool, [17], los cuales fueron 49,50±3,00% y una estabilidad de la emulsión de 83,30±5,04%, estos valores están en concordan-

cia con los reportados por Mwasaru *et al*., [66], quien calculó una actividad emulsificante y una estabilidad para el guandul de 39,5 y 44,98% respectivamente.

Capacidad espumante y estabilidad: Las propiedades espumantes son usadas como indicadores de las características de los aislados proteicos [40]. El máximo incremento de espuma (170%) fue observado a un pH de 3,0, indicando la posibilidad de su uso en sistemas alimentarios para promover la textura y mostrar características como los helados de crema, productos de repostería y tortas [20], estos valores son superiores a los presentados por Butt y Batool [17], para la capacidad espumante fue 68±3,09% y una estabilidad de 71±3,23%, resultados similares presentaron Mwasaru *et a*l., [40] 34,00% y 77,80% respectivamente. Los aislados de guandul presentaron bajos valores en las propiedades gelificantes 14% [19, 40] y 16% [20] indicando la posibilidad de ser usados en quesos y otros productos lácteos.

CONCLUSIONES

Las leguminosas son una fuente rica en proteínas de origen vegetal utilizadas como alternativa en la alimentación humana. El guandul es una leguminosa que se produce en climas áridos o semiáridos, fácilmente adaptable, posee proteínas, almidones, fibra y otros componentes útiles en la alimentación y posible aplicación en la industria de alimentos. Ha sido recomendado para un balance en la dieta especialmente con cereales y vegetales ricos en almidones para mejorar la calidad nutricional.

Las proteínas del guandul presentan la calidad y las propiedades funcionales adecuadas para la aplicación en la industria de alimentos. La alta solubilidad, propiedades emulsificantes, capacidad de retención de agua y aceite, son ideales para sistemas alimenticios como: productos cárnicos, aderezos para ensaladas, productos lácteos, productos de panadería y alimentos infantiles.

REFERENCIAS

[1] INSTITUTO COLOMBIANO DE BIENESTAR FAMILIAR. Encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia: ENSIN 2010 [online] 2010. Disponible en: http://www.icbf.gov.co/icbf/directorio/portel/libreria/pdf/ResumenEjecutivoAbril-13de2011.pdf. [citado 24 mayo 2010].

[2] BOYE, J., ZARE, F. and PLETCH, A. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. Food Research international, 43, 2010(a), p. 414-431.

[3] ASGAR, M.A., FAZILAH, A., RAJEEV, N.H. and KARIM, A.A. Nonmeat Protein Alternatives as Meat Extenders and Meat Analogs. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 9, 2010, p. 513-529.

[4] MAKRI, E., PAPALAMPROU, E. y DOXASTAKIS, G. Study of functional properties of seed storage proteins from indigenous European legume crops (lupin, pea, broad bean) in admixture with polysaccharides. Food Hydrocolloids, 19, 2005, p. 583–594.

[5] ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). Cajanus cajan [online]. 2007. Disponible en: http://ecocrop.fao.org/ecocrop/srv/en/cropView?id=576. [citado 2 nov 2010].

[6] SAXENA, K.B., KUMAR, R.V. and SULTANA, R. Quality nutrition through pigeon pea: a review. Health, 2(11), 2010, p. 1335-1344.

[7] SANGRONIS, E., MACHADO, R. y CAVA, R. Propiedades funcionales de las harinas de leguminosas (phaseolus vulgaris y Cajan cajan) germinadas. Interciencias, 29(2), 2004, p. 80-85.

[8] YADAHALLY, N.S., VADAKKOT, B.S. and VISHWAS, M.P. Expansion properties and ultrastructure of legumes: Effect of chemical and enzyme pre-treatments. LWT Food science and technology, 49, 2009, p. 44-49.

[9] PETERS, M., FRANCO, L.H., SCHMIDT, A. y HINCAPIÉ, B. Especies forrajeras multipropósito; opciones para productores de Centroamérica. Cali (Colombia (Centro Internacional de Agricultura Tropical, 2003, p. 62-63.

[10] ENECHE, E.H. Biscuit-making potential of millet/pigeon pea flour blends. Plant Foods for Human Nutrition. 1999; 54: 21-27. Citado por: KAUR, M., SINGH, K., SINGH, N. Comparative study of the functional, thermal and pasting properties of flour from different field pea (Pisum sativum L.) and pigeon pea (Cajanus cajan L.) cultivars. Food chemistry, 104, 2007, p. 259-267.

[11] MARTINEZ, C., TORRES, A., FRIAS, J. And VIDAL, C. Semolina supplementation with processed lupin and pigeon pea flour improve protein quality of pasta. LWT – Food Science and technology, 43, 2010, p. 617-622.

[12] TORRES, A. FRIAS, J., GRANITO, M. and VIDAL, C Germinated Cajanus cajan seeds as ingredients

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (197-206) Julio - Diciembre 2014

in pasta products: Chemical, biological and sensory evaluation. Food chemistry, 101, 2007, p. 202-211.

[13] ODENY, D. The potential of pigeonpea (Cajanus cajan (L.) Millsp.) in África. Natural resources forum, 31, 2007, p. 297-305.

[14] JAYADEEP, P., SASHIKALA, V. and PRATAPE, V. Nutrients and certain lipid soluble bioactive components in dehusked whole grains (gota) and dehusked splits (dhal) from pigeon pea (Cajanus cajan) and their cooking characteristics. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 60(4), 2009, p. 273-284.

[15] INSTITUTO COLOMBIANO DE BIENESTAR FAMILIAR. Tabla de Composición de los alimentos Colombianos. Bogotá (Colombia): 2005.

[16] BUTT, M. and BATOOL, R. Nutritional and functional properties of some promising legumes protein isolates. Pakistan Journal of Nutrition, 9(4), 2010, p. 373-379.

[17] AKENDE, K.E., ABUBAKAR, M.M., ADEGBOLA, T.A., BOGORO, S.E. and DOMA, U.D. Chemical evaluation of the nutritive quality of pigeon pea [Cajanus cajan (L.) Millsp.] International journal of poultry science, 9(1), 2010, p. 63-65.

[18] ETONIHU, A.C., AYODELE, J.T. and IBRAHIM, M. Proximate and Amino Acid Compositions of Wheat Species of Pigeon Pea Grown in Kogi State, Nigeria. Nigerian Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 24(2), 2009, p. 32-36.

[19] AREMU, M.O., OLAOFE, O. and AKINTAYO, E.T. A comparative study on the chemical and amino acid composition of some Nigerian underutilized legume flours. Pakistan Journal of Nutrition, 5, 2006, p. 34-38.

[20] TORRES, A., FRIAS, J., GRANITO, M. and VIDAL, C. Fermented pigeon pea (Cajanus cajan) ingredients in pasta products. Journal of Agricultural and Food chemistry, 54(18), 2006, p. 6685-6691.

[21] SINGH, U. y EGGUM, B.O. Factors affecting the protein quality of pigeon pea (Cajanus cajan L.). Quality Plant Foods for Human Nutrition, 34, 1984, p. 273-283.

[22] MOYANO, S., MORENO, T. y CUBERO, J.L. Las leguminosas grano en la agricultura moderna. Madrid (España): Mundi-prensa, 2008, 318 p.

[23] AKINHANMI, T.F., AROGUNDADE, T.A., TIAMIYU, M.O., OLORUNTOBA, E. and OSINAME, B.J. Protein fractions of legumes and cereals consumed in Nigeria. ASSET serie B, 7(1), 2008, p. 54-62.

[24] DRAGO, S., GONZALES, R., CHEL-GUERRERO, L. and VALENCIA, M. Evaluation of mineral availability in cowpea flour and in maize/cowpea extruded mixtures. Información Tecnológica, 18, 2007, p. 41-46.

[25] CENTER FOR NEW CROPS AND PLANTS PRODUCTS. Cajanus cajan (L.) Millsp. Purdue University [online]. 2002 Disponible en: URL http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Cajanus_cajun.html. [citado 5 Abril 2011].

[26] AKOJA, S.S. y MOHAMMED, A.O. Evaluation of the proximate, pasting and sensory characteristics of cassava flour (Fufu) fortified with pigeon pea flour. Pakistan journal of nutrition, 10829, 2011, p. 124-128.

[27] GRANITO, M. y ASCANIO, V. Desarrollo y transferencia tecnológica de pastas funcionales extendidas con leguminosas. Archivos Latino Americanos de Nutrición, 59(1), 2009, p. 71-77.

[28] TIWARI, B.K., BRENNAN, C.S., JAGANMOHAN, R. and ALAGUSUNDARAM, K. Utilization of pigeon pea (Cajanus cajan L) byproducts in biscuit manufacture. LWT – Food Science and Technology, 44, 2011, p. 1533-1537.

[29] AKOJA, S.S. and MOHAMMED, A.O. Evaluation of the proximate, pasting and sensory characteristics of cassava flour (Fufu) fortified with pigeon pea flour. Pakistan journal of nutrition, 10(2), 2011, p. 124-128.

[30] GRANITO, M. y ASCANIO, V. Desarrollo y transferencia tecnológica de pastas funcionales extendidas con leguminosas. Archivos Latino Americanos de Nutrición, 59(1), 2009, p. 71-77.

[31] TIWARI, B.K., BRENNAN, C.S., JAGANMOHAN, R. and ALAGUSUNDARAM, K. Utilization of pigeon pea (Cajanus cajan L) byproducts in biscuit manufacture. LWT – Food Science and Technology, 44, 2011, p. 1533-1537.

[32] CORRIHER, V.A., HILL, G.M., BERNARD, J.K., JENKINS, T.C., WEST, J.W. and MULLINIX, B.G. Pigeon peas as a supplement for lactating dairy cows fed corn silage-based diets. Journal of Dairy Science, 93(11), 2010, p. 5309-5317.

[33] IHEUKWUMERE, F.C., ONYEKWERW, M.U. and EGU, U.E. Growth, Carcass and Reproductive Characteristics of Male Rabbits (Bucks) Fed Raw and Boiled Pigeon Pea Seed (Cajanus cajan) Meal. Pakistan Journal of Nutrition, 7(1), 2008, p. 17-20.

[34] WHITEMAN, P.C. and NORTON, B.W. Alternative uses for pigeon pea. ICRISAT (International

Crops research Institute For the Semi-Arid Tropics). Proceedings of the International Workshop on Pigeon Pea, 1981, p. 365-377.

[35] SILVA, R.L., ARAUJO, G., SOCORRO, E., OLIVEIRA, R., GARCES, A. e BAGALDO, A. Níveis de farelo de melancia forrageira em dietas para ovinos. Revista Brasileira de Zootecnia, 38(6), 2009, p. 1142-1148.

[36] DURANTI, M. and GIUS, C. Legume seeds: protein content and nutritional value. Field Crops Research, 53, 1997, p. 31-45.

[37] JAMBUNATHAN, R. and SINGH, U. Grain Quality of pigeon pea. ICRISAT (International Crops research Institute For the Semi-Arid Tropics). Proceedings of the International Workshop on Pigeon Pea, 1981, p. 351-356.

[38] SINGH, F. and DIWAKER, B. Nutritive value and uses of pigeon pea and groundnut. ICRISAT (International Crops research Institute For the Semi-Arid Tropics). Human resource development program, 1993, p. 1-22.

[39] OBOH, H.A., MUZQUIZ, M., BURBANO, C., CUADRADO, C., PEDROSA, M.M., AYET, G. and OSAGIE, A.U. Anti-nutritional constituents of six underutilized legumes grown in Nigeria. Journal of Chromatography. 823(1-2), 1998, p. 307-312.

[40] MWASARU, M.A., MUHAMMAD, K., BAKAR, J. and CHE MAN, Y. Effects of isolation technique and conditions on the extractability, physicochemical and functional properties of pigeon pea (Cajanus cajan) and cowpea (Vigna unguiculata) protein isolates. I. Physicochemical properties. Food chemistry, 67, 1999, p. 435-443.

[41] SINGH, R.J., CHUNG, G.H. and NELSON, R.C. Landmark research in legumes. Genome, 50, 2007, p. 525-537.

[42] AKENDE, K.E., DOMA, U.D., AGU, H.O. and ADAMU, H.M.. Major antinutrients found in plant protein sources: their effect on nutrition. Pakistan Journal of Nutrition, 9(8), 2010, p. 827-832.

[43] CHAPARRO, D.C., PISMAG, R.Y., ELIZALDE, A., VIVAS, N.J. y EERAZO, C.A. Efecto de la germinación sobre el contenido y digestibilidad de proteína en semillas de amaranto, quinua, soya y guandul. Revista Biotecnología en el sector Agropecuario y agroindustrial, 8(1), 2010, p. 35-42.

[44] ONWELUZO, J.C. and NWABUGWU, C.C. Fermentation of Millet (Pennisetum americanum) and Pigeon pea (Cajanus cajan) seed for production: Effects on composition and selected functional properties. Pakistan Journal of Nutrition, 8(6), 2009, p.737-744.

[45] GRANITO, M., GUINAND, J., PEREZ, D. y PEREZ, S. Valor nutricional y propiedades funcionales de Phaseolus vulgaris procesada: un ingrediente potencial para alimentos. Interciencia, 2009; 34, p. 64-70.

[46] GARCIA, O., INFANTE, R. y RIVERA, C. Las leguminosas, una fuente importante de fibra alimentaria: Una visión en Venezuela. Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel, 40, 2009, p. 57-63.

[47] TIWARI, B.K., TIWARI, U., JAGAN, R. and ALAGUSUNDARAM, K. Effect of Various Pretreatments on Functional, Physiochemical, and Cooking Properties of Pigeon pea (Cajanus cajan L). Food Science and Techology International, 14(6), 2008a, p. 487–495.

[48] TIWARI, B.K., RANGARAJAN, J.M. and VASAN, B. Effect of several Pre-treatments on the physical characteristics of dehulled fraction of pigeon pea (Cajanus cajan L). International Journal of Food Science and Technology, 43, 2008b, p. 1458–1463.

[49] SANGRONIS, E. and MACHADO, C.J. Influence of germination on the nutritional quality of Phaseolus vulgaris y Cajanus cajan. LWT Food science and technology, 40, 2007, p. 116-120.

[50] DAVILA, M., SANGRONIS, E. y GRANITO, M. Leguminosas germinadas o fermentadas: alimentos o ingredientes de alimentos funcionales. Archivos Latino Americanos de Nutrición, 53(4), 2003, p. 348-354.

[51] OLOYO, R.A. Chemical and nutritional quality changes in germinating seeds of Cajanus cajan L. Food Chemistry, 85, 2004, p. 497-502.

[52] MA, Z., BOYE, J., SIMPSON, B., PRASHER, S., MONPETIT, D. and MALCOMSON, L. Thermal processing effects on the functional properties and microstructure of lentil, chickpea, and pea flours. Food Research International, 44(8), 2011, p. 2534-2544.

[53] KHATTAB, R.Y. and ARNTFIELD, S.D. Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments 2. Antinutritional factors. Food Science and Technology, 42, 2009, p. 1113-1118.

[54] RACKIS, J.J. Biological active components. In: Smith AK, Circle SJ. eds. Soybeans: chemistry and technology. Vol 1. AVI Publishing Co., Westport. 1972; 158-202. Citado por: DE LUNA, J. Alfonso. Composición y procesamiento de la soya para consumo humano. Investigación y ciencia, 15(37), 2007, p. 35-44.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (197-206) Julio - Diciembre 2014

[55] GRANITO, M., GUERRA, M., TORRES, A. y GUINAND, J. Efecto del procesamiento sobre las propiedades funcionales de Vigna sinensis. Interciencia, 29, 2004, p. 521-526.
[56] KUO, Y., ROZAN, P., LAMBEIN, F., FRIAS, J. and VIDAL, C. Effects of different germination conditions on the contents of free protein and non-protein amino acids of commercial legumes. Food chemistry, 86, 2004, p. 537-545.
[57] GHAVIDEL, R.A. and PRAKASH, J. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, in vitro iron and calcium bioavailability and in vitro starch and protein digestibility of some legume seeds. LWT Food science and technology, 40, 2007, p. 1292-1299.
[58] DE LUNA, A. Composición y procesamiento de la soya para consumo humano. Investigación y ciencia, 15(37), 2007, p. 35-44.
[59] CASTILHO, F., GUADAGNUCCI, G. and BATISTUTI, J. Evaluation of some functional properties of lupin sweet flour (Lupinus albus) and faba bean flour (Cajanus cajan (L) Millsp) and their utilization in cooked ham production. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 30(1), 2009, p. 68-75.
[60] PRADERES, G., GARCIA, A. y PACHECO, E. Caracterización físico – química y propiedades funcionales de harina de quinchoncho (Cajanus cajan) obtenida por secado en doble tambor rotatorio. Revista Facultad de Agronomía, 35(2), 2009, p. 79-84.
[61] KAUR, M., SINGH, K. and SINGH, N. Comparative study of the functional, thermal and pasting properties of flour from different field pea (Pisum sativum L.) and pigeon pea (Cajanus cajan L.) cultivars. Food chemistry, 104, 2007, p. 259-267.
[62] OKPALA, L.C. and NAMAH, E.N. Functional properties of raw and processed pigeon pea (Cajanus cajan) flour. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 52, 2001, p. 343–346.
[63] MIZUBITI, I; et al. Propiedades funcionais da farinha e concentrado protéico de feijão guandu (Cajanus cajan (L.) Millsp). Archivos Latino Americanos de Nutrición, 50(3), 2000, p. 274-280.
[64] AGUNBIADE, S. and LONGE, O. The physic-functional characteristics of starches from cowpea (Vigna unguiculata), pigeon pea (Cajanus cajan) and yam bean (Sphenosty lisstenocarpa). Food chemistry, 65, 1999, p. 469-474.
[65] CAMPBELL, M.F; et al. New Protein Foods. In, ed. By Altchul, A.A., and Wilcke, H.I. Vol. 5 Seed storage proteins. Chpter IX Soy protein concentrate, Orlando: AcademicPress, 1985. Citado por: DE LUNA, J. Alfonso. Composición y procesamiento de la soya para consumo humano. Investigación y ciencia, 15(37), 2007, p. 35-44.
[66] MWASARU, M., MUHAMMAD, K., BAKAR, J. and CHE MAN, Y. Influence of altered solvent environment on the functionality of pigeon pea (Cajanus cajan) and cowpea (Vigna unguiculata) protein isolates. Food Chemistry, 71, 2000, p. 157-165.

Artículo Corto - Estudio de Caso

RELACION BOSQUE COMUNIDAD: ESTUDIO DE CASO VEREDA CLARETE ALTO, MUNICIPIO DE POPAYÁN

RELATION FOREST AND COMMUNITY, IN THE LOCALITY OF HIGH CLARETE, IN THE POPAYAN TOWN

RELACIONAMENTO COM A COMUNIDADE, COM A FLORESTA, VILA RURAL CLARETE ALTO, MUNICIPALIDADE DE POPAYÁN

Juan Pablo Paz-Concha[1], Román Ospina-Montealegre[2]

RESUMEN

Con el propósito de conocer acerca de los procesos de organización comunitaria y de las relaciones de los habitantes de la Vereda Clarete con los bosques de roble (Quercus humboldtii), se realizaron talleres móviles, así como ejercicios de diagnostico rural rápido, que permitieron la participación activa de un grupo de personas de la comunidad bajo el acompañamiento de los profesores y la observación de estudiantes de la Universidad del Cauca. Estas actividades se integraron a un ejercicio de caracterización forestal y de la entomofauna asociada a estos ecosistemas. Se lograron establecer las relaciones que tienen los integrantes de la comunidad con el bosque, estableciendo la visión de hombres, mujeres y niños con respecto a los recursos naturales de la zona; de igual manera se establecieron los diferentes usos que tiene el bosque, entre los que se destacaron la leña, madera para construcción, postes para cercos, plantas medicinales y animales de caza.

Recibido para evaluación: 6 de septiembre de 2012. **Aprobado para publicación:** 18 de marzo de 2014

1 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación para el Desarrollo Rural TULL. Magister Scientiae. Popayán, Colombia.

2 Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación para el Desarrollo Rural TULL. Magister Scientiae. Popayán, Colombia.

Correspondencia: jppaz@unicauca.edu.co.

Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (207-212) Julio - Diciembre 2014

ABSTRACT

In order to learn about the processes of community organization and relations of the people of the village of Claret with oak forest, mobile workshops were carried as well as rapid rural appraisal exercises, which enabled the participation a group active in the community under the support of teachers and observing students at the Cauca University. These activities were integrated into an forest characterization exercise and study of insects associated with these ecosystems. Were achieved to establish the members relationships of the community with the forest, establishing the vision of men, women and children about the natural resources from your area, likewise stablished the different uses of the forest has, among the which highlighted the firewood, construction timber, fencepost, medicinal plants and game animals.

PALABRAS CLAVES:
Diagnóstico, Recursos, Participación, Roble, Rural.

KEYWORDS:
Appraisal, Resources, Participation, Oak, Rural.

PALAVRAS-CHAVE:
Diagnóstico, Recursos, Participação, Roble, Rural.

RESUMO

A fim de aprender sobre os processos de organização comunitária e as relações dos habitantes da aldeia de Claret com o carvalho (Quercus humboldtii), foram realizadas oficinas telefones, bem como exercícios de avaliação rural rápida, o que permitiu a participação um grupo ativo na comunidade com o apoio de professores e alunos de observação da Universidade de Cauca. Estas actividades estão integradas em um exercício de caracterização entomofauna florestais e ecossistemas associados. Ser capaz de estabelecer relacionamentos com membros da comunidade com a floresta, que institui a visão de homens, mulheres e crianças sobre os recursos naturais da área, também resolvidos os diferentes usos que as madeiras, entre os que destacou a madeira serrada, cercas postes, plantas medicinais e jogo.

INTRODUCCIÓN

El Municipio de Popayán en gran parte de su área, se encuentra cubierta por parches o pequeños relictos de bosques de roble (*Quercus humboldtii*), aún conservados por propietarios de haciendas y comunidades rurales [1]. Esta especie ha venido siendo explotada de manera indiscriminada desde años atrás, producto de la necesidad de usar su madera para ebanistería, construcción, leña y carbón. Como lo plantea [2], en toda la región tropical, las comunidades rurales mantienen una estrecha relación con sus bosques, planteando una diversidad de usos y una dependencia de los mismos. Para el caso de los Andes, las relaciones de las comunidades rurales con los árboles y bosques se dan en múltiples ámbitos entre ellos lo productivo, lo alimentario, lo artesanal, construcción de viviendas, lo medicinal, lo mágico entre otros [3]. El presente artículo muestra el trabajo realizado con la comunidad de la Vereda Clarete Alto, Municipio de Popayán, el cual tuvo como propósito hacer una aproximación a las relaciones comunidad-bosque, sus visiones y sus dinámicas de aprovechamiento.

MÉTODO

La Vereda Clarete, se localiza al nororiente del Municipio de Popayán, sobre la margen derecha de la vía que conduce al Municipio de Totoró en la coordenadas 2º29'56.13''N y 76º31'39.7''W, allí se accede por vía destapada a 2 Km de la carretera Panamericana. La comunidad comprende aproximadamente 60 familias y un total de 350 personas; las principales actividades económicas son la agricultura y la ganadería

tipo extensiva y una alta participación de sus habitantes en labores propias de la ciudad como la construcción, comercio y prestación de servicios. Los bosques de roble en la Vereda representan una importante área 35% aproximadamente; un bajo número de productores se dedican a la extracción de roble para la producción de carbón, el cual es vendido en los mercados de Popayán. Para determinar la relación entre la comunidad y los bosques de roble, se realizaron cinco talleres bajo la metodología de diagnóstico rural rápido DRR propuesta por [4], incluyendo la socialización del proyecto y conformación de un Comité de Veeduría, los temas abordados fueron relación bosque comunidad, valoración de los recursos del bosque, dialogo de saberes entre la comunidad y técnicos y socialización de resultados de los trabajos de investigación en flora y entomofauna de los robledales. Además, se realizaron recorridos por el bosque, con el fin de establecer en campo aspectos relacionados con el nivel de conocimiento sobre el nombre de las especies, y acerca de los derechos acceso al bosque y sus recursos por parte de la comunidad. También integro a personas de la comunidad en el montaje y toma de información de una parcela permanente de medición para monitorear el bosque.

RESULTADOS

Cuando se analizaron las diferentes miradas sobre los recursos naturales de la Vereda se encontró que hay una percepción similar para hombres y mujeres; sin embargo, para las mujeres los atributos como las flores, las plantas medicinales y ornamentales son más sobresalientes, mientras que para los hombres aspectos como los animales de caza y los nombres de las quebradas, muestran un mayor grado de afinidad. Los niños en cambio resaltan de manera muy evidente, los espacios de su entorno inmediato como son los patios de las viviendas, los terrenos agrícolas y de pasturas y la escuela; el bosque no aparece como un elemento predominante en su entorno, indicando una poca relación con el mismo. Figura 1.

Con respecto a la valoración del estado actual de los recursos del bosque (Figura 3), la comunidad comentó que el uso más sobresaliente del bosque es la leña

Figura 1. Hombres, mujeres y niños de la Vereda Clarete alto dibujando el bosque de su Vereda.







Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (207-212) Julio - Diciembre 2014

Figura 2. Socialización de las diferentes miradas sobre el bosque de la Vereda Clarete Alto, Popayán.







para cocción de alimentos, seguido de la madera para postes de cercas; con respecto a la madera empleada para construcción, ellos comentaron que emplean algunas especies entre ellas el aguacatillo, jigua y cu-

Figura 3. Estado de los recursos del bosque de la Vereda Clarete Alto, Popayán.



charo, sin embargo, estas especies ya no son muy abundantes en la zona. Las especies más apetecidas como combustibles son el roble, el mandur, el chilco, el eucalipto y el garrocho; el eucalipto es una especie que ha sido sembrado principalmente para producir leña y madera para varios usos en la comunidad; sin embargo la comunidad comenta que sería bueno trabajar con especies propias de la zona. La demanda de leña en la vereda es de aproximadamente 90 m^3 mensuales; el mayor porcentaje de madera proviene de los bosques naturales (robledales) y un pequeño porcentaje es ofrecida por la madera de algunas plantaciones que vienen siendo cosechadas. El volumen de leña consumido mensualmente por cada familia al mes de acuerdo con la misma comunidad es de 1.5 metros; lo que representa un total de 1080 m/año a un precio promedio de $13.000/m (información obtenida en taller sobre valoración de los recursos del bosque); lo que representa un aporte del bosque de $14.040.000 que la comunidad deja de invertir en otra fuente alterna de energía. La unidad “metro” utilizada por la comunidad de Clarete alto se refiere a una cantidad de leña que ellos mismos han establecido para cuantificar este recurso y poderlo comercializar dentro y fuera de la comunidad. A pesar de que ha habido programas que han apoyado la utilización de gas, esta fuente implica por un lado una inversión que la comunidad no tenía que hacer antes y por otra parte la comunidad argumenta que las estufas entregadas por estos programas no tienen un tamaño que permita la cocción de un volumen grande de alimentos, lo cual es muy común en la vereda. Para el caso de la madera para construcción y reparación de viviendas la comunidad ha expresado que esta proviene principalmente de plantaciones de pino y eucalipto, debido a la oferta actual de este recurso y por esta razón la comunidad

resalta la importancia de implementar proyectos de reforestación con distintos fines. Por otra parte, la comunidad reconoce que estos bosques fueron explotados intensivamente hace aproximadamente dos décadas, principalmente para la obtención de carbón. Sin embargo, debido al cambio de conciencia y a las restricciones de tipo legal establecido con respecto al aprovechamiento del roble, la actividad relacionada con la obtención de carbón de roble ya no se practica en la vereda. Con respecto a la fauna silvestre, se comentó que anteriormente se practicaba la caza con perros y escopeta, pero esta actividad ha ido desapareciendo, hasta el punto de que hoy en día ya no se evidencia esta como una práctica común en la zona. Los lideres argumentan que este hecho esta desde que se viene trabajando en la concientización de las comunidades en estos temas por parte de las autoridades ambientales CRC y la misma Junta de Acción Comunal, para cuidar los recursos naturales, la flora y la fauna silvestre y estos mensajes han sido bien recibidos por la comunidad y por lo tanto ya se tienen un nivel de conciencia para ayudar a proteger los recursos naturales. Otro recurso valioso del bosque son las plantas medicinales, sin embargo las personas comentaron que ya poco se usan y que el conocimiento sobre estas plantas del bosque se ha ido perdiendo, se usan mucho las plantas pero las que se cultivan cerca de las viviendas, algunos árboles como el encenillo, el chilco y otros se emplean principalmente en el tratamiento de enfermedades de los animales como bovinos, mulas y caballos.

La información obtenida a partir de los talles fue complementada con salidas de campo por los bosques de la Vereda, allí se pudo corroborar el nivel de conocimiento que tienen hombres y mujeres sobre su territorio, se identificaron algunas áreas del bosque que fueron intervenidas hace varios años para la producción de carbón de roble, estas áreas actualmente están en recuperación, esta situación deja en evidencia la necesidad de fuentes de ingresos para algunos integrantes de la comunidad y la vulnerabilidad de estos ecosistemas ya que se convierten en la única opción para generar recursos de sustento para algunas familias. Durante los recorridos se evidenció un gran interés por parte de las mujeres de la Vereda por aprender más sobre sus bosques, los recursos y las especies que están allí presentes, esto se pudo evidenciar cuando ellas interactuaban con los estudiantes durante el montaje de una parcela de investigación forestal (Figura 4). Se observó que los niños no ingresan al bosque por razones de seguridad según lo comentaron algunas señoras, por lo tanto las labores de recolección de leña o madera la realizan únicamente los adultos.

DISCUSIÓN

Muchos de los problemas que enfrentan hoy en día las comunidades de la Vereda Clarete alto son similares a la de muchas otras y buena parte de los mismos están relacionados con el tema de acceso a los servicios básicos, como la educación, la salud y otros que definen su bienestar en general [5,6]. Otros aspectos que también son recurrentes a nivel rural son el abastecimiento de leña y la producción de carbón para abastecer los mercados urbanos. Con respecto a este último aspecto se ha encontrado que la producción de carbón puede considerarse como un medio para involucrar a los campesinos en actividades integradas al manejo forestal como lo plantean [7]. La situación planteada para la vereda Clarete en lo que respecta a su relación con los bosques, indica que esta ha sido y seguirá siendo importante, ya que este espacio es una fuente de materiales que ayudan a sustentar la producción agropecuaria a nivel de las fincas; sin embargo, algunas actividades que antes se realizaban dentro de estos ecosistemas como el caso de la caza y recolección de plantas medicinales, ha venido disminuyendo posiblemente por la adopción de otras fuentes de proteína animal y por la "modernización" de conceptos y hábitos en el manejo de la salud de las personas, lo que ha llevado al uso de medicamentos ofrecidos en la Ciudad. La cercanía de la Vereda con la Capital del Departamento del Cauca plantea una gran posibilidad

Figura 4. Mujeres de la Vereda Clarete trabajando en el montaje de parcela de investigación en bosques de roble en conjunto con estudiantes de Unicauca.



Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial
Vol 12 No. 2 (207-212) Julio - Diciembre 2014

de trabajar en torno al manejo de estos bosques no solo en la producción, sino también en la generación de estrategias para la venta de servicios ambientales, involucrando a estas comunidades con el fin de generar alternativas que ayuden a mejorar su bienestar sin poner en detrimento los recursos naturales de la zona.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue hecho gracias a la colaboración de la comunidad de la Vereda Clarete Alto del Municipio de Popayán a la Universidad del Cauca por su apoyo institucional, a su división de comunicaciones y a los estudiantes del Programa de Ingeniería Forestal.

REFERENCIAS

[1] CABEZAS, A. Análisis del paisaje y de su influencia sobre la regeneración del roble (*Quercus humboldtii*) en la meseta de Popayán, Departamento del Cauca [Tesis Ingeniería Forestal. Popayán (Colombia): Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, 2008, 76 p.

[2] WADSWORTH, F. Producción Forestal para América Tropical. 1 ed. Washington D.C. (USA): Departamento de Agricultura, Agriculture Handbook # 710, 2000, 563 p.

[3] NATES, B., CERON, P. y HERNANDEZ, E. Las plantas y el territorio: Clasificaciones, usos y concepciones en los Andes colombianos. Quito (Ecuador): Ediciones Abya-Yala, Corporación Ambiental Madremonte, Colección Hombre y Ambiente No. 37, 1996, 145 p.

[4] CHAMBERS, R. Diagnósticos rurales participativos: pasado, presente y futuro Revista FAO, Bosques, Arboles y Comunidades Rurales, 15(16), 1997, p. 4-9.

[5] NILSON, M. Conceptos básicos en el Trabajo con Bosques y Comunidades. 1 ed. Turrialba (Costa Rica): Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Boletín técnico No. 307, 1999, 45 p.

[6] PERFETTI, J.J. Crisis y pobreza rural en América Latina: el caso de Colombia. Santiago de Chile (Chile): Documento de Trabajo N° 43, Programa Dinámicas Territoriales Rurales, Rimisp, 2009, 29 p.

[7] AUS DER BEEK, R. y NAVAS, S. Técnicas de producción y calidad de carbón vegetal en los robledales de altura de Costa Rica. Turrialba (Costa Rica): Centro Agronómico tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Colección Silvicultura y Manejo De Bosques Naturales Serie Técnica No. 8, 1993, 43 p.

INDICE TEMÁTICO

Vol 12 No.1 Enero - Junio 2014
Vol 12 No.2 Julio - Diciembre de 2014

A

Agropecuaria

Análisis de aceptación y preferencia del manjar blanco del valle // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 20 – 27.

Cambios en propiedades físicas de un vertic haplustalf por aplicación de abono orgánico fermentado (aof) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 47 – 55.

Descripción morfológica de bromelia karatas recurso genético promisorio para Patía, Cauca, Colombia // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 62 – 70.

Determinación de capacidades en agroempresas ovinas para implementar sistema de gestión de calidad en Boyacá // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 70 – 77.

Diversidad genética de *Diaphorina citri* en cultivos cítricos del Valle del Cauca y Quindío (Colombia) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 106 – 114.

El guandul (Cajanus cajan) una alternativa en la industria de los alimentos // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 203 – 212.

Evaluación de propiedades antioxidantes de parte comestible y no comestible de pitahaya, uchuva y mangostino // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 98 – 105.

Evaluación de sustentabilidad con modelos dinámicos. Primeros avances en el estudio del oasis de comondú, México // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 178 – 187.

Evaluación de soluciones homeopáticas para controlar *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidóptera: Crambidae) en cultivo de lulo // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 115 – 123.

Guarango (*Mimosa quitensis*) opción forrajera para sistemas ganaderos de clima frio // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 71 – 80.

Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis juss*) y su composición fotoquímica // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 191 – 202.

Agroindustrial

Aislamiento y caracterización de una levadura floculante para producir etanol del banano de rechazo // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 151 – 159.

Aprovechamiento de residuos agroindustriales como biocombustible y biorefinería // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 10 – 19.

Biodegradación anaerobia de un material biodegradable bajo digestión anaerobia termófila // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 20 – 29.

Efecto de factores extrínsecos sobre la actividad antimicrobiana del metabolito w10b producido por (*Weissella confuse*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 71 – 78.

Fortificación de pulpa de uchuva con calcio, oligofructosa y vitamina c, estabilizada con hidrocoloide // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 124 – 133.

Fibras de fique una alternativa para el reforzamiento de plásticos. Influencia de la modificación superficial // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 60 – 70.

Preparación y determinación de las propiedades funcionales del concentrado proteico de trupillo (*Prosopis juliflora*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 144 – 152.

Propiedades técnico-funcionales de la fibra dietaria de cáscaras de mango variedad hilacha (*Mangifera indica l.*): efecto del secado por convección // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 153 – 160.

Propuesta para la formulación e implementación de una estrategia de innovación en grupos de investigación. Aplicación en un grupo de investigación en agroindustria // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 167 – 174.

Utilización de almidón de malanga (*Colocasia esculenta l*) en la elaboración de salchichas tipo Frankfurt // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 97 – 105.

B

Biotecnología

Bacterias aisladas del jugo de fique con actividad antagónica sobre *Phytophthora infestans* (mont.) de bary // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 12 No, 1 p 28 – 35.

Capacidad antagónica y quitinolítica de microorganismos aislados de residuos de higuerilla (*Ricinus communis*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 20 – 27.

Efecto de recubrimiento de almidón de yuca y cera de abejas sobre el chontaduro // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 30 – 39.

Efecto del marinado con NaCl y tripolifosfato-sódico sobre las propiedades bromatológicas en carne de cabra // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 151 – 159.

Evaluación de propiedades físicas de bioplásticos termo-comprimidos elaborados con harina de yuca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 40 – 48.

Evaluación de propiedades mecánicas, ópticas y de barrera en películas activas de almidón de yuca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 88 – 97.

Evaluación in vitro de la acción de *Lactobacillus plantarum* con características probióticas sobre *Yersinia pseudotuberculosis* // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 49 – 59.

Films de almidón termoplástico. Influencia de la incorporación de hidroxipropil-metil-celulosa y ácido cítrico // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 134 – 141.

Modelación de la separación de partículas no retenidas en la etapa de sedimentación en canales: proceso de extracción de almidón de yuca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 81 – 89.

Modificación enzimática de almidón de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) para el desarrollo de películas flexibles // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 134 – 143.

Red de gestión del conocimiento en el área de biocombustibles líquidos biored // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 188 – 198.

Producción biocatalítica de alcohol perílico utilizando células completas de aspergillus niger dsm 821// En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 36 – 46.

Propiedades funcionales del almidón de Sagú (*Maranta arundinacea*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 90 – 96.

E

Ecología

Evaluación de actividades endoglucanasa, exoglucanasa, lacasa y lignina peroxidasa en diez hongos de pudrición blanca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 115 – 124.

Evaluación del ensilaje de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis* spp) en alimentación de pollos de engorde // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 106 – 114.

Evaluación de microrganismos de montaña (mm) en la producción de acelga en la meseta de Popayán // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 79 – 87.

Los abonos orgánicos y la agremiación campesina: una respuesta a la agroecología // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 160 – 166.

Recuento de coliformes y *Escherichia coli* en canales bovinas sometidas a tratamientos físicos y químicos // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 125 – 133.

Respuesta del pasto palmera (*Setaria poiretiana*) al sombrío. Una opción de producción en sistemas silvopastoriles // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 161 – 169.

Transporte de materia orgánica particulada en una corriente alto andina: quebrada arrayanales (Cauca – Colombia) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 12 No, 2 p 181 – 190.

F

Forestal

Estructura, composición y diversidad de los bosques naturales de Smurfit kappa cartón de Colombia: Popayán y Cajibío // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p 10 – 19.

Relación bosque comunidad: estudio de caso vereda clarete alto, municipio de Popayán // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 175 – 180.

INDICE DE AUTORES

Vol 12 No.1 Enero - Junio 2014
Vol 12 No.2 Julio – Diciembre de 2014

A

Acevedo C. Diofanor
Preparación y determinación de las propiedades funcionales del concentrado proteico de trupillo (*Prosopis juliflora*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p. 144 – 152.

Propiedades funcionales del almidón de sagú (*Maranta arundinacea)* // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 12 No 2, p 90 – 96.

Acevedo José
Aislamiento y caracterización de una levadura floculante para producir etanol del banano de rechazo // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 151 – 159.

Achipiz Fajardo Jamir
Guarango (*Mimosa quitensis*) opción forrajera para sistemas ganaderos de clima frio // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 2 p 71 – 80.

Acosta Rosa Lina
Evaluación de microorganismos de montaña (mm) en la producción de acelga en la meseta de Popayán // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No, 1 p. 79 – 87.

Almanza P. Martha Isabel
Diversidad genética de *Diaphorina citri* en cultivos cítricos del valle del cauca y Quindío (Colombia) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 12 No 2, p 106 – 114.

Álvarez Lizeth Marelly
Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis* juss) y su composición fotoquímica // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 191 - 202.

Álvarez Julie Maritza
Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis* juss) y su composición fotoquímica // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 191 - 202

Arango A. Bibiana
Propuesta para la formulación e implementación de una estrategia de innovación en grupos de investigación. Aplicación en un grupo de investigación en agroindustria // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 12 No 2, p 167 – 174.

Arango Oscar
Bacterias aisladas del jugo de fique con actividad antagónica sobre *Phytophthora infestans* (mont.) de bary // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12 No 1, p. 28 – 33

Arcila H. Juan Sebastián
Recuento de coliformes y *Escherichia coli* en canales bovinas sometidas a tratamientos físicos y químicos // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 125 – 133.

B

Bacca Tito
Evaluación de soluciones homeopáticas para controlar *Neoleucinodes elegantalis* Guenée // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p. 115 – 123.

Baleta M. Luis Carlos
Efecto del marinado con NaCl y Tripolifosfato-sódico sobre las propiedades bromatológicas en carne de cabra // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 142 – 150.

Bejarano A. Nathalia
Evaluación de propiedades físicas de bioplásticos termo-comprimidos elaborados con harina de yuca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 40 – 48.

Bonilla M. Jeimmy Rocío
Modificación enzimática de almidón de yuca (*Manihot esculenta* crantz) para el desarrollo de películas flexibles // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 134 - 143.

Bonilla Karla
Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis* juss) y su composición fotoquímica // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 191 – 202.

C

Cabra C. Teresa
Capacidad antagónica y quitinolítica de microorganismos aislados de residuos de higuerilla (*Ricinus communis*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 56 - 61.

Caicedo V. Ana Milena
Diversidad genética de *Diaphorina citri* en cultivos cítricos del Valle del Cauca y Quindío (Colombia) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 106 – 114.

Caldón P. Yudy Elizabeth
Descripción morfológica de *Bromelia karatas* recurso genético promisorio para Patía, Cauca, Colombia // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 62 – 70.

Calpa Y. Fredy Yesid
Evaluación in vitro de la acción de *Lactobacillus plantarum* con características probióticas sobre *Yersinia pseudotuberculosis* // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 49 – 59.

Camacho M. Ricardo
Biodegradación anaerobia de un material biodegradable bajo digestión anaerobia termófila // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 20 – 29.

Campo M. Andrea Del Pilar
Evaluación de microrganismos de montaña (mm) en la producción de acelga en la Meseta de Popayán // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 79 – 87.

Canchala Teresita
Modelación de la separación de partículas no retenidas en la etapa de sedimentación en canales: proceso de extracción de almidón de yuca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 81 – 89.

Carabalí M. Arturo
Diversidad genética de *Diaphorina citri* en cultivos cítricos del valle del Cauca y Quindío (Colombia) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 106 – 114.

Cariño O. Micheline
Evaluación de sustentabilidad con modelos dinámicos. Primeros avances en el estudio del oasis de comondú, México // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 178 – 187.

Carrillo CH. José Alberto
Cambios en propiedades físicas de un vertic haplustalf por aplicación de abono orgánico fermentado (aof) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 47 – 55.

Carvajal De P. Luz Marina

Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis* juss) y su Composición fotoquímica // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 191 – 202.

Castro C. Vanessa
Análisis de aceptación y preferencia del manjar blanco del valle // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 20 – 27.

Charo E. Luis Edibar
Respuesta del pasto palmera (*Setaria poiretiana*) al sombrio. Una opcion de producción en sistemas silvopastoriles // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 161 – 169.

Chaspuengal T. Aura Magdalena
Evaluación in vitro de la acción de *Lactobacillus plantarum* con características probióticas sobre *Yersinia pseudotuberculosis* // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 49 – 59.

Chiralt B. Amparo
Films de almidón termoplástico. Influencia de la incorporación de Hidroxipropil-metil-celulosa y ácido cítrico // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 134 – 141.

Contreras L. Adriana Lucia
Determinación de capacidades en agroempresas ovinas para implementar sistema de gestión de calidad en Boyacá // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 170 – 177.

Corpas I. Eduardo Javid
Recuento de coliformes y *Escherichia coli* en canales bovinas sometidas a tratamientos físicos y químicos // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 125 – 133.

D

Daza Luis Daniel
Evaluación de propiedades antioxidantes de parte comestible y no comestible de pitahaya, uchuva y mangostino // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 98 – 105.

Díaz M. María
Propiedades funcionales del almidón de Sagú (*Maranta arundinacea*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 90 – 96.

Duque Alba Lucia

Fortificación de pulpa de uchuva con calcio, oligofructosa y vitamina c, estabilizada con hidrocoloide // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 124 – 133.

Duran O. Daniel Salvador
Efecto del marinado con NaCl y tripolifosfato-sódico sobre las propiedades bromatológicas en carne de cabra // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 142 – 150.

F

Fernández I. Pablo
Bacterias aisladas del jugo de fique con actividad antagónica sobre *Phytophthora infestans* (mont.) de bary // en: biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, Vol 12. No 1, p 28 - 35.

Fernández. Amanda Lucía
Evaluación de propiedades mecánicas, ópticas y de barrera en películas activas de almidón de yuca // en: biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, Vol 12. No 1, p 88 – 97.

Figueroa C. Apolinar
Transporte de materia orgánica particulada en una corriente altoandina: quebrada Arrayanales (Cauca – Colombia) // en: biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, Vol 12. No 2, p 181-190.

Fonseca C. Jorge Armando
Determinación de capacidades en agroempresas ovinas para implementar sistema de gestión de calidad en Boyacá // en: biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, vol. 12. No 1, p 170-177.

G

Galícia M. Valeria Sofia
Propiedades técnico-funcionales de la fibra dietaria de cáscaras de mango variedad hilacha (*Mangifera indica l.*): efecto del secado por convección // en: biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, Vol 12. No 1, p 153 – 160.

Gálvez C. Geison Mauricio
Guarango (*Mimosa quitensis*) opción forrajera para sistemas ganaderos de clima frio // en: biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial, Vol 12. No 2, p. 71 -80.

García M. José Francisco
Los abonos orgánicos y la agremiación campesina: una respuesta a la agroecología // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 160 – 166.

García M. José Francisco
Cambios en propiedades físicas de un vertic haplustalf por aplicación de abono orgánico fermentado (aof) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 47 – 55.

García S. Catalina
Estructura, composición y diversidad de los bosques naturales de Smurfit kappa cartón de Colombia: Popayán y Cajibío // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 10 – 19.

Giménez C. Andrés
Evaluación de sustentabilidad con modelos dinámicos. Primeros avances en el estudio del oasis de comondú, México // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 178 – 187.

Giraldo Germán Antonio
Fortificación de pulpa de uchuva con calcio, oligofructosa y vitamina c, estabilizada con hidrocoloide // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 124 – 133.

Godoy B. Sandra Patricia
Red de gestión del conocimiento en el área de biocombustibles líquidos biored // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 188 – 198.

Gómez N. Gilma M.
Evaluación del ensilaje de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis spp*) en alimentación de pollos de engorde // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 106 – 114.

Granados C. Clemente
Propiedades funcionales del almidón de Sagú (*Maranta arundinacea*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 90 – 96.

Guevara B. Carlos
Aislamiento y caracterización de una levadura floculante para producir etanol del banano de rechazo // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 151– 159.

Guzmán C. Luis Enrique
Propiedades funcionales del almidón de Sagú (*Maranta arundinacea*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 90 – 96.

H

Herrera A. Ana
Propiedades funcionales del almidón de Sagú (*Maranta arundinacea*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 90 – 96.

Herrera Andrea Verónica
Evaluación de propiedades antioxidantes de parte comestible y no comestible de pitahaya, uchuva y mangostino // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 98 – 105.

Hidalgo S. Miguel Ángel
Fibras de fique una alternativa para el reforzamiento de plásticos. Influencia de la modificación superficial // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 60 – 70.

Hincapié LL. Carlos Augusto
Preparación y determinación de las propiedades funcionales del concentrado proteico de trupillo (*Prosopis juliflora*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 153 – 160.

Hincapié LL. Gustavo Adolfo
Preparación y determinación de las propiedades funcionales del concentrado proteico de trupillo (*Prosopis juliflora*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 153 –160.

Hoyos C. José Luis
Modificación enzimática de almidón de yuca (*Manihot esculenta* crantz) para el desarrollo de películas flexibles // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 134 – 143.

Biodegradación anaerobia de un material biodegradable bajo digestión anaerobia termófila // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 20 – 29.

Hurtado B. Andrés Mauricio 12-1.
Bacterias aisladas del jugo de fique con actividad antagónica sobre *Phytophthora infestans* (mont.) de bary // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 28 – 35.

J

Jaimes M. José del Carmen
Preparación y determinación de las propiedades funcionales del concentrado proteico de trupillo (*Prosopis juliflora*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 144 – 152.

Jaramillo G. Luz Stella
Cambios en propiedades físicas de un vertic haplustalf por aplicación de abono orgánico fermentado (aof) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 47 – 55.

Jiménez M. Alberto
Films de almidón termoplástico. Influencia de la incorporación de hidroxipropil-metil-celulosa y ácido cítrico // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 134 – 141.

Julio G. Lesbia Cristina
Utilización de almidón de malanga (*Colocasia esculenta* l) en la elaboración de salchichas tipo Frankfurt // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 97 – 105.

Jurado G. Henry
Evaluación in vitro de la acción de *Lactobacillus plantarum* con características probióticas sobre *Yersinia pseudotuberculosis* // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 49 – 59.

L

León G. Jean Alexander
Evaluación de soluciones homeopáticas para controlar *Neoleucinodes elegantalis Guenée (Lepidóptera: Crambidae)* en cultivo de lulo // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 115 – 123.

Levin Laura
Evaluación de actividades endoglucanasa, exoglucanasa, lacasa y lignina peroxidasa en diez hongos de pudrición blanca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 115 – 124.

López M. Fredy J.
Evaluación del ensilaje de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis spp*) en alimentación de pollos de engorde // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 106 – 114.

M

Marín P. Harvey
Estructura, composición y diversidad de los bosques naturales de Smurfit Kappa Cartón de Colombia: Popayán y Cajibío // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 10 – 19.

Martínez B. Javier Andrés
Evaluación in vitro de la acción de *Lactobacillus plantarum* con características probióticas sobre *Yersinia pseudotuberculosis* // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 49 – 59.

Martínez F. Julia
Evaluación de sustentabilidad con modelos dinámicos. Primeros avances en el estudio del oasis de comondú, México // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 178 – 187.

Martínez S. Fernando Javier
Bacterias aisladas del jugo de fique con actividad antagónica sobre *Phytophthora infestans* (mont.) de bary // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 28 – 35.

Méndez John Jairo
Evaluación de propiedades antioxidantes de parte comestible y no comestible de pitahaya, uchuva y mangostino // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 98 – 105.

Mina H. José Herminsul 12-2.
Fibras de fique una alternativa para el reforzamiento de plásticos. Influencia de la modificación superficial // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 60 – 70.

Moncayo D. Miguel Ángel
Diversidad genética de *Diaphorina citri* en cultivos cítricos del Valle del Cauca y Quindío (Colombia) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 106 – 114.

Montero C. Piedad Margarita
Utilización de almidón de malanga (*Colocasia esculenta* l.) en la elaboración de salchichas tipo Frankfurt // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 97 – 105.

Montes R. Consuelo
Descripción morfológica de *Bromelia karatas* recurso genético promisorio para Patía, Cauca, Colombia // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 62 – 70.

Montoya B. Sandra
Evaluación de actividades endoglucanasa, exoglucanasa, lacasa y lignina peroxidasa en diez hongos de pudrición blanca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 115 – 124.

Montoya I. James
Diversidad genética de *Diaphorina citri* en cultivos cítricos del Valle del Cauca y Quindío (Colombia) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 106 – 114.

Morales V. Sandra
Evaluación de microrganismos de montaña (mm) en la producción de acelga en la meseta de Popayán // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 79 – 87.

Guarango (mimosa quitensis) opción forrajera para sistemas ganaderos de clima frio // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 71 – 80.

Moriones R. Diman
Estructura, composición y diversidad de los bosques naturales de Smurfit kappa cartón de Colombia: Popayán y Cajibío // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 10 – 19.

Mosquera S. Silvio Andrés 12-1.
Evaluación de propiedades mecánicas, ópticas y de barrera en películas activas de almidón de yuca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 88 – 97.

Efecto de recubrimiento de almidón de yuca y cera de abejas sobre el chontaduro // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 30 – 39.

Muñoz F. Jaime Eduardo
Diversidad genética de *Diaphorina citri* en cultivos cítricos del Valle del Cauca y Quindío (Colombia) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 106 – 114.

Muñoz M. Deyanira
Aprovechamiento de residuos agroindustriales como biocombustible y biorefinería // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 10 – 19.

Muñoz M. Mónica
Estructura, composición y diversidad de los bosques naturales de Smurfit Kappa Cartón de Colombia: Popayán y Cajibío // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 10 – 19.

Muñoz V. Mario Fernando
Fibras de fique una alternativa para el reforzamiento de plásticos. Influencia de la modificación superficial // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 60 – 70.

Murcia S. Cindy Lorena
Análisis de aceptación y preferencia del manjar blanco del valle // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 20 – 27.

Murillo Elizabeth
Evaluación de propiedades antioxidantes de parte comestible y no comestible de pitahaya, uchuva y mangostino // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 98 – 105.

N

Narváez M. Elder Camilo
Evaluación de soluciones homeopáticas para controlar Neoleucinodes elegantalis Guenée (Lepidóptera: Crambidae) en cultivo de lulo // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 115 – 123.

Navarro V. Carmen Lucia
El guandul (*Cajanus cajan*) una alternativa en la industria de los alimentos // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 203 – 212.

Navia P. Diana Paola
Evaluación de propiedades físicas de bioplásticos termo-comprimidos elaborados con harina de yuca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 40 – 48.

O

Orozco M. Gina Lia
Propuesta para la formulación e implementación de una estrategia de innovación en grupos de investigación. Aplicación en un grupo de investigación en agroindustria // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 167 – 174.

Ortega T. Rodrigo
Films de almidón termoplástico. Influencia de la incorporación de hidroxipropil-metil-celulosa y ácido cítrico // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 134 – 141.

Ortiz I. Claudia Cristina
Producción biocatalítica de alcohol perílico utilizando células completas de *Aspergillus niger* dsm 821 // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 36 – 46.

Ortiz Mónica A.
Evaluación del ensilaje de vísceras de tilapia roja (Oreochromis spp) en alimentación de pollos de engorde // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 106 – 114.

Ospina M. Román
Relación bosque comunidad: estudio de caso vereda clarete alto, municipio de Popayán // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 175 – 180.

Otero R. Iván Darío
Bacterias aisladas del jugo de fique con actividad antagónica sobre *Phytophthora infestans* (mont.) de bary // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 28 – 35.

P

Pantoja M. Álvaro Javier 12-2.
Aprovechamiento de residuos agroindustriales como biocombustible y biorefinería // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 10 – 19.

Parra G. Zhaira Stephanie
Bacterias aisladas del jugo de fique con actividad antagónica sobre *Phytophthora infestans* (mont.) de bary // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 28 – 35.

Parra Marisol
Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis juss*) y su composición fotoquímica // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 191 – 202.

Paz C. Juan Pablo
Relación bosque comunidad: estudio de caso vereda clarete alto, municipio de Popayán // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 175 – 180.

Peláez J. Carlos
Aislamiento y caracterización de una levadura floculante para producir etanol del banano de rechazo // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 151 – 159.

Peña F. Ricardo
Efecto del marinado con NaCl y tripolifosfato-sódico sobre las propiedades bromatológicas en carne de cabra // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 142 – 150.

Perea R. Críspulo
Evaluación del ensilaje de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis* spp) en alimentación de pollos de engorde // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 106 – 114.

Perea V. Yanneth
Producción biocatalítica de alcohol perílico utilizando células completas de *Aspergillus niger* dsm 821 // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 36 – 46.

Pérez I. Irene
Evaluación de sustentabilidad con modelos dinámicos. Primeros avances en el estudio del oasis de comondú, México // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 178 – 187.

Pérez M. Jaime
El guandul (*Cajanus cajan*) una alternativa en la industria de los alimentos // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 203 – 212.

Plazas I. Nubia Zoraida 12-2.
Los abonos orgánicos y la agremiación campesina: una respuesta a la agroecología // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 160 – 166.

Prado Fabio Alonso
Evaluación de microrganismos de montaña (mm) en la producción de acelga en la meseta de Popayán // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 79 – 87.

Prieto S. Gloria Astrid
Producción biocatalítica de alcohol perílico utilizando células completas de *Aspergillus niger* dsm 821 // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 36 – 46.

R

Ramírez N. Juan Sebastián
Análisis de aceptación y preferencia del manjar blanco del Valle // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 20 – 27.

Restrepo M. Diego a. 12-1.
Preparación y determinación de las propiedades funcionales del concentrado proteico de trupillo (*Prosopis juliflora*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 144 – 152.

El guandul (*Cajanus cajan*) una alternativa en la industria de los alimentos // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 203 – 212.

Restrepo Sara
Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis juss*) y su composición fotoquímica // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 191 – 202.

Rodríguez Adalberto
Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis juss*) y su composición fotoquímica // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 191 – 202.

Rodríguez G. Cristian Alonso
Preparación y determinación de las propiedades funcionales del concentrado proteico de trupillo (*Prosopis juliflora*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 56 – 61.

Roldan G. Andrés Felipe
Red de gestión del conocimiento en el área de biocombustibles líquidos biored // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 188 – 198.

Ruales S. Angela Viviana
Efecto de factores extrínsecos sobre la actividad antimicrobiana del metabolito w10b producido por (*Weissella confuse*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 36 – 46.

S

Salazar S. Margarita del Rosario
Transporte de materia organica particulada en una corriente altoandina: quebrada Arrayanales (Cauca – Colombia) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 181 – 190.

Sánchez Héctor Alejandro
Red de gestión del conocimiento en el área de biocombustibles líquidos biored // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 188 – 198.

Sánchez T. Óscar Julián
Evaluación de actividades endoglucanasa, exoglucanasa, lacasa y lignina peroxidasa en diez hongos de pudrición blanca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 115 – 124.

Serna C. Liliana
Efecto de factores extrínsecos sobre la actividad antimicrobiana del metabolito w10b producido por (*Weissella confuse*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 36 – 46.

T

Talens O. Pau
Films de almidón termoplástico. Influencia de la incorporación de hidroxipropil-metil-celulosa y ácido cítrico // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 134 – 141.

Tenza P. Alicia
Evaluación de sustentabilidad con modelos dinámicos. Primeros avances en el estudio del oasis de comondú, México // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 178 – 187.

Terán G. Víctor Felipe
Descripción morfológica de *Bromelia karatas* recurso genético promisorio para Patía, Cauca, Colombia // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 62 – 70.

Toro P. Henry Alfredo
Evaluación de soluciones homeopáticas para controlar *Neoleucinodes elegantalis* Guenée (Lepidóptera: Crambidae) en cultivo de lulo // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 115 – 123.

Torres L. Patricia

Modelación de la separación de partículas no retenidas en la etapa de sedimentación en canales: proceso de extracción de almidón de yuca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 81 – 89.

Torres R. Alberto Luis
Utilización de almidón de malanga (*Colocasia esculenta l*) en la elaboración de salchichas tipo Frankfurt // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 97 – 105.

Tosne Zulma Lizeth 12-2.
Efecto de recubrimiento de almidón de yuca y cera de abejas sobre el chontaduro // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 30 – 39.

Turbay Sandra
Relación entre los usos populares de la granadilla (*Passiflora ligularis juss*) y su composición fotoquímica // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 191 – 202.

V

Valencia A. Cristian
Estructura, composición y diversidad de los bosques naturales de Smurfit Kappa Cartón de Colombia: Popayán y Cajibío // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 10 – 19.

Valencia H. Leidy Johana
Efecto de factores extrínsecos sobre la actividad antimicrobiana del metabolito w10b producido por (*Weissella confuse*) // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 71 – 78.

Valencia Yelena Carolina
Modelación de la separación de partículas no retenidas en la etapa de sedimentación en canales: proceso de extracción de almidón de yuca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 81 – 89.

Vásquez O. Diana Carolina
Propiedades técnico-funcionales de la fibra dietaria de cáscaras de mango variedad hilacha (*Mangifera indica* l.): efecto del secado por convección // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 153 – 160.

Vega P. Carlos Andrés
Determinación de capacidades en agroempresas ovinas para implementar sistema de gestión de calidad en Boyacá // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 170 – 177.

Velasco Reinaldo
Evaluación de propiedades mecánicas, ópticas y de barrera en películas activas de almidón de yuca // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 88 – 97.

Vélez A. Lina María
Propuesta para la formulación e implementación de una estrategia de innovación en grupos de investigación. Aplicación en un grupo de investigación en agroindustria // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 167 – 174.

Villada C. Héctor Samuel
Modificación enzimática de almidón de yuca (*Manihot esculenta* crantz) para el desarrollo de películas flexibles // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 134 – 143.

Efecto de recubrimiento de almidón de yuca y cera de abejas sobre el chontaduro // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 30 – 39.

Villota C. Claudia Patricia
Capacidad antagónica y quitinolítica de microorganismos aislados de residuos de higuerilla (*Ricinus communis)* // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 56 – 61.

Vivas Q. Nelson José 12-1.
Respuesta del pasto palmera (*Setaria poiretiana*) al sombrio. Una opcion de producción en sistemas silvopastoriles // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 161 – 169.

Guarango (*Mimosa quitensis*) opción forrajera para sistemas ganaderos de clima frio // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 71 – 80.

Z

Zartha S. Jhon Wilder 12-2.
Propuesta para la formulación e implementación de una estrategia de innovación en grupos de investigación. Aplicación en un grupo de investigación en agroindustria // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 2, p 167 – 174.

Zúñiga B. Rusbel Armando 12-1.
Descripción morfológica de *Bromelia karatas* recurso genético promisorio para Patía, Cauca, Colombia // En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol 12. No 1, p 62 – 70.