

Encuentro **SENNOVA**



Tecnoparque
nodo Rionegro



Gigaca

Rionegro, Noviembre de 2017

Revista III Encuentro SENNOVA del Oriente Antioqueño





Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

Revista III Encuentro Sennova, 2017
ISSN: 2463-1787
SERVICIO NACIONAL DE APRENDIZAJE, SENA
Centro de Innovación, la Agroindustria y la Aviación
Rionegro, Zona Franca Bodega 15
www.sena.edu.co



**Grupo de Investigación Interacción
Genotipo x Ambiente y Calidad de
Alimentos GIGACA**

José Antonio Lizarazo
Director general (e)

Juan Felipe Rendón Ochoa
Director Regional Antioquia

Emilio Eliécer Navia
Coordinador Grupo de Gestión
Estratégica de la Investigación, Desarrollo
Tecnológico e Innovación (SENNOVA)

Jorge Antonio Londoño
Subdirector Centro de Innovación la
Agroindustria y la Aviación

Eliana María Estrada Mesa
Líder SENNOVA

Autores

Elizabeth Barrera Bello
Camilo Laverde
Carlos Argumedo
José Ordoñez
María Isabel Arias
Paola Imbachí
Laura Muñoz
Liliana María Cardona B.
Melissa Román Páez
Natalia Cadavid Muñoz
María Isabel Betancur Nieto
Bladimir Martínez Varela
Juan Manuel Monsalve
Santiago Londoño Chica
Esteban Ocampo Ordoñez
Jose Luis Buitrago Castaño
Catarina Carvalho

Aprendices de Semillero

Anny May García / Yamid Tobón Echeverri
Camila Delacruz Gómez / Leidy Laura Morales Gómez
Carolina Tapiero / Duverney Vásquez
Sahianna Gallego / Santiago Ochoa
Patricia Vallejo Uribe / Alex Jiménez Henao
Yuliana Montoya Pérez / Stefany González Suárez

ISSN: 2463-1787

© Servicio Nacional de Aprendizaje - SENA

Diseño, diagramación e impresión:
Divegráficas Ltda.

Hecho el depósito que exige la ley

Este libro, salvo las excepciones previstas por la Ley, no puede ser reproducido por ningún medio sin previa autorización escrita del autor.

Los textos publicados son de propiedad intelectual de los Autores y pueden utilizarse con propósitos educativos y académicos, siempre que se cite al autor y la publicación. Las opiniones aquí contenidas son de responsabilidad exclusiva de los autores y no reflejan necesariamente el pensamiento del editor ni del SENA.

COMITÉ EDITORIAL

Luisa Fernanda Granger Serrano

Ing. Biológica, MSc. Biotecnología

Sistema de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación – SENNOVA

Adel II González Alcalá

Ing. Agroindustrial, MSc. (c) Gestión Tecnológica

Sistema de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación – SENNOVA

Diana María Gómez Quintero

Tgo en Contabilidad y Finanzas

Sistema de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación – SENNOVA

COMITÉ CIENTÍFICO

MSc. Alba Santa Soriano

Técnico I+D+i del Observatorio Virtual de Transferencia de Tecnología (OVTT)

Universidad de Alicante - España.

PhD. Sofía Oliveira Pires

Coordinadora del Observatorio Virtual de Transferencia de Tecnología (OVTT)

Universidad de Alicante - España.

Lic. Nancy Verónica Pérez

Asesora Profesional Técnica –Gestión Programa Nacional de Vigilancia Tecnológica e

Inteligencia Competitiva – VINTEC

Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la Nación -Argentina.

Ing. Betsy Pamela Mena Díaz

Jefa de Departamento Vigilancia y Prospectiva Tecnológica

Unidad de Desarrollo Tecnológico TechnoPoli

Instituto Politécnico Nacional IPN - México.

PhD. Martha Sofía Prada Molina

Docente Titular Investigador

Director de la estrategia de innovación institucional

Universidad Pontificia Bolivariana UPB - Colombia.

MSc. Mónica María Sánchez C

Directora Internacional

Fundación Global AC&T - EEUU.

Sr. Mark Joseph León

Director Científico Fundación Global AC&T - EEUU

Manager of the Robotics Alliance Project (Ex), NASA (Administración Nacional de la

Aeronáutica y del Espacio) -EEUU.

MSc. Durys Esther Ríos Kerguelén

Coordinadora de Área

Centro de Ciencia y Tecnología de Antioquia CTA - Colombia

Tabla de Contenido

Editorial.....	9
Implementación de mejoras en el sistema de gestión de calidad e inocuidad del proyecto “Sabor Inclusivo” de la Corporación De Mente Al Día, procesadora de frutas del municipio de Rionegro (Antioquia)	13
Diseño y construcción de un equipo modular para la extracción de pigmentos a escala piloto a partir de matrices vegetales.	23
Producción del hongo ostra rosada (<i>Pleurotus djamor</i>) en sustratos basados en residuos agroindustriales generados en el Oriente Antioqueño	39
Implementación de la extracción y análisis de β -caroteno en zanahoria (<i>Daucus carota L.</i>) por fluidos supercríticos (FSC) y UHPLC-DAD.....	49
Determinación de un método para el establecimiento <i>in vitro</i> de orquídeas adaptado a condiciones y recursos de los estudiantes de la I.E Técnico Rural de Marinilla.....	69
Robot Jardiner: Desarrollo de un Producto Mínimo Viable.....	85
Estimación de la cinética de crecimiento de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en suero lácteo	97

Editorial

La innovación es uno de los pilares del crecimiento económico y de la apuesta de los países por la productividad y la competitividad. El Servicio Nacional de Aprendizaje SENA, en su apuesta por el desarrollo social, económico y tecnológico del país, es uno de los actores clave para dinamizar los procesos de innovación empresarial, por lo que la institución ha planteado programas estratégicos que potencian el sector productivo en alineación con las actividades misionales de la Formación Profesional Integral.

El Plan Estratégico Institucional SENA en su enfoque de Gestión del Conocimiento ha planteado la tarea de gestionar líneas programáticas de Investigación, Desarrollo tecnológico e Innovación a través del Sistema SENNOVA. En este marco, en el Centro de la Innovación, la Agroindustria y la Aviación del Oriente Antioqueño gestionamos la innovación de la región tomando como eje central la formación por proyectos. A través de los proyectos formativos, los semilleros de investigación, el grupo de investigación, el Tecnoparque Nodo Rionegro, las convocatorias de proyectos de Fomento a la Innovación y los proyectos de Servicios tecnológicos, el Centro desarrolla capacidades para interpretar las necesidades del entorno y proponer soluciones pertinentes y de calidad. Esto contribuye a la formación de personal altamente calificado, con capacidades crítico-creativas, que generan un impacto en el crecimiento rentable y sostenible del sector productivo, por el fortalecimiento de las empresas y la constitución de emprendimientos sostenibles.

La Revista III Encuentro SENNOVA del Oriente Antioqueño es una publicación anual de carácter científico, que se constituye en un espacio académico de divulgación y una estrategia de apropiación social del conocimiento. Esta publicación es el producto del esfuerzo continuo de los instructores, aprendices, gestores e investigadores por mejorar la calidad y pertinencia

de los programas formativos que se articulan a través de los Semilleros de Investigación. Todas las publicaciones corresponden a artículos originales e inéditos cuyo contenido es el resultado de procesos de Investigación, Desarrollo tecnológico e Innovación que se han desarrollado a partir de un diagnóstico de necesidades de la región.

La innovación real y sostenible requiere un proceso en el que se encuentren el sector productivo con necesidades de aumentar la productividad y competitividad, y aquellos que tienen las capacidades para plantear soluciones de base tecnológica pertinentes y de calidad. La Revista III Encuentro SENNOVA es un espacio para promover y difundir dicho encuentro, que esperamos que siga convocando a la región a generar sinergia alrededor de los retos de desarrollo social, económico y tecnológico que enfrenta.

Jorge Antonio Londoño

Subdirector

Centro de la Innovación, la Agroindustria y la Aviación





Implementación de mejoras en el sistema de
gestión de calidad e inocuidad del proyecto
“Sabor Inclusivo” de la Corporación
De Mente Al Día, procesadora de frutas
del municipio de Rionegro (Antioquia)



IMPLEMENTACIÓN DE MEJORAS EN EL SISTEMA DE GESTIÓN DE CALIDAD E INOCUIDAD DEL PROYECTO “SABOR INCLUSIVO” DE LA CORPORACIÓN DE MENTE AL DÍA, PROCESADORA DE FRUTAS DEL MUNICIPIO DE RIONEGRO (ANTIOQUIA)

Anny May García^a, Yamid Tobón Echeverri^a, Camila Delacruz Gómez^a, Leidy Laura Morales Gómez^a, Elizabeth Barrera Bello^b, Camilo Laverde^c

^aSENA, Aprendiz de Tecnología en Control de calidad de alimento, amay7@misena.edu.co, ytobon49@misena.edu.co, cdelacruz11@misena.edu.co, leidymlorales@misena.edu.co

^bSENA, Instructor Sennova, ebarrerab@misena.edu.co,

^cSENA, Instructor Agroindustria, calaverdeco@misena.edu.co

RESUMEN

Se logró el aumento en el porcentaje de cumplimiento higiénico del proyecto “Sabor Inclusivo” del municipio de Rionegro mediante la elaboración de un diagnóstico inicial aplicando el formato F16-PM02-IVC FORMATO ACTA DE INSPECCIÓN SANITARIA A FÁBRICAS DE ALIMENTOS del Invima. Se documentó e implementó el sistema de gestión de inocuidad mediante la redacción de los manuales prerequisites faltantes, actualización de los existentes, la realización de mejoras menores en instalaciones locativas, sanitarias, distribución de equipos, medios de transporte y control de variables de proceso. Todo esto permitió que el aseguramiento y control de la calidad de la empresa pasara de un 14,3% de cumplimiento a un 85,7%. Es importante el diseño de estrategias para el cumplimiento de las recomendaciones realizadas para así poder llegar al 100% de cumplimiento en todos los ítems lo que le permitiría al proyecto “Sabor Inclusivo” la aspiración a la certificación en Buenas Prácticas de Manufactura.

Palabras clave: Sistemas de Gestión de Calidad, Buenas Prácticas de Manufactura, pulpa de frutas.

1. INTRODUCCIÓN

Las Buenas Prácticas de Manufactura o BPM son los principios básicos y prácticas generales de higiene en la manipulación, preparación, elaboración, envasado, almacenamiento, transporte y distribución de alimentos para consumo humano, con el objeto de garantizar que los productos se fabriquen en condiciones sanitarias adecuadas y se disminuyan los riesgos inherentes a la producción (Presidente de la República de Colombia, 2016). Para la industria alimentaria la obtención de alimentos inocuos es de gran importancia, por eso se hace indispensable el cumplimiento de los estándares de calidad exigidos por la legislación Colombiana.

En una microempresa es importante antes de implementar el sistema de gestión de calidad e inocuidad realizar un diagnóstico que les permita conocer el estado en que se encuentra la empresa (Bolívar & Rodríguez, 2009) en conformidad al Decreto 3075 de 1997 (Presidente de la República de Colombia, 2016) y la Resolución 2674 de 2013 (Ministerio de la Protección Social en Colombia, 2013). Es fundamental que la empresa cuente con manuales prerrequisito que ayudan a dirigir y mantener el buen funcionamiento de la planta y la inocuidad de los productos.

La Corporación De Mente Al día con su proyecto “Sabor Inclusivo” se dedica al procesamiento y distribución de pulpas de frutas tropicales en el municipio de Rionegro, Antioquia, la sede de producción se encuentra ubicada en el sector altos de la Pereira y la oficina en Edificio Portal de San Antonio Cl 51 # 46-30 of 208. Cuenta con el Registro Invima RSAA12|70115 para todos los sabores de las pulpas que produce y su misión es “Trabajar por el bienestar y la inclusión laboral de personas en situación de discapacidad, buscando participación activa en el sistema económico y laboral del país; además de favorecer su independencia económica, participación familiar y social, por medio de la capacitación y vinculación laboral en una empresa despulpadora de fruta, generando así la experiencia del primer empleo, de manera que puedan participar equitativamente en las diversas ofertas laborales” (Sabor Inclusivo, 2016).

El aseguramiento, el control y la gestión de la calidad de los alimentos es una necesidad apremiante en el sector agroindustrial, debido las exigencias normativas como el Decreto 3075 de 1997, la Resolución 2674 de 2013

además de otras normas internacionales, pero por su tamaño no siempre cuentan con los recursos económicos suficientes para la implementación de los programas del sistema de gestión de calidad e inocuidad, la realización de mejoras en sus instalaciones, como la capacitación continuada para lograr así el fomento de la cultura de calidad; lo que contribuiría a la inocuidad de los productos alimenticios, lográndose una mayor capacidad de competir en el mercado. A partir de esta problemática este proyecto permitió el diagnóstico, la asesoría y la implementación del sistema de calidad en la Corporación De Mente Al Día con su proyecto “Sabor Inclusivo”.

2. ESTADO DEL ARTE DEL DESARROLLO TECNOLÓGICO Y/O INNOVACIÓN

La implementación de Sistemas de Gestión de Calidad e inocuidad siempre ha sido una necesidad de los empresarios en la industria alimentaria, no solo por la garantía que le da a sus procesos frente a sus clientes sino porque es un requerimiento legislativo. Para la correcta implementación y ejecución de un sistema es necesario realizar un diagnóstico previo, para su posterior planeación de acciones a ejecutar tal como lo reporta Tamayo (2011) quien documentó e implementó buenas prácticas de manufactura para las áreas técnica, de producción y plantas piloto en la unidad de alimentos de la empresa Surtiquímicos LTDA logrando mejorar el nivel de cumplimiento del decreto 3075 de 1997 de 74,18% a un 91.62%. Acevedo (2010) realizó la implementación parcial del plan estratégico de buenas prácticas de manufactura en una microempresa de producción y comercialización de hielo en la ciudad de Cali, logrando alcanzar un cumplimiento del 87% de los aspectos verificados inicialmente. Montoya (2014) documentó las buenas prácticas de manufactura en la producción y venta de agua potable de la industria de alimentos ALAMO BS S.A.S., se logró dar cumplimiento al 60% de las exigencias de mejora planteadas por el Invima. Giraldo & Guerrero (2015) realizó el diagnóstico y puesta en marcha del plan de acción en industria panificadora nacional “Indupan S.A” basado en el Decreto 3075/97. Se logró dar cumplimiento al 89% de las exigencias de mejora planteadas por la legislación.

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL Y TIPO DE INNOVACIÓN

Este Caso de estudio fue una investigación de carácter descriptivo, donde se realizó la documentación del sistema de gestión de calidad e inocuidad de Corporación De Mente Al Día con su proyecto “Sabor Inclusivo” en el municipio de Rionegro. La recolección de la información se realizó tomando como base los requisitos establecidos por el Decreto 3075 de 1997 y la Resolución 2674 de 2013 evaluando las condiciones con las cuales se lleva a cabo el proceso de la producción de las pulpas, teniendo en cuenta las instalaciones, condiciones del área de elaboración, equipos y utensilios, personal manipulador de alimentos, requisitos higiénicos de fabricación, control de calidad, saneamiento, almacenamiento, distribución, transporte y comercialización; la evaluación de estos parámetros se realizó mediante una inspección visual, registro fotográfico y el diligenciamiento del formato F16-PM02-IVC FORMATO ACTA DE INSPECCIÓN SANITARIA A FÁBRICAS DE ALIMENTOS (Invima, 2013). Después se realizó un informe donde se documentaba el porcentaje de cumplimiento y el plan de acción de las novedades. Seguidamente se socializó con el Gerente de la empresa y se acordó el plan de trabajo, el cronograma de entrega de documentación y capacitaciones. Al final del proceso se volvió a diligenciar el acta de inspección para evaluar las mejoras obtenidas y documentar las recomendaciones a seguir. Toda la información de la empresa se trabajó bajo los estándares de confidencialidad.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Los resultados del diagnóstico inicial se resumen en la Tabla 1, donde se evidenció con base en el Decreto 3075 de 1997 y la Resolución 2674 de 2013, que en el proyecto “Sabor Inclusivo” el porcentaje más alto de cumplimiento fue en el Personal manipulador de alimentos, con un 100%, ya que todos los manipuladores conocían y aplicaban las prácticas estipuladas en la normatividad.

En cuanto a las instalaciones físicas e instalaciones sanitarias los valores fueron del 96,4% y el 70% respectivamente, debido a la evidencia de falencias en cuanto al estado de mantenimiento de instalaciones físicas y debilidades en la protección y aislamiento contra el libre acceso. El

siguiente parámetro evaluado fueron las Condiciones de saneamiento el cual obtuvo un cumplimiento del 47,7% debido a la ausencia de control en los parámetros de calidad del agua potable, registros, manejo de residuos, registros de limpieza y desinfección, procedimientos de control de plagas.

Con respecto a las Condiciones de proceso y fabricación su cumplimiento fue del 70,8% y se observaron falencias en algunos materiales de construcción de equipos y mobiliario, ventilación del área de procesos, instrumentos de control de variables, condiciones de transporte, además de la ausencia de manuales para mantenimiento y calibración de equipos, proveedores, materia prima, producto terminado y registro de puntos críticos de control.

Por último, el cumplimiento del capítulo de Aseguramiento y control de la calidad fue el más bajo de todos con 14,3% ya que la empresa no contaba con políticas claras de calidad, fichas técnicas, manuales prerrequisitos y el acceso a los servicios de laboratorio externo.

Tabla 1. Porcentaje de cumplimiento obtenido en el diagnóstico inicial

Aspecto	PMX	POB	% Cumplimiento
Instalaciones físicas	28	27	96,4
Instalaciones sanitarias	10	7	70,0
Personal manipulador de alimentos	32	32	100,0
Condiciones de saneamiento	44	21	47,7
Condiciones de proceso y fabricación	144	102	70,8
Aseguramiento y control de la calidad	14	2	14,3

PMX: puntaje máximo a obtener; POB: puntaje obtenido.

Fuente: Elaboración de los autores

Con base en estos resultados se presentó y ejecutó un plan de acción el cual incluyó la redacción y socialización de los manuales contemplando los siguientes criterios:

- Instalaciones físicas
- Instalaciones sanitarias
- Condiciones de saneamiento
- Abastecimiento de agua potable

- Manejo y disposición de residuos sólidos (basuras)
- Limpieza y desinfección
- Control de plagas (artrópodos, roedores, aves)
- Condiciones de proceso y fabricación
- Equipos y utensilios
- Aseguramiento y control de la calidad
- Verificación de documentación y procedimientos

Posterior a ello, se realizó un seguimiento en el cual se logró observar el aumento en todos los aspectos, siendo el más relevante el de aseguramiento y control de la calidad, el cual al final del proyecto llegó a un 85,7% de cumplimiento resumido en la Tabla 2, gracias a la importancia que tiene la implementación de sistemas de calidad en las industrias de alimentos, lo que va en concordancia a lo reportado por Bolívar y Rodríguez (2009) y Tamayo (2011). Con respecto a los otros ítem se dejan las recomendaciones para su posterior adecuación ya que en su mayoría implica inversión económica por parte de la administración la cual se comprometió a desarrollar en un futuro cercano.

Tabla 2. Porcentaje de cumplimiento al final de la intervención

Aspecto	PMX	POB	% Cumplimiento
Instalaciones físicas	28	28	100,0
Instalaciones sanitarias	10	8	80,0
Personal manipulador de alimentos	32	32	100,0
Condiciones de saneamiento	44	36	81,8
Condiciones de proceso y fabricación	144	105	72,9
Aseguramiento y control de la calidad	14	12	85,7

PMX: puntaje máximo a obtener, POB: puntaje obtenido.

Fuente: Elaboración de los autores

5. CONCLUSIONES

La realización del diagnóstico inicial permitió la identificación y análisis de fortalezas y debilidades en cuanto al cumplimiento del proyecto “Sabor Inclusivo” con respecto a las condiciones de saneamiento establecidas por el Decreto 3075 de 1997 y la Resolución 2674 de 2013.

La redacción de los documentos faltantes, la realización de mejoras en cuanto a las instalaciones locativas, sanitarias, distribución de equipos, medios de transporte y control de variables de proceso, permitió que el proyecto “Sabor inclusivo” aumentara su porcentaje de cumplimiento en las Instalaciones físicas de 96,4% a 100%; Instalaciones sanitarias de 70% a 80%; Condiciones de saneamiento de 47,7% a 81,8%; Condiciones de proceso y fabricación de 70,8% a 72,9%; Aseguramiento y control de la calidad de 14,3% a 85,7%.

Se deben diseñar estrategias para el cumplimiento de las recomendaciones en instalaciones, registro y control de variables, análisis de control de calidad, etiquetado, entre otros para así poder llegar al 100% de cumplimiento en todos los ítems, como el obtenido en el ítem de Personal Manipulador, lo que le permitiría a la empresa Sabor Inclusivo la aspiración a la certificación en Buenas Prácticas de Manufactura.

REFERENCIAS

- Acevedo, C. (2011). *Implementación parcial del plan estratégico de buenas prácticas de manufactura en una microempresa de producción y comercialización de hielo en la ciudad de Cali*. Recuperado el 14 de agosto de 2017, de Universidad San Buenaventura: http://bibliotecadigital.usb.edu.co:8080/bitstream/10819/765/1/Plan_Estrat%C3%A9gico_Cali_Acevedo_2010.pdf
- Bolívar, L., & Rodríguez, M. (2009). *Diagnóstico y documentación previo a la implementación de las buenas prácticas de manufactura en la empresa pura fruta de la ciudad de Tunja para la línea de producción de pulpas de fruta*. Recuperado el diciembre de 2016, de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis440.pdf>
- Giraldo, S., & Guerrero, Y. (2015). *Diagnóstico y propuesta de plan de acción en industria panificadora nacional “Indupan S.A” basado en el decreto 3075/97*. Recuperado el 14 de AGOSTO de 2017, de Universidad San Buenaventura: http://bibliotecadigital.usb.edu.co/bitstream/10819/3017/1/Diagnostico_propuesta_plan_giraldo_2015.pdf

Invima. (15 de julio de 2013). *F16-PM02-IVC FORMATO ACTA DE INSPECCIÓN SANITARIA A FÁBRICAS DE ALIMENTOS*. Recuperado el febrero de 2016, de <https://www.invima.gov.co/images/stories/formatotramite/F16-PM02-IVC.doc>

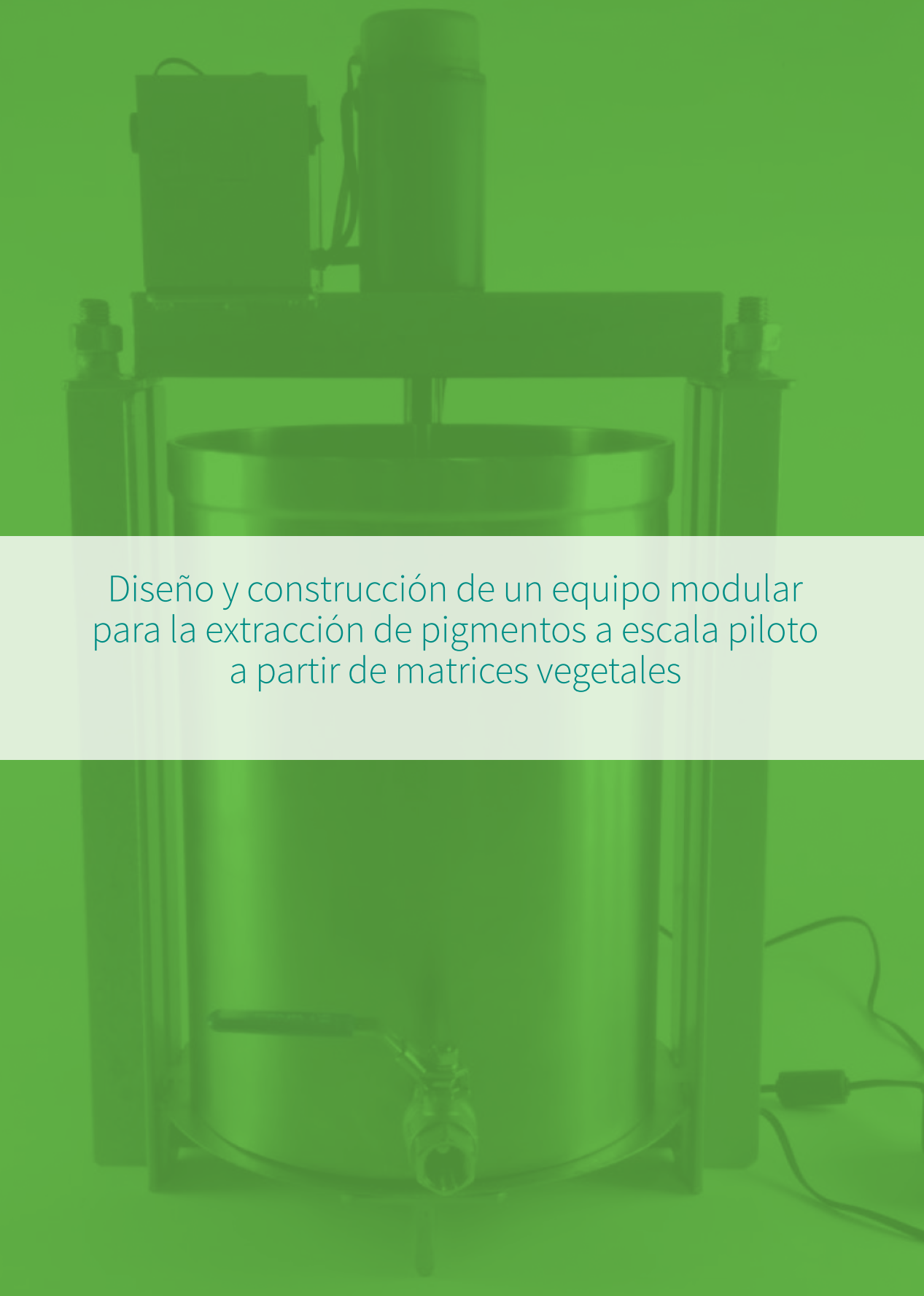
Ministerio de la Protección Social en Colombia. (22 de julio de 2013). *Resolución 2674 de 2013*. Recuperado el marzo de 2016, de <https://www.invima.gov.co/images/pdf/normatividad/alimentos/resoluciones/resoluciones/2013/2674.pdf>

Montoya, T. (2014). *Documentación de las buenas prácticas de manufactura en la producción y venta de agua potable de la industria de alimentos ALAMO BS S.A.S.* Recuperado el 14 de agosto de 2017, de Universidad Autonoma De Occidente: <https://red.uao.edu.co/bitstream/10614/8158/1/T06149.pdf>

Presidente de la Republica de Colombia. (marzo de 2016). *Decreto 3075 de 1997*. Obtenido de https://www.invima.gov.co/images/stories/alimentos/decreto_3075_1997.pdf

Sabor Inclusivo. (2016). Recuperado el 14 de agosto de 2017, de <http://www.saborinclusivo.com/>

Tamayo, M. (2011). *Documentación e implementación de buenas prácticas de manufactura para las áreas técnica, de producción y plantas piloto en la unidad de alimentos de la empresa Surtiquímicos LTDA*. Caldas. Corporacion Universitaria Lasallista. Recuperado el diciembre de 2016, de http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/680/1/Documentacin_Implementacin_BPM_SurtiquimicosLTDA.doc%20_1_.pdf



Diseño y construcción de un equipo modular
para la extracción de pigmentos a escala piloto
a partir de matrices vegetales

DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN EQUIPO MODULAR PARA LA EXTRACCIÓN DE PIGMENTOS A ESCALA PILOTO A PARTIR DE MATRICES VEGETALES

Carolina Tapiero^a, Duverney Vásquez^a, Sahianna Gallego^a, Santiago Ochoa^b,
Carlos Argumedo^c, José Ordoñez^d, María Isabel Arias^d, Paola Imbachí^d,
Laura Muñoz^d, Catarina Carvalho^d

^aSENA, Aprendiz Tecnólogo de Procesamiento de Alimentos, carolinat.i@hotmail.com,
duvertoro96@gmail.com, sgallego350@misena.edu.co

^bSENA, Aprendiz Tecnólogo en Mantenimiento Electromecánico Industrial, s3205154227@hotmail.com,

^cInstructor Línea Industria y Teleinformática, carlosargumedo@misena.edu.co

^dSENA, Gestor o investigador TecnoParque nodo Rionegro – SENNOVA, jlordonez69@misena.edu.co,
ariasrendon@misena.edu.co, pcimbachin@unal.edu.co, Immunoze@sena.edu.co, cpassaro@gmail.com

RESUMEN

Se diseñó y construyó un equipo modular para la extracción a escala piloto de pigmentos tipo antocianinas a partir de cáscara de gulupa (*Passiflora edulis Sims f. edulis*) y posterior filtrado del extracto. Para la operación de extracción se diseñó un módulo de agitación bajo los parámetros de un reactor de tanque agitado (Stirred Tank Reactor, STR) conservando relaciones geométricas preestablecidas en la literatura y volumen efectivo de 10 L. El filtro se basó en un sistema simple de prensado, constituido por una placa plana encargada de ejercer presión sobre el material sólido depositándolo en el fondo del tanque. El primer ensayo de extracción a través del STR arrojó resultados promisorios, reflejados en un rendimiento de extracción de antocianinas superior a los previamente alcanzados a nivel de laboratorio. El módulo de filtro prensa, aunque permite la sedimentación de gran parte del material vegetal, no conduce a una separación completa de las fases líquida y sólida, por lo que es necesario reconsiderar su diseño.

Palabras clave: Antocianinas, Cáscara de gulupa, Reactor de Tanque Agitado, Filtro prensa

1. INTRODUCCIÓN

La extracción de compuestos con actividad biológica desde matrices vegetales requiere de la implementación de una serie de etapas u operaciones, que son seleccionadas con base en la naturaleza y procedencia del producto de interés. Para la obtención de pigmentos desde matrices vegetales se podría hablar de un proceso general constituido por cuatro etapas básicas: adecuación de la materia prima (puede involucrar limpieza, desinfección, secado y molienda), extracción sólido - líquido, filtración (separación de fases) y concentración (evaporación y recuperación del solvente) (Wong *et al.*, 2014; Zapata *et al.*, 2014). En caso que se considere necesario el pigmento se purifica y seca.

De las etapas anteriores la extracción corresponde a una de las más críticas del proceso, ya que puede afectar el rendimiento. Para la extracción se reportan diversas metodologías como extracción por contacto (sólido-líquido o líquido-líquido), presión, soxhlet, fluidos supercríticos, ultrasonido, microondas y pulso eléctrico (Prado *et al.*, 2015; Khanh, 2013). Entre ellas, se ha encontrado que la extracción convencional con solventes resulta menos costosa que técnicas como microondas o ultrasonido (Todd & Baroutian, 2017; Vieira *et al.*, 2013)

En este sentido, buscando una alternativa eficiente y económica para la extracción de antocianinas desde cáscara de gulupa a escala piloto, se diseñó y construyó un equipo con un sistema modular de agitación basado en los principios de un reactor de tanque agitado (STR), configuración ampliamente usada en los campos de la biotecnología y la química como sistema de reacción. Adicionalmente y ante la carencia en el laboratorio de sistemas de filtración para volúmenes relativamente altos, se fabricó un filtro por presión fácilmente acoplable al tanque agitado.

2. ESTADO DEL ARTE DEL DESARROLLO TECNOLÓGICO Y/O INNOVACIÓN

2.1 Reactor de Tanque Agitado (STR)

Un reactor de tanque agitado o STR es un equipo de uso frecuente para llevar a cabo reacciones químicas o bioquímicas de sistemas homogéneos (una sola fase) o heterogéneos (varias fases). Consta de un recipiente cilíndrico, preferiblemente de fondo semiesférico, al que se acopla un eje vertical, que a su vez sirve como soporte de un impulsor. El eje es accionado por un motor mediante conexión directa o a través de una caja reductora (García *et al.*, 2011; Mc Cabe *et al.*, 2007). Con el fin de prevenir el flujo circulatorio y consecuentemente la formación de un vórtice se suelen instalar deflectores, que no interfieren con el flujo radial o longitudinal (Mc Cabe *et al.*, 2007).

El reto principal de un STR es mantener una buena mezcla de las suspensiones o soluciones, evitando zonas muertas en el interior del tanque. Para lograr lo anterior existen una serie de impulsores divididos en dos tipos: de flujo axial y flujo radial (Mc Cabe *et al.*, 2007). En el caso de los procesos de múltiples fases (sólido – líquido) se prefieren los de flujo axial, puesto que permiten dispersar la fase líquida y suspender los sólidos al mismo tiempo (Mc Cabe *et al.*, 2007; Nienow y Bujalki, 1997).

Entre las ventajas que ofrecen los tanques agitados se encuentran: (i) cortos tiempos de operación; (ii) en caso de disponer de sensores es posible monitorear y/o controlar parámetros diversos como temperatura y pH (iii) se pueden implementar procesos por lotes y/o en continuo de una o varias etapas (iv) son relativamente más fáciles de escalar (Doran, 2013).

2.2 Filtrado por presión

La filtración consiste en la separación mecánica de una mezcla de sólidos y líquidos, haciendo pasar la fase líquida a través del medio poroso que retiene la fase sólida. A nivel de laboratorio la forma más simple de filtrar consiste en verter la suspensión en un embudo provisto de un papel filtrante, o bien mediante un embudo Buchner que usualmente requiere

vacío. A nivel piloto o industrial esta operación es más compleja debido a las dificultades que precisa el movimiento de una mayor cantidad de suspensión (Mc Cabe, 2007).

Los filtros para grandes volúmenes se dividen en dos grupos: los clarificadores y los filtros de torta. Los primeros separan pequeñas cantidades de sólidos para producir líquidos transparentes. Los filtros de torta separan grandes cantidades de sólidos en forma de torta o lodo. Generalmente son empleados para separaciones sólido-líquido y pueden operar con presiones elevadas o vacío (Mc Cabe, 2007).

De manera general para la filtración a escalas grandes se han desarrollado varios tipos de filtros, entre ellos se destacan: los filtros prensa continuos o discontinuos, de carcasa y hojas, de vacío, centrífugos, tambores rotatorios y de cinta horizontal (Mc Cabe, 2007).

Los filtros por presión son una estructura compuesta con un conjunto de placas diseñadas para proporcionar cámaras o compartimientos que recogen la fase sólida, dichas placas son recubiertas con un medio filtrante. La suspensión se introduce bajo presión y el líquido sale a través de una tubería dejando en el equipo la fase sólida (Mc Cabe, 2007). Entre sus ventajas se encuentran: generación de un líquido de salida, bajo consumo energético, mantenimiento económico, alta eficiencia en la separación.

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL Y TIPO DE INNOVACIÓN

3.1 Diseño y construcción del equipo modular

Conociendo las etapas inherentes al proceso de obtención de pigmentos desde cáscara de gulupa, y la necesidad de escalar las operaciones de extracción y filtración a un nivel piloto, se diseñó un equipo modular para suplir en una sola unidad, las dos operaciones o etapas de proceso requeridas. Los bocetos tridimensionales del equipo fueron realizados en el software Autodesk Inventor 2017 en su versión gratuita para estudiantes. En el diseño se emplearon las relaciones geométricas reportadas por Doran (2013) para STR (Figura 1).

Para la construcción de las piezas, excepto el soporte principal (fabricado en hierro), se empleó soldadura aporte 308L y acero inoxidable 304 o 316 de acuerdo con las normas AISI, materiales utilizados en la fabricación de equipos para las industrias de alimentos, química o farmacéuticas debido a su resistencia a la corrosión e higiene.

En el diseño del equipo se involucró a un aprendiz e instructor del programa Tecnología en Mantenimiento Electromecánico Industrial del SENA - Centro de la Innovación, la Agroindustria y la Aviación, CIAA. El corte y soldadura de las piezas y el diseño y construcción del sistema electrónico inherente al módulo de agitación, fueron realizados en colaboración con gestores del TecnoParque nodo Rionegro en las instalaciones de las líneas de Diseño e Ingeniería y Electrónica y Telecomunicaciones.

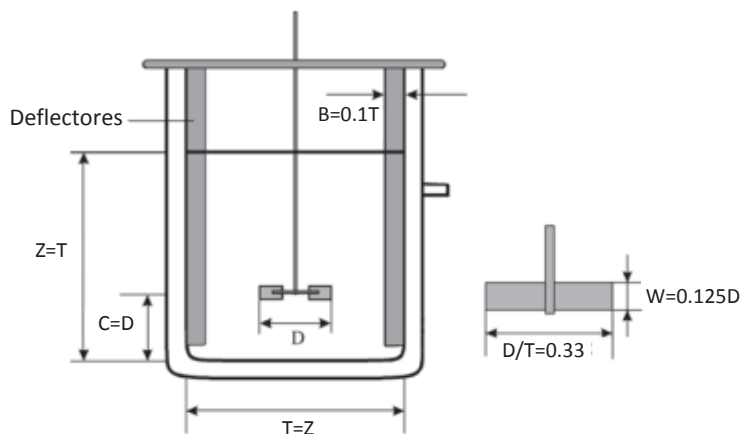


Figura 1. Configuración geométrica de un STR.

Fuente: Deveci (2004) y Doran (2013)

3.2 Evaluación del equipo

Para comprobar la eficiencia del equipo se realizó una prueba preliminar con agua y posteriormente un primer proceso de extracción de antocianinas desde cáscara de gulupa.

La prueba de extracción se realizó utilizando un volumen efectivo cercano a los 9L, empleando una relación soluto solvente 1:10 (8L de solvente y 800 g de cáscara de gulupa seca). Debido a la aplicación que se pretende dar al pigmento (aditivo para alimentos) se seleccionó como solvente etanol (70%) acidulado con ácido cítrico (0,1%) (Muñoz & Rojas, 2016), las concentraciones de estos reactivos, así como el tiempo de agitación (2 h) se eligieron con base en trabajos previos de optimización realizados a escala de laboratorio. La velocidad de agitación empleada fue de 720 r.p.m. Para la cuantificación de antocianinas se usó el método espectrofotométrico de diferencias de pH (Lee et al., 2005).

Este ensayo se llevó a cabo en el laboratorio de Biotecnología del TecnoParque, ubicado en el municipio de Guarne, contando con la participación de aprendices del programa Tecnología de Procesamiento de Alimentos del SENA – CIAA.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS TÉCNICO DEL PRODUCTO

4.1 Diseños de piezas centrales: soporte y tanque

En la figura 2 se esquematizan el diseño de las dos estructuras principales del equipo, un soporte macizo y un tanque de acero.

El soporte fue diseñado de tal manera que en la parte superior pudiesen ser acoplados tanto el sistema de agitación como el filtro prensa, los cuales son fijados a través de tornillos. El tanque consistente en un recipiente cilíndrico de 10L de capacidad, con una válvula de bola ubicada en la parte inferior, el cual facilita la evacuación de la fase líquida luego de la extracción.

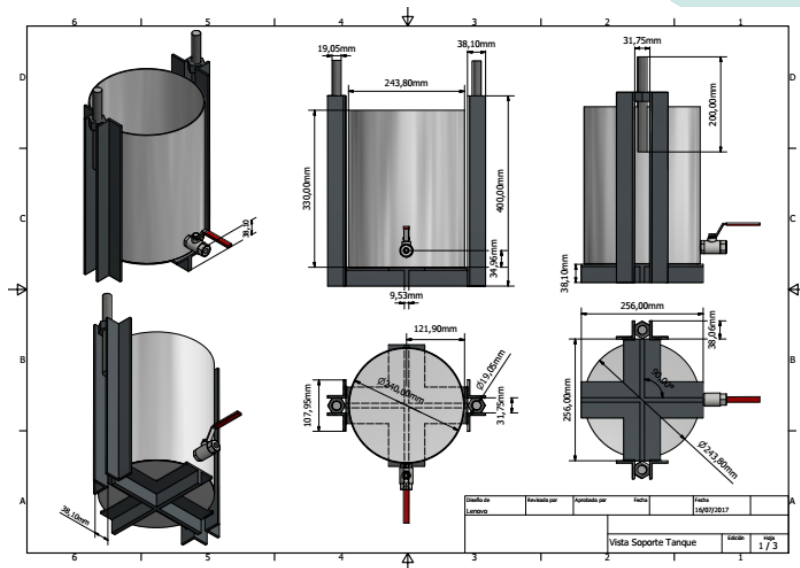


Figura 2. Estructuras basicas del equipo, soporte y tanque cilindrico.

Fuente: Elaboración propia.

4.2 Diseño módulos de agitación y filtración

El módulo de agitación (Figura 3), es un soporte macizo que se sitúa sobre el soporte principal. Para este se seleccionó un impulsor de seis placas planas inclinadas 45°, que se caracteriza por proporcionar un flujo axial mejorando la mezcla de sistemas heterogéneos y reducir la potencia requerida para una velocidad de flujo dada (Mc Cabe, 2007). Las dimensiones de este impulsor se determinaron a partir de las dimensiones del tanque (Figura 1). El impulsor fue diseñado de tal modo que pudiese ser extraído del eje para labores de limpieza y estudios hidrodinámicos, en caso de requerirse.

Se obtuvo además, el diseño de un sistema de deflectores paralelos, con el fin de romper el vórtice, generar un flujo turbulento y consecuentemente mejorar el mezclado de las fases. Los deflectores, de acuerdo al diseño, pueden ser removidos para facilitar la limpieza del tanque y el proceso de filtrado.

Por otro lado, el módulo de filtración (Figura 4) fue diseñado como una placa plana circular, con un diámetro levemente inferior al del tanque,

soldada a un tornillo roscado. El tornillo anclado mediante una tuerca a un soporte, puede moverse de manera vertical, logrando que al bajar ejerza presión sobre el material vegetal comprimiéndolo y depositándolo en el fondo del tanque.

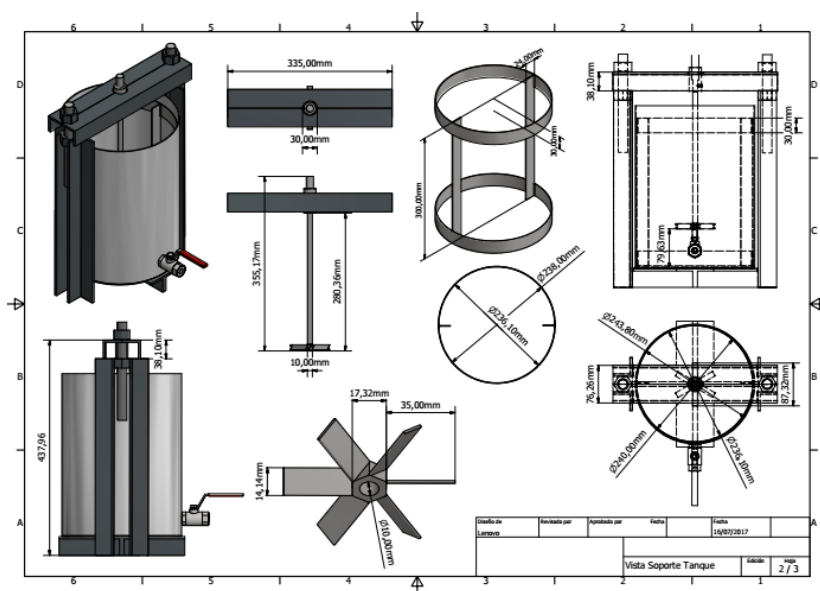


Figura 3. Componentes del módulo de agitación.

Fuente: Elaboración propia.

Se obtuvo además, el diseño de un sistema de deflectores paralelos, con el fin de romper el vórtice, generar un flujo turbulento y consecuentemente mejorar el mezclado de las fases. Los deflectores, de acuerdo al diseño, pueden ser removidos para facilitar la limpieza del tanque y el proceso de filtrado.

Por otro lado, el módulo de filtración (Figura 4) fue diseñado como una placa plana circular, con un diámetro levemente inferior al del tanque, soldada a un tornillo roscado. El tornillo anclado mediante una tuerca a un soporte, puede moverse de manera vertical, logrando que al bajar ejerza presión sobre el material vegetal comprimiéndolo y depositándolo en el fondo del tanque.

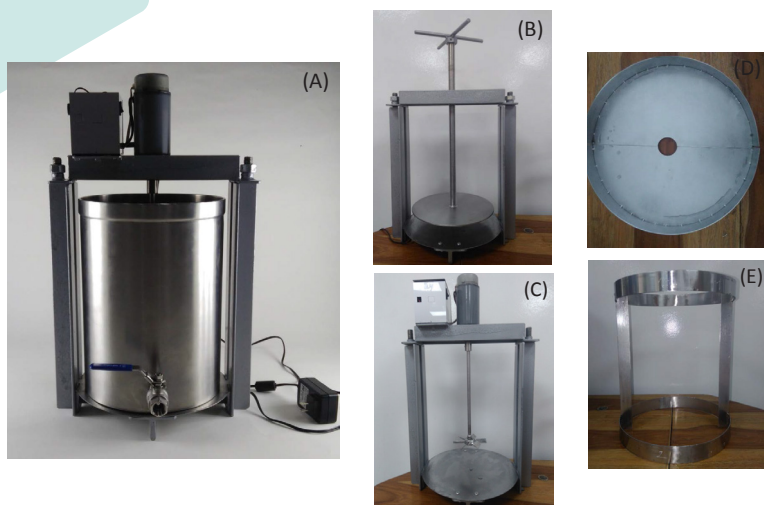


Figura 5. Equipo modular para la extracción de pigmentos desde cáscara de gulupa. (A) Tanque y soporte. (B) Módulo de filtrado. (C) Módulo de agitación. (D) Tapa. (E) Deflectores. Fuente: Elaboración propia.

Como se muestra en las figuras 5(A) y 5(C), para el movimiento del eje asociado al módulo de agitación, se empleó un motor DC monofásico acoplado a un encoder, de 30V, una potencia de salida de 42W y 2750 r.p.m. Este motor fue conectado a un sistema electrónico basado en Arduino UNO para monitorear la velocidad de agitación por medio de un módulo bluetooth HC-06 y una aplicación desarrollada mediante la herramienta MIT App Inventor. El control de la velocidad se realizó mediante un controlador PWM para motor de 2000W DC 12V-500V/40A (Figura 6).

Para recubrir todo el sistema electrónico, fue necesario el diseño y la construcción de una caja en acrílico, con el fin de proveer protección al sistema electrónico y facilitar las conexiones del equipo a la fuente de energía.

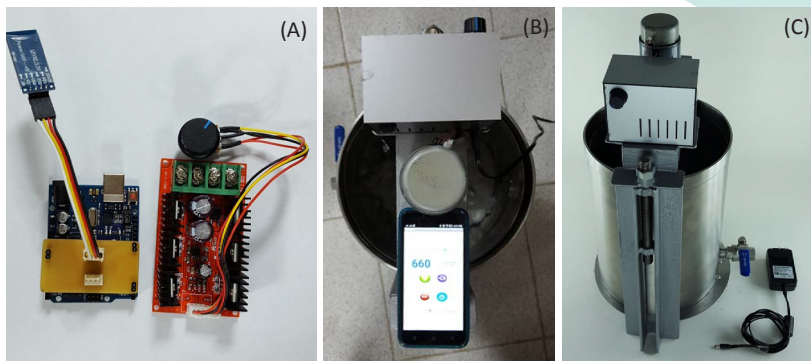


Figura 6. Sistema de control y monitoreo de la velocidad (r.p.m) en el motor. (A) Arduino UNO y controlador de velocidad PWM. (B) Modulo de bluetooth en funcionamiento. (C) Equipo con sistema electrónico acoplado.

Fuente: Elaboración propia.

4.4 Evaluación del equipo

Una prueba inicial realizada con agua mostró que el motor funcionaba de manera correcta y podía ser controlado a través del variador de velocidad, así mismo la velocidad de agitación pudo ser monitoreada a través del celular (Figura 6(B)). A lo largo de dos horas de trabajo continuo, el motor presentó un buen funcionamiento, conservando la velocidad de agitación ajustada al inicio del proceso. También se observó la importancia y efectividad de los deflectores, cuya presencia en el tanque evitó la formación del vórtice (Figura 7).

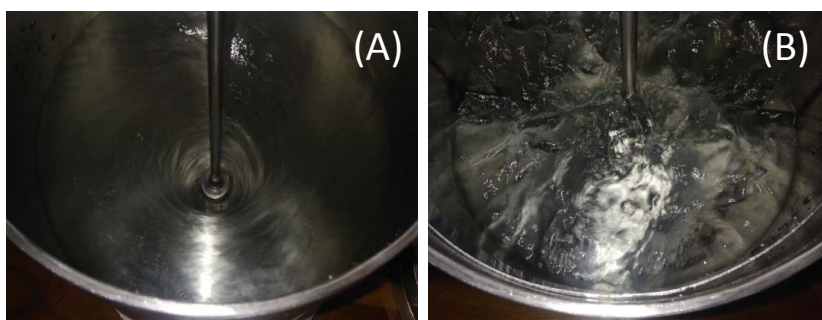


Figura 7. Prueba de agitación con agua. (A) Sin deflectores. (B) Usando deflectores

El soporte principal cumplió a cabalidad su función, brindando soporte y estabilidad al tanque, inclusive durante el funcionamiento del motor no se apreció una vibración considerable. Los módulos de agitación y filtro prensa se acoplaron de la manera indicada. Como inconveniente se observó que el tanque debe ser ubicado de forma manual y a consideración del usuario, ya que el soporte no tiene guías que indiquen una posición fija, lo que resulta particularmente incómodo al momento de realizar la filtración.

La evaluación del equipo mediante la implementación de una primera extracción de pigmentos a partir de cáscara de gulupa, arrojó resultados promisorios respecto al rendimiento de extracción, obteniendo una mayor cantidad de antocianinas en la extracción a escala piloto comparado con los ensayos previos realizados a escala de laboratorio (Figura 8).

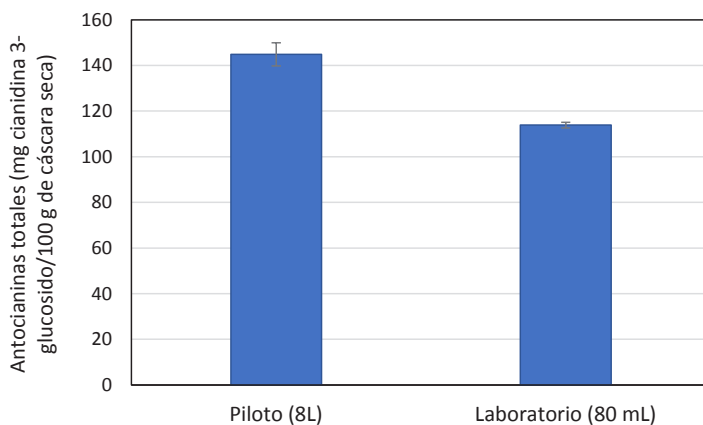


Figura 8. Concentración de antocianinas obtenidas en equipo modular (8L) respecto extracciones a escala de laboratorio (80 mL).

Fuente: Elaboración propia.

La etapa de filtrado desafortunadamente no resultó de la manera esperada, debido a que la placa plana no logra sedimentar completamente todo el material vegetal. Adicionalmente y debido a que el tanque no es totalmente simétrico, se torna complejo el movimiento del tornillo y la placa.

5. CONCLUSIONES

El diseño del equipo conllevó a la construcción de un sistema modular que puede suplir dos etapas de importancia en el proceso de extracción de pigmentos a partir de cáscara de gulupa. Siendo el módulo de extracción, basado en un STR, el de mejor desempeño.

La extracción de antocianinas mediante el equipo construido resultó eficiente, logrando concentraciones y rendimientos del pigmento mayores respecto a los alcanzados a nivel de laboratorio.

El módulo de filtración requiere de un reajuste en su diseño, de tal manera que la fase sólida pueda ser separada de la líquida en su totalidad. Se sugiere acoplar una bugía entre el plato y el eje de tal manera que al girar sólo el eje el mecanismo pueda ejercer una mejor presión.

AGRADECIMIENTOS

Al grupo de investigación Interacción Genotipo x Ambiente y Calidad de los Alimentos (GIGACA) por el apoyo y acompañamiento continuo. A los gestores de la línea de diseño e ingeniería del TecnoParque por su constante colaboración. Al SENA-CIAA, el programa SENNOVA y a TecnoParque nodo Rionegro por la financiación del proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Deveci, H. (2004). Effect of particle size and shape of solids on the viability of acidophilic bacteria during mixing in stirred tank reactors. *Hydrometallurgy* 71; 385–396
- Doran, P. 2013. *Bioprocess Engineering Principles*. Reino Unido: Elsevier.
- García, F., Santos, V., Gómez, E. 2011. Stirred Tank Bioreactors. En: *Moo-Young M. Comprehensive Biotechnology* (Second edition). Elsevier; 179-198.

Khanh, N.D. Advances in the extraction of anthocyanin from vegetables. J Nutr Food Sci. 2015; 3(1-2): 126-134

Lee, J., Durst, R., Wrolstad, R. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. Journal of AOAC International; Vol, 88 pp. 1269-1278

Mc, Cabe., Smith, J., Harriot, P. (2007). Operaciones unitarias en Ingeniería Química. México: Mc Graw Hill.

Muñoz, L.M., Rojas, L.B. (2016). Vigilancia Tecnológica: Metodologías asociadas a la extracción de colorantes naturales desde subproductos de gulupa y aguacate Hass. Encuentro SENNOVA ISSN 2463-1787. Vol, 1, pp 52-63.

Nienow, A., Bujalski, W. 1997. Recent studies on agitated three phase (gas-solid-liquid) systems in the turbulent regime. In: Engineering Foundation Conference on Biochemical Engineering.

Prado, J.M., Vardanega, R., Debien, I.C., Almeida, M.A., Gerschenson, L.N., Sowbhagya, H.B., Chemat, S. (2015). Conventional extraction. En Galanakis, C.M. Food Waste Recovery Processing Technologies and Industrial Techniques (pp. 127-148). United States of America. Elsevier Inc.

Todd, R., Baroutian, S. (2017). A techno-economic comparison of subcritical water, supercritical CO₂ and organic solvent extraction of bioactives from grape marc. Journal of Cleaner Production. Vol, 158 pp. 349-358

Vieira, G.S., Cavalcanti, R.N., A. Meireles, M.A., Hubinger, M.D. (2013). Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assisted and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*). Journal of Food Engineering. Vol, 119. pp. 196-204

Wong, Y.S., Sia, C.M., Khoo, H.E., Ang, Y.K., Chang, S.K., Yim, H.S. (2014). Influence of extraction conditions on antioxidant properties of passion fruit (*Passiflora edulis*) peel. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria. Vol. 13. pp. 257-265.

Zapata, L.M., Heredia, A.M. Quinteros, C.F., Malleret, A.D., Clemente, G., Carcel, J.A. (2014). Optimización de la extracción de antocianinas de arandanos. Ciencia, Docencia y Tecnología. Vol, 25 N° 49. pp. 166-19

Producción del hongo ostra rosada
(*Pleurotus djamor*) en sustratos basados
en residuos agroindustriales generados
en el Oriente Antioqueño

PRODUCCIÓN DEL HONGO OSTRA ROSADA (*Pleurotus djamor*) EN SUSTRATOS BASADOS EN RESIDUOS AGROINDUSTRIALES GENERADOS EN EL ORIENTE ANTIOQUEÑO

Patricia Vallejo Uribe^a, Liliana María Cardona Bermúdez^b

^aSENA, Aprendiz Tecnólogo en Producción Agropecuaria Ecológica, patriciavallejouribe@gmail.com

^bSENA, Investigador, Grupo de Investigación Interacción genotipo x ambiente y calidad de alimentos, Tecnoparque Nodo Rionegro, lilianacardona@misena.edu.co

RESUMEN

Se evaluaron diferentes sustratos para la producción de *Pleurotus djamor*; cáscara de frijol (75%) con aserrín (25%) (control positivo), capacho de uchuva (75%) con cáscara de frijol (25%), compost para champiñón (45%) con aserrín (55%), cáscara de frijol (100%), capacho de uchuva (100%) y compost para champiñón (100%). Se evaluó producción a la primera cosecha. La mayor producción y eficiencia biológica (87.75 g y 6.26 respectivamente) fue encontrada en el tratamiento del compost mezclado con aserrín. Se evidenció contaminación en los cultivos, responsable de bajas productividades y pérdida de estos.

Palabras clave: agroindustria, cultivo, materiales lignocelulósicos, orellana

1. INTRODUCCIÓN

Existen afirmaciones que para el año 2050 se prevé que la población mundial alcanzará los 9700 millones de habitantes (Khokhar y Kashiwase, 2008) y aunque es muy probable que las posibilidades de supervivencia mejoren, hay que garantizar la seguridad alimentaria y para ello se requiere que la producción de alimentos aumente en un 70% (Sumpsi, 2012). Para lograr lo

anterior, la producción primaria debe enfocarse en la intensificación de la misma y desarrollos tecnológicos que permitan obtener altos rendimientos en pequeñas áreas y que sean alimentos de excelente calidad.

Las setas comestibles son una buena opción ya que en áreas reducidas se puede producir proteína fácilmente aprovechable y con propiedades medicinales. El aumento de la producción agrícola y pecuaria trae consigo el aumento de la generación de residuos a los que idealmente debe dárseles uso considerando la sostenibilidad; en ese orden de ideas, los hongos del género *Pleurotus* aprovechan fácilmente la lignocelulosa de diferentes fuentes, convirtiéndose en una opción para su elección en esta situación.

Por otro lado, la generación de residuos agroindustriales en el Oriente Antioqueño donde un alto número de municipios es de vocación agrícola es muy alta. La falta de manejo de los mismos conlleva a problemáticas ambientales que urge sean tratadas. Es por ello que se busca identificar residuos agroindustriales de la región que permitan la producción de *Pleurotus djamor*; un hongo de la pudrición blanca con un contenido proteico superior a los vegetales, con altas cantidades de macro y micronutrientes y vitaminas como la C y la B9; de gran aceptación en la cocina internacional por su color y sabor (Álvarez y Vega, 2016). Si bien la literatura reporta el cultivo de orellana en diferentes sustratos, se busca como innovación de proceso incluir el compost para champiñón, elaborado también a partir de residuos, las altas temperaturas alcanzadas en el proceso garantizan la ausencia de microorganismos patógenos, tiene altos contenidos de nitrógeno y es de fácil consecución; existe poca información al respecto.

2. ESTADO DEL ARTE DEL DESARROLLO TECNOLÓGICO Y/O INNOVACIÓN

Motato, Mejía y León (2006) estudiaron el desarrollo del cuerpo fructífero de *Pleurotus djamor* en diferentes sustratos residuos del cultivo del plátano (*Musa paradisiaca*) en caja de petri; trabajaron hojas (100%), tallo (100%), aserrín (100%), y las mezclas de Aserrín-Hoja (50/50%), Aserrín-Tallo (50/50%), Aserrín-Fruto (50/50%) y Aserrín-Hojas-Tallo y Fruto (25/25/25/25%). Se evidenció que las hojas de plátano son el sustrato más

adecuado para la fructificación del hongo ya que es el tratamiento que mayor eficiencia biológica exhibe luego de dos cosechas (24.1%).

Residuos agroindustriales como el bagazo de caña de azúcar, el tallo de maíz, el aserrín de renovación de establos y sobras de café de cafeterías fueron evaluados solos y en mezclas para determinar rendimiento, eficiencia biológica, productividad, entre otras variables (Garzón y Cuervo, 2008). Hallaron que la mezcla de café con bagazo de caña o con tallo de maíz arroja los mejores resultados. Se ha cultivado *Pleorotus ostreatus* en compost agotado de champiñón y se obtienen setas de menor tamaño y contenido inferior de proteína y cenizas (Pardo Giménez y Pardo González, 2009). El capacho de uchuva fue evaluado por López-Rodríguez, Hernández-Corredor, Suárez-Franco y Borrero (2008) y obtuvieron con este sustrato una eficiencia biológica de 76.1% en un periodo de producción de 41 días.

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL Y TIPO DE INNOVACIÓN

Se desea identificar por medio de la experimentación un sustrato para el cultivo de *Pleorotus djamor* que permita una excelente producción y posteriormente sea escalado para una innovación de proceso en el Oriente Antioqueño. Se presentan en el artículo resultados parciales del trabajo que indican algunas tendencias; el análisis estadístico inferencial se realizará una vez se obtengan los resultados totales del proyecto.

3.1. Localización

Las actividades experimentales se están llevando a cabo en zona urbana del municipio de Rionegro, ubicado en el Valle de San Nicolás a una a.s.n.m de 2.080 m y temperatura promedio de 18.5°C. Las actividades de laboratorio, se están realizando en Biogestec perteneciente al Tecnoparque Sena Nodo Rionegro, ubicado en el municipio de Guarne, con una temperatura promedio de 17 °C y ubicado a 2150 m.s.n.m.

3.2 Materias primas

Acorde a la actividad agrícola del Oriente Antioqueño y los requerimientos del *Pleorotus djamor*, se seleccionaron las siguientes materias primas para

el experimento: cáscara de frijol, capacho de uchuva, aserrín y compost para champiñón. La cáscara de frijol fue obtenida de un cultivo del municipio de Marinilla, el capacho en la plaza de mercado municipal. El aserrín de roble fue obtenido en la carpintería Los Rendón en el municipio de Rionegro y el compost para champiñón fue donado por la Comercializadora de Champiñones S.A ubicada en el corregimiento de Santa Elena. Una vez colectadas, las cáscaras se secaron a temperatura ambiente. La semilla del hongo fue adquirida en un centro de producción especializado del Carmen de Viboral.

3.3 Formulación y mezclas

Se hizo determinación de humedad de las materias primas con una balanza humedimétrica marca Adam. Se definieron los tratamientos a evaluar: Cáscara de frijol (75%) con aserrín (25%) (control positivo), capacho de uchuva (75%) con cáscara de frijol (25%), compost para champiñón (45%) con aserrín (55%), cáscara de frijol (100%), capacho de uchuva (100%), compost para champiñón (100%). Cada tratamiento tuvo 5 réplicas, cada una de 4 Kg. Se adicionó a cada tratamiento cal agrícola, yeso agrícola, tiamina, aceite vegetal y semilla al 4%. Para garantizar en las mezclas un porcentaje de nitrógeno del 1,2 %, se hizo un cuadrado de Pearson considerando los valores teóricos para cada una de las materias primas; los valores fueron 0.88%, 1.1%, 0.11% y 2.5% para la cáscara de frijol, el capacho de uchuva, el aserrín de roble y el compost para champiñón respectivamente. Los sustratos se sembraron en bolsas plásticas calibre 2 perforadas. Las materias primas fueron pesadas y para disminuir la carga microbiana fueron sumergidas en agua hirviendo durante media hora y posteriormente escurridas hasta alcanzar una humedad del 65%. Una vez sembradas, se aleatorizaron los tratamientos y se dejaron en oscuridad hasta el inicio de la producción. Cuando fueron colonizados los sustratos se indujo un estrés en el cultivo sumergiendo en agua con hielo y se aumentó el diámetro de los agujeros. Al iniciar la producción, se permitió la ventilación en los cultivos. Diariamente se registraron datos de temperatura ambiental y humedad.

3.4 Evaluación de la producción

Se registró para cada tratamiento los días pos-siembra en que aparecieron los primordios y los días a la primera cosecha. Con la producción hasta la fecha de corte para la presentación de estos avances; se determinó la eficiencia biológica (fórmula 1).

$$\text{Eficiencia Biológica} = \frac{\text{Peso fresco de los hongos (g)}}{\text{Peso seco del sustrato (g)}} \times 100$$

Fórmula 1. Determinación de la Eficiencia Biológica (EB)

Fuente. Garzón y Cuervo (2008)

El diseño experimental fue completamente aleatorizado; una vez terminados los ensayos se hará un ANOVA de una vía con un nivel de confianza del 95%, con previa verificación de la distribución normal de los datos y homogeneidad de varianzas. Para determinar diferencias entre tratamientos se hará una prueba de Tukey.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS TÉCNICO DEL PRODUCTO

La temperatura promedio registrada durante el experimento fue de $19.22 \pm 1.9^\circ\text{C}$ y la humedad relativa de $65.1 \pm 4.7\%$. En la tabla 1 se observan resultados de las variables evaluadas, expresados como promedios $\pm$ desviación estándar.

Tabla 1. Resultados de producción de cultivo de *Pleurotus djamor* en diferentes sustratos

Tratamiento	n	Días aparición de primordios pos-siembra	Días a la primera cosecha	Producción promedio (g)	Eficiencia Biológica	Contaminación por tratamiento (%)
Cáscara de frijol + aserrín	4	21 $\pm$ 3.6	32 $\pm$ 4.2	62 $\pm$ 16.2	4.42	20
Capacho de uchuva + cáscara de frijol	4	27.25 $\pm$ 5.1	39.75 $\pm$ 4.0	82.75 $\pm$ 14.9	5.91	20
Compost para champiñón + aserrín	4	14.25 $\pm$ 2.6	27.25 $\pm$ 5.9	87.75 $\pm$ 22.8	6.26	20
Cáscara de frijol	5	22.8 $\pm$ 3.1	34 $\pm$ 3.0	71.8 $\pm$ 9.1	5.12	0
Capacho de uchuva	1	35	N.D*	N.D*	N.D*	80
Compost para champiñón	2	38 $\pm$ 5.6	N.D*	N.D*	N.D*	60

*No definido

Fuente: Elaboración propia.

En términos generales puede decirse que los sustratos basados en mezclas tuvieron una tendencia a mejor comportamiento productivo en el periodo evaluado que los sustratos puros; lo anterior se debe posiblemente a que previo al experimento se hizo un balance de materias primas para garantizar un porcentaje de nitrógeno alrededor del 1.2% acorde al requerimiento de la especie en cuestión; aunque se observan resultados aceptables para la cáscara de frijol 100%. Adicionalmente el aserrín aporta carbono que es indispensable en el cultivo y mejora la estructura de los sustratos por su contenido de lignina.

Los pocos días para la aparición de primordios reflejan pocos días a la primera cosecha. En *Pleurotus ostreatus* cultivado en bagazo de caña, tallo de maíz, aserrín y sobras de café y sus mezclas; los días para aparición de primordios no fue inferior a 30 días (Garzón y Cuervo, 2008). Es posible que el estrés ambiental acelere los procesos con el fin de perpetuar la especie ocasionando bajas producciones.

En cuanto a la producción fue mayor para la mezcla de compost con aserrín, seguido del capacho + cáscara de frijol, la cáscara de frijol y la cáscara más aserrín. Se observaron en las diferentes unidades experimentales zonas tornadas de una coloración verdosa, lo que se atribuye a una posible contaminación con especies del género *Trichoderma* cuyo micelio adquiere esa coloración después de la esporulación, según Romero et al., (2009). Estos autores mencionan que dicho hongo es capaz de obstaculizar el crecimiento del *Pleurotus* por rápida colonización de los sustratos, promoviendo una acidificación de los mismos (pH 4.5) debido a la producción de toxinas y antibióticos.

En la mayoría de los tratamientos se observó contaminación; los reportes para esta variable corresponden a la pérdida de las unidades experimentales; en algunos casos fue del 80%. El *Trichoderma* puede ocasionar pérdidas en el cultivo de hongos comestibles entre el 30 y el 100%. Posiblemente la fuente del hongo indeseable fue una contaminación cruzada en laboratorio cuando se pesaba la semilla para cada tratamiento; esto se asevera ya que estuvo presente en todos los tratamientos incluso en el compost del cual se tenía garantía que venía libre de este microorganismo y se llevó a cabo una desinfección previa del sitio de siembra.

Hasta la fecha de corte de toma de datos para el presente reporte, los tratamientos capacho de uchuva 100% y compost 100% no presentaron producción de cuerpos fructíferos posiblemente debido a contaminación. La producción de las setas está determinada por diferentes variables como la humedad del sustrato, la calidad del mismo, la temperatura ambiental y la humedad relativa y la calidad de la semilla. Las bajas producciones se deben probablemente a que la humedad relativa fue inferior en las diferentes etapas a la requerida; desde la colonización del sustrato hasta la fructificación debe ser superior al 80% (Aguilar, 2012) y en el ensayo se reportó un valor inferior. Dadas las bajas producciones, la eficiencia biológica reportada también fue baja. Al parecer el *Pleurotus djamor* exhibe eficiencias biológicas inferiores a otras especies; Motato, Mejía y León (2006) reportaron para este hongo cultivado en hojas de banano una eficiencia biológica del 24.1% después de dos cosechas. Vega y Franco (2013) para variedades RN81 y RN82 de esta misma especie cultivados en paja de arroz, rastrojo y tuza de maíz obtuvieron eficiencias que oscilaron entre 15.94% y 62.9%. *Pleurotus ostreatus* supera eficiencias del 70% cuando es cultivado capacho de uchuva (López-Rodríguez, Hernández-Corredor, Suárez-Franco y Borrero; 2008).

5. CONCLUSIONES

Materiales lignocelulósicos generados en el Oriente Antioqueño como la cáscara de frijol sola y su mezcla con aserrín, el capacho de uchuva + cáscara de frijol y el compost para champiñón + aserrín son aptos para la producción del hongo ostra rosada; sin embargo, la mayor eficiencia se logra con la última mezcla. Se debe controlar la humedad y parámetros ambientales para aumentar la producción y evitar fuentes de contaminación con hongos como el *Trichoderma*. Se recomienda continuar experimentación con el compost para champiñón mezclado con aserrín para definir factibilidad en el escalado de la producción.

REFERENCIAS

- Aguilar, N (2012). *Evaluación del crecimiento de Pleurotus pulmonarius y Pleurotus ostreatus en dos sustratos bajo condiciones naturales en la granja El Hangar del municipio de Piedecuesta (Santander)*. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga.
- Álvarez, M., & Vega, A. (2016). *Aceptación y apreciación de hongos comestibles Pleurotus djamor por expertos de cocina internacional y su perspectiva de comercialización en restaurantes de hoteles de Panamá*. Año 2010. I+ D Tecnológico, 9(1), 43-49.
- Garzón Gómez, J. P., & Cuervo Andrade, J. L. (2008). *Producción de Pleurotus ostreatus sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia*. Nova Publicación científica en Ciencias Biomédicas. Vol6, 101-236.
- Khokhar,T; Kashiwase, H. (2008). *La población mundial en el futuro en cuatro gráficos*. Retrieved from [http:// https://blogs.worldbank.org/opendata/es/la-poblacion-mundial-en-el-futuro-en-cuatro-graficos](http://https://blogs.worldbank.org/opendata/es/la-poblacion-mundial-en-el-futuro-en-cuatro-graficos) [Octubre 22, 2017].
- López-Rodríguez, C., Hernández-Corredor, R., Suárez-Franco, C., & Borrero, M. (2008). *Evaluación del crecimiento y producción de Pleurotus ostreatus sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca*. Universitas Scientiarum, 13(2), 128-137.
- Motato, K., Mejía, A., León A. (2006). *Evaluación de los residuos agroindustriales de plátano (Musa paradisíaca) y aserrín de abarco (Cariniana piriformes) como sustratos para el cultivo del hongo Pleurotus djamor*. Vitae, 13(1), 24-29.
- Pardo Giménez, A., & Pardo González, J. E. (2009). *Elaboración de nuevos sustratos para cultivo de Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kumm. basados en sustratos degradados por el cultivo de hongos*. ITEA, 105(2), 89-98.
- Romero-Arenas, O., Huerta Lara, M., Huato, D., Angel, M., Domínguez Hernández, F., & Arellano Victoria, D. A. (2009). *Características de Trichoderma harzianum, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles*. Revista colombiana de Biotecnología, 11(2), 143-151.
- Sumpsi, J. M. (2012). *Los retos de la agricultura para alimentar al mundo en 2050*. Tiempo de paz, 106, 37-48.

Implementación de la extracción y análisis de
 β -caroteno en zanahoria (*Daucus carota* L.)
por fluidos supercríticos (FSC) y UHPLC-DAD

IMPLEMENTACIÓN DE LA EXTRACCIÓN Y ANÁLISIS DE β -CAROTENO EN ZANAHORIA (DAUCUS CAROTA L.) POR FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (FSC) Y UHPLC-DAD

Melissa Román Páez^a, Natalia Cadavid Muñoz^a, María Isabel Betancur Nieto^a,
Bladimir Martínez Varela^a, Juan Manuel Monsalve^a, Alex Jiménez Henao^b,
Catarina Pássaro Carvalho^a

^aSENA-Centro de la Innovación, Agroindustria y la Aviación (Grupo GIGACA), marp5518@gmail.com, natalia.cadavidqf@gmail.com, mbetancurn@sena.edu.co, martinezbladimir6@gmail.com, juanmonchomm@gmail.com, cpassaro@gmail.com

^bSENA-Centro de la Innovación, Agroindustria y la Aviación Aprendiz Tecnología en Control de Calidad de Alimentos, ojimenez343@sena.edu.co

RESUMEN

Se considera que la principal fuente de procesos oxidativos, tales como envejecimiento, alteraciones cardiovasculares y procesos cancerígenos son producto de gran cantidad de agentes perjudiciales, incluyendo la polución química, subproductos de combustión, estrés, dieta, entre otros. La zanahoria se ha consolidado como una excelente fuente de antioxidantes (carotenoides) para mitigar este tipo de enfermedades. El objetivo de este trabajo fue implementar un método analítico para la cuantificación por UHPLC-DAD de β -caroteno en la zanahoria, utilizando como método de extracción fluidos supercríticos (FSC). La condición óptima obtenida para la extracción fue de 80 °C y 450 bar, donde se logró cuantificar mayor cantidad de β -caroteno por UHPLC-DAD. Se obtuvo entre 8,5 y 19,5 mg de β -caroteno por cada 100 g de zanahoria, valores normales de acuerdo a los encontrados en la literatura (12 -66 mg). Con el aumento de la temperatura se visualizó un notable incremento en el rendimiento de β -carotenos de hasta 45,8%. La técnica implementada por UHPLC permitió una rápida detección del compuesto, minimizar costos en solvente y mayor velocidad de flujo. Paralelamente, la extracción por FSC permitió acortar el tiempo de extracción, disminuir el consumo de solvente, aumentar el rendimiento

de extracción y mejorar la calidad del extracto, utilizando CO₂ lo que es completamente amigable con el ambiente. Adicionalmente, no hay que evaporarlo ni es contaminante para el usuario y el ambiente, no deja trazas en el extracto por lo que no hay restricciones para su uso en alimentos.

Palabras clave: carotenoides, extracción supercrítica, cromatografía líquida.

ABSTRACT

It is considered that the main source of oxidative processes, such as aging, cardiovascular alterations and carcinogenic processes are the product of many harmful agents, including chemical pollution, products of combustion, stress, diet, among others. The carrot has been established as an excellent source of antioxidants (carotenoids) to mitigate this type of diseases. The objective of this work was to implement an analytical method for the quantification by UHPLC-DAD of β -carotene in the carrot, using Supercritical Fluids (FSC) as a method of extraction. The optimum condition obtained for extraction was 80 ° C and 450 bar, where it was possible to quantify a greater amount of β -carotene by UHPLC -DAD. It was obtained between 8.5 and 19.5 mg of β -carotene per 100 g of carrot, normal values according to those found in the literature (12 -66 mg). We observed with increases up to 45.8% when increased the yield of β -carotene. The technique implemented by UHPLC allowed rapid detection of the compound, minimizing costs in solvent and higher flow rate. At the same time, FSC extraction made it possible to shorten extraction time, reduce solvent consumption, increase extraction efficiency and improve extract quality, using CO₂ which is completely friendly to the environment. Additionally, it does not have to evaporate nor is it contaminating to the user and the environment, leaves no traces in the extract so there are no restrictions for its use in food.

Keywords: carotenoids, supercritical extraction, liquid chromatography.

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas dos décadas, se ha venido investigando la relación existente entre el consumo de vitaminas y/o carotenoides y la génesis del cáncer. Uno de los mayores intereses en relación a los carotenoides, está relacionado

con su acción antioxidante que reduce el estrés oxidativo del organismo, previniendo determinados tipos de cáncer, alteraciones cardiovasculares e inmunológicas (Gomes, 2007; Leung, 2008).

Los carotenoides son pigmentos presentes tanto en el reino animal como en el vegetal con funciones muy importantes. Son compuestos liposolubles responsables del color rojo, amarillo, naranjado y púrpura de las frutas. Químicamente se dividen en Carotenos (ej. Licopeno y β caroteno), los cuales contienen grupos de carbono y de hidrógeno y Xantofilas (ej. luteína, zeaxantina, y β -criptoxantina) considerados derivados oxigenados. El β -caroteno, el α -caroteno y la β -criptoxantina, son considerados precursores de la vitamina A (O'Connell et al., 2007).

Se cree que una de las principales razones para el escaso aprovechamiento de la biodiversidad es la falta de métodos de extracción efectivos para obtener sustancias con la calidad requerida para servir como materia prima en productos destinados al consumo humano, pues son cada vez más crecientes las exigencias de calidad e inocuidad para este tipo de materias primas. La extracción de compuestos bioactivos a partir de fuentes vegetales utilizando solventes es una operación clásica aplicada en muchos procesos industriales, especialmente en la industria farmacéutica y cosmética. Sin embargo, el interés cada vez más creciente por sustancias bioactivas de origen natural impone la necesidad de desarrollar métodos de extracción menos contaminantes y con el máximo rendimiento de sustancias bioactivas, en un corto periodo de tiempo y con bajo costo.

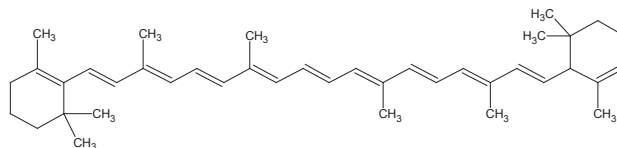
En este contexto, el objetivo de este trabajo se enfocó en la detección y cuantificación de β -caroteno en muestras de zanahoria (*Daucus carota* L.) utilizando UHPL-DAD e implementando como técnica de extracción fluidos supercríticos (FSC), bajo condiciones variables de temperatura en muestras de zanahoria cultivadas en Antioquia

2. REFERENTE TEÓRICO

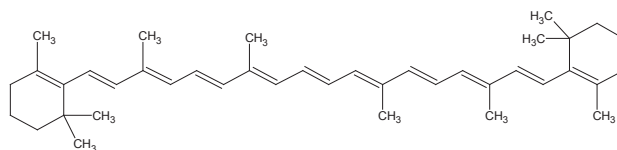
Carotenoides

Actualmente se sabe cómo los carotenoides actúan en las plantas para promover la fotosíntesis, la fotoprotección y la prevención del daño oxidativo, pero hay poca información de los carotenoides dietarios sobre su localización, distribución y acción en las células y membranas humanas y animales (Kupisz, Sujak, Patyra, Trebacz, & Gruszecki, 2008) (Socaciua et al., 2002).

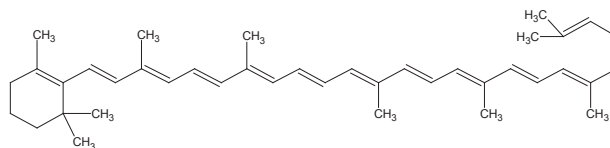
Los carotenoides son pigmentos liposolubles responsables del color rojo, amarillo, naranja y púrpura de frutas y vegetales. Desde el punto de vista químico se pueden dividir en dos grupos, carotenos y xantofilas. Los carotenos se caracterizan por estar compuestos de carbono e hidrógeno, mientras que los segundos tienen en su estructura oxígeno como grupos, hidroxilo, ceto, epoxi, metoxi o ácidos carboxílicos (Rodríguez-Bernaldo de Quirós & Costa, 2006). En la figura 1 se pueden apreciar las estructuras de algunos carotenoides.



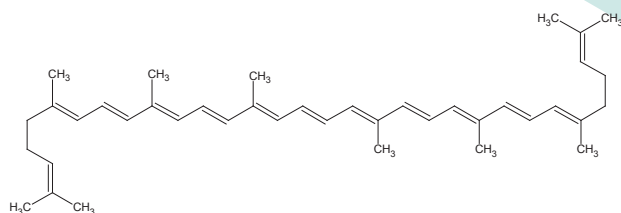
α -caroteno



β caroteno



γ caroteno



Licopeno

Elaborado en con el programa ACD Labs. 6,0.

Figura 1. Estructura de algunos carotenos: a. α -caroteno, b. β caroteno, c. caroteno, d. Licopeno.

Fuente: Elaboración propia, utilizando el programa ACD Labs. 6,0.

Los carotenoides predominantes encontrados en el plasma son el α y el β -caroteno, licopeno, luteína, β -criptoxantina y zeaxantina. Algunos de estos carotenos son empleados ampliamente en experimentos in vitro para demostrar su acción, normalmente asociados con su capacidad antioxidante, la cual es usualmente considerada para explicar sus efectos benéficos en la salud humana (Socaciua et al., 2002)

En el cuerpo humano algunos carotenoides como β -caroteno, licopeno y luteína se localizan en la piel y son considerados de vital importancia en la reducción del envejecimiento de la piel y el riesgo de desarrollar cáncer (Meinke, Darvin, Vollert, & Lademann, 2010). Se ha establecido que la luteína está presente en ojo humano, especialmente en la capa del axón receptor, en los segmentos de los bastones externos y epitelio pigmentario de la retina, donde actúa como un filtro de luz azul para proteger las estructuras subyacentes del daño fototóxico y como antioxidante. Es por eso que una deficiencia en la ingesta de luteína está relacionado con la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) y las cataratas.

En cuanto a los colorantes se ha observado un cambio en la preferencia de estos por parte del consumidor al preferir los naturales sobre los de origen químico. A principios del siglo XX, fueron sintetizados un gran número de colorantes para ser adicionados en los alimentos; sin ninguna precaución, por lo que a mediados de este siglo se comenzó a regular su uso, debido a que muchos de ellos contenían plomo, cobre y arsénico que representan

riesgos muy significativos para la salud del consumidor (De Saint Blanquat, 2000).

Sin embargo, a finales del siglo XX, el mercado ha sufrido un cambio que muestra una fuerte tendencia hacia el consumo de productos de origen natural. Entre las razones que justifican esta preferencia están, principalmente, el cambio en el perfil del consumidor el cual desde finales de la década de los 80 prefiere el uso de productos naturales por considerarlos como símbolo de inocuidad y como productos que aumentan la expectativa de vida o mejoran su calidad, cubriendo de esta manera los sectores salud, alimentación e higiene.

FSC

Actualmente, se han desarrollado diversas técnicas de extracción de compuestos bioactivos siguiendo la tendencia de extracción limpia, entre ellas las más destacas son la extracción con fluidos supercríticos (EFS), la extracción acelerada con microondas (EAM) y la extracción asistida por ultrasonido (EAU). Los fluidos supercríticos (FSC) tienen la capacidad de extraer selectivamente compuestos químicos bajo la combinación de temperatura y presión de un solvente, típicamente dióxido de carbono (CO₂) (Herrero, Cifuentes & Ibañez, 2006). Algunas aplicaciones comerciales de la extracción con los FSC en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria están relacionadas con la obtención de ingredientes bioactivos como insumos para el desarrollo de productos que contribuyan a mejorar el estado de salud o prevenir riesgos de enfermedades.

HPLC

De otra mano, técnicas analíticas como la cromatografía líquida es ampliamente utilizada para la separación, detección y cuantificación de compuestos con baja volatilidad y/o inestabilidad térmica (Queiroz et al, 2012), caracterizándose por su alta sensibilidad, especificidad y reproducibilidad. Además, las fases estacionarias empleadas C18 no resuelven bien todos los picos y en la mayor parte de los estudios realizados en los últimos años se han utilizado columnas de C30 (García et al, 2012). La cromatografía acoplada con la columna C30 resolvió eficientemente quince carotenoides y sus isómeros en un tiempo de ejecución inferior a 20 min. La aplicación de este método a diversas matrices como frutos y hojas de tomate, hojas de Arabidopsis y frutos de pimiento verde mostró

la versatilidad y robustez del método. El método sería útil para el análisis de alto rendimiento de gran número de muestras alimentarias (Gupta et al, 2015)

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Los ensayos fueron realizados en el laboratorio de Biotecnología del Tecnoparque SENA Nodo Rionegro en Antioquia, y los análisis se realizaron con el apoyo de los aprendices asociados al programa de Tecnología en Control de Calidad de Alimentos.

3.1 Reactivos y materiales

Se usó un estándar de β -caroteno marca Sigma-Aldrich Type I, $\geq 93\%$ (UV) (St, Louis, MO, USA), metanol grado HPLC (marca Merck), acetona grado HPLC (marca Merck), cloroformo grado HPLC (marca Merck) y agua tipo I o grado HPLC. La solución madre de β -caroteno de 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ se preparó disolviendo 10 mg en 100 ml de cloroformo con aproximadamente 0,002 g de ácido gálico p.a (marca Merck) y se guardó la solución en congelación (-20°C). Se inyectó una muestra de la solución madre en el UHPLC para identificar por medio del detector DAD aquella longitud de onda en la cual la absorbancia es máxima, valor en el cual se realizarán los análisis posteriores. En cuanto al β -caroteno, su espectro de absorción tuvo un valor de máxima absorbancia a 453 nm

3.2 Preparación y secado del material vegetal

La zanahoria fresca (*Daucus carota* L.) fue adquirida comercialmente en la ciudad de Rionegro (Antioquia) bajo condiciones ambientales normales (aproximadamente 20°C). Los equipos, utensilios, materiales y superficies fueron lavados con Degratex 21 (marca Tecnas) de 50 a 100 ml por litro de agua empleada. Después de verificar que la superficie estuviera completamente limpia, se procedió a aplicar el desinfectante Pentaquat (marca Tecnas) a 400 ppm con un tiempo mínimo de contacto de 20 minutos y se retiró con enjuague.

El material vegetal fue limpiado, lavado y desinfectado por inmersión con Citrosan utilizando 2,5 a 3,0 ml por litro de agua empleada. Aproximadamente 1,5 kilos de zanahoria fresca fueron desintegrados con un rayador de verduras casero y se extendió en una en una bandeja. Luego se deshidrató en un horno de convección forzada (marca Memmert modelo PMP200) a una temperatura de 40°C y un tiempo de secado de 40 horas (figura 2).



Figura 2. Material vegetal seco de zanahoria. Elaboración propia.

Seguidamente, se procedió a medir el porcentaje de sólidos secos (SS) en una balanza de humedad marca Toledo modelo HB47. Se disminuyó el tamaño de partícula del material vegetal seco con un molino de cizalla (marca IKA modelo MF10BS1) a 4000 rpm para obtener un polvo fino.

3.3 Extracción a través de Fluidos Supercríticos (FSC)

En los recipientes del equipo de Extracción por Fluidos Súper Críticos (Marca Applied Separations modelo Spe-SFE versión 4.1) se pesaron entre 40 a 41 g de material vegetal seco y molido. Durante el proceso de extracción por FSC del β -caroteno, a presión controlada de 450 bar, flujo de CO₂ a 5 g/minutos y tiempo de proceso de una hora para cada ensayo. La temperatura se varió en tres niveles: 40, 60 y 80°C para evaluar el efecto de esta variable sobre el β -caroteno extraído en las muestras de zanahoria. Se seleccionó un proceso isobárico y variar la temperatura debido a que se han obtenido mayores rendimientos en altas presiones de trabajo de acuerdo a lo sugerido por de M.M. R. de Melo, 2014.



Figura 3. Extracto con carotenoides extraídos por FSC de muestras de zanahoria.

Fuente: Elaboración propia.

Los extractos obtenidos (figura 3) fueron preservados en viales de vidrio envueltos en papel aluminio para protegerlos de la luz. Seguidamente fueron almacenados en un ultracongelador (marca KALTIS modelo 390) a -80°C hasta su preparación y procesamiento por UHPLC.

3.4 Análisis del β -caroteno por UHPLC

Preparación de la curva de calibración

El rango de linealidad seleccionado para la curva de calibración fue de 2 a 10 $\mu\text{g/ml}$ según lo reportado por Perez et al. (2010). Se prepararon 5 niveles con sus réplicas, con las siguientes concentraciones: 2, 4, 6, 8 y 10 $\mu\text{g/ml}$ diluidos en acetona.

Método de detección y cuantificación

Los análisis fueron realizados por triplicado en un UHPLC UltiMate™ 3000 y los resultados procesados con el software Chromeleon 7.2. (Dionex, Thermo Scientific, United States), equipado con una bomba cuaternaria, un sistema degasificador, un automuestreador y un detector DAD (Detector de Arreglo de Diodos de longitud de onda variable). Las muestras fueron reconstituidas con acetona grado HPLC. Se utilizó una columna Acclaim™ C30 (5 μm , 150 x 4.6 mm) (Dionex Bonded Silica Products, lote No: 01425144 Thermo Scientific, USA), un volumen de inyección de 10 μL y una velocidad e flujo de 1 mL/min a 20 °C. La fase móvil usada fue metanol (A) y acetona (B). La elución fue en gradiente. Durante el primer minuto la fase móvil A se mantuvo al 100% y luego se hizo incrementar la fase móvil B hasta el 100% durante 5 minutos. Finalmente, se regresa al 100% de fase móvil A por 5 minutos, para obtener un tiempo total de gradiente de 12 minutos. El β -caroteno fue detectado a una longitud de onda UV de 453 nm (Znidarčič, Ban, & Sircelj, 2011) e identificado comparando el tiempo de retención y los espectros con los estándares (Álvarez et al., 2015).

Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado con el programa Statgraphics Centurion XVI.II Version 16.2.04 y a través de un análisis de varianza ANOVA se hizo el análisis estadísticos de los datos obtenidos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La humedad en el material seco y desintegrado fue de 8.4% (b.h). En la figura 4, se observan las muestras agotadas de material seco, luego de la extracción del β -caroteno a diferentes temperaturas de proceso en FSC.



Figura 4. Muestras agotadas luego del proceso de extracción en FSC.
Elaboración propia

En la figura 5, se muestran los extractos que fueron disueltos en 10 ml de acetona para luego ser procesado mediante la técnica de UHPLC.



Figura 5. Extractos diluidos en acetona. Elaboración propia.

En la tabla 1, se muestra la cantidad de extracto obtenido luego del proceso de extracción de β -caroteno mediante la técnica de FSC a partir de aproximadamente 40 g de muestra seca.

Tabla 1. Cantidad de extracto de carotenos obtenido por FSC a diferentes temperaturas.

TEMPERATURA (°C)	40	60	80
Peso extracto obtenido en 1 hora de extracción (g)	0,29	0,21	0,27
Rendimiento β -caroteno en la muestra en 1 hora de extracción (%)	21,1	40,2	45,8

Fuente: Elaboración propia.

A continuación, se presenta en la figura 6 la curva de calibración para el rango de linealidad seleccionado:

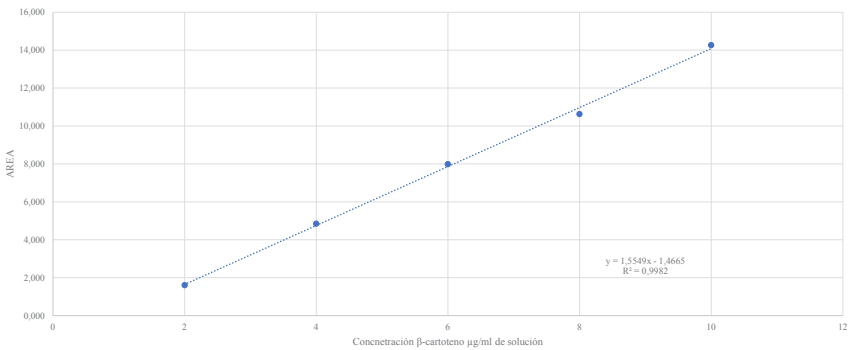


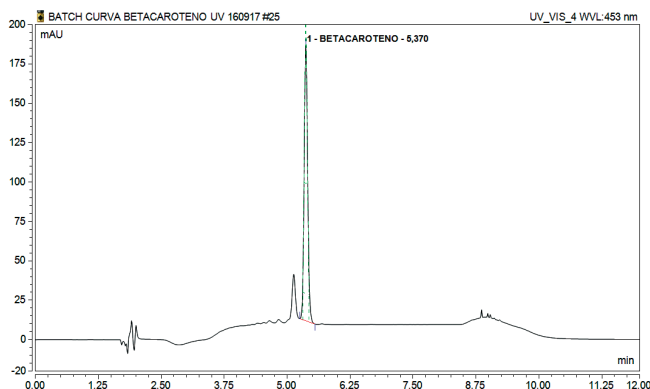
Figura 6. Curva de calibración de β -caroteno en zanahoria ($\mu\text{g/ml}$ de solución).
Elaboración propia.

La ecuación de la recta de calibración obtenida es:

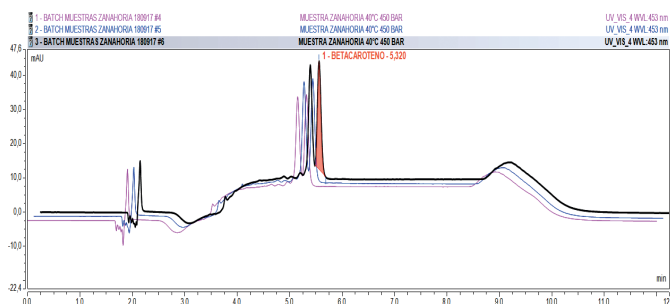
$$y = 1,5549X - 1,4665$$

Ecuación 1. Ecuación de la curva de calibración en el rango de linealidad.

Donde Y representa el área bajo la curva y X el valor de la concentración del β -caroteno presente en la muestra. El coeficiente de correlación obtenido fue de 0,9982.



a.



b.

Figura 7. a. Cromatogramas de la solución madre de β -caroteno.
b. Cromatogramas en extractos de zanahoria. Elaboración propia

En las figuras 7a y 7b se muestran los cromatogramas obtenidos para la solución madre de β -caroteno, concentración 100 μ g/mL a una longitud de onda de 453 nm y tiempo de retención de 5,370 minutos, que al compararlo con los cromatogramas correspondientes a los extractos obtenidos por fluidos supercríticos, se observa el mismo tiempo de retención en todas las muestras, corroborando de esta forma la presencia de este carotenoide en la zanahoria

En la tabla 2 se exponen los resultados obtenidos por UHPLC de β -carotenos presentes en las muestras de zanahoria.

Tabla 2. Concentraciones obtenidas por UHPLC de β -caroteno en muestras de zanahoria extraídas por FSC en diferentes concentraciones de temperatura.

TEMPERATURA	$\mu\text{g } \beta\text{-Carotenos en 100 g de muestra}$
40°C	8456 $\pm$ 620
60°C	16064 $\pm$ 314
80°C	18573 $\pm$ 1899

Fuente: Elaboración propia

De acuerdo a la tabla 2, a través de la técnica de UHPLC y el método empleado, se pudo establecer que a mayor temperatura durante el proceso de extracción en FSC, es mayor la cantidad de β -caroteno presente en el material de zanahoria seco y molido. Lo anterior, también se pudo corroborar por la coloración de cada uno de los extractos reconstituidos en acetona de acuerdo a la figura 5 y a la decoloración gradual en el material agotado de las muestras de zanahoria luego de su proceso de extracción en el equipo de FSC según se aprecia en la figura 4. Sin embargo, no se puede establecer un rendimiento óptimo de extracto por peso de muestra debido al poco tiempo empleado durante la extracción (1 hora) por FSC.

De acuerdo al análisis de varianza ANOVA realizado a los datos obtenidos por UHPCL, el valor P (0,0001) del test F (65,17) fue inferior a 0,05 permitiendo concluir que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de concentración ($\mu\text{g de } \beta\text{-caroteno en 100 g de muestra}$) de un nivel de temperatura a otro con un nivel de confianza del 95,0%.

De acuerdo a la prueba de rangos múltiples se evidenció diferencias significativas entre los tres niveles de temperatura con un nivel de confianza del 95,0% y dentro del cada nivel no se apreciaron diferencias significativas.

Por lo tanto, la condición óptima para la extracción de β -caroteno por FSC, manteniendo las demás variables constantes aumenta significativamente con el incremento de la temperatura, obteniéndose hasta 18,6 mg de β -caroteno por cada 100 g de muestra de zanahoria a una temperatura de 80°C. Dicho valor es mayor a lo reportado por Bonifaz, 2004 donde se obtuvo entre 3 a 13,9 mg de β -caroteno en muestras de zanahoria. Lo anterior debido a la implementación de un proceso de extracción por solventes diferente a FSC. Otros autores como Ventrera, 2012 reportan cantidades entre 12 y 20 mg de mg de β -caroteno en 100 g de muestra.

5. CONCLUSIONES

Los valores encontrados de beta-caroteno en 100g de m.s. de zanahoria por el método de UHPLC-DAD evaluado en este estudio, están por encima de los valores normales reportados en la literatura (entre 8,4 y 18,5 mg).

El proceso de extracción por FSC fue eficaz para la determinación de β -caroteno en zanahoria frente a otros procesos químicos convencionales reportados para la extracción de biocompuestos.

La utilización de condiciones supercríticas es una alternativa de proceso viable, porque volatiliza sustancias no volátiles y termolábiles a temperaturas moderadas como los carotenoides, reduce el requerimiento energético en comparación con la destilación; permite usar disolventes en estado supercrítico sin ser tóxicos para la industria farmacéutica y alimentaria como el CO₂ sin contaminar el producto y el impacto ambiental es nulo.

El sistema UHPLC-DAD proporcionó una satisfactoria detectabilidad y precisión. El método presentó linealidad en el rango seleccionado de 2 a 10 μ g de β -caroteno/ml de solución con un coeficiente de correlación R² del 0,9989. Se plantea la posibilidad de realizar una adecuada validación del método para evaluar los demás parámetros como selectividad, reproducibilidad, repetibilidad, precisión y exactitud. Sin embargo, es necesario realizar estudios de cinéticas de extracción con tiempos de extracción más amplios (mayores de 1 hora) y/o controlando la temperatura. El parámetro de presión no se evaluó ya que diferentes autores pudieron demostrar que a mayores presiones se obtienen un mejor rendimiento de la extracción de β -caroteno.

Es necesario ampliar el número de carotenoides para futuros análisis en UHPLC-DAD y su extracción en FSC, ya que, la zanahoria posee otros tipos de carotenoides como por ejemplo luteína y α -carotenos

4. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, M. V., Hincapié, S., Saavedra, N., Alzate, L. M., Muñoz, A. M., Londoño-Londoño, J., & Jiménez Cartagena, C. (2015). Exploring feasible sources for lutein production: food by-products and supercritical fluid extraction, a reasonable combination. *Phytochemistry Reviews*, 1(2), 10–15.
- Bonifaz Peña, V. E. 2004. Selección de una metodología analítica para la determinación de provitamina A (beta-caroteno) en muestras de jugo de zanahoria (*daucus carota*). Tesis Licenciatura. Biología con área en Biotecnología. Departamento de Química y Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de las Américas Puebla. Junio. 2004.
- Fikselová M., Šilhár S., Mareček J., Frančáková H. (2008): Extraction of carrot (*Daucus carota* L.) carotenes under different conditions. *Czech J. Food Sci.*, 26: 268–274.
- García S; Pérez R. M. (2012). Aspectos Analíticos sobre la Determinación de Compuestos Carotenoides en Microalgas mediante Cromatografía de Líquidos con Detector de Diodos. Ministerio de Econocmpia y Competitividad. Tomado de: http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/_Public/43/028/43028577.pdf
- Gomez, F.S. Carotenoides: uma possível proteção contra o desenvolvimento de câncer. *Revista de Nutrição*, v.20, p.537-548, 2007.
- Gupta, P., Sreelakshmi, Y., & Sharma, R. (2015). A rapid and sensitive method for determination of carotenoids in plant tissues by high performance liquid chromatography. *Plant Methods*, 11, 5. <http://doi.org/10.1186/s13007-015-0051-0>
- Kupisz, K., Sujak, A., Patyra, M., Trebacz, K., & Gruszecki, W. I. (2008). Can membrane-bound carotenoid pigment zeaxanthin carry out a transmembrane proton transfer? *Biochimica et Biophysica Acta*, 1778, 2334–2340.
- Lancrajan, I., B, H. A. D., Socaciu, C., Engelke, M., & Zorn-Kruppa, M. (2001). Carotenoid incorporation into natural membranes from artificial carriers: liposomes and B-cyclodextrins. *Chemistry and Physics of Lipids*, 112, 1–10.

Leung, I.; Phill, M. Macular pigment: new clinical methods of detection and the role of carotenoids in age-related macular degeneration. *Optometry*, v.79, p.266-272, 2008.

Moeller, S. M., Jacques, P. F., & Blumberg, J. B. (2000). The Potential Role of Dietary Xanthophylls in Cataract and Age-Related Macular Degeneration. *Journal of the American College of Nutrition*, 19, 522S-527S.

O'Connell, O. F., Ryan, L., & O'Brien, N. M. (2007). Xanthophyll carotenoids are more bioaccessible from fruits than dark green vegetables. *Nutrition Research*, 27(5), 258-264. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2007.04.002>

Socaciua, C., Bojarskib, P., Aberlec, L., & Diehld, H. A. (2002). Different ways to insert carotenoids into liposomes affect structure and dynamics of the bilayer differently. *Biophysical Chemistry*, 99, 1-15.

Pinhero-Santana, Helena Maria, Stringheta, Paulo César, Brandao, Sebastião César Cardoso, Páez, Héctor Hernando, & Queiroz, Valéria Maria Vitarelli de. (1998). Evaluation of total carotenoids, alpha- and beta-carotene in carrots (*Daucus carota* L.) during home processing. *Food Science and Technology*, 18(1), 39-4. <https://dx.doi.org/10.1590/S0101-20611998000100009>

Queiroz, S. C. N.; Ferracini, V. L.; Rosa, M. A. Validación de método multiresiduo para la determinación de pesticidas en alimentos empleando QuEChERS y UHPLC-MS/MS. *Química Nova*, v. 35, p. 185-192, 2012

Ventrera, Nancy Beatriz, Vignoni, Lucía, Alessandro, María Soledad, Césari, Matilde, Césari, Ricardo, Guinle, Viviana, Giménez, Adriana, & Tapia, Olga. (2013). Caracterización por contenido de β -carotenos de ocho cultivares de zanahoria (*Daucus carota* L.) y su relación con el color. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 45(2), 00. Recuperado en 10 de octubre de 2017, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1853-86652013000200016&lng=es&tlng=es.

Determinación de un método para el
establecimiento *in vitro* de orquídeas
adaptado a condiciones y recursos de los
estudiantes de la I.E Técnico Rural de Marinilla

DETERMINACIÓN DE UN MÉTODO PARA EL ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DE ORQUÍDEAS ADAPTADO A CONDICIONES Y RECURSOS DE LOS ESTUDIANTES DE LA I.E TÉCNICO RURAL DE MARINILLA

Yuliana Montoya Pérez^a, Stefany González Suárez^a, Valentina Suárez Giraldo^a, Luisa Fernanda Serna Saraza^a, Santiago Londoño Chica^b, Liliana María Cardona Bermúdez^c

^aSENA, Centro de la Innovación, la Agroindustria y la Aviación, Semillero de Investigación. Aprendiz Técnico en Sistemas Agropecuarios Ecológicos Articulación SENA Educación Media (ASEM), yuli02258@gmail.com, c.stefanygonsu@gmail.com, valensuarez84@gmail.com, luisaaferr15@gmail.com

^bSENA, Centro de la Innovación, la Agroindustria y la Aviación, Semillero de Investigación ASEM, Instructor ASEM, slondono944@misena.edu.co

^cSENA, Centro de la Innovación, la Agroindustria y la Aviación, Grupo de investigación Interacción Genotipo x Ambiente y calidad de Alimentos, Tecnoparque Nodo Rionegro, lilianacardona@misena.edu.co

RESUMEN

Como una estrategia de conservación de las orquídeas, se determinó un método para producirlas *in vitro*. Se evaluaron diferentes protocolos de desinfección de la semilla con hipoclorito y peróxido de hidrógeno y medios artesanales: plátano, tomate, tomate + zanahoria hasta la aparición de protocormos. El método de desinfección más eficiente involucra el uso de hipoclorito de sodio al 5%. El medio artesanal más eficiente tiene como base el plátano, con porcentajes de germinación del 50%. Se evidenció contaminación que no impide el desarrollo de la planta. Este trabajo es la base para continuar con la estandarización de la producción *in vitro* de orquídeas en la I.E Técnico Rural de Marinilla.

Palabras clave: Biotecnología vegetal, epífitas, laboratorio, medios de cultivo

1. INTRODUCCIÓN

Las orquídeas son plantas epífitas que pueden ser cultivadas de manera simbiótica o asimbiótica con fines ornamentales lucrativos o recreativos. En el mundo existen alrededor de 1.000 géneros y 35.000 especies. Colombia es el país con mayor número de especies de orquídeas y en la actualidad tiene registradas alrededor de 4270 especies, de las cuales 1572 son exclusivas. La región Andina posee 944 especies endémicas que equivalen a más del 78% de las registradas en el territorio nacional (Betancur et al., 2015).

Existe un alto riesgo de extinción de diferentes variedades por actividades antrópicas que afectan los ecosistemas donde crecen estos organismos, incluyendo los polinizadores específicos existentes. Esas actividades son básicamente la deforestación para extracción de madera, establecimiento de cultivos y potreros para ganadería, minería y desarrollo urbano (Betancur et al., 2015). Es indispensable entonces enriquecer la investigación relacionada con producción in vitro con el fin de identificar protocolos como una estrategia para la conservación de diferentes especies y adicionalmente que permitan obtener rentabilidad en la producción con un enfoque sostenible. El objetivo del trabajo fue determinar un método para el establecimiento in vitro de orquídeas adaptado a condiciones y recursos de los estudiantes de la I.E Técnico Rural de Marinilla.

2. REFERENTE TEÓRICO

El cultivo in vitro se ha considerado como una herramienta que permite obtener material vegetal en masa ocupando espacios reducidos, con facilidad de transporte, uniformidad en la producción, control de diferentes condiciones ambientales que facilitan la investigación y estudios de diferentes procesos fisiológicos (Segretín, 2006). Su implementación se puede convertir en una de las más importantes estrategias para conservación ex situ y formar bancos de células, tejidos o plantas.

México es un país líder en investigación para producción de orquídeas. Se han usado diferentes medios para la producción de orquídeas: Murashige and Skoog (Mendoza, 2016), este medio suplementado con extractos orgánicos, agua de coco, peptona, carbón activado y polivinil pirrolidona (Flores et al.,

2008) y el medio Knudson C, y el Dalla Rosa y Laneri modificados (Damon et al., 2004). Se encontraron porcentajes de germinación en los diferentes estudios entre 49.67% y 93.2%. Se mencionan soluciones desinfectantes con hipoclorito de sodio, tween 20 y soluciones jabonosas.

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Se llevó a cabo una investigación aplicada de tipo descriptivo en el área de propagación in vitro de orquídeas.

3.1 Localización

Los experimentos se llevaron a cabo en el Laboratorio Biogestec perteneciente al Tecnoparque Sena Nodo Rionegro, ubicado en el municipio de Guarne, con una temperatura promedio de 17 grados centígrados y ubicado a 2150 m.s.n.m.

3.2 Material vegetal

Se emplearon 2 cápsulas maduras completamente cerradas de una variedad mini de orquídea que fue donada por el Vivero Cielo Roto del municipio de Caldas (Antioquia). No se llevó a cabo una identificación taxonómica de la misma.

3.3 Experimento

Se evaluaron diferentes medios artesanales: plátano, tomate, tomate + zanahoria. La formulación de dichos medios se observa en la tabla 1. Adicionalmente se evaluó el jugo de vegetales V8®, compuesto por agua y jugos concentrados de tomate, zanahoria, remolacha, apio, perejil, puerro, lechuga, espinaca, sales (menos del 2%), ácido ascórbico y ácido cítrico. En la preparación de los medios; los tomates y las zanahorias se lavaron con agua limpia, se pelaron y fueron sumergidos en una solución de Citrosan® a una razón de 3 ml por litro de agua durante 15 minutos y no se enjuagaron. Se utilizó licuadora para obtener pulpas, que fueron depositadas en tubos cónicos de 50 ml. Se sometieron a centrifugación a 4700 rpm durante 5

minutos para obtener el zumo. Esta operación se repitió hasta lograr el mayor volumen posible. El zumo fue filtrado en tela para retirar partículas de gran tamaño y posteriormente en papel filtro cualitativo grado medio rápido corrugado. Fueron llevados a cabina de flujo laminar y se filtraron con acrodiscos de 0.2 μm diámetro de ojo, utilizando jeringas y tubos cónicos estériles, excepto el zumo de tomate por falta de disponibilidad de acrodiscos. Para este caso en particular se adicionó una gota del fungicida Tecnomyl®. Los demás componentes de los medios se pesaron, se homogenizaron en plancha de calentamiento con agitación magnética y se esterizaron a 121°C, 15 libras de presión durante 15 minutos. Una vez alcanzaron una temperatura inferior a los 45°C, se mezclaron con los zumos y se vertieron en frascos de vidrio estériles hasta alcanzar los 30 ml por frasco. Se dejaron reposar dentro de la cabina de flujo laminar hasta que polimerizaron. Se realizó la determinación del pH de cada uno de los medios. Se evaluaron dos protocolos de desinfección: sumergir una cápsula de orquídea en hipoclorito de sodio al 5% durante 10 minutos, lavar con agua destilada estéril, sumergir en etanol al 70% y flamear. El otro procedimiento consistió en sumergir cápsula en peróxido de hidrógeno al 3% durante 10 minutos con los pasos sucesivos idénticos al mencionado anteriormente. Una vez desinfectadas; cada cápsula fue llevada a una caja de Petri estéril, se le hicieron cortes y con una pinza estéril las semillas fueron depositadas en los frascos con los medios. Posteriormente, se taparon con papel film (vinipel) y se almacenaron a temperatura ambiente sometidas a un régimen de fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

El diseño experimental consistió en evaluar 4 medios: V8, tomate, tomate + zanahoria y plátano. Cada medio se sembró con semillas sometidas a diferentes protocolos de desinfección: hipoclorito de sodio al 5% y peróxido de hidrógeno al 3%. Se tuvieron 4 repeticiones por medio, dos de los cuales correspondían a cada uno de las formas de desinfección. Adicionalmente para verificar la efectividad del protocolo de desinfección, se tuvo un control negativo consistente únicamente en medio artesanal. Las variables respuesta fueron el porcentaje de germinación y la contaminación encontrada. Dicha evaluación se llevó a cabo 50 días posteriores a la siembra. Se llevó a cabo un análisis estadístico descriptivo de los datos.

Tabla 1. Formulación de medios artesanales utilizados para un volumen final de 150 ml.

	Zumo Plátano	Zumo Tomate	Zumo Tomate + Zumo zanahoria	V8
Componente principal	73 ml	80 ml	25 ml + 15 ml	150 ml
Agar agar	2.4 gr	3,3 gr	2,4 gr	2.25 gr
Sacarosa	3.3 gr	2,4 gr	3.75	0
Tiamina	300 mg	300 mg	300 mg	0
Agua destilada	77 ml	70 ml	110 ml	0

Fuente: Elaboración propia.

4. RESULTADOS

Con respecto a los medios, todos exhibieron un pH ácido. Se realizó la determinación para cada uno mostrando los siguientes valores: V8 5.7, tomate y zanahoria 5.2, tomate 4.8 y plátano 5.1. En términos generales, en el experimento se encontró un porcentaje de germinación de la orquídea de 25%, evidenciada con la formación de protocormos (masa tuberosa que corresponde a la forma embrionaria de la orquídea) de color verde. El porcentaje de contaminación fue del 45% en todo el ensayo (figura 1).



Figura 1. a y b. Formación de protocormos de orquídea in vitro. c. Contaminación de cultivo con hongos. Fuente. Elaboración propia

En la figura 2 se observa el porcentaje de germinación en cada medio de cultivo utilizado.

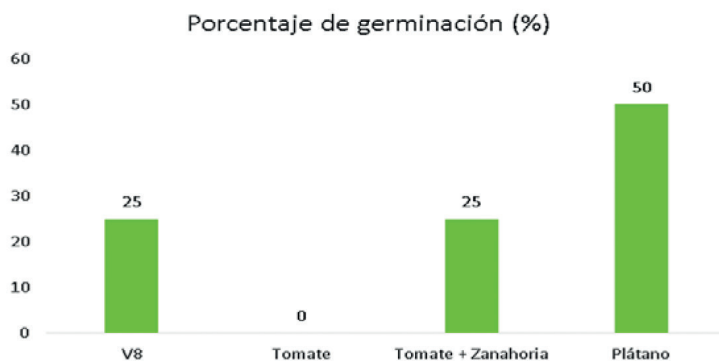


Figura 2. Porcentaje de germinación de orquídeas según el medio de cultivo

Fuente. Elaboración propia

La contaminación encontrada por medio de cultivo se muestra en la figura 3.

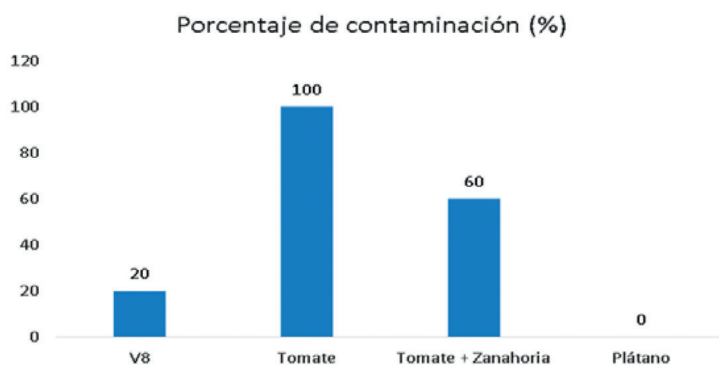


Figura 3. Porcentaje de contaminación de orquídeas según el medio de cultivo

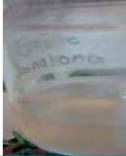
Fuente. Elaboración propia

En relación a los controles negativos usados para los protocolos de desinfección en cada medio de cultivo, la tabla 2 describe la presencia o ausencia de la misma.

Se presentaron tres tipos de contaminación en los diferentes cultivos: hongos, caracterizados por su aspecto algodonoso, de color blanco o de color verdoso; bacterias con aspecto cremoso, de color blanquesino o marrón; en algunos medios se observó presencia de ambos tipos de microorganismos (figura 4). No se llevó a cabo ningún método de identificación de los mismos.

En los medios de cultivo cuyo control negativo no presentó contaminación con microorganismos, se determinó la efectividad del protocolo de desinfección, la cual se muestra en la figura 5.

Tabla 2. Presencia o ausencia de contaminación en los controles negativos.

Medio de cultivo	Contaminación	Observación
V8	Negativa	
Tomate	Positiva	
Tomate + Zanahoria	Positiva	
Plátano	Negativa	

Fuente: Elaboración propia.

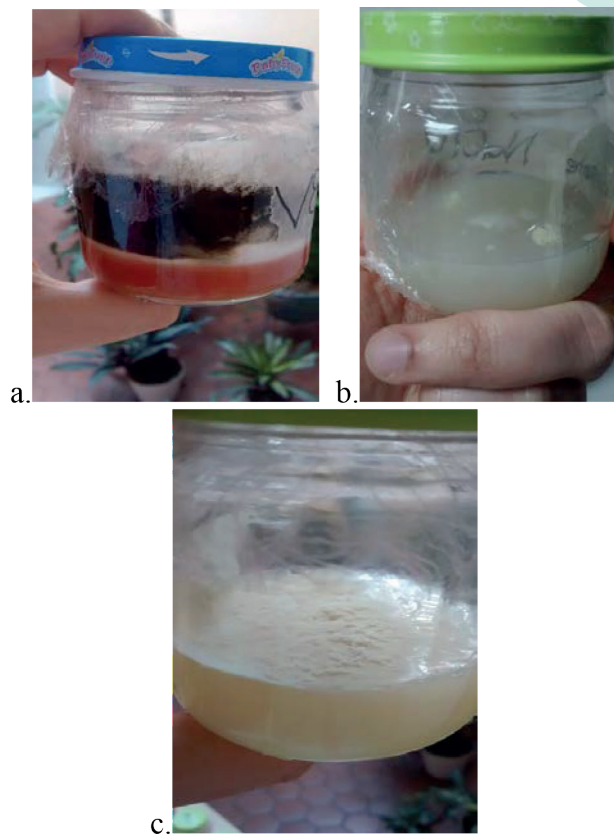


Figura 4. Tipos de contaminación en diferentes medios de cultivo
Fuente. Elaboración propia

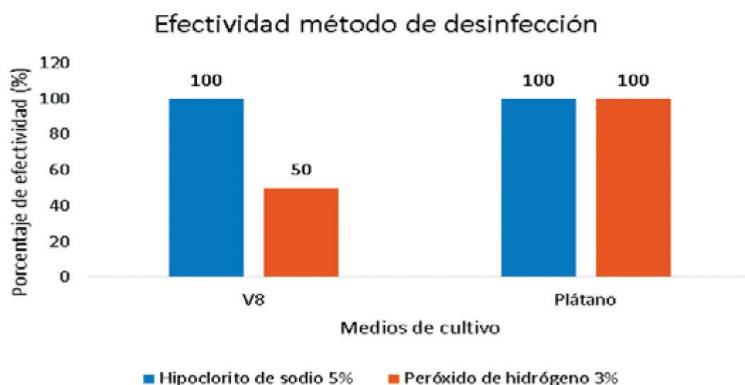


Figura 5. Eficiencia del proceso de desinfección de semilla según el medio de cultivo

Fuente. Elaboración propia

Según los resultados del experimento, los pH de los medios se encontraron entre 4,8 y 5,7. Se ha reportado que la mayoría de orquídeas germinan a pH de 5.5 y algunas especies de la zona andina entre 5.5 y 5.9 (McKendrick, 2000). Si relacionamos esto con la germinación, no necesariamente el medio con valor de pH más cercano a 5.5 fue el mejor, ya que el medio con plátano mostró mejores resultados que el V8 que estaba en pH de 5,7. Lo anterior indica que la germinación es un evento mediado por diferentes variables entre las que se encuentran el estado de maduración de la semilla, la disponibilidad de nutrientes en el medio de cultivo, la presencia de factores de crecimiento, el fotoperiodo, la temperatura, entre otros.

En el presente trabajo no se consideró la especie de orquídea que se trabajó debido al desconocimiento y falta de herramientas para hacerlo. Adicionalmente tampoco se definió el estado de madurez de la cápsula; únicamente por el cambio de coloración de verde a marrón que sufrió desde la recolección hasta la siembra, se asumió que se presentó este evento fisiológico.

La maduración es un factor que influye en la germinación. De igual manera el fotoperiodo. En el momento de la evaluación, algunos de los cultivos no habían germinado aún pero posiblemente estaban en proceso. Algunos factores desconocidos pueden tener influencia en este aspecto. Se

sometieron los cultivos a un fotoperiodo 12:12 luz:oscuridad. Damon et al (2004) trabajaron en algunas especies de orquídea 16:8 con una intensidad de luz de 3,500 lux utilizando lámparas de luz día. En este mismo trabajo la temperatura osciló entre 25 a 28 °C. En el presente estudio fue de 20°C aproximadamente.

El medio de cultivo con plátano fue el que mayor porcentaje de germinación exhibió. Es probable que el contenido de solutos que tiene favorece el desarrollo hasta la formación de protocormos. El tomate siempre ha sido referenciado en el conocimiento ancestral como benéfico para las orquídeas. En este estudio el medio basado en tomate no germinó posiblemente por la contaminación. Si bien se observó en el experimento germinación a pesar de la contaminación, es posible que el tipo de hongos y/o bacterias presentes produzcan algún tipo de inhibición en el desarrollo del material vegetal.

Se ha reportado que la adición de factores de crecimiento como ANA (ácido 1-naftalenacético) y BAP (6-bencilaminopurina), aumentan el porcentaje de germinación y el número de brotes (Villa y Arbeláez, 2015).

En cuanto a la contaminación, el medio con tomate exhibió el mayor porcentaje ya que el zumo no fue filtrado con acrodisco y la cantidad de fungicida adicionado no fue suficiente. Las bacterias son el tipo de microorganismo más observado en el experimento. Si bien se quiso probar un protocolo de desinfección, hay que considerar que una mala manipulación del material y herramientas contribuye a la contaminación. Esto se evidencia en los medios con tomate y tomate + zanahoria, donde se encontró que los controles negativos salieron positivos para presencia de bacterias y hongos respectivamente. Es necesario entonces mejorar en ese aspecto. Se presentó una mayor efectividad en los protocolos de desinfección con hipoclorito de sodio. Se requiere el uso de herramientas estadísticas que ayuden a determinar la interacción de los medios con los desinfectantes, ya que en el caso del V8 la efectividad del peróxido disminuyó un 50% comparada con la del plátano.

5. CONCLUSIONES

Los medios artesanales pueden ser una buena alternativa para el cultivo in vitro de orquídeas ya que se evidencia la formación de protocormos. El medio artesanal evaluado más eficiente tiene como base el plátano. Los cultivos deben de estar sometidos a una temperatura promedio de 20°C y a un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. El método de desinfección más eficiente y económico de la cápsula es el que involucra el uso de hipoclorito de sodio al 5% durante 10 minutos, seguido por lavado con agua destilada estéril, inmersión en etanol al 70% y flameado. El desarrollo del protocormo en algunos casos puede darse en presencia de microorganismos.

6. REFERENCIAS

- Betancur, J., Sarmiento, H., Toro-González, L., & Valencia, J. (2015). Plan para el estudio y la conservación de orquídeas en Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Instituto de Ciencias Naturales y Ministerio de Ambiente.
- Damon, A., Aguilar, G. E., Rivera, L., & Nikolaeva, V. (2004). Germinación in vitro de semillas inmaduras de tres especies de orquídeas de la región del Soconusco, Chiapas, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 10(2), 195-203.
- Flores-Escobar, G., Legaria-Solano, J. P., Gil-Vásquez, I., & Colinas-León, M. T. (2008). Propagación in vitro de *Oncidium stramineum* Lindl., una orquídea amenazada y endémica de México. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 14(3), 347-353.
- McKendrick, S. (2000). Manual para la germinación in vitro de orquídeas. Ceiba Fundación para la Conservación Tropical. Universidad San Francisco de Quito.
- Mendoza, I. (2016). Eficiencia de los medios nutritivos basales: sólido y líquido en la etapa de establecimiento in vitro de la orquídea “Tripita” *Trichopilia tortilis* Lindl. *Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible*, 5, 43-57.

Murashige, T.; Skoog, F. 1962. A Revised Medium of rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.

Rodríguez, L. et al. Producción y recuperación de orquídeas silvestres cubanas. [En línea]. Cuba. 2005. ISBN 959-250-156-4. Disponible en: www.dama.gov.co.

Segretín, M. E. (2006). Los cultivos celulares y sus aplicaciones II (cultivos de células vegetales). Consejo argentino para la información y el desarrollo de la biotecnología.

Villa Ramírez, R, & ARBELAEZ, L. (2015). Establecimiento in vitro de orquídeas “*Cattleya mendelii*” a partir de semillas. [En línea] Recuperado de: <http://repositorio.uniquindio.edu.co/handle/123456789/520> [Consultado en noviembre de 2016]



Robot Jardinero - Desarrollo de Producto Mínimo Viable

ROBOT JARDINERO - DESARROLLO DE PRODUCTO MÍNIMO VIABLE

Jhon Edison Chica^a, Sebastian Patiño Perez^a, Esteban Ocampo Ordoñez^b

^aSENA, Aprendiz Tecnólogo en Mantenimiento electromecánico, echica70@misena.edu.co, spatino407@misena.edu.co

^bSENA, Dinamizador Tecnoarque Nodo Rionegro, eocampoo@sena.edu.co

RESUMEN

El robot jardinero es un proyecto desarrollado por aprendices del programa de Tecnología en Mantenimiento Electromecánico con el apoyo del Tecnoparque Nodo Rionegro, que surge de la necesidad de buscar alternativas para atender labores del campo que actualmente suelen tener poca oferta de mano de obra, teniendo en cuenta que la tecnificación y automatización de actividades agrícolas, es una tendencia actual a nivel mundial como se evidencia en las búsquedas realizadas. El robot desarrollado busca atender labores de corte, recolección de desechos, riegos específicos y monitoreo de variables en un entorno definido por el usuario desde una aplicación móvil.

Palabras clave: Agricultura, Robótica, Aplicación móvil, Automatización, monitor de variables

1. INTRODUCCIÓN

Colombia necesita reactivar el campo, la agricultura, debido al trabajo pesado, las tareas repetitivas y la poca motivación que ven los jóvenes en estas actividades, se dificulta conseguir mano de obra para dichas labores. Por lo tanto, el uso de nuevas tecnológicas, la tecnificación por medio de la

robótica, la automatización y demás, tienen un efecto positivo, que permite mejorar la producción, la rentabilidad y suplir la falta de mano de obra.

Los hogares del futuro van a tener robots para realizar diversas tareas, una de ellas y enfocándonos en Colombia es un robot para cuidar un cultivo, zonas verdes, jardines, etc. Como, propuesta a esta visión y a la necesidad de mano de obra para realizar este tipo de actividades se presenta la construcción de un robot jardinero que pueda cortar el césped, recoger hojas secas, regar las plantas de acuerdo a la necesidad hídrica que ella tenga, y la medición de variables para el monitoreo y control de condiciones de evapotranspiración de las plantas.

2. ESTADO DEL ARTE DEL DESARROLLO TECNOLÓGICO Y/O INNOVACIÓN

La tecnificación del campo es una tendencia a nivel mundial. Hemos encontrado la aplicación de diferentes tecnologías, como el uso de espacios con climas controlados y sistemas de riego que facilitan la aplicación de fertilizantes, pesticidas, entre otros. También se identifican nuevas técnicas de cultivo sin usar suelo convencional como la hidroponía, aeroponía y acuaponía que suministran a la planta los nutrientes disueltos en agua. Estas tecnologías suelen ser controlados por sistemas electrónicos con procesos automatizados.

Los procesos de siembra y cosecha, también han sido permeados por mecanismos o sistemas automáticos que facilitan y aceleran dichos procesos. Se encontraron equipos que facilitan la siembra de plántulas, de arroz, flores, o que depositan semillas, de papa, maíz, etc. (Ngan Khanh, 2011) En la cosecha se han identificado recolectoras de maíz y de papa. La empresa Agrobot tiene un robot para cosechar fresas (Agrobot, 2015). En general se están usando a nivel mundial máquinas y robots que mejoran la productividad en las labores agrícolas (Kubota, 2014) (Terradonis, 2009).

En las labores de jardinería también se encuentran robots, con la búsqueda realizada se presenta una comparación en la Tabla 1. la cual posee una descripción que resalta la cualidad diferenciadora del robot o equipo comercial.

Tabla 1. Robot jardineros en el mundo.

Nombre	Precio USD	Característica
Roomba	250	Su forma de trabajo es detectar plantas de menos de 2 cm por medio de sensores las cuales las reconoce como hierbas malas. (Ecoticias 2016)
Corta césped	1.750 hasta 20.000	Realiza su trabajo y apenas termina o siente que está agotado de carga vuelve a su base para recargarse autónomamente.
LawnBott LB3500	3600.	Es anunciado como el robot jardinero más sofisticado del mundo, puede ser controlado via Bluetooth desde cualquier dispositivo con ello (Móviles, PDA's, PC's...), dispone de sensores de proximidad, base de carga automática, e incluso una alarma antirrobo (Lawnbott 2008.)
LawnBott SpyderEvo.	1750	Esta cortadora semi-automática trabaja estableciendo un perímetro de zona de corte y con sus sensores es capaz de saber por dónde ha pasado así como detectar los obstáculos. sube cuestas con una pendiente de hasta 27°.
FarmBot	3100	Siembra semillas, riega las plantas y se deshace de las malas hierbas usando diferentes herramientas según la tarea en cuestión. El software es de código abierto (Farmbot 2016.)
jardinero de tomates	3000	Se desplazan a través de un jardín sobre una base similar a una aspiradora Roomba, pueden regar cosechar y polinizar plantas de tomates perita. (Informador 2009)
Honda Miimo	4000	Siega sólo 2-3 mm de hierba a la vez, los recortes que crea son tan pequeños que se dispersan en el sistema de raíces del césped, para actuar como un fertilizante natural. Funciona en uno de tres modos: "aleatorio", "direccional" o "mixto", en función del tamaño y el tipo de jardín (Axxón. Eduardo J. Carletti. 2012)
Droplet	300	Es un robot que riega las plantas del jardín, permite ahorrar 90% del agua comparado con los otros sistemas. (Engaget, Jose Mendiola 2014)

Fuente: Elaboración propia.

De la comparación se observa que los diferentes robots realizan una sola actividad en su mayoría. Por lo tanto, puede ser interesante construir un robot que reúna varias de las condiciones aquí presentadas y que a su vez pueda tener un control sencillo para ser usado por cualquier persona.

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL Y TIPO DE INNOVACIÓN

Como etapa inicial se realizó una búsqueda para conocer robots similares, encontrando que en el mundo se comercializan, algunos con diversas capacidades, como se describió en el ítem anterior. Posterior a ello se realizó un proceso de ideación donde se identifican las funcionalidades y características que se pueden adoptar y mejorar de los desarrollos actuales. Luego se realizaron diseños y prototipos que permitieron validar las funcionalidades definidas de forma separada. Por último, se integraron. El proceso de diseño se realizó en autodesk, la programación del hardware se realizó en Arduino y la aplicación móvil se desarrolló en app inventor, la estructura del robot se construyó usando kit de robótica VEX, permitiendo validar de forma rápida los prototipos.

El tipo de innovación está enfocada en producto y proceso debido a que se obtiene una propuesta diferente a los robots encontrados en la búsqueda y una mejora en el proceso de control del robot.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS TÉCNICO DEL PRODUCTO

Con este trabajo se logra la integración de las diferentes tecnologías y una propuesta de mejora en el proceso de control mediante una aplicación móvil y un sistema de automatización de las tareas por medio de la grabación de acciones tele controlada, permitiendo con esto el aprendizaje de proceso definidos por el usuario.

El trabajo realizado permitió generar competencias adicionales de programación en app inventor, arduino y diseño mecánico en los aprendices del programa de Tecnología en Mantenimiento Electromecánico del Sena.

Al exponer este trabajo en eventos internacionales VEX robotic star truck 2017 y robot rave 2017, y al haber realizado transferencias a aprendices SENA y a estudiantes de colegios del municipio de la Unión se logra una apropiación social de conocimiento, permitiendo que los jóvenes puedan empezar a ver la robótica y la automatización como un potencial alto para

resolver los problemas de la agricultura y la seguridad alimentaria en la actualidad.

4.1 Funcionalidades

El robot posee un conjunto de herramientas que permiten desempeñar labores comunes en un jardín para el cuidado de las plantas ornamentales y flores, a su vez busca mantener un cuidado sobre el césped o zona verde.

Corte de malas hierbas o césped

Se exploran diferentes tipos de cuchillas para ello, se busca cortar el pasto entre 2 y 3 milímetros, para que no se tenga que recoger el pasto cortado y esto sirva de abono para el suelo.

Recoger desperdicios

En los jardines y zonas verdes suele encontrarse material vegetal en descomposición y basura, para ello el robot cuenta con un sistema de escobillas para recoger estos elementos y poderlos transportar a un lugar de acopio.

Sistema de medición y riego

En los jardines las plantas presentan diferentes necesidades hídricas, para resolver esto el robot cuenta con sensores de humedad y temperatura, que le permiten calcular si la planta requiere o no agua.

Con este sistema de riego también se pueden suministrar líquidos fertilizantes, insecticidas o fungicidas, dependiendo de lo que desee el usuario.

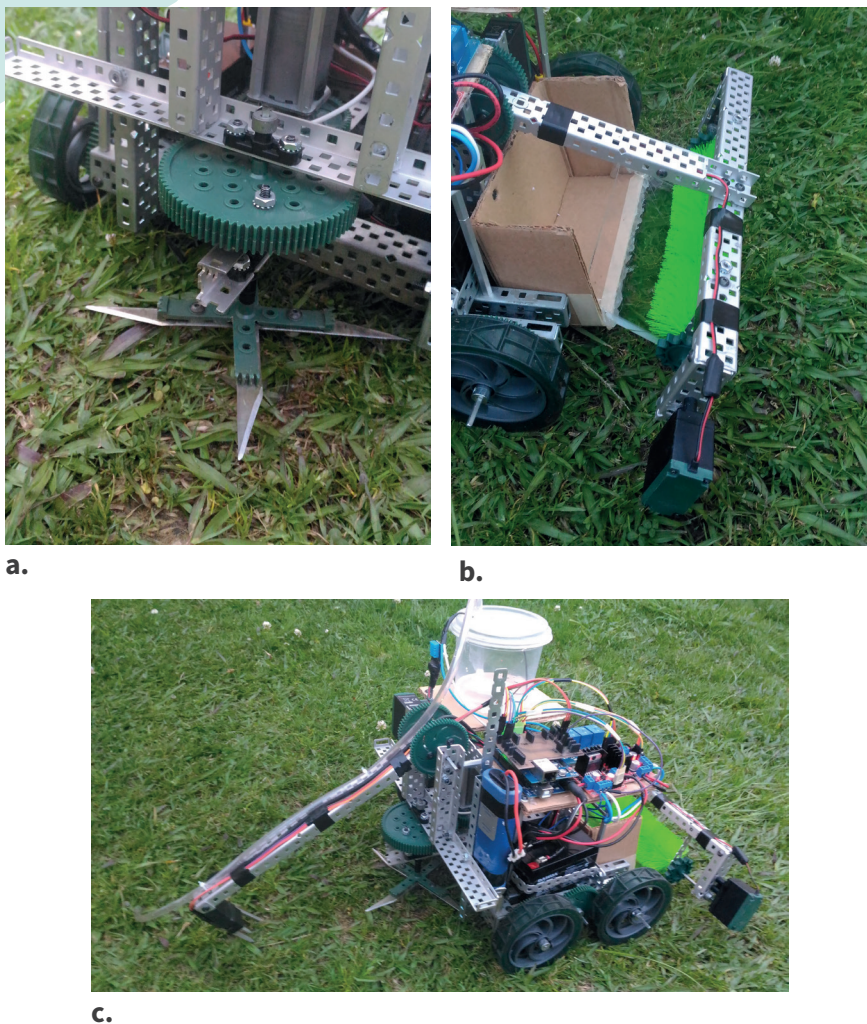


Figura 1. Dispositivo corta-césped, para medir y regar, recoger basura.

Fuente. Elaboración propia

4.2 Sistema de control e interface de usuario

El robot cuenta con un módulo bluetooth que permite la comunicación con un dispositivo Android el cual debe tener instalada una aplicación para realizar la configuración y el control de las diferentes funcionalidades.



Figura 2. App, control de robot y visualización de variables

Fuente. Elaboración propia

El robot cuenta con un modo de manejo teleoperado para realizar las tareas a distancia, y a su vez este posee un modo para entrenar el robot, el usuario le enseña que actividades y como las debe realizar, estas quedan guardadas como una rutina para ejecutarse de manera autónoma.

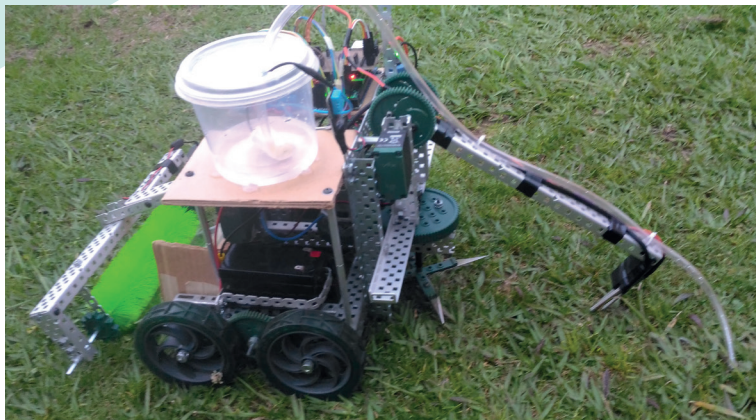


Figura 3. Robot Jardinero V1

Fuente: Elaboración propia

5. CONCLUSIONES

El agro colombiano debe potenciarse, y fortalecerse por medio de la tecnificación y el uso de las nuevas tecnologías, siendo este un pilar para el desarrollo del país. Por esto es necesario orientar a los jóvenes a darle otro enfoque a las actividades agrícolas, a ver el campo como una alternativa llena de oportunidades para el desarrollo tecnológico, la creación de trabajo y bienestar para la sociedad.

El trabajo a partir de la experiencia personal fortalece el desarrollo del proyecto, debido a que los aprendices provienen de familias campesinas sembradores de papa del municipio de la Unión, surge una motivación mayor y una orientación a los problemas reales como lo es la falta de mano de obra para las labores del campo.

El desarrollo del proyecto permite identificar oportunidades no solo de automatización de los procesos por medio de robots, si no también de la creación de herramientas, o equipos que faciliten las labores del campo, como se identificó en la búsqueda de información realizadas.

REFERENCIAS

Axxón. Eduardo J. Carletti. 2012 (n.d.). website: <http://robots-argentina.com.ar/not/12/082503.htm> [Marzo 26, 2017]

Agrobot 2017. (n.d.), website: <http://www.wsj.com/video/agrobot-automates-the-work-of-berry-harvesting/D07A91E8-C453-4652-8ECE-2229FB862F6E.html> [Marzo 26, 2017]

Engaget, Jose Mendiola 2014. (n.d.). website: <http://es.engadget.com/2014/03/25/droplet-robot-jardin/> [Marzo 26, 2017]

Farmbot 2016. (n.d.). website: <http://laprensa.peru.com/tecnologia-ciencia/noticia-crean-robot-jardinero-cultivar-alimentos-propios-casa-videocrean-robot-jardinero-cultivar-alimentos-propios-casa-usa-video-63965> [Marzo 26, 2017]

Fayerwayer. 2008 (n.d.). website: <http://www.robotic-lab.com/blog/2012/05/22/lawnbott-el-cortacesped-todoterreno/> [Marzo 26, 2017]

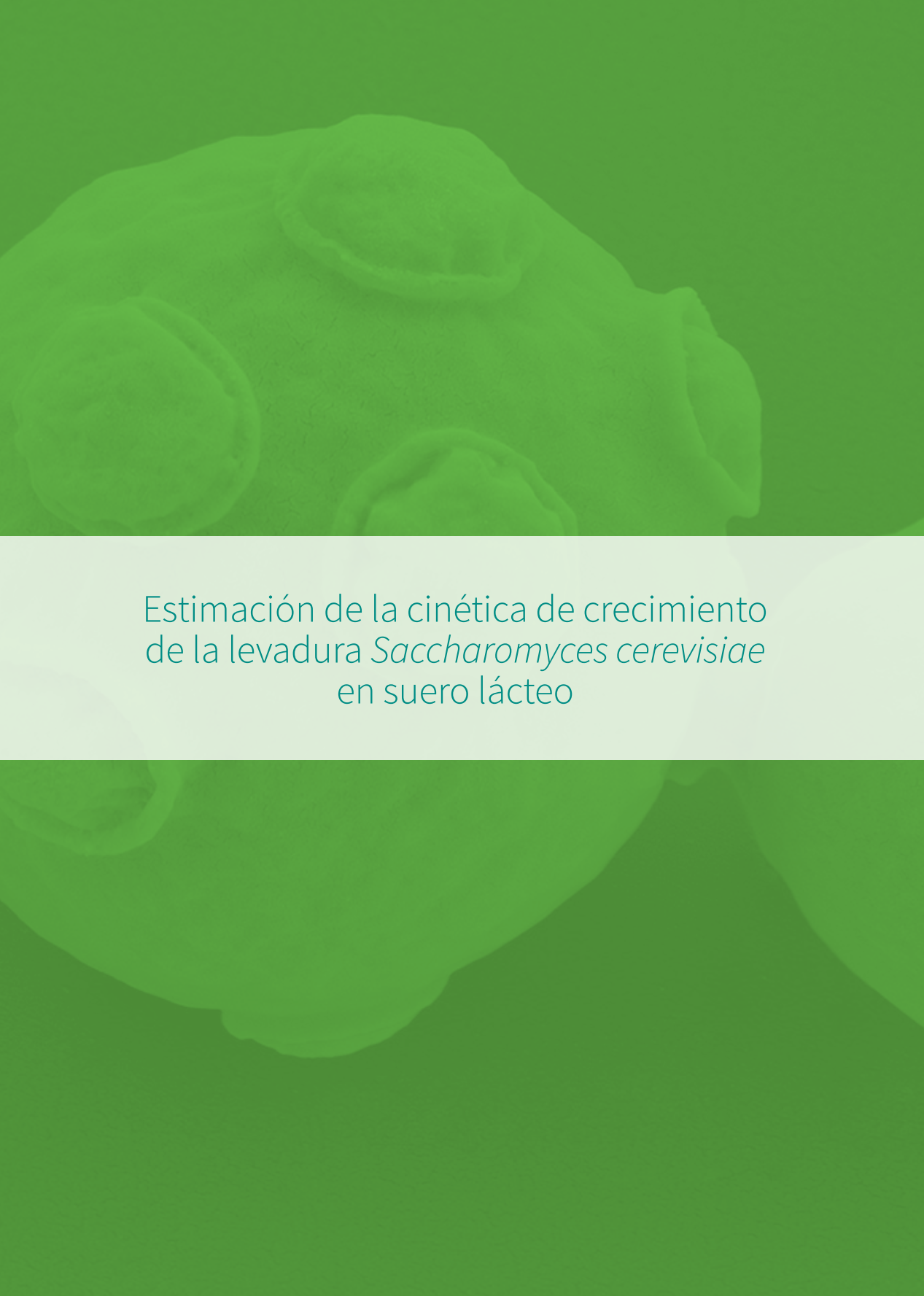
Informador 2009. (n.d.). website: <http://www.informador.com.mx/tecnologia/2009/94063/6/robot-jardinero-riega-y-atiende-plantas.htm> [Marzo 26, 2017]

Kubota 2014. (n.d.). website: <https://www.kubota-global.net/> [Marzo 26, 2017]

Ngan Khanh 2011. (n.d.). website: <http://vietnam.vnanet.vn/spanish/hanoi-promueve-la-mecanizacion-sincronica-del-cultivo-del-arroz/29629.html> [Marzo 26, 2017]

Lawnbott 2008. (n.d.). website: <http://www.robotic-lab.com/blog/2008/02/02/robot-jardinero-lawnbott-lb3500/> [Marzo 26, 2017]

Terradonis 2009. (n.d.). website: <https://www.terradonis.com/jph-semoir-maraicher-petites-graines.html> [Marzo 26, 2017]

A microscopic view of yeast cells, specifically *Saccharomyces cerevisiae*, showing their characteristic oval shape and budding. The cells are stained and appear in various stages of growth and division.

Estimación de la cinética de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en suero lácteo

ESTIMACIÓN DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DE LA LEVADURA *Saccharomyces cerevisiae* EN SUERO LÁCTEO

Jose Luis Buitrago Castaño^a, Laura María Muñoz Echeverri^b,
Liliana María Cardona Bermúdez^b

^aUniversidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Estudiante Ingeniería Biológica,
jlgbuitragoc@unal.edu.co

^bSENA, Centro de la Innovación, la Agroindustria y la Aviación, Grupo de Investigación Interacción
genotipo x ambiente y calidad de alimentos, Tecnoparque Nodo Rionegro, Immunoze@gmail.com,
lilianacardona@misena.edu.co

RESUMEN

El lactosuero es un subproducto de desecho de la leche, que generalmente es descartado, pero que debido a su composición rica en minerales y carbohidratos puede ser usado como fuente de carbono económica para otros procesos biotecnológicos. En este trabajo se evaluó la posibilidad de usarlo como sustrato para el crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y luego la producción de etanol como biocombustible. Usamos como medio de control extracto de uvas y comparamos el crecimiento de las levaduras en este medio y en el lactosuero; y medimos las concentraciones de azúcares en los mismos, obteniendo finalmente que estas no pueden crecer en suero láctico debido a su incapacidad para hidrolizar lactosa. Este trabajo abre la posibilidad del suero como sustrato económico para la producción de bioetanol ya sea con otro género de levadura ó con la adición de enzimas al medio que desdoblen los azúcares.

Palabras clave: fermentación, lactosuero, procesos biotecnológicos.

1. INTRODUCCIÓN

El suero láctico o lactosuero es el principal subproducto industrial que generan las empresas lecheras que de hecho posee un alto valor nutricional debido a su composición rica en proteínas, minerales, carbohidratos y lípidos, pero que es desperdiciado o usado como alimento para animales, lo que genera problemas por su carácter altamente contaminante, y por la pérdida significativa de recursos. En el oriente antioqueño se concentra una gran parte de la producción del departamento, y, por lo tanto, gran parte de la producción de estos desechos que son de alto potencial biotecnológico y de bajo costo monetario (Ramírez, 2011).

La producción de etanol como biocombustible es una práctica común en países como Brasil y Estados Unidos, en donde es mezclado con la gasolina para obtener un combustible que genere un menor grado de contaminación (CEPAL, 2017). Este bioetanol es producido a partir de fermentaciones con levaduras y/o bacterias de las cuales la más común es *Sacharomyces cerevisiae* y se produce a partir de fuentes de carbono que sean de bajo costo y de fuentes amigables con el medio ambiente, en su mayoría residuos de las agroindustrias (Cadavid, 2015). En este caso planteamos el uso del suero como un posible sustrato, rentable y eficiente para la producción de bioetanol en el oriente antioqueño.

2. REFERENTE TEÓRICO

En este momento Brasil y Estados Unidos son los mayores productores de bioetanol a nivel mundial, mientras Colombia se encuentra bastante lejos de los niveles de producción de estos países (aprox. 0.4% producción mundial). En Colombia la producción se concentra en las regiones productoras de azúcar de caña (Cauca y Valle del Cauca) en donde se usan los residuos de la producción de azúcar para generar estos biocombustibles, lo que genera una ventana para la región, por el exceso de recurso y por la nula producción en la región.

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTO Y TIPO DE INNOVACIÓN

3.1 Preparación de la levadura

Se obtuvo una cepa comercial de *Sacharomyces cerevisiae* de ATCC 0699K; se activó como se indicaba por la empresa y se realizó en cultivo en cajas de Petri en medio YPD y se dejó crecer en incubadora durante 48h a 37°C (Aguilar,2015). Luego con el asa estéril se tomó una muestra y se puso en 50 ml de agua peptonada para el inóculo.

3.2 Preparación del medio

El medio control se preparó a partir de uva en un extractor tradicional de jugo, se prepararon 950ml y se adicionó sulfato de amonio como fuente de nitrógeno. Para el lactosuero se adicionó sulfato de amonio también como fuente de nitrógeno. Para ambos medios se realizaron dos ciclos de pasterización para garantizar la esterilidad del medio de cultivo.

3.3 Medición del Azúcares

Para medir los azúcares se usó un protocolo de determinación de azúcares utilizando DNS. Además, se controló los grados brix para corroborar la información.

3.4 Conteo de células

El conteo de células se realizó en cámara de Neubauer realizando diluciones sucesivas del medio.

3.5 Cultivo

El cultivo se realizó durante 35 h en un Erlenmeyer de 2L durante 35h en un shaker a 120 rpm adicionando los 50 ml de inóculo con agua peptonada a los 950 ml de medio, se tomaron muestras cada 2 horas para realizar el conteo de células y la determinación de azúcares en el medio.

4. RESULTADOS

4.1 Determinación de Biomasa

La determinación de biomasa se realizó mediante el conteo en cámara de Neubauer en el microscopio. En los resultados se grafican el logaritmo base 10 del número de células que se obtiene teniendo en cuenta el conteo en el microscopio y la dilución requerida.

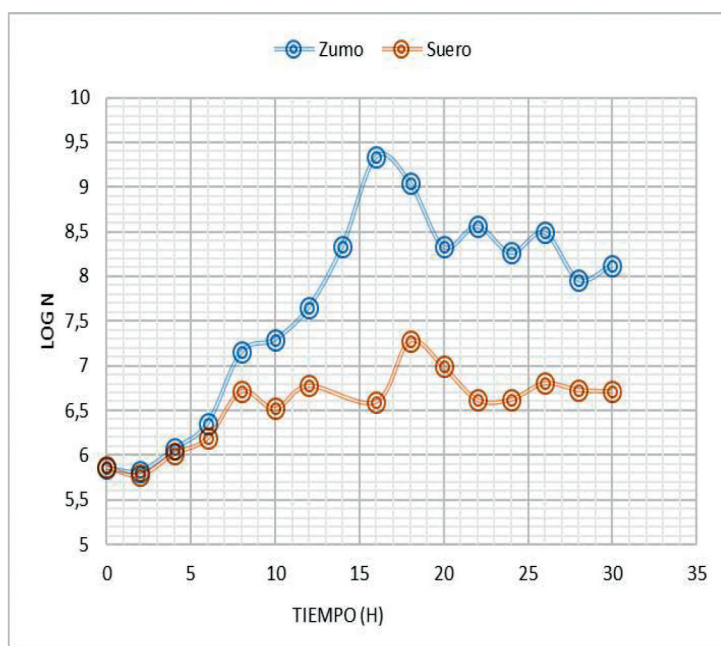


Figura 1. Determinación de biomasa mediante el conteo en cámara de Neubauer. Fuente: Elaboración propia.

Como se puede apreciar en el zumo hubo crecimiento normal de la levadura, sin embargo, no hubo crecimiento en el lactosuero, esto debido a la incapacidad de la levadura para captar la lactosa.

4.2 Determinación de azúcares en el medio

Se hizo control de la concentración de azúcares en el medio mediante un protocolo con DNS y midiendo grados brix, obteniendo así que en el zumo los azúcares se consumieron en alta cantidad, mientras que en el suero prácticamente no hubo consumo de azúcares por parte de la levadura, lo que está en concordancia con el resultado anterior y demuestran una vez más que *Sacharomyces cerevisiae* no tiene la capacidad de metabolizar lactosa.

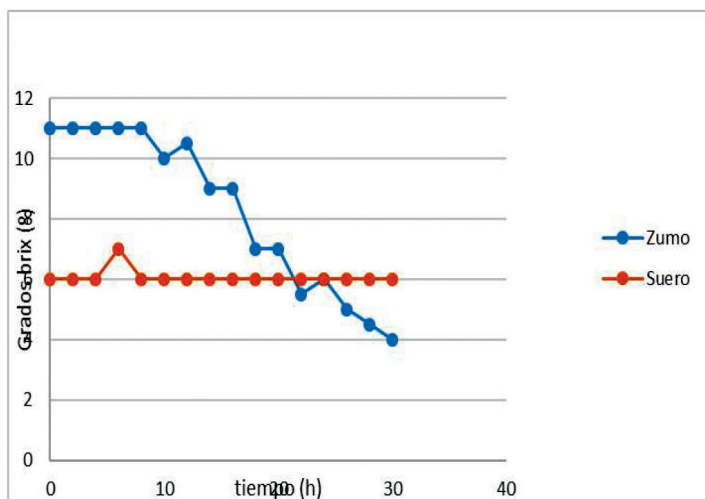


Figura 2. Cinética de consumo de azúcares en zumo de azúcares y lactosuero.

Fuente: Elaboración propia

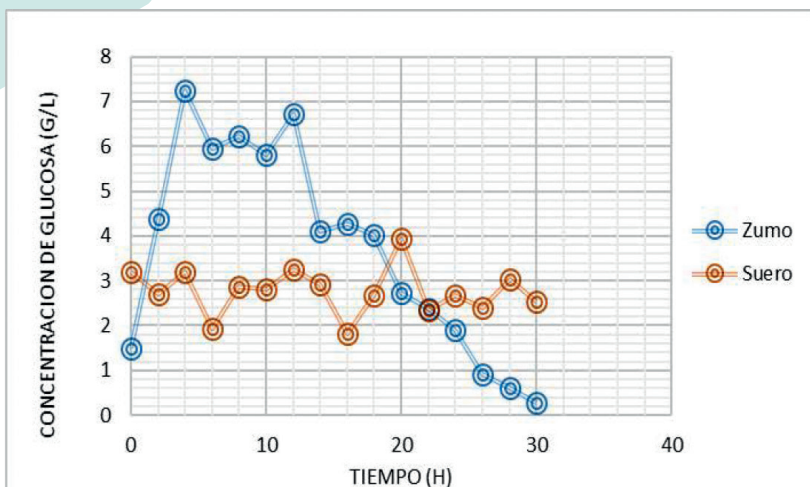


Figura 3. Cinética de consumo de glucosa en zumo de azúcares y lactosuero.

Fuente: Elaboración propia

Es evidente que el uso de *Sacharomyces cerevisiae* como levadura para la fermentación del suero láctico es inviable por sí sola, pero mediante el uso de técnicas en ingeniería genética se pueden agregar genes que le hagan posible metabolizar la lactosa de manera eficiente; o mediante la adición de enzimas comerciales al medio, como la beta-galactosidasa, que hidrolicen la lactosa previamente; con la salvedad que el uso de estas técnicas (sobre todo la última) tiene un alto costo comercial lo que es un limitante en su uso.

Otra forma de superar este problema es mediante el uso de otras especies de levaduras menos estudiadas y menos usadas industrialmente como lo son *Kluyveromyces marxianus* o *Kluyveromyces lactis*, dos especies de levaduras cuyo potencial biotecnológico es desconocido y que, entre otras ventajas, están reportadas con la capacidad natural de desdoblar lactosa en monómeros de glucosa y galactosa (Graciano,2008) y que en potencia podrían producir cantidades de etanol similares a las obtenidas con *Sacharomyces cerevisiae* (Graciano,2008). La investigación sobre estas especies es poca en lo referente a producción a escala industrial, condiciones óptimas de crecimiento y de producción etc. por lo tanto se requiere más investigación teniendo en cuenta las grandes cantidades

de sustrato que representa el suero láctico en el oriente, su alto valor nutricional, su carácter contaminante y el hecho de que al ser un producto de desperdicio puede ser adquirido fácilmente.

REFERENCIAS

- Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). Brasil, Argentina y Colombia lideran producción de biocombustibles en la región. Recuperado de <https://www.cepal.org/es/comunicados/brasil-argentina-y-colombia-lideran-produccion-de-biocombustibles-en-la-region> [Junio 15, 2017]
- Erika Esperanza Fajardo, Sandra Constanza Sarmiento (2007). EVALUACIÓN DE MELAZA DE CAÑA COMO SUSTRATO PARA LA PRODUCCIÓN DE *Saccharomyces cerevisiae*. Pontificia universidad Bolivariana, Bogotá D.C.
- Garciano Fonseca Gustavo, et al (2008). The yeast *Kluyveromyces marxianus* and its biotechnological potential. Applied microbiology and biotechnology.
- Julio Aguilar, Mario Espinoza, et al (2015). Evaluación de la cinética de crecimiento de *saccharomyces cerevisiae* utilizando un medio de cultivo a base de melaza de caña y suero lácteo. Agroindustrial Science.
- Marlon Andrés Cadavid Higueta (2015). Encadenamiento productivo para el sector lácteo del Oriente Antioqueño. Recuperado de https://www.ccoa.org.co/contenidos/noticias/encadenamiento_productivo_para_el_sector_lacteo_del_oriente_antioquenio.php [Junio 15, 2017]
- Ramírez Navas Juan Sebastián . (2011). Aprovechamiento Industrial de Lactosuero Mediante Procesos Fermentativos Revista Especializada en Ingeniería de Procesos en Alimentos y Biomateriales
- Ricardo Adolfo Parra Huertas (2009). LACTOSUERO: IMPORTANCIA EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS. Revista Facultad Nacional de Agricultura Medellín.

