

# Efecto de la incorporación de polialcoholes, fructooligosacáridos y péptidos antihipertensivos en un masmelo depositado.

## Effect of the incorporation of polyols, fructooligosaccharides and antihypertensive peptides in a deposited masmelo.

Mike Sánchez<sup>1</sup> 

Juan Gómez<sup>2</sup> 

Carlos Giraldo<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Centro Agropecuario de Buga [msanchezo@sena.edu.co](mailto:msanchezo@sena.edu.co)

<sup>2</sup>Universidad del Valle [juan.gomez.d@correounivalle.edu.co](mailto:juan.gomez.d@correounivalle.edu.co)

<sup>3</sup>Pontificia Universidad Javeriana de Cali [cajugicu@gmail.com](mailto:cajugicu@gmail.com)

Recibido: 10/02/2022 Aceptado: 11/02/2022

**Resumen** Los masmelos tradicionales se elaboran con sacarosa y jarabe de glucosa, una opción para elaborar masmelos libres de sacarosa, saludables y con componentes funcionales, es el uso de polialcoholes, fructooligosacáridos (FOS) y péptidos antihipertensivos. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la inclusión de Nutraflora® (FOS), maltitol (M), jarabe de sorbitol (JS) y péptidos antihipertensivos en un masmelo, sobre el módulo elástico (ME) de los prototipos elaborados. Para esto, se planteó un arreglo factorial (AF)  $3 \times 2^2$  sobre el ME de los prototipos, también, un diseño completamente al azar (DCA) para comparar un masmelo control y uno de mezclas de vértices extremos (DMVE) para optimizar la formulación. Finalmente, se determinó el perfil de textura (TPA) del masmelo desarrollado. Las proporciones de polialcoholes en el AF y el DCA causaron efecto sobre el ME ( $p < 0.05$ ). El DMVE determinó las proporciones correspondientes de 8.45% de FOS; 46.55% de M y 25% de JS. El modelo de regresión obtuvo un  $r^2 = 93.60$ ,  $r^2$  (ajustado) = 90.40 y un  $r^2$  (predicción) = 80.03.

**Palabras clave:** Polialcoholes, fructooligosacáridos, péptidos, maltitol, sorbitol, sucralosa.

**Abstract** Traditional marshmallows are made with sucrose and glucose syrup; an option for making healthy, sucrose-free marshmallows with functional components is the use of polyols, fructooligosaccharides (FOS) and antihypertensive peptides. The objective of this research was to evaluate the effect of the inclusion of Nutraflora® (FOS), maltitol (M), sorbitol syrup (JS) and antihypertensive peptides in a marshmallow on the elastic modulus (EM) of the prototypes produced. A  $3 \times 2^2$  factorial arrangement (FA) was proposed to evaluate the effects of the proportions of polyols - FOS, gelatin and antihypertensive peptides on the EM of the prototypes, followed by a completely randomized design (CRD) to compare a control marshmallow and an extreme vertex mixture design (EVMD) to optimize the formulation. Finally, the texture profile (TPA) of the developed marshmallow was determined. The proportions of polyols in the FA and DCA caused effect on the ME ( $p < 0.05$ ). The DMVE determined the corresponding proportions of 8.45% FOS; 46.55% M and 25% JS. The regression model obtained an  $r^2 = 93.60$ ,  $r^2$  (adjusted) = 90.40 and  $r^2$  (predicted) = 80.03.

**Keywords:** Polyalcohols, fructoligo-saccharides, peptides, maltitol, sorbitol, sucralose.

## Introducción

Los masmelos se definen como espumas estables, de textura esponjosa, con adición o no de espesante o gelificante de origen vegetal o animal, con la posibilidad de ir relleno o recubierto de componentes permitidos por la legislación sanitaria vigente de cada país o por el Codex Alimentarius (ICONTEC, 2008). Un masmelo incluye niveles de sacarosa y glucosa comprendidos entre el 30% y 40% (Hartel *et al.*, 2018), su sabor dulce, texturas y diversidad de colores son atractivos para niños y adultos; comer dulce en cantidades moderadas es agradable. Sin embargo, no son productos básicos en una canasta familiar y su consumo desproporcionado se relaciona con aumento en el índice glucémico, caries y obesidad (Periche *et al.*, 2015). Colombia tiene una producción confitera a base de sacarosa de 615,3 billones de pesos para el año 2022 y se proyecta para el año 2026 una producción de 700 billones de pesos, esto indica, un consumo creciente de sacarosa en la población colombiana (Passport Euromonitor International, 2022).

Por otra parte, el consumo de bebidas azucaradas se asocia con niveles altos de presión arterial incrementando la incidencia de hipertensión, sugiriendo restricciones de consumo de este tipo de productos (Malik *et al.*, 2014). En adolescentes americanos se asoció el consumo de bebidas azucaradas a niveles de presión arterial sistólica elevada (Nguyen *et al.*, 2009), el 19% de niños de 11 a 17 años que asistían a escuelas en Houston padecían de presión arterial elevada, el 15.7% tenían pre hipertensión y el 3.2% hipertensión; la presión arterial elevada fue más común en niños con sobrepeso (Ingelfinger, 2014). Comparaciones realizadas en varios países mostraron niveles de presión arterial elevada en niños y adolescentes, 17.3% en Brasil, 13.8% en Estados Unidos y un 12,3% a 15.1% en Grecia.

La disponibilidad de datos sugiere, que si la presión arterial elevada se define como la presión por encima de 120/80 mm Hg, entonces hasta el 15% de niños y adolescentes en los Estados Unidos de América tendrían esa condición (Feber y Ahmed, 2010). En el año 2004, setenta y dos millones de adultos en Estados Unidos (35%) tenían hipertensión, definida como presión arterial sistólica 140 mm Hg y/o diastólica 90 mm Hg y otros cincuenta y nueve millones (29%) tenían pre hipertensión definida entre 120 a 140 mm Hg (presión sistólica) o 80 a 90 mm Hg (presión diastólica).

La presión arterial elevada es un factor de riesgo para los accidentes cerebrovasculares, enfermedades cardiovasculares, enfermedad renal, mortalidad por todas las causas anteriores y corta esperanza de vida (Chen *et al.*, 2013). Resultados de la encuesta Nacional en Salud del año 2007, evidencian que en Colombia el 22,8% de la población entre 18 y 69 años de edad es hipertensa, incrementándose a 58.9% en personas arriba de los 60 años (Ministerio de la Protección Social *et al.*, 2015). Por lo anterior, el consumo elevado de azúcar es un factor de riesgo asociado a la hipertensión arterial.

Se han caracterizado gran variedad de compuestos antihipertensivos de diversas fuentes alimentarias como frutas, verduras, granos, frutos secos, semillas, legumbres, derivados lácteos, carnes y aves de corral. La mayoría de éstos inhiben, *in vitro* a la enzima de conversión de angiotensina (ACE) y evitan la generación de angiotensina II, compuesto vasoconstrictor que aumenta la tensión arterial. Los principales compuestos que tienen este efecto inhibitorio, son flavonoides, flavonoles, catequinas, antocianinas, polifenoles, taninos y ácidos fenólicos de origen vegetal. Además, algunos polisacáridos, saponinas, esteroides y pigmentos (Shobako, 2021).

Péptidos inhibidores de ACE, resultado de la hidrólisis de sedimentos de arroz con contenido proteico, causaron un efecto antihipertensivo significativo en ratas (Guan-Hong *et al.*, 2007). Por otro lado, las proteínas de cereales como el trigo, centeno, cebada y avena poseen secuencias de aminoácidos homólogas a las de péptidos inhibidores ACE. Estos cereales, también contienen ácido gamma-amino butírico (GABA), no proteico, con actividad antihipertensiva demostrada en ratas y seres humanos hipertensos (Ramos-Ruiz *et al.*, 2018).

La leche es una fuente de los componentes bioactivos que previenen trastornos cardiovasculares, trastornos metabólicos, promueven salud intestinal y poseen propiedades quimiopreventivas (Hsieh *et al.*, 2015). Una serie de estudios epidemiológicos, sugieren que, la ingesta de leche y derivados lácteos se relacionan con riesgos menores de hipertensión arterial (Engberink *et al.*, 2009). Las proteínas y sus hidrolizados proteicos han presentado efecto antihipertensivo, inhibiendo la ACE reguladora de la presión arterial. En los últimos 20 años, se han evaluado los efectos antihipertensivos de algunos péptidos, las secuencias peptídicas, dosis, y reducción de la presión sistólica en ratas, así como en humanos hipertensos (Anderson y Moore, 2004). Otra fuente de péptidos antihipertensivos es el huevo, la ovoquinina, proteína de la ovoalbúmina hidrolizada por la pepsina, ha demostrado efecto vasodilatador (Martínez-Maqueda *et al.*, 2012).

Se consideraron los efectos de los péptidos antihipertensivos y el factor de riesgo que representan los azúcares sobre el incremento de la tensión arterial, se sustituyó la sacarosa y jarabe de glucosa en la formulación de masmeros, por maltitol (M),

jarabe de sorbitol (JS) y fructooligosacáridos (FOS) y para ajustar los niveles de dulzor se incluyó sucralosa, además, péptidos antihipertensivos de origen lácteo (LOWPEPT®). Finalmente, se evaluó el efecto que causa la inclusión de polialcoholes, FOS y péptidos antihipertensivos en la formulación de masmeros depositados.

## Materiales y métodos

### Materiales

Los masmeros prototipo desarrollados están compuestos de: fructooligosacáridos (FOS–Ingredion), maltitol (Ingredion), jarabe de sorbitol (Ingredion), gelatina 270 Bloom (Cimpa Colombia), citrato de sodio (Cimpa), sabor vainilla (Silesia), péptidos antihipertensivos de origen lácteo (LOWPEPT®, Innaves Biotech).

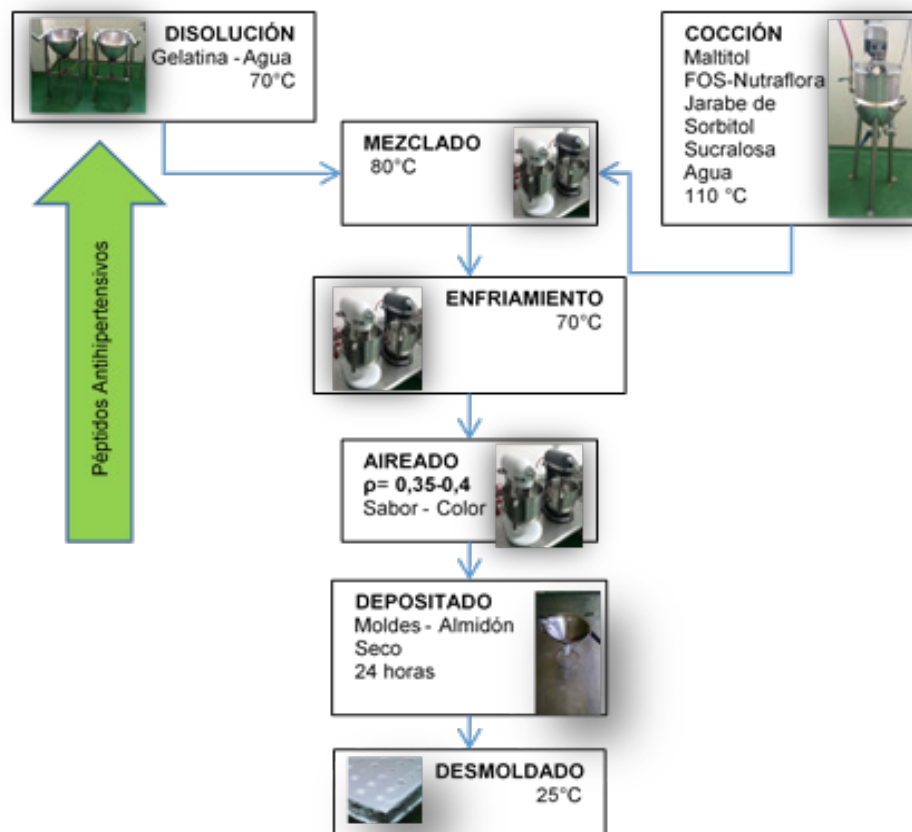
Los prototipos se desarrollaron en la planta piloto de confitería del Centro Agropecuario de Buga, SENA Regional Valle del Cauca – Colombia. Las propiedades mecánicas, se determinaron en los laboratorios de la Escuela de Ingeniería de Alimentos de la Universidad del Valle – Colombia.

### Metodología Experimental

**Desarrollo de un masmero prototipo con incorporación de polialcoholes, fructooligosacáridos y péptidos antihipertensivos en su formulación.** Se constituye de prototipos preliminares que incluyeron proporciones fijas de agua, citrato de sodio, saborizante de vainilla, 3 niveles de edulcorantes; fructooligosacáridos (FOS), maltitol (M) y jarabe de sorbitol (JS), en las siguientes proporciones porcentuales: FOS–M–JS (15–30–35) % w/w; FOS–M–JS (10–40–30) % w/w y FOS–M–JS (5–50–25) % w/w; dos niveles de gelatina tipo B de 270 Bloom al 3.5 y 4% w/w y dos niveles de péptidos al 1.5 y 3 % w/w. Se incluyó sucralosa en los prototipos para ajustar el dulzor debido al bajo aporte de los polioles.

Para la elaboración de masmelos, se relacionó una etapa de solubilización de fructoligosacáridos, maltitol, jarabe de sorbitol y sucralosa a 110°C en agua. En paralelo, se hidrató gelatina más péptidos en agua, en relación 1:2, a 70°C. Una vez que la temperatura de la solución de polioles alcanzó 80°C, se incluyó la gelatina hidratada junto con los péptidos, se enfrió el

sistema a 70°C y se procedió a la incorporación de aire hasta alcanzar una densidad de 0.35 a 0.4g/mL, para luego, depositar la masa de masmelo con la ayuda de embudos sobre moldes de almidón seco, con un contenido de humedad del 6%w/w, la Figura 1, ilustra las etapas de proceso.



**Figura 1**

*Diagrama de bloques para la elaboración de masmelos prototipos.*

Se corrió un diseño experimental factorial mixto  $3 \times 2^2$ , con tres réplicas (Tabla 1), para evaluar los efectos de las proporciones de edulcorantes, gelatina y péptidos, sobre el módulo de elasticidad (ME) de los masmelos prototipos desarrollados. Esta propiedad mecánica se determinó mediante ensayos de compresión uniaxial, en un texturómetro EZ Test Shimadzu, con un accesorio émbolo de 50 mm de diámetro, velocidad de desplazamiento

de 20 mm/min y una deformación del 50%. Los masmelos tienen una altura de  $20\text{mm} \pm 1.05\text{ mm}$  y un radio de  $12.5\text{mm} \pm 0.5\text{mm}$ .

El ME se obtiene de la pendiente de la zona lineal antes del límite de fluencia de la curva esfuerzo verdadero  $\sigma(T)$  Vs deformación de Hencky  $\epsilon_{HF}(t)$ , a continuación se define cada variable, en la Ecuación 1:

$$\sigma(T) = \frac{F(t)}{A(t)} = \frac{F(t)}{\pi l_0^2 l_0} \times (1_0 - d(t)) \epsilon_{HF}(t) = \ln \left[ \frac{l_0}{(l_0 - d(t))} \right]$$

Donde:

$\sigma(T)$ : esfuerzo de fractura (esfuerzo verdadero) (Pa)

F: fuerza de compresión (N)

A: área de contacto transversal (m<sup>2</sup>)

$\epsilon_{HF}$ : deformación de Hencky

$l_0$ : longitud inicial (m)

$d(t)$ :  $l_0 - l$ , distancia de la muestra en tiempo t de la compresión (m)

**Tabla 1**

Entonces ME, definida como la pendiente, tiene las siguientes unidades expresadas en la Ecuación 2:

$$ME = \Delta \sigma(t) / \Delta \epsilon_{HF}$$

Donde:

$$ME = \frac{\frac{N}{m^2}}{\frac{m}{m}} = \frac{N}{m^2} = Pa$$

### Diseño experimental factorial mixto 3x2<sup>2</sup>

| Proporción de polioles en la formulación inicial (%) | Proporción de Gelatina (%) | Péptidos (%) | Variables respuesta |
|------------------------------------------------------|----------------------------|--------------|---------------------|
| FOS-M-JS (15-30-35)                                  | 3.5                        | 1.5          | ME                  |
| FOS-M-JS (10-40-30)                                  | 4                          | 3            |                     |
| FOS-M-JS (5-50-25)                                   |                            |              |                     |

Nota. Elaboracion propia.

Una vez evaluado los efectos de los componentes sobre el módulo de elasticidad (ME), se evaluó el efecto de las formulaciones desarrolladas y

el masmelo testigo (control) sobre el mismo módulo, mediante un diseño completamente al azar (DCA), (Tabla 2).

**Tabla 2**

### DCA para las formulaciones con inclusión de polialcoholes y masmelo control

| Formulaciones       | Módulo de elasticidad |
|---------------------|-----------------------|
| FOS-M-JS (15-30-35) | ME                    |
| FOS-M-JS (10-40-30) | ME                    |
| FOS-M-JS (5-50-25)  | ME                    |
| Masmelo control     | ME                    |

Nota. Elaboracion propia.

Seguidamente, se indentificó el prototipo con el módulo de elasticidad (ME) cercano al masmelo testigo (comercial) y se optimizó con un diseño de mezclas con vértices extremos (Tabla 3).

**Estimación de las propiedades reológicas y texturales del masmelo prototipo desarrollado.** Se utilizó un texturómetro Shimadzu ETZ, cuyas condiciones operativas y accesorios necesarios se seleccionaron en pruebas preliminares para

determinar el módulo de elasticidad (ME) y perfil de textura (TPA). Los parámetros correspondientes al análisis de perfil de textura se corrieron con un accesorio émbolo de 50 mm de diámetro, a una velocidad de 50 mm/min y una deformación del 50%. Los masmelos tienen una altura de 20 mm ± 1.05 mm y un radio de 12.5mm ± 0.5mm. Se estimó la dureza, elasticidad, cohesividad, adhesividad, gomosidad y masticabilidad y se realizaron diez

(10) réplicas para los ensayos de compresión uniaxial y perfil de textura.

Por último, se evaluó sensorialmente mediante una prueba hedónica de cinco puntos; el masmelo testigo, dos marcas comerciales y el masmelo control; en la que participaron cien jueces con entrenamiento básico en evaluación sensorial (aprendices de la tecnología en control de calidad de alimentos del Centro Agropecuario de Buga y Centro Agropecuario de Popayán), con edades entre 17 y 56 años.

**Tabla 3**

*Diseño de mezclas con vértices extremos para masmelos con inclusión de fructooligosacáridos y polialcoholes*

|                      |     |                   |    |
|----------------------|-----|-------------------|----|
| Componentes          | 3   | Puntos del diseño | 16 |
| Variables de proceso | 0   | Grado del diseño  | 2  |
| Total de la mezcla   | 0.8 |                   |    |

Límites de los componentes de la mezcla (en unidades de cantidad)

| Componente | Inferior | Superior |
|------------|----------|----------|
| FOS        | 0.05     | 0.15     |
| M          | 0.30     | 0.50     |
| JS         | 0.25     | 0.35     |

Nota. Elaboración propia.

## Resultados y discusión

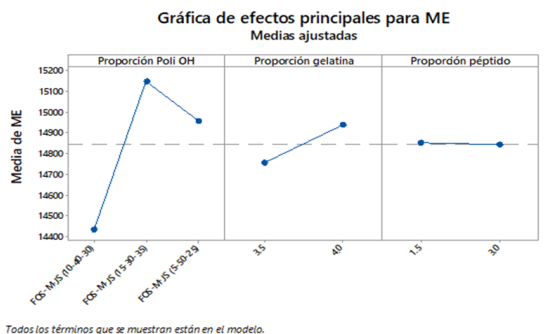
*Desarrollo de un masmelo depositado prototipo que incorpora polialcoholes, fructooligosacáridos y péptidos antihipertensivos en su formulación.*

Las proporciones de polialcoholes en el arreglo factorial causaron efecto estadístico significativo ( $p < 0.05$ ) sobre los ME de los prototipos desarrollados en los que los niveles de gelatina y péptido no causaron efecto sobre el ME, las interacciones dobles de los factores no presentaron diferencia estadística.

En la Figura 2, se observan los efectos principales de los factores evaluados, la proporción de polialcoholes es el único factor principal que presenta diferencia estadística, la literatura no reporta experimentaciones similares para realizar comparaciones y discusiones que evalúen la inclusión de polioles en masmelos libres de sacarosa.

En la tabla 4 se registra el ANOVA para el arreglo factorial  $3 \times 2^2$

La Figura 3, relaciona los intervalos para las medias de los ME de los prototipos desarrollados y el masmelo control. El factor proporción de polialcoholes en el DCA, causó efecto estadístico significativo sobre el ME ( $p < 0.05$ ), por el contrario, la prueba de Tukey demostró que las proporciones de polialcoholes FOS-M-JS (15-30-35) y FOS-M-JS (5-50-25) no presentaron diferencia estadística significativa con el masmelo control y la de polialcoholes FOS-M-JS (10-40-30) presentó diferencia estadística significativa con el masmelo control ME ( $p < 0.05$ ).



**Figura 2**

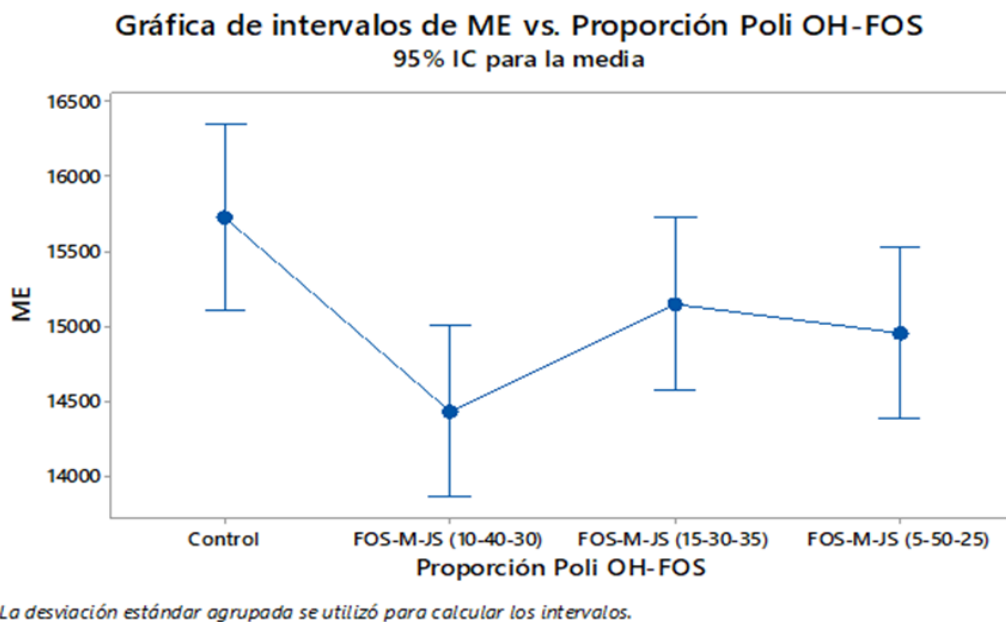
*Efectos principales de los factores evaluados sobre ME de los prototipos desarrollados.*

**Tabla 4**

*ANOVA arreglo factorial 3x2<sup>2</sup>*

| Fuente                                                    | DF | Adj SS   | Adj MS  | F-Valor | P-Valor |
|-----------------------------------------------------------|----|----------|---------|---------|---------|
| Modelo                                                    | 11 | 5224405  | 474946  | 1,25    | 0,308   |
| Lineal                                                    | 4  | 3570962  | 892741  | 2,36    | 0,082   |
| Proporción Poli OH                                        | 2  | 3276414  | 1638207 | 4,32    | 0,025   |
| Proporción gelatina                                       | 1  | 293764   | 293764  | 0,78    | 0,387   |
| Proporción péptido                                        | 1  | 784      | 784     | 0,00    | 0,964   |
| 2-Vías Interacciones                                      | 5  | 1046064  | 209213  | 0,55    | 0,735   |
| Proporción Poli OH*Proporción gelatina                    | 2  | 340755   | 170378  | 0,45    | 0,643   |
| Proporción Poli OH*Proporción péptido                     | 2  | 342904   | 171452  | 0,45    | 0,641   |
| Proporción gelatina*Proporción péptido                    | 1  | 362404   | 362404  | 0,96    | 0,338   |
| 3-Vías Interacciones                                      | 2  | 607378   | 303689  | 0,80    | 0,460   |
| Proporción Poli OH*Proporción gelatina*Proporción péptido | 2  | 607378   | 303689  | 0,80    | 0,460   |
| Error                                                     | 24 | 9094303  | 378929  |         |         |
| Total                                                     | 35 | 14318708 |         |         |         |

Nota. Elaboración propia.



**Figura 3**

*Intervalos de medias de los ME de los prototipos de los prototipos desarrollados, proporción de polialcoholes y masmelo control.*

La Tabla 5 y 6 registran el ANOVA y el test de Tukey respectivamente para el DCA.

Identificados los tratamientos con los ME cercanos al masmelo control, se optimizó la formulación mediante un diseño de mezclas con vértices extremos.

El diseño de mezclas determinó las proporciones de polialcoholes, para alcanzar el ME del masmelo control (15.7 Kpa),

equivalente a 8.45% de FOS; 46.55% de M y 25% de JS; el modelo de regresión obtuvo un  $r^2 = 93.60$ ,  $r^2$  (ajustado) = 90.4. Las Figuras 4 y 5 relacionan el gráfico de contorno y la superficie de respuesta respectivamente y en la Tabla 7, se registra el ANOVA para el diseño de mezclas de los prototipos desarrollados.

La optimización de las proporciones de polialcoholes en la formulación del masmelo desarrollado para alcanzar el ME del masmelo control (15.7 Kpa), se detalla en la Figura 6.

**Tabla 5**

*ANOVA para DCA*

| Analysis of Variance |    |          |         |         |         |
|----------------------|----|----------|---------|---------|---------|
| Fuente               | DF | Adj SS   | Adj MS  | F-Valor | P-Valor |
| Proporción Poli OH   | 3  | 9329592  | 3109864 | 3,25    | 0,031   |
| Error                | 42 | 40245401 | 958224  |         |         |
| Total                | 45 | 49574993 |         |         |         |

Nota. Elaboración propia.

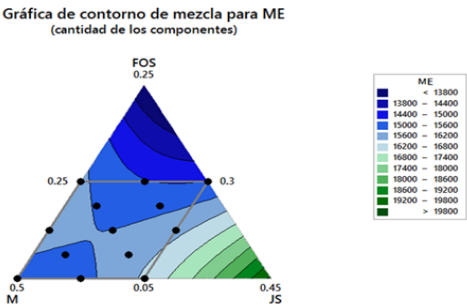
**Tabla 6**

*Test de Tukey para el DCA*

| Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence |    |         |          |   |
|----------------------------------------------------------------|----|---------|----------|---|
| Proporción Poli OH                                             | N  | Mean    | Grouping |   |
| Control                                                        | 10 | 15724,8 | A        |   |
| FOS-M-JS (15-30-35)                                            | 12 | 15147,7 | A        | B |
| FOS-M-JS (5-50-25)                                             | 12 | 14954,8 | A        | B |
| FOS-M-JS (10-40-30)                                            | 12 | 14433,5 |          | B |

Means that do not share a letter are significantly different.

Nota. Elaboración propia.



**Figura 4**

*Gráfico de contorno y distribución de vértices extremos*

## Gráfica de superficie de mezcla de ME (cantidad de los componentes)

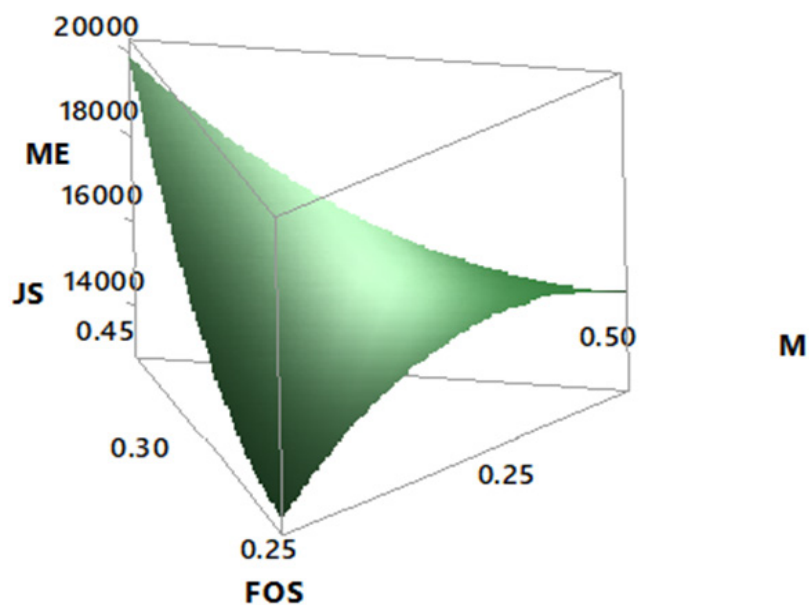


Figura 5

Superficie de respuesta, diseño de mezclas con vértices extremos

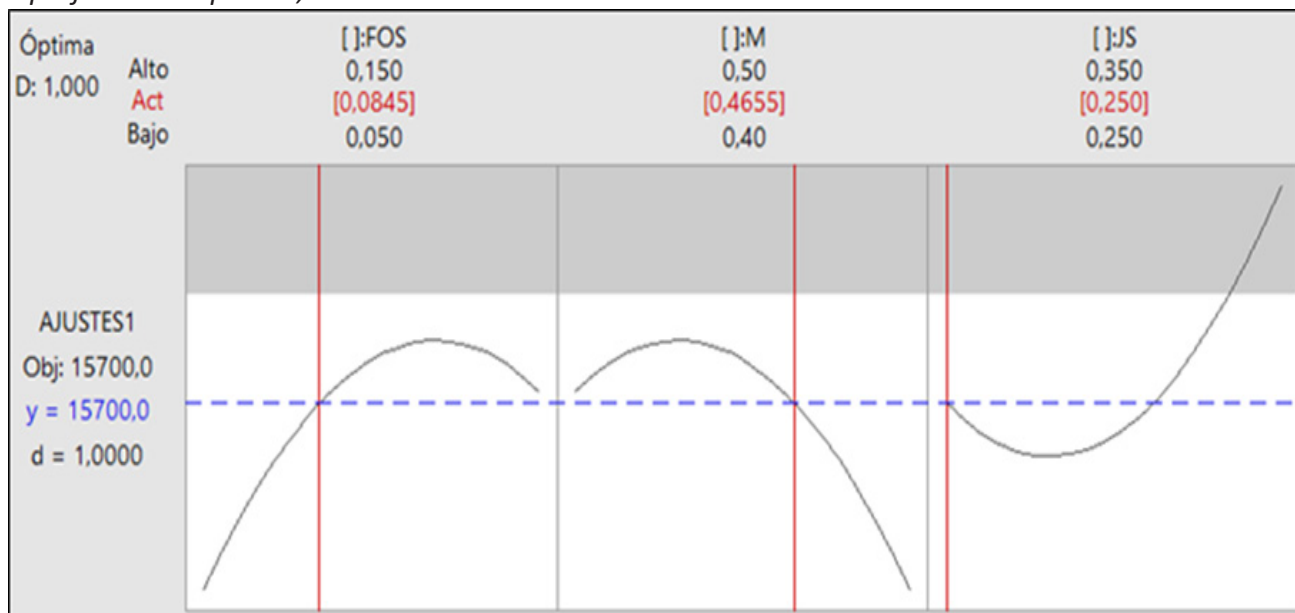
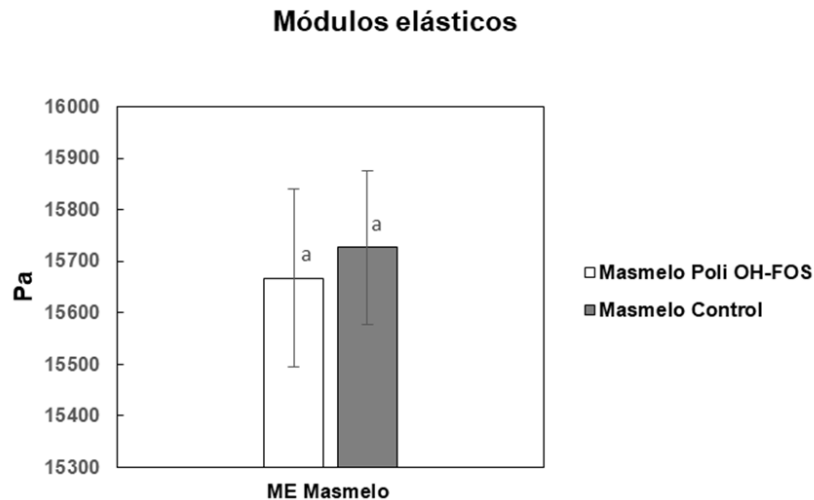


Figura 6

Óptimo global para la formulación del masmero con inclusión de polialcoholes y péptidos antihipertensivos

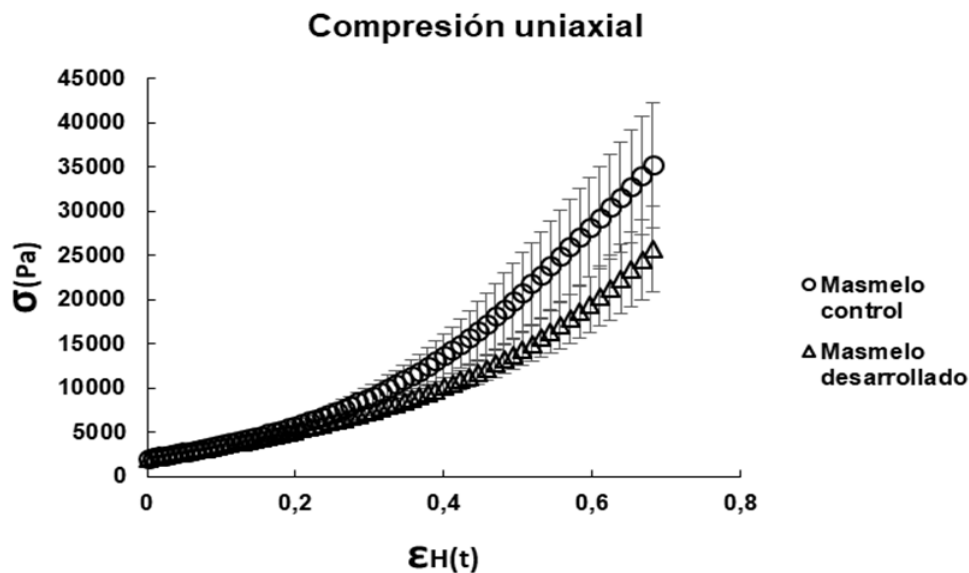
Una vez determinadas las proporciones de polialcoholes, se elaboró el masmelo y se realizaron las mediciones del ME ( $15.67 \pm 0.67$  Kpa), se comparó con el ME del masmelo control ( $15.73 \pm 0.58$  Kpa) y se determinó que, el factor formulación no causó efecto estadístico significativo sobre el ME ( $p > 0.05$ ).

La Figura 7, relaciona las medias del ME para el masmelo control y masmelo desarrollado y en la Figura 8 se representan ensayos característicos de compresión uniaxial para estos mismos, desarrollados con inclusión de polialcoholes y péptidos antihipertensivos.



**Figura 7**

*Gráfica de módulos de elasticidad ME para el masmelo control y masmelo desarrollado.*



**Figura 8**

*Compresión uniaxial para el masmelo control y masmelo desarrollado, siendo  $\sigma$  (Pa) el esfuerzo verdadero en pascales y  $\epsilon H(t)$  la deformación de Hencky.*

## Estimación de las propiedades reológicas y texturales del masmelo prototipo desarrollado

Los parámetros del análisis de perfil de textura se estimaron para el masmelo desarrollado y masmelo control, se realizó

**Tabla 7**

*Parámetros TPA para masmelo desarrollado y masmelo control*

| Masmelos    | Elasticidad (mm/mm) |          | Cohesividad (mm <sup>2</sup> / mm <sup>2</sup> ) |         | Adhesividad (Nxmm)    |         |
|-------------|---------------------|----------|--------------------------------------------------|---------|-----------------------|---------|
| TPA POLI OH | 1.0023              | ± 0.0020 | 0.8760                                           | ± 0.008 | -0.284                | ± 0.208 |
| TPA CONTROL | 1.0028              | ± 0.0016 | 0.8787                                           | ± 0.009 | -0.216                | ± 0.107 |
|             | Dureza (N)          |          | Gomosidad (N)                                    |         | Masticabilidad (Nxmm) |         |
| TPA POLI OH | 9.0833              | ± 1.7730 | 7.9622                                           | ± 1.592 | 7.9804                | ± 1.595 |
| TPA CONTROL | 9.9125              | ± 1.0968 | 8.7136                                           | ± 1.008 | 8.7384                | ± 1.013 |

Nota. Elaboración propia.

Determinaciones de dureza estimadas por (Tan y Lim, 2008) mediante doble compresión en una máquina de ensayos Instron, reportaron valores desde 2.05 N en un tiempo cero, hasta 35.23 N en la semana veinticinco de almacenamiento.

En el mismo sentido, Peleg (2007) determinó valores, desde 2.8 N en el tiempo cero, hasta 27.33 N en la semana veintidos de almacenamiento y masmelos elaborados con inclusión de isomaltulosa, jarabe de glucosa y jarabe de fructosa en diferentes combinaciones, como sustituto de sacarosa, para la misma propiedad, registraron desde 4.97 N hasta 27.1 N, para niveles con 4% de gelatina de 220 Bloom (Periche *et al.*, 2015). El masmelo desarrollado presenta 9.08N de dureza, por lo que se encuentra dentro de los rangos estimados por Tan y Lim (2008), Peleg (2007) y Periche (2015).

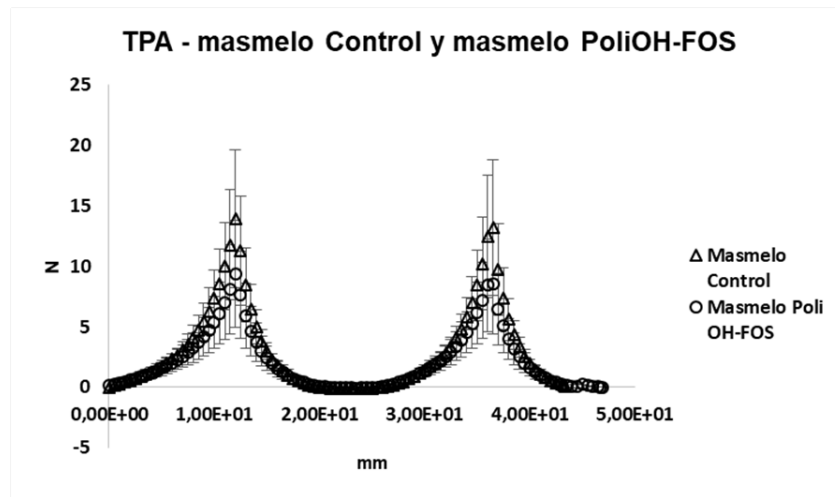
La literatura revisada no reportó datos de adhesividad y masticabilidad en masmelos y los registros de dureza reportados por Peleg y Periche se tomaron de las gráficas reportadas mediante el software GetData Graph Digitizer.

un análisis de varianza unidireccional entre los dos y se estimó que las formulaciones no causaron efecto estadístico significativo sobre los parámetros de elasticidad, cohesividad, adhesividad, dureza, gomosis y masticabilidad ( $p > 0.05$ ). En la Tabla 7 se relacionan las medias de los parámetros estimados.

La gomosis estimada por Periche *et al.* (2015), presenta un rango desde 5.8 N hasta 16.09 N. Este autor, también reporta las cifras de cohesividad, establecidas desde 0.25 para el masmelo control y 0.73 a 0.88 para los que tienen inclusión de isomaltulosa, jarabe de fructosa y jarabe de glucosa. Por tanto, el masmelo desarrollado se encuentra dentro de los rangos estimados, porque presenta una gomosis de 7.96 N y una cohesividad de 0.87.

La elasticidad, parte desde 0.82 para el masmelo control y 0.8 hasta 0.88 para los masmelos que incluyeron isomaltulosa, jarabe de fructosa y jarabe de glucosa reportada (Periche *et al.*, 2015). El valor estimado para el producto desarrollado es mayor (1.0023); debido, posiblemente, a la inclusión de gelatina con mayor grado Bloom (270), lo que aporta mayor elasticidad y estabilidad de la espuma en la formulación.

La Figura 9, muestra las curva TPA para el masmelo control y el masmelo desarrollado con inclusión de polialcoholes y péptidos antihipertensivos.

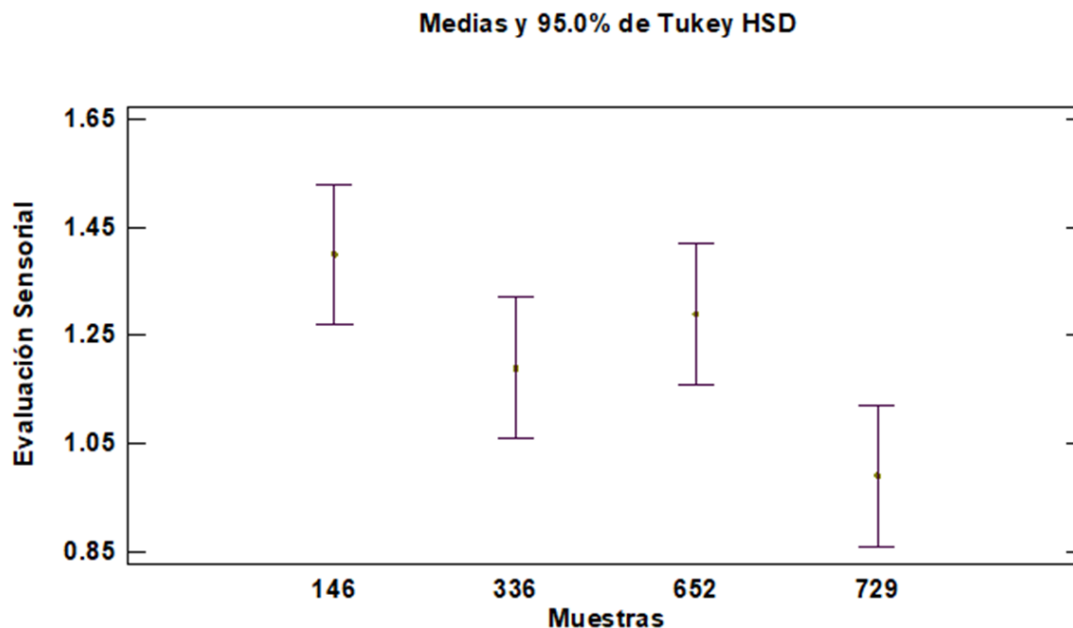


**Figura 9**

*Gráfica TPA para los masmelos control y prototipo desarrollado.*

Los resultados demuestran que el masmelo desarrollado presenta propiedades comparables y aceptables, tales como, la dureza, cohesividad y gomosidad; encontradas dentro de los rangos característicos para un masmelo depositado. Los valores para el módulo elástico, adhesividad y elasticidad, fueron estimados instrumentalmente.

Por último, el análisis de varianza de la prueba sensorial hedónica de cinco puntos, determinó las formulaciones que causaron efecto estadístico significativo sobre la evaluación sensorial ( $p < 0.05$ ). En la Figura 10, se establecen las comparaciones entre las medias de la evaluación sensorial emitida por los jueces.



**Figura 10**

*Gráfica de comparación entre las medias de la evaluación sensorial emitida por los jueces*

El masmelo control se codificó con el número 336, el que tiene inclusión de polialcoholes, fructooligosacáridos y péptidos antihipertensivos se catalogó con el número 652, aquellos con códigos 146 y 729 son dos marcas comerciales. Entre estos, los que presentaron diferencia estadística significativa fueron: 146-729 y 652-729 y los que no la presentaron ( $p > 0.05$ ) fueron el 336 y el 652, no presentaron diferencia estadística significativa.

Masmelos elaborados por Periche *et al.* (2015) con inclusión de isomaltulosa, jarabe de glucosa y jarabe de fructosa, fueron evaluados por 20 panelistas entrenados con una prueba de aceptación que contiene una escala hedónica de 9 puntos; de un total de 18 masmelos desarrollados, se seleccionaron 5 (incluido uno comercial) mediante la técnica de componentes principales. El análisis de varianza no reportó diferencias significativas entre los 5 masmelos evaluados ( $p > 0.05$ ) y las características sensoriales valoradas fueron: apariencia, color, aroma, textura, elasticidad, dureza, gomosidad, cohesividad, dulzura y preferencia global (Periche *et al.*, 2015).

## Conclusiones

El masmelo desarrollado cumple con los estándares de un masmelo depositado comercial, el módulo elástico y los parámetros del perfil de textura están dentro de las especificaciones de la literatura.

La inclusión de polialcoholes y péptidos antihipertensivos de origen lácteo, es posible en una formulación de masmelos depositados, sin causar efecto sobre las propiedades texturales del producto y su módulo elástico. Por tanto, es posible incorporar los en los niveles evaluados en este trabajo, pues, mantienen las características sensoriales propias de un masmelo comercial.

En las formulaciones de los masmelos prototipos desarrollados, se alcanza el módulo elástico y el perfil de textura del masmelo control. En estas, las proporciones de maltitol (46,55 %), jarabe de sorbitol (25%) y fructooligosacáridos (8,45%) son las responsables de la elasticidad y las cantidades de gelatina estuvieron en los niveles de inclusión.

La prueba sensorial hedónica determinó que el masmelo desarrollado y el masmelo control obtuvieron calificación en la categoría “me gusta” sin presentar diferencia estadística.

## Referencias

- Anderson, H. G. y Moore, S. E. (2004). The Emerging Role of Dairy Proteins and Bioactive Peptides in Nutrition and Health Dietary Proteins in the Regulation of Food Intake and Body Weight in Humans. *Journal of Nutrition*, 134(4), 974–979. <https://doi.org/10.1128/JB.188.5.1691>
- Chen, L., Caballero, B., Mitchell, D. C., Loria, C., Lin, P., Champagne, M., Elmer, P. J., Ard, J. D., Batch, B. C., Anderson, C. A. M. y Appel, L. J. (2013). Reducing Consumption of Sugar-Sweetened Beverages Is Associated With Reduced Blood Pressure: A Prospective Study Among United States Adults. *Circulation*, 121 (22), 2398–2406. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.911164>
- Engberink, M. F., Hendriksen, M. A. H., Schouten, E. G., Van Rooij, F. J. A., Hofman, A., Witteman, J. C. M. y Geleijnse, J. M. (2009). Inverse association between dairy intake and hypertension: The Rotterdam Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 89(6), 1877–1883. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.27064>
- Feber, J. y Ahmed, M. (2010). Hypertension in children: new trends and challenges. *Clinical Science*, 119 (4), 151–161. <https://doi.org/10.1042/CS20090544>
- Guan-Hong, L., Ming-Ren, Q., Ju-Zhen, W. y Jin-Ming Y. (2007). Antihypertensive effect of rice protein hydrolysate with *in vitro* angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity in spontaneously hypertensive rats. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16 (1), 275–280. <https://doi.org/10.6133/apjcn.2007.16.s1.52>

Hartel, R. W., Von Elbe, J. H. y Hofberger, R. (2018). *Confectionery science and technology*. Springer International Publishing AG 2018. ISBN: 978-3-319-61742-8

Hsieh, C. C., Hernández-Ledesma, B., Fernández-Tomé, S., Weinborn, V., Barile, D. y Leite, J. (2015). Milk Proteins, Peptides, and Oligosaccharides: Effects against the 21st Century Disorders. *BioMed Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/146840>

Ingelfinger, J. R. (2014). The Child or Adolescent with Elevated Blood Pressure. *New England Journal of Medicine*, 370(24), 2316–2325. <https://doi.org/10.1056/NEJMcp1001120>

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [ICONTEC]. (2008). NTC 5592 - Productos alimenticios. Gomas, jaleas y masmelos. Febrero 27 de 2008.

Malik, A. H., Akram, Y., Shetty, S., Malik, S. y Yanchou, V. (2014). Impact of Sugar-Sweetened Beverages on Blood Pressure. *The American Journal of Cardiology*, 113(9), 1574–1580. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2014.01.437>

Martínez-Maqueda, D., Miralles, B., Recio, I. y Hernández-Ledesma, B. (2012). Antihypertensive peptides from food proteins: a review. *Food & Function*, 3 (4), 350–361. <https://doi.org/10.1039/c2fo10192k>

Ministerio de la Protección Social, Colciencias, Censo de Proyectos para el Desarrollo, Sistemas Especializados de Información S.A. y Pontificia Universidad Javeriana (2015). Encuesta Nacional de Salud 2007.

Nguyen, S., Choi, H. K., Lustig, R. H. y Hsu, C. (2009). Sugar-Sweetened Beverages, Serum Uric Acid, and Blood Pressure in Adolescents. *The Journal of Pediatrics*, 154 (6), 807–813. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2009.01.015>

Passport Euromonitor International. (2022). Sugar confectionery in colombia - datagraphics. <https://www.euromonitor.com/sugar-confectionery-in-colombia/report>

Peleg, M. (2007). Water Properties of Food, Pharmaceutical, and Biological Materials. *In Trends in Food Science & Technology*, 18 (6), 339. CR

Periche, A., Heredia, A., Escriche, I., Andrés, A., y Castelló, M. (2015). Potential use of isomaltulose to produce healthier marshmallows. *LWT - Food Science and Technology*, 62 (1), 605–612. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.024>

Ramos-Ruiz, R., Poirot, E. y Flores-Mosquera, M. (2018). GABA, a non-protein amino acid ubiquitous in food matrices. *Cogent Food and Agriculture*, 4(1), 1–89. <https://doi.org/10.1080/23311932.2018.1534323>

Shobako, N. (2021). Hypotensive peptides derived from plant proteins. *Peptides*, 142, 170573. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2021.170573>

Tan, J. M. y Lim, M. H. (2008). Effects of gelatine type and concentration on the shelf-life stability and quality of marshmallows. *International Journal of Food Science & Technology*, 43 (9), 1699–1704. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01756.x>

# Línea base para el cultivo de cacao en Antioquia (Colombia): metodología, atributos e implementación

## Baseline for cocoa cultivation in Antioquia (Colombia): methodology, attributes, and implementation

Vanessa Lucia Flórez Ramos<sup>1</sup> 

Carlos Alejandro Marín Tangarife<sup>2</sup> 

Carlos Arturo Mejía Córdoba<sup>3</sup> 

María Isabel Velásquez Vélez<sup>4</sup> 

<sup>1</sup>Servicio Nacional de Aprendizaje [✉vflorezr@sena.edu.co](mailto:vflorezr@sena.edu.co)

<sup>2</sup>Servicio Nacional de Aprendizaje [✉camarint@sena.edu.co](mailto:camarint@sena.edu.co)

<sup>3</sup>Servicio Nacional de Aprendizaje [✉cmejia@sena.edu.co](mailto:cmejia@sena.edu.co)

<sup>4</sup>Servicio Nacional de Aprendizaje [✉mivelasquez@sena.edu.co](mailto:mivelasquez@sena.edu.co)

Recibido: 06/06/2022 Aceptado: 13/06/2022

**Resumen** Teniendo en cuenta el desarrollo de los rubros agrícolas en el departamento de Antioquia, surge la necesidad de determinar una línea base que permita centralizar la información y tener un punto de partida y de comparación para determinar los avances y retrocesos en relación con los rubros específicos (cacao), para conocer el enfoque inicial de la población respecto al desarrollo de un proyecto. En este trabajo se definen los atributos y metodologías para la implementación de una línea base para productores de cacao (*Theobroma cacao* L.) de cinco subregiones de Antioquia, Colombia (Magdalena Medio, Suroeste, Urabá, Occidente y Bajo Cauca). Además, se incluye la definición de los atributos básicos para este proceso, que contiene ubicación (georreferenciación), datos del productor, núcleo familiar, datos del cultivo y conectividad. Así, a cada dimensión (variable) se le aporta la codificación (atributo y tipo de información), definición operativa, unidad de medida, categoría, escala de medida, obtención de datos e indicadores. Se confirma que esta caracterización mediante la metodología planteada ofrece versatilidad al momento de la recolección de datos en campo, y que la implementación de herramientas digitales permitirá una mejor centralización de la información y trazabilidad de los sistemas productivos.

**Palabras clave:** atributos, dimensiones, línea base, productores, *Theobroma cacao* L.

**Abstract** Considering the development of agricultural products in the department of Antioquia, there is a need to determine a baseline that allows centralizing information and having a starting point to compare and determine the advances and setbacks in relation to specific products. A baseline study seeks to know the initial situation of the population with respect to the development of a project. In this work, the attributes and methodologies are defined for the implementation of a baseline for cocoa producers (*Theobroma cacao* L.) of 5 subregions of Antioquia, Colombia (Magdalena Middle-Northeast, Southwest, Urabá, West, Low Cauca). This includes the definition of the basic attributes for the implementation of a baseline that contains a location (georeferencing), producer data, family nucleus, crop data, and connectivity; each dimension (variable) is given coding (attribute and type of information), operational definition, unit of measurement, category, scale of measurement, data collection, and indicators. It is confirmed that the characterization of the baseline for cocoa producers through the proposed methodology allows versatility at the time of data collection in the field. However, the use of digital tools allows a better centralization of information and territorial targeting.

**Keywords:** attributes, baseline, dimensions, producers, *Theoroma cacao* L.

## Introducción

El cultivo del cacao en Colombia ha sido identificado como uno de los mayores potenciales de producción y exportación en diferentes mercados internacionales (Meza-Sepulveda *et al.*, 2020). Para el primer semestre del 2021, registró un crecimiento de alrededor del 11 % en la producción con respecto al año anterior. Las exportaciones del grano y sus derivados se situaron en 12.621 toneladas (Federación Nacional de Cacaoteros [Fedecacao], 2021).

Actualmente, existen en el país aproximadamente 65.341 familias cacaoteras, que cuentan con un área promedio de 3 hectáreas y una producción total de 63.416 toneladas (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2021a). A nivel nacional, Santander es el principal productor, con el 41 %, seguido por Antioquia, Arauca, Huila, Tolima y Nariño, con porcentajes inferiores al 9 %. Asimismo, el Departamento Nacional de Planeación (DNP), a través de un proceso técnico denominado “Misión de Crecimiento Verde” (MCV) prioriza cinco sistemas productivos: café, aguacate Hass, cacao, ganadería y papa.

Para la construcción de la línea base a nivel nacional en términos de productividad del sector, estos resultados nos brindan, en la actualidad, información general de la cadena productiva de cacao de Antioquia, con un rendimiento de 0,53 ton/ha-año, donde menos del 10 % de las Unidades Productivas Agrícolas (UPA) emplean riego, la utilización de fertilizantes por parte de los productores en plantaciones es inferior al 5 %, menos del 10 % de las UPA reciben asistencia técnica (Departamento Nacional de Planeación, 2019) y, finalmente, según el estudio de la Unidad de Planificación Rural Agropecuaria, la mayoría de las plantaciones de cacao se encuentran en suelos no aptos (Unidad de Planificación Rural Agropecuaria [UPRA], 2015).

Toda esta información es de gran utilidad para la planificación del sector agrícola a cualquier escala, que debe estar basada en información actualizada, que permita satisfacer las necesidades puntuales de los agricultores (Rojas *et al.*, 2014). En Colombia, el cacao no es la actividad agronómica principal, no se siembra en grandes extensiones, sino que cuenta con superficies promedio de cultivo de 3 hectáreas, lo cual solo permite el autosostenimiento de la mayoría de los productores, que se ubican en zonas económicamente deprimidas, con bajos niveles de escolaridad, pocas vías de acceso, bajos ingresos y con dificultades de orden público (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2018).

Sin embargo, en los últimos años, este rubro productivo ha sido utilizado como una alternativa a los cultivos ilícitos, ya que a nivel mundial el grano es reconocido como fino de sabor y aroma, característica que solo posee el 5 % de la producción mundial (Osorio, 2022). Los productores se encuentran esperanzados en que este cultivo puede traer paz y progreso al sector rural del país, ya que genera crecimiento en las economías locales y mejora la calidad de vida de las comunidades (Sierra, 2016).

En el país, la historia y geografía, especialmente en las zonas rurales, son muy heterogéneas, el desarrollo regional se ha caracterizado por grandes desigualdades, debido a esto encontramos campesinado ubicado en zonas más “desarrolladas”, con una fuerte articulación a las ciudades, y otras con gran índice de pobreza, especialmente las más dispersas y apartadas (Semillas de Identidad, 2018). Por tales razones, se busca analizar las condiciones y elementos constitutivos del proceso de producción del cacao, pues es necesario caracterizarlo y conocer las condiciones óptimas para su producción, para potencializar su cultivo mediante el uso de

tecnologías, y proponer líneas de desarrollo que aprovechen los recursos humanos, tecnológicos, institucionales y logísticos para mejorar los ingresos económicos de los productores (Osorio, 2022).

La investigación de los sistemas de producción se ha realizado mediante el uso de metodologías que orientan los procesos a la solución de problemas, por lo que es necesario el conocimiento del objeto de estudio por medio de la caracterización, la cual consiste en la obtención del modelo real de producción del sistema, para explicar las interacciones existentes entre los diferentes agroecosistemas y entre el sistema y su entorno (Malagón y Prager, 2001).

De ahí que la caracterización surja como una herramienta metodológica ante la necesidad de identificar las características técnicas y socioeconómicas de los productores agropecuarios para mejorar la eficacia de la investigación, la transferencia y la asistencia técnica agropecuaria, facilitando el análisis integral de los componentes del sistema de producción así como las limitaciones y potencialidades del mismo, todo esto permite la adopción de recomendaciones tecnológicas, y contribuye al desarrollo de las zonas productoras (Mantilla-Blanco *et al.*, 2000).

Hasta el momento, las investigaciones en cacao se han centrado en el desarrollo de estudios agronómicos (Montealegre-Bustos *et al.*, 2021), biológicos (López-Hernández *et al.*, 2018), moleculares (López-Barrera, 2021), genómicos (Ricaño-Rodríguez *et al.*, 2018), biotecnológicos (Wickramasuriya y Dunwell, 2018), de control biológico (Aini *et al.*, 2020), y sobre cadmio (Rodríguez-Bolaño *et al.*, 2020). Actualmente, muchos investigadores se centran en el estudio de los parámetros fisicoquímicos relacionados con la calidad del

grano (Escobar *et al.*, 2001), y en mejorar el proceso de fermentación (Castro-Alayo *et al.*, 2019), entre otros. Sin embargo, en cuanto a las metodologías para la implementación de una línea base con información de productores de cacao por municipios o subregiones, la literatura es limitada (Rojas *et al.*, 2014).

Como una estrategia del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, se planteó en el 2018, una caracterización en la que se proyectó crear un “Sistema de Información de la Agricultura Campesina, Familiar y Comunitaria” mediante recolección de información de los productores que, una vez organizada, sistematizada y analizada, combinara datos con organizaciones y sistemas productivos (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2021b).

Por lo tanto, el objetivo es diseñar la metodología que permita definir los atributos para implementar la línea base de los productores de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el departamento de Antioquia, con el fin de tomar decisiones de forma adecuada, de manera que se fortalezca el desarrollo del gremio cacaotero.

## Materiales y métodos

El diseño de la metodología para el levantamiento de la línea base de los cultivos establecidos de cacao combina métodos cuantitativos y cualitativos. La metodología que planteada se enfoca en la descrita por Medianero (2018), la cual emplea:

- 1) Delimitación de la población de estudio, es decir, el grupo de personas, instituciones u objetos a ser evaluados. Su descripción emplea características demográficas, sociales,

económicas, productivas, tecnológicas e histórico-culturales. Esta información se obtiene por medio de fuentes secundarias y entrevistas a técnicos y expertos de la zona.

2) Determinación de las variables de estudio con sus definiciones operativas, unidades de medida y categoría de agrupamiento, en función de la escala de medición establecida (para variables cualitativas: muy satisfecho, satisfecho, indiferente, insatisfecho, muy insatisfecho; mientras que para variables cuantitativas se emplean rangos). Dichas variables deben estar relacionadas con los objetivos de la intervención, por lo que estos deben ser claros, específicos y factibles de medir, al asociarlos con indicadores de verificación (para variables cuantitativas: porcentaje de aprobación de los objetivos; mientras que para variables cuantitativas se emplean los promedios calculados de la muestra). La medición se realiza con entrevistas o cuestionarios.

3) Selección del método de muestreo, el cual puede ser probabilístico (en el caso de la asociación, todos los miembros tienen la misma posibilidad de ser elegidos) o dirigido, en el que la escogencia en el muestreo depende de la característica que se desea medir. Sin embargo, el muestreo debe ser representativo de la población, es decir, que reproduzca las características propias de los productores.

4) El diseño de la encuesta debe buscar resolver el problema planteado, por lo que intrínsecamente define las hipótesis y especifica adecuadamente las variables y las escalas de medida. Finalmente, se analizan los indicadores, los cuales resumen la situación de las unidades de análisis.

En general, el establecimiento de la línea base desde el punto de vista metodológico planteado por Medianero (2018) recomienda

emplear un decálogo de etapas que abarca, inicialmente, la selección del lugar de estudio hasta la construcción del informe final. Estas etapas se agrupan en tres procesos macros: determinación del marco muestral, especificación de las variables de estudio y análisis de datos. De tal forma que la línea base representa la primera valoración de la situación de la población beneficiaria mediante indicadores ampliamente constituidos de los beneficios directos, privados y sociales que conforman la razón de ser del proyecto, y mediante la aplicación de esta como método de comparación se cuantificaría el avance del proyecto. Aquí ofrecemos una adaptación a este modelo metodológico de levantamiento de línea base para un sistema de producción de cacao.

### *Ubicación*

Para el cultivo del cacao, esta metodología se centra en los productores que se encuentran bajo la figura de asociación, pertenecientes a las subregiones de Occidente, Magdalena Medio, Bajo Cauca, Urabá y Suroeste del departamento de Antioquia (Figura 1).

### *Delimitación de la población de estudio*

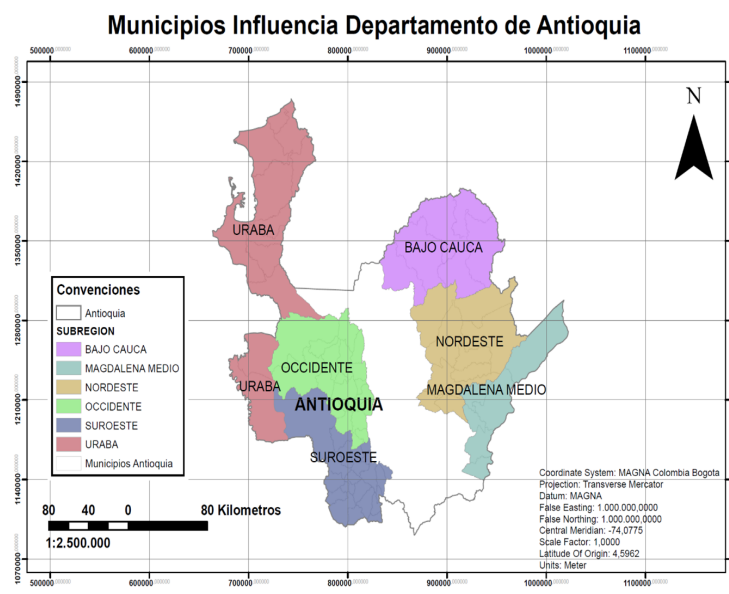
En este primer apartado se debe precisar la población objetivo del proyecto (Medianero, 2018). En este caso, el establecimiento de la línea base en Antioquia para los productores de cacao ubicados en cinco subregiones cuenta con, aproximadamente 4227, distribuidos en asociaciones del Bajo Cauca (8), Occidente (1), Magdalena Medio (5), Urabá (17), y Suroeste (10).

### *Determinación de las variables de estudio*

La selección de variables a evaluar en una línea base para productores de cacao debe estar acorde con los objetivos del estudio, de tal manera que estas se puedan medir, observar, evaluar o inferir, es decir, que se puedan obtener

datos en la realidad. Estas variables deberán reflejar la situación que afronta la población delimitada o unidad muestral en el proceso

productivo, ya que son estos los actores críticos en la transformación de su propia realidad social (Balcazar, 2003).



**Figura 1**

### *Ubicación de las subregiones del departamento Antioquia (Colombia)*

*Nota.* Elaboración propia con QGIS de código abierto y gratuito.

Además de identificar las variables, estas se deben definir conceptualmente en la encuesta (dimensión, atributo y tipo de información), se deben establecer las categorías de escala de medición que pueden ser métricas, dimensionales, productivas, etc., dependiendo del atributo a medir. Toda esta información sirve para generar indicadores o medidas de resumen para los datos que estén relacionados con el cumplimiento de los objetivos.

La actividad más importante de esta etapa es la identificación y posterior definición de variables, ya que son insumo fundamental para el proceso de concepción de un sistema de seguimiento y evaluación. En general, una variable tiene cinco elementos básicos: nombre o designación, definición operativa, categorías o niveles de valores de la variable, métodos para recolectar los datos de las unidades de análisis e indicadores o resúmenes de los datos recolectados (Medianero, 2018).

### *Método de muestreo para línea base*

Debido a que no es fácil medir a toda la población, se selecciona una muestra aleatoria, la cual está definida como un subconjunto de elementos que mantiene las características de la población, por lo tanto, es un fiel reflejo de esta (Hernández *et al.*, 2014).

La metodología emplea el muestreo probabilístico para una asociación, el cual representa un subgrupo de la población de cacaocultores, en el que todos los elementos de esta tienen la misma probabilidad de ser elegidos. Con el fin de calcular el tamaño de la muestra, se asume una población finita, cuyo total está determinado por el número de productores dentro de la asociación. Aquí adoptamos lo recomendado por Medianero (2018), de asumir un nivel de significancia del 95 % ( $Z = 1,96$ ), un error de muestreo del 8 % y una probabilidad de ocurrencia ( $p$ ) de 0,5. Tales valores se reemplazan en la fórmula para una población finita (Daniel, 1996):

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{e^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Ecuación 1. Determinación de la muestra con población finita

Donde:

$n$  = Tamaño de la muestra

$p$  = Probabilidad de ocurrencia

$q$  = Probabilidad de no ocurrencia ( $1 - p$ )

$N$  = Número de productores miembros de la asociación

$e$  = Error del muestreo

### *Cuestionario para la línea base de productores de cacao*

Por medio de entrevistas, talleres, grupos focales y cualquier técnica cualitativa aplicada de recopilación de información, se puede conocer la situación inicial de la población o un diagnóstico de esta, por medio de un formulario que registra las respuestas a preguntas con las variables a medir. Tal formulario se conoce como encuesta, la cual es definida por García *et al.* (1993) como una investigación realizada sobre una muestra de sujetos representativa de un colectivo más amplio, empleando métodos y procedimientos estandarizados de interrogación con el fin de obtener mediciones cuantitativas de una gran variedad de características objetivas y subjetivas de la población.

En esta investigación, se diseñaron preguntas para una encuesta mixta, las cuales representan un conjunto de procesos sistémicos, empíricos y críticos de investigación e implican la recolección y el análisis de datos cuantitativos y cualitativos (Mariel *et al.*, 2018). A este tipo de información se le conoce como información primaria, que determina una mejor opción enmarcada en las observaciones y experimentaciones. Según Medianero (2018), un

diseño apropiado de encuesta debe considerar: 1) identificar adecuadamente del problema a investigar, 2) concretar de forma precisa las hipótesis, y 3) definir adecuadamente las variables y las escalas de medida.

Con la encuesta se obtiene la información necesaria para llevar a cabo la investigación, de tal manera que consigue trasladar el objetivo de la investigación a preguntas concretas para los encuestados, homogeniza la obtención de la información, debido a que las personas responden al mismo tipo de información, y facilita la codificación de los datos.

## **Resultados**

Dadas las oportunidades futuras para el cultivo del cacao, el “Plan Nacional de Desarrollo Cacaotero de Colombia 2012-2021” se propuso, para el 2020, alcanzar una producción total de 156.000 toneladas en el país, y para conseguir tales resultados, Antioquia contribuyó con 15.500 acres nuevos y 9.000 más para renovación (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2021b). Por ello, las oportunidades que se derivan del comportamiento del mercado internacional, y que se desarrollan en las subregiones de Antioquia, representan el 80 % de hectáreas sembradas y el 98 % de la producción (Fedecacao, 2021).

Con base en lo anterior, se determinaron las subregiones de Antioquia como las zonas de estudio para el levantamiento de la línea base, dada su importancia y consideraciones como polos de desarrollo con relación al cultivo de cacao en el departamento de Antioquia.

### *Determinación del marco muestral y población de estudio*

El marco muestral para el establecimiento de la línea base incluye a la población de estudio correspondiente a los productores de cacao

ubicados en cinco subregiones de Antioquia, la cual abarca aproximadamente 4227 productores, estos se encuentran distribuidos en ocho asociaciones del Bajo Cauca, una en Occidente, cinco en Magdalena Medio, 17 en Urabá, y 10 en Suroeste. Se deberá emplear la Ecuación 1 por subregión para determinar el tamaño de la muestra por asociación, ya que todas cuentan con un número diferente de productores, y de esta manera se garantiza que todas sean abarcadas.

### Identificación de variables de estudio

En este estudio, a partir de las metodologías planteadas, se identificaron las variables, divididas en cuatro dimensiones, las cuales se definen como los aspectos o facetas de una

variable compleja, y su formulación depende de cómo se defina conceptualmente la variable (Abreu, 2012). Por lo tanto, las dimensiones sirven para desglosar las variables, en nuestro caso empleamos: información general, ubicación geográfica, conformación del grupo familiar y cultivo. En cuanto a las variables totales, se enmarcan en el desarrollo de un cuestionario con datos. En este se consideran variables descriptivas para la población objeto de estudio, las cuales se estructuran dentro del modelo de encuesta.

A continuación, se condensan en las Tablas 1-4, las diferentes dimensiones para desglosar los atributos de estudio relacionados con la cadena productiva del cacao.

**Tabla 1**

#### Información general del productor

| Atributo                              | Tipo de información                                                                      |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fecha diligenciamiento                | Variable numérica, cuantitativa continua                                                 |
| Nombre productor                      | Variable tipo texto                                                                      |
| Apellido                              | Variable tipo texto                                                                      |
| Número telefónico                     | Variable numérica, cuantitativa continua                                                 |
| Número de documento                   | Variable numérica, cuantitativa continua                                                 |
| Red Social que más utiliza            | Variable tipo texto, cualitativa policotómica (Facebook, WhatsApp, Twitter, entre otros) |
| Número telefónico del WhatsApp        | Variable numérica, cuantitativa continua                                                 |
| Correo electrónico                    | Variable tipo texto                                                                      |
| Nombre asociación                     | Variable tipo texto, cualitativa policotómica (lista asociaciones de subregiones)        |
| Nombre granja o finca                 | Variable tipo texto                                                                      |
| Foto finca                            | Variable tipo imagen, formato JPG                                                        |
| Foto <i>habeas data</i>               | Variable tipo imagen, formato JPG                                                        |
| Número de encuesta                    | Variable numérica, cuantitativa continua                                                 |
| Nombre completo del extensionista     | Variable tipo texto                                                                      |
| Apellidos completos del extensionista | Variable tipo texto                                                                      |
| Correo electrónico del extensionista  | Variable tipo texto                                                                      |
| Número telefónico del extensionista   | Variable tipo texto                                                                      |

Nota. Elaboración propia.

**Tabla 2**

*Dimensión ubicación, representa la ubicación geográfica del cultivo*

| Atributo                | Tipo de información                                                 |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Subregión               | Variable tipo texto, cualitativa policotómica (lista subregiones)   |
| Departamento            | Variable tipo texto, cualitativa policotómica (lista departamentos) |
| Municipio               | Variable tipo texto, cualitativa policotómica (lista municipios)    |
| Vereda                  | Variable tipo texto, cualitativa policotómica (lista veredas)       |
| Nombre predio           | Variable tipo texto                                                 |
| Origen de la coordenada | Variables cuantitativas continuas                                   |
| Altitud                 | Variables cuantitativas continuas                                   |
| Latitud                 | Variables cuantitativas continuas                                   |
| Longitud                | Variables cuantitativas continuas                                   |

Nota. Elaboracion propia.

**Tabla 3**

*Conformación del grupo familiar del productor*

| Atributo                                                                                               | Tipo de información                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Ingrese número de padre, madre, hijo(a) abuelo(a), hermano(a), cuñado(a), nieto(a), tío(a), sobrino(a) | Variable numérica, cuantitativa continua |

Nota. Elaboracion propia.

**Tabla 4**

*Distribución, desarrollo cultivo y prácticas de postcosecha*

| Atributo                                             | Tipo de información    |
|------------------------------------------------------|------------------------|
| Orientación principal de la finca                    | Variable tipo texto    |
| Orientación secundaria de la finca                   | Variable texto         |
| Cultivo predominante 1                               | Variable texto         |
| Cultivo predominante 2                               | Variable tipo texto    |
| Variedades del lote de cacao                         | Variable tipo texto    |
| Siembra 2021                                         | Variable numérica      |
| Siembra 2022                                         | Variable numérica      |
| Producción por hectárea kg/año                       | Variable numérica      |
| Cantidad área de la finca                            | Variable numérica      |
| Cantidad área de finca utilizada                     | Variable numérica      |
| Cantidad de área de la finca sin utilizar            | Variable numérica      |
| Realiza transformación de cacao                      | Variable tipo booleano |
| Cuenta con certificación BPA, Global GAP, otra       | Variable tipo booleano |
| Cuenta con permiso de concesión de agua, vertimiento | Variable tipo booleano |
| Precio de venta/kg cosecha                           | Variable tipo numérico |
| Producción última cosecha kg                         | Variable tipo numérico |
| Cuanto destina autoconsumo kg/año                    | Variable tipo numérico |
| Cuanto destina para la venta kg/año                  | Variable tipo numérico |

| Atributo                                        | Tipo de información |
|-------------------------------------------------|---------------------|
| Proceso de fermentación (horas)                 | Variable numérica   |
| Proceso de secado (horas)                       | Variable numérica   |
| Frecuencia de podas (formación y mantenimiento) | Variable numérica   |

Nota. Elaboración propia.

El conjunto de datos recopilado se emplea para su análisis, esta información se determina como relevante si sirve para medir las variables relacionadas con los efectos e impactos del proyecto (Medianero, 2018). Las variables discretas se pueden organizar y analizar mediante estadística descriptiva, mientras que las variables continuas pueden emplearse a nivel comparativo mediante pruebas ANOVA o pruebas no paramétricas según el ajuste de los datos.

## Conclusiones

Las generalidades de la línea base para el cultivo del cacao propuestas aquí pueden ser aplicadas a otros campos de producción agrícola u otros rubros productivos, lo que permitirá generar estudios, rutas de investigación y aplicabilidad en otros contextos que requieren líneas de acción y producción, para fortalecer la economía regional.

La metodología de línea base emplea también información secundaria referente a la población estudiada. Estos resultados combinados con los obtenidos en las entrevistas y encuestas (información primaria) constituyen el pilar de la investigación, cuyo propósito es la socialización de estos resultados en un espacio de retroalimentación que enriquezca los procesos de investigación participativa.

Esta metodología, al momento de caracterizar productores de cacao (municipio, departamento), reducirá el tiempo y el trabajo considerablemente. Además, la caracterización, o línea base, de productores de cacao, a partir de

herramientas digitales, unida a otras fuentes de información, facilitará una mejor orientación territorial de herramientas políticas integradas al sistema productivo, y junto a una adecuada disponibilidad de información y procesos de toma de decisiones, fortalecerá la cadena y generará valor para la producción, potenciando la comercialización del producto.

## Referencias

- Abreu, J. L. (2012). Constructos, variables, dimensiones, indicadores y congruencias. *International Journal of Good Conscience*, 7 (3), 123-130. [http://www.spentamexico.org/v7-n3/7\(3\)123-130.pdf](http://www.spentamexico.org/v7-n3/7(3)123-130.pdf)
- Aini, F. N., Sulistyowati, E., Oktaviana, S., y Wulandari, N. (2020). Biological control of cocoa pod rot, *Phytophthora palmivora*, using *Trichoderma harzianum* as an endophyte. *ACIAR Proceedings Series*, 149, 61-67. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20203545970>
- Balcazar, F. E. (2003). Investigación acción participativa (IAP) Aspectos conceptuales y dificultades de implementación. *Fundamentos en humanidades*, 4(7-8), 59-77.
- Castro-Alayo, E. M., Idrogo-Vásquez, G., Siche, R., y Cárdenas-Toro, F. (2019). Formation of aromatic compounds precursors during fermentation of Criollo and Forastero cocoa. *Heliyon*, 5(1), e01157. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01157>
- Daniel, W. W. (1996). *Bioestadística Base para el análisis de las ciencias de la salud*. Limusa S. A.
- Departamento Nacional de Planeación. (2019). *Misión de crecimiento verde. Síntesis de los resultados de estudios técnicos*. <https://www.dnp.gov.co/Crecimiento-Verde/Documents/Resultados/DNP%202020%20-%20S%C3%ADntesis%20Misi%C3%B3n%20de%20Crecimiento%20Verde.pdf>

Escobar, S., Santander, M., Zuluaga, M., Chacón, I., Rodríguez, J., y Vaillant, F. (2001). Fine cocoa beans production: Tracking aroma precursors through a comprehensive analysis of flavor attributes formation. *Food Chemistry*, 365, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130627>

Federación Nacional de Cacaoteros. (2021). Colombia cacaotera. *Periódico de Fedecacao-Fondo Nacional del Cacao*, 58. <https://drive.google.com/file/d/1w2tBLP8IG6faDgdYacgLn9mIdXI0qBNL/view>

García, M., Ibañez, J., y Alvira, F. (1993). *El análisis de la realidad social Métodos y técnicas de investigación*. Alianza.

Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2014). *Metodología de la investigación*. McGraw Hill.

López-Barrera, G. L. (2021). Análisis molecular de hongos antagonistas aislados de plantaciones de cacao (*Theobroma cacao*) de Norte de Santander. *Ingeniería y competitividad*, 23(2), e21511154. <https://doi.org/10.25100/iyc.23i2.11154>

López-Hernández, J. G., López-Hernández, L. E., Avendaño-Arrazate, C. H., Aguirre-Medina, J. F., Espinosa-Zagaroza, S., Moreno-Martínez, J. L., Mendoza-López, A., Suárez-Venero, G. M. (2018). Biología floral de cacao (*Theobroma cacao* L.); Criollo, Trinitario y Forastero en México. *Agro Productividad*, 11(9), 129–135. <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i9.1225>

Malagón, R., y Prager, M. (2001). El enfoque de sistemas: Una opción para el análisis de las unidades de producción agrícola. *Universidad Nacional de Colombia*. <https://repositorio.agrosavia.co/handle/20.500.12324/12595>

Mantilla-Blanco, J., Argüello-Angulo, A. L., y Méndez-Aldana, H. (2000). Caracterización y tipificación de los productores de cacao del departamento de Santander. *Corpoica, Bucaramanga*. <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/6751/2/Caracterizaci%C3%B3n%20y%20tipificaci%C3%B3n%20de%20los%20productos%20de%20cacao%20en%20el%20Departamentoo%20de%20Santander.pdf>

Mariel, R., Avalos, L., Steier, M. S., y Balbi, M. M. (2018). Técnicas mixtas de recolección de datos en la investigación cualitativa. Proceso de construcción de las prácticas evaluativas de los profesores expertos en la UNNE. *Investigación Cualitativa en Educación*, 1, 587–596.

Medianero, D. (2018). Vista de metodología de estudios de línea de base. *Pensamiento Crítico*, 15, 61–82. [https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/pensa\\_critico/2011\\_n15/pdf/a05.pdf](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/pensa_critico/2011_n15/pdf/a05.pdf)

Meza-Sepulveda, D., Quintero-Saavedra, J., Zartha-Sossa, J., y Hernández-Zarta, R. (2020). Estudio de prospectiva del sector cacao al año 2032 como base de programas de capacitación universitaria en el sector agroindustrial. Aplicación del método Delphi. *Información Tecnológica*, 31(3), 219–230. <http://doi.org/10.4067/S0718-07642020000300219>

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2018). *Cadena de Cacao Indicadores e instrumentos*. Dirección de Cadenas Agrícolas y Forestales. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Cacao/Documentos/2018-01-30%20Cifras%20Sectoriales.pdf>

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2021a). Cadena de Cacao. Dirección de Cadenas Agrícolas y Forestales. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Cacao/Documentos/2021-03-31%20Cifras%20Sectoriales.pdf>

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (2021b). Plan Nacional de Desarrollo Cacaotero 2012–2021. *Plan Decenal Cacaotero*. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Cacao/Normatividad/2012%20Plan%20Decenal%20cacaotero%202012-2021.pdf>

Montealegre-Bustos, F., Rojas-Molina, J., y Jaimes-Suárez, Y. (2021). Factores agronómicos y socioeconómicos que inciden en el rendimiento productivo del cultivo de cacao. Un estudio de cacao en Colombia. *Revista FAVE-Ciencias Agrarias*, 20(2), 59–73.

Osorio, E. L. (2022). *Caracterización de los productores de cacao (Theobroma cacao) del Municipio de Marquetalia, Caldas [Tesis de pregrado]*. Universidad de Caldas, Manizales, Colombia. <https://repositorio.ucaldas.edu.co/handle/ucaldas/17373>

Ricaño-Rodríguez, J., Ramos-Prado, J. M., Cicoletzi-Vásquez, E., e Hipólito-Romero, E. (2018). El estudio genómico del cacao (*Theobroma cacao* L.); Breve recopilación de sus bases conceptuales. *Agroproductividad*, 11(9), 29–35. <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i9.1211>

Rodríguez-Bolaño, J. Á., Marín-Vélez, N. A., y Villanueva-Mejía, D. F. (2020). *Desarrollo de líneas de cacao (Theobroma cacao L.) editadas genéticamente que limitan la acumulación de cadmio en sus tejidos: Fase*

I [Tesis de pregrado]. Universidad Eafit, Medellín, Colombia. <http://hdl.handle.net/10784/24653>

Rojas, M. L., Benavides, M., Mayorga, D. F., y Manjarrés, D. (2014). Línea base y componentes agroecológicos de un sistema productivo de cacao en el municipio de Medina, Cundinamarca. *Inventum*, 9(17), 16-22. <https://doi.org/10.26620/uniminuto.inventum.9.17.2014.16-22>

Semillas de Identidad. (2018). *Pacto por la equidad rural y el bienestar de la población campesina*. <https://www.semillasdeidentidad.org/es/noticias/pacto-por-la-equidad-rural-y-el-bienestar-de-la-poblacion-campesina>

Sierra, D. C. (2016). *El cacao como producto líder en la sustitución de cultivos ilícitos en el proceso de posconflicto* [Tesis de pregrado]. Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia. <http://hdl.handle.net/10654/15777>

Unidad de Planificación Rural Agropecuaria. (2015). *Zonificación para planaciones forestales con fines comerciales escala 1:100.000*. <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/handle/11438/8496>

Wickramasuriya, A., y Dunwell, J. (2018). Cacao biotechnology: current status and future prospects. *Plant Biotechnology Journal*, 16 (1), 4-7. <https://doi.org/10.1111/pbi.12848>

# Uso potencial del camu-camu (*Myrciaria dubia*) en el desarrollo de alimentos funcionales

## Potential use of Camu-Camu (*Myrciaria dubia*) in Functional Food Development

Liliana Londoño Hernández<sup>1</sup> 

Constanza Montalvo Rodríguez<sup>2</sup> 

Oscar Julián Sierra<sup>3</sup> 

Estefanía García González<sup>4</sup> 

<sup>1</sup>Universidad Nacional Abierta y a Distancia ✉ [liliana.londono@unad.edu.co](mailto:liliana.londono@unad.edu.co)

<sup>2</sup>Servicio Nacional de Aprendizaje ✉ [cmontalvor@sena.edu.co](mailto:cmontalvor@sena.edu.co)

<sup>3</sup>Servicio Nacional de Aprendizaje ✉ [oscarj.arroyave@sena.edu.co](mailto:oscarj.arroyave@sena.edu.co)

<sup>4</sup>Servicio Nacional de Aprendizaje ✉ [esgarciag@sena.edu.co](mailto:esgarciag@sena.edu.co)

Recibido: 06/06/2022 Aceptado: 13/06/2022

**Resumen** El rápido incremento en la obesidad, la hipertensión y otras enfermedades crónicas no transmisibles, debido al consumo de alimentos ultraprocesados como grasas y azúcares, y a la situación de inseguridad alimentaria en muchos países de América Latina, ha promovido el desarrollo de alimentos mínimamente procesados, seguros y saludables de fuentes no tradicionales, como los frutos amazónicos, que además de nutrir, tienen un efecto benéfico en la salud. El objetivo de esta revisión bibliográfica fue analizar los principales compuestos biológicos de interés, para evaluar las oportunidades actuales del camu-camu en el desarrollo de alimentos funcionales, teniendo en cuenta la producción científica anual. Entre los frutos amazónicos estudiados en los últimos años, se destaca el camu-camu, un fruto amazónico pequeño, que se caracteriza por su alto valor nutricional, especialmente por su contenido de vitamina C, carotenoides, polifenoles (flavonoides, taninos, antocianinas, etc.) y otros compuestos reconocidos como antioxidantes, cuyo consumo está asociado a la disminución del envejecimiento celular y el estrés oxidativo. Debido a que tiene una vida útil relativamente corta, se han desarrollado diversos productos para garantizar su conservación por más tiempo, además de asegurar sus propiedades nutricionales y funcionales. Este fruto se aprovecha para obtener jugos, yogures, helados, mermeladas y refrescos, entre otros productos. Sin embargo, uno de los mayores potenciales actuales es el uso como ingrediente y/o materia prima en la producción de alimentos convencionales, para otorgarles características de “alimentos funcionales”, para generar un beneficio a la salud, más allá de suplir las necesidades nutricionales.

**Palabras clave:** materia prima; vitaminas; seguridad alimentaria; Amazonia.

**Abstract** The rapid increase in obesity, hypertension, and other chronic non-communicable diseases, due to the consumption of ultra-processed foods such as fats and sugars and the situation of food insecurity in many Latin American countries, has promoted the development of minimally processed, safe, and healthy foods from non-traditional sources, such as Amazonian fruits, which in addition to nourishing, have a beneficial effect on health. The objective of this review was to analyze the main biological compounds of interest, to evaluate the current opportunities of Camu-camu in the development of functional foods. It was determined to consider the annual scientific production. Among the Amazonian fruits studied in recent years, Camu-camu stands out, a small Amazonian fruit characterized by its high nutritional value, especially for its vitamin C content, polyphenol carotenoids (flavonoids, tannins, anthocyanins, etc.), and other compounds recognized as antioxidants, whose consumption is associated with the reduction of cellular aging and oxidative stress. Because it has a relatively short shelf life, various products have been developed to guarantee the fruit's preservation for a longer period, in addition to ensuring its nutritional and functional properties. It is used to obtain juices, yogurts, ice creams, jams, and soft drinks, among other products. However, one of the greatest current potentials is the use as an ingredient and/or raw material in the production of conventional foods, giving them the characteristics of “functional foods”, to generate a health benefit beyond supplying nutritional needs.

**Keywords:** raw materials; vitamins; food security; Amazonian.

## Introducción

Por su posición geográfica, Colombia es un país que cuenta con una amplia diversidad y variedad de recursos naturales. Pese a esto, las cifras de inseguridad alimentaria continúan siendo alarmantes. Se considera que el 12,5 % de la población se encuentra subalimentada y los problemas aumentan en las poblaciones vulnerables del país. Para mitigar este impacto, se han planteado diferentes estrategias, una de ellas es la promoción del incremento de la oferta agropecuaria (Hodson *et al.*, 2017), con el cultivo de plantas alimenticias no convencionales.

Las tendencias actuales se enfocan en el desarrollo de nuevos alimentos o “*novel foods*”, los cuales usan materias primas no convencionales, pero disponibles en la región (Comisión Europea, s. f.). Algunos de estos, se caracterizan por ser alimentos funcionales, o alimentos que además de su función tradicional de nutrir, tienen compuestos biológicos (compuestos bioactivos) que aportan efectos positivos en la salud y ayudan en la prevención de enfermedades (Mohamed, 2014).

En los últimos años, el interés por los frutos amazónicos ha incrementado gracias a que se han encontrado propiedades interesantes, que pueden ser aprovechadas para la elaboración de alimentos funcionales. Las especies, antes subutilizadas, hoy tienen un nicho de mercado creciente sostenido y son una oportunidad real para el fortalecimiento regional y la construcción de tejido social (Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas [SINCHI], 2019). Entre estos frutos amazónicos con potencial de producción, se destaca el camu-camu, que se caracteriza por ser redondo y por su alto contenido de ácido ascórbico (Inoue *et al.*, 2008), potasio, carotenoides y antocianinas; compuestos que le confieren algunas propiedades biológicas antioxidantes,

antimicrobianas y anticancerígenas, entre otras (Zanatta y Mercadante, 2007).

El Centro de Biotecnología Industrial (CBI) de la Regional Valle, ubicado en Palmira, en los últimos dos años ha diversificado sus líneas de investigación hacia la biotecnología agroindustrial, para el aprovechamiento de la biodiversidad de nuestro país y el avance de la seguridad alimentaria. Durante 2019, el CBI desarrolló el proyecto SENNOVA “Desarrollo de un Alimento Funcional a partir de camu-camu”, que busca aprovechar las propiedades de este fruto para obtener un producto que aporte beneficios al consumidor. Como parte de la documentación del proyecto, el presente documento analiza los principales compuestos biológicos de interés y evalúa las oportunidades actuales del camu-camu en el desarrollo de nuevos productos y/o alimentos funcionales.

## Metodología

La revisión bibliográfica se determinó teniendo en cuenta la producción científica en el periodo de tiempo de 2005 a 2022. La búsqueda de los documentos se realizó en las bases de datos Google, Google Académico y ScienceDirect. Los criterios de consulta en Google principalmente fueron: “frutos amazónicos colombianos” AND “producción”, “frutos amazónicos colombianos” AND “comercialización” y “frutos exóticos colombianos” AND “producción”. Se encontraron 10200 registros en Google Académico y 373 en ScienceDirect con los criterios de consulta: “camu camu” OR “*Myrciaria dubia*”, en los temas, títulos, resúmenes y palabras clave.

Para la búsqueda de artículos por temas específicos, en Google Académico se emplearon las siguientes palabras claves: “camu camu” AND “products” AND “byproducts” (263 resultados), “camu camu” AND “amazonia”

AND “Colombia” (972 resultados), “camu camu” AND “Nutritional composition” (442 resultados), “camu camu” AND “Vitamin C” (2340 resultados).

## Resultados y discusiones

### *Constituyentes bioactivos y efectos benéficos en la salud de frutos amazónicos*

Los cambios en el estilo de vida, generados por el crecimiento económico y el aumento en la urbanización, han ocasionado la reducción en el consumo de preparaciones tradicionales, lo que conlleva a un incremento en el consumo de alimentos procesados, que se caracterizan por tener altos niveles de azúcar, grasa y aditivos químicos. Esta situación puede desencadenar problemas de sobrepeso, obesidad y otras enfermedades crónicas no transmisibles (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO] y Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2017).

Particularmente, en Colombia, un 46 % de la población adulta presenta sobrepeso y obesidad, asociados a una alimentación con grandes cantidades de azúcar, grasa y colesterol, y baja en fibra y ácidos grasos poliinsaturados (Savino, 2011). De acuerdo con la FAO y la OPS (2017), para combatir estos problemas es necesario promover la producción sostenible de alimentos frescos, seguros y nutritivos, asegurar su diversidad y oferta en todos los sectores de la población, educar a la población en temas nutricionales e informar a los consumidores sobre la composición de los alimentos, especialmente los de alto contenido de azúcar, grasas y sodio. Es pertinente una alternativa al consumo de alimentos procesados, como la generación de productos orgánicos y mínimamente procesados, pero listos para el consumo, de manera que ofrezcan la oportunidad de una alimentación saludable.

Colombia es un país con una gran riqueza en biodiversidad de materia prima, con excelentes propiedades nutricionales, que pueden ser aprovechadas para la elaboración y obtención de alimentos. Los frutales amazónicos hacen parte de esta gran biodiversidad, constituyen una nueva cadena productiva para la fruticultura (Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas [SINCHI] y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 2008) y representan el patrimonio gastronómico del país. En su mayoría, con alto contenido de compuestos bioactivos, vitaminas, antioxidantes y micronutrientes, y son empleados en la elaboración de diferentes recetas originarias de la región (Malagón, 2017).

Los compuestos bioactivos son constituyentes de algunas plantas y alimentos, que se caracterizan por cumplir funciones específicas en el cuerpo humano, y brindan un beneficio adicional a la salud. Un gran porcentaje de estos son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, entre los cuales se encuentran antibióticos, micotoxinas, alcaloides, pigmentos y fenólicos. Entre los compuestos fenólicos se destacan los flavonoides, los ácidos fenólicos y los taninos (Martins *et al.*, 2011).

Varios autores han comprobado algunas de las funciones biológicas de los compuestos bioactivos, como la actividad antioxidante, anticancerígena, antiplaquetaria, antitrombótica, antimutagénica, antialérgica, antiinflamatoria, antimicrobiana, entre otras (Azevedo *et al.*, 2018; Rajan y Bhat, 2020; Salomão-Oliveira *et al.*, 2016; Sousa *et al.*, 2021; Barboza *et al.*, 2022; Nascimento *et al.*, 2022).

Una de las actividades que más se ha estudiado por su efecto positivo en la salud es la capacidad antioxidante. Pese a que la oxidación es un proceso biológico natural, esencial para

la producción de energía en la mayoría de los organismos vivos, el exceso de especies reactivas de oxígeno está asociada con el estrés celular, la oxidación de lípidos, el envejecimiento celular y el desarrollo de algunas enfermedades como el cáncer, la inflamación y la aterosclerosis, entre otras. Los antioxidantes son compuestos químicos capaces de eliminar el exceso de dichas especies reactivas, como radicales libres, descomponedores de peróxido, inhibidores de oxígeno e inhibidores de enzimas (Rufino *et al.*, 2011).

Los frutos de la Amazonía colombiana han estado a una extrema distancia de las grandes y medianas capitales (representan el 3 % de la producción nacional de frutos y aproximadamente el 80 % de la producción tiene como destino otros países, teniendo en cuenta que, a nivel internacional, se paga entre cinco y seis veces más por el producto) (Alfonso, 2017). Sin embargo, representan un mercado de nicho, lo que significa que por su baja demanda, los compradores pueden pagar altos precios, por ejemplo, el copoazú (*Theobroma grandiflorum*), camu-camu y asaí (*Euterpe oleracea*) superan los \$ 20.000 COP por kilo (López, 2019).

Dentro de los frutos de la Amazonía más comercializados están: uva caimarona (*Pourouma cecropiifolia*), macambo (*Theobroma bicolor*), arazá (*Eugenia stipitata*), copoazú, cocona (*Solanum sessiliflorum*), aguaje (*Mauritia flexuosa*), umarí (*Poraqueiba sericea*), camu-camu, asaí, chontaduro (*Bactris gasipaes*), borojó (*Borojoa patinoi*), bacurí (*Garcinia madruno* (Kunth) Hammel), guama (*Inga edulis*), piña (*Ananas comosus*), zapote (*Quararibea cordata*), carambola (*Averrhoa carambola*), acerola (*Crataegus azarolus*), ají malagueta (*Capsicum annum*), ají ojo de pez (*C. baccatum*), y ají pipí de mono (*C. pubescens*). Y del lado de los secos, están: castaña (*Castanea sativa*), sacha inchi (*Plukenetia volubilis linneo*) y marañón (*Anacardium occidentale*) (López, 2019).

En esta región colombiana, se ubican en el sector de biocomercio, con un 25 %, 17 emprendimientos que realizan aprovechamiento de productos forestales no maderables (PFNM) como asaí, moriche (*Mauritia flexuosa*), seje (*Oenocarpus bataua var. bataua*), camu-camu y andiroba (*Carapa guianensis*), donde uno de los principales productos son las pulpas congeladas (SINCHI, 2019).

Según el Tratado de Cooperación Amazónica, dentro de los criterios de integralidad, se hace necesario avanzar en aspectos técnicos que aseguren que los pasos a dar en los años venideros serán apoyados por un conocimiento sólido, y por técnicas y tecnología de comprobada eficacia y eficiencia (Pro Tempore, 2002). Una de las alternativas para potencializar la comercialización de frutos amazónicos es obtener mayores volúmenes de producción, para lo cual, se necesitaría implementar programas de tecnificación e incentivos que ayuden al agricultor a obtener un mayor rendimiento y ganancia del cultivo (Nastur *et al.*, 2016).

La amplia disponibilidad de diferentes compuestos bioactivos y terapéuticos, además de la gran variedad de especies del bioma amazónico, ha atraído la atención mundial de los investigadores y las industrias alimentarias (Sousa *et al.*, 2021). Entre los frutos amazónicos investigados en los últimos años por sus características, se encuentra el camu-camu, descrito por Aguirre-Neira *et al.* (2020) como un prometedor producto forestal no maderero, que posee una fuente natural de vitamina C y otros compuestos relevantes para la salud humana.

Un ejemplo del aprovechamiento comercial se da en Perú, donde en el 2020, las exportaciones de camu-camu sumaron USD \$ 4,7 millones, 71 % más respecto al 2019 (USD \$ 2,7 millones), donde los principales países

exportadores son Estados Unidos (47 %), la Unión Europea (17 %), Japón (8 %), Canadá (7 %) y Australia (7 %) (Redagícola, 2021).

Diversos estudios han demostrado que este fruto contiene componentes bioactivos, como carotenoides, antioxidantes, vitaminas, antocianinas, flavonoides y actividad antiinflamatoria y antimicrobiana, así como la capacidad de contrarrestar la obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares y proteger la mucosa del tracto gastrointestinal de la acción del entorno ácido y de las enzimas digestivas (Nascimento *et al.*, 2013; Paiva y do Amaral, 2015; Guija *et al.*, 2005; Chang, 2013).

### Camu-camu

El camu-camu se conoce como caçari, arazá de agua, guayabo, guayabito o guapuro blanco (Avila-Sosa *et al.*, 2019), es un arbusto Amazónico de hasta 8 m de altura, perteneciente a la familia de las Mirtáceas, producido naturalmente en zonas de inundaciones frecuentes, cerca de lagos y ríos. Se encuentra en la selva tropical de Colombia, Venezuela, Perú y Brasil. Su fruto es una baya redonda de superficie lisa, de color verde en estado inmaduro, trasciende de rojo hasta negro al madurar, con un diámetro de aproximadamente 2,5 cm y peso promedio de 6,9 g (Chirinos *et al.*, 2010; Hernández y Barrera, 2010; Zanatta y Mercadante, 2007).

El fruto del camu-camu está compuesto por agua (93,2 g/100 g), carbohidratos (4,0 g/100 g), proteína (0,5g/100 g), fibra (0,5 g/100 g), ceniza (0,2 g/100 g), vitamina C (1000–6000 mg/100 g) y compuestos polifenólicos, entre los que se destaca el ácido gálico (1000 mg/100 g) (Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior [SIICEX], 2016; Akter *et al.*, 2011; Arellano-Acuña *et al.*, 2016). Adicionalmente, es fuente de minerales (sodio, potasio, calcio, zinc, magnesio, manganeso, cobre, etc.), aminoácidos (serina, valina y leucina), pectina y almidón

(Arellano-Acuña *et al.*, 2016). Las Tablas 1 y 2 presentan los principales compuestos bioactivos reportados en camu-camu, y su composición nutricional.

En la agroindustria del camu-camu, se le da el principal uso a la pulpa, la cual tiene un alto contenido de ácido ascórbico, que varía hasta 6000 mg/100 g. En estos procesos de extracción se generan cáscaras y semillas, subproductos con posible aprovechamiento (Sousa *et al.*, 2015). Las semillas y la piel representan entre el 40 y 50 % del peso del fruto, y el rendimiento de la pulpa refinada es bajo (Santos *et al.*, 2022). Tanto en la pulpa como en otras partes del fruto, se encuentran compuestos de interés nutricional y funcional. Sin embargo, las concentraciones de antocianinas y  $\beta$ -caroteno se han reportado como mayores en las cáscaras, lo que demuestra la importancia del consumo y aprovechamiento total (Azevedo *et al.*, 2018).

Es importante tener en cuenta que la composición del camu-camu depende del estado de madurez de los frutos y la ubicación geográfica, entre otros factores. Mientras que en algunos estudios se reporta el aumento de vitamina C durante la maduración del fruto, otros reportes indican que disminuye su concentración (Chirinos *et al.*, 2010; Souza *et al.*, 2018). En los frutos inmaduros se encontraron valores de carotenoides más altos que en aquellos semimaduros (Grigio, Moura, Carvalho, *et al.*, 2021; Grigio, Moura, Chagas, *et al.*, 2021). Se determinó que es una fuente importante de compuestos bioactivos, presentes en mayores niveles en los frutos de ambiente seco (cultivo comercial) que en los de ambiente inundado (selva amazónica-Brasil), lo que representa una oportunidad comercial para aumentar el volumen de producción.

Entre los estudios realizados con camu-camu, Cunha-Santos *et al.* (2019) evaluaron tres métodos de extracción (extracción por líquido

presurizado, extracción ácida y maceración) para la obtención de vitamina C de la cáscara y la pulpa. Los mayores rendimientos se encontraron con la extracción ácida, que alcanzó valores de concentración en peso seco de 38,37 g/100 g  $\pm$  2,13. Así mismo, los valores máximos se hallaron en la pulpa (1297,07 mg/100 g<sup>-1</sup>914,66 mg/100 g), comparados con los obtenidos en la cáscara

(680,08mg/100 g<sup>-1</sup>074,31 mg/100 g). La vitamina C es reconocida por su actividad antioxidante, y los resultados de este estudio potencializan el uso de la cáscara y la pulpa de camu-camu como fuente de esta vitamina, al encontrarla en valores más altos que en otras frutas.

Tabla 1

Principales compuestos bioactivos presentes en el camu-camu.

| Planta: Camu-camu ( <i>Myrciaria dubia</i> ) |                                |                     |                                                                                                              |
|----------------------------------------------|--------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ingredientes activos                         | Grupo químico                  | Actividad biológica | Referencias                                                                                                  |
| Compuestos<br>fenólicos                      | Ácido fenólico                 |                     |                                                                                                              |
|                                              | Ácido elágico                  |                     |                                                                                                              |
|                                              | Ácido gálico                   |                     |                                                                                                              |
|                                              | Neoxantina                     |                     |                                                                                                              |
|                                              | Cis-neoxantina                 |                     |                                                                                                              |
|                                              | Violaxantina (-trans*+ cis)    |                     |                                                                                                              |
|                                              | Luteoxantina                   |                     |                                                                                                              |
|                                              | 5,6-epoxi-luteína              |                     |                                                                                                              |
|                                              | 5,8-epoxi-zeaxantina           |                     |                                                                                                              |
|                                              | 5,6-epoxi-zeaxanthin           |                     |                                                                                                              |
|                                              | Luteína                        |                     |                                                                                                              |
|                                              | Zeaxantina                     |                     |                                                                                                              |
|                                              | Sintaxantina                   | Antioxidante        |                                                                                                              |
| Lignan                                       | b-Criptoxantina (-trans*+ cis) | Antiinflamatorio    | (Arellano-Acuña <i>et al.</i> , 2016;<br>Donado-Pestana <i>et al.</i> , 2018;<br>Akter <i>et al.</i> , 2011) |
|                                              | b-Criptoxantina (-trans*+ cis) | Antidiabético       |                                                                                                              |
| Vitamina C                                   | $\beta$ -caroteno              | Hipolipídica        |                                                                                                              |
| Carotenoides                                 | Cianidin-3-glucosido           |                     |                                                                                                              |
|                                              | Delphinidin-3-glucosido        |                     |                                                                                                              |
|                                              | Cianidin 3-glucosido           |                     |                                                                                                              |
|                                              | Quercetina                     |                     |                                                                                                              |
|                                              | Rutina                         |                     |                                                                                                              |
|                                              | Catequina                      |                     |                                                                                                              |
|                                              | Kaempferol                     |                     |                                                                                                              |
|                                              | Naringenina                    |                     |                                                                                                              |
|                                              | Eriodictiol                    |                     |                                                                                                              |
|                                              | Flavanoides                    |                     |                                                                                                              |
|                                              | Flavononas                     |                     |                                                                                                              |
|                                              | Estilbenos                     |                     |                                                                                                              |
|                                              | Antocianinas                   |                     |                                                                                                              |

Nota. Elaboracion propia.

**Tabla 2**

*Composición nutricional y bioactiva de fruto de camu-camu.*

| Compuesto                          | (Akter <i>et al.</i> , 2011; Zanatta y Mercadante, 2007) | (Paiva y do Amaral, 2015) | (SIICEX, 2016) | (Grigio <i>et al.</i> , 2017) |
|------------------------------------|----------------------------------------------------------|---------------------------|----------------|-------------------------------|
| Humedad (g/100 g)                  | 94,01                                                    | 94,1                      | 93,2           | -                             |
| Proteína (g/100 g)                 | 0,4                                                      | 0,4                       | 0,5            | -                             |
| Ceniza (g/100 g)                   | 0,3                                                      | 0,21                      | 0,2            | -                             |
| Fibra cruda (g/100 g)              | 0,1                                                      | 1,13                      | 0,5            | -                             |
| Lípidos (g/100 g)                  | 0,2                                                      | 0,05                      | -              | -                             |
| Sodio (mg/kg)                      | 111,3                                                    | -                         | -              | -                             |
| Potasio (mg/kg)                    | 838,8                                                    | 470,2                     | -              | -                             |
| Calcio (mg/kg)                     | 157,3                                                    | 13,0                      | 280,0          | -                             |
| Magnesio (mg/kg)                   | 123,8                                                    | 19,7                      | -              | -                             |
| Hierro (mg/kg)                     | 5,3                                                      | 0,13                      | 5,0            | -                             |
| Manganeso (mg /kg)                 | 21,1                                                     | 0,7                       | -              | -                             |
| Zinc (mg/kg)                       | 3,6                                                      | 0,7                       | -              | -                             |
| Cobre (mg/kg)                      | 2,0                                                      | 0,5                       | -              | -                             |
| Fósforo                            | -                                                        | -                         | 150,0          | -                             |
| Sólidos solubles totales (°Brix)   | 6,4                                                      | -                         | -              | 6,9                           |
| Acidez titulable total (%)         | 2,86                                                     | -                         | -              | 4,05                          |
| pH                                 | 2,44                                                     | 2,61                      | -              | 3,12                          |
| Glucosa (g/kg peso fresco)         | 8,16                                                     | -                         | -              | -                             |
| Fructosa (g/kg peso fresco)        | 9,51                                                     | -                         | -              | -                             |
| Azúcares totales (%)               | 1,28                                                     | -                         | -              | -                             |
| Pectina total (%)                  | 0,21                                                     | -                         | -              | -                             |
| Almidón (%)                        | 0,44                                                     | -                         | -              | -                             |
| Vitamina C (mg/100 g)              | 2061,01 (violeta)/ 2910,31 (verde)                       | 2031                      | 2089           | -                             |
| Tiamina (mg/100 g)                 | -                                                        | -                         | 0,01           | -                             |
| Riboflavina (mg/100g)              | -                                                        | -                         | 0,04           | -                             |
| Niacina (mg/100 g)                 | -                                                        | -                         | 0,61           | -                             |
| Vitamina B12 (µg/g)                | -                                                        | 0,0034                    | -              | -                             |
| Flavonoides (mg/100 g)             | 13,7                                                     | 16,9                      | -              | 440,9                         |
| Antocianinas (µg/g)                | -                                                        | 0,74                      | -              | 50,7                          |
| Carotenoides totales (µg/100 g)    | 354,8 /1095,3                                            | -                         | -              | -                             |
| Capacidad antioxidante (µmol TE/g) | -                                                        | 52,00                     | -              | -                             |
| Capacidad antioxidante FRAP (mg/g) | -                                                        | -                         | -              | 11,7                          |
| Capacidad antioxidante DPPH (mg/g) | -                                                        | -                         | -              | 8,5                           |

Nota. Elaboración propia.

Do Amaral *et al.* (2019) estudiaron el efecto de un pretratamiento de ultrasonido sobre el contenido de vitamina C, compuestos fenólicos y actividad antioxidante, entre otros parámetros fisicoquímicos del néctar de camu-camu, y

encuentran que dicho pretratamiento mejoró el contenido de compuestos bioactivos en el material y demás características. A su vez, proponen esta tecnología como alternativa a las tradicionales.

En la Tabla 3 se presentan diferentes compuestos bioactivos de pulpa, cáscara y semilla de camu-camu. Se muestran contenidos similares o más altos en cáscara y semilla, comparados con la pulpa, producto principal. Como parte de estos, se encuentran los polifenoles, que son metabolitos secundarios presentes ampliamente en frutas, verduras y cereales, con una importante funcionalidad para la salud humana (Cory *et al.*, 2018). Dentro de este grupo, se reportan para este caso: flavonoides (glucósidos de quercetina, miricetina, glucósidos de miricitina, cianidin-3-O-glucósido), taninos (elagitaninos como vescalagina, castalagina, casuarictina y la potentillina, ácido elágico y derivados del ácido gálico) y lignanos (ácido siríngico) (Fujita *et al.*, 2015). En la cobertura de la semilla se ha identificado el flavonoide rutina (0,13 mg/g ms) y ácidos hidroxicinámicos, como ácido ferúlico (0,59 mg/g ms) y p-ácido cumárico (0,49 mg/g ms) (Azevêdo *et al.*, 2014).

Otro grupo de compuestos bioactivos son los carotenoides, según el Instituto Nacional de Investigación de la Amazonia (INPA), la presencia de estos y de antocianinas en el camu-camu se considera de alto valor nutricional (Zanatta y Mercadante, 2007). La luteína es el carotenoide principal, seguido del  $\beta$ -caroteno y la zeaxantina. También, se identificaron la neoxantina, la  $\beta$ -criptoxantina, el  $\beta$ -caroteno-5,6-epóxido y el cis- $\beta$ -caroteno, en niveles muy bajos (Azevedo-Meleiro y Rodríguez-Amaya, 2004). Rufino *et al.* (2010) determinaron una concentración de carotenoides, en la pulpa del mismo fruto, de 1,32 mg/100 g. Así mismo, Zanatta y Mercadante (2007) reportan concentraciones entre 0,35 y 1,09 mg/100 g (Tabla 2), lo que contribuye a los valores típicos de consumo de adultos entre 1 y 2 mg luteína/día (Institute of Medicine, 2000).

Sobre la optimización, de Araújo *et al.* (2018) evaluaron el uso de la tecnología de puntos de extracción con solvente Triton X-114, para obtener compuestos fenólicos con actividad

antioxidante a partir de residuos de camu-camu, y hallaron rendimientos superiores al 90 %. Otras actividades biológicas evaluadas en este fruto han sido la actividad antihiperlipidémica y antihipertensiva, asociadas también con el contenido de compuestos fenólicos.

Fujita *et al.* (2017) usaron tecnología de fermentación con bacterias ácido-lácticas de la mezcla de polvo de camu-camu con leche de soya, para incrementar el contenido de compuestos asociados a las actividades enunciadas. Apesar de que el comportamiento durante la fermentación del contenido de compuestos fenólicos es estable, la actividad antioxidante fue superior a medida que transcurría el proceso, y la concentración del polvo de la fruta en la leche era mayor. Este comportamiento puede estar asociado a la transformación sufrida por los compuestos durante la fermentación, llevada a cabo por las enzimas de los microorganismos, donde se obtienen compuestos con una mejor actividad biológica que los encontrados en las materias primas sin tratamiento. Comportamientos similares presentaron las actividades antihiperlipidémica y antihipertensiva, las cuales están también asociadas a algunos compuestos fenólicos. Con estos resultados, se propone a la fermentación con bacterias ácido-lácticas como una tecnología alterna que mejora las características nutricionales y funcionales de bebidas del fruto objeto de la revisión.

Camere-Colarossi *et al.* (2016) estimaron la actividad antimicrobiana de extractos del camu camu- contra dos microorganismos: *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556), los cuales causan caries dental, entre otros problemas de salud bucal. Los extractos metanólicos presentaron un elevado poder inhibidor. Araújo *et al.* (2020) estudiaron los efectos antimaláricos, antiesquistosomiasis, leishmanicidas y antihemolíticos *in vitro* de extractos de semilla de camu-camu. Los extractos mostraron actividades antiesquistosomiasis y antimaláricas para las cepas de *Plasmodium*

*falciparum* W2 (resistente a cloroquina) y 3D7 (sensible a cloroquina) en todos los estadios intraeritrocitarios.

Un estudio de Becerra *et al.* (2019) determinó el efecto nefroprotector del extracto de camu-camu en un modelo de nefrotoxicidad

**Tabla 3**

*Compuestos bioactivos de pulpa, semilla y cáscara de camu-camu en base seca.*

| Parámetro                                 | (Sotero <i>et al.</i> , 2009) |         |         | (Peláez <i>et al.</i> , 2020) | (Fidelis, Araújo <i>et al.</i> , 2020) | (Fidelis, Araújo <i>et al.</i> , 2020) |
|-------------------------------------------|-------------------------------|---------|---------|-------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|
|                                           | Pulpa                         | Semilla | Cáscara | Pulpa*                        | Semilla                                | Cáscara                                |
| Polifenoles totales (mg/100 g)            | 2316,0                        | 2969,2  | 17905,5 | 739                           | 5619                                   | 3299,9                                 |
| Flavonoides (mg/100 g)                    | 994,9                         | 218,7   | 2012,3  | -                             | 1384                                   | 242,0                                  |
| Antocianinas (mg/100 g)                   | 74,04                         | 35,3    | 109,5   | -                             | -                                      | 145,3                                  |
| Vitamina C (mg/100 g)                     | 14337,9                       | 87,0    | 10506,3 | 2151                          | -                                      | 15500,0                                |
| Carotenoides totales (mg/100 g)           | -                             | -       | -       | -                             | -                                      | 72,1                                   |
| Capacidad antioxidante DPPH (IC50, µg/ml) | 167,6                         | 399,7   | 146,9   | 7,43                          | 3424 (mg AAE/g DPPH)                   | 3895 (mg cáscara/g DPPH)               |

Nota. Elaboración propia.

### Desarrollo de alimentos funcionales

El concepto de “alimentos funcionales” surgió en Japón en los años 80, como propuesta para los Alimentos Destinados a Usos Específicos de Salud (FOSHU por sus siglas en inglés). Sin embargo, no hay acuerdos aún en la definición de este tipo de alimentos (Stanton *et al.*, 2005). Una de las definiciones propuestas para alimentos funcionales fue dada por Márquez y Márquez (2019), quienes indican que son “los que se caracterizan por contener diversos componentes, algunos de los cuales se clasifican como nutrientes, y afectan a diversas funciones importantes en el organismo para producir bienestar y salud y/o disminución del riesgo de algunas enfermedades”. En este sentido, el uso de frutas tropicales y amazónicas nativas en formulaciones de alimentos funcionales ha sido un foco de investigación, debido al contenido

inducida por la gentamicina en ratas. El análisis histológico evidenció pérdida epitelial, infiltrado inflamatorio intenso y congestión vascular en el grupo gentamicina, mientras que los grupos que recibieron camu-camu, con el extracto disminuyeron la gravedad del daño. Se concluye que el extracto de camu-camu presentó una actividad nefroprotectora significativa.

de compuestos bioactivos que las asocia con la prevención de enfermedades no transmisibles (Silva *et al.*, 2013).

Una de las formas de mayor consumo de la fruta es la pulpa fresca (Neves *et al.*, 2015), sin embargo, actualmente se procesan varios derivados del camu-camu, como pulpa de fruta, extracto y jugo, que se exportan principalmente a Japón y Europa (Azevêdo *et al.*, 2014). Este fruto, al igual que las frutas tropicales, tiene una vida útil relativamente corta en comparación con los cereales (Grigio *et al.*, 2015), por tanto, es necesario el desarrollo de productos que permitan prolongar la vida útil y sus componentes bioactivos. A partir del fruto de camu-camu, se han desarrollado productos como jugos de frutas pasteurizados, néctares, yogures, helados, mermeladas, bebidas

alcohólicas, refrescos y fruta seca por métodos convencionales y secado por liofilización (Souza *et al.*, 2013; De Oliveira *et al.*, 2013; Arellano-Acuña *et al.*, 2016). Se demuestran las posibilidades que hay de producir una amplia gama de alimentos funcionales.

Una de las formas de comercialización de camu-camu más encontrada es en polvo. Fujita *et al.* (2013) reportaron los resultados del proceso de secado por lecho fluidizado de la pulpa con diferentes concentraciones de maltodextrina sobre los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante y antimicrobiana. El secado de la pulpa en lecho de goteo generó pérdidas de ácido ascórbico (45-64 %), compuestos fenólicos totales (33-42 %) y proantocianidinas (16-18 %), y la liofilización conservó mejor la capacidad antioxidante (74 a 87 %), en comparación con el secado de lecho de goteo (29 a 78 %). El polvo liofilizado se clasificó como activo, y los polvos por lecho fluidizado como parcialmente activos, contra *S. aureus*.

Vanin y Carvalho (2020) evaluaron acerola y camu-camu en polvo, y los caracterizaron en relación con sus características fisicoquímicas, la actividad antioxidante, y la concentración y estabilidad de la vitamina C en diferentes condiciones de almacenamiento (30 °C y 40 °C, 75 % de humedad relativa). Los polvos almacenados a menor temperatura (30 °C) mostraron una mayor estabilidad de la vitamina C.

Paiva y das Chagas (2015) desarrollaron un yogur con tres formulaciones con pulpa de camu-camu: F1 10 %, F2 13 % y F3 15 %. Los parámetros químicos, físicos y microbiológicos testeados estuvieron dentro de los límites establecidos por la legislación, y la aceptabilidad de la formulación con 10 % fue satisfactoria. Conceição *et al.* (2020) estimaron diferentes capacidades antimicrobianas y

antiproliferativas *in vitro* de cáscara, semilla y pulpa del mismo fruto por separado, que demuestran el potencial bioactivo de estos subproductos. Adicionalmente, incorporaron la cáscara en una matriz láctea como yogurt, que permitió enriquecer sus moléculas bioactivas sin alterar la composición nutricional. En esa misma matriz, Fidelis, de Oliveira *et al.* (2020) desarrollaron un producto similar que contenía 0,25 g de extracto de semilla de camu-camu/100 g de yogur, el cual fue aceptado sensorialmente, lo que indica que el extracto puede ser un ingrediente sostenible para añadir a yogures potencialmente funcionales.

En un estudio, das Chagas *et al.* (2021) desarrollaron una formulación de galletas con incorporación de subproductos de camu-camu en polvo. El porcentaje máximo de sustitución de la harina de trigo en las galletas fue del 20 %. Demuestran ser fuentes de fenólicos totales (4,4 ± 0,1 mg GAE/ g) y propiedades antioxidantes (DPPH: 16,03 ± 2,26 EC<sub>50</sub> mg/ml; FRAP: 1,59 ± 0,06 µmol TEq/g; ORAC: 24,78 ± 4,04 µmol TEq/g) con poco impacto en sus características físicas.

En el desarrollo de helados, Grigio, Moura, Carvalho, *et al.* (2021) evaluaron helados de leche y con leche + cobertura de chocolate, sin cáscara y con cáscara de camu-camu liofilizada. La adición de cáscara de este fruto amazónico aumentó el contenido de fenoles totales (pasan de 19,55 a 20,32 mg de ácido gálico equivalente/0,1 g de muestra seca), la actividad antioxidante (DPPH: pasa de 269,48 a 361,03 µg de equivalente ácido ascórbico/0,1 g de muestra seca y FRAP: 1,48 a 1,84 mg sulfato ferroso /0,1 g de muestra seca) y el potencial funcional de las formulaciones.

Una de las tecnologías empleadas para evitar la degradación e inactivación de compuestos bioactivos, así como vehículo

de incorporación de compuestos en matrices alimentarias, es la encapsulación (Figueiredo *et al.*, 2020). Salomão-Oliveira *et al.* (2016) evaluaron la estabilidad del ácido ascórbico de camu-camu encontrado en las cápsulas. La encapsulación de la pulpa liofilizada se consideró satisfactoria en la conservación de este ácido, hubo una pérdida del 10 % de su concentración inicial a lo largo del período de estudio durante 60 días.

Terry y Osso (2019) encapsularon pulpa del mismo fruto en esferas de por medio del método de extrusión, tamizadas y deshidratadas a una temperatura de 60 °C, lo que resultó en 7,40 g de vitamina C/100 g de pulpa. El extracto (pulpa y cáscara) fue sometido a microencapsulación con secado por aspersión con maltodextrina, inulina y oligofructosa. El aumento de la temperatura de 25 °C a 35 °C influyó en la liberación de los compuestos bioactivos en todos los tratamientos, y muestra una mayor liberación para las micropartículas de maltodextrina. Los materiales de encapsulación fueron considerados efectivos para la producción de polvo de extracto. Esto contribuye al mejor aprovechamiento de esta fruta amazónica, y la encapsulación aumentó la estabilidad de sus compuestos bioactivos (Figueiredo *et al.*, 2020).

El alto contenido de vitamina C y de compuestos ácidos fenólicos hace que la fruta sea muy ácida, lo que afecta a su palatabilidad y hace casi imposible su consumo directo (Castro *et al.*, 2018). Por lo que es un alimento de interés para enriquecer otras matrices alimentarias. En la actualidad, existen patentes que salvaguardan los desarrollos con camu-camu, como la de Iranzo y Milán (2014), que describe el proceso para la obtención de un producto antioxidante en forma de polvo, que conserva altas concentraciones de ácido ascórbico (entre 7 y 15 g/100 g de producto), polifenoles (entre 3500 y 5000 mg/100 g de producto) y proantocianidinas (entre 3000 y 4000 mg/100 g de producto).

## Conclusiones

El fruto de camu-camu tiene potencial para ser incluido en preparaciones alimenticias convencionales y en el desarrollo de alimentos funcionales que aporten efectos benéficos al consumidor, debido a su actividad antioxidante, antihiperlipidémica, antihipertensiva, antiesquistosomiasis y antimalárica. Así mismo, puede brindar efecto nefroprotector.

Sin embargo, por la sensibilidad al procesamiento de muchos compuestos, es importante emplear tecnologías que permitan la conservación de esta fracción de interés. El uso de tecnologías como encapsulación, liofilización y secado por lecho fluidizado, disminuye la pérdida de los compuestos bioactivos del fruto, al tiempo que permite la incorporación de los productos en diferentes matrices alimentarias. El uso de las cáscaras y semillas es una estrategia de aprovechamiento de alimentos y de nutrientes. Existen estudios suficientes y relevantes que comprueban la viabilidad técnica y tecnológica de la transformación de este fruto amazónico, para el aprovechamiento de todas las partes y el enriquecimiento de matrices alimentarias.

Pese a la variedad de beneficios y funcionalidades que puede aportar el camu-camu, la naturaleza de sus componentes bioactivos los hace altamente sensibles debido a la ubicación geográfica, el manejo agronómico, el estado fisiológico de la fruta y los procesos de transformación. Se hace necesaria la evaluación de las técnicas y procesos requeridos, acorde con un diagnóstico de la cadena productiva, que permitan la conservación de los beneficios que el fruto presenta, a través de los compuestos, de modo que, al incorporarlo en un producto alimenticio, sus propiedades funcionales se mantengan y puedan brindar un efecto benéfico al consumidor.

El fruto objeto de esta revisión puede ser incorporado en diversas matrices alimentarias convencionales (cereales, barras energéticas, dulces, compotas, gelatinas, yogur, jugos envasados, jugos en polvo, cerveza, entre otros) e incluso en el desarrollo de productos junto con alimentos autóctonos como panela.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al sistema de investigación, desarrollo tecnológico e innovación del SENA, SENNOVA.

## Referencias

- Aguirre-Neira, J. C., Sedres, M., Rojas, M. A., Raz, L., y Clement, C. R. (2020). Physical and chemical variability of CAMU-CAMU fruits in cultivated and uncultivated areas of the Colombian Amazon. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 42(2), 1-9. <https://doi.org/10.1590/0100-29452020545>
- Akter, M. S., Oh, S., Eun, J. B., y Ahmed, M. (2011). Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*myrciaria dubia*) fruit: A review. *Food Research International*, 44(7), 1728-1732. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.045>
- Alfonso, K. (2017). Frutas exóticas viven su cuarto de hora en el mercado de Europa. *Agronegocios*. Recuperado de <https://www.agronegocios.co/agricultura/frutas-exoticas-viven-su-cuarto-de-hora-en-el-mercado-de-europa-2622992>
- Araújo, M., Fidelis, M., Andolfato, C. S., Pereira, A. C., Camps, I., Colombo, F. A., Marques, M. J., Myoda, T., Granato, D., y Azevedo, L. (2020). Camu-camu (*Myrciaria dubia*) seeds as a novel source of bioactive compounds with promising antimalarial and antischistosomal properties. *Food Research International*, 136, 109334. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109334>
- Arellano-Acuña, E., Rojas-Zavaleta, I., y Paucar-Menacho, L. (2016). Camu-camu (*Myrciaria dubia*): Tropical fruit of excellent functional properties that help to improve the quality of life. *Scientia Agropecuaria*, 7(4), 433-443. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.04.08>
- Avila-Sosa, R., Montero-Rodríguez, A. F., Aguilar-Alonso, P., Vera-López, O., Lazcano-Hernández, M., Morales-Medina, J. C., y Navarro-Cruz, A. R. (2019). Antioxidant Properties of Amazonian Fruits: A Mini Review of *in Vivo* and *in Vitro* Studies. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 8204129. <https://doi.org/10.1155/2019/8204129>
- Azevedo, L., de Araujo, P., de Carvalho, J., Gonçalves, M., Marquini, F., de Oliveira, E., Barros, F., y Stringheta, P. (2018). Camu-camu (*Myrciaria dubia*) from commercial cultivation has higher levels of bioactive compounds than native cultivation (Amazon Forest) and presents antimutagenic effects *in vivo*. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 99(2), 624-631. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9224>
- Azevedo-Meleiro, C. H. y Rodriguez-Amaya, D. B. (2004). Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17(3-4), 385-396. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.02.004>
- Barboza L., Martins J., Frota R., Lima A. R., Victor C., Aparecido E., De Araújo J. y Campelo P. (2022). Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.): An Amazonian Fruit with Potential Health Benefits. *Food Research International*, 159. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111654>
- Becerra, K., García, J., Becerra, M., Ruiz, E., y Chávez, L. (2019). Efecto nefroprotector del Camu Camu (*Myrciaria dubia*) en un modelo de nefrotoxicidad inducida por gentamicina en ratas. *Revista Chilena de Nutrición*, 46(3), 303-307. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182019000300303>
- Camere-Colarossi, R., Ulloa-Urizar, G., Medina-Flores, D., Caballero-García, S., Mayta-Tovalino, F., y del Valle-Mendoza, J. (2016). Antibacterial activity of *Myrciaria dubia* (Camu camu) against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(9), 740-744. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.07.008>
- Castro, J. C., Maddox, J. D., e Imán, S. A. (2018). Camu-camu—*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh. En S. Rodrigues, E. S. de Oliveira y E. Sousa (Eds.), *Exotic Fruits* (pp. 97-105). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00014-9>
- Chang, A. C. (2013). *El camu camu. Aspectos Químicos, Farmacológicos y Tecnológicos*. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana. Recuperado de [http://www.iiap.org.pe/archivos/publicaciones/publicacion\\_2098.pdf](http://www.iiap.org.pe/archivos/publicaciones/publicacion_2098.pdf)

Chirinos, R., Galarza, J., Betalleluz-Pallardel, I., Pedreschi, R., y Campos, D. (2010). Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. *Food Chemistry*, 120(4), 1019–1024. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.041>

Comisión Europea. (s. f.). Novel food. *Food Safety*. Recuperado de [https://food.ec.europa.eu/safety/novel-food\\_en](https://food.ec.europa.eu/safety/novel-food_en)

Conceição, N., Albuquerque, B. R., Pereira, C., Corrêa, R. C. G., Lopes, C. B., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Barros, L., y Ferreira, I. C. F. R. (2020). By-products of camu-camu [*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh] as promising sources of bioactive high added-value food ingredients: Functionalization of yogurts. *Molecules*, 25(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules25010070>

Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., y Mattei, J. (2018). The role of polyphenols in human health and food systems: a mini-review. *Frontiers in Nutrition*, 5, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00087>

Cunha-Santos, E. C. E., Viganó, J., Neves, D. A., Martínez, J., y Godoy, H. T. (2019). Vitamin C in camu-camu [*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh]: evaluation of extraction and analytical methods. *Food Research International*, 115, 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.031>

Das Chagas, E.G.L., Vanin, F. M., dos Santos, V. A., Pedroso, C. M., y Aparecida, R. (2021). Enrichment of antioxidants compounds in cookies produced with camu-camu (*Myrciaria dubia*) coproducts powders. *LWT-Food Science and Technology*, 137, 110472. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110472>

De Araújo, C. E., Silva, de A. J. C., de Sousa, F. C., de Oliveira, S. D., Santanaouza, D. F., Araújo, de O. J., Ribeiro, de M. G. R., y dos Santos, E. S. (2018). Recovery of polyphenols from camu-camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaugh) depulping residue by cloud point extraction. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 26(12), 2471–2476. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2017.10.032>

De Oliveira, J., Leme, A. C., Moreira, P., Mei, G. S., y Fillet, M. H. (2013). Polpa de camu-camu (*Myrciaria dubia*) submetida a radiação gama. *Acta Agronômica*, 62(1), 7–12. [https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta\\_agronomica/article/view/27725](https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/27725)

Do Amaral, F., Sanders, L., de Oliveira, K., Lopes, J., Moreira, J. M., Sanches, E. A., dos Santos, F. F., Bakry, A. M.; Nicolau, B. P. y Campelo, P. H. (2019). Thermosonication applied on camu-camu nectars processing: Effect on bioactive compounds and quality parameters. *Food and Bioprocess Processing*, 116, 212–218. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.06.003>

Donado-Pestana, C. M., Caldas, M. H. C., de Araújo, R. L., de Lima, G., de Moraes, H. R., y Genovese, M. I. (2018). Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications. *Current Opinion in Food Science*, 19, 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.001>

Fidelis, M., Araújo, M. A. V., Mendanha, T., Azevedo, L., Myoda, T., Miranda, M. F., Boscacci, M. M., Sant'Ana, A. S., Genovese, M. I., Young Oh, W., Wen, M., Shahidi, F., Zhang, L., Franchin, M., de Alencar, S. M., Rosalen, P. L., y Granato, D. (2020). Camu-camu seed (*Myrciaria dubia*) – From side stream to an antioxidant, antihyperglycemic, antiproliferative, antimicrobial, antihemolytic, anti-inflammatory, and antihypertensive ingredient. *Food Chemistry*, 310(25), 125909. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125909>

Fidelis, M., de Oliveira, S. M., Sousa, J. S., Braguto, G., Silva, R., Gomes, A., Araújo, M., Azevedo, L., Kaneshima, T., Oh, W. Y., Shahidi, F., y Granato, D. (2020). From byproduct to a functional ingredient: Camu-camu (*Myrciaria dubia*) seed extract as an antioxidant agent in a yogurt model. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 1131–1140. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17173>

Figueiredo, J., Lago, A., Mar, J. M., Silva, L., Sanches, E., Souza, T. P., Bezerra, J. A., Campelo, P. H., Botrel, D., y Borges, S. V. (2020). Stability of camu-camu encapsulated with different prebiotic biopolymers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(8), 3471–3480. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10384>

Fujita, A., Borges, K., Correia, R., Gomobossy, B., Genovese, M. I. (2013). Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh). *Food Research International*, 54(1), 495–500. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.025>

Fujita, A., Sarkar, D., Genovese, M. I., y Shetty, K. (2017). Improving anti-hyperglycemic and anti-hypertensive properties of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) using lactic acid bacterial fermentation. *Process Biochemistry*, 59(Parte B), 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.05.017>

- Fujita, A., Sarkar, D., Wu, S., Kennelly, E., Shetty, K., y Genovese, M. I. (2015). Evaluation of phenolic-linked bioactives of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) for antihyperglycemia, antihypertension, antimicrobial properties and cellular rejuvenation. *Food Research International*, 77(Parte 2), 194-203. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.009>
- Grigio M. L., Durigan M. F. B., Chagas E. A., Chagas P. C., Do Nascimento C. R. y Almeida M. S. (2015). Post-Harvest Conservation of Camu-Camu Fruits (*Myrciaria Dubia* (Kunth) Mc Vaugh) Using Different Temperatures and Packages. *Food Science and Technology*, 35 (4), 652-658. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.6788>
- Grigio. M. L., Chagas, E. A., Rathinasabapathi, Bala., Cardoso, P. C., Vieira, A. R., Moreira, S., y Rodrigues, R. (2017). Qualitative evaluation and biocompounds present in different parts of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit. *African Journal of Food Science*, 11(5), 124-129. <https://doi.org/10.5897/ajfs2016.1574>
- Grigio, M. L., Moura, E. A., Carvalho, G. F., Zanchetta, J. J., Chagas, P. C., Chagas, E. A., y Durigan, M.F. (2021). Nutraceutical potential, qualitative and acceptability of different camu-camu popsicle. *Food processing and preservation*, 45(3), 1-10. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15305>
- Grigio, M. L., Moura, E. A., Chagas, E. A., Durigan, M. F. B., Chagas, P. C., Carvalho, G. F., y Zanchetta, J. J. (2021). Bioactive compounds in and antioxidant activity of camu-camu fruits harvested at different maturation stages during postharvest storage. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 43(1), 1-12. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.50997>
- Guija, H., Troncoso, L., y Guia, E. (2005). Propiedades prooxidantes del camu camu (*Myrciaria dubia*). *Anales de La Facultad de Medicina Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 66(4), 261-268. <https://doi.org/10.15381/anales.v66i4.1320>
- Hernández, M. S. y Barrera, J. A. (2010). Camu camu. Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas; Legis S.A.
- Hodson, E., Castaño, J., Poveda, G., Roldán, G., y Chavarriaga, P. (2017). Seguridad alimentaria y nutricional en Colombia. *En Retos y oportunidades de la seguridad alimentaria y nutricional en las américas* (pp. 220-251). Interamerican Network of Academies of Sciences.
- Inoue, T., Komoda, H., Uchida, T., y Node, K. (2008). Tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*) has anti-oxidative and anti-inflammatory properties. *Journal of Cardiology*, 52(2), 127-132. <https://doi.org/10.1016/j.jcc.2008.06.004>
- Institute of Medicine. (2000). *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/9810>
- Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial (2008). *Colombia Frutas de la amazonia*. Recuperado de [http://www.sinchi.org.co/images/pdf/dfpublicaciones/catalogo de frutales web.pdf](http://www.sinchi.org.co/images/pdf/dfpublicaciones/catalogo%20de%20frutales%20web.pdf)
- Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas. (2019). *Emprendimientos Amazónicos*.
- Iranzo, G. y Milán, S. (2014). *Composiciones antioxidantes de un producto obtenido del fruto de camu camu* (WO 2014/020219 A1) [Patente]. Organización Mundial de la Propiedad Intelectual.
- López, J. (2019, 13 de febrero). Negocio de frutas amazónicas es aún un nicho poco explorado. *Agronegocios*. Recuperado de <https://www.agronegocios.co/agricultura/negocio-de-frutas-amazonicas-es-aun-un-nicho-aun-poco-explorado-por-la-industria-2827159>
- Malagón, R. (2017). *Inclusión frutos liofilizados del bosque amazónico patrimonio gastronómico de Colombia*. Servicio Nacional de Aprendizaje.
- Márquez, P. M. y Márquez, D. M. (2019). Functional foods: Current issues and trends. *Vitae*, 26(1), 6-7. <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v26n1a01>
- Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N., y Teixeira, J. A. (2011). Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*, 29(3), 365-373. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.008>
- Mohamed, S. (2014). Functional foods against metabolic syndrome (obesity, diabetes, hypertension and dyslipidemia) and cardiovascular disease. *Trends in Food Science and Technology*, 35(2), 114-128. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.11.001>

Nascimento, O. V., Boleti, A., Yuyama, L., y Lima, E. S. (2013). Effects of diet supplementation with Camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet-induced obesity. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 85(1), 355–363. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652013005000001>

Nascimento R. P., Reguengo L. M., Machado A. P. F. y Marostica M. R. (2022). The Preventive and Therapeutic Potential of Native Brazilian Fruits on Colorectal Cancer. *Food Bioscience*, 46. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101539>

Nastur, I. R., Benavides, A. A., Barrera, A., y Pardo, Y. (2016). Potencial agroindustrial de frutas amazónicas del departamento del Caquetá: caso arazá. *Revista Facultad de Ciencias Contables, Económicas y Administrativas FACCEA*, 6(1), 96–101. <https://editorial.uniamazonia.edu.co/index.php/faccea/article/view/203>

Neves L. C., da Silva V. X., Pontis J. A., Flach A. y Roberto S. R. (2015). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Pre-Harvest Camu-Camu [*Myrciaria Dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh] Fruits. *Scientia Horticulturae*, 186, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.031>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y Organización Panamericana de la Salud. (2017). *Sobrepeso afecta a casi la mitad de la población de todos los países de América Latina y el Caribe salvo por Haití*. Recuperado de [https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=12911:overweight-affects-half-population-latin-american-caribbean-except-haiti&Itemid=1926&lang=es](https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=12911:overweight-affects-half-population-latin-american-caribbean-except-haiti&Itemid=1926&lang=es)

Paiva, J. P. y das Chagas, F. (2015). Camu-Camu (*Myrciaria dubia* HBK): yogurt processing, formulation, and sensory assessment. *American Journal of Analytical Chemistry*, 6(5), 377–381. <https://doi.org/10.4236/ajac.2015.65036>

Paiva, J. y do Amaral, S. A. (2015). Antioxidants, chemical composition and minerals in freeze-dried camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) pulp. *Food and nutrition sciences*, 6(10), 869–874. <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2015.610091>

Peláez, P., Ramirez, E., Mariñas, M., Páucar, C., Dias, R., y Ramirez, E. (2020). Camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) pulp in three stages of ripeness: effect of vacuum concentration, freezing and ultrasound treatment on their functional properties. *Research Society and Development*, 9(5), e183953358. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i5-3358>

Pro Tempore. (1997). *Base Jurídica Del Tratado De Cooperación Amazonica*. Recuperado de <http://otca.org/wp-content/uploads/2021/02/Base-Juridica-del-Tratado-de-Cooperacion-Amazonica-1997.pdf>

Rajan N. S. y Bhat R.. (2020). Bioactive Compounds of Plum Mango (*Bouea microphylla* Griffith). In *Bioactive Compounds*. En *Underutilized Fruits and Nuts*, 529–41. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-30182-8\\_36](https://doi.org/10.1007/978-3-030-30182-8_36)

Redagráfica. (2021). *Camu camu: exportación alcanza récord histórico en 2020*. Redagráfica. <https://www.redagricola.com/pe/camu-camu-exportacion-alcanza-record-historico-en-2020/>

Rufino, M., Alves, R. E., de Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., y Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121(4), 996–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.037>

Rufino, M., Alves, R. E., Fernandes, F. A. N., y Brito, E. S. (2011). Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. *Food Research International*, 44(7), 2072–2075. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.002>

Salomão-Oliveira, A., de Souza, S. C., Solange, K., Pereira, T., y Albuquerque H. M. (2016). Ascorbic acid from lyophilized camu-camu fruit: stability and quality control of hard capsules. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 37(1), 37. <https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/11>

Santos, I. L., Miranda, L. C. F., da Cruz, A. M., da Silva, L. H., y Amante, E. R. (2022). Camu-camu [*Myrciaria dubia* (HBK) McVaugh]: A review of properties and proposals of products for integral valorization of raw material. *Food Chemistry*, 372(15), 131290. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131290>

Savino, P. (2011). Obesidad y enfermedades no transmisibles relacionadas con la nutrición. *Revista Colombiana de Cirugía*, 26(3), 180–195. <https://www.revistacirugia.org/index.php/cirugia/article/view/183>

Silva N. K., Felix E.P., Gomes F. S., Pontes S. M., Matta V. M. y Freitas S. P. (2013). Influence of Shell Material on Vitamin C Content, Total Phenolic Compounds, Sorption Isotherms and Particle Size of Spray-Dried Camu-Camu Juice. *Fruits* 68, (3), 175–83. <https://doi.org/10.1051/fruits/2013065>

Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior. (2016). *Ficha técnica del camu-camu*. <https://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/fichaproducto/59pdf2015Feb10.pdf>

Sotero, V. S., Silva, L. D., García, D., e Imán, S. C. (2009). Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara y semilla del fruto del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K.). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 75(3), 293-299. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2009000300003](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2009000300003)

Sousa, R. C. P., Chagas, E. A., Bacelar-Lima, C. G., Silva, M. R., y Barbosa, A. M. (2015). *Myrciaria dubia da Amazônia setentrional: Abordagem qualitativa de coprodutos pós-colheita*. Congresso Brasileiro de Processamento Mínimo e Pós Colheita de Frutas, Flores e Hortaliças [anais]. Aracaju, Universidade Federal de Sergipe. <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1035409/1/ResumocamucamuEdvaneRita2.pdf>

Sousa, H. M. S., Leal, G. F., Damiani, C., Borges, S.V., Freitas, B.C., y Martins, G. A. S. (2021). Some wild fruits from amazon biodiversity: composition, bioactive compounds, and characteristics. *Food Research*, 5(5), 17-32. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.5\(5\).687](https://doi.org/10.26656/fr.2017.5(5).687)

Souza, A., Oliveira, T., Mattietto, R., Nascimento, W., y Lopes, A. (2018). Bioactive compounds in the peel of camu camu genotypes from Embrapa's active germplasm bank. *Food Science and Technology*, 38(1), 67-71. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.33716>

Souza, A. L. R., Pagani, M. M., Dornier, M., Gomes, F. S., Tonon, R. V., y Cabral, L. M. C. (2013). Concentration of camu-camu juice by the coupling of reverse osmosis and osmotic evaporation processes. *Journal of Food Engineering*, 119(1), 7-12. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.05.004>

Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., y Van, D. S. (2005). Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(2), 198-203. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.02.008>

Terry, V. M. y Osso, O. (2019). Encapsulación de la pulpa camu camu (*Myrciaria dubia*) y deshidratado de las cápsulas. *Revista de Investigaciones de la Universidad Le Cordon Bleu*, 6(1), 39-50. <https://doi.org/10.36955/riulcb.2019v6n1.003>

Vanin F. M. y De Carvalho R. A. (2020). Vitamin C Stability in Acerola and Camu-Camu Powder Obtained by Spray Drying. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, 1-13. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.23719>

Zanatta, C. F. y Mercadante, A. Z. (2007). Carotenoid composition from the Brazilian tropical fruit camu-camu (*Myrciaria dubia*). *Food Chemistry*, 101(4), 1526-1532. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.004>

# Producción de hongo orellana (*Pleurotus ostreatus*) sobre residuos agrícolas y pastos generados en la comunidad de Obonuco, Nariño

## Production of Orellana mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on agricultural residues and pastures generated in the community of Obonuco, Nariño

Gabriel Andrés Obando<sup>1</sup> 

Andrea Vásquez García<sup>2</sup> 

Diana Esperanza Benavides Palacios<sup>3</sup> 

Henry Fabián Joja Martínez<sup>4</sup> 

<sup>1</sup>Universidad Nacional Abierta y a Distancia ✉ [gabriel.obando@unad.edu.co](mailto:gabriel.obando@unad.edu.co)

<sup>2</sup>Universidad Nacional Abierta y a Distancia ✉ [andrea.vasquez@unad.edu.co](mailto:andrea.vasquez@unad.edu.co)

<sup>3</sup>Universidad Nacional Abierta y a Distancia ✉ [diana.benavides.8016@hotmail.com](mailto:diana.benavides.8016@hotmail.com)

<sup>4</sup>Universidad Nacional Abierta y a Distancia ✉ [henryjoja97@gmail.com](mailto:henryjoja97@gmail.com)

Recibido: 07/06/2022 Aceptado: 14/06/2022

**Resumen** Fue evaluado el cultivo artesanal de hongo orellana, con cuatro mezclas diferentes de residuos, así: dos agrícolas y dos de pastos, en la comunidad de Obonuco, Nariño, a través de indicadores como número de días de incubación, número de días de aparición de primordios, rendimiento, eficiencia biológica y productividad. Para esta evaluación fueron realizados cuatro experimentos con diferentes tratamientos. Los que se comportaron mejor respecto a días de incubación y aparición de primordios fueron los compuestos por sustratos de cáscara de arveja, rastrojo de cultivo de maíz, pasto kikuyo, aserrín, salvado de trigo y 1 % de carbonato de calcio, con aislamiento térmico y un porcentaje de semilla del 5 y 9 %, con 28 y 30 días de incubación, respectivamente. En cuanto al número de días de aparición de primordios, fue 28 para ambos tratamientos. El rendimiento de los sustratos varió entre 286 a 296 g, con diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) en algunos tratamientos. Se obtuvieron eficiencias biológicas entre 28,4 y 29,6 %, según el porcentaje de semilla empleado. La productividad estuvo entre 0,28 y 0,30 g de hongo por cada 1000 g de sustrato.

**Palabras clave:** cuerpo fructífero; eficiencia biológica; primordios; residuos agroindustriales.

**Abstract** The artisanal cultivation of Orellana mushroom was evaluated by taking four different mixtures of residues: two agricultural and two pastures in the community of Obonuco, Nariño, through indicators such as number of days of incubation, number of days of the appearance of primordia, yield, biological efficiency, and productivity. For this evaluation, four experiments with different treatments were performed. The treatments that behaved best with respect to days of incubation and appearance of primordia were those composed of pea hull substrates, corn crop stubble, Kikuyu grass, sawdust, wheat bran, and 1 % calcium carbonate. Regarding the number of days of appearance of primordia, it was 28 for both treatments, with thermal insulation and a seed percentage of 5 and 9 %, with 28 and 30 days of incubation, respectively. Substrate yield ranged from 286 to 296 g with a significant difference ( $p < 0.05$ ) in some treatments. Biological efficiencies between 28.4 and 29.6 % were obtained depending on the percentage of seed used. The productivity of the fungus was between 0.28 and 0.30 g of fungus per 1000 g of substrate..

**Keywords:** fruiting bodies; biological efficiency; primordia; agro-industrial waste.

## Introducción

Más de 200 especies de hongos se han utilizado como alimentos funcionales debido a la cantidad de metabolitos que generan durante las etapas de crecimiento (Benavides *et al.*, 2015), pero solo se cultivan de forma comercial 35 especies (Bellettini *et al.*, 2019). Los hongos son una rica fuente de nutrientes, en particular de proteínas (Cateni *et al.*, 2021), calcio, fósforo y hierro (Nagulwar y More, 2020). De igual forma, presenta en su composición tiamina, riboflavina y niacina, como fuentes de vitaminas (Alzand *et al.*, 2019). El shiitake ocupa el primer puesto en el mercado mundial de hongos (Jaramillo y Albertó, 2019), y el segundo lugar es para los hongos del género *Pleurotus* (Duarte-Trujillo *et al.*, 2020).

*Pleurotus* spp., de la clase basidiomicetos y pertenecientes al grupo de “hongos de la pudrición blanca” (Rahim y Nasruddin, 2019), producen un micelio blanco, y son cultivados en sustratos que contienen lignina y celulosa no compostados (Kabel *et al.*, 2017). Las especies más comunes del género *Pleurotus* son *ostreatus*, *djamor*, *citrinopileatus*, *eryngii*, *tuber-regium*, *pulmonarius* y *nebrodensis* (Carrasco-González *et al.*, 2017).

La versatilidad y adaptabilidad de las especies de *Pleurotus* son factores relevantes para su cultivo, toda vez que toleran un rango de temperaturas amplio, demuestran resistencia a enfermedades y plagas, y pueden ser cultivados en cualquier sustrato lignocelulósico (Raman *et al.*, 2021). Presentan un alto rendimiento, mayor aprovechamiento del sustrato, ausencia de esporas y amplia tolerancia química (Bellettini *et al.*, 2019). La capacidad de cultivar *Pleurotus* spp. ha sido valorada en diferentes residuos agrícolas y agroindustriales, con el uso de diferentes combinaciones y proporciones de cada residuo. Entre los materiales, se pueden encontrar paja de avena (*Avena sativa* L.), rastrojo de maíz (*Zea*

*mays* L.) (Gaitán-Hernández y Silva, 2016), palma de aceite (*Elaeis guineensis*), café (*Coffea arabica*), residuos lignocelulósicos de fique (*Furcraea macrophylla*) (Benavides *et al.*, 2015) y alfalfa deshidratada (Romero-Arenas *et al.*, 2018).

El corregimiento de Obonuco se encuentra ubicado en el departamento de Nariño, al sur de Colombia, y a 5 km de la ciudad de Pasto, en las estribaciones de las faldas del volcán Galeras. La temperatura promedio es de 12 °C, con una precipitación promedio anual de 840 mm, a una altura de 2800 m s. n. m. (Genoy *et al.*, 2013). Tiene una población de 6.500 habitantes aproximadamente, y su principal actividad económica es la agricultura y ganadería, se dedican a cultivar principalmente arveja y criar especies menores como gallinas, cuyes, cerdos y conejos. En Obonuco se evidencia escaso aprovechamiento de residuos agrícolas y pastos, la mayoría de estos se usan como material en descomposición para abono natural de nuevas siembras o, en el caso de los pastos, para alimento de especies menores.

También es importante destacar que, en este corregimiento, la alimentación proteica básica depende de la cría y sacrificio de especies menores y gallina criolla. Los hongos tienen un importante contenido proteico, que puede variar del 19 al 37 % de peso en seco, de acuerdo con la especie analizada (González *et al.*, 2020). Cuando se compara el contenido proteico de otros productos como carne seca (33,20 %), leche entera (26,32 %), lentejas (22,92 %), frijoles negros (21,60 %), avena (13,15 %) y arroz blanco (6,61 %) (González *et al.*, 2020), se entiende que los hongos presentan un contenido importante de proteínas. El objetivo de esta investigación fue evaluar la productividad del cultivo artesanal del hongo comestible orellana (*Pleurotus ostreatus*) sobre las mezclas de cuatro diferentes residuos: dos agrícolas y dos de pastos, en la comunidad de Obonuco-Nariño.

## Materiales y métodos

Este trabajo se desarrolló en el corregimiento de Obonuco, Nariño. La investigación tuvo lugar entre los meses de agosto y diciembre del 2020, febrero a diciembre del 2021 y enero a marzo de 2022. Para el desarrollo del cultivo, se construyó una estructura de 2 m de largo x 2,5 m de ancho x 2,5 m de altura, los materiales empleados fueron madera y plástico negro. Esta estructura fue dividida en dos partes: la primera ocupó la mitad, y fue un área oscura para la fase de incubación, y la otra parte presentó una ventana y polisombra al 70 %, que permitió la ventilación del recinto y 12 horas de luz indirecta al día en la fase de fructificación.

### Adecuación del sustrato e inoculación

Los residuos que se evaluaron como sustrato se recolectaron en diferentes casas del corregimiento de Obonuco, y fueron acondicionados con secado bajo el sol. Es importante mencionar que, durante el desarrollo del estudio, fueron realizados cuatro experimentos diferentes. En el primero, los sustratos empleados fueron cáscara de arveja (CA), rastrojos del cultivo de maíz (RM), pastos kikuyo (KK) y king grass (KG), cuyas edades variaron desde los 60 hasta los 180 días; en el segundo, se emplearon los mismos sustratos del experimento 1, y se incluyó aserrín (AS), compuesto principalmente por maderas de achapo (*Cedrelinga catenaeformis*) y chanul (*Humiriastrum procera*), y salvado de trigo (ST). En el tercero, fueron empleados los mismos sustratos del experimento 2, con adición de 1 % de carbonato de calcio comercial y un aislamiento térmico, que consistió en forrar las paredes del recinto de incubación con láminas de icopor de 1 cm de espesor. El cuarto, se realizó con la adición 1 % de carbonato de calcio, aislamiento térmico con icopor y variación del porcentaje de inoculación de semilla en relación con el peso del sustrato.

Posterior al secado de los sustratos, en el caso de los residuos agrícolas y los pastos, se cortaron con tijera, a un tamaño de partícula entre 3 y 6 cm de largo. Este procedimiento se hizo para cada tratamiento y nunca se almacenaron para evitar contaminación y plagas.

Los sustratos se pesaron por separado, de acuerdo con la información reportada en la Tabla 1. Todos los residuos se sometieron a lavado en hipoclorito al 1 % durante dos horas, y luego se escurrieron en zarandas durante dos horas más. Luego, los tratamientos se sometieron a calentamiento durante dos horas para esterilizar con vapor de agua, en contacto directo, a una temperatura de  $85 \pm 2$  °C. Se utilizó una estufa convencional de propano como fuente de energía para el calentamiento del agua. Lo anterior garantizó que los sustratos quedaran con una humedad entre 58 y 62 %, y el valor de pH fue ajustado entre 6 a 7; para tal fin se utilizó  $\text{CaCO}_3$  al 1 % del peso del sustrato en base seca.

Se empleó semilla comercial del hongo Orellana (*Pleurotus ostreatus*), reproducida en maíz seco, procedente de la empresa Los Hongos De Merlín SAS, los gramos de semilla fueron calculados a razón del 10 % del peso en base seca de cada sustrato. Posteriormente, se mezcló la semilla con el sustrato dentro de bolsas transparentes, con la garantía de la asepsia en todo momento, para evitar cualquier tipo de contaminación, finalmente las bolsas se cerraron con un nudo en la parte superior de la bolsa. En la Tabla 1 se pueden observar de forma detallada los cuatro experimentos, los sustratos empleados, la relación de sustratos en proporción y gramos, y el porcentaje de semilla empleado. En los tratamientos planteados en esta investigación, la composición de los sustratos se da en gramos con respecto al peso seco del sustrato en cada bolsa, que tenía un peso final de 1000 g.

## Desarrollo de los cuerpos fructíferos

En esta etapa, se observaron temperaturas entre 14,26 y 15 °C, y se tomaron datos de humedad relativa entre 73,29 y 74 %. Las bolsas permanecieron durante ocho días sin ser manipuladas. Transcurrido este periodo,

estas fueron monitoreadas de forma diaria, se hicieron 4 cortes entre 2 y 3 cm por cada lado de la bolsa para permitir el intercambio gaseoso en los sustratos. Cuando se observó que el micelio había colonizado toda la superficie del sustrato, se dio por terminada esta fase, como se observa en la Figura 1.

**Tabla 1**

*Relaciones de residuos empleados y cantidad de semilla usada en la producción de hongos orellana generados en la comunidad de Obonuco, Nariño*

| Experimento | Sustratos                                                                                                                                                                               | Tratamiento                                   | Gramos                                                            | % Semilla                                         |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 1           | Cáscara de arveja CA<br>Residuos del maíz RM<br>Kikuyo KK<br>King grass KG<br>Paja de trigo PT                                                                                          | T1: KG + CA relación 8:2                      | T1: KG + CA: 800 g + 200 g                                        | T1, T2 T3,<br>T4, T5, T6<br>y T7: 10 %<br>(100 g) |
|             |                                                                                                                                                                                         | T2: KG + RM relación 8:2                      | T2: KG + RM: 800 g + 200 g                                        |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T3: KK + CA, relación 8:2                     | T3: KK + CA, 800 g + 200 g                                        |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T4: KK + RM, relación 8:2                     | T4: KK + RM, 800 g + 200 g                                        |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T5: KG + KK + CA relación 4:4:2               | T5: KG + KK + CA 400 g + 400 g + 200 g                            |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T6: KG + KK + RM relación 4:4:2               | T6: KG + KK + RM 400g + 400 g + 200 g                             |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T7: PT (control) relación 1                   | T7: PT 1000 g                                                     |                                                   |
| 2           | Cáscara de arveja CA<br>Residuos del maíz RM<br>Kikuyo KK<br>King grass KG Aserrín AS<br>Salvado de trigo ST<br>Paja de trigo PT                                                        | T1: KG + CA + AS + ST relación 4:2:2:2        | T1: KG + CA + AS +ST: 400 g + 200 g + 200 g + 200 g               | T1, T2 T3,<br>T4, T5, T6<br>y T7: 10 %<br>(100 g) |
|             |                                                                                                                                                                                         | T2: KG + RM + AS + ST; relación 4:2:2:2       | T2: KG + RM + AS + ST: 400 g + 200 g + 200 g + 200 g              |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T3: KK + CA + AS + ST, relación 4:2:2:2       | T3: KK + CA + AS + ST: 400 g + 200 g + 200 g + 200 g              |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T4: KK + RM, relación 4:2:2:2                 | T4: KK + RM + AS + ST: 400 g + 200 g + 200 g + 200 g              |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T5: KG + KK + CA + AS + ST relación 2:2:2:2:2 | T5: KG + KK + CA + AS + ST: 200 g + 200 g + 200 g + 200 g + 200 g |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T6: KG + KK + RM + AS + ST relación 2:2:2:2:2 | T6: KG + KK + RM + AS + ST: 200 g + 200 g + 200 g + 200 g + 200 g |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T7: PT (control) relación 1                   | T7: PT 1000 g                                                     |                                                   |
| 3           | Cáscara de arveja CA<br>Residuos del maíz RM<br>Kikuyo KK<br>King grass KG Aserrín AS<br>Salvado de trigo ST<br>Carbonato de calcio CC al 1 %<br>Paja de trigo PT (aislamiento térmico) | T1: KG + CA + AS + ST relación 4:2:2:2        | T1: KG + CA + AS + ST: 400 g + 200 g + 200 g + 200 g              | T1, T2 T3,<br>T4, T5, T6<br>y T7: 10 %<br>(100 g) |
|             |                                                                                                                                                                                         | T2: KG + RM + AS + ST; relación 4:2:2:2       | T2: KG + RM + AS + ST: 400 g + 200 g + 200 g + 200 g              |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T3: KK + CA + AS + ST, relación 4:2:2:2       | T3: KK + CA + AS + ST: 400 g + 200 g + 200 g + 200 g              |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T4: KK + RM, relación 4:2:2:2                 | T4: KK + RM + AS + ST: 400 g + 200 g + 200 g + 200 g              |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T5: KG + KK + CA + AS + ST relación 2:2:2:2:2 | T5: KG + KK + CA + AS + ST: 200 g + 200 g + 200 g + 200 g + 200 g |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T6: KG + KK + RM + AS + ST relación 2:2:2:2:2 | T6: KG + KK + RM + AS + ST: 200 g + 200 g + 200 g + 200 g + 200 g |                                                   |
|             |                                                                                                                                                                                         | T7: PT (control) relación 1                   | T7: PT 1000 g                                                     |                                                   |

| Experimento | Sustratos                                 | Tratamiento                                                                | Gramos                                                                                         | % Semilla           |
|-------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| 4           | Cascara de arveja CA                      | T1 al T6: KK + CA + RM + AS<br>+ ST relación 2:2:2:2:2<br>T7: PT (control) | T1 al T6: KK + CA + RM + AS<br>+ ST: 200 g + 200 g + 200 g<br>+ 200 g + 200 g<br>T7: PT 1000 g | T1: 5 %<br>(50 g)   |
|             | Residuos del maíz RM                      |                                                                            |                                                                                                | T2: 6 %<br>(60 g)   |
|             | Kikuyo KK                                 |                                                                            |                                                                                                | T3: 7 %<br>(70 g)   |
|             | Aserrín AS                                |                                                                            |                                                                                                | T4: 8 %<br>(80 g)   |
|             | Salvado de trigo ST                       |                                                                            |                                                                                                | T5: 9 %<br>(90 g)   |
|             | Carbonato de calcio CC<br>al 1 %          |                                                                            |                                                                                                | T6: 10 %<br>(100 g) |
|             | Paja de trigo PT<br>(aislamiento térmico) |                                                                            |                                                                                                | T7: 10 %<br>(100 g) |

Nota. Elaboracion propia.

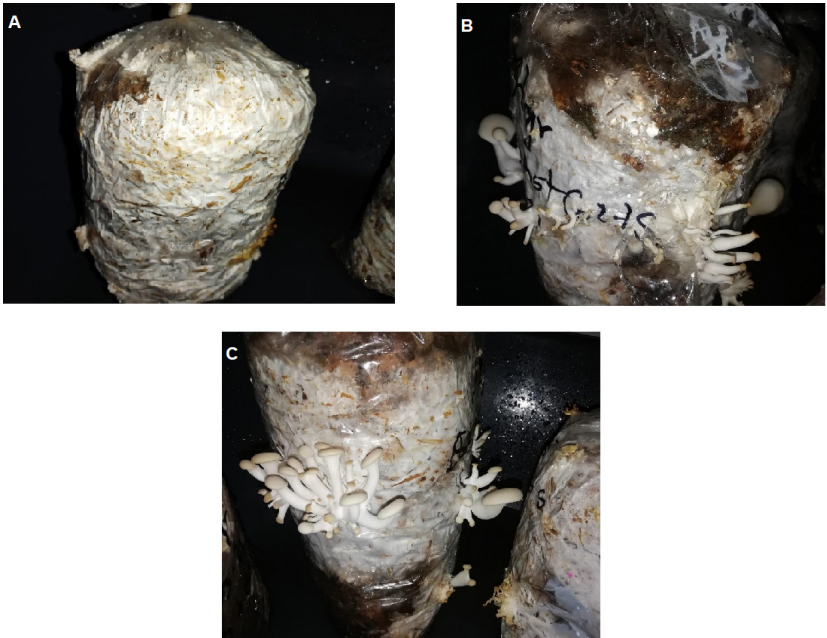


Figura 1

*Producción del hongo (P. ostreatus). Nota. A: invasión del micelio en el sustrato: KK + AS + ST. B: aparición de primordios en sustrato: KK + CA + RM + AS + ST, relación 2:2:2:2:2. C: cuerpos fructíferos. Elaboración propia.*

### Fase de fructificación

Una vez que el micelio colonizó la superficie del sustrato completamente en los siete tratamientos del experimento 4, se llevaron las bolsas al recinto de fructificación, en donde se midieron temperaturas de 12 °C y una humedad relativa de 90 %, las bolsas fueron colgadas a una altura de 1,20 m, como se ve en la Figura 1. Con un bisturí, se hicieron cortes verticales

y horizontales en los lados de la bolsa para aumentar el intercambio gaseoso y facilitar la salida de los cuerpos fructíferos. Los sustratos se humedecieron con agua potable mediante un atomizador portátil. Las cosechas se realizaron de forma manual con el giro del ramillete de los cuerpos fructíferos del sustrato, cuando el sombrero del hongo tomó una forma aplanada.

En esta fase del cultivo, se midió el efecto de los tratamientos sobre:

- El número de días que tomaron en aparecer los primordios, que corresponden al número de días entre la inoculación y la aparición de los primordios.
- El rendimiento de los sustratos, peso total de los cuerpos fructíferos para cada una de las cosechas.
- La eficiencia biológica, relación entre el peso total de hongos cosechados y el peso seco del sustrato, se toma cada una de las cosechas y la suma de las tres,  $EB = (\text{peso fresco de los hongos (g)} / \text{peso seco del sustrato (g)}) * 100$ .
- La productividad, los gramos de cuerpos fructíferos frescos producidos por cada 1000 gramos de sustrato empleado.  $\text{Productividad} = (\text{g cuerpos fructíferos} / 1000 \text{ g sustrato seco}) * 100$ . Todas las variables se evaluaron sobre tres muestras por tratamiento.

### Análisis estadístico

Los datos se procesaron y analizaron con los programas Microsoft Excel y SAS, para establecer diferencias. En las variables que mostraron diferencias estadísticamente significativas, se realizaron comparaciones múltiples con el procedimiento de Tukey a un nivel ( $p = 0,05$ ).

## Resultados y discusión

### Número de días en incubación

En el experimento 1, no se obtuvo colonización de los sustratos, esta situación probablemente se presentó porque hubo falta de nutrientes y por cambios bruscos en la temperatura durante el proceso. En el experimento 2, donde se estableció la adición de salvado de trigo y aserrín como suplementos, se obtuvieron mejores condiciones de colonización. En el caso de los tratamientos 3 y 4, se presentó apareamiento de primordios, pero sin la formación completa de primordios y cuerpos fructíferos (Tabla 2). Para el experimento 3, se estableció un aislamiento térmico con icopor,

el cual mejoró la colonización, que se presentó para los tratamientos 3 al 7. Sin embargo, no se presentó desarrollo del cuerpo fructífero; no se sabe a ciencia cierta el motivo de la muerte de los primordios. Al parecer, se dio por las condiciones climáticas extremas de lluvias, sobre todo en las noches. En el experimento 4, se pudo evidenciar que el tratamiento con mejor invasión del micelio fue la mezcla de 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 1 % carbonato de calcio y 7 % SE (T3), y 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 1 % carbonato de calcio y 9 % SE (T5), con un periodo de incubación de 28 días. Los tratamientos 1, 2, 4, 6 y 7 presentaron un periodo de incubación entre 29 y 30 días, como se evidencia en la Figura 2.

Soto-Cruz *et al.* (1999) muestran que para el crecimiento de *P. ostreatus*, con el empleo de sustratos como paja de avena, cáscara de coco y salvado de avena, la fase de incubación duró aproximadamente 14 días, con temperaturas de 28 °C en un ambiente oscuro. Garzón y Cuervo (2008) emplearon como sustrato para el crecimiento del hongo, bagazo de caña de azúcar (S), aserrín (A), café (C) y tallo de maíz (M), en diferentes proporciones, los tratamientos T8 (C + A + M + S), T10 (A + M + S), T11 (C + A + M) y T12 (C+A+S) presentaron 26 días en la fase de incubación, con temperaturas entre 7 y 34 °C. Las diferencias observadas al comparar los resultados de los estudios mencionados respecto a esta investigación en la cual el número mínimo de días de incubación fue 28, probablemente se debió a que la temperatura ambiental del lugar osciló entre 14,26 y 15 °C. También, es importante destacar que los sustratos, combinaciones y proporciones empleados para el crecimiento del hongo son diferentes, teniendo en cuenta que sustratos como el bagazo de la caña de azúcar y tallo de maíz pueden haber mejorado la porosidad en el sustrato y evitado la compactación, y de esta forma le permitieron al micelio del hongo una mayor y más rápida colonización del sustrato.

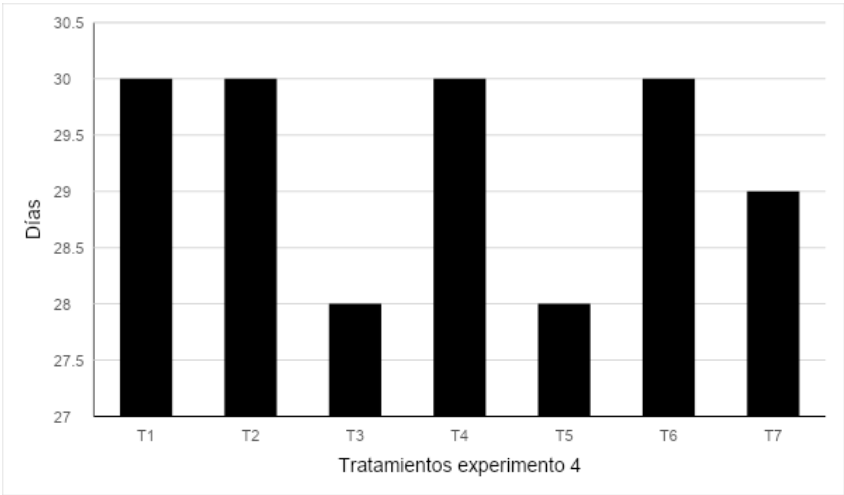
**Tabla 2**

*Número de días de incubación del hongo (P. ostreatus) en los 28 tratamientos.*

| Experimento                                                                                         | Tratamiento | Sustrato (% peso)                                                                | Días de incubación |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| 1<br>Cascara de arveja CA<br>Residuos del maíz RM<br>Kikuyo KK<br>King grass KG<br>Paja de trigo PT | T1          | Sustrato:<br>T1: 80 % KG + 20 % CA<br>Semilla: 10 % SE                           | 0                  |
|                                                                                                     | T2          | Sustrato:<br>T2: 80 % KG + 20 % RM<br>Semilla: 10 % SE                           | 0                  |
|                                                                                                     | T3          | Sustrato:<br>T3: 80 % KK + 20 % CA<br>Semilla: 10 % SE                           | 0                  |
|                                                                                                     | T4          | Sustrato:<br>T4: 80 % KK + 20 % RM<br>Semilla: 10 % SE                           | 0                  |
|                                                                                                     | T5          | Sustrato:<br>T5: 40 % KG + 40 % KK + 20 % CA<br>Semilla: 10 % SE                 | 0                  |
|                                                                                                     | T6          | Sustrato:<br>T6: 40 % KG + 40 % KK + 20 % RM<br>Semilla: 10 % SE                 | 0                  |
|                                                                                                     | T7          | Sustrato:<br>T7: 100 % PT<br>Semilla: 10 % SE (control)                          | 0                  |
|                                                                                                     | T1          | Sustrato:<br>40 % KG + 20 % CA + 20 % AS + 20 % ST<br>Semilla: 10 % SE           | 0                  |
|                                                                                                     | T2          | Sustrato:<br>40 % KG + 20 % RM + 20 % AS + 20 % ST<br>Semilla: 10 % SE           | 0                  |
|                                                                                                     | T3          | Sustrato:<br>40 % KK + 20 % CA + 20 % AS + 20 % ST<br>Semilla: 10 % SE           | 0                  |
|                                                                                                     | T4          | Sustrato:<br>40 % KK + 20 % RM + 20 % AS + 20 % ST<br>Semilla: 10 % SE           | 0                  |
|                                                                                                     | T5          | Sustrato:<br>20 % KG + 20 % KK + 20 % CA + 20 % AS + 20 % ST<br>Semilla: 10 % SE | 0                  |
|                                                                                                     | T6          | Sustrato:<br>20 % KG + 20 % KK + 20 % RM + 20 % AS + 20 % ST<br>Semilla: 10 % SE | 0                  |
|                                                                                                     | T7          | Sustrato: 100 % PT<br>Semilla: 10 % SE<br>(control)                              | 0                  |

| Experimento                                                                                                                                                                                     | Tratamiento | Sustrato (% peso)                                            | Días de incubación |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------------------------------------------------------|--------------------|
| 3<br>Cáscara de arveja CA<br>Residuos del maíz RM<br>Kikuyo KK<br>King grass KG<br>Aserrín AS<br>Salvado de trigo ST<br>Carbonato de calcio CC 1 %<br>Paja de trigo PT (aislamiento<br>térmico) | T1          | Sustrato:<br>40 % KG + 20 % CA + 20 % AS + 20 % ST           | 0                  |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 10 % SE                                             |                    |
|                                                                                                                                                                                                 | T2          | Sustrato:<br>40 % KG + 20 % RM + 20 % AS + 20 % ST           | 0                  |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 10 % SE                                             |                    |
|                                                                                                                                                                                                 | T3          | Sustrato:<br>40 % KK + 20 % CA + 20 % AS + 20 % ST           | 0                  |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 10 % SE                                             |                    |
|                                                                                                                                                                                                 | T4          | Sustrato:<br>40 % KK + 20 % RM + 20 % AS + 20 % ST           | 0                  |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 10 % SE                                             |                    |
|                                                                                                                                                                                                 | T5          | Sustrato:<br>20 % KG + 20 % KK + 20 % CA + 20 % AS + 20 % ST | 0                  |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 10 % SE                                             |                    |
|                                                                                                                                                                                                 | T6          | Sustrato:<br>20 % KG + 20 % KK + 20 % RM + 20 % AS + 20 % ST | 0                  |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 10 % SE                                             |                    |
|                                                                                                                                                                                                 | T7          | Sustrato: 100 % PT                                           | 0                  |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 10 % SE<br>(control)                                |                    |
| 4<br>Cáscara de arveja CA<br>Residuos del maíz RM<br>Kikuyo KK<br>Aserrín AS<br>Salvado de trigo ST<br>Carbonato de calcio CC 1 %<br>Paja de trigo PT (aislamiento<br>térmico)                  | T1          | Sustrato:<br>20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS | 30                 |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 5 % SE                                              |                    |
|                                                                                                                                                                                                 | T2          | Sustrato:<br>20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS | 30                 |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 6 % SE                                              |                    |
|                                                                                                                                                                                                 | T3          | Sustrato:<br>20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS | 28                 |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 7 % SE                                              |                    |
|                                                                                                                                                                                                 | T4          | Sustrato:<br>20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS | 30                 |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 8 % SE                                              |                    |
|                                                                                                                                                                                                 | T5          | Sustrato:<br>20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS | 28                 |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 9 % SE                                              |                    |
|                                                                                                                                                                                                 | T6          | Sustrato:<br>20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS | 30                 |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 10 % SE                                             |                    |
|                                                                                                                                                                                                 | T7          | Sustrato: 100 % PT                                           | 29                 |
|                                                                                                                                                                                                 |             | Semilla: 10 % SE<br>(control)                                |                    |

Nota. KG: king grass, CA: cáscara de arveja, RM: residuo del cultivo de maíz, KK: kikuyo, PT: paja de trigo, ST: salvado de trigo, AS: aserrín, CC: carbonato de calcio, SE: semilla. Elaboración propia.



**Figura 2**

*Número de días de incubación del hongo (P. ostreatus) en los 7 tratamientos del experimento 4.*

Nota. Elaboracion propia.

### Aparición de primordios

Los resultados del experimento 4 son presentados en la Tabla 3. Los tratamientos que formaron primordios de forma más rápida en la cosecha 1 fueron el 3 y 5, seguidos del 6, con 29 días después de la inoculación, los cuales no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) con los demás tratamientos.

El número de días para la aparición de primordios en los hongos orellana, generalmente se observa entre 22 y 28. Kalmış y Sargin (2004), emplearon paja de trigo como sustrato, bajo condiciones controladas, con 12 horas de luz artificial y temperatura de 20 °C,

estos autores indican que el número de días para la aparición de primordios de los hongos *P. sajor-caju* y *P. cornucopiae* var. *citrinopileatus* fue 28 y 22 días, respectivamente. Curvetto *et al.* (2002), encontraron que el número de días para la aparición de primordios de cinco diferentes cepas del hongo *P. ostreatus*, cultivados sobre residuos de testas de semilla de girasol y suplementadas con manganeso y amonio, bajo condiciones controladas de humedad relativa entre 80 y 90 %, 12 horas de luz y con temperatura 21 °C, estuvo entre 24 y 28. En el presente ensayo, con temperaturas entre 14,26 a 15 °C, humedad relativa entre 73,29 a 74 % y 12 horas de luz, los tratamientos con más rápida aparición de primordios fueron T3 y T5, con 28 días.

**Tabla 3**

*Número de días entre la inoculación y la aparición de los primordios para los siete tratamientos del experimento cuatro.*

| Tratamiento | Sustrato (% peso)                                        | Días de incubación |
|-------------|----------------------------------------------------------|--------------------|
| T1          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 5 % SE | 30                 |
| T2          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 6 % SE | 30                 |
| T3          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 7 % SE | 28                 |
| T4          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 8 % SE | 30                 |
| T5          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 9 % SE | 28                 |

| Tratamiento | Sustrato (% peso)                                         | Días de incubación |
|-------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| T6          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 10 % SE | 29                 |
| T7          | 100 % PT + 10 % SE (control)                              | 29                 |

Nota. CA: cáscara de arveja, RM: residuo del cultivo de maíz, KK: kikuyo, PT: paja de trigo, ST: salvado de trigo, AS: aserrín, CC: carbonato de calcio, SE: semilla. Elaboración propia.

## Rendimiento

Los resultados se pueden observar en la Tabla 4, donde se evidencia que el tratamiento que presentó mayor rendimiento (g) en la cosecha 1 fue el número 5 (20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 1% de carbonato de calcio y 9 % SE), con una producción de 204 gramos, seguido del tratamiento control, con una producción de 203 gramos. El tratamiento 2 fue el que tuvo menor rendimiento, con 192,3 gramos y presentó diferencias estadísticamente significativas respecto a los tratamientos 1, 3, 4, 5 y 6.

Se puede evidenciar una disminución en el rendimiento de la cosecha 2, esto puede deberse al agotamiento de los nutrientes de los sustratos

empleados. Sin embargo, los tratamientos que tuvieron mayor rendimiento para la cosecha dos fueron el 6, 5 y 1, con una producción de 64,6, 63,6 y 62,6 gramos, respectivamente. En esta cosecha, el tratamiento que tuvo menor rendimiento fue el 3, con 56,6 gramos, que presentó diferencias significativas respecto a los tratamientos 2 y 4. En la cosecha tres, los tratamientos que tuvieron mayor rendimiento fueron el 2, 1 y 4, con una producción de 32,6, 31,6 y 31,3 gramos, respectivamente. En esta cosecha, el tratamiento que tuvo menor rendimiento fue el 5, con 23 gramos. En cuanto al rendimiento total, los tratamientos que presentaron el mejor desempeño, fueron el 1 y 5, con valores de 296 y 291 gramos, respectivamente.

**Tabla 4**

*Rendimiento (g) del hongo (P. ostreatus) (cosechas 1, 2, 3 y total) para los siete tratamientos del experimento cuatro.*

| Tratamiento | Sustrato (% en peso)                                      | Rendimiento (gramos) por cosecha y total |                   |                   |                  |
|-------------|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------|-------------------|------------------|
|             |                                                           | 1                                        | 2                 | 3                 | Total            |
| T1          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 5 % SE  | 201,3 <sup>a</sup>                       | 62,6 <sup>a</sup> | 31,6 <sup>a</sup> | 296 <sup>a</sup> |
| T2          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 6 % SE  | 192,3 <sup>c</sup>                       | 59,3 <sup>b</sup> | 32,6 <sup>a</sup> | 284 <sup>c</sup> |
| T3          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 7 % SE  | 201,3 <sup>a</sup>                       | 56,3 <sup>c</sup> | 28,6 <sup>a</sup> | 286 <sup>b</sup> |
| T4          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 8 % SE  | 197,6 <sup>b</sup>                       | 59,3 <sup>b</sup> | 31,3 <sup>a</sup> | 288 <sup>b</sup> |
| T5          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 9 % SE  | 204 <sup>a</sup>                         | 63,6 <sup>a</sup> | 23 <sup>b</sup>   | 291 <sup>a</sup> |
| T6          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 10 % SE | 198 <sup>b</sup>                         | 64,6 <sup>a</sup> | 23,6 <sup>b</sup> | 286 <sup>b</sup> |
| T7          | 100 % PT + 10 % SE (control)                              | 203 <sup>a</sup>                         | 61,6 <sup>b</sup> | 23 <sup>b</sup>   | 288 <sup>b</sup> |

Nota. CA: cáscara de arveja, RM: residuo del cultivo de maíz, KK: kikuyo, PT: paja de trigo, ST: salvado de trigo, AS: aserrín, CC: carbonato de calcio, SE: semilla. \*Medias con diferente letra dentro de una misma columna tienen diferencia estadísticamente significativa (p < 0,05). Elaboración propia.

## Eficiencia biológica

Los resultados obtenidos para el experimento 4 se muestran en la Tabla 5, los tratamientos con mayor eficiencia biológica (%) para la cosecha 1 fueron 5, 1 y 3, se presenta la mayor eficiencia biológica en el tratamiento 5, con 20,4 %. Sin embargo, no presenta una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) respecto a los demás tratamientos (tratamientos 1, 2, 3, 4 y 6). En cuanto a la eficiencia biológica total, se puede decir que los mejores tratamientos fueron el 1 y 5 (29,6 y 29,1) con 5 % y 9 % SE, respectivamente. Jaramillo y Albertó (2019), utilizaron paja de trigo como sustrato para el crecimiento del hongo, y obtuvieron eficiencias

biológicas de 43,93 a 116,04 %, la cantidad de inóculo fue del 1 al 16,6 %. Díaz *et al.* (2019), encontraron eficiencias biológicas de 8,65 a 16,77 % con sustratos con bagazo de caña de azúcar y paja de arroz, respectivamente, y con un 9,97 % con residuos de la poda de pasto de parques, sustrato comparable con el investigado en este estudio. Valera (2019), al evaluar diferentes sustratos, estableció tres tratamientos, en el primero, con residuo de uva y tusa de maíz, obtuvo eficiencias biológicas de 53,1 a 87,2 %; en el segundo, con residuo de aceituna y tusa de maíz, presentó eficiencias biológicas de 36,1 a 66,7 %, respectivamente; y en el tercero con, residuo de uva y de aceituna, obtuvo eficiencias biológicas de 45,5 a 90,2 %.

**Tabla 5**

*Eficiencia biológica (%) del hongo (P. ostreatus) (cosechas 1, 2, 3 y total) para los siete tratamientos del experimento cuatro.*

| Tratamiento | Sustrato (% en peso)                                      | Eficiencia biológica (%) por cosecha y total |                  |                  |                   |
|-------------|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------------|------------------|-------------------|
|             |                                                           | 1                                            | 2                | 3                | Total             |
| T1          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 5 % SE  | 20,1 <sup>a</sup>                            | 6,3 <sup>a</sup> | 3,2 <sup>a</sup> | 29,6 <sup>a</sup> |
| T2          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 6 % SE  | 19,2 <sup>a</sup>                            | 5,9 <sup>b</sup> | 3,3 <sup>a</sup> | 28,4 <sup>a</sup> |
| T3          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 7 % SE  | 20,1 <sup>a</sup>                            | 5,6 <sup>b</sup> | 2,9 <sup>a</sup> | 28,6 <sup>a</sup> |
| T4          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 8 % SE  | 19,8 <sup>a</sup>                            | 5,9 <sup>b</sup> | 3,1 <sup>a</sup> | 28,8 <sup>a</sup> |
| T5          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 9 % SE  | 20,4 <sup>a</sup>                            | 6,4 <sup>a</sup> | 2,3 <sup>b</sup> | 29,1 <sup>a</sup> |
| T6          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 10 % SE | 19,7 <sup>a</sup>                            | 6,5 <sup>a</sup> | 2,4 <sup>b</sup> | 28,6 <sup>a</sup> |
| T7          | 100 % PT + 10 % SE (control)                              | 20,2 <sup>a</sup>                            | 6,2 <sup>a</sup> | 2,3 <sup>b</sup> | 28,7 <sup>a</sup> |

*Nota.* CA: cáscara de arveja, RM: residuo del cultivo de maíz, KK: kikuyo, PT: Paja de trigo, ST: salvado de trigo, AS: aserrín, SE: semilla. \*Medias con diferente letra dentro de una misma columna tienen diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Elaboración propia.

## Productividad

Los resultados se presentan en la Tabla 6. Se toma el peso acumulado de las tres cosechas, la cantidad de sustrato seco y el número total de días para producirlos. El tratamiento 1 fue el que presentó mayor productividad, con 0,30 kg de cuerpos fructíferos en 1000 g de sustrato; respecto a los demás tratamientos (3, 4, 5 y 6), la productividad estuvo entre 0,29 g de cuerpos fructíferos por 1000 g de sustrato seco. Garzón-Gómez *et al.* (2008), destacan que los

tratamientos con mayor productividad y con diferencias estadísticamente significativas respecto de los demás, fueron los que tenían mezclas de café, con o sin aserrín, con bagazo de la caña de azúcar y/o tallo de maíz (tratamientos 8, 9, 11 y 12), donde el tratamiento 8 presentó la mayor productividad, con 0,905 kg de cuerpos fructíferos frescos producidos en 100 kg de sustrato seco, respecto a los demás tratamientos (1, 3, 5, 6, 7 y 10), que presentaron productividad entre 0,324 y 0,494 kg de cuerpos fructíferos por 100 kg de sustrato seco.

**Tabla 6**

*Productividad (1000g día)<sup>-1</sup> del hongo (P. ostreatus) (total de 3 cosechas) para los siete tratamientos del experimento cuatro.*

| Tratamiento | Sustrato (% en peso)                                      | Productividad (1000 g día) <sup>-1</sup> |
|-------------|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| T1          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 5 % SE  | 0,30                                     |
| T2          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 6 % SE  | 0,28                                     |
| T3          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 7 % SE  | 0,29                                     |
| T4          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 8 % SE  | 0,29                                     |
| T5          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 9 % SE  | 0,29                                     |
| T6          | 20 % KK + 20 % CA + 20 % RM + 20 % ST + 20 % AS + 10 % SE | 0,29                                     |
| T7          | 100 % PT + 10 % SE (control)                              | 0,29                                     |

Nota. CA: cáscara de arveja, RM: residuo del cultivo de maíz, KK: kikuyo, PT: paja de trigo, ST: salvado de trigo, AS: aserrín, SE: semilla. Elaboración propia.

## Conclusiones

La supervivencia y multiplicación de los hongos está relacionada con varios factores, que pueden actuar individualmente o tener interacciones efectos entre ellos. La combinación de las variables temperatura del aire, humedad, tipos de sustrato, porcentaje de semilla, proporcionan un efecto sinérgico que optimiza la producción del hongo. Por lo cual, cada tratamiento actúa de forma particular de acuerdo con la combinación de sustratos agrícolas y de pastos, incorporación de aserrín, salvado de trigo, carbonato de calcio, condiciones del área de incubación y cosecha, como también las condiciones climáticas.

## Agradecimientos

“El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados”.

Esta investigación fue apoyada por la Convocatoria 009 de 2020 de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD, número de proceso PS 062020.

## Referencias

- Alzand, K. I., Bofaris, M. S. M., y Ugis, A. (2019). Chemical Composition and Nutritional Value of Edible Wild Growing Mushrooms: A Review. *World J. Pharm. Res.*, 8(3), 31–46. [10.12691/wjpr-3-8-1](https://doi.org/10.12691/wjpr-3-8-1)
- Belletini, M. B., Assumpção, F. F., Aparecida, M. H., Lopes, T. G., Avila, S., Silveira, H. P., Maccari, A. J., y Hoffmann, R. R. (2019). Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(4), 633–646. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005>
- Benavides, O. L., Cabrera, É. V., Villota, A. O., y Perdomo, D. A. (2015). Ácidos grasos del hongo funcional *Pleurotus ostreatus* cultivado en residuos sólidos agroindustriales. *Producción+ Limpia*, 10(1), 73–81. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1909-04552015000100007](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552015000100007)
- Carrasco-González, J. A., Serna-Saldívar, S. O., y Gutiérrez-Urbe, J. A. (2017). Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58, 69–81. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.01.016>
- Cateni, F., Gargano, M. L., Procida, G., Venturella, G., Cirlincione, F., y Ferraro, V. (2021). Mycochemicals in wild and cultivated mushrooms: nutrition and health. *Phytochemistry Reviews*, 21, 339–383. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09748-2>
- Curvetto, N. R., Figlas, D., Devalis, R., y Delmastro, S. (2002). Growth and productivity of different

*Pleurotus ostreatus* strains on sunflower seed hulls supplemented with N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and/or Mn (II). *Bioresource Technology*, 84(2), 171-176. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00013-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00013-5)

Díaz, K., Casanova, M., León, C. A., Gil, L. A., Bardales, C. B., y Cabos, J. (2019). Producción de *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) ICFC 153/99 cultivado sobre diferentes residuos lignocelulósicos. *Arnaldia*, 26(3), 1177-1184. <http://doi.org/10.22497/arnaldia.263.26322>

Duarte-Trujillo, A. S., Jiménez-Forero, J. A., Pineda-Insusti, J., González-Trujillo, C. A., y García-Juarez, M. (2020). Extraction of bioactive substances from *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) by dynamic maceration. *Acta Biologica Colombiana*, 25(1), 61-74. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.72409>

Gaitán-Hernández, R. y Silva Huerta, A. (2016). Aprovechamiento de residuos agrícolas locales para la producción de *Pleurotus* spp., en una comunidad rural de Veracruz, México. *Revista Mexicana de Micología*, 43, 43-47. <https://www.redalyc.org/pdf/883/88346175007.pdf>

Garzón Gómez, J. P., y Cuervo Andrade PhD, J. L. (2008). Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. *Nova*, 6(10), 126-140. <https://doi.org/10.22490/24629448.403>

Genoy, Y. M., Castillo, J. A., y Bacca, T. (2013). Ácaros oribátidos presentes en seis sistemas de uso del suelo en Obonuco, Pasto (Nariño). *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 17(2), 60-68. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-30682013000200005](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-30682013000200005)

González, A., Cruz, M., Losoya, C., Nobre, C., Loredó, A., Rodríguez, R., Contreras, J., y Belmares, R. (2020). Edible mushrooms as a novel protein source for functional foods. *Food & Function*, 11(9), 7400-7414. <https://doi.org/10.1039/D0FO01746A>

Jaramillo, S. y Albertó, E. (2019). Incremento de la productividad de *Pleurotus ostreatus* mediante el uso de inóculo como suplemento. *Scientia Fungorum*, 49, e1243. <https://doi.org/10.33885/sf.2019.49.1243>

Kabel, M. A., Jurak, E., Mäkelä, M. R., y De Vries, R. P. (2017). Occurrence and function of enzymes for lignocellulose degradation in commercial *Agaricus bisporus* cultivation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(11), 4363-4369. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8294-5>

Kalmis, E. y Sargin, S. (2004). Cultivation of two *Pleurotus* species on wheat straw substrates containing olive mill waste water. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 53(1), 43-47. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2003.08.002>

Nagulwar, M. M. y More, D. R. (2020). Studies on chemical and mineral evaluation of oyster mushroom. *The Pharma Innovation Journal*, 9(8), 101-103. <https://www.thepharmajournal.com/archives/2020/vol9issue8/PartB/9-7-95-413.pdf>

Rahim, I. y Nasruddin, A. (2019). The ability of rot fungi from cocoa plant in producing lignocellulosic enzymes. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 270(1), 12037. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/270/1/012037>

Raman, J., Jang, K.-Y., Oh, Y.-L., Oh, M., Im, J.-H., Lakshmanan, H., y Sabaratnam, V. (2021). Cultivation and nutritional value of prominent *Pleurotus* spp.: An overview. *Mycobiology*, 49(1), 1-14. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1835142>

Romero-Arenas, O., Ita, V.-D., Ángeles, M., Rivera-Tapia, J. A., Tello-Salgado, I., Villarreal Espino-Baños, O. A., y Damián-Huato, M. A. (2018). Productive Capacity of *Pleurotus Ostreatus* Using Dehydrated Alfalfa as Supplement in Different Agricultural Substrates. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 15(2), 145-160. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-54722018000200145&script=sci\\_arttext&tlng=en](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-54722018000200145&script=sci_arttext&tlng=en)

Soto-Cruz, O., Saucedo-Castañeda, G., Pablos-Hach, J. L., Gutiérrez-Rojas, M., y Favela-Torres, E. (1999). Effect of substrate composition on the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus*. An analysis by mixture and response surface methodologies. *Process Biochemistry*, 35(1-2), 127-133. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(99\)00043-6](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(99)00043-6)

Valera, A. (2019). Rendimiento del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* cultivado en diferentes sustratos a base de residuos agroindustriales de la ciudad de Tacna [Tesis de maestría]. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna, Perú. <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/3728>

# Potencial bioactivo de los residuos del cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*) en Costa Rica

## Bioactive potential of strawberry crop residues (*Fragaria x ananassa*) in Costa Rica

Karla Melissa Salas-Arias<sup>1</sup> 

Bridget Salas-Morgan<sup>2</sup> 

Laura A. Calvo-Castro<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Doctorado en Ciencias Naturales para el Desarrollo (DOCINADE), Instituto Tecnológico de Costa Rica. Universidad Nacional. Universidad Estatal a Distancia [ksalas@itcr.ac.cr](mailto:ksalas@itcr.ac.cr)

<sup>2</sup>Instituto Tecnológico de Costa Rica, [bridgetsalasm@gmail.com](mailto:bridgetsalasm@gmail.com)

<sup>3</sup>Instituto Tecnológico de Costa Rica [ancalvo@itcr.ac.cr](mailto:ancalvo@itcr.ac.cr)

Recibido: 13/06/2022 Aceptado: 16/06/2022

**Resumen** El fruto de la fresa (*Fragaria x ananassa*) es un alimento ampliamente consumido a nivel mundial, y al cual se le han atribuido una amplia gama de propiedades beneficiosas para la salud humana, mayoritariamente asociadas a su potencial antioxidante. La búsqueda de fitoquímicos bioactivos en la fresa se ha enfocado en el fruto, mientras que el perfil bioquímico de las hojas ha sido poco estudiado y sigue siendo poco aprovechado, a pesar de constituir una fuente potencial de metabolitos bioactivos que podrían ser utilizados en la formulación de productos para el sector alimenticio, industrial y farmacéutico. Además, se ha reportado mayor contenido de polifenoles bioactivos en las hojas de fresa que en el fruto, y las hojas de fresa podrían ser una fuente importante de ácido elágico, un compuesto antioxidante bioactivo poco abundante en la dieta humana pero de gran potencial biomédico. Este artículo de revisión bibliográfica tiene como objetivo evaluar las características del cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*) en Costa Rica, con miras al aprovechamiento integral de los residuos agroindustriales de este cultivo. La información consultada demostró que la comercialización del cultivo de fresa se enfoca en el fruto, mientras que las hojas y el resto del material vegetativo de la planta se descartan periódicamente, y podrían ser incorporados en nuevas cadenas productivas. Este tipo de estrategias son de especial importancia para países pequeños en desarrollo y con economías de base agrícola, para mejorar el aprovechamiento de los residuos agroindustriales y darles un mayor valor agregado a los cultivos, en beneficio del ambiente y la salud humana.

**Palabras clave:** economía circular, fresa, hoja, polifenoles, agroindustria.

**Abstract** Strawberry fruit (*Fragaria x ananassa*) is a widely consumed food worldwide and has been characterized to have a wide range of beneficial properties for human health, mostly associated with its antioxidant potential. The search for bioactive phytochemicals in strawberry has focused mainly on the fruit, while the biochemical profile of the leaves has been little studied and continues to be underutilized, despite being a potential source of bioactive metabolites that could be used in the formulation of food, industrial and pharmaceutical products. In addition, higher bioactive polyphenol content has been reported in strawberry leaves than in the fruit, and strawberry leaves could also be an important source of ellagic acid, a bioactive antioxidant compound, which is limited in the human diet but has great biomedical potential. This literature review aims to evaluate the information available on the characteristics of strawberry crops (*Fragaria x ananassa*) in Costa Rica, targeting towards the comprehensive use of the agro-industrial residues of this plant. The information reviewed confirmed that the commercialization of strawberry cultivation focuses on the fruit, while the leaves and the rest of the plant's vegetative material are discarded periodically, but could be incorporated into new production chains. Such strategies are especially important for small developing countries with agricultural-based economies, to improve the use of agro-industrial waste and provide added value to crops, aiding both the environment and human health.

**Keywords:** circular economy, strawberry, leaf, polyphenols, agroindustry.

## Introducción

Las economías circulares buscan optimizar el uso de los recursos, extender su vida útil y minimizar la generación de residuos. Esto se hace a través de criterios de reutilización, re-fabricación, reciclaje y revalorización de residuos en nuevos procesos productivos (Toop *et al.*, 2017). La recuperación de fitoquímicos bioactivos a partir de desechos agroindustriales ofrece la posibilidad de convertirlos en ingredientes naturales innovadores de alto valor, que pueden ser incorporados en diversas cadenas productivas.

Diversos estudios han demostrado el potencial antioxidante y los beneficios de la fresa (*Fragaria x ananassa*) para la salud humana (Afrin *et al.*, 2016; Basu *et al.*, 2014; Fierascu, *et al.*, 2020; Forbes-Hernandez *et al.*, 2016; Giampieri *et al.*, 2017, 2015; Golovinskaia y Wang, 2021; Miller *et al.*, 2019). Sin embargo, la búsqueda de fitoquímicos bioactivos en la fresa se ha enfocado mayoritariamente en el fruto, mientras que el perfil fitoactivo de sus hojas ha sido poco estudiado, a pesar de que se ha evidenciado que las hojas de las fresas son más ricas en compuestos polifenólicos bioactivos que la pulpa del fruto (Kårlund *et al.*, 2017, 2014; Michalska *et al.*, 2017).

Aunado a esto, en el cultivo tradicional de fresa, la sección vegetativa se descarta de forma periódica, con lo que se desaprovecha materia prima de alto potencial biotecnológico (Barquero *et al.*, 2007; Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura [IICA], 2017; Sato *et al.*, 2019). Por lo tanto, esta revisión bibliográfica se enfoca en describir las características del cultivo de fresa en Costa Rica, con miras al aprovechamiento integral del potencial bioactivo de sus residuos vegetativos.

## Metodología

Para esta revisión exhaustiva de literatura, se utilizaron los motores de búsqueda Google Académico, Pubmed, y Science Direct. Los

términos de búsqueda (en inglés) fueron “fresa”, “*Fragaria*”, “*Fragaria x ananassa*”, “hoja”, “polifenoles”, “extractos”, y “residuos”. Se seleccionaron las publicaciones de los últimos 10 años, y se amplió el período de búsqueda para algunos contenidos específicos relevantes (“descripción botánica”, “cultivo”, “Costa Rica”). Se excluyeron las publicaciones en idiomas distintos al inglés y español, los reportes de otras especies de fresa (excepto algunas menciones relevantes respecto a *Fragaria vesca*), y los documentos de enfoque estrictamente microbiológico, fitopatológico, y genético. Del total de 180 publicaciones científicas o técnicas compiladas, se seleccionaron los 78 documentos consultados en esta revisión.

La literatura fue administrada mediante Mendeley. Para la comparación del contenido de polifenoles en variedades de *Fragaria x ananassa* se consideraron solamente las variedades más relevantes para Costa Rica.

Las estadísticas respecto a la producción mundial de fresa se consultaron en FAOStat. (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2021), en la sección de “cultivos y productos de ganadería”, con los criterios de búsqueda “todos los países”, “producción-cantidad”, “fresa-cultivos primarios”, y “2020”. El porcentaje de producción de los países mencionados en este artículo se calculó respecto al total mundial.

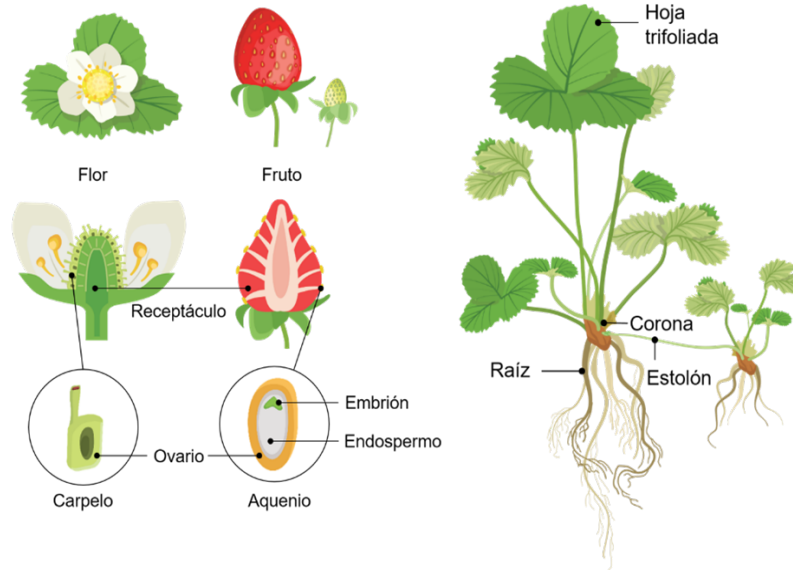
## Resultados y discusión

### Cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*): Descripción botánica

El género *Fragaria* (familia *Rosaceae*) incluye más de 20 especies distribuidas en todo el mundo, que pueden ser diploides, tetraploides, hexaploides y octaploides, a partir de un genoma haploide de 7 cromosomas (Palei *et al.*, 2015; Staudt, 1999, 2009). Las plantas de fresa (Figura 1) se reproducen asexualmente mediante estolones o apomixis, o sexualmente por autogamia o alogamia (Marta *et al.*, 2004).

Las especies diploides suelen ser autoincompatibles, mientras que las poliploides pueden ser autofecundables (Marta *et al.*, 2004). Algunos autores separan las variedades de fresa en tipos de día-largo, día-corto, o día-neutral.

Sin embargo, esta clasificación no debe ser considerada estándar, ya que no solamente el fotoperíodo influye en el crecimiento vegetativo y la floración, sino que también intervienen otros factores tales como humedad y temperatura (Massetani *et al.*, 2011; Warner *et al.*, 2021).



**Figura 1**

### Principales estructuras anatómicas de la planta de fresa

Nota. Adaptado de la descripción de Liu *et al.* (2020) y Demchak (2013).

**Hojas y tallo.** La fresa moderna cultivada (*Fragaria x ananassa* Duschene,  $2n = 8x = 56$ ) es una planta perenne, herbácea, con tallos rastreros, y hojas trifoliadas (Liston *et al.*, 2014; Staudt, 1999). Las plantas de fresa presentan un tallo comprimido (corona) a partir del cual crecen (en forma de roseta) las hojas, estolones, inflorescencias y nuevas coronas (Demchak, 2013). La propagación vegetativa ocurre a partir de los estolones (Demchak, 2013).

**Flor.** Las especies de la familia *Rosaceae* usualmente presentan flores con cinco sépalos, cinco pétalos y numerosos estambres (Liu *et al.*, 2020). En la fresa, los pétalos rodean de 20 a 35 estambres, cada uno conformados por un filamento y una antera (Demchak, 2013). La flor es una inflorescencia, compuesta por un tallo engrosado llamado receptáculo (Liu *et al.*, 2020), el cual está cubierto por hasta

500 pistilos, en cuyas bases se encuentran los ovarios (Demchak, 2013). La inflorescencia crece en el extremo apical de la corona de hojas, y la floración es inducida principalmente al aumentar la temperatura (entre 15 °C y 30 °C), con influencia del fotoperíodo (Massetani *et al.*, 2011). Las inflorescencias de *F. x ananassa* son cimas, con flores hermafroditas, de simetría radial con cinco o seis pétalos, usualmente de color blanco con posibles tonos color rosa (Liston *et al.*, 2014; Staudt, 1999).

**Fruto.** La parte carnosa del fruto de fresa surge del engrosamiento del receptáculo floral, mientras que los múltiples carpelos se convierten en achenios secos, que contienen el embrión (Liu *et al.*, 2020). Por ello, no es una verdadera baya, sino un agregado accesorio, donde las semillas (de aproximadamente 1 mm de largo) son el verdadero fruto de la

especie (Fait *et al.*, 2008; Demchak, 2013). Cada receptáculo diferenciado contiene varios centenares de semillas (aquenios), embebidas en su epidermis (Fait *et al.*, 2008). El desarrollo es principalmente inducido por la liberación de auxinas desde los aquenios fecundados (Fait *et al.*, 2008).

**Sistema Radicular.** Las plantas de fresa tienen un sistema radicular fibroso y relativamente superficial (entre 15 a 30 cm de profundidad), por lo cual requieren ser protegidas de la desecación (Demchak, 2013).

**Variedades.** Existen numerosas variedades de fresa que se cultivan a nivel mundial. En Costa Rica (Tabla 1), la más cultivada reportada para el 2007 fue Oso Grande (Barquero *et al.*, 2007). Sin embargo, según el Programa de Investigación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria-Fresa de Costa Rica [PITTA-Fresa] (2022), las variedades más cultivadas

actualmente en el país son San Andreas (53%), Festival (26%), Albión (23%), Oso Grande (3%), Cabrillo (2%), Portola (1%), Rubillen (1%) y Real (1%). También se ha reportado en Costa Rica el cultivo de Camino Real, Elyana (IICA, 2017), Tioga, Douglas, Chandler, Brighton, y Selva (Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica [MAG], 2014). Se refleja la gran variabilidad y flexibilidad de opciones del cultivo.

**Cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*): Aspectos agronómicos**

La fresa moderna comercial (*F. x ananassa*) está adaptada para el cultivo en múltiples condiciones agrícolas y climáticas, aunque principalmente se produce en clima templado y subtropical, con temperaturas idóneas de 22 °C a 25 °C durante el día, y de 7 °C a 13 °C durante la noche (Saroj *et al.*, 2021). La floración se inhibe a temperaturas superiores a los 26 °C; por lo tanto, en las regiones tropicales, el cultivo de la fresa sólo es viable comercialmente en zonas altas más frías (Warner *et al.*, 2021).

Contenido de azúcares y polifenoles reportados en el fruto de variedades de fresa (*Fragaria x ananassa*) de interés comercial para Costa Rica

| Parámetro <sup>a</sup>            | Tioga | Douglas | Chandler    | Selva | Festival     | Albión        | San Andreas | Oso Grande  | Elyana | Camino Real | Referencia                                                                                                              |
|-----------------------------------|-------|---------|-------------|-------|--------------|---------------|-------------|-------------|--------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Azúcares</b>                   |       |         |             |       |              |               |             |             |        |             | (Kumari <i>et al.</i> , 2020; Nunes <i>et al.</i> , 2021; Urün <i>et al.</i> , 2021)                                    |
| Totales (%)                       | 5,07  | 5,8     | 6,62        | 6,50  | 7,25 ± 0,33  | -             | -           | -           | 6,70   | 7,65 ± 0,07 |                                                                                                                         |
| Totales (mg g <sup>-1</sup> )     | -     | -       | 4,25 ± 1,96 |       | 11,03 ± 1,97 | 16,15 - 42,42 | 40,56       | 47,2 - 58,8 | -      | -           | (Cordenunsi <i>et al.</i> , 2003; Paparozzi <i>et al.</i> , 2018; Ruan <i>et al.</i> , 2013)b                           |
| Glucosa (g 100 g <sup>-1</sup> )  | -     | -       | -           | 1,55  | 1,6          | 1,99 - 15,51  | 2,7 - 14,42 | 1,7         | 1,84   | -           | (Oguz <i>et al.</i> , 2017; Ornelas-Paz <i>et al.</i> , 2013; Pinheiro <i>et al.</i> , 2021; Ruan <i>et al.</i> , 2013) |
| Fructosa (g 100 g <sup>-1</sup> ) | -     | -       | -           | 1,95  | 1,6          | 2,18 - 19,18  | 3,7 - 17,43 | 1,3         | 2,15   | -           | (Oguz <i>et al.</i> , 2017; Ornelas-Paz <i>et al.</i> , 2013; Pinheiro <i>et al.</i> , 2021; Ruan <i>et al.</i> , 2013) |

| Parámetro                                                  | Tioga | Douglas | Chandler       | Selva          | Festival       | Albi3n         | San<br>Andreas | Oso<br>Grande | Elyana | Camino<br>Real | Referencia                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|------------------------------------------------------------|-------|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|--------|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Sacarosa (g<br/>100 g<sup>-1</sup>)</b>                 | -     | -       | -              | -              | -              | 1,89 –<br>7,73 | 8,71           | -             | 1,02   | -              | (Oguz <i>et al.</i> ,<br>2017; Ruan <i>et al.</i> , 2013)                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Polifenoles<br/>totales (mg<br/>EAG g<sup>-1</sup>)</b> | -     | 0,77    | 1,67 ±<br>0,15 | 0,92<br>– 1,36 | 0,91 –<br>3,11 | 1,10 –<br>2,88 | 2,57 –<br>3,15 | 3,24          | -      | 1,40 ±<br>0,00 | (Kobi <i>et al.</i> ,<br>2018; Lema-<br>Rumińska<br><i>et al.</i> , 2021;<br>Nunes <i>et al.</i> , 2021;<br>Ornelas-Paz<br><i>et al.</i> , 2013;<br>Paparozzi<br><i>et al.</i> , 2018;<br>Pinheiro <i>et al.</i> ,<br>2021; Singh <i>et al.</i> , 2011; Urün<br><i>et al.</i> , 2021) |
| <b>Flavonoides</b>                                         |       |         |                |                |                |                |                |               |        |                |                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| (mg EC g <sup>-1</sup> )                                   | -     | -       | 0,58 ±<br>0,07 | -              | 0,36 ±<br>0,07 | 0,44 ±<br>0,07 | -              | -             | -      | -              | (Paparozzi<br><i>et al.</i> , 2018;<br>Pinheiro <i>et al.</i> ,<br>2021)                                                                                                                                                                                                              |
| (mg EQ g <sup>-1</sup> )                                   | -     | -       | -              | -              | 2,32           | 1,56           | 2,09           | 1,64          | -      | -              |                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Antocianinas</b>                                        |       |         |                |                |                |                |                |               |        |                |                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| (mg ECG g <sup>-1</sup> )                                  | -     | 0,57    | 1,04           | 0,65           | 0,99           | 0,16 –<br>0,62 | -              | -             | -      | 0,22 ±<br>0,00 | (Carvalho<br><i>et al.</i> , 2021;<br>Chaves <i>et al.</i> , 2017;<br>Kobi <i>et al.</i> ,<br>2018; Lema-<br>Rumińska<br><i>et al.</i> , 2021;<br>Nunes <i>et al.</i> ,<br>2021; Nunes<br><i>et al.</i> , 2005;<br>Singh <i>et al.</i> ,<br>2011)                                     |
| (mg EPG g <sup>-1</sup> )                                  | -     | -       | -              | -              | -              | 0,21 ±<br>0,01 | 0,18 ±<br>0,02 | 1,65          | -      | 0,16 ±<br>0,04 |                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| (mg g <sup>-1</sup> )                                      | -     | -       | -              | -              | -              | -              | 0,52           | -             | -      | -              |                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

Nota. a. EAG: equivalentes de ácido gálico; EC: equivalentes de catequina; EQ: equivalentes de quercetina; ECG: equivalentes de cianidina-3-glucósido; EPG: equivalentes de pelargonidina-3-glucósido. b. Se evaluaron plantas en tres condiciones ambientales (invierno, primavera y verano), se muestra sólo la mayor concentración obtenida. Elaboración propia.

En Costa Rica, un país tropical (8° 02' – 11° 13' N) con condiciones de menos de 12 horas de luz diaria, la zona más apta para la producción de fruto se encuentra entre los 1300 y 2000 m.s.n.m. con temperaturas entre 10 °C a 20 °C (Barquero *et al.*, 2007). El Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica recomienda el cultivo en suelos livianos, preferiblemente arenosos y con buen drenaje, con pH entre 5,5 y 6,5, así como sembrar en los primeros meses de la época lluviosa (mayo, junio y julio) y cosechar en los primeros meses de la época seca (noviembre y diciembre), con lo cual se pueden reducir problemas fitosanitarios causados por humedad, y se coincide con las fechas de mejor precio en el mercado internacional (Barquero *et al.*, 2007).

La fresa es usualmente cultivada en ambientes controlados, bajo condiciones de iluminación y temperatura reguladas (Warner *et al.*, 2021). En las zonas altas de Costa Rica (Figura 2), principalmente mediante sistemas de “ambiente protegido” de elaboración propia, con coberturas de suelo (eras recubiertas por plástico), de aire (túnel y macrotúnel), y con sistemas de riego por goteo (Barquero *et al.*, 2007).

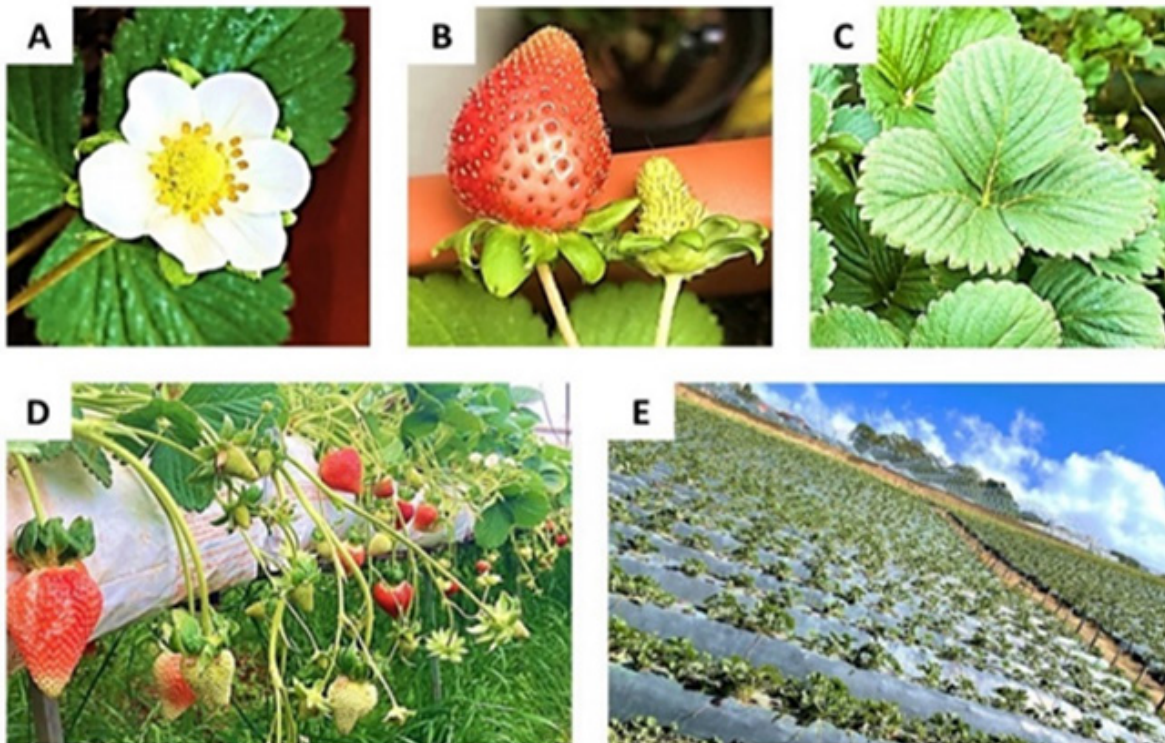
Se recomienda sembrar en eras de 0,70 m de ancho y 0,40 m de alto (0,35 cm entre eras), con dos hileras por era (0,35 m entre hileras, y 0,30 m entre plantas), y no más de 40 m de largo por era (IICA, 2017). También, en sistemas

hidropónicos (Saroj *et al.*, 2021), mediante el uso de sustratos orgánicos e inorgánicos y medios de cultivo especializados, con buenos resultados (Imran *et al.*, 2022).

La propagación tradicional de la fresa comercial (*F. x ananassa*) se realiza mediante multiplicación por estolones. Sin embargo, esta técnica implica alta vulnerabilidad a agentes patológicos, lo cual puede causar pérdidas de hasta el 50% de la producción (Ruíz *et al.*, 2018). Las plantas obtenidas mediante técnicas de cultivo de tejidos *in vitro* son más costosas que las obtenidas por técnicas convencionales (Palei *et al.*, 2015). No obstante, la micropropagación *in vitro* ha permitido la producción masiva de plantas de fresa con alta homogeneidad genética y con características mejoradas, tales como períodos de propagación más cortos, mayor cantidad de flores y de rendimiento de frutos por hectárea, más estolones por plantas,

superior resistencia y tolerancia a factores de estrés biótico y abiótico, y mayor vigor (Ruíz *et al.*, 2018).

Se han reportado múltiples protocolos eficientes para la micropropagación y la regeneración *in vitro* de la fresa a través de organogénesis adventicia o embriogénesis somática, con diversos tipos de explantes tales como hoja, tallo, pedúnculos, estolones, estípulas, tallos rastreros, raíces, anteras, embriones, sépalos, protoplastos, y peciolo (Husain *et al.*, 2011). El explante preferido para la multiplicación ha sido el cultivo de meristemas de ápices de los estolones, en medios con alta concentración de citoquinina y bajos niveles de auxinas, lo cual promueve la brotación axilar (Husain *et al.*, 2011; Palei *et al.*, 2015). Las técnicas *in vitro* también han facilitado variabilidad respecto al contenido de compuestos bioactivos (Palei *et al.*, 2015).



**Figura 2**

*Cultivos de fresa (Fragaria x ananassa cv. Festival) en Llano Grande, Cartago, Costa Rica*

*Nota.* A. Flor. B. Fruto. C. Hoja. D y E. Cultivos en invernadero y en campo, respectivamente. Se ha reportado que las hojas de la variedad Festival tienen mayor contenido de polifenoles totales en comparación con otras variedades. Elaboración propia.

## Cultivo de fresa (*Fragaria x ananassa*): Aspectos económicos

La producción global de fresa se ha triplicado en las últimas dos décadas. Para el 2020, la FAO reportó 12,2 millones de toneladas de fresa cultivada en 79 países, donde la mayor producción se realizó en China (27,3%), seguida por Estados Unidos (8,7%), Egipto (4,9%), México (4,6%), Turquía (4,5%) y España (2,2%) (FAO, 2021). Más del 95% se realiza en el Hemisferio Norte (Kim *et al.*, 2011).

En Costa Rica, el VI Censo Nacional Agropecuario (Instituto Nacional de Estadística y Censos [INEC], 2015) menciona la existencia de 342 fincas dedicadas a este cultivo en Costa Rica para el 2014, con una extensión total de 227,3 hectáreas de área sembrada, ubicadas en las provincias de Cartago (38,6%), Alajuela (21,6%), San José (20,8%), Heredia (16,4%), y Limón (2,6%), de las cuales un 58,8% de las fincas reportaron producción para venta en el mercado local y sólo 0,9% para exportación. Por lo tanto, la mayor parte de la producción de fresa en Costa Rica se destina a los mercados y consumo local.

La fresa es comercialmente disponible en todo el mundo de forma fresca o congelada, y en alimentos procesados tales como mermeladas, néctar, y puré (Prasad *et al.*, 2022). En Costa Rica, el consumo anual de este fruto alcanzó los 3,03 kg por persona en el 2015 (Programa Integral de mercadeo Agropecuario de Costa Rica [PIMA], 2016). De forma similar, en Estados Unidos fue de 4,5 kg por persona en 2014, mientras que en la Unión Europea el consumo anual es de alrededor de 5 kg por persona (Simpson, 2018).

Aunado a lo anterior, las hojas de las frutas tipo baya han sido utilizadas medicinalmente en diversas culturas, también las hojas de varias especies de *Fragaria* (Ferlemi y Lamari, 2016; Villamil-Galindo *et al.*, 2020). Por ejemplo, las

hojas de fresa silvestre de la especie *Fragaria nubicula* se utilizan como antiséptico, laxante, diurético y astringente; para detener la diarrea y la disentería; para tratar el resfriado, la tos y la fiebre; y para aliviar dolor de oído, forúnculos, y úlceras bucales y estomacales (Roshan *et al.*, 2019). Sin embargo, el perfil fitoactivo de las hojas de fresa ha sido menos estudiado que el de fruto, y sigue siendo poco aprovechado, a pesar de constituir una fuente potencial de metabolitos bioactivos que pueden ser utilizados en la formulación de productos para el sector alimenticio, industrial y farmacéutico.

## Importancia de los polifenoles en el cultivo de fresa

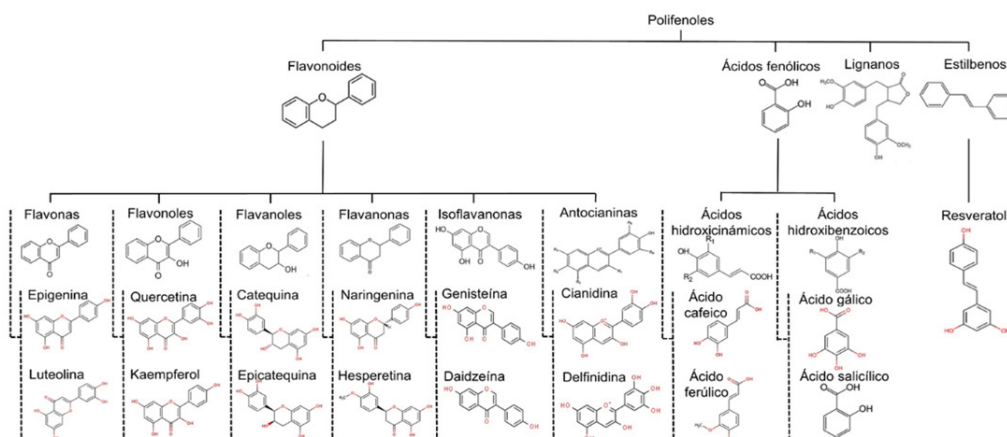
Los polifenoles (Figura 3) constituyen un gran grupo de fitoquímicos que comparten como característica central la presencia de al menos un grupo fenol en su estructura química (Fraga *et al.*, 2019). Estos son los principales pigmentos en frutas, vegetales y cereales. Poseen diferentes funciones en la planta, como la atracción de polinizadores, y la protección de la planta contra la radiación ultravioleta y la contaminación viral y microbiana (Fraga *et al.*, 2019).

El interés actual por los pigmentos polifenólicos se debe a su potencial bioactivo en la prevención o tratamiento de enfermedades crónicas, tales como afecciones cardiovasculares, cáncer, diabetes y obesidad. Además, tienen efectos anti-inflamatorios y anti-neurodegenerativos. Por lo tanto, son compuestos promisorios para el desarrollo de productos de comerciales de consumo humano, con potenciales beneficios biomédicos (Forbes-Hernandez *et al.*, 2016).

El fruto de fresa contiene abundancia de compuestos antioxidantes, principalmente vitamina C (hasta 60 mg 100 g<sup>-1</sup> peso fresco) (El-Hawary *et al.*, 2021) y polifenoles, entre estos, antocianinas (responsables del color

rojo del fruto; primordialmente pelargonidinas y cianidinas), así como; taninos hidrolizables (e.g. elagitaninos) y condensados (e.g. proantocianidinas), flavonoles (e.g. quercetinas, kaempferol, fisetina), flavanoles (e.g. catequinas, procianidinas), y ácidos hidroxycinámicos (e.g.

ácido cumárico, elágico, y ferúlico) (Aaby *et al.*, 2012; da Silva *et al.*, 2008; Fierascu *et al.*, 2020; Van de Velde *et al.*, 2013). Además, luego de las moras y las frambuesas, las fresas representan una de las principales fuentes de ácido elágico en la dieta (da Silva *et al.*, 2008; Michalska *et al.*, 2017).



**Figura 3**

### Principales grupos de compuestos polifenólicos presentes en plantas

Nota. Para cada subgrupo de flavonoides y ácidos fenólicos, se muestran dos ejemplos representativos (línea punteada). Elaboración propia.

El fruto objeto de revisión, está incluido dentro de las 100 fuentes alimenticias más abundantes de polifenoles, y ocupan la posición 89 dentro de los alimentos y bebidas que proveen más de 1 mg de polifenoles totales por 100 g ingeridos (Prasad *et al.*, 2022). La variabilidad y el contenido exacto de compuestos fenólicos en las distintas especies y variedades dependen de muchos factores, tales como las cualidades genéticas, las condiciones de cultivo, la madurez del fruto, el tiempo de almacenamiento y las condiciones ambientales (Aaby *et al.*, 2012; Fierascu *et al.*, 2020).

Al igual que en otras frutas tipo baya, como la mora, la frambuesa y los arándanos, se ha demostrado que las hojas de la fresa son más ricas en compuestos polifenólicos que la pulpa del fruto (El-Hawary *et al.*, 2021; Ferlemi y Lamari, 2016; Kårlund *et al.*, 2014; Michalska *et al.*, 2017; Zhu *et al.*, 2015). Por ejemplo, El-Hawary *et al.* (2021) reportaron  $62,37 \pm 0,1 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de polifenoles totales y  $67,1 \pm 0,4 \mu\text{g}$  equivalentes de rutina  $\text{mg}^{-1}$  de flavonoides

totales en hojas de fresa variedad Festival, en comparación con un contenido de  $20 \pm 0,1 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$  de polifenoles totales y  $9,52 \pm 0,2 \mu\text{g}$  equivalentes de rutina (ER)  $\text{mg}^{-1}$  de flavonoides totales en frutos de la misma variedad. Esto representa aproximadamente tres veces mayor cantidad de polifenoles totales y siete veces mayor cantidad de flavonoides totales en la hoja respecto al fruto. Algunos de los más abundantes reportados en hoja, incluyen kaempferol, quercetina, ácido clorogénico, ácido cafeico y ellagitanninos (El-Hawary *et al.*, 2021). Estos últimos se han reportado en concentraciones hasta nueve veces superiores en hoja ( $82 \text{ mg g}^{-1}$ , peso seco) respecto al fruto de la fresa (Karlinska *et al.*, 2021).

Al igual que con el fruto, es esperable que el contenido polifenólico de las hojas difiera entre cultivares, sistemas de cultivo, y condiciones ambientales; por ejemplo, Villamil-Galindo *et al.* (2021) reportaron un mayor contenido de polifenoles totales en las hojas de la variedad

Festival ( $14,97 \text{ g EAG kg}^{-1}$ ) respecto a las de San Andreas ( $8,93 \text{ g EAG kg}^{-1}$ ), y a las de Camino Real ( $6,14 \text{ g EAG kg}^{-1}$ ). De forma similar, El-Hawary *et al.* (2021) reportaron mayor contenido de polifenoles totales ( $62,37 \pm 0,1 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$ ) en la variedad Festival respecto a la Tamar ( $42,63 \pm 0,2 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$ ), aunque levemente inferior a las Winter Dawn ( $66,58 \pm 0,2 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$ ), Red Merlin ( $72,1 \pm 0,1 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$ ) y Suzana ( $72,63 \pm 0,1 \mu\text{g EAG mg}^{-1}$ ). Sin embargo, Festival presentó mayor contenido de flavonoides totales ( $67,1 \pm 0,4 \mu\text{g ER mg}^{-1}$ ) en hoja respecto a las demás variedades mencionadas (con valores entre  $52,89 \pm 0,1$  y  $65,79 \pm 0,1 \mu\text{g ER mg}^{-1}$ ) (El-Hawary *et al.*, 2021).

### Consideraciones para la revalorización de los residuos vegetativos del cultivo de fresa en Costa Rica

Los residuos agroindustriales pueden ser revalorizados mediante diversas estrategias, entre estas, la transformación para uso como materias primas en otras cadenas productivas, la generación de combustibles y la explotación térmica. Además, algunos se emplean para la alimentación animal o se aprovechan para compostaje que se reincorpora a los cultivos agrícolas (Vargas y Pérez, 2018). Sin embargo, la mayoría de los desechos agroindustriales no son procesados o descartados apropiadamente; muchos son eliminados mediante quema o vertidos en suelos y aguas, lo que causa contaminación ambiental, con efectos nocivos para el ambiente y la salud de los organismos vivos (Vargas y Pérez, 2018).

El cultivo de fresa genera gran cantidad de residuos agroindustriales, ya que solo se emplea el fruto y el resto de la planta (hojas, cálices, tallos, y demás tejido vegetativo) no se utiliza (Villamil-Galindo *et al.*, 2020, 2021). Al ser perenne, la planta produce constantemente nuevos tallos y hojas, por lo tanto, se acumula eventualmente gran cantidad de hojarasca, lo cual favorece el aumento de humedad y

la proliferación de plagas; debido a esto, el material vegetativo viejo se poda de forma periódica, usualmente después de los ciclos de cosecha (Barquero *et al.*, 2007). Además, para renovarlo, las plantas viejas se deben arrancar completamente del suelo, con la raíz, y deben ser retiradas del campo de siembra; todo este material orgánico puede ser utilizado en compostaje, aunque se recomienda su tratamiento con fungicidas-acaricidas para el control de plagas (IICA, 2017). Hasta donde es de nuestro conocimiento, no existe en Costa Rica un método estandarizado para la eliminación de los residuos del cultivo de fresa, más allá de su utilización en compostaje o alimentación animal, lo cual implica la subutilización o pérdida potencial de compuestos bioactivos de alto valor para otras industrias.

Se ha reportado ampliamente la revalorización de los residuos del fruto de fresa no consumido y de los desechos del procesamiento industrial (Cubero-Cardoso *et al.*, 2020; Rodríguez-Gutiérrez *et al.*, 2019; Serrano Moral, 2015; Tumbas *et al.*, 2015; Vázquez-González *et al.*, 2020). Sin embargo, los desechos vegetativos, que pueden representar hasta el 20% de la producción total, son poco aprovechados (Villamil-Galindo *et al.*, 2020, 2021).

Algunos de los efectos reportados para extractos de hoja de fresa con posibles aplicaciones biomédicas incluyen: actividad antioxidante *in vitro* (Cvetković *et al.*, 2017); inhibición de la proliferación contra células humanas de leucemia (HL60) (Skupien *et al.*, 2006), y contra células humanas de carcinoma hepatocelular (Hep-G2); alivio del deterioro cognitivo causado por diabetes (en ratas) (Zhang *et al.*, 2020); efecto hipoglicémico (en ratas) (El-Hawary *et al.*, 2021; Shaheen, 2019); potencial analgésico (en ratas) (Kanodia y Das, 2009) y usos cosméticos (Ziemlewska *et al.*, 2022). Además, se han detectado efectos

antimicrobianos de la hoja de fresa contra *Helicobacter pylori* (Cardoso et al., 2018), *Bacillus subtilis*, *Salmonella choleraesuis* y *Micrococcus liti* (Al-Deen et al., 2013).

## Conclusiones

Considerando el incremento mundial en el cultivo de fresa en las últimas décadas, las condiciones en zonas altas tropicales con climas templados, dosis elevadas de irradiación solar favorables para la producción de polifenoles antioxidantes (Kårlund et al., 2014), así como el perfil fitoactivo subutilizado de sus hojas, los residuos vegetativos del cultivo de fresa representan una fuente relevante y poco aprovechada de materia prima con alto potencial bioactivo. Siguiendo el ejemplo de múltiples experiencias que han revalorizado cultivos tropicales para la generación de alimentos funcionales, nutraceuticos, cosméticos, alimento animal, y biocombustibles (Cádiz-Gurrea et al., 2020).

Por lo tanto, y de especial importancia para países pequeños en desarrollo y con economías de base agrícola, es imperativo implementar mecanismos para mejorar el aprovechamiento de los residuos agroindustriales para darle un mayor valor agregado a los cultivos, con miras hacia una economía circular y en beneficio del ambiente y la salud humana.

## Agradecimientos

Esta revisión fue financiada por la Vicerrectoría de Investigación y Extensión del Instituto Tecnológico de Costa Rica y contó con el apoyo de la estudiante de Ingeniería en Biotecnología, María Fernanda Brenes Zárate.

## Referencias

Aaby, K., Mazur, S., Nes, A., y Skrede, G. (2012). Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during

ripening. *Food Chemistry*, 1 (1), 132, 86–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.037>

Afrin, S., Gasparrini, M., Forbes-Hernandez, T. Y., Reboredo-Rodriguez, P., Mezzetti, B., Varela-López, A., ... Battino, M. (2016). Promising Health Benefits of the Strawberry: A Focus on Clinical Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 4435–4449. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00857>

Al-Deen, A. T., Al-Naqeb, G., y Al-Maqtari, Q. (2013). Investigation of antioxidant and antibacterial effects of *Dodonaea viscosa*, *Fragaria x ananassa* and *Vernonia amygdalina* leaves. *Aden University Journal*, 17 (1), 1–14.

Barquero, J., Meneses, R., Barrantes, L., Ugalde, P., Villalobos, N., y Serrano, D. (2007). *Agrocadena de Fresa*. Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00070.pdf>

Basu, A., Nguyen, A., Betts, N. M., y Lyons, T. J. (2014). Strawberry As a Functional Food: An Evidence-Based Review. *Strawberry As a Functional Food: Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(6), 790–806. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.608174>

Cádiz-Gurrea, M. de la L., Villegas-Aguilar, M. del C., Leyva-Jiménez, F. J., Pimentel-Moral, S., Fernández-Ochoa, A., Alañón, M. E., y Segura-Carretero, A. (2020). Revalorization of bioactive compounds from tropical fruit by-products and industrial applications by means of sustainable approaches. *Food Research International*, 138 (Part B), 109786. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109786>

Cardoso, O., Donato, M. M., Luxo, C., Almeida, N., Liberal, J., Figueirinha, A., y Batista, M. T. (2018). Anti-*Helicobacter pylori* potential of *Agrimonia eupatoria* L. and *Fragaria vesca*. *Journal of Functional Foods*, 44, 299–303. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.03.027>

Carvalho, S. F. de, Correa, A. P. A., Ferreira, L. V., Vizzotto, M., y Antunes, L. E. C. (2021). Production, chemical components, and content of bioactive compounds of strawberry cultivars. *Revista Engenharia Na Agricultura*, 29, 275–285. <https://doi.org/10.13083/reveeng.v29i1.10883>

Chaves, V. C., Calvete, E., y Reginatto, F. H. (2017). Quality properties and antioxidant activity of seven strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 225, 293–298. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.07.013>

Cordenunsi, B. R., Nascimento, J. R. O., y Lajolo, F. M. (2003). Physico-chemical changes related to

quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. *Food Chemistry*, 83 (2), 167–173. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00059-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00059-1)

Cubero-Cardoso, J., Serrano, A., Trujillo-Reyes, A., Villa-Gómez, D. K., Borja, R., y Feroso, F. G. (2020). Valorization Options of Strawberry Extrudate Agro-Waste. A Review. En Novo de Barros, A. y Gouveias, I. (Eds.). *Innovation in the Food Sector Through the Valorization of Food and Agro-Food By-Products*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93997>

Cvetković, D. J., Stanojević, L. P., Stanković, M. Z., Cakić, M. D., Svić, S. R., y Miljković, M. D. (2017). Antioxidant activity of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) leaves. *Separation Science and Technology*, 52 (6), 1039–1051. <https://doi.org/10.1080/01496395.2017.1281305>

da Silva, P. M., Lajolo, F. M., y Genovese, M. I. (2008). Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chemistry*, 107, 1629–1635. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.038>

Demchak, K. (2013). *The Mid-Atlantic Berry Guide for Commercial Growers 2013–2014*. The Pennsylvania State University. University Park, PA, USA. <http://pubs.cas.psu.edu/freepubs/pdfs/AGRS097.pdf>

El-Hawary, S. S., Mohammed, R., El-Din, M. E., Hassan, H. M., Ali, Z. Y., Rateb, M. E., ... El Nagar, El M. B., Othman, E. M., y Abdelmohsen, U. R. (2021). Comparative phytochemical analysis of five Egyptian strawberry cultivars (*Fragaria x ananassa* Duch.) and antidiabetic potential of Festival and Red Merlin cultivars. *RSC Advances*, 11, 16755–16767. <https://doi.org/10.1039/d0ra10748d>

Fait, A., Hanhineva, K., Beleggia, R., Dai, N., Rogachev, I., Nikiforova, V. J., Fernie, A., y Aharoni, A. (2008). Reconfiguration of the achene and receptacle metabolic networks during strawberry fruit development. *Plant Physiology*, 148, 730–750. <https://doi.org/10.1104/pp.108.120691>

Ferlemi, A. V., y Lamari, F. N. (2016). Berry leaves: An alternative source of bioactive natural products of nutritional and medicinal value. *Antioxidants*, 5 (2), 2–10. <https://doi.org/10.3390/antiox5020017>

Fierascu, R. C., Temocico, G., Fierascu, I., Ortan, A., y Babeanu, N. E. (2020). *Fragaria* genus: Chemical composition and biological activities. *Molecules*, 25, 498. <https://doi.org/10.3390/molecules25030498>

Forbes-Hernandez, T. Y., Gasparrini, M., Afrin, S., Bompadre, S., Mezzetti, B., Quiles, J. L., Giampieri, F. y Battino, M. (2016). The Healthy Effects of Strawberry

Polyphenols: Which Strategy behind Antioxidant Capacity?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56 (1), S46–S59. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1051919>

Fraga, C. G., Croft, K. D., Kennedy, D. O., y Tomás-Barberán, F. A. (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food and Function*, 10 (2), 514–528. <https://doi.org/10.1039/c8fo01997e>

Giampieri, F., Forbes-Hernandez, T. Y., Gasparrini, M., Afrin, S., Cianciosi, D., Reboredo-Rodríguez, P., Valera-López, A., Quiles, J. L., Mezzetti, B., y Battino, M. (2017). The healthy effects of strawberry bioactive compounds on molecular pathways related to chronic diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences, Phytochemicals in Medicine and Food*, 1–10. <https://doi.org/10.1111/nyas.13373>

Giampieri, F., Forbes-Hernandez, T. Y., Gasparrini, M., Alvarez-Suarez, J. M., Afrin, S., Bompadre, S., Quiles, J. L., Mezzetti, B., y Battino, M. (2015). Strawberry as a health promoter: An evidence based review. *Food and Function*, 6, 1386–1398. <https://doi.org/10.1039/c5fo00147a>

Golovinskaia, O., y Wang, C. K. (2021). Review of functional and pharmacological activities of berries. *Molecules*, 26, 3904. <https://doi.org/10.3390/molecules26133904>

Husain, A. M., Mercado, J. A., Teixeira, J. A. da S., y Schaart, J. G. (2011). Review of Factors Affecting Organogenesis, Somatic Embryogenesis and Agrobacterium tumefaciens-Mediated Transformation of Strawberry. *Genes, Genomes and Genomics* 5 (1), 1–11. <https://digital.csic.es/handle/10261/57836>

Imran, S. M., Saxena, D., Kazimi, R., y Pratap, S. (2022). Effects of various growing media, as well as jeevamrit, on the growth and production of strawberry: A review. *The Pharma Innovation Journal*, 11 (4), 405–410. <https://www.thepharmajournal.com>

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura [IICA]. (2017). *Manual de buenas prácticas agrícolas y de producción para el cultivo de la fresa*. IICA. <https://repositorio.ica.int/handle/11324/2932>

Instituto Nacional de Estadística y Censos [INEC]. (2015). *VI Censo Nacional Agropecuario: cultivos agrícolas, forestales y ornamentales*. San José, Costa Rica. <http://www.inec.go.cr/sites/default/files/documentos/agropecuario/publicaciones/reagropeccenagro2014-tii-007.pdf>

Kanodia, L. y Das, S. (2009). A comparative study of analgesic property of whole plant and fruit extracts of *Fragaria vesca* in experimental animal models.

*Bangladesh Journal of Pharmacology*, 4 (1), 35–38.  
<https://doi.org/10.3329/bjp.v4i1.1049>

Karlinska, E., Masny, A., Cieslak, M., Macierzynski, J., Pecio, Ł., Stochmal, A., y Kosmala, M. (2021). Ellagitannins in roots, leaves, and fruits of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) vary with developmental stage and cultivar. *Scientia Horticulturae*, 275, 109665. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109665>

Kårlund, A., Hanhineva, K., Lehtonen, M., McDougall, G. J., Stewart, D., y Karjalainen, R. O. (2017). Non-targeted metabolite profiling highlights the potential of strawberry leaves as a resource for specific bioactive compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(7), 2182–2190. <https://doi.org/10.1002/JFSFA.8027>

Kårlund, A., Salminen, J. P., Koskinen, P., Ahern, J. R., Karonen, M., Tiilikkala, K., y Karjalainen, R. O. (2014). Polyphenols in strawberry (*Fragaria × ananassa*) leaves induced by plant activators. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(20), 4592–4600. <https://doi.org/10.1021/jf405589f>

Kim, H., Bassil, N., y Njuguna, W. (2011). *Fragaria*. En Kole, C. (Ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Temperate Fruits*. Springer Berlin Heidelberg. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-16057-8>

Kobi, H. B., Martins, M. C., Silva, P. I., Souza, J. L., Carneiro, J. C. S., Heleno, F. F., Queiroz, M. L., y Costa, N. M. B. (2018). Organic and conventional strawberries: Nutritional quality, antioxidant characteristics and pesticide residues. *Fruits*, 73 (1), 39–47. <https://doi.org/10.17660/th2018/73.1.5>

Kumari, S., Sankhyani, S., y Kumar, A. (2020). Yield and quality characters of different strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) cultivars growing under mid hill conditions of Himachal Pradesh. *The Pharma Innovation Journal*, 9 (6), 425–428. <https://www.thepharmajournal.com>

Lema-Rumińska, J., Kulus, D., Tymoszyk, A., Miler, N., Wozny, A., y Wenda-Piesik, A. (2021). Physiological, biochemical, and biomarker response of cultivated strawberry and wild strawberry in greenhouse gutter cultivation in the autumn–winter season in Poland – preliminary study. *Agronomy*, 11 (8), 1633. <https://doi.org/10.3390/agronomy11081633>

Liston, A., Cronn, R., y Ashman, T. L. (2014). *Fragaria*: A genus with deep historical roots and ripe for evolutionary and ecological insights. *American Journal of Botany*, 101(10), 1686–1699. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400140>

Liu, Z., Ma, H., Jung, S., Main, D., y Guo, L. (2020). Developmental Mechanisms of Fleshy Fruit Diversity in Rosaceae. *Annual Review of Plant Biology*, 71, 547–573. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-111119-021700>

Marta, A. E., Camadro, E. L., Díaz-Ricci, J. C., y Castagnaro, A. P. (2004). Breeding barriers between the cultivated strawberry, *Fragaria × ananassa*, and related wild germplasm. *Euphytica*, 136(2), 139–150. <https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000030665.95757.76>

Massetani, F., Gangatharan, R., y Neri, D. (2011). Plant Architecture of Strawberry in Relation to Abiotic Stress, Nutrient Application and Type of Propagation System. En Husaini, A.M., y Mercado, J.A. (Eds.), *Genes, Genomes and Genomics*, 12–23. Global Science Books, UK.

Michalska, A., Carlen, C., Heritier, J., y Andlauer, W. (2017). Profiles of bioactive compounds in fruits and leaves of strawberry cultivars. *Journal of Berry Research*, 7 (2), 71–84. <https://doi.org/10.3233/JBR-160146>

Miller, K., Feucht, W., y Schmid, M. (2019). Bioactive compounds of strawberry and blueberry and their potential health effects based on human intervention studies: A brief overview. *Nutrients*, 11 (7), 1–12. <https://doi.org/10.3390/nut11071510>

Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica [MAG]. (2014). *Fragaria Spp. Rosaceae*. MAG. [http://www.mag.go.cr/biblioteca\\_virtual\\_ciencia/téc\\_fresa.pdf](http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/téc_fresa.pdf)

Nunes, G., Teixeira, F., Schwarz, K., Camargo, C. K., De Resende, J. T. V., Dos Santos, E. F., Franco, B. C., y Novello, D. (2021). Influence of genetic variability on the quality of strawberry cultivars: Sensorial, physical-chemical and nutritional characterization. *Acta Scientiarum - Agronomy*, 43, e46862. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v43i1.46862>

Nunes, M. C. N., Brecht, J. K., Morais, A. M. M. B., y Sargent, S. A. (2005). Possible influences of water loss and polyphenol oxidase activity on anthocyanin content and discoloration in fresh ripe strawberry (cv. Oso Grande) during storage at 1°C. *Journal of Food Science*, 70 (1), S79–S84. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09069.x>

Oguz, H. I., Zorlugenc, F. K., Zorlugenc, B., y Kafkas, N. E. (2017). A study on the variance of phytochemical properties in the fruit of some strawberry cultivars (*Fragaria ananassa* L.) grown under environmental conditions in Adana region. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(6), 3963–3969. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20173286393>

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO]. (2021). FAOStat. FAO. <https://www.fao.org>

Ornelas-Paz, J. D. J., Yahia, E. M., Ramírez-Bustamante, N., Pérez-Martínez, J. D., Escalante-Minakata, M. D. P., Ibarra-Junquera, V., Acosta-Muñoz, C., Guerrero-Prieto, V., y Ochoa-Reyes, E. (2013). Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch. Cv. Albion) at six stages of ripening. *Food Chemistry*, 138 (1), 372–381. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.006>

Palei, S., Das, A. K., y Rout, G. R. (2015). *In vitro* studies of strawberry – an important fruit crop: a review. *Journal of Plant Science and Research*, 31 (2), 115–131. <https://www.proquest.com/scholarly-journals/vitro-studies-strawberry-important-fruit-crop/docview/178781691/se-2:accountid=27651>

Paparozzi, E. T., Meyer, G. E., Schlegel, V., Blankenship, E. E., Adams, S. A., Conley, M. E., Loseke, B. y Read, P. E. (2018). Strawberry cultivars vary in productivity, sugars and phytonutrient content when grown in a greenhouse during the winter. *Scientia Horticulturae*, 227, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2017.07.048>

Pinheiro, D. F., de Resende, J. T. V., Constantino, L. V., Hata, F. T., Hata, N. N. Y., & Lustosa, S. B. C. (2021). Physical, biochemical, and sensory properties of strawberries grown in high-altitude tropical climate. *Ciência e Agrotecnologia*, 45, e008221. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202145008221>

Prasad, R., Lisiecka, J., y Raj, K. (2022). Strawberry – More than a Popular Summer Fruit : A Mini-Review. *Advances in Nutrition and Food Science*, 2022 (2), 1–5. <https://doi.org/10.37722/ANAFS.2022201>

Programa de Investigación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria-Fresa [PITTA-Fresa]. (2022). (PITTA-Fresa). Comunicación Personal. Costa Rica.

Programa Integral de Mercado Agropecuario [PIMA]. (2016). *Análisis del consumo de frutas, hortalizas, pescado y mariscos en los hogares costarricenses*. PIMA. Costa Rica. <http://www.pima.go.cr>

Rodríguez-Gutiérrez, G., Cubero Cardoso, J., Rubio-Senent, F., Serrano, A., Borja, R., Fernández-Bolaños, J., y Feroso, F. G. (2019). Thermally-treated strawberry extrudate: A rich source of antioxidant phenols and sugars. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 51, 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.05.017>

Roshan, R., Ahmed, S., y Mohtasheem ul Hassan, M. (2019). *Fragaria nubicola* (Rosaceae): A review of medicinal uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8 (4), 3390–3393. <https://www.phytojournal.com/archives/2019/vol8issue4/PartBC/8-4-513-799.pdf>

Ruan, J., Lee, Y. H., Hong, S. J., y Yeoung, Y. R. (2013). Sugar and organic acid contents of day-neutral and ever-bearing strawberry cultivars in high-elevation for summer and autumn fruit production in Korea. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 54 (3), 214–222. <https://doi.org/10.1007/s13580-013-0186-8>

Ruiz Anchondo, T., Adriano Martínez, J., Carrillo Castillo, T., Parra Quezada, R. A., Ojeda Barrios, D. L., y Hernández Rodríguez, A. (2018). Establecimiento *in vitro* de dos cultivares liberados de frutillas: fresa y frambuesa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9 (4), 799–812. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i4.1397>

Saroj, N. L., Singh, S., y Yadav, S. (2021). Strawberry : A wonder crop suitable for Hydroponics. *Journal of Horticulture*, 08 (2), 1–3. <https://doi.org/10.35248/2376-0354.21.8.279>

Sato, T., Ikeya, Y., Adachi, S. ichi, Yagasaki, K., Nihei, K. ichi, y Itoh, N. (2019). Extraction of strawberry leaves with supercritical carbon dioxide and entrainers: Antioxidant capacity, total phenolic content, and inhibitory effect on uric acid production of the extract. *Food and Bioproducts Processing*, 117, 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.07.003>

Serrano-Moral, A. (2015). *Tratamiento de residuos y subproductos agroindustriales mediante co-digestión anaerobia*. [Tesis de maestría]. Universidad de Córdoba, Colombia. <https://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/12558>

Shaheen, E. M. S. (2019). Protective effect of *Fragaria* induced diabetes in rats *ananassa* against streptozotocin-induced diabetes in rats. *The Egyptian Journal of Experimental Biology (Zoology)*, 15 (1), 69–75. <https://doi.org/10.5455/egysebz.20190415100613>

Simpson, D. (2018). The Economic Importance of Strawberry Crops. En Hytönen, T., Graham, J., y Harrison R. (Eds.), *The Genomes of Rosaceous Berries and Their Wild Relatives*, 1–7. Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-76020-9\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-76020-9_1)

Singh, A., Singh, B. K., Deka, B. C., Sanwal, S. K., Patel, R. K., y Verma, M. R. (2011). The genetic variability, inheritance and inter-relationships of

ascorbic acid,  $\beta$ -carotene, phenol and anthocyanin content in strawberry (*Fragaria*  $\times$  *ananassa* Duch.). *Scientia Horticulturae*, 129 (1), 86–90. <https://doi.org/10.1016/j.SCIENTA.2011.03.011>

Skupien, K., Oszmianski, J., Kostrzewa-Nowak, D., y Tarasiuk, J. (2006). *In vitro* antileukaemic activity of extracts from berry plant leaves against sensitive and multidrug resistant HL60 cells. *Cancer Letters*, 236 (2), 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.05.018>

Staudt, G. (2009). Strawberry biogeography, genetics and systematics. *Acta Horticulturae*, 842, 71–84. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.842.1>

Staudt, G. (1999). *Systematics and Geographic Distribution of the American Strawberry Species: Taxonomic Studies in the Genus Fragaria (Rosaceae: Potentilleae)* (81). University of California Press.

Toop, T. A., Ward, S., Oldfield, T., Hull, M., Kirby, M. E., y Theodorou, M. K. (2017). AgroCycle – Developing a circular economy in agriculture. *Energy Procedia*, 123, 76–80. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.07.269>

Tumbas, S. V., Gironés-Vilaplana, A., Djilas, S., Mena, P., Cetković, G., Moreno, D. A., Canadanović-Brunet, J., Vulić, J., Stajčić, S., y Vinčić, M. (2015). Chemical composition and potential bioactivity of strawberry pomace. *RSC Advances*, 5(7), 5397–5405. <https://doi.org/10.1039/c4ra14296a>

Urün, I., Attar, S. H., Sönmez, D. A., Gündesli, M. A., Ercişli, S., Kafkas, N. E., Bandić, L. M., y Duralija, B. (2021). Comparison of polyphenol, sugar, organic acid, volatile compounds, and antioxidant capacity of commercially grown strawberry cultivars in Turkey. *Plants*, 10, 1654. <https://doi.org/10.3390/plants10081654>

Van de Velde, F., Tarola, A. M., Güemes, D., y Pirovani, M. E. (2013). Bioactive compounds and antioxidant capacity of camarosa and selva strawberries (*Fragaria*  $\times$  *ananassa* Duch.). *Foods*, 2 (2), 120–131. <https://doi.org/10.3390/foods2020120>

Vargas, C. Y. A. y Pérez, P. L. I. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 14 (1), 59–72. <https://doi.org/10.18359/rfcb.3108>

Vázquez-González, M., Fernández-Prior, Á., Bermúdez, O. A., Rodríguez-Juan, E. M., Pérez-Rubio, A. G., Fernández-Bolaños, J., y Rodríguez-Gutiérrez, G. (2020). Utilization of strawberry and raspberry waste for the extraction of bioactive compounds by deep eutectic solvents. *LWT - Food Science and Technology*, 130, 109645. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109645>

Villamil-Galindo, E., Van, de V. F. y Piagentini, A. M. (2020). Extracts from strawberry by-products rich in phenolic compounds reduce the activity of apple polyphenol oxidase. *LWT - Food Science and Technology*, 133, 110097. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110097>

Villamil-Galindo, E., Van, de V. F. y Piagentini, A. M. (2021). Strawberry agro-industrial by-products as a source of bioactive compounds: effect of cultivar on the phenolic profile and the antioxidant capacity. *Bioresources and Bioprocessing*, 8 (61). <https://doi.org/10.1186/s40643-021-00416-z>

Warner, R., Wu, B. Sen, MacPherson, S., y Lefsrud, M. (2021). A Review of Strawberry Photobiology and Fruit Flavonoids in Controlled Environments. *Frontiers in Plant Science*, 12, 611893. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.611893>

Zhang, L., Ma, Q., y Zhou, Y. (2020). Strawberry leaf extract treatment alleviates cognitive impairment by activating Nrf2/HO-1 signaling in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 12, 201. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00201>

Zhu, Q., Nakagawa, T., Kishikawa, A., Ohnuki, K., y Shimizu, K. (2015). *In vitro* bioactivities and phytochemical profile of various parts of the strawberry (*Fragaria*  $\times$  *ananassa* var. Amaou). *Journal of Functional Foods*, 13, 38–49. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.026>

Ziemlewska, A., Nizioł-Lukaszewska, Z., Zagórska-Dziok, M., Bujak, T., Wójcik, M., y Sowa, I. (2022). Evaluation of cosmetic and dermatological properties of kombucha-fermented berry leaf extracts considered to be by-products. *Molecules*, 27 (7), 2345. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/molecules27072345>

# Precipitación salina de un extracto crudo con actividad celulolítica producido por *Aspergillus niger* UC33

## Salt precipitation of a crude extract with cellulolytic activity produced by *Aspergillus niger* UC33

Dayana Morales Borrell<sup>1</sup> 

Linnet Baryolo González<sup>2</sup> 

Néstor Mora González<sup>3</sup> 

Luis Beltrán Ramos Sánchez<sup>4</sup> 

Amaury Pérez Sánchez<sup>5</sup> 

<sup>1</sup>Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Camagüey, Departamento de Investigación y Desarrollo, Cuba.

✉ [dayana.morales@cigb.edu.cu](mailto:dayana.morales@cigb.edu.cu)

<sup>2</sup>LyCE Análisis de Procesos, Área de asesoría y consultoría, Zapopan, Jalisco, México ✉ [lb@lyce.com.mx](mailto:lb@lyce.com.mx)

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Región del Bío Bío, Chile ✉ [nmora@udec.cl](mailto:nmora@udec.cl)

<sup>4</sup>Facultad de Ciencias Aplicadas, Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz”, Cuba ✉ [luis.ramos@reduc.edu.cu](mailto:luis.ramos@reduc.edu.cu)

<sup>5</sup>Facultad de Ciencias Aplicadas, Universidad de Camagüey “Ignacio Agramonte Loynaz”, Cuba ✉ [amaury.perez84@gmail.com](mailto:amaury.perez84@gmail.com)

Recibido: 10/06/2022 Aceptado: 20/06/2022

**Resumen** La purificación de enzimas celulasas constituye un paso crítico para su producción debido a que a menudo resulta ser muy costoso. El objetivo de este estudio fue evaluar la precipitación salina de celulasas producidas por *Aspergillus niger* UC33 en fermentación en estado sólido, para incrementar el rendimiento y pureza de la enzima con el menor costo posible. Se empleó el programa Design-Expert 11.1.2 para el diseño experimental y la optimización de las condiciones experimentales. El sulfato de amonio se utilizó para la precipitación entre 60 y 90 % de saturación, se emplearon entre 1 y 3 h de precipitación y las temperaturas utilizadas fueron 4 y 25 °C. Las condiciones óptimas encontradas para maximizar el rendimiento y la pureza fueron 68,97 % de saturación con sulfato de amonio, tiempo de precipitación de 1,28 h y temperatura de 25 °C. En estas condiciones los valores de rendimiento, pureza y costo, fueron: 74,81 %, 1,26 y USD \$ 0,2609, respectivamente. El peso molecular de la enzima fue 38,47 kDa y la actividad celulolítica fue de 31,854 UI.

**Palabras clave:** celulasas, cromatografía de intercambio iónico, diseño factorial, optimización, purificación de enzimas

**Abstract** The purification of cellulase enzymes is a critical step for their production because it is often very expensive. The objective of this study was to evaluate the saline precipitation of cellulases produced by *Aspergillus niger* UC33 in solid-state fermentation, to increase the yield and purity of the enzyme at the lowest possible cost. The Design-Expert 11.1.2 program was used for the experimental design and the optimization of the experimental conditions. Ammonium sulfate between 60 and 90 % saturation was used for precipitation, among 1 and 3 h of precipitation time were employed and the temperatures applied were 4 and 25 °C. The optimal conditions found to maximize yield and purity were 68.97% saturation with ammonium sulfate, precipitation time of 1.28 h and temperature of 25 °C. Under these conditions, the yield, purity and cost values were: 74.81%, 1.26 and USD \$ 0.2609, respectively. The molecular weight of the enzyme was 38.47 kDa and the cellulolytic activity was 31.854 IU.

**Keywords:** cellulases, ion exchange chromatography, factorial design, optimization, enzyme purification.

## Introducción

Las enzimas son moléculas biológicas que son producidas por todos los seres vivos, generalmente se denominan “biocatalizadores”. Actualmente, las industrias basadas en enzimas adquieren mayor importancia que las industrias basadas en reactivos químicos, debido a la seguridad del proceso, el bajo costo de refinación, elevados rendimientos, control de proceso eficiente y fundamentalmente, por ser amigables con el medio ambiente (Ejaz *et al.*, 2021).

Las celulasas son enzimas industriales ampliamente usadas, las cuales se encuentran disponibles comercialmente desde hace más de 30 años (Ejaz *et al.*, 2021; Han y He, 2010; Lee *et al.*, 2016; Pathak *et al.*, 2014; Raju y Bawa, 2006; Sathya y Khan, 2014; Singhanian *et al.*, 2010). La celulasa es un complejo enzimático compuesto por tres enzimas: i) endoglucanasa, (EG) o 1,4- $\beta$ -D-glucano-4-glucanohidrolasa; ii) exoglucanasas, incluyen 1,4- $\beta$ -D-glucano-glucanohidrolasa (también conocida como celodextrinasa) y la 1,4- $\beta$ -D-glucano-celobiohidrolasa (celobiohidrolasa, CBH); iii)  $\beta$ -glucosidasa (BGL), o  $\beta$ -glucosidaglucohidrolasa (Hasunuma *et al.*, 2013). Estas, hidrolizan los ligamentos  $\beta$ -1,4-glucosídicos de la celulosa para generar glucosa, celobiosa y celo-oligosacáridos como productos primarios (Lodha *et al.*, 2020).

El proceso completo de bioconversión de la celulosa en glucosa ocurre en dos etapas, por lo que la clasificación de las celulasas está basada en la etapa de despolimerización del sustrato que estas atacan (Siqueira *et al.*, 2020). Así, las exoglucanasas y endoglucanasas son responsables de la primera etapa, la cual conduce a la reducción del grado de polimerización de la celulosa en la etapa de licuefacción, libera celobiosa; la segunda etapa es realizada por la  $\beta$ -glucosidasa que escinde la celobiosa en glucosa. La glucosa generada mediante esta hidrólisis puede ser fermentada posteriormente para producir biocombustibles (Ejaz *et al.*, 2021).

Varios microorganismos pueden producir las celulasas, entre los cuales se incluyen bacterias y hongos, mediante el consumo de una gran variedad de sustratos. La habilidad para secretar grandes cantidades de proteína extracelular es característica de ciertos hongos, y algunas cepas son más adecuadas para la producción de mayores niveles de celulasas extracelulares (Doi y Kosugi, 2004). De esta manera, a escala industrial la mayoría de las celulasas son producidas a partir de hongos (Siquiera *et al.*, 2020).

Mientras que varios hongos pueden metabolizar la celulosa como fuente de energía, solo algunas cepas son capaces de secretar un complejo de enzimas celulasa, lo cual tiene una aplicación práctica en la hidrólisis enzimática de esta molécula biológica. Además de *Trichoderma*, otros hongos tales como *Humicola*, *Penicillium* y *Aspergillus*, tienen la habilidad de rendir elevados niveles de celulasas extracelulares (Sukumaran *et al.*, 2005). En dependencia del microorganismo, la enzima producida tiene una estructura diferente y mecanismo de enlace con el sustrato (Juturu y Wu, 2014; Rabinovich *et al.*, 2002).

Los sustratos procedentes de residuos lignocelulósicos de las industrias pueden resultar factibles y amigables con el medio ambiente para el cultivo de microorganismos productores de celulasas, especialmente hongos filamentosos, tales como *Aspergillus niger* UC33. Entre los diferentes residuos industriales de la industria azucarera, la miel final es de naturaleza principalmente celulósica y los microorganismos presentes allí tienen la capacidad de degradar la celulosa en glucosa para su crecimiento y desarrollo normal (Islam y Roy, 2018).

La demanda de carbohidrasas tales como amilasas, hemicelulasas y celulasas crecerá en los próximos años, ya que forman parte de los procesos de producción de biocombustibles. Este incremento de la demanda del mercado de enzimas se debe principalmente al crecimiento

del bioetanol, el cual está ascendiendo más rápido que otras industrias de aplicación de enzimas (Behera y Ray, 2016; Singhanian *et al.*, 2010). Esta aplicación en la cadena de producción de biocombustible incrementa la demanda e investigación en las celulasas, particularmente considerando que el mercado de los biocombustibles se espera que crezca en los próximos años, reemplazando el 30 % de los combustibles de petróleo para el 2025 (Behera y Ray, 2016).

Aunque la producción comercial de celulasa se lleva a cabo por medio de la fermentación sumergida fúngica, la fermentación en estado sólido (FES) también puede aplicarse para la producción de este complejo enzimático. Debido a que la FES se realiza en ausencia de agua libre, se observa que es más adecuada para los hongos filamentosos (Hölker *et al.*, 2004), pues presenta un consumo de energía más bajo, mayor productividad, menor demanda de esterilización y menor costo de procesamiento *downstream* (Manan y Webb, 2017). Los hongos generalmente coexisten simbióticamente en sustratos sólidos en la naturaleza, por lo que su co-cultivo en FES es beneficioso en la producción de celulasa (Lodha *et al.*, 2020).

Los bioprocesos aplicados para la producción de celulasas han sido exhaustivamente estudiados y optimizados, pero también resulta necesario enfocarse en los procesos *downstream*, ya que estos incrementan la estabilidad de la enzima para aplicaciones posteriores (Siqueira *et al.*, 2020). Varios autores han investigado tanto la producción (Abdullah *et al.*, 2021; Afzal *et al.*, 2019; Ahmed *et al.*, 2015; Cerda *et al.*, 2017; Faheina *et al.*, 2015; Iqbal *et al.*, 2011; Kumar *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2019; Lodha *et al.*, 2020; Malik y Javed, 2021; Mrudula y Murugammal, 2011; Nehad *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2020; Sajith *et al.*, 2014; Sulyman *et al.*, 2020; Zahra *et al.*, 2020; Zapata *et al.*, 2018), como purificación de celulasas (Afzal *et al.*, 2019; Ahmed *et al.*, 2015; Amritkar *et al.*, 2004; Bakare *et al.*, 2005; Farinas *et al.*, 2011; Hamdan y Jasim, 2018; Iqbal *et al.*, 2011; Islam y Roy, 2018; Kumar

*et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2019; Malik y Javed, 2021; Nehad *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2020; Sajith *et al.*, 2014; Sulyman *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2010).

La selección de las etapas de purificación en el procesamiento *downstream* después de la fermentación depende fuertemente en el mercado potencial, el costo de procesamiento, la calidad final requerida y la tecnología disponible. La necesidad de la purificación efectiva de proteínas desde el punto de vista económico a escala industrial ha traído consigo la aparición y evolución de un número de técnicas que suministran protocolos rápidos, eficientes y económicos en menores etapas de procesamiento (Amritkar *et al.*, 2004).

Actualmente, la principal limitación que presenta el uso de las celulasas en la industria es el elevado costo de producción de esta enzima (Sulyman *et al.*, 2020). En este sentido, la purificación de moléculas biológicas de este tipo es uno de los obstáculos más grandes para su producción y comercialización (Das *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2013). El procesamiento *downstream* para la producción de enzimas/proteínas puras puede constituir generalmente un porcentaje importante en el costo de producción total, especialmente si los requerimientos de pureza final son rigurosos, el cual puede llegar hasta un 80 % del costo total del proceso (Oliveira *et al.*, 2020). Por consiguiente, la producción de celulasas con bajos costos es un método interesante para agregar valor al biocombustible y al mercado de enzima (Siqueira *et al.*, 2020).

De esta manera, el objetivo de este estudio fue evaluar la precipitación salina de celulasas producidas por *Aspergillus niger* UC33 en FES, para incrementar el rendimiento y pureza de la enzima al menor costo posible.

## Materiales y Métodos

### Microorganismo y propagación del inóculo

Se utilizó la cepa UC33 de *Aspergillus niger* conservada a  $4 \pm 1$  °C en medio papa-dextrosa-

agar (PDA), procedente de la colección del grupo científico de Desarrollo de Bioprocesos de la Universidad de Camagüey, Cuba.

La propagación del inóculo se realizó mediante el método propuesto por (Leon-Revelo *et al.*, 2017). El microorganismo se cultivó en placas Petri con 10 mL de medio de cultivo sólido. El medio se compuso de 10 g/L extracto de levadura (BioCen, Cuba), 10 g/L peptona (BioCen, Cuba), 20 g/L dextrosa (Applichem, Alemania) y 15 g/L agar técnico (BioCen, Cuba). Se inoculó siguiendo la técnica de estriado. Después de 72 horas de incubación a 30 °C, se cosecharon los conidios, los que fueron arrastrados con agua destilada estéril. La concentración de conidios se determinó por conteo en la cámara de Neubauer. Esta suspensión de conidios se inoculó en una concentración de  $1 \times 10^7$  conidios/mL en un medio líquido. El medio líquido para la producción de micelio se compuso de 10 g/L extracto de levadura (BioCen, Cuba), 10 g/L peptona (BioCen, Cuba) y 43g/L miel final de caña (Central azucarero, Cuba). Se incubó a 30 °C y 150 rpm de agitación durante 30 horas en un agitador orbital de mesa (BioBase Sk-300D, China).

### Material lignocelulósico inductor y su pretratamiento

El método para el pretratamiento se realizó según lo describe Leon-Revelo *et al.* (2017). Se utilizó un medio compuesto de afrecho cervecero proporcionado por la cervecería Tínima y la cáscara de arroz procedente de una fábrica de pienso local, ambas localizadas en la provincia de Camagüey. A la cáscara de arroz se le hizo un pretratamiento con ácido sulfúrico (Applichem, Alemania) al 1 % durante 2 h, a temperatura ambiente. Sin embargo, al afrecho cervecero no se le hizo pretratamiento debido a que este constituye un residuo de la fabricación de cerveza que recibe pretratamientos térmicos y enzimáticos durante el proceso de maceración de la cebada, lo que hace factible el ataque de las enzimas celulolíticas. Las materias primas se secaron a 70 °C durante 24 h y se guardaron en bolsas plásticas hasta su posterior uso.

### Fermentación en estado sólido (FES)

La fermentación se llevó a cabo con el método establecido por Leon-Revelo *et al.* (2017). Se fermentaron 5 g de medio húmedo en erlenmeyers de 250 mL. Se utilizó como material lignocelulósico la mezcla de cáscara de arroz y afrecho cervecero previamente tratados, con una disolución de aditivos (bajo solicitud de patente) con relación sólido-líquido de 1:6. La humedad de la masa total húmeda (MTH) fue de 57,67 %. El pH inicial del medio sólido fue de 4,5. Se incubó a 30 °C durante 30 horas en cultivo estático. El muestreo se realizó cada 6 horas en condiciones asépticas.

### Extracción del crudo enzimático

El procedimiento para la extracción del crudo enzimático se realizó de acuerdo con lo descrito por Leon-Revelo *et al.* (2017), sin ninguna modificación. Para ello fue necesario suspender el material fermentado en agua destilada en una relación de 1:9 y agitarlo a 200 rpm por 1 h a temperatura ambiente en el agitador orbital de mesa (BioBase Sk-300D, China). Seguidamente, el material suspendido y la biomasa fúngica se separaron por centrifugación (10 000 rpm durante 15 min). El sobrenadante filtrado se utilizó como fuente para desarrollar el presente estudio.

### Diseño experimental

El software Design-Expert 11.1.2 se utilizó para la realización del diseño experimental mediante la metodología de superficie de respuesta (MSR). Se seleccionó un diseño optimo-I, que tuvo un total de 36 ejecuciones incluida una réplica, y dividido en dos bloques. Las variables independientes fueron la concentración de sulfato de amonio desde 60 a 90 % (-1;1), el tiempo de precipitación de 1 a 3 h, (-1;1) y la temperatura de forma categórica, 4 y 25 °C. Las variables de respuesta fueron: el rendimiento (%), la pureza y el costo de la etapa (USD \$).

La pureza (fold purification, en inglés) se determinó mediante la relación entre la

actividad específica al concluir la precipitación y la actividad específica del crudo enzimático. Además, Design-Expert 11.1.2 se utilizó para el análisis de varianza de las respuestas (ANOVA, por sus siglas en inglés), para el análisis de regresión, la evaluación de bondad de ajuste, para la determinación del  $R^2$ , el  $R^2$  ajustado y el  $R^2$  predicho.

Asimismo, se obtuvieron las ecuaciones para predecir el comportamiento de las respuestas en función de los factores experimentales o variables independientes. Igualmente, se utilizó la función de optimización numérica para encontrar las condiciones óptimas que permiten logar un máximo de rendimiento y pureza al menor costo posible.

### Precipitación salina

Los experimentos se realizaron de acuerdo con el diseño propuesto y fueron divididos en dos etapas principales. En una primera etapa se llevó a cabo la precipitación salina con sulfato de amonio. Cada corrida experimental se realizó con un volumen total de 10 mL del crudo enzimático, previamente conservado a  $-70^{\circ}\text{C}$ . La cantidad de sulfato de amonio a añadir, para lograr las concentraciones necesarias en cada caso (60, 75 y 90 %), se calculó mediante el uso de la herramienta en línea Ammonium Sulfate Calculator (EnCor Biotechnology Inc., 2022). El sulfato de amonio fue adicionado en pequeñas cantidades, gradualmente, y se agitó hasta lograr que se disolviera totalmente. Una vez formados los conglomerados proteicos se colectó el precipitado producido mediante la centrifugación a 7000 g por 30 min en una centrífuga refrigerada (Eppendorf, 5430R, Germany). Se separó el sobrenadante del precipitado por decantación y este último se resuspendió en 1 mL de tampón citrato 50 mM, pH 4,8.

En la segunda etapa se procedió con las determinaciones de actividad enzimática y cuantificación de proteínas, a partir de las cuales se calculan los parámetros de rendimiento, pureza y costo que permiten evaluar el proceso.

### Actividad celulasa, concentración de proteínas, pureza y rendimiento

Para la determinación de la actividad celulasa, se utilizó un ensayo indirecto en el que los productos de la reacción fueron detectados espectrofotométricamente tras su conversión en derivados coloreados. La extensión de la hidrólisis enzimática de celulosa en glucosa (azúcar reductor) se valoró mediante el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (Chaplin, 1994). La solución de DNS se preparó utilizando 0,5 g del reactivo (Applichem, Alemania), 15 g de tartrato doble de sodio y potasio (Applichem, Alemania), 0,8 g de hidróxido de sodio (Merck, Alemania) y agua destilada hasta completar 50 mL. Se conservó a  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . La solución sustrato se preparó empleando 0,5 g de carboximetilcelulosa (Merck, Alemania) y 50 mL de tampón fosfato 50 mM a pH 7,0. La misma se conservó en tubos Corning de 15 mL (Merck, Alemania) a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Para desarrollar la hidrólisis enzimática se añadieron 100  $\mu\text{L}$  de solución sustrato y 100  $\mu\text{L}$  de celulasa diluida convenientemente en tubos Eppendorf de 1,5 mL (Merck, Alemania). Se dejó reaccionar durante 10 min a  $30^{\circ}\text{C}$  e inmediatamente después se adicionaron 100  $\mu\text{L}$  de reactivo DNS. Los tubos se taparon y se agitaron en un equipo Vortex (IKA, Alemania), se incubaron en Baño María por 5 min a una temperatura de 95 a  $100^{\circ}\text{C}$ . Seguidamente la reacción se detuvo colocando los tubos en un baño de hielo. Se añadió 1 mL de agua destilada y se tomaron 200  $\mu\text{L}$  de la mezcla final para depositar en una microplaca y leer la absorbancia a 540 nm (Fluorescence microplate reader, Eppendorf, AG).

Para la curva de calibración de azúcares reductores totales (ART) se utiliza una gama de diluciones desde 0 hasta 2,5 mg/mL de glucosa (Applichem, Alemania) y buffer citrato de sodio 1 M (Merck, Alemania) como solución stop. Las muestras de los precipitados se hicieron reaccionar con la solución sustrato para determinar la actividad CMCasa y solución papel de filtro (PF) de igual concentración (10 g/L), para medir la actividad PFasa. En el

crudo se cuantificaron los ART y para ello no fue necesario utilizar la solución sustrato. Se efectuaron diluciones de 1/10 y 1/100 del crudo y de los precipitados, respectivamente.

Para calcular la actividad celulasa (CMCasa y PFasa), se utilizó la siguiente ecuación:

$$A = \left[ \frac{\left( \frac{CMC-ART}{M_{glc}} \right) \cdot FC}{t} \right] \cdot FD \quad \text{Ecu. 1}$$

Dónde:

A: es la actividad enzimática en UI/mL,

(CMC-ART): diferencia de concentración entre los ART que resultan de la actividad de la enzima frente al sustrato CMC con los ART presentes en el crudo, M<sub>glc</sub>: masa molar de la glucosa (181 g/mol),

FC: factor de conversión de unidades (FC = 1 000),

t: tiempo que demora en transcurrir la reacción (60 min) y,

FD: factor de dilución (FD = 13).

Del mismo modo, la actividad PFasa se determinó por la ecuación 1 con la variación del sustrato CMC por PF.

La actividad enzimática total presente en el volumen utilizado para la

precipitación se calculó mediante la ecuación 2.

$$At = A \cdot Vp \quad \text{Ecu. 2}$$

Dónde:

At: actividad enzimática total en UI,

A: actividad enzimática expresada en UI/mL (derivada de la ecuación 1) y,

Vp: Volumen de precipitación (Vp = 10 mL).

La concentración de proteínas se determinó mediante el método de Bradford (Bradford, 1976) y la actividad específica dividiendo la actividad total entre la concentración de proteínas totales. La pureza se determinó dividiendo la actividad enzimática

específica del precipitado entre la actividad enzimática específica del volumen de crudo utilizado en la precipitación. El rendimiento se calculó dividiendo la actividad enzimática total del precipitado entre la actividad enzimática total del volumen de crudo utilizado en la precipitación, multiplicado por 100.

### *Determinación del costo de la etapa de precipitación*

El costo de la etapa de precipitación con sulfato de amonio se basó en la ecuación 3.

$$C_{PS} = C_{(NH_4)_2SO_4} + C_E \quad \text{Ecu. 3}$$

Dónde:

C<sub>ps</sub>: costo de la precipitación,

C<sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></sub>: costo del sulfato de amonio y,

C<sub>E</sub>: costo de la energía consumida, considerando el costo de la agitación mecánica (CAM), de la refrigeración (C<sub>R</sub>) y de la centrifugación (C<sub>Cf</sub>),

$$C_E = C_{AM} + C_R + C_{Cf}.$$

En cuanto a los costos, para el caso del sulfato de amonio se empleó del catálogo de Applichem (ITW Reagents Division, 2022) y se calculó el de la energía consumida teniendo en cuenta los equipos utilizados y el tiempo de uso de los mismos. Se tomó como base de cálculo que 1 kWh cuesta 0,33 CUP, de 1-100 kWh. La unidad monetaria del costo fue convertida de CUP a USD según la tasa vigente en la actualidad (25 CUP = 1 USD). Este costo se determinó para cada corrida del experimento y se evaluó de igual forma que las demás variables respuesta del diseño.

### *Caracterización electroforética de la enzima de interés*

Mediante la revisión de la literatura se observó que las celulasas obtenidas por *Aspergillus niger* sp. y otros hongos, presentan generalmente un punto isoelectrico inferior a 6,0 (Marín, 2007). Basado en este dato se seleccionó un intercambiador aniónico para fraccionar la muestra mediante cromatografía de intercambio iónico.

La muestra se desalinizó en una columna PD-10 (Promega) con Shephadex G-25 y luego se eluyó con tampón Tris-HCl 20 mM, pH 7,0. Posteriormente, se aplicó a una columna HiTrap FF (Promega) de un volumen total de 1 mL empacada con el intercambiador aniónico DEAE-Sefarosa. La elución se realizó mediante un gradiente escalonado de concentración de NaCl en tampón Tris-HCl. Las fracciones se colectaron con 0,15, 0,20 y 0,30 M de NaCl. A las fracciones eluidas se les cuantificó la concentración de proteínas y se les determinó la actividad endoglucanasa como se describió anteriormente.

La electroforesis desnaturalizante de proteínas en gel de acrilamida-bisacrilamida se realizó mediante el método de Laemmli (1970). Para la misma se empleó un gel de 12 % de acrilamida y la corrida se efectuó a una intensidad constante de 35 mA. Como patrón de peso molecular se empleó el marcador de amplio rango de la firma Bio-Rad. Una vez concluida la electroforesis, la presencia de las bandas de

proteínas en el gel se reveló mediante la tinción con plata, empleando el método desarrollado por Heukeshoven y Dernick (1985). El peso molecular de las bandas de interés se calculó mediante el patrón electroforético, se grafica el logaritmo de base 10 del peso molecular de las bandas del marcador versus el Rf (relación de la distancia de migración de las bandas de proteínas con respecto al frente de corrida).

## Resultados y discusión

### *Influencia de la concentración de sulfato de amonio, el tiempo de precipitación y la temperatura, en la precipitación de celulasas producidas por Aspergillus niger UC33 en FES*

En este estudio, las variables y los niveles seleccionados se fijaron teniendo en cuenta la influencia de estas en la etapa de precipitación salina de celulasas y en el estado del arte de otros estudios similares. De esta forma, el diseño experimental y los resultados de cada respuesta se relacionaron en la Tabla 1.

**Tabla 1**

*Diseño experimental con los correspondientes valores observados para el estudio de la influencia de la concentración de sulfato de amonio, el tiempo de precipitación y la temperatura, en el rendimiento, la pureza y el costo de la etapa de precipitación de celulasas*

| Num. de corrida | Conc. de Sulfato de Amonio (%) | Tiempo de precipitación (h) | Temperatura (°C) | Respuesta 1: Rendimiento | Respuesta 2: Pureza | Respuesta 3: Costo |
|-----------------|--------------------------------|-----------------------------|------------------|--------------------------|---------------------|--------------------|
| 1               | 90                             | 1                           | 25               | 77,42                    | 1,12                | 0,36               |
| 2               | 90                             | 2                           | 4                | 53,06                    | 0,94                | 0,34               |
| 3               | 75                             | 1                           | 4                | 60,61                    | 1,91                | 0,27               |
| 4               | 90                             | 2                           | 25               | 88,5                     | 1,3                 | 0,36               |
| 5               | 90                             | 1                           | 4                | 67,59                    | 1,17                | 0,34               |
| 6               | 60                             | 1                           | 4                | 46,54                    | 1,53                | 0,21               |
| 7               | 75                             | 2                           | 4                | 72,01                    | 1,38                | 0,27               |
| 8               | 60                             | 3                           | 25               | 29,35                    | 0,94                | 0,22               |
| 9               | 75                             | 2                           | 25               | 73,33                    | 1,46                | 0,29               |
| 10              | 75                             | 3                           | 4                | 55,1                     | 0,74                | 0,27               |
| 11              | 60                             | 3                           | 4                | 57,78                    | 0,8                 | 0,21               |
| 12              | 90                             | 3                           | 25               | 82,62                    | 0,95                | 0,36               |
| 13              | 60                             | 2                           | 4                | 45,27                    | 0,81                | 0,21               |
| 14              | 60                             | 1                           | 25               | 47,27                    | 1,55                | 0,22               |

| Num. de corrida | Conc. de Sulfato de Amonio (%) | Tiempo de precipitación. (h) | Temperatura (°C) | Respuesta 1: Rendimiento | Respuesta 2: Pureza | Respuesta 3: Costo |
|-----------------|--------------------------------|------------------------------|------------------|--------------------------|---------------------|--------------------|
| 15              | 90                             | 3                            | 4                | 61,31                    | 0,84                | 0,34               |
| 16              | 75                             | 3                            | 25               | 68,93                    | 1,17                | 0,29               |
| 17              | 60                             | 2                            | 25               | 36,08                    | 1,29                | 0,22               |
| 18              | 75                             | 1                            | 25               | 69,8                     | 1,18                | 0,28               |
| Réplica         |                                |                              |                  |                          |                     |                    |
| 19              | 90                             | 1                            | 25               | 59,27                    | 0,83                | 0,36               |
| 20              | 90                             | 2                            | 4                | 68,56                    | 0,97                | 0,34               |
| 21              | 75                             | 1                            | 4                | 70,84                    | 1,11                | 0,27               |
| 22              | 90                             | 2                            | 25               | 75,38                    | 0,92                | 0,36               |
| 23              | 90                             | 1                            | 4                | 70,51                    | 1,11                | 0,34               |
| 24              | 60                             | 1                            | 4                | 35,68                    | 1,39                | 0,21               |
| 25              | 75                             | 2                            | 4                | 68,93                    | 1,18                | 0,27               |
| 26              | 60                             | 3                            | 25               | 54,63                    | 1,11                | 0,22               |
| 27              | 75                             | 2                            | 25               | 77,82                    | 1,25                | 0,29               |
| 28              | 75                             | 3                            | 4                | 74,84                    | 1,19                | 0,27               |
| 29              | 60                             | 3                            | 4                | 32,69                    | 0,95                | 0,21               |
| 30              | 90                             | 3                            | 25               | 63,76                    | 0,73                | 0,36               |
| 31              | 60                             | 2                            | 4                | 36,48                    | 1,26                | 0,21               |
| 32              | 60                             | 1                            | 25               | 49,37                    | 1,19                | 0,22               |
| 33              | 90                             | 3                            | 4                | 63,03                    | 0,86                | 0,34               |
| 34              | 75                             | 3                            | 25               | 72,32                    | 1,08                | 0,29               |
| 35              | 60                             | 2                            | 25               | 52,49                    | 1,15                | 0,22               |
| 36              | 75                             | 1                            | 25               | 73,02                    | 1,21                | 0,28               |

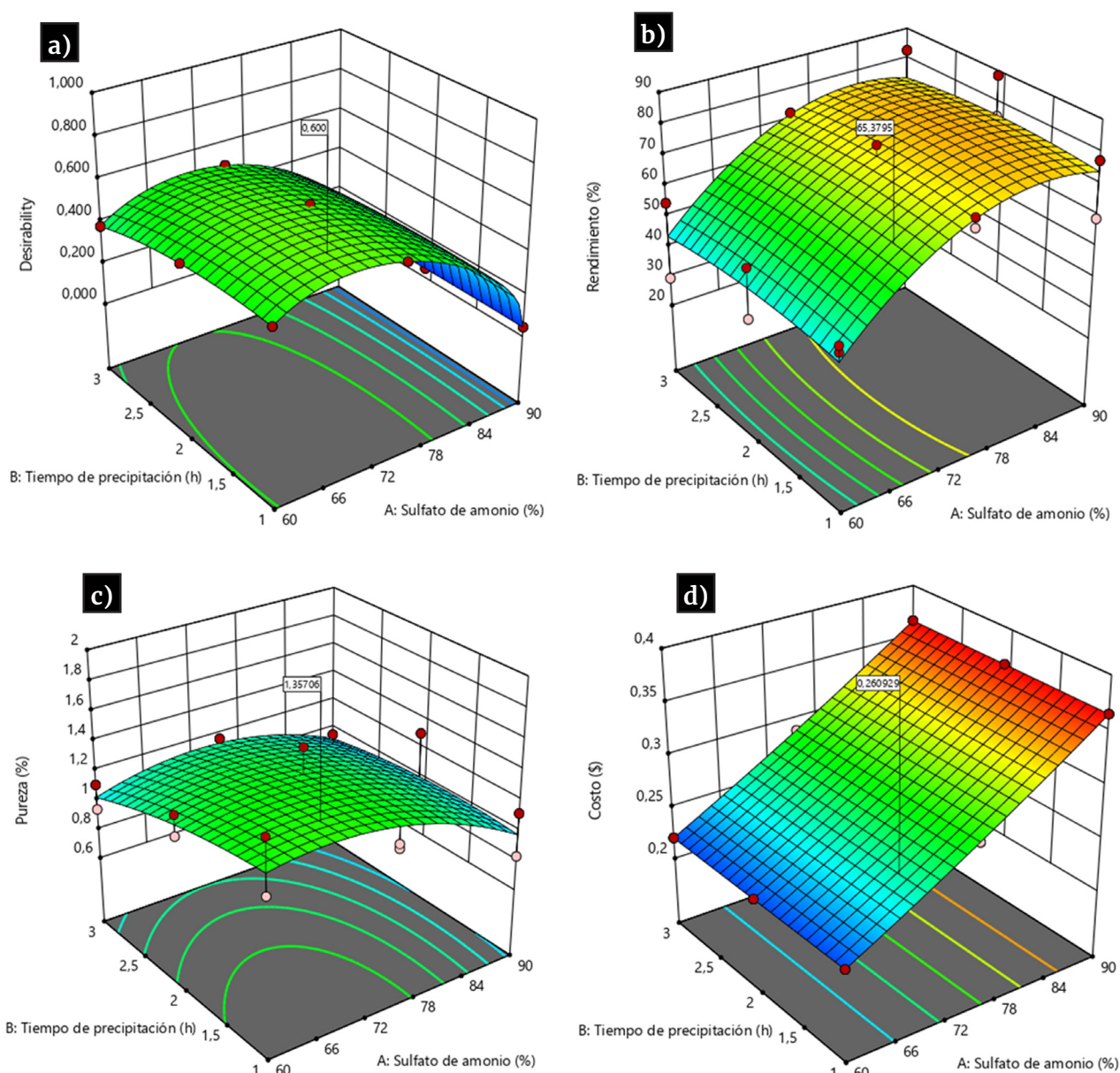
Nota. Elaboración propia.

Mediante el análisis de superficies de respuestas estimadas (Figura 1), se encontró que a una temperatura de 25 °C se obtienen los mejores resultados de las variables de respuesta. Así, para un valor de concentración de sulfato de amonio, a medida que aumenta el tiempo de precipitación aumenta también el rendimiento, se alcanzan valores máximos entre 1 y 2 h de precipitación. Se evidenció también que, para un mismo tiempo, el rendimiento varía con la concentración de sulfato de amonio, encontrándose los mayores rendimientos al utilizar entre 75 y 90 % de saturación con sulfato de amonio.

Por otra parte, la pureza de las celulasas fue mayor cuando se precipitó durante 1 a 2 h, utilizando la misma concentración de sulfato de amonio (Figura 1c). Además, para un mismo

tiempo de precipitación, se observó que la pureza de las celulasas aumentó a medida que disminuyó la concentración de sulfato de amonio. Este comportamiento puede deberse a que, al incrementar la concentración de sulfato de amonio, no solo aumenta la precipitación de la enzima de interés, sino que también este aumento condiciona la precipitación de la totalidad de las enzimas presentes en el crudo, y disminuye así la pureza de la enzima de interés.

Con relación al costo de la precipitación, según las condiciones empleadas, se encontró que el costo de la precipitación aumenta fundamentalmente con la concentración de sulfato de amonio. También, utilizando una misma concentración de sulfato de amonio el costo incrementó a medidas que aumentó el tiempo de precipitación (Figura 1d).



**Figura 1**

### *Influencia de la concentración de sulfato de amonio y el tiempo de precipitación*

*Nota.* a): deseabilidad (nivel en que la combinación de variables independientes satisface las metas que se definieron para las variables de respuestas). Las banderas indican las respuestas estimadas para las condiciones óptimas predichas. b): el rendimiento, c): la pureza y d): el costo de la etapa de precipitación de celulasas producidas por *Aspergillus niger* UC33 en FES. Elaboración propia.

Según el análisis de varianza los datos de la respuesta rendimiento, se ajustaron mejor a un modelo cuadrático. A, C y A<sup>2</sup> fueron términos significativos del modelo ( $P < 0,05$ ). Así, los coeficientes  $R^2$ ,  $R^2$  ajustado, y  $R^2$  predicho fueron iguales a: 0,7401, 0,6602 y 0,4631,

respectivamente (Tabla 2). La ecuación del modelo obtenido en términos de factores actuales puede ser utilizada para hacer predicciones de la variable de respuesta rendimiento, para distintos niveles de cada factor:

$$\text{Rendimiento (\%)} = -341,2022 + 9,8864A + 8,1054B + 0,0014AB - 0,0593A^2 - 2,1475B^2 \quad \text{Ecu. 4}$$

**Tabla 2**

*Análisis de varianza (ANOVA) para el modelo Cuadrático. Respuesta 1: Rendimiento*

| Fuente                         | Sum. de los cuadrados | df | Media de los cuadrados | Valor- F | Valor-P  |               |
|--------------------------------|-----------------------|----|------------------------|----------|----------|---------------|
| Bloque                         | 1,38                  | 1  | 1,38                   |          |          |               |
| Modelo                         | 5841,73               | 8  | 730,22                 | 9,26     | < 0.0001 | Significativo |
| A-Sufato de amonio             | 3936,77               | 1  | 3936,77                | 49,91    | < 0.0001 |               |
| B-Tiempo de precipitación      | 5,57                  | 1  | 5,57                   | 0,0706   | 0,7926   |               |
| C-Temperatura de precipitación | 339,36                | 1  | 339,36                 | 4,30     | 0,0481   |               |
| AB                             | 0,0072                | 1  | 0,0072                 | 0,0001   | 0,9924   |               |
| AC                             | 96,56                 | 1  | 96,56                  | 1,22     | 0,2787   |               |
| BC                             | 0,2563                | 1  | 0,2563                 | 0,0032   | 0,9550   |               |
| A <sup>2</sup>                 | 1426,31               | 1  | 1426,31                | 18,08    | 0,0002   |               |
| B <sup>2</sup>                 | 36,89                 | 1  | 36,89                  | 0,4677   | 0,5001   |               |
| Residual                       | 2050,96               | 26 | 78,88                  |          |          |               |
| Total de corridas              | 7894,07               | 35 |                        |          |          |               |
| R <sup>2</sup>                 | 0,7401                |    |                        |          |          |               |
| R <sup>2</sup> ajustado        | 0,6602                |    |                        |          |          |               |
| R <sup>2</sup> predicho        | 0,4631                |    |                        |          |          |               |

Nota. Elaboración propia.

Los datos de pureza se ajustaron mejor a un modelo cuadrático. A, B y A<sup>2</sup> fueron términos significativos del modelo ( $P < 0,05$ ). Los coeficientes R<sup>2</sup>, R<sup>2</sup> ajustado, y R<sup>2</sup> predicho fueron iguales a: 0,5903, 0,4643 y 0,2561,

respectivamente (Tabla 3). La ecuación del modelo obtenido en términos de factores actuales para hacer predicciones de la respuesta pureza para distintos niveles de cada factor, fue:

$$\text{Pureza (\%)} = -1,7022 + 0,0953A - 0,2139B - 0,0042AB - 0,007A^2 - 0,0483B^2 \quad \text{Ecu. 5}$$

**Tabla 3**

*Análisis de varianza (ANOVA) para el modelo cuadrático. Respuesta 2: Pureza*

| Fuente                         | Sum. de los cuadrados | df | Media de los cuadrados | Valor- F | Valor-P |               |
|--------------------------------|-----------------------|----|------------------------|----------|---------|---------------|
| Bloque                         | 0,0702                | 1  | 0,0702                 |          |         |               |
| Modelo                         | 1,30                  | 8  | 0,1625                 | 4,68     | 0,0012  | Significativo |
| A-Sufato de amonio             | 0,2072                | 1  | 0,2072                 | 5,97     | 0,0216  |               |
| B-Tiempo de precipitación      | 0,6468                | 1  | 0,6468                 | 18,64    | 0,0002  |               |
| C-Temperatura de precipitación | 0,0023                | 1  | 0,0023                 | 0,0673   | 0,7973  |               |
| AB                             | 0,0638                | 1  | 0,0638                 | 1,84     | 0,1869  |               |
| AC                             | 0,0117                | 1  | 0,0117                 | 0,3373   | 0,5664  |               |
| BC                             | 0,1262                | 1  | 0,1262                 | 3,64     | 0,0677  |               |
| A <sup>2</sup>                 | 0,2233                | 1  | 0,2233                 | 6,44     | 0,0175  |               |
| B <sup>2</sup>                 | 0,0187                | 1  | 0,0187                 | 0,5386   | 0,4696  |               |
| Residual                       | 0,9021                | 26 | 0,0347                 |          |         |               |
| Total de corridas              | 2,27                  | 35 |                        |          |         |               |

| Fuente                  | Sum. de los cuadrados | df | Media de los cuadrados | Valor- F | Valor-P |
|-------------------------|-----------------------|----|------------------------|----------|---------|
| R <sup>2</sup>          | 0,5903                |    |                        |          |         |
| R <sup>2</sup> ajustado | 0,4643                |    |                        |          |         |
| R <sup>2</sup> predicho | 0,2561                |    |                        |          |         |

Nota. Elaboración propia.

Los datos de costo se ajustaron mejor a un modelo cuadrático al igual que las otras respuestas. A, B, C, AC, BC y A<sup>2</sup> fueron términos significativos del modelo ( $P < 0,05$ ). Los coeficientes R<sup>2</sup>, R<sup>2</sup> ajustado, y R<sup>2</sup> predicho fueron iguales a:

1,000, 1,000 y 1,000, respectivamente (Tabla 4). También, la ecuación del modelo obtenido en términos de factores actuales, puede ser utilizada para hacer predicciones de la respuesta pureza, para distintos niveles de cada factor:

Ecu. 6

$$\text{Costo (USD \$)} = 0,014788 + 0,002489A + 1,74963^{-17} B - 2,18576^{-20} AB + 0,000016A^2 - 3,88354^{-18}B^2$$

**Tabla 4**

*Análisis de varianza (ANOVA) para el modelo cuadrático. Respuesta 3: Costo*

| Fuente                         | Sum. de los cuadrados | df | Media de los cuadrados | Valor- F  | Valor-P  |               |
|--------------------------------|-----------------------|----|------------------------|-----------|----------|---------------|
| Bloque                         | 0,0000                | 1  | 0,0000                 |           |          |               |
| Modelo                         | 0,1198                | 8  | 0,0150                 | 6,645E+05 | < 0,0001 | Significativo |
| A-Sufato de amonio             | 0,1170                | 1  | 0,1170                 | 5,192E+06 | < 0,0001 |               |
| B-Tiempo de precipitación      | 3,109E-07             | 1  | 3,109E-07              | 13,80     | 0,0010   |               |
| C-Temperatura de precipitación | 0,0025                | 1  | 0,0025                 | 1,112E+05 | < 0,0001 |               |
| AB                             | 0,0000                | 1  | 0,0000                 | 0,0000    | 1,0000   |               |
| AC                             | 0,0002                | 1  | 0,0002                 | 7800,00   | < 0,0001 |               |
| BC                             | 3,109E-07             | 1  | 3,109E-07              | 13,80     | 0,0010   |               |
| A <sup>2</sup>                 | 0,0001                | 1  | 0,0001                 | 4396,75   | < 0,0001 |               |
| B <sup>2</sup>                 | 0,0000                | 1  | 0,0000                 | 0,0000    | 1,0000   |               |
| Residual                       | 5,858E-07             | 26 | 2,253E-08              |           |          |               |
| Total de corridas              | 0,1198                | 35 |                        |           |          |               |
| R <sup>2</sup>                 | 1,0000                |    |                        |           |          |               |
| R <sup>2</sup> ajustado        | 1,0000                |    |                        |           |          |               |
| R <sup>2</sup> predicho        | 1,0000                |    |                        |           |          |               |

Nota. Elaboración propia.

### Condiciones óptimas para la precipitación de celulasas con sulfato de amonio

Mediante la función de optimización del Design-Expert 11.1.2, se encontraron las condiciones óptimas para maximizar el rendimiento y la pureza, lo que minimiza el costo y mantiene las variables independientes en el rango utilizado. Las condiciones óptimas estimadas fueron: 68,99 % de sulfato de amonio, tiempo de precipitación

igual a 1,28 h y temperatura de 25 °C (Tabla 5). En estas condiciones los valores predichos para las respuestas rendimiento, pureza y costo, fueron: 74,81 %, 1,26 y USD \$ 0,2609, respectivamente (Tabla 6). Las condiciones óptimas predichas se validaron experimentalmente mediante tres réplicas, los valores promedios se encontraron dentro del intervalo de predicción con 95 % de confianza, lo que demuestra la fiabilidad de la metodología empleada (Tabla 6).

**Tabla 5**

*Condiciones óptimas estimadas para maximizar el rendimiento y la pureza, al mínimo costo posible, en la etapa de precipitación de celulasas con sulfato de amonio.*

| Factores                               | Condiciones óptimas |
|----------------------------------------|---------------------|
| Concentración de sulfato de amonio (%) | 68,97               |
| Tiempo de precipitación (h)            | 1,28                |
| Temperatura de precipitación (°C)      | 25                  |

Nota. Elaboración propia.

**Tabla 6**

*Valores predichos y observados experimentalmente de las variables respuestas en las condiciones óptimas estimadas.*

| Respuestas      | Valores predichos | n (Núm. réplicas) | Desv. Estand. | IP bajo 95 % | Valores observados | IP alto 95 % |
|-----------------|-------------------|-------------------|---------------|--------------|--------------------|--------------|
| Rendimiento (%) | 67,04             | 3                 | 8,88162       | 52,6306      | 74,81              | 78,07        |
| Pureza (%)      | 1,354             | 3                 | 0,186274      | 1,09028      | 1,26               | 1,62382      |
| Costo (USD \$)  | 0,265             | 3                 | 0,000150      | 0,26062      | 0,2609             | 0,261058     |

Nota. Elaboración propia.

En las condiciones óptimas encontradas, el máximo rendimiento que se obtuvo fue de 74,81 %, el cual es superior a los resultados obtenidos por otros autores (Ijaz *et al.*, 2014), quienes lograron un 18,97 % de rendimiento, empleando el mismo paso de purificación de celulasas obtenidas por FES a partir *Aspergillus niger*. Sin embargo, otros autores (Ahmed *et al.*, 2015) obtuvieron rendimientos de 76,4 % utilizando 80 % de saturación con sulfato de amonio para la precipitación del crudo enzimático producido por *Aspergillus niger*. También, Farinas *et al.* (2011), alcanzaron 56 % de recobrado al emplear el 80 % de saturación con sulfato de amonio, durante 3 h a una temperatura de 10 °C.

En cuanto a la pureza, en las condiciones óptimas ésta fue de 1,26, esto significa que se logró purificar la enzima de interés mediante la precipitación con sulfato de amonio hasta 1,26 veces el valor obtenido en el crudo enzimático. El nivel de pureza alcanzado fue superior al obtenido por Ijaz *et al.* (2014), Iqbal *et al.* (2011) y Hamdan y Jasim (2018) en condiciones experimentales similares. En cambio, otros autores han obtenido mayor grado de pureza. Sin embargo, no tuvieron en cuenta la determinación

de condiciones óptimas globales, donde también se considerara maximizar el rendimiento y la pureza y minimizar el costo (Afzal *et al.*, 2019; Ahmed *et al.*, 2015; Nehad *et al.*, 2019).

El costo de la purificación en las condiciones óptimas predichas en este estudio fue de USD \$ 0,2609. La purificación de celulasas para su posterior uso en la obtención de bioetanol, constituye la etapa de mayor influencia en los costos de producción de este biocombustible. En este estudio, no se consideraron todas las partidas que influyen en el costo de producción debido a que la investigación se encontraba en etapas tempranas, y no se cuenta con un sistema productivo establecido para la purificación de celulasas. Por tanto, el costo de la etapa se calculó en consideración a dos de los factores que más influyen en la precipitación: cantidad de sulfato de amonio y tiempo. De esta forma, el objetivo fue trabajar en disminuir los costos asociados a la precipitación con sulfato de amonio desde etapas tempranas. De este modo, se lograron aportes positivos para el establecimiento futuro de la purificación de celulasas a escala productiva aplicando los resultados de este estudio.

### Caracterización electroforética de las fracciones obtenidas

En la Figura 2 se muestra el patrón electroforético de las fracciones eluidas de la columna cromatográfica mediante un gradiente escalonado de concentraciones de NaCl (0,15, 0,20 y 0,30 M).

En el extracto se evidencia la presencia de bandas de proteínas que presentan un amplio rango de peso molecular desde 21 hasta más de 100 kilodaltons (kDa), las más representadas en la zona de 40 kDa aproximadamente. De

igual forma, la fracción 1 muestra una amplia distribución con respecto al peso molecular. Sin embargo, presenta poca actividad celulolítica (Figura 3). La fracción 2 exhibe visiblemente un grado mayor de pureza y despliega dos bandas predominantes en el rango de 30 a 40 kDa, con una disminución en la presencia e intensidad de prácticamente todas las bandas de peso superior y una ausencia total de bandas de peso inferior a 30 kDa. Ésta fracción mostró la mayor actividad enzimática específica (Figura 3). La fracción 3 también manifiesta un mayor grado de pureza en comparación con la primera fracción, pero con una actividad enzimática específica inferior a la segunda fracción (Figura 3).

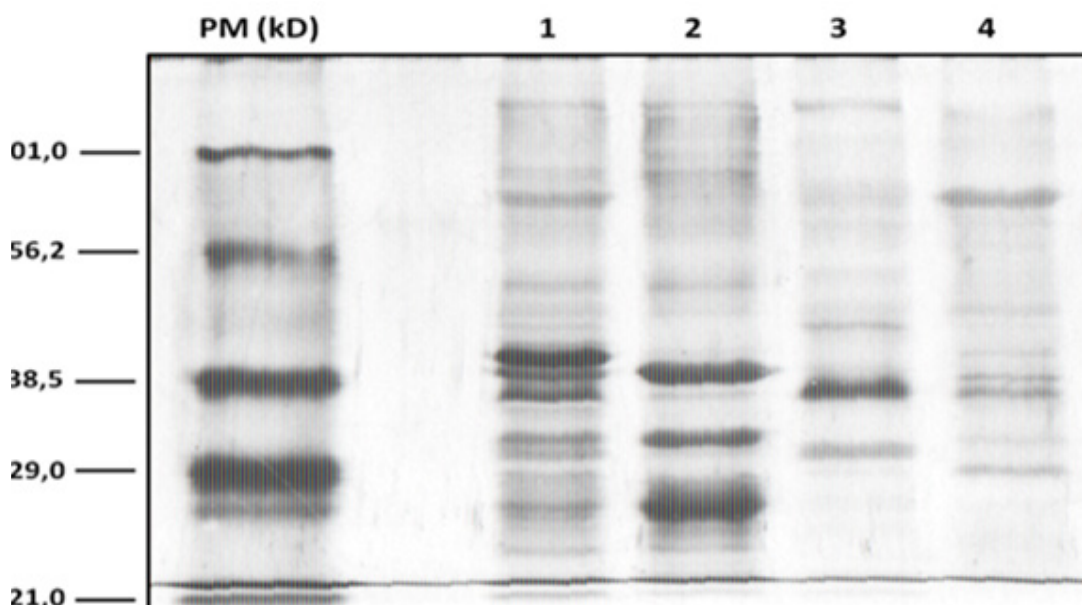


Figura 2

*Patrón electroforético del extracto con actividad celulolítica obtenido a partir de *Aspergillus niger* y de las fracciones resultantes de la cromatografía de intercambio iónico.*

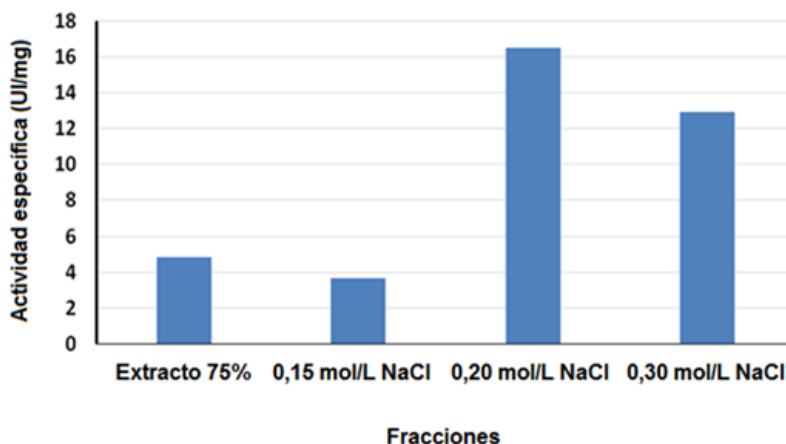
*Nota. PM: patrón de peso molecular, 1: extracto de celulasas, 2: fracción 1 eluida con 0,15 M de NaCl, 3: fracción 2 eluida con 0,20 M de NaCl y 4: fracción 3 eluida con 0,30 M de NaCl. Elaboración propia.*

Al integrar el análisis de las bandas de proteínas presentes en cada fracción con el valor de la actividad enzimática específica de las mismas, se obtuvo como resultado preliminar la identificación de una banda con probabilidad de ser responsable de la actividad endoglucanasa. En la fracción 2, la banda reforzada está presente alrededor de los 38 kDa, también se observa, pero con menor intensidad en la fracción 3, y casi de forma insignificante en la fracción 1. El resto de

las bandas principales presentes en la fracción 2 no presentan coincidencia en la fracción 3. Teniendo en cuenta que estas dos fracciones son las de mayor actividad enzimática específica (16,5 y 12,9 UI/mg, respectivamente), es probable que la proteína representada por esta banda sea, al menos en parte, la responsable de la actividad endoglucanasa del crudo enzimático obtenido a partir de *Aspergillus niger* UC33.

El cálculo del peso molecular de la banda identificada en la fracción 2 arrojó un valor de 38,47 kDa. El peso molecular de endoglucanasas producidas por *Aspergillus niger* se encuentran

en el rango de 30 a 45 kDa, según otros autores (Devi y Kumar, 2012; Ijaz *et al.*, 2014). Este dato refuerza la probabilidad de que la banda propuesta corresponda a una endoglucanasa.



**Figura 3**

*Actividad enzimática endoglucanasa específica del crudo enzimático obtenido a partir de Aspergillus niger y las fracciones obtenidas mediante cromatografía de intercambio iónico.*

Nota. Elaboración propia.

## Conclusiones

Las variables tiempo de precipitación, concentración de sulfato de amonio y temperatura influyen significativamente en la precipitación de celulasas. La determinación de los valores óptimos de las variables experimentales, teniendo en cuenta la interrelación entre ellas, permite maximizar, a la vez, el rendimiento y la pureza de celulasas. La precipitación de celulasas con el uso de sulfato de amonio constituye un método eficiente para garantizar buenos resultados de rendimientos y pureza, a un bajo costo de la etapa.

## Referencias

- Abdullah, R., Akhtar, A., Nisar, K., Kaleem, A., Iqtedari, M., Iftikhar, T., Saleem, F., y Aslam, F. (2021). Process optimization for enhanced production of cellulases from locally isolated fungal strain by submerged fermentation. *Bioscience Journal*, 37, e37021. <https://doi.org/10.14393/BJ-v37n0a2021-53815>
- Afzal, M., Qureshi, M. Z., Khan, S., Khan, M. I., Ikram, H., Ashraf, A., Iqbal, A., y Quresh, N. A. (2019). Production, purification and optimization of cellulase by *Bacillus licheniformis* HI-08 isolated from the hindgut of wood-feeding termite. *International Journal of Agriculture & Biology*, 21(1), 125-134. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0872>
- Ahmed, K., Munawar, S., y Naz, S. (2015). Purification and characterization of cellulase from *Aspergillus niger* (Van Tieghem, 1867). *Science International (Lahore)*, 27(5), 4341-4344. <http://www.sci-int.com/pdf/636341779348991064.pdf>
- Amritkar, N., Kamat, M., y Lali, A. (2004). Expanded bed affinity purification of bacterial alpha-amylase and cellulase on composite substrate analogue-cellulose matrices. *Process Biochemistry*, 39(5), 565-570. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00123-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00123-7)
- Bakare, M. K., Adewale, I. O., Ajayi, A., y Shonukan, O. O. (2005). Purification and characterization of cellulase from the wild-type and two improved mutants of *Pseudomonas fluorescens*. *African Journal of Biotechnology*, 4 (9), 898-904. <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/download/7111/60085>
- Behera, S. S., y Ray, R. C. (2016). Solid state fermentation for production of microbial cellulases: Recent advances and improvement strategies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 656-669. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.090>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of

protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72 (1-2): 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

Cerda, A., Gea, T., Vargas-García, M. C., y Sánchez, A. (2017). Towards a competitive solid state fermentation: Cellulases production from coffee husk by sequential batch operation and role of microbial diversity. *Science of the Total Environment*, 589, 56-65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.184>

Chaplin, M. F. (1994). Monosaccharides. In M. F. En Chaplin, M. F. y Kennedy, J. F. (Eds.), *Carbohydrate Analysis: A Practical Approach*, 24-25. Oxford University Press.

Das, A., Paul, T., Halder, S. K., Jana, A., Ghosh, K., Maity, C., Das, P. K. M., Pati, B., y Mondal, K. C. (2013). Low cost single-step purification of endoglucanase from *Aspergillus fumigatus* ABK-9. *Indian Journal of Experimental Biology*, 51 (11), 954-959. [http://nopr.hisair.res.in/bitstream/123456789/23461/1/IJEB%2051\(11\)%20954-959.pdf](http://nopr.hisair.res.in/bitstream/123456789/23461/1/IJEB%2051(11)%20954-959.pdf)

Devi, M. C., y Kumar, M. S. (2012). Production, optimization and partial purification of cellulase by *Aspergillus niger* fermented with paper and timber sawmill industrial wastes. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 2 (1): 120-128. <https://www.semanticscholar.org/paper/Production%2C-Optimization-and-Partial-purification-Devi-Kumar/59dc009e5be5abd213284c2529f92d086aa2063b>

Doi, R. H., y Kosugi, A. (2004). Cellulosomes: Plant-cell-wall degrading enzyme complexes. *Nature Reviews: Microbiology*, 2, 541-551. <https://doi.org/10.1038/nrmicro925>

Ejaz, U., Sohail, M., y Ghanemi, A. (2021). Cellulases: From bioactivity to a variety of industrial applications. *Biomimetics*, 6 (3). <https://doi.org/10.3390/biomimetics6030044>

EnCor Biotechnology Inc. (2022). Ammonium sulfate calculator. <http://www.encorbio.com/protocols/AM-SO4.htm>

Faheina, G. d. S., Amorim, M. V. da F. S., Souza, C. G. d., Sousa, D. M. d., Sousa, K. A. d., y Pinto, G. A. S. (2015). Strategies to increase cellulase production with submerged fermentation using fungi isolated from the Brazilian biome. *Acta Scientiarum. Biological Science*, 37 (1), 15-22. <https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v37i1.23483>

Farinas, C. S., Scarpelini, L. M., Miranda, E. A., y Neto, V. B. (2011). Evaluation of operational parameters on the precipitation of endoglucanase and xylanase produced by solid state fermentation of *Aspergillus niger*. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28

(1), 17-26. <https://www.scielo.br/j/bjce/a/7bmDY3gM5syf6mW4zDmVskS/?format=pdf&lang=en>

Hamdan, N. T., y Jasim, H. M. (2018). Purification and characterization of cellulase enzyme from *Trichoderma longibrachiatum* isolated in Iraqi soil. *IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 4 (1), 32-41. <https://doi.org/10.8790/264X-04013241>

Han, W., y He, M. (2010). The application of exogenous cellulase to improve soil fertility and plant growth due to acceleration of straw decomposition. *Bioresource Technology*, 101 (10), 3724-3731. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.104>

Hasunuma, T., Okazaki, F., Okai, N., Hara, K. Y., Ishii, J., y Kondo, A. (2013). A review of enzymes and microbes for lignocellulosic biorefinery and the possibility of their application to consolidated bioprocessing technology. *Bioresource Technology*, 135, 513-522. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.047>

Heukeshoven, J., y Dernick, R. (1985). Simplified method for silver staining of proteins in polyacrylamide gels and the mechanism of silver staining. *Electrophoresis*, 6 (3), 103-112. <https://doi.org/10.1002/elips.1150060302>

Hölker, U., Höfer, M., y Lenz, J. (2004). Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. *Appl Microbiol Biotechnol*, 64, 175-186. <https://doi.org/10.1007/s00253-003-1504-3>

Ijaz, A., Anwar, Z., Irshad, M., Iqbal, Z., Arshad, M., Javed, M., Zulfiqar, M., Rehman, A., y Ahmad, A. (2014). Purification and kinetic characterization of statistically optimized cellulase produced from *Aspergillus niger*. *Romanian Biotechnological Letters*, 19 (6), 9835-9845. <https://e-repository.org/rbl/vol19/iss.6/4.pdf>

ITW Reagents Division. (2022). Ammonium Sulfate for molecular biology. PanReac AppliChem. <https://www.itwreagents.com/rest-of-world/en/product/ammonium-sulfate-for-molecular-biology/A3485>

Iqbal, H. M. N., Ahmed, I., Zia, M. A., y Irfan, M. (2011). Purification and characterization of the kinetic parameters of cellulase produced from wheat straw by *Trichoderma viride* under SSF and its detergent compatibility. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2 (3), 149-156. <https://doi.org/10.4236/abb.2011.23024>

Islam, F., y Roy, N. (2018). Screening, purification and characterization of cellulase from cellulase producing bacteria in molasses. *BMC Research Notes*, 11, 1-6. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3558-4>

Juturu, V., y Wu, J. C. (2014). Microbial cellulases: Engineering, production and applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 33, 188-203. <http://doi.org/10.1016/j.rser.2014.01.077>

Kumar, B., Bhardwaj, N., Alam, A., Agrawal, K., Prasad, H., y Verma, P. (2018). Production, purification and characterization of an acid/alkali and thermo tolerant cellulase from *Schizophyllum commune* NAIMCCF03379 and its application in hydrolysis of lignocellulosic wastes. *AMB Express*, 8 (173), 1-16. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0696-y>

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>

Lee, K. C., Tong, W. Y., Ibrahim, D., Arai, T., Murata, Y., Mori, Y., y Kosugi, A. (2016). Evaluation of enzymatic deinking of non-impact ink laser-printed paper using crude enzyme from *Penicillium rolsii* c3-2(1) IBRL. *Appl Biochem Biotechnol*, 181 (1), 451-463. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2223-4>

Leon-Revelo, G., Cujilema-Quitio, M. C., Baryolo, L., Rosero, E., Córdova, J., y Ramos-Sánchez, L. B. (2017). Efecto del pH en la producción de celulasas de *Aspergillus niger* en fermentación sólida. *Revista Centro Azúcar*, 44 (2), 27-38. [http://centroazucar.uclv.edu.cu/index.php/centro\\_azucar/article/view/98/91](http://centroazucar.uclv.edu.cu/index.php/centro_azucar/article/view/98/91)

Liu, Y., Guo, H., Gu, J., y Qin, W. (2019). Optimize purification of a cellulase from *Bacillus velezensis* A4 by aqueous two-phase system (ATPS) using response surface methodology. *Process Biochemistry*, 87, 196-203. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.08.017>

Lodha, A., Pawar, S., y Rathod, V. (2020). Optimised cellulase production from fungal co-culture of *Trichoderma reesei* NCIM 1186 and *Penicillium citrinum* NCIM 768 under solid state fermentation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(5), 103958. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.103958>

Malik, W. A., y Javed, S. (2021). Biochemical characterization of cellulase from *Bacillus subtilis* strain and its effect on digestibility and structural modifications of lignocellulose rich biomass. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 1-15. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.800265>

Manan, M. A., y Webb, C. (2017). Design aspects of solid state fermentation as applied to microbial bioprocessing. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 4 (1), 511-532. <https://doi.org/10.15406/jabb.2017.04.00094>

Marín, R. M. (2007). Caracterización y expresión recombinante de una celulasa de origen antártico. (Tesis de pregrado, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile). Repositorio Institucional. Santiago de Chile. [https://repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2007/marin\\_ra/sources/marin\\_ra.pdf](https://repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2007/marin_ra/sources/marin_ra.pdf)

Mrudula, S., y Murugammal, R. (2011). Production of cellulase by *Aspergillus niger* under submerged and solid state fermentation using coir waste as a substrate. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42 (3), 1119-1127. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000300033>

Nehad, E. A., Yoness, M. F., y Reem, A. A. (2019). Optimization and purification of cellulase produced by *Penicillium decumbens* and its application. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18(4): 391-402. [https://doi.org/10.4103/epj.epj\\_31\\_19](https://doi.org/10.4103/epj.epj_31_19)

Oliveira, J. S. D., de Araujo, P. C. E., Alves, E. de A., Ribeiro, G. de M., y dos Santos, E. S. (2020). Recovery and purification of cellulolytic enzymes from *Aspergillus fumigatus* CCT 7873 using an aqueous two-phase micellar system. *Annals of Microbiology*, 70 (23): 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13213-020-01573-w>

Pathak, P., Bhardwaj, N. K., y Singh, A. K. (2014). Production of crude cellulase and xylanase from *Trichoderma harzianum* PPDDN10 NFCCI-2925 and its application in photocopier waste paper recycling. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172 (8), 3776-3797. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-0758-9>

Rabinovich, M. L., Melnick, M. S., y Bolobova, A. V. (2002). The structure and mechanism of action of cellulolytic enzymes. *Biochemistry (Moscow)*, 67 (8), 850-871. <https://doi.org/10.1023/A:1019958419032>

Raju, P. S., y Bawa, A. S. (2006). Food additives in fruit processing. In Hui, Y. H. (Ed.), *Handbook of Fruits and Fruit Processing*, 145-170. Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1002/9780470277737.ch9>

Sajith, S., Sreedevi, S., Priji, P., Unni, K. N., y Benjamin, S. (2014). Production and partial purification of cellulase from a novel fungus, *Aspergillus flavus* BS1. *Annals of Microbiology*, 64, 763-771. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0711-0>

Sathya, T. A., y Khan, M. (2014). Diversity of glycosyl hydrolase enzymes from metagenome and their application in food industry. *Journal of Food Science*, 79 (11), R2149 - R2156. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12677>

Singhania, R. R., Sukumaran, R. K., Patel, A. K., Larroche, C., y Pandey, A. (2010). Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermentation for microbial cellulases. *Enzyme and Microbial Technology*, 46 (7), 541-549. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2010.03.010>

Siqueira, J. G. W., Rodrigues, C., Vandenberghe, L. P. d. S., Woiciechowski, A. L., y Soccol, C. R. (2020). Current advances in on-site cellulase production and application on lignocellulosic biomass conversion to biofuels: A review. *Biomass and Bioenergy*, 132, 105419. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105419>

Sukumaran, R. K., Singhania, R. R., y Pandey, A. (2005). Microbial cellulases - Production, application and challenges. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 64 (11), 832-844. [https://www.researchgate.net/profile/Reeta-Singhania/publication/228635285\\_Microbial\\_cellulases-Production\\_applications\\_and\\_challenges/links/09e41507fb3568861a000007\\_Microbial-cellulases-Production-applications-and-challenges.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Reeta-Singhania/publication/228635285_Microbial_cellulases-Production_applications_and_challenges/links/09e41507fb3568861a000007_Microbial-cellulases-Production-applications-and-challenges.pdf)

Sulyman, A. O., Igunnu, A., y Malomo, S. O. (2020). Isolation, purification and characterization of cellulase produced by *Aspergillus niger* cultured on *Arachis hypogaea* shells. *Heliyon*, 6 (12), e05668. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05668>

Wu, J. C., Ng, K. R., Chong, J., Yang, K. J., Ping, X. L., Nam, C. T., y Nugroho, A. J. (2010). Recovery of cellulases by adsorption/desorption using cation exchange resins. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 27 (2), 46-473. <https://doi.org/10.1007/s11814-010-0096-8>

Yang, S.-T., El-Enshasy, H., y Thongchul, N. (2013). *Bioprocessing technologies in biorefinery for sustainable production of fuels, chemicals, and polymers*. John Wiley & Sons, Inc, New Jersey, USA. <https://es.b-ok.lat/book/2159136/f07836>

Zahra, T., Irfan, M., Nadeem, M., Ghazanfar, M., Ahmad, Q., Ali, S., Siddique, F., Yasmeen, Z., y Franco, M. (2020). Cellulase production by *Trichoderma viride* in submerged fermentation using response surface methodology. *Punjab University Journal of Zoology*, 35(2), 223-228. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pujz/2020.35.2.223.228>

Zapata, Y. M., Galviz-Quezada, A., y Osorio, V. M. (2018). Cellulases production on paper and sawdust using native *Trichoderma asperellum*. *Universitas Scientiarum*, 23(3), 419-436. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.SC23-3.cpop>

# Propiedades, beneficios y efectos de la guanábana (*Annona muricata* L.) sobre la glucemia y el cáncer

## Properties, benefits and effects of soursop (*Annona muricata* L.) on blood glucose and cancer

Irving Francisco Sosa Crespo<sup>1</sup> 

Jesús Alejandro Pareja Aguiñaga<sup>2</sup> 

Alfonso Jesús Mugarte Moguel<sup>3</sup> 

Luis Antonio Chel Guerrero<sup>4</sup> 

David Abram Betancur Ancona<sup>5</sup> 

<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán. [✉ irving.sosa@correo.uady.mx](mailto:irving.sosa@correo.uady.mx)

<sup>2</sup>Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán [✉ jesuspareja.0392@gmail.com](mailto:jesuspareja.0392@gmail.com)

<sup>3</sup>Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán [✉ alfonso.mugarte@correo.uady.mx](mailto:alfonso.mugarte@correo.uady.mx)

<sup>4</sup>Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán [✉ cguerrer@correo.uady.mx](mailto:cguerrer@correo.uady.mx)

<sup>5</sup>Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán [✉ bancona@correo.uady.mx](mailto:bancona@correo.uady.mx)

Recibido: 14/07/2022 Aceptado: 19/07/2022

**Resumen** La guanábana (*Annona muricata* L.) es un fruto que ha presentado diferentes beneficios a la salud humana. Se han empleado diversas porciones de la planta en medicina tradicional para disminución de inflamación, fiebre, tos y asma. El fruto promueve cierta actividad antihiper glucémica y adelgazante en el organismo; adicionalmente se ha empleado como remedio anticancerígeno. Debido a lo anterior, el objetivo de este trabajo fue revisar y analizar diversos resultados de investigaciones experimentales realizadas con diferentes partes de la guanábana, para considerar su actividad glucémica y su efecto antitumoral para una posible aplicación a futuro. Para desarrollar el presente trabajo, se revisaron diversos artículos, revistas y libros de servidores virtuales que contenían las características solicitadas para el tema tratado. Los resultados demostraron la presencia de ciertos componentes como taninos, flavonoides, catequinas, quercetinas y polifenoles. Entre los principios activos mayormente presentes en la guanábana están las acetogeninas anonáceas; estos fitoquímicos naturales producidos en las raíces, corteza, tallos y hojas del árbol, así como en las semillas de los frutos, se ha demostrado diversos efectos benéficos. Hojas, frutos, raíces y semillas, han sido considerados componentes con efectos antidiabéticos; ciertas investigaciones demostraron que la administración diaria de extracto de hojas en ratas disminuyó los niveles sanguíneos de glucosa, triglicéridos y colesterol; otros estudios suministraron por treinta días un extracto de guanábana con jengibre, con una disminución en el daño hepático causado por diabetes mellitus. Las acetogeninas presentes en la guanábana, han sido estudiadas por su actividad antitumoral ya que estos compuestos pueden inhibir selectivamente el crecimiento de las células cancerígenas. Los polifenoles del fruto demostraron efecto antioxidante, los cuales pudieran presentar efectos coadyuvantes con los tratamientos contra el cáncer. A pesar de los beneficios, se debe tener precaución en caso de ingerirse en grandes cantidades y por períodos prolongados debido a potenciales efectos adversos.

**Palabras clave:** guanábana; cáncer; efecto glucémico; acetogeninas; polifenoles.

**Abstract** Soursop (*Annona muricata* L.) is a fruit that has presented various benefits to human health. Different parts of the plant have been used in traditional medicine to reduce inflammation, fever, cough, and asthma. The fruit promotes some antihyperglycemic and weight loss activity in the body; additionally, it has been used as an anticancer remedy. Due to all of the above, this work aimed to review and analyze different results of experimental research conducted with different parts of the soursop, considering its glycemic activity and its antitumor effect, for a possible future application. Several articles, journals, and books from virtual servers which contained the characteristics requested for the topic in question were reviewed to prepare this paper. The results showed the presence of certain components such as tannins, flavonoids, catechins, quercetins, and polyphenols. Among the active principles most present in soursop are the annonaceous acetogenins; these natural phytochemicals produced in the tree's roots, bark, stems, and leaves, as well as in the fruit's seeds, have demonstrated diverse beneficial effects. Leaves, fruits, roots, and seeds have been regarded as components with anti-diabetic effects; some research showed that the daily administration of leaf extract in rats decreased blood levels of glucose, triglycerides, and cholesterol; other studies administered an extract of soursop with ginger for thirty days, showing a decrease in liver damage caused by diabetes mellitus. The acetogenins present in soursop have been studied for their antitumor activity since these compounds can selectively inhibit the growth of cancer cells. The fruit's polyphenols have demonstrated antioxidant effects, which could have co-adjuvants effects in cancer treatments. Despite the benefits, caution should be exercised if ingested in large quantities and for prolonged periods due to potentially adverse effects.

**Keywords:** soursop; cancer; glycemic effect; acetogenins; polyphenols.

## Introducción

Determinados padecimientos de índole crónico que no se transmiten, diabetes y cáncer específicamente, son afecciones que tienen una prevalencia e incidencia que se ha vuelto mayor cada día. En el caso de la diabetes, que es un desorden metabólico crónico (Rothman-Kabir, 2018), los pacientes requieren ciertos cuidados como tratamiento inicial con control dietético; si la alimentación equilibrada no basta, se empieza un tratamiento farmacológico. En ocasiones, esto no es suficiente cuando la diabetes está muy avanzada, por lo que se someten a tratamientos que suelen ser invasivos como el suministro de insulina (Inzucchi y Sherwin, 2012; Perel, 2018) produciendo molestias a largo plazo. Por su parte, las enfermedades cancerígenas son de los motivos principales de muerte alrededor de todo el mundo (Siegel *et al.*, 2018); es un padecimiento que puede afectar cualquier parte del cuerpo y que debe ser tratado para evitar su proliferación.

En la actualidad, se realizan investigaciones con diferentes tipos de tratamientos para enfermedades crónicas de este estilo (Wang *et al.*, 2018). Sin embargo, varios de estos aún son considerados invasivos, como sucede con los pacientes sometidos a quimioterapia, pues los fármacos y compuestos empleados afectan a todo el organismo sin diferenciar entre tejidos sanos y enfermos. Como una manera de afrontar estos problemas de salud, se han planteado diferentes alternativas como terapias con el empleo de hormonas, electromagnetismo o tratamientos menos invasivos como el consumo de extractos de alimentos o productos naturales (Siti *et al.*, 2009).

Para los pacientes con algún padecimiento de los mencionados anteriormente, una alternativa natural ha sido la guanábana (*Annona muricata* L.), sometida a diversos estudios que demuestran efectos terapéuticos y eficaces propiedades contra el cáncer (Anuragi *et al.*, 2016). De igual manera, se considera que los compuestos de dicha planta,

específicamente las acetogeninas, presentan propiedades antioxidantes (Vit *et al.*, 2014); estos compuestos funcionan de manera específica en tumores, como sucede con pacientes con cáncer (Qazi *et al.*, 2018), y ayuda en el metabolismo glucosídico a mejorar la sensibilidad a la insulina en personas que viven con diabetes.

En este sentido, los alimentos funcionales presentan en su composición química y bioquímica diversas sustancias activas que pueden generar beneficios para el sistema gastrointestinal y nutricional, que definitivamente impactan en la salud del cuerpo humano en la disminución de la probabilidad de enfermedades. Estos alimentos, han tomado mayor interés en los últimos años debido a los beneficios que promueven con su ingesta moderada (Fuentes-Berrio *et al.*, 2015). La guanábana, fruto ingerido de diversas formas a nivel mundial, se usa de manera tradicional por la facilidad de su cosecha, así como por los efectos clínicos que se le han adjudicado. Debido a lo antes mencionado, este trabajo tiene como finalidad reportar las características y beneficios del consumo del fruto (Anuragi *et al.*, 2016), así como de otras porciones de la planta ya sea en forma de té o en infusiones y mencionar algunos aspectos negativos que puede causar su ingesta excesiva.

Los beneficios terapéuticos de la guanábana hasta ahora reportados son en contra de distintos tumores humanos y agentes patógenos en cultivos *in vitro*. Sistemas de modelos animales han sido probados para determinar su capacidad para atacar específicamente la enfermedad, mientras ejercen poco o ningún efecto sobre la viabilidad celular normal. Se han informado más de 212 ingredientes fitoquímicos en extractos de guanábana encontrados en diferentes partes del árbol (Coria-Téllez *et al.*, 2016).

Los componentes bioactivos específicos responsables de los principales beneficios anticancerígenos (Gomes *et al.*, 2010; Yahid *et al.*, 2018), antioxidantes, antiinflamatorios (Hamid

et al., 2012) antimicrobianos (Coria-Tellez et al., 2016) y otros beneficios de esta planta, incluyen diferentes clases de acetogeninas anonáceas (metabolitos y productos de la vía policétida), alcaloides, flavonoides, esteroides y otros. Un estudio fitoquímico realizado con extractos de la planta de *Annona muricata* L., demostró una elevada concentración de los compuestos anteriormente mencionados, así como saponinas, terpenoides, cumarinas y antraquinonas (Gavamukulya et al., 2014).

## Metodología

Para la elaboración de esta revisión científica, se consideraron los artículos científicos, libros o capítulos de libro que tuvieran relación directa con las características investigadas de la guanábana (*Annona muricata* L.); se revisó información publicada del año 2004 a la actualidad, se consideró la relevancia de los trabajos y su relación con el tema, y se emplearon artículos de libre acceso en buscadores como Scielo, ResearchGate, Google académico, PubMed y Redalyc.

Entre los temas revisados en las distintas fuentes bibliográficas están las características generales y funciones de diferentes partes de la *Annona muricata* L en el organismo humano, la actividad de diversos metabolitos sobre el cáncer y la diabetes mellitus, y los efectos negativos de la guanábana debido al consumo excesivo que pudiera presentarse.

## Resultados y discusión

### Morfología de la guanábana

La guanábana, graviola o corosol, con nombre científico *Annona muricata* L., es un árbol frutal perteneciente a la familia de las *Annonaceae*; varía de un tamaño pequeño a mediano de hasta ocho metros de altura; su follaje es aromático, de hojas lustrosas, flores medianas y solitarias con pétalos amarillentos muy gruesos. Este

árbol (Figura 1a) se encuentra principalmente en diferentes zonas del trópico entre éstas, África del norte, ciertas partes de Asia, así como centro y Suramérica. En América, la región del caribe, Guatemala y México son los principales centros de producción, siendo este último país el principal productor de Centroamérica, mientras que en Suramérica son Venezuela, Brasil y Colombia (Bernardi et al., 2017).

La producción de la guanábana es prácticamente durante todo el año. Sin embargo, el período es mayor de octubre a diciembre en las regiones más cálidas. En el caso México, los estados de Nayarit, Michoacán y Colima son los principales productores de *Annona muricata* L., generan hasta 16 mil toneladas anuales (Leiva et al., 2018).

El fruto de la *Annona muricata* L. es de aspecto ovalado y acorazonado (Figura 1b); presenta pulpa de color blanco formada por pequeñas estructuras en forma de “ampolletas” adheridas entre sí por la fibra que la caracteriza, tiene un tamaño mediano-grande que alcanza un peso de hasta 7 kg; en el interior de las ampolletas tiene semillas de color negro (Figura 1c) y sabor agridulce; posee un sabor único, agradable y aromático, pero en su forma fresca no es tan popular como otras frutas tropicales. La parte externa también conocida como cáscara, presenta suaves espinas de color verde olivo, un poco más intenso que el resto de toda la epidermis.

Debido al sabor presentado por la pulpa, es muy empleada en la industria alimentaria para ser consumida directamente en su estado natural o en combinación con otros frutos o procesos industrializados. Sin embargo, la *Annona muricata* L., no es tan común como otros alimentos de esta naturaleza (Gavamukulya et al., 2017).

El contenido de agua encontrado en la pulpa de *Annona muricata* L., es de 82,8 g/100g; además proporciona lípidos, sales minerales,

potasio, fósforo, hierro, calcio, zinc, magnesio y sodio (Leiva *et al.*, 2018); presenta las vitaminas hidrosolubles B y C, así como la provitamina A. El peso más común de la guanábana es de 4 kg, su longitud llega a ser entre 20 v 30 cm, aunque

estas mediciones pueden variar. El aporte energético de la guanábana es de 53 cal por cada 100 g de la pulpa, presenta 1 g de proteína, 14,6 g de carbohidratos y 0,97 g de lípidos (Jiménez-Zurita *et al.*, 2016).



**Figura 1**

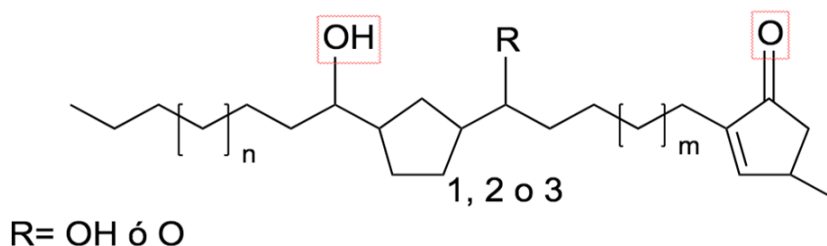
*Diferentes aspectos morfológicos de la Annona muricata*

Nota. a) árbol, b) fruto, y c) semillas. Elaboración propia.

### Componentes activos de la *Annona muricata* L.

Muchos compuestos químicos y sustancias activas han sido encontrados en la guanábana, en su mayoría acetogeninas (ACG's) anonáceas (Figura 2); estas sustancias son fitoquímicos producidos tanto en tallos, como en las hojas

del árbol. Se producen en corteza, raíces y semillas de los frutos. Entre las plantas de la familia *Annonaceae* en las que se han encontrado estos fitoquímicos, se encuentran la *Annona cherimolia*, *Annona glabra*, *Annona muricata*, *Annona esquamosa* y otras (Flórez y Martínez, 2010).



**Figura 2**

*Estructura química de las acetogeninas*

Nota. Elaboración propia.

Las acetogeninas presentan gran importancia por su actividad biológica, según García (2009), son compuestos formados por cadenas de 32 a 34 átomos de carbonos combinados en el carbono secundario con un radical 2-propanol formando una Y-lactona; según la estructura, pueden presentar hidroxilos en las partes laterales a los extremos de la cadena. Depende del número de anillos presentes en su estructura química, estos fitoquímicos se pueden clasificar en (Figura 3) Acetogenina mono-THF, Acetogenina adyacente bis-THF, Acetogenina no adyacente bis-THF y Acetogenina sin anillos (Zeng, 2004).

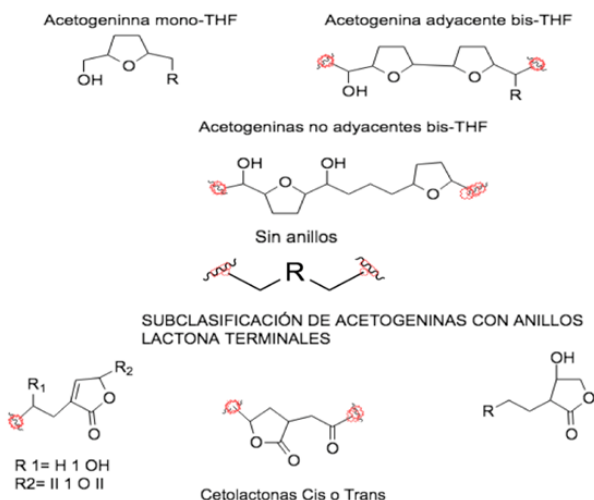
### Usos de la *Annona muricata* L. en la medicina tradicional

A partir de la década pasada, se ha incrementado la popularidad de la guanábana debido a sus propiedades para el tratamiento natural de algunas enfermedades. Las actividades terapéuticas que se le adjudican se presentan a partir de diferentes partes de la planta; tales como la pulpa de la fruta, las semillas, las hojas y la corteza (Ávila *et al.*, 2012). En este sentido, en áreas nativas de Suramérica y África, *Annona muricata* es parte de sus costumbres por muchos años; para la medicina tradicional, el fruto y las

hojas presentan efectos en la disminución de problemas digestivos, así como de hipertensión, inflamación, fiebre, tos y asma, entre otros padecimientos (Clement *et al.*, 2016).

Se ha establecido que el consumo regular de la guanábana incrementa la producción de leche materna después del parto. A la *Annona muricata* L. también se le ha atribuido una aplicación astringente para la diarrea y la disentería. Aunado a esto, se han tratado los malestares de cabeza y problemas de la artritis

con una mezcla del fruto inmaduro con aceites como el de olivo (Ramírez y Pacheco, 2011). Estudios han demostrado (Florence *et al.*, 2013) que ciertos componentes bioquímicos del árbol en cuestión presentan actividad antioxidante, antihiperglucemiante, antiartríticos y hepatoprotectores, entre otros. Debido a la presencia de compuestos antioxidantes en ciertas partes de este mismo árbol, se ha estudiado su efecto anticancerígeno para diversos tipos de cáncer. Sin embargo, se necesitan más investigaciones para comprobarlo.



**Figura 3**

### Clasificación de las acetogeninas según su estructura química

Nota. Elaboración propia.

La corteza del árbol al igual que las hojas de la *Annona muricata* L. se pueden consumir en forma de té; estas últimas se usan en la medicina tradicional para tratar dolores de cabeza, hipertensión, tos y asma. Las hojas se emplean como antiespasmódicos, sedantes y para la afección cardíaca; adicionalmente, se han empleado estudio en ratas para controlar la diabetes y algunas de sus complicaciones (Holanda *et al.*, 2014). El té elaborado con las flores del árbol de la guanábana ha presentado una aplicación como expectorante. A su vez, la pulpa es alta en fibra, la cual ayuda a formar las heces fecales y mejora el tránsito intestinal. Los polisacáridos presentes, son parte fundamental

para tratar los problemas del intestino delgado como la inflamación y ulceración. De igual manera, ciertas investigaciones con extractos etanólicos de la cáscara y de la pulpa han demostrado efecto antimicrobiano y ante infecciones causadas por virus, respectivamente (Zorofchian *et al.*, 2014).

### Funciones generales de la *Annona muricata* L.

Surgen diversas investigaciones en las que utilizan extractos de diferentes partes de la planta de *Annona muricata* que demuestran efecto en células tumorales y sobre el metabolismo

de la glucosa entre los más importantes (Tabla 1). En ese sentido, se han estudiado diversas bioactividades inmunosupresivas, pesticidas, antimicrobianas, hepatoprotectoras, antiinflamatorias y ansiolíticas (Adeyemi *et al.*,

Tabla 1

Estudios de diversas partes de la *Annona muricata* L. y sus funciones en humanos

| Función en el organismo              | Parte de la planta                             | Fracción                                 | Referencia                                  |
|--------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Efecto en células tumorales (Cáncer) | Hojas                                          | Extracto crudo de hojas de guanábana     | López (2016)                                |
|                                      |                                                | Compuestos aislados en hoja de guanábana | Dueñas (2019)                               |
|                                      |                                                | Extracto de hojas de guanábana           | Indrawati <i>et al.</i> (2017)              |
| Efecto hipoglucemiante. Diabetes     | Hojas                                          | Extracto etanólico de hojas de guanábana | Arroyo <i>et al.</i> (2009)                 |
|                                      | Extractos de hojas, corteza, frutos y semillas | Compuestos aislados                      | Zorofchian, Rouhollahi <i>et al.</i> (2015) |
|                                      |                                                | Compuestos aislados de acetogeninas      | Carbono-Delahoz y Dib-diazgranados (2013)   |

Nota. Elaboración propia.

Entre los principales componentes de la *Annona muricata* L., se encuentran acetogeninas, flavonoides y taninos (Gajalakshmi *et al.*, 2012). En este sentido, investigaciones realizadas en diferentes porciones del árbol (hojas, frutos, corteza), comprobaron la existencia de más de 45 tipos de acetogeninas; cada uno de estos compuestos analizados demostró efectos sobre la salud. Sin embargo, además de los efectos beneficiosos, algunas de las acetogeninas (alrededor de 21 tipos) encontradas principalmente en hojas, presentaron una actividad citotóxica.

Se ha encontrado contenido fenólico en extractos acuosos y etanólicos de cáscaras y semillas de guanábana, lo que demuestra una actividad antioxidante (Moncada *et al.*, 2012). Investigaciones recientes (Lourenco *et al.*, 2019), han indicado amplios beneficios de polifenoles como un buen antioxidante natural, siendo aún mejor que los sintéticos. Aún con estos beneficios, el consumo debe ser moderado (Gülcin, 2012). Adicionalmente, se considera que la guanábana presenta actividades antimicrobianas que puede

2009). Flórez y Martínez (2010) demostraron que algunas acetogeninas de *Annona muricata* L. y otras plantas de la familia *Annonaceae* han sido usadas como pesticidas de origen biológico para acabar con determinadas plagas.

combatir una amplia gama de infecciones fúngicas y bacterianas, y a cierto tipo de gusanos y organismos parásitos (Leiva *et al.*, 2018).

El propósito de esta revisión se enfocó mayormente en las investigaciones realizadas en el tratamiento de la diabetes mellitus 2 y del cáncer, debido a que son enfermedades peligrosas para la población, incluso mortales si no se detectan y controlan a tiempo. También, se abordaron algunos de los aspectos que pudieran llegar a ser perjudiciales como un consumo excesivo de la especie en cuestión.

Efecto del consumo de la guanábana sobre la glucemia

En los últimos años, México y otras partes de mundo, han tratado de dar soluciones a problemas de sobrepeso y obesidad debido a que conlleva a enfermedades como el síndrome metabólico o la diabetes. Debido a lo anterior, surgen investigaciones para obtener la respuesta de diversos concentrados metanólicos obtenidos de la guanábana sobre la actividad glucídica

en animales de laboratorio que han sido diabetizados (Damayanti *et al.*, 2017). En este estudio, después de 15 días de administración de 100 mg/kg de extracto de la pulpa de guanábana a las ratas, se demostró un efecto significativo en los niveles glucosídicos en sangre de los animales hiperglucémicos tratados, en comparación con las ratas no tratadas con extracto de guanábana. Estos resultados, proporcionaron un indicio de que la guanábana puede promover la pérdida de peso y actividad antihiper glucemiante en el organismo.

Por otra parte, un estudio similar realizado con roedores, en el que se empleó un extracto etanólico a partir de hojas de guanábana, demostró un buen control glucosídico y sugiere una acción protectora sobre las células  $\beta$ -pancreáticas. A pesar de lo investigado, aún se desconoce completamente el mecanismo de acción de los componentes del extracto (Adeyemi *et al.*, 2010). Sin embargo, tanto las hojas, frutos, raíces y semillas de la guanábana, han sido considerados componentes con efectos antidiabéticos (Malviya *et al.*, 2010).

Para el caso específico de la diabetes mellitus 2, diversos estudios consideran la aplicación tradicional de *Annona muricata* L. contra la enfermedad mencionada. En ese sentido, ratas diabetizadas con estreptozotocina fueron tratadas con 100 mg/kg de un extracto de hojas de guanábana con metanol como solvente; el estudio fue realizado por dos semanas consecutivas y se redujo significativamente la concentración de glucosa en sangre de 21,64 a 4,22 mmol/L. Además, aplicando la misma dosis del extracto de guanábana en ratas, se redujo significativamente el colesterol sérico total, las lipoproteínas de baja densidad, así como los de muy baja densidad y los triglicéridos (Adeyemi *et al.*, 2009).

Un estudio similar al anterior es el de Damayanti *et al.* (2017), en el que se evaluó el extracto acuoso de las hojas de guanábana contra

la diabetes y reportó actividades antidiabéticas prometedoras; demostró una disminución en el peso corporal, triglicéridos, índice glucosídico, colesterol total y LDL. Los resultados fueron sometidos a pruebas de laboratorio con ratas diabetizadas a partir de estreptozotocina, presentándose un aumento significativo en los niveles sanguíneos de glucosa. Posteriormente, una dosis de 100–200 mg/kg (según el peso de la rata) a partir de un extracto acuoso de las hojas de guanábana fueron suministradas diariamente; la respuesta obtenida fue un decremento en los índices glucosídicos en sangre, en contraste con el grupo control utilizado.

Por otro lado, se consideró un grupo de ratas como control positivo para diabetes; a los animales se les realizó una tinción de células  $\beta$ , esta presentó menor intensidad comparado con aquellas normoglicémicas del grupo control. Según los resultados reportados por Florence *et al.* (2013), el extracto de guanábana sugiere un incremento en la proliferación o renovación de las células  $\beta$  presentes en los islotes, lo cual se presenta en personas con diabetes cuando las células ya están dañadas; en este caso, se presentó posterior a la destrucción celular por efecto de la estreptozotocina aplicada en ratas.

Las proteínas FOXO1 (Factor de Transcripción de la Proteína Forkhead Box O1), activan la transcripción genética al inducir la apoptosis celular; si esta se inactiva, habría una supresión de la gluconeogénesis hepática, lo que aumenta sensibilidad insulínica en los tejidos periféricos. Los extractos de hojas de guanábana presentan ciertos compuestos bioactivos que pueden incrementar proliferación de células  $\beta$  pancreáticas en animales experimentales, pero también pueden inhibir la proteína FOXO1.

En consecuencia, en un análisis experimental de acoplamiento molecular se obtuvo una capacidad de unión de los residuos aminoacídicos en un 66% (Damayanti *et al.*, 2017). Esta actividad se explica por su potencial

antioxidante e hipolipidémico y sus efectos protectores contra las células  $\beta$  pancreáticas. El examen histopatológico demostró que el extracto de hoja provocó la regeneración de las células  $\beta$  en los islotes del páncreas. El extracto etanólico de la corteza del tallo también demostró actividades antidiabéticas e hipolipidémicas prometedoras contra diabetes en ratas inducidas con alloxano. Otra investigación en la que se empleó etanol para realizar extractos de hojas maduras de guanábana (150 y 300 mg/kg) en ratones normoglucémicos durante 14 días, demostró un decremento de la glucosa sanguínea y se asoció con una reducción de los niveles de colesterol y triglicéridos (N'Gouemo *et al.*, 1997).

Benatti *et al.* (2018), realizaron un estudio *in vitro* para conocer el efecto antidiabético e inhibitorio a partir de una extracción etanólica y una mezcla líquido-líquido de hojas del fruto en cuestión sobre las enzimas  $\alpha$ -amilasa,  $\alpha$ -glucosidasa, así como lipasa; se determinó su poder antioxidante con fracciones enriquecidas con polifenoles. Los resultados de la investigación demostraron capacidad para reducir peroxidación lipídica hepática y propiedades antioxidantes. Las inhibiciones de las enzimas fueron para  $\alpha$ -amilasa ( $IC_{50}$   $45,7 \pm 13,5 \mu\text{g ml}^{-1}$ ),  $\alpha$ -glucosidasa ( $IC_{50}$   $413,1 \pm 121,1 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) y lipasa ( $IC_{50}$   $74,2 \pm 30,1 \mu\text{g ml}^{-1}$ ), y se presentó menor citotoxicidad al comparar las fracciones enriquecidas con el extracto crudo. Se encontraron diversos compuestos que presentan efectos antioxidantes entre los que destacan: el ácido cafeico, catequina, quercetina, entre otros. Se demostró que las fracciones enriquecidas con polifenoles presentan una potencial efectividad para el control de los síntomas de la diabetes mellitus.

En otro trabajo de investigación, Adeyemi *et al.* (2009) emplearon extractos de hojas de guanábana y evidenciaron efectos positivos que actúan directamente en el hígado, con una producción indirecta de la hormona insulina;

los resultados también afectaron de manera positiva en el cuerpo debido a la presencia de antioxidantes endógenos. Morales (2017), comprobó actividad sobre el metabolismo glucosídico a partir de *Annona montana*, otra especie de la familia *Annonaceae* conocida como 'falsa guanábana'; según los resultados obtenidos, los extractos de las hojas podrían ser usados contra enfermedades cardiovasculares, dislipidemias. También se encontró un efecto antihiperglucemiante, posiblemente preventivo de la diabetes.

Los investigadores Al Syaad *et al.* (2019), estudiaron en ratas wistar diabetizadas con estreptozotocina, el efecto producido por un extracto de *Annona muricata* L. y de jengibre asociado con el estrés oxidativo, inflamación y apoptosis. Los extractos (100 mg/kg de guanábana o 200 mg/kg de jengibre) fueron administrados oralmente por 30 días consecutivos. Posterior a ese tiempo, se realizaron las mediciones en las que se encontró un efecto beneficioso en los niveles de insulina, hiperglucemia, resistencia a la insulina y hemoglobina glicosilada en las ratas diabetizadas.

Aunado a lo anterior, se presentó una notable mejoría en la función enzimática del hígado y se reguló la inflamación dependiente del estrés oxidativo. La investigación sugirió que el extracto de guanábana y de jengibre, disminuyen en los animales el daño hepático causado por la diabetes, debido a modulación de proteínas mediadoras del proceso natural conocido como apoptosis, lo que indica un potencial efecto terapéutico.

### Efecto del consumo de la guanábana ante el cáncer

Diversos estudios fitoquímicos revelan que se han aislado más de cien tipos de acetogeninas anonáceas (ACG) de diferentes partes del árbol de la *Annona muricata* L. (Tabla 2). Las acetogeninas

han sido ampliamente investigadas debido a su potente actividad antitumoral presentada como resultado de la elevada concentración de estas (Pieme *et al.*, 2014). La investigación de Nawwar *et al.* (2012), demostró que algunos componentes extraídos de la *Annona muricata* L. tienen una toxicidad de manera dirigida hacia cierto tipo de células cancerígenas (sin causar daño a células saludables).

Las acetogeninas presentan un potencial efecto como inhibidor de la NADH ubiquinona oxidoreductasa, esta enzima es indispensable para el complejo I de la cadena respiratoria presente en la membrana de las mitocondrias. Las acetogeninas inhiben la transferencia de los electrones por la enzima oxidoreductasa que va a alterar la generación de ATP, causando una muerte celular por necrosis (Chuzeville, 2015). Al considerar esto, se demostró según lo establecido

por García (2009) que las acetogeninas presentes en la familia *Annonaceae* pueden inhibir el aumento de tamaño e incremento de células cancerígenas y resistentes.

Las células cancerosas requieren energía para aumentar de tamaño, multiplicarse y realizar intercambio de materia con su medio externo. Cuando se inhibe la energía celular ya no se puede realizar el intercambio de materia ni el bombeo. En este sentido, las acetogeninas actúan como inhibidor al bloquear el ATP de la célula cancerosa mediante la acción inhibitoria del complejo I mitocondrial, por lo que la energía celular es insuficiente para llevar a cabo ciertos procesos y se desintegra. Es poco común que las células en estado normal, desarrollen tal bombeo; debido a esto, no es necesario cantidades de energía muy elevadas para llevarlo a cabo (Awodele, 2013).

**Tabla 2**

*Tipos de acetogeninas aisladas de diferentes partes de la Annona muricata L.*

| Parte de la planta | Compuesto aislado |
|--------------------|-------------------|
| Semillas           | Cis-annonacina    |
|                    | Acetogenina       |
|                    | Cohibina          |
|                    | Javoricina        |
|                    | Longicina         |
| Raíz               | Cis-solamina      |
| Hojas              | Annopentocina     |
|                    | Annomuricina E    |
|                    | Annomutacina      |

Nota. En todos los casos se reportó una bioactividad citotóxica. García (2009).

Se realizaron estudios *in vitro* e *in vivo* con ratones a partir de un suplemento en cápsulas elaboradas de hojas y de tallos de guanábana, en una relación 1:1 de ambos componentes 100 % puros sin aglutinantes ni rellenos y se observó la inhibición en la formación de tumores y la metástasis de cáncer pancreático. También, se demostró que la guanábana indujo necrosis de células cancerígenas mediante la inhibición del metabolismo celular. En este sentido, se presentó una disminución en biomarcadores

relacionados con la hipoxia y la glucólisis en células pancreáticas posterior al suministro del extracto (Torres *et al.*, 2012).

Otra investigación, demostró que las sustancias activas obtenidas de la *Annona muricata* L. son efectivas en la disminución de la actividad cancerígena en la próstata (Leiva *et al.*, 2018) así como en el cáncer de mama (Oberlies *et al.*, 1997). De igual manera, se tienen registros

que algunos componentes de la fruta en cuestión podrían reducir el cáncer de hígado, gástrico y gastrointestinal (Leiva *et al.*, 2018). Finalmente, se realizó un estudio para conocer los efectos anticancerígenos de la guanábana posterior a su ingestión, encontrándose efectos positivos en animales que presentaban un gen cancerígeno sobreexpuesto (Gaviria *et al.*, 2018).

Los estudios contra el cáncer a partir de diferentes porciones de la planta de guanábana se han realizado con experimentos en el laboratorio, con modelos animales y en algunos casos con modelos humanos. La investigación de Schlie-guzmán (2009) se realizó, con un paciente femenino de la tercera edad que presentaba cáncer de mama en metástasis y demostró que la ingestión de hojas hervidas en agua en conjunto con un medicamento quimioterapéutico (Xeloda <sup>TM</sup>), contribuyó a que la enfermedad no siguiera en avance y se estabilizara. Debido a estos exitosos resultados, se han realizado formulaciones de comprimidos a partir de extractos de hojas de *Annona muricata* L. con acetato de etilo como solvente; esta mezcla cuenta con la presencia de acetogeninas que pudieran usarse como coadyuvantes en tratamientos cancerígenos.

Por otra parte, se han realizado otros análisis *in vitro* a partir de extractos de hojas de la misma fruta con el solvente anteriormente mencionado; Ramos (2014) analizó el proceso para contrarrestar la acción de las células cancerígenas de colon y de pulmón. Como resultado, el extracto indujo el proceso conocido como apoptosis en células cancerígenas, tanto de pulmón como de colon, mediante un proceso regido por las mitocondrias. Aunado a lo anterior, la muestra inhibió significativamente en el colon, la migración e invasión de sus células cancerígenas. Debido a la activación de la caspasa III por el extracto etanólico de las hojas, la muestra también demostró un efecto inductor de apoptosis en células leucémicas mielógenas

K562, lo que se confirmó con un ensayo TUNEL. Cabe señalar que la caspasa es una proteína con actividad enzimática como mediadora esencial de la transducción y la ejecución de la señal apoptótica (Chan, 2010).

Por último, Roduan *et al.* (2019) se propusieron conocer las actividades citotóxicas, antioxidantes y antitumorales de diferentes extractos de guanábana y acetogeninas aisladas. Encontraron en los resultados una importante actividad citotóxica, mientras que la annoniacina estudiada en los experimentos *in vitro*, presentó una baja actividad antioxidante; esta actividad puede ser vía enzimática o sin ella. Sin embargo, actúan contra el deterioro celular. Debido a los hallazgos, los extractos de *Annona muricata* L. presentan un efecto cancerígeno que puede ser de gran utilidad en la industria alimentaria y muy probablemente en la salud humana.

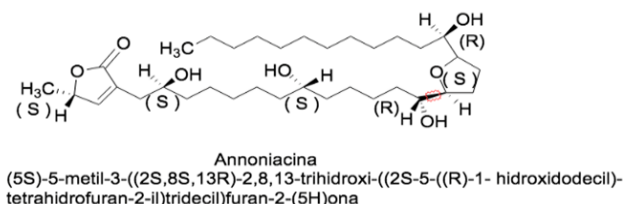
### Efectos secundarios y contraindicaciones de la annonacina

Algunas sustancias propias de la guanábana, como la annoniacina, pueden causar modificaciones nerviosas y trastornos del movimiento cuando se ingiere en grandes cantidades. En estudios *in vitro* se encontró que algunos componentes de esta fruta pueden causar daño en el sistema nervioso, hasta ocasionar síntomas de padecimientos neurológicos. Thang (2013), estudió la ingesta de grandes cantidades de guanábana con una elevada concentración de annonacina (Figura 4) en la fruta (15 mg/1,5 kg de muestra) o en jugos comerciales (36 mg/lata de 355 ml), mayor hasta en un 100 % que en el té de hojas (140 mg/taza) de *Annona muricata* L. Obtuvo que había grandes posibilidades de desarrollar cambios nerviosos y cierto tipo de alucinaciones.

Adicional al estudio anterior, Zorofchian, Rouhollahi, *et al.* (2015) en su investigación realizada en ratas a las que se les suministró

durante un año vía intravenosa una infusión de hojas de guanábana; sugieren que el consumo diario del fruto, o su néctar, durante un tiempo prolongado, podría causar lesiones cerebrales en los roedores, debido al contenido total de annoniacina, por lo que es relevante moderar la cantidad ingerida. El consumo constante de annoniacina en los animales del estudio acabó

con el abastecimiento de ATP, deteniéndose el transporte energético mitocondrial y causó alteraciones celulares. A pesar de estas evidencias, se deberían considerar más trabajos de esta índole para verificar si existe alguna perturbación o alteración específica en algún sistema por el exceso de ingesta de la fruta y/o extractos de esta.



**Figura 4**

#### Estructura química de la Annoniacina

Nota. Elaboración propia.

A pesar de que, en algunos estudios en animales, el consumo de la pulpa de la guanábana demostró disminuir la hipertensión y los niveles glucosídicos sanguíneos. Rottscholl (2016) encontraron que el consumo del fruto causa daño a los riñones y al hígado si se ingiere con frecuencia. En contraste, es poco probable que las bebidas o los alimentos que contienen la fruta puedan dañar el organismo humano cuando se toman como parte de una dieta equilibrada, sin excesos en el consumo de *Annona muricata* L. ya que no tiene las mismas concentraciones presentadas en una infusión u otra de las formas en las que se puede consumir.

El extracto de guanábana demostró efectos antiulcerosos al aumentar las actividades de óxido nítrico y prostaglandina E2 así como acciones antiinflamatorias y analgésicas al inhibir la ciclooxigenasa (COX) -1 y COX-2 y al bloquear los receptores de opioides. A pesar de esto, el consumo constante y por un período de tiempo extenso del jugo de guanábana en modelos animales, puede generar padecimientos neurodegenerativos debido a la formación de especies reactivas de nitrógeno (Yang *et al.*, 2015).

Los efectos de la suministración de guanábana según su ingestión, puede afectar de diferente manera a los órganos y funciones del cuerpo, entre estos se pueden encontrar: a) efectos secundarios neurotóxicos: debido a que, la annonacina presente en la planta es considerada como una neurotoxina, lo cual puede ayudar a desarrollar problemas cerebrales y neuronales, hasta presentar síntomas de enfermedades como Parkinson. Sin embargo, los estudios actuales no son suficientes para demostrar la actividad de la annonacina; b) problemas gastrointestinales: el ser humano presenta de manera natural, microorganismos y bacterias necesarias que ayudan a los procesos digestivos que se llevan a cabo en el organismo, por lo que el té de hojas de guanábana podría acabar con esa flora bacteriana debido a su potente acción antimicrobiana y antibacteriana; cuando este té es consumido por largos períodos de tiempo y en concentraciones elevadas, podría generar mala digestión y efectos negativos sobre los intestinos; c) presión arterial baja: las personas con hipotensión o que ingieren medicamentos antihipertensivos, deberían evitar el consumo del té de *Annona muricata* L. El exceso en su consumo también podría provocar mareos, náuseas, desvanecimientos

y jaquecas; d) interacción con fármacos: el consumo de este té por tiempo prolongado o dosis elevadas deberían ser consultadas con los profesionales de la salud. Los componentes de la guanábana pueden reaccionar con el compuesto activo del medicamento y generar problemas o efectos adversos. De igual manera las personas que ingieren medicamentos relacionados con el sueño, estrés, hipertensión y enfermedades neurodegenerativas, deben tener especial cuidado (Rottscholl, 2016).

Los alcaloides de la guanábana son perjudiciales para la supervivencia de las células nerviosas dopaminérgicas *in vitro*. Esto puede provocar disfunción neuronal y degeneración. Un extracto etanólico produjo comportamientos estimulantes de las células, ya sea, por un aumento del recambio mitocondrial que indica la estimulación en la producción de proteínas, o, por la preparación para abandonar la fase G1, tal vez, debido al estímulo promitótico presente en el extracto que actúa como un factor de crecimiento (Zamudio-Cuevas, 2014).

Las personas que padezcan problemas en los riñones o en el hígado, que sean hipertensas, que presenten mal de Parkinson, epilepsia, mujeres gestantes o lactantes, así como niños, deben tener especial cuidado, debido a que el extracto, infusión o té de hojas de *Annona muricata* L. está contraindicada para este sector de la población. En este sentido, por su acción vasodilatadora, cardiodepresora e hipotensora. Sin embargo, después del parto se recomienda el consumo de la fruta de forma moderada, para incrementar la producción de leche materna (Zorofchian, Fadaeinasab *et al.*, 2015). Se deben seguir las indicaciones médicas en caso de presentar algún tipo de diabetes (I, II o gestacional), a causa de que algunos estudios han demostrado efecto hipoglucemiante o anihiperoglucemiantes (León, 2017).

## Conclusiones

En años recientes, las investigaciones enfocadas a la *Annona muricata* L., han demostrado que es una fruta nutritiva, que presenta diferentes beneficios en la salud y con efectos positivos sobre el metabolismo glucosídico y sobre el cáncer. En este sentido, el consumo de ciertas partes de la planta, en forma de extractos o té, presenta una disminución en los niveles glucosídicos sanguíneos. Sin embargo, las pacientes con prescripción médica de hipoglucemiantes orales deben consultar el médico previo a la ingestión de productos elaborados con esta fruta.

Por otra parte, existen diversas investigaciones sobre los polifenoles que actúan como antioxidantes, así como de la anonacina, componente derivado de la *Annona muricata* L. Estas actividades han sido evaluadas experimentalmente tanto en el laboratorio como en modelos animales. A pesar de esto, existe muy poca información de estudios clínicos en humanos para conocer a profundidad su efecto sobre la salud.

Sin embargo, el té de hojas de guanábana no debe ser ingerido durante períodos prolongados de tiempo ni durante el embarazo, y tampoco es recomendable su consumo en niños pequeños. Debido a lo anterior, se considera que los productos derivados de esta planta aún no pueden ser empleados para un uso terapéutico. Lo anterior conlleva a dirigir las investigaciones científicas sobre los principios activos, como las acetogeninas y polifenoles encontrados en diversas partes de la planta y su efecto sobre padecimientos como la diabetes mellitus 2, cáncer y otras enfermedades. A pesar de las limitantes mencionadas, se puede observar un claro avance en materia de salud, en el empleo de los derivados de esta fruta en alimentos funcionales para sustituir o complementar algún tipo de tratamiento del área mencionada.

## Referencias

- Adeyemi, D.O., Komolafe, O.A., Adewole, S.O., Obuotor, M. E., y Adenowo, T. K. (2009). Anti hyperglycemic activities of *Annona muricata* (Linn). *African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines*, 6 (1), 62-69. <https://journals.athmsi.org/index.php/ajtcam/article/view/491>
- Adeyemi, D. O., Komolafe, O. A., Adewole, O. S., Obuotor, E.M., Abiodun, A.A., y Adenowo, T.K. (2010). Histomorphological and morphometric studies of the pancreatic islet cell of diabetic rats treated with extracts of *Annona muricata*. *Folia Morphology*, 69 (2), 92-100. [https://journals.viamedica.pl/foia\\_morphologica/article/view/15882/12520](https://journals.viamedica.pl/foia_morphologica/article/view/15882/12520)
- Al Syaad, K., Elsaid, F., Abdraboh, M., y Al-doaiss, A. (2019). Effect of graviola (*Annona muricata* L.) and Ginger (*Zingiber officinale* roscoe) on diabetes mellitus induced in male Wistar albino rats. *Folia Biologica (Praha)*, 65 (5-6), 275-284. <https://fb.cuni.cz/file/5914/fb2019a0029.pdf>
- Anuragi, H., Dhaduk, H. L., Kumar, S., Dhruve, J., Parekh, M., y Sakure, A. (2016). Molecular diversity of *Annona* species and proximate fruit composition of selected genotypes. *3 Biothech*, 6 (2), 204. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0520-9>
- Arroyo, J., Martínez, J., Ronceros, G., Palomino, R., Villarreal, A., Bonilla, P., Palomino, C., y Quino, M. (2009). Efecto hipoglucémico coadyuvante del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana), en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de glibenclámda. *Anales de la Facultad de Medicina*, 70 (3), 163-167. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832009000300002#:~:text=Se%20concluye%20que%20los%20pacientes,aquellos%20que%20solo%20recibieron%20glibenclámda.](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832009000300002#:~:text=Se%20concluye%20que%20los%20pacientes,aquellos%20que%20solo%20recibieron%20glibenclámda.)
- Ávila, R., Pérez, M., Giménez, A., y E. Hernández. (2012). La Guanábana: una materia prima saludable para la industria de alimentos y bebidas. *Revista Digital de Investigación y Posgrado UNEXPO. VRB. Venezuela*, 2 (2), 134-142. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4204951#:~:text=Buscar-,La%20Guan%C3%A1bana%3A%20una%20materia%20prima%20saludable%20para,industria%20de%20alimentos%20y%20bebidas&text=Las%20frutas%20conforman%20un%20grupo,para%20disfrutar%20una%20vida%20saludable.>
- Awodele, O., Ishola, I., Ikumawoyi, V., Akindele, A. y Akintonwa, A. (2013). Toxicity evaluation of the lyophilized fruit juice extract of *Annona muricata* Linn. (*Annonaceae*) in rodents. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 25 (4), 411- 421. <https://doi.org/10.1515/jbcp-2013-0085>
- Benatti, A., Carnevali, N., Rodrigues, R., Machado, M., Da Silva, N., y Salmen, F. (2018). *Annona muricata* Linn. Leaf as a source of antioxidant compounds with *in vitro* antidiabetic and inhibitory potential against  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, lipase non-enzymatic glycation and lipid peroxidation. *Biomedicine and pharmacotherapy*, 100, 83-92. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.172>
- Bernardi, D., Ribeiro, L., Andreatza, F., Neitzke, C., Oliveira, E., Botton, M., Nava, D., y Vendramim, J. (2017). Potential use of *Annona* by products to control *Drosophila suzukii* and toxicity to this parasitoid *Trichopria anastrephae*. *Industrial Crops and Products*, 110, 30-35. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.004>
- Carbano-Delaho, E. y Dib-diazgranados, J. (2013). Medicinal plants used by the Cogui at Palomino river, Sierra Nevada of Santa Marta (Colombia). *Caldasia*, 35 (2), 333-350. <http://www.scielo.org.co/pdf/cal/v35n2/v35n2a10.pdf>
- Chan, P., Ah, R., Mh, K., y A, Z. (2010). Anti-arthritis activities of *Annona muricata* L. leaves extract on complete Freund's adjuvant (CFA)-induced arthritis in rats. *Planta Medica*, 76 (12), P166. <https://doi.org/10.1055/S-0030-1264464>
- Chuzeville, C. (2015). *Identificación de la modulación de la proteína tau en el tratamiento in vitro con acetogeninas de guanábana (Annona muricata)*. [Tesis de maestría, Instituto de Ciencias Básicas de la Universidad Veracruzana, México]. Repositorio institucional. <http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/42611>
- Clement, Y., Mahase, V., y Jagroop, A., Kisson, K., Maharaj, A., Mathura, P., Quan, M. C., Ramadhin, D., y Mohammed, C. (2016). Remedios herbales y alimentos funcionales utilizados por pacientes con cáncer que asisten a clínicas de oncología especializadas en Trinidad. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16 (1), 399. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1380-x>
- Coria-Téllez, A. V., Montalvo-González, E., Yahia, y Obledo-Vázquez, E. N. (2016). *Annona muricata*: a comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Arabian Journal of Chemistry*, 11 (5), 662-691. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.01.004>
- Damayanti, D. S., Utomo, D. H., y Kusuma, C. (2017). Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extract as FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment through computational study. *Silico pharmacology*, 5 (1), 1-7. <https://doi.org/10.1007/s40203-017-0023-3>

- Dueñas, D. P. (2019). Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad citotóxica de un extracto de hojas de *Annona muricata* (Guanábana) frente a las líneas celulares MCF-7, 4T1, B16 y 3T3. [Tesis de pregrado, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio Institucional. <http://hdl.handle.net/10554/43199>
- Florence, N., Benoit, M., Jonas, K., Alexandra, T., Desiré, D., Pierre, K., y Théophile, D. (2013). Antidiabetic and antioxidant effects of *Annona muricata* (Annonaceae), aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 151 (2), 784-790. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.09.021>
- Flórez, Y. y Martínez, E. (2010). Obtención y evaluación de extractos bioactivos presentes en semillas de *Annona muricata* de la región cafetera. [Tesis de pregrado, Universidad Tecnológica de Pereira]. Repositorio UTP, Colombia. <https://hdl.handle.net/11059/1828>
- Fuentes-Berrio, L., Acevedo-Correa, D., y Gélvez-Ordóñez, V. (2015). Alimentos funcionales: impacto y retos para el desarrollo bienestar de la sociedad colombiana. *Biotechnología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 13 (2), 140-149. [http://dx.doi.org/10.18684/BSAA\(13\)140-149](http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(13)140-149)
- Gajalakshmi, S., Vijayalakshmi, D., y Rajeswari, V. (2012). Phytochemical and pharmacological properties of *Annona muricata*: a review. *International Journal of Pharmaceutics Sciences*, 4 (2), 3 - 6. [https://www.researchgate.net/publication/280012402-Phytochemical\\_and\\_pharmacological\\_properties\\_of\\_Annona\\_muricata\\_A\\_review](https://www.researchgate.net/publication/280012402-Phytochemical_and_pharmacological_properties_of_Annona_muricata_A_review)
- García, K. K. (2009). Aislamiento y caracterización estructural de acetogeninas obtenidas de semillas de *Annona cherimolia* y *Annona muricata*. Evaluación genotóxica y potencial quimioterapéutico. [Tesis de doctorado, Instituto Politécnico Nacional]. Repositorio Dspace, México. <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/4071>
- Gaviria, M., Posada, S., y Mira, J. (2018). Acetogeninas, alternativa en el tratamiento de cáncer en caninos. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 13 (2), 157-172. <http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.13.2.5>
- Gavamukulya, Y., Abou-Elella, F., Wamunyokoli, F., y AEl-Shemy, H. (2014). Phytochemical screening, antioxidant activity and *in vitro* anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7 (1), s355-s363. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60258-3](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60258-3)
- Gavamukulya, Y., Wamunyokoli, F., y El-Shemy, H. A. (2017). *Annona muricata*: Is the natural therapy to most disease conditions including cancer growing in our backyard? A systematic review of its research history and future prospects. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10 (9), 835-848. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.08.009>
- Gomes, de M. J., de Sousa, T. A., Nobre, de A. C., de Vasconcelos, D. L., do Desterro, M., Carneiro, do N. S., Cavalcanti, E. L., y de Albuquerque, U. P. (2010). Antiproliferative activity, antioxidant capacity and tannin content in plants of semi-arid northeastern Brazil. *Molecules*, 15 (12), 8534-8542. <https://doi.org/10.3390/molecules15128534>
- Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Archives of Toxicology*, 86 (3), 345-391. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>
- Hamid, R., Foong, C., Ahmad, Z., y Hussain, M. (2012). Antinociceptive and anti-ulcerogenic activities of the ethanolic extract of *Annona muricata* leaf. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22 (3), 630-641. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X201200500000001>
- Holanda, C. M., Barbosa, D. A., Demeda, V. F., Bandeira, F. T., Medeiros, H. C., Pereira, K. R., Barbosa, V. S., y Medeiros, A. C. (2014). Influence of *Annona muricata* (soursop) on biodistribution of radiopharmaceuticals in rats. *Acta Cirurgica Brasileira*, 29 (3), 145-150. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502014000300001>
- Indrawati, L., Ascobat, P., Bela, B., Abdullah, M., y Surono, I. (2017). The effect of an *Annona muricata* leaf extract on nutritional status and cytotoxicity in colorectal cancer: A randomized controlled trial. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 26 (4), 606 - 612. <https://doi.org/10.6133/APJCN.062016.02>
- Inzucchi, S. y Sherwin, R. (2012). 237 - Type 2 Diabetes Mellitus. En Goldman, L., y Schafer A.I. (Eds.), *Goldman's Cecil Medicine* (ed. 24), e95-e108. Elsevier Inc. España. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-1604-7.00562-5>
- Jiménez-Zurita, J. O., Balois-Morales, R., Alia-Tejagal, I., Juárez-López, P., Sumaya-Martínez, M. T., y Bello-Lara, J. E. (2016). Caracterización de frutos de guanábana (*Annona muricata* L.) en Tepic, Nayarit, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7 (6), 1261-1270. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342016000601261](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016000601261)
- Leiva, G. S., Gayoso, B. G., y Chang, C. L. (2018). *Annona muricata* L. "guanábana" (Annonaceae), una fruta utilizada como alimento en el Perú prehispánico. *Arnaldia*, 25 (1), 127-140. <http://doi.org/10.22497/arnaldia.251.25108>
- León, G., Granados, C., y Osorio, M. del R. (2017). Caracterización de la pulpa de *Annona muricata* L.

cultivada en el Norte del Departamento de Bolívar – Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21 (4), 1-11. <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci-arttext&pid=S1028-47962016000400012>

López, A. (2016). *Extracción, cuantificación y actividad antiinflamatoria de compuestos fenólicos de Laelia furfuraceae (Orchideaceae)*. [Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional]. Repositorio Dspace, México. [http://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx:8080/xmlui/handle/LITER\\_CIIDIROAX/267](http://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx:8080/xmlui/handle/LITER_CIIDIROAX/267)

Lourenco, S., Moldao-Martins, M., y Alves, V. (2019). Antioxidants of natural plant origins: from sources to food industry applications. *Molecules*, 24 (22), 1-25. <https://doi.org/10.3390/molecules24224132>

Malviya, N., Jain, S. Y., y Malviya, S. (2010). Antidiabetic potencial of medicinal plants. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 67 (2), 113-118. <https://www.ptfarm.pl/wydawnictwa/czasopisma/acta-poloniae-pharmaceutica/110/-/13037>

Moncada, M., Giraldo, A., y Landazuri, P. (2012). Antioxidant activity of aqueous ethanolic extracts of the peel and seed of *Annona muricata* and the leaves of *Brownea ariza*. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 24, 143-151. <https://www.revistaaccb.org/r/index.php/accb/article/view/83>

Morales, F. E. de J. (2017). *Determinación de metabolitos secundarios en hojas de guanábana (Annona muricata L.) cultivada con insumos orgánicos*. [Tesis de maestría, Tecnológico Nacional de México, campus Tuxtla Gutiérrez]. Repositorio institucional. <http://repositorio.digital.tuxtla.tecnm.mx:8080/xmlui/handle/123456789/839>

Nawwar, M., Ayoub, N., Hussein, S., Hashim, A., El-Sharawy, R., Wende, K., Harms, M., y Lindequist U. (2012). Flavonol triglycoside and investigation of the antioxidant and cell stimulating activities of *Annona muricata* Linn. *Archives of Pharmacal Research*, 35 (5), 761-767. <https://doi.org/10.1007/s12272-012-0501-4>

N'Gouemo, P., Koudogbo, B., Pambou, H., Akono-Nguema, C., y Etoua, M. (1997). Effects of ethanol extract of *Annona muricata* on pentylene-tetrazol-induced convulsive seizures in mice. *Phytotherapy research*, 11 (3), 243-245. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199705\)11:3<243::AID-PTR66>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199705)11:3<243::AID-PTR66>3.0.CO;2-A)

Oberlies, N., Chang, C., y McLaughlin, J. (1997). Structure-Activity Relationships of Diverse Annonaceous Acetogenins against Multidrug Resistant Human Mammary Adenocarcinoma (MCF-7/Adr) Cells. *Journal of Medical Chemistry*, 40 (13), 2102-2106. <https://doi.org/10.1021/jm9700169>

Rothman-Kabir, Y. (2018). Diabetes. En Omer H., *Parenteral Vigilant Care*, 118-123.

Perel, C. (2018). Insuficiencia cardíaca y diabetes. Nuevos tratamientos para la diabetes. *Insuficiencia Cardíaca*, 13 (4), 155-169. <http://www.insuficienciacardiaca.org/html/v13n4/body/v13n4a2.html>

Pieme, C., Kumar, S., Dongmo, M., Dongmo, M., Moukette, B., Boyoum, F., Ngogang, J., y Saxena A. (2014). Antiproliferative activity and induction of apoptosis by *Annona muricata* (annonaceae) extract on human cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14 (1), 516. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-516>

Oazi, A. K., Siddiqui, J. A., Jahan, R., Chaudhary, S., Walker, L. A., Sayed, Z., Jones, D., Batra, S., y Macha, M. (2018). Emerging therapeutic potential of graviola and its constituents in cancer. *Carcinogenesis*, 39 (4), 522-533. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgy024>

Ramírez, A. y Pacheco, E. (2011). Composición química y compuestos bioactivos presentes en pulpas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia*, 36 (1), 71-75. <https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2018/01/071-RAMIREZ-5.pdf>

Ramos, J. C. (2014). *Síntesis quimioenzimática de anillos THF presentes en acetogeninas*. [Tesis de doctorado, Universidad de la República]. Repositorio institucional. Uruguay. <https://hdl.handle.net/20.500.12008/2681>

Roduan, M.R.M., Hamid, R. A., Kqueen, C. Y. K., y Mohtarrudin, N. (2019). Cytotoxicity, antitumor-promoting and antioxidant activities of *Annona muricata* in vitro. *Journal of herbal medicine*, 15. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.04.004>

Rottscholl, R., Haegle, M., Jain, B., Xu, H., Respondek, G., Höllner, M., Rösler, T., Bony, E., Le Ven, J., Guérineau, V., Schmitz-Afonso, I., Champy, P., Oertel, W., Yamada, E., y Höglinder, G. (2016). Chronic consumption of *Annona muricata* juice triggers and aggravates cerebral tau phosphorylation in wild-type and MAPT transgenic mice. *Journal of Neurochemistry*, 139 (4), 624-639. <https://doi.org/10.1111/jnc.13835>

Schlie-Guzmán, M., González-Esquinca, A., y Luna-Cazares, L. (2009). Las acetogeninas de *Annonaceae*: efecto antiproliferativo en líneas celulares neoplásicas. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8 (4), 245-257. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85611265004>

Siegel, R. L., Miller, K. D., y Jemal, A. (2018). Cancer statistics. *CA Cancer Journal for Clinicians*, 67, 7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21442>

Siti, Z. M., Tahir, A., Farah, A. I., Fazlin, S. M., Sondi, S., Azman, A.H., Maimunah, A. H., Haniza, M. A., Haslinda, M. D., Zulkarnain, A. K., Zakiah, I., y Wan, Z. W. C. (2009). Use of traditional and complementary medicine in Malaysia: a base line study. *Complementary Therapies in Medicine*, 17(5-6), 292-299. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2009.04002>

Thang, T. D., Dai, D. N., Hoi, T. M., y Ogunwande, I.A. (2013). Study on the volatile oil contents of *Annona glabra* L., *Annona squamosa* L., *Annona muricata* L. and *Annona reticulata* L. from Vietnam. *Natural Products Research*, 27 (13), 1232-1236. <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.724413>

Torres, M. P., Rachagani, S., Purohit, V., Pandey, P., Joshi, S., Moore, E., Johansson, S., Singh, P., Ganti, A., & Batra, S. (2012). Graviola: a novel promising natural derived drug that inhibits tumorigenicity and metastasis of pancreatic cancer cells *in vitro* and *in vivo* through altering cell metabolism. *Cancer letters*, 323 (1), 29-40. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.03.031>

Vit, P., Santiago, B., y Pérez-Pérez, E. M. (2014). Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana *Annona muricata* L. *Interciencia*, 39 (5), 350-353. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33930879008>

Wang, J., Lei, K., y Han, F. (2018). Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 22 (12), 3855-3864. [https://doi.org/10.26355/eurrev\\_201806\\_15270](https://doi.org/10.26355/eurrev_201806_15270)

Yang, C., Gundala, S., Mukavilli, R., Vangala, S., Reid, M., y Aneja, R. (2015). Synergistic interactions among flavonoids and acetogenins in *Graviola* (*Annona muricata*) leaves confer protection against prostate cancer. *Carcinogenesis*, 36 (6), 656-665. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgv046>

Yahid, A. I., Rahman, A. B. H., Wong, M. P. K., y Zain, W. (2018). Potential benefits of *Annona muricata* in combating cancer: A review. *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 25 (1), 5-15. <https://doi.org/10.21315/mjms2018.25.1.2>

Zamudio-Cuevas, Y., Díaz-Sobac, R., Vazquez-Luna, A., Landa-Solis, C., Cruz-Ramos, M., Santamaria-Olmedo, M., Martínez-Flores, K., Fuentes-Gómez, A. J., y López-Reyes, A. (2014). The antioxidant activity of soursop decreases the expression of a member of the NADPH oxidase family. *Alimentos Funcionales*, 5 (2), 303-309. <https://doi.org/10.1039/C3FO60135H>

Zeng, L., Ye, Q., Oberlies, N. H., Shi, G., Gu, Z., He, K., y McLaughlin, J. L. (2004). Recent advances in annonaceous acetogenins. *Natural Product Reports*, 13 (4), 275-306. <https://doi.org/10.1039/NP9961300275>

Zorofchian, S., Karimian, H., Rouhollahi, E., Paydar, M., Fadaeinasab, M., y Abdul, H. (2014). *Annona muricata* leaves induce G1 cell cycle arrest and apoptosis through mitochondria-mediated pathway in human HCT-116 and HT-29 colon cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 156, 277-289. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.08.011>

Zorofchian, S., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., y Mohd Ali, K. (2015). *Annona muricata* (Annonaceae): a review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 16 (7), 15625-15658. <https://doi.org/10.3390/ijms160715625>

Zorofchian, S., Rouhollahi, E., Karimian, H., Fadaeinasab, M., Firoozinia, M., Ameen Abdulla, M., y Abdul Kadir, H. (2015). The chemopotential effect of *Annona muricata* leaves against azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats and the apoptotic effect of acetogenin anomuricin E in HT-29 cells: a bioassay-guided approach. *PLOS one*. *Journal pone* 10 (4), 1-28. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122288>

# Evaluación de las características fisicoquímicas del mango, madurado artificialmente con acetiluro de calcio

## Evaluation of the physicochemical characteristics of mango, artificially matured with calcium acetylide

Diego Tuarez García<sup>1</sup> 

Cyntia Erazo Solórzano<sup>2</sup> 

Jaime Vera Chang<sup>3</sup> 

Martín Solórzano Menéndez<sup>4</sup> 

Kerly Alvarado Vásquez<sup>5</sup> 

Luis Vásquez Cortez<sup>6</sup> 

<sup>1</sup>Universidad Técnica Estatal de Quevedo-UTEQ, Los Ríos Ecuador ✉ [dtuarez@uteq.edu.ec](mailto:dtuarez@uteq.edu.ec)

<sup>2</sup>Universidad Técnica Estatal de Quevedo-UTEQ, Los Ríos Ecuador ✉ [jcerazo@uteq.edu.ec](mailto:jcerazo@uteq.edu.ec)

<sup>3</sup>Universidad Técnica Estatal de Quevedo-UTEQ, Los Ríos Ecuador ✉ [jverac@uteq.edu.ec](mailto:jverac@uteq.edu.ec)

<sup>4</sup>Instituto de Posgrado estudiante de la Maestría de Agroindustria Universidad Técnica de Manabí ✉ [raul.solorzano2016@uteq.edu.ec](mailto:raul.solorzano2016@uteq.edu.ec)

<sup>5</sup>Instituto de Posgrado estudiante de la Maestría de Agroindustria Universidad Técnica de Manabí ✉ [kalvarado6940@utm.edu.ec](mailto:kalvarado6940@utm.edu.ec)

<sup>6</sup>Instituto de Posgrado estudiante de la Maestría de Agroindustria Universidad Técnica de Manabí ✉ [lvasquez7265@utm.edu.ec](mailto:lvasquez7265@utm.edu.ec)

Recibido: 06/07/2022 Aceptado: 15/07/2022

**Resumen** El uso y aplicación de agentes artificiales de maduración de bajo costo es común entre productores y comerciantes, porque los resultados obtenidos son aceptables. Sin embargo, por falta de metodología, son empleados en dosis desproporcionadas, sin prever la implicación que tiene sobre características propias de la fruta. El objetivo principal de esta investigación es evaluar las propiedades fisicoquímicas en dos variedades de mango (*Mangifera indica*), Tommy Atkins y Kent, sometidos a maduración artificial con un agente químico (acetiluro de calcio CaC<sub>2</sub>). Se utilizaron dos variedades de mango en estado de madurez fisiológica uniforme, y se relacionaron con tres dosis del agente de maduración. Posteriormente, se acondicionaron las frutas en cajas de madera, donde se monitoreó el tiempo, la temperatura y humedad. Las variables analizadas son Brix, pH, humedad, energía, proteína, acidez, textura, y fibra. Los resultados conseguidos resaltan que, independientemente de la diversidad, tanto en límites físicos como en límites químicos de la fruta, se destacaron los que fueron sometidos a la dosis de 10 g/kg de fruta por un periodo 48 horas de exposición en un ambiente cerrado herméticamente, con control de temperatura entre los 27,7 °C y humedad relativa ambiental del 90 %. Es fundamental resaltar que se aceleró el tiempo de maduración de la fruta en dos días, de acuerdo con la dosificación empleada.

**Palabras clave:** arsénico, etileno, fruta climaterica, maduración artificial.

**Abstract** The use and application of low-cost artificial ripening agents are common among producers and traders because the results obtained are acceptable, however, due to the lack of methodology, they are used in disproportionate doses, without foreseeing the implication that it has on the characteristics of the fruit. The main objective is to evaluate the physical-chemical properties of two varieties of mango (*Mangifera indica*), Tommy Atkins and Kent, subjected to artificial ripening with a chemical agent (calcium acetylide CaC<sub>2</sub>). For the experiments, two varieties of mango in a state of uniform physiological maturity were used, relating them to three doses of the ripening agent. For ripening, the fruits were conditioned in wooden boxes where time, temperature, and humidity were monitored. The variables analyzed are Brix, pH, moisture, energy, protein, acidity, texture, and fiber. The results obtained highlight that, regardless of the diversity, both in physical limits and in chemical limits of the fruit, those who were subjected to a dose of 10 g/kg of fruit for a period of 48 hours of exposure in a hermetically sealed environment stood out, controlling that the temperature is between 27.7 °C and relative humidity between 90 %. It is essential to highlight that the maturation time of the fruit was accelerated by two days according to the dosage used.

**Keywords:** arsenic, ethylene, climacteric fruit, artificial ripening.

## Introducción

El mango y sus variedades derivadas son muy utilizadas alrededor del mundo, aproximadamente en 100 países. A pesar de tener requerimientos agroclimáticos singulares, es una fruta muy apetecida por su percepción sensorial, aroma y sabor. Además de rescatar los valores nutricionales que posee, es considerada como potencialmente consumida a nivel mundial, por lo que se puede expandir comercialmente en la mayoría de las latitudes (Akram *et al.*, 2013).

En la actualidad, se conoce que internacionalmente se produce y exporta el mango, debido a la gran producción de la fruta entre septiembre y enero (Dávalo, 2019). A su vez, se presenta una alternativa de industrialización o plantas productoras de mango en diversas presentaciones, requeridas por el consumidor en los mercados nacionales e internacionales (Guerrero, 2018).

Existe un agente de maduración artificial comúnmente empleado, el cual se conoce comercialmente como gas etileno ( $C_2H_4$ ). Debido al alto costo de este agente, los agricultores optan por buscar nuevas alternativas que resulten más económicas, como el carburo de calcio ( $CaC_2$ ), que tiene una función o reacción similar de liberación de gas acetileno, al ponerse en contacto con la humedad atmosférica (Galvis *et al.*, 2003). Existe una prohibición en cuanto a la utilización  $CaC_2$  en la maduración de frutas en general. Sin embargo, se encuentra disponible en las tiendas para su empleo en el campo o industrias, debido a que en bajas cantidades no es perjudicial para la salud (Bejarano y Suárez, 2015).

Debido a lo expuesto anteriormente, resultó importante realizar dosificaciones del acetiluro de calcio como agente de maduración, que permitieran evaluar los cambios bromatológicos y la calidad final de la fruta.

## Materiales y métodos

### Acondicionamiento de la muestra

Las muestras de las dos variedades de mango fueron cosechadas en el mes de enero, en el cantón Balzar, Provincia del Guayas. Se escogieron 15 kilogramos por cada variedad, mismos que no presentaban daños mecánicos, ni presencia de insectos o enfermedades. Luego se efectuó la prueba de Brix para homogenizar el estado de madurez inicial de la fruta.

Tomando como referencia la investigación realizada por Vera-Chang, con dos cultivares de bananas, se dosificó el acetiluro de calcio a 0,5 y 10 gramos por kilogramo de fruta (Vera-Chang *et al.*, 2022). Posteriormente, se colocó en un recipiente de plástico de boca ancha, se acondicionó la caja de madera con la fruta, más el envase que contenía el acetiluro de calcio, y se agregaron 200 mL de agua, misma que, al entrar en contacto con el agente de maduración, desprende gas acetileno. Se cerraron herméticamente las cajas de maduración por 48 horas, se mantiene la temperatura controlada y se lleva el registro durante dos días, para posteriormente ventilar las muestras por 24 horas y tomar una muestra de cada tratamiento para los análisis pertinentes, tal como se indica en la Figura 1.

### Variables fisicoquímicas

**Determinación de pH:** se realizó la medición del pH a las muestras de mango de cada tratamiento y sus repeticiones de acuerdo con la NTE INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN], 2013a, 2013b).

**Grado Brix:** mediante un Brixómetro que permite medir la cantidad de sólidos disueltos que hay en un líquido, se aplicaron sobre el prisma 1 a 3 gotas de la solución, en este caso, de la pulpa de mango, y después de 5 minutos, se procede a la lectura de los grados Brix según la normativa NTE INEN/ISO 2173 (INEN, 2013c).

**Evaluación de acidez titulable:** se realizó la determinación de acidez titulable según la normativa INEN ISO 750, y el resultado se expresó como porcentaje de ácido cítrico (INEN, 2013d).

**Textura:** de acuerdo con el procedimiento indicado en NTE INEN 1909 (INEN, 2016).

**Humedad:** se realizó mediante una prueba de gravimetría, que consiste en secar en una estufa la muestra, hasta obtener peso constante, de acuerdo con la norma ecuatoriana INEN ISO 712 (INEN, 2013a).

**Fibra:** se empleó el método INEN ISO 522 (INEN, 2013e).

**Proteína:** dicha prueba se realizó empleando el método INEN ISO 20483/ Kjeldahl, que permitió una visión en cuanto a la concentración de nitrógeno total en mango, y donde el contenido de proteína se expresó en porcentaje (INEN, 2013b).

**Análisis estadístico:** se empleó un DCA, con arreglo bifactorial C x D. Tal como indica la Tabla 1, constó de 3 tratamientos con 3 repeticiones; para conocer el efecto que existía entre las inducciones aplicadas, se requirió de dos testigos, las variedades del mango utilizadas fueron Tommy y Kent. Para el análisis de las medias, se utilizó el experimento de rangos múltiples de Tukey ( $p < 0,05$ ). Los datos encontrados en la experimentación fueron analizados por el programa estadístico InfoStat.

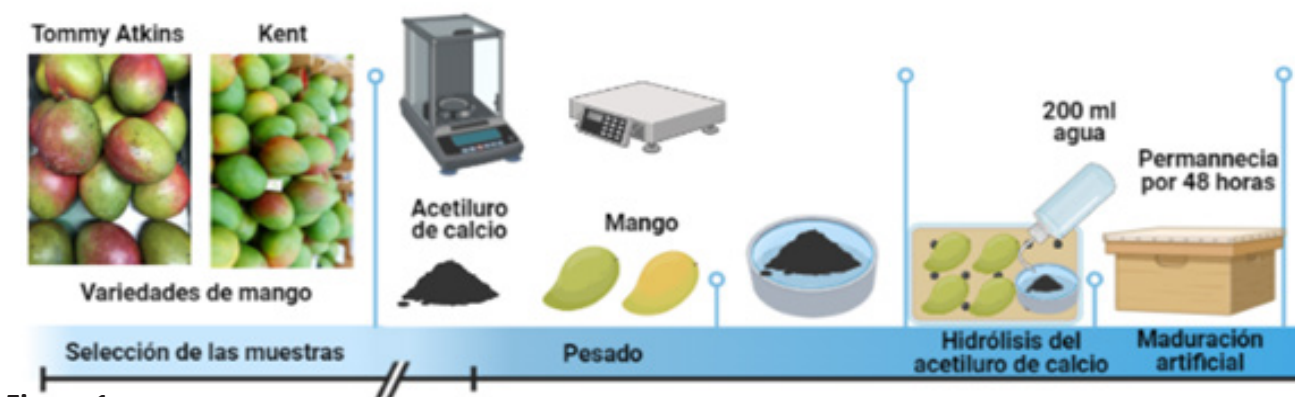


Figura 1

### Proceso experimental

Nota. Elaboración propia.

Tabla 1

### Esquema de Andeva

| Fuente de variación |                             | Grados de libertad |
|---------------------|-----------------------------|--------------------|
| Tratamientos        | $(C \times D) - 1$          | 5                  |
| Factor C            | $(C - 1)$                   | 1                  |
| Factor D            | $(D - 1)$                   | 2                  |
| Interacción C * D   | $(C - 1)(D - 1)$            | 2                  |
| Error experimental  | $(C \times D)(r - 1)$       | 12                 |
| Total               | $(C \times D \times n) - 1$ | 17                 |

Nota. Elaboración propia.

## Resultados y discusión

### Textura

En efecto, los resultados de la variable textura, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), mostraron que existió diferencia estadística significativa en el factor A, que corresponde a las variedades de mangos. La variedad Kent presentó una media de 7,05 kgf versus la variedad Tommy con 6,73 kgf, la primera obtuvo una consistencia más suave y blanda que la segunda.

En concordancia, Quintero *et al.* (2013) encontraron valores similares en la investigación que realizaron, al ajustare a modelos lineales que les permitieron obtener una media de 5,4 kgf, donde se atribuye el comportamiento de la fruta a la degradación de polisacáridos como celulosas, pectinas y hemicelulosas.

### Grado Brix

Se encontró que existe diferencia significativa entre las variedades Kent, con una media 5,13 °Bx, y Tommy con 5,49 °Bx. Al analizar la dosificación de 10g/kg de acetiluro de calcio, se observó que existió diferencia significativa con una media de 12,63 °Bx. Al compararlos con los testigos T1 y T4, mostraron valores correspondientes a una fruta verde de 1,10 °Bx y 1,60 °Bx, respectivamente.

Según Siller-Cepeda *et al.* (2009), en las variedades de mango Tommy Atkins, Haden y Kent, la calidad de exportación confiere propiedades de estandarización de 7 °Bx. Existieron valores significativos para los grados Brix de la variedad de mango Haden, entre 9 y 17 °Bx y 8,7 a 19,4 °Bx en Kent y Tommy, respectivamente, con sabor muy dulce.

### Acidez

Se observó que existe diferencia estadística para esta variable. En cuanto a la variedad Tommy, se obtuvo una media de 8,48 %, superior al valor

de la variedad Kent; para los tratamientos T3 y T6, se evidenció una media de 13,80 % y 8,90 %, respectivamente. Considerando la aplicación de acetiluro de calcio para el T1 y T3, los valores de acidez fueron 5,13 % y 5,80 %.

Según Quintero *et al.* (2013), la acidez es uno de los parámetros con mayor variabilidad, debido a las reacciones químicas que se producen en el fruto, por la presencia de ácidos orgánicos y la transformación o degradación en el proceso de maduración.

### pH

La variable pH, o potencial de hidrógeno, muestra valores estadísticos altamente significativos con base en la probabilidad Tukey, los factores evaluados de variedades de mango mostraron para Kent una media de 3,84, cuya aplicación fue de 5 g/kg de acetiluro de calcio.

Ramírez *et al.* (2010) mostraron valores de pH diferentes entre distintos cultivares, resaltando que las variedades estudiadas, Tommy y Kent, oscilaron en 3,74 y 4,33 de pH, respectivamente, y que el CODEX alimentario indica que, para el procesamiento industrial, el pH óptimo debe oscilar entre 3,5 y 4,0.

### Humedad

La variedad de mango Tommy mostró una media de 89,94 % de humedad y la variedad Kent de 89,40 %. Al analizar los valores reportados por la dosificación empleada, resalta la aplicación de 10g/kg de acetiluro de calcio con una media de 90,74 % de humedad, sin embargo, los testigos (T1 y T4) mostraron una media de 89,85 y 89,54 %, respectivamente.

Según Quintero *et al.* (2013), existe gran cantidad de agua atrapada en las cadenas de almidones en las frutas, y esta actúa en todos los procesos bioquímicos, producto de la transpiración de la fruta.

## Fibra

Se evidenció que existe diferencia estadística significativa en comparación con la prueba del análisis de la varianza entre factores estudiados. Para la variedad de mango Tommy, se encontró un contenido de fibra de 7,24 % y para la variedad Kent fue de 5,72 %.

Por otro lado, Cruz *et al.* (2015) indican que el mango tiene un importante contenido de fibra, indispensable en el crecimiento de los seres humanos. En el estudio, este contenido estuvo en el rango de 5,67 % a 6 %, lo que se atribuye a que el proceso de maduración aplicado actúa de manera significativa sobre este parámetro.

## Proteína

Al analizar el contenido de proteína en la variedad de mango Tommy, este fue 0,8 %, mientras que en la variedad Kent fue 0,7 %. La dosificación del agente de maduración y la interacción entre tratamientos indican que en el T3 y T6 se encontraron porcentajes de proteína superiores, 0,85 y 0,89 %, respectivamente.

En el mismo sentido, Medrano *et al.* (2015) obtuvieron valores similares a la investigación realizada, donde reportaron un 0,8 % en el contenido de proteína.

## Energía

En la presente variable se obtuvieron valores significativos, la variedad de mango Tommy con 2,67 kcal. En referencia a la variable Kent, se obtuvo valor de 2,28 kcal, con una dosificación de 10 g/kg. De la aplicación de acetiluro de calcio, se obtuvo 3,00 kcal. En relación con la interacción, se encontraron valores para el T3 con una media comparativa de 3,20 kcal, entonces se concluye que existe un aumento de energía en la aplicación de acetiluro de calcio. Al mismo tiempo, sus testigos T1 y T4 tuvieron promedios bajos o menores a las inducciones, desde 1,80 kcal llegando a 1,50 kcal.

## Tiempo de maduración (días)

No se encontró diferencia significativa en el factor A, esto quiere decir que la variedad de mango, ya sea el Tommy o el Kent, no influye

directamente en el tiempo de maduración, establecido en dos días, mientras que las muestras testigo alcanzaron la maduración comercial en 10 a 11 días. Sin embargo, la dosificación del agente de maduración, sí influye en este aspecto.

Según Slauhter (2009), la etapa de poscosecha determina la calidad, debido a que afecta directamente al almacenamiento para conseguir la reducción del tiempo de maduración de 3 a 9 días madurativos.

## Conclusiones

La aplicación de acetiluro de calcio, que al entrar en contacto con el agua reacciona desprendiendo acetileno, evidenció una aceleración en el estado de maduración. En comparación con otra fruta de similares características iniciales, en términos de tiempo, la diferencia entre la fruta madurada naturalmente y con el método objeto de esta investigación fue de 10 a 11 días, lo que se manifestó en cambios en las características físicas y químicas, como cambios de color, aroma y textura. Además, la mejor dosificación aplicada fue la de 10 g/kg de acetiluro de calcio sobre kilogramo de fruta, con una temperatura promedio de 27,7 °C y una humedad relativa ambiental de 90 %, condiciones óptimas para llevar a cabo el proceso.

## Agradecimientos

A los profesionales que han hecho posible realizar la investigación, en la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, institución que financió el proyecto de investigación por medio de la VII Convocatoria del Fondo Competitivo de Investigación Científica y Tecnológica "FOCICYT".

## Referencias

Akram, W., Ahmad, S., Yaseen, M., Ahmad, W., Ahmad, W., Ayub, C. M., y Shehzad, M. A. (2013). Calcium carbide (CaC<sub>2</sub>): Effect on fruit set and yield of mango (*Mangifera indica* L.) cv. Langra. *African Journal of Biotechnology*, 12 (23), 3669-3675. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2079>

Bejarano, J., y Suárez, M. (2015). Algunos peligros químicos y nutricionales del consumo de los alimentos de venta en espacios públicos. *Revista de La Universidad Industrial de Santander. Salud*, 47 (3), 349-

360. <https://doi.org/10.18273/revsal.v47n3-2015011>

Cruz, Á., Guamán, M., Castillo, M., Glorio, P., y Martínez, R. (2015). Fibra dietaria en subproductos de mango, maracuyá, guayaba y palmito. *Revista Politécnica*, 36 (2), 1-7. [https://revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista\\_politecnica2/article/view/633](https://revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista_politecnica2/article/view/633)

Dávalo, B. B. A. (2019). *Análisis de la cadena de valor sostenible en las exportaciones de mango desde Ecuador hacia Francia (Período 2014-2017)*. [Tesis de Maestría, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil]. <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/13960>

Galvis, A., Arjona, H., y Fischer, G. (2003). Efectos de la aplicación de soluciones de cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>) sobre la vida de almacenamiento y la calidad del fruto de mango (*Mangifera indica* L.) variedad Van Dyke. *Agronomía Colombiana*, 21 (2), 190-197. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180317974008>

Guerrero, G. (2018). La producción del mango ecuatoriano. *Perspectiva*, junio, 8-15. [https://perspectiva.ide.edu.ec/investiga/wp-content/uploads/2018/06/Perspectiva-Junio-2018\\_1-P.pdf](https://perspectiva.ide.edu.ec/investiga/wp-content/uploads/2018/06/Perspectiva-Junio-2018_1-P.pdf)

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2013a). *NTE INEN-ISO 1842:2013 Productos vegetales y de frutas - determinación de pH (IDT)*.

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2013b). *NTE INEN-ISO 20483:2013 Cereales y leguminosas. Determinación del contenido en Nitrógeno y cálculo del contenido de fibra bruta*.

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2013c). *NTE INEN-ISO 2173:2013 Productos vegetales y de frutas - determinación de sólidos solubles - método refractométrico (IDT)*.

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2013d). *NTE INEN-ISO 750:2013 Productos Vegetales y de Frutas - Determinación de la Acidez Titulable (IDT)*.

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2013e). *NTE INEN 522:2013 Harinas de origen vegetal. Determinación de la fibra cruda*.

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2016). *NTE INEN-ISO 1909 Frutas frescas. Tomate de árbol. Requisitos*.

Medrano, A., Olivas-Aguirre, F. J., Velderrain, G., González, L. A., López, J. A. y Álvarez, E. (2015). El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. *Nutrición Hospitalaria*, 31 (1), 67-75. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7701>

Quintero, V., Giraldo, G., Lucas, J. y Vasco, J. (2013). Caracterización fisicoquímica del mango común (*Mangifera indica* L.) durante su proceso de maduración. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11 (1), 1-9. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-35612013000100002](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612013000100002)

Ramírez, M., Quijada, O., Castellano, G., Burgos, M., Camacho, R. y Marín, C. (2010). Características físicas y químicas de trece cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) en el municipio Mara en la planicie de Maracaibo. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 10 (2), 65-72. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81315091002>

Siller-Cepeda, J., Muy-Rangel, D., Báez-Sañudo, M., Araiza-Lizarde, E. e Ireta-Ojeda, A. (2009). Calidad poscosecha de cultivares de mango de maduración temprana, intermedia y tardía. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32 (1), 45-52. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-73802009000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802009000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

Slauhter, D. (2009). Métodos para el manejo de la maduración del mango. *Biological and Agricultural Engineering*, enero, 1-12. [https://www.mango.org/wp-content/uploads/2018/03/Methods\\_for\\_Management\\_of\\_Ripening\\_Spn.pdf](https://www.mango.org/wp-content/uploads/2018/03/Methods_for_Management_of_Ripening_Spn.pdf)

Vera-Chang, J., Merchan-Sanchez, B., Tuarez-García, D., y Bustamante-González, A. (2022). Effect of calcium acetylide on fruit ripening in two banana cultivars. *Revista Científica Interdisciplinaria Investigación y Saberes*, 12 (3), 32-55. [http://revistasdigitales.utelvt.edu.ec/revista/index.php/investigacion\\_y\\_saberes/article/view/185/225](http://revistasdigitales.utelvt.edu.ec/revista/index.php/investigacion_y_saberes/article/view/185/225)

# Macropropagación y calidad de plántulas de plátano (*Musa AAB Simmonds*) en función de sustratos y tamaño de brotes

## Macro-propagation and quality of plantain seedlings (*Musa AAB Simmonds*) as a function of substrates and sprout size

Galo Alexander Cedeño-García<sup>1</sup> 

Leonardo Ramón Vera-Macías<sup>2</sup> 

Sofía del Rocío Velásquez-Cedeño<sup>3</sup> 

Geoconda Aracely López-Álava<sup>4</sup> 

Jessica Elizabeth Cargua-Chávez<sup>5</sup> 

George Alexander Cedeño-García<sup>6</sup> 

<sup>1</sup>Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón. Calceta, Manabí, Ecuador  [gcedeno@espam.edu.ec](mailto:gcedeno@espam.edu.ec)

<sup>2</sup>Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón. Calceta, Manabí, Ecuador  [lvera@spam.edu.ec](mailto:lvera@spam.edu.ec)

<sup>3</sup>Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón. Calceta, Manabí, Ecuador  [svelasquez@espam.edu.ec](mailto:svelasquez@espam.edu.ec)

<sup>4</sup>Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, Campus Politécnico El Limón. Calceta, Manabí, Ecuador  [geoconda.lopez@espam.edu.ec](mailto:geoconda.lopez@espam.edu.ec)

<sup>5</sup>Instituto Superior Tecnológico Tsa'chila. Santo Domingo de los Tsáchilas, Ecuador.  [jessicacargua@tsachila.edu.ec](mailto:jessicacargua@tsachila.edu.ec)

<sup>6</sup>Universidad Técnica de Manabí, Departamento de Agronomía. Santa Ana, Manabí, Ecuador  [george.cedeno@utm.edu.ec](mailto:george.cedeno@utm.edu.ec)

Recibido: 13/07/2022 Aceptado: 27/07/2022

**Resumen** La macropropagación de plátano en cámara térmica es un método alternativo, económico y eficiente en la producción de plántulas de calidad. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de varios tipos de sustratos y diferentes tamaños de brotes en la producción y calidad de plántulas de plátano propagadas en cámara térmica. Se desarrollaron dos experimentos separados. En el primero, se probó el efecto de cuatro sustratos sobre la producción de yemas de plátano en cámara térmica, usando: bovinaza compostada (BC), bovinaza compostada + cascarilla de maní (BC + CM), bovinaza compostada + cascarilla de arroz (BC + CA) y bovinaza compostada + aserrín blanco (BC + AB), y se registró la tasa de multiplicación. En el segundo, se evaluó el efecto de tres tamaños de brotes sobre el crecimiento y calidad de plántulas en fase de vivero, usando brotes: tipo A (entre 6–10 cm), tipo B (entre 11–15 cm) y tipo C (entre 16–20 cm), y se midieron variables de crecimiento y calidad de plántulas. En ambos experimentos, se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Se realizó análisis de varianza y comparación de medias (Tukey,  $p \leq 0,05$ ). La mayor tasa de multiplicación de plántulas se produjo con el sustrato BC+CA. El mayor crecimiento e índice de calidad de Dickson en plántulas durante la aclimatación se produjo en brotes tipo C. El tipo de sustrato y tamaño de brote fueron determinantes en la producción y calidad de plántulas de plátano macropropagadas.

**Palabras clave:** *Musa AAB*, propagación, sustrato de crecimiento, tamaño de explante, calidad de planta

**Abstract** The macro-propagation of plantain a thermal chamber is an economical and efficient alternative method for quality seedling production. The aim of the research was to evaluate the effect of various substrate types and different sprout sizes on the production and quality of plantain seedlings propagated in thermal chamber. Two separate experiments were performed. 1) To test the effect of four substrates on the plantain sprout production in a thermal camera, using manure composted (CC), cattle manure composted + peanut husk (CC + PH), cattle manure composted + rice husk (CC + RH), and cattle manure composted + white sawdust (CC + WS). The sprout multiplication rate was recorded. 2) To test the effect of three sprout sizes on the growth and seedling quality in the nursery phase, using type A (6–10 cm), type B (11–15 cm) and type C (16–20 cm) sprouts. Variable growth and seedling quality were measured. A completely randomized design was used in both experiments. Analysis of variance and comparison of means (Tukey,  $p \leq 0,05$ ) were performed. The highest sprout multiplication rate was obtained with the CC + RH substrate. The highest growth and Dickson quality index on seedlings in the acclimatization phase were obtained with type C sprouts. The type of substrate and the size of the sprouts were decisive in the production and quality of macro-propagated plantain seedlings.

**Keywords:** *Musa AAB*, propagation, growth substrate, explant size, plant quality.

## Introducción

Los cultivos de banano y plátano son de gran transcendencia a nivel global, debido a que la economía y seguridad alimentaria de muchos países productores se encuentra ligada a estas musáceas, más aún, por su alto valor energético y nutritivo (Scott, 2021). El uso de material de siembra obtenido por el método tradicional es el preferido por pequeños agricultores; el mismo que no garantiza una buena calidad sanitaria de la semilla, debido a la facilidad con que se transmiten artrópodos-plaga y enfermedades que pueden mermar la producción, rentabilidad y vida útil del cultivo (Njau *et al.*, 2011; Jacobsen *et al.*, 2019).

Otra desventaja de la propagación convencional es la baja tasa de multiplicación, ocasionada por la dominancia apical inducida por los rizomas madres (Sajith *et al.*, 2014). La obtención de material de siembra vía micropropagación es la alternativa más viable, debido a la alta calidad fisiológica y sanitaria que ofrece este método de propagación. A pesar de lo anterior, el alto costo que implica este material de siembra, lo hace económicamente inviable para pequeños productores (Tumuhimbise y Talengera, 2018).

Ante estas circunstancias, la macropropagación de plátano mediante el método de la cámara térmica se presenta como una alternativa efectiva, económica, de fácil acceso y adopción para pequeños productores; dado que permite obtener gran cantidad de plántulas, a partir de cormos previamente seleccionados, en un corto periodo de tiempo y con alta calidad fisiológica y sanitaria (Cedeño-García *et al.*, 2016a; Ntamwira *et al.*, 2017). Lo anterior, se debe a que la cámara térmica permite el incremento de la temperatura (50 – 70 °C), lo cual funciona como método de termoterapia para la limpieza fitosanitaria del material de siembra (Álvarez *et al.*, 2013; Cedeño-García *et al.*, 2016a).

En este contexto, Lassois *et al.* (2013) y Panattoni *et al.* (2013) mencionan a la termoterapia como un método efectivo de limpieza fitosanitaria, debido a que los patógenos

tienden a degradarse a temperaturas menores a las soportadas por los explantes. Además, las condiciones ambientales de alta temperatura y humedad relativa, inducidas por las cámaras térmicas, favorece la activación de yemas y masifica las tasas de multiplicación (Jacobsen *et al.*, 2019).

Otro de los aspectos importantes a considerar, es la calidad del sustrato utilizado en la macropropagación de plátano, con la finalidad de aportar condiciones adecuadas para estimular la brotación de rizomas, y favorecer el crecimiento y la calidad de las plántulas en fase de aclimatación (Esakkimuthu y Shakila, 2017; Sebayang *et al.*, 2018). Varios autores han concluido, que la respuesta de multiplicación de rizomas de banano y plátano es afectada por los tipos de sustratos, el genotipo y el tamaño del material vegetal (Tchoa *et al.*, 2011; Tchoa *et al.*, 2016; Opoku *et al.*, 2017). Por otra parte, también se ha demostrado que el tamaño de brotes o explantes trasplantados a condiciones de vivero, puede incidir en las tasas de enraizado, sobrevivencia y crecimiento de las plántulas (Sosa-Rodríguez *et al.*, 2009; Cedeño-García *et al.*, 2016b; Rai *et al.*, 2020).

La tecnología de macropropagación de plátano en Ecuador es reciente y su disseminación, y adopción por parte de productores plataneros es baja. Esto no permite que los pequeños productores accedan a esta tecnología, que de adoptarse masivamente podría mejorar la calidad del material de siembra, para implementar nuevas plantaciones con un mayor potencial productivo. Además, los productores plataneros desconocen cuáles de los subproductos de la zona son más idóneos para ser utilizados como sustrato en la propagación y aclimatación de plántulas. Por lo ya descrito, el principal objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de sustratos y el tamaño de brotes en la producción, y la calidad de plántulas de plátano propagadas en cámara térmica.

## Materiales y métodos

### Localización

El trabajo se llevó a cabo durante los meses de octubre de 2020 a marzo de 2021, en la granja

experimental de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, provincia de Manabí, Ecuador. El sitio experimental se ubicó geográficamente en las coordenadas  $0^{\circ}49'10''$  de latitud sur y  $80^{\circ}10'40''$  de longitud oeste. La temperatura, precipitación y heliofanía promedio anual fueron de  $25,7^{\circ}\text{C}$ , 839 mm y 1,045 horas, respectivamente, con una altitud de 21 m.s.n.m.

### Material vegetal

Se utilizaron rizomas de 2 kg del plátano cv. Barraganete o Hartón (*Musa* AAB Simmonds), los cuales fueron seleccionados a partir de hijuelos espada, provenientes de lotes sanos y productivos. Luego de la extracción desde las plantas madre, fueron limpiados con cuchillo previamente desinfectado, hasta retirar todo el tejido necrótico y dejar los cormos con sus yemas expuestas. Esto con el objetivo de retirar restos biológicos de artrópodos-plaga y patógenos. Seguidamente, como una segunda medida de limpieza fitosanitaria, los rizomas fueron colocados durante 25 segundos en agua hirviendo, de acuerdo con lo sugerido por Coyne *et al.* (2010). Finalmente, se procedió a extirpar el meristemo apical del rizoma y sus yemas laterales, con la ayuda de una navaja desinfectada. Con la finalidad de inhibir la dominancia apical ejercida por las auxinas presentes en los puntos de crecimiento, y posteriormente, estimular la brotación de yemas axilares y producción de callos (Cedeño-García *et al.*, 2016a).

### Cámara térmica

La estructura de la cámara térmica fue construida con caña guadua (*Guadua angustifolia*) y madera, con un tamaño de 2 x 10 x 1,5 m de ancho, largo y alto, en su orden respectivo. Posteriormente, la estructura armada se cubrió con plástico transparente de 0,6 mm de grosor. Tiempo después, fue colocada encima del plástico, malla sarán al 50% de filtración de luz, con el propósito de disminuir las quemaduras solares de los brotes, que se producen por el efecto lupa

que ocasionan las gotas de agua que se depositan en las hojas. En el interior de la cámara térmica, fueron contruidos platabandas o canteros sobre la base del suelo, con dimensiones de 10 x 1,0 x 0,25 m de largo, ancho y alto, respectivamente. Tiempo después, las platabandas fueron llenadas con los sustratos objeto de estudio, donde finalmente fueron colocados de forma semienterrada, 12 rizomas  $\text{m}^{-2}$ .

### Experimento 1. Efecto de combinaciones de sustratos sobre la tasa de multiplicación del plátano en cámara térmica

Los tratamientos evaluados fueron: bovinaza compostada (BC), bovinaza compostada + cascarilla de maní (BC + CM), bovinaza compostada + cascarilla de arroz (BC + CA), y bovinaza compostada + aserrín blanco (BC + AB). Las mezclas entre bovinaza compostada con cascarilla de maní, cascarilla de arroz, y aserrín blanco fueron establecidas en proporción volumétrica del 50 % (v/v) de cada sustrato. Las características fisicoquímicas de los sustratos evaluados se describen en la Tabla 1. El experimento se estableció con un diseño completamente al azar, con cuatro tratamientos, cinco repeticiones y 20 unidades experimentales. Cada unidad se formó por parcelas de 12 rizomas  $\text{m}^{-2}$ .

Previo a la siembra de los cormos, los sustratos fueron esterilizados en tanques metálicos colocados sobre fuego durante seis horas, esto, según lo recomendado por Tchoa *et al.* (2011). Se registró el tiempo de brotación cuando se observaron brotes en el 50% de rizomas, la tasa de multiplicación fue estimada con la Ecuación 1, a los 90 días de la brotación y el número de plántulas  $\text{m}^{-2}$  se determinó a los 90 días de iniciada la brotación, a través de conteo.

#### Ecuación 1

$$\text{Tasa de multiplicación (TM)} = \frac{\text{Número de plantas totales}}{\text{Número de cormos iniciales}}$$

**Tabla 1**

*Características físicoquímicas de los sustratos utilizados en la propagación del plátano*

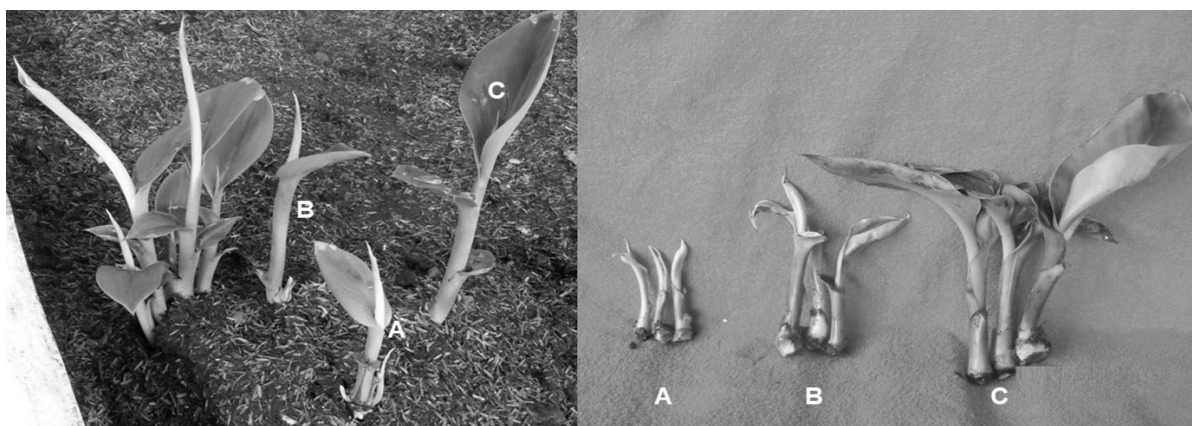
| Parámetros                                             | Bovinaza<br>compostada | Cascarilla de arroz | Aserrín<br>blanco | Cascarilla de maní |
|--------------------------------------------------------|------------------------|---------------------|-------------------|--------------------|
| pH (1: 2,5)                                            | 8,10                   | 7,39                | 6,12              | 7,40               |
| CE (dS m <sup>-1</sup> )                               | 3,20                   | 0,72                | 0,82              | 1,38               |
| CIC (meq /100 g)                                       | 41,14                  | 1,20                | 1,25              | 1,12               |
| MO (%)                                                 | 52,10                  | 30,46               | 35,46             | 32,64              |
| C (%)                                                  | 25,14                  | 34,20               | 28,00             | 41,20              |
| N (%)                                                  | 2,20                   | 1,20                | 0,72              | 1,40               |
| P (%)                                                  | 0,80                   | 0,60                | 1,11              | 0,58               |
| K (%)                                                  | 1,04                   | 1,10                | 1,30              | 0,66               |
| Porosidad (%)                                          | 41,18                  | 85,17               | 63,12             | 70,00              |
| Da (g cm <sup>3</sup> )                                | 0,65                   | 0,12                | 0,28              | 0,32               |
| CRA <sup>1/</sup><br>(g H <sub>2</sub> O/g de muestra) | 3,00                   | 0,18                | 0,55              | 0,21               |

Nota. CRA<sup>1/</sup> = capacidad de retención de agua. Elaboración propia.

### *Experimento 2. Efecto del tamaño de brotes producidos en cámara térmica en el crecimiento y calidad de plantas en fase de aclimatación*

Los tratamientos evaluados fueron tres tamaños de brotes (Figura 1) que se describen a continuación: brotes tipo A (entre 6 a 10

cm de longitud), tipo B (entre 11 a 15 cm de longitud) y tipo C (entre 16 a 20 cm de longitud). El experimento se estableció con un diseño completamente al azar, con tres tratamientos, siete repeticiones y 21 unidades experimentales. Cada unidad experimental estuvo compuesta por 20 brotes.



**Figura 1**

*Tamaño de brotes extraídos de cámara térmica, y evaluados en fase de aclimatación*

Nota. Elaboración propia.

Para el experimento se cosecharon brotes no enraizados, que fueron desprendidos cuidadosamente de los rizomas con una navaja desinfectada. Seguidamente, se colocó la base de los brotes en agua por un tiempo de 15 días, con el propósito de estimular la producción de raíces, según lo descrito por Cedeño-García *et al.* (2016b). El agua utilizada se esterilizó con la finalidad de evitar la presencia de patógenos. Los brotes que hasta los 15 días no emitieron raíces, fueron considerados muertos. Seguidamente, los brotes enraizados fueron trasplantados a bolsas de polietileno de 15 x 22 cm, que fueron llenadas previamente con un sustrato conformado por suelo de arado, arena de río y vermicompost, en proporción 2:1:1. Posteriormente, las plántulas fueron aclimatadas en vivero, donde se dejaron crecer por 60 días, para realizar el registro de variables morfométricas.

Se registró el porcentaje de enraizado (%), la altura de la planta (cm), el diámetro de tallo (mm), la longitud radical (cm), masa seca de planta (g), área foliar (cm<sup>2</sup>), y el índice de calidad de Dickson (ICD). El enraizamiento de brotes en agua se estimó con la Ecuación 2, a los 15 días de la sumersión en agua. La altura de la planta, el diámetro de tallo, la longitud radical, masa seca de planta, y área foliar fueron registrados a los 60 días de aclimatación en vivero. La masa seca se determinó en laboratorio, colocando muestras de la planta en estufa de ventilación forzada a 75 °C, hasta que se alcanzó peso constante. Para el área foliar se utilizó la Ecuación 3. El ICD fue determinado con la Ecuación 4

#### Ecuación 2

$$\text{Porcentaje de enraizado PE(\%)} = \frac{\text{Número de brotes enraizados}}{\text{Número de brotes totales}} \times 100$$

#### Ecuación 3

$$\text{Área Foliar (cm}^2\text{)} = LH * AH * K(0,80) * NH * K_2(0,662)$$

Dónde:

LH: longitud de tercera hoja, AH: ancho de tercera hoja, K: factor de curvatura de Murray

(1960), NH: número de hojas y K<sub>2</sub>: nuevo factor de curvatura de Kumar *et al.* (2002).

#### Ecuación 4

$$ICD = \frac{\frac{\text{Peso seco biomasa total (g)}}{\text{Altura de planta (cm)}}}{\frac{\text{Diámetro de pseudotallo (mm)}}{\text{Peso seco aéreo (g)}} + \frac{\text{Peso seco radical (g)}}{\text{Peso seco aéreo (g)}}}$$

### Análisis de datos

Los datos registrados fueron analizados mediante el ANOVA y la separación de medias a través de la prueba de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). También se correlacionaron las variables morfométricas con la calidad de las plántulas.

## Resultados y discusión

### Experimento 1. Efecto de combinaciones de sustratos sobre la tasa de multiplicación del plátano en cámara térmica

Los días de brotación no fueron influenciados significativamente por los sustratos probados (Tabla 2), lo cual indica que la activación y emergencia de yemas es independiente del efecto del sustrato. En promedio, el tiempo de brotación obtenido fue de 21,50 días, el cual difiere a los 11,80 y 39,71 días reportados entre los diferentes sustratos evaluados por Tchoa *et al.* (2011) y Tchoa *et al.* (2016). Lo anterior, podría deberse a que otros factores probados como genotipo, tamaño e hidratación previa de los cormos, influyeron sobre esta variable. Se detectaron diferencias significativas para la producción de plantas por cormo y m<sup>-2</sup>, donde los sustratos a base de BC y BC+CM alcanzaron la menor producción de plántulas con relación a las combinaciones BC+AB y BC+CA, con mayor producción de plántulas por cormo y m<sup>-2</sup> (Tabla 2).

La producción de plántulas por cormo y m<sup>-2</sup> a los 90 días después de la brotación, se incrementó en 31, 42 y 51 % con las mezclas BC + CM, BC + AB y BC + CA, respectivamente, en relación con la BC. Los resultados obtenidos se asemejan a los hallados por Esakkimuthu y Shakila (2017), que alcanzaron mayor tasa de

multiplicación de banano con mezclas de sustratos conformados por aserrín, cáscara de arroz y estiércol de corral, en relación con el sustrato control a base de arena. Por su parte, Opoku *et*

*al.* (2017) concluyeron que la mezcla estiércol de pollo + aserrín, incrementó el número de plántulas propagadas, en relación con el sustrato a base de aserrín.

**Tabla 2**

*Proliferación del plátano en función de varios sustratos a base de compost de bovinaza bajo condiciones de cámara térmica. Calceta, Ecuador, 2019*

| Sustratos     | Tiempo de brotación | Tasa de multiplicación<br>de cormos en 90 días | Producción de plantas m <sup>-2</sup><br>en 90 días |
|---------------|---------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| BC            | 20,80               | 19,60 a1/                                      | 235,20 a                                            |
| BC + CM       | 22,00               | 28,20 ab                                       | 341,20 ab                                           |
| BC + CA       | 22,00               | 40,20 c                                        | 482,40 c                                            |
| BC + AB       | 21,20               | 34,00 b                                        | 408,80 b                                            |
| Promedio      | 21,50               | 30,50                                          | 366,90                                              |
| C.V. %        | 9,27                | 16,20                                          | 17,02                                               |
| p-valor ANOVA | 0,7189              | 0,0011                                         | 0,0014                                              |

*Nota.* BC: bovinaza compostada; CM: cascarilla de maní; CA: cascarilla de arroz; AB: aserrín de balsa; C.V.: coeficiente de variación; ANOVA: análisis de varianza; 1/: promedios con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey,  $p \leq 0,05$ ). Elaboración propia.

Posiblemente, la BC presentó menor producción de plántulas por cormo y m<sup>-2</sup>, debido a que se produjo encharcamiento por el exceso de humedad que acumuló este sustrato en las raíces del cormo, lo cual ocasionó que algunos brotes que salieron en la base de este se oxiden, y por tanto no formaran yemas adventicias y multiyemas. Esto pudo haberse desarrollado por la alta capacidad de intercambio catiónico (CIC) y retención de humedad (RH) que mostró este sustrato en relación con aquellos conformados por cascarilla de maní, arroz y aserrín de balsa, que presentaron mejor drenaje (Tabla 1).

Sobre lo anterior, ha sido reportado que la CIC en el estiércol vacuno y otros materiales orgánicos se incrementa con el compostaje y por tanto su capacidad de retener agua y nutrientes (Saharinen, 1998; Khater, 2015; Karanja *et al.*, 2019). Por el contrario, en las mezclas de BC + CM, BC + CA, y BC + AB se obtuvo mayor producción de plántulas, debido a que, posiblemente

estos sustratos promovieron un medio físico y químico más favorable para el desarrollo de raíces y proliferación de yemas adventicias. En este contexto, Baiyeri y Aba (2005) y Opoku *et al.* (2017) mencionan que la mezcla de pollinaza con cascarilla de arroz y aserrines de madera, muestran mejores condiciones fisicoquímicas para el desarrollo de raíces, y la proliferación de yemas en cormos de banano durante la macropropagación.

### *Experimento 2. Efecto del tamaño de brotes producidos en cámara térmica en el crecimiento y calidad de plantas en fase de aclimatación*

El tamaño del brote influyó significativamente en el enraizamiento y en la masa fresca radical de plántulas de plátano durante los 15 días de inmersión en agua (Tabla 3), donde se evidenció que la producción de raíces fue directamente proporcional al tamaño de brote. Los resultados mostraron que el enraizamiento se incrementó

en 18,23 y 22,03 % en brotes de entre 11 – 15, y 16 – 20 cm en su orden respectivo, en relación con el de menor tamaño, que mostró menor promedio de enraizamiento (Tabla 3). De forma

**Tabla 3**

*Características fisicoquímicas de los sustratos utilizados en la propagación del plátano.*

| Tamaño de brote | Enraizamiento (%)     | Masa fresca radical (g) |
|-----------------|-----------------------|-------------------------|
| 6 – 10 cm       | 70,78 a <sup>1/</sup> | 1,41 a                  |
| 11 – 15 cm      | 86,56 b               | 1,66 b                  |
| 16 – 20 cm      | 90,78 b               | 2,47 b                  |
| Promedio        | 82,71                 | 1,85                    |
| C.V. %          | 14,84                 | 9,48                    |
| p-valor ANOVA   | 0,0080                | 0,0084                  |

Nota. C.V.: coeficiente de variación; ANOVA: análisis de varianza; <sup>1/</sup>: promedios con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey,  $p \leq 0,05$ ).  
Elaboración propia.

Estos hallazgos, son cercanos a los obtenidos por Cedeño-García *et al.* (2016b), que reportaron tasas de enraizamiento del 83 y 94 % en plántulas de banano cv. Williams enraizadas en agua con una y dos hojas formadas, en contraste con plántulas que aún no tenían hojas. En cuanto a el efecto del tamaño del brote, independientemente del remojo en agua, Sosa-Rodríguez *et al.* (2009), se reportaron porcentajes de enraizamiento de hasta el 100 % con explantes de *Heliconia standley* superiores a 3 cm, en relación con explantes de menor tamaño. En este mismo contexto, Gabriel *et al.* (2013) reportaron que plántulas de banano cv. Lacatan de entre 7–10 cm de altura lograron mayor porcentaje de supervivencia, en contraste a plántulas de entre 3–6 cm.

Independientemente del tamaño de explante; el uso de agua como medio de enraizamiento, parece ser una buena estrategia, que induce a la formación de raíces adventicias en brotes de plátano obtenidos vía macropropagación. Se ha comprobado que una red de señalización regula la iniciación y emergencia de las raíces en plantas sumergidas, con la promoción de auxinas y etileno, y la inhibición de citoquininas y estrigolactonas (Steffens y Rasmussen, 2016).

similar, los brotes de entre 11 – 15 y 16 – 20 cm mostraron un incremento de 6,83 y 23,71 % de masa fresca radical, en comparación con el brote de menor dimensión (Tabla 3).

Las variables morfológicas, como la altura de planta, el diámetro de tallo y la longitud de biomasa radical, fueron significativamente influenciadas por el tamaño de brote, a los 60 días de aclimatación (Tabla 4). El brote de entre 16–20 cm superó en altura de planta a los brotes de entre 6–10 cm, y 11–16 cm, con 56,43 y 29,87 %, respectivamente. De la misma manera se presentó para el diámetro del tallo, donde el brote de mayor tamaño mostró un incremento del 61,13 y 35,71 %, en consideración con los de 6–10 cm y 11–16 cm, en su orden respectivo. Así mismo, el mayor tamaño del brote favoreció el crecimiento de biomasa radical, aquellos entre 6–10 cm y 11–16 cm, fueron superados en un 42,19 y 25,71 %, respectivamente, por el brote de mayor tamaño.

El incremento en altura y diámetro de tallo, obtenido con los brotes de mayor tamaño, se asemejan a los resultados determinados por Ashango (2017), quien reportó mayor altura y diámetro de tallo en rizomas de *Ensete ventricosum* con mayor dimensión, en contraste con rizomas de menor tamaño. Así mismo, Muhidin *et al.* (2021) hallaron mayor incremento en altura de planta y circunferencia de tallo, en plántulas provenientes de rizomas

de 12 x 12 x 12 cm, en comparación a rizomas de menor tamaño del banano cv. Dwarf (*Musa* AAA Simmonds). Por su parte, Rai *et al.* (2020) reportaron mayores tasas de crecimiento de tallo y raíces en plántulas de banano

Kepok (*Musa* AAB Simmonds) provenientes de rizomas de 9 x 9 x 9 cm, en relación con las provenientes de rizomas más pequeños, lo cual indica que las reservas del cormo de las plantas más grandes aportaron más cantidad de carbohidratos, lo que influyó en estos resultados.

**Tabla 4**

*Efecto del tamaño de brote sobre variables morfométricas de plántulas de plátano a los 60 días de aclimatación en vivero*

| Tamaño de brote | Altura de planta (cm) | Diámetro de tallo (mm) | Longitud de biomasa radical (cm) |
|-----------------|-----------------------|------------------------|----------------------------------|
| 6–10 cm         | 19,88 a <sup>1/</sup> | 15,35 a                | 23,25 a                          |
| 11–15 cm        | 32,00 b               | 25,39 b                | 29,88 ab                         |
| 16–20 cm        | 45,63 c               | 39,49 c                | 40,22 b                          |
| Promedio        | 32,50                 | 26,74                  | 31,12                            |
| C.V. %          | 18,86                 | 15,09                  | 11,10                            |
| p-valor ANOVA   | 0,0001                | 0,0001                 | 0,0456                           |

Nota. C.V.: coeficiente de variación; ANOVA: análisis de varianza; <sup>1/</sup>: promedios con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey,  $p \leq 0,05$ ).  
Elaboración propia.

El crecimiento en masa seca y área foliar, así como el índice de calidad de Dickson de plántulas de plátano, fueron influenciados significativamente ( $p < 0,05$ ) por el tamaño de brote a los 60 días de aclimatación en vivero (Tabla 5).

El brote de entre 16–20 cm mostró el mayor crecimiento y calidad en vivero, donde alcanzó la mayor acumulación de masa seca de planta, superando en un 57,17 y 20,25 % a los de entre 6–10 y 11–15 cm, respectivamente. De forma similar, los brotes de entre 6–10 y 11–15 cm, mostraron un 51,59 y 17,15 % menos de área foliar, en su orden respectivo, en relación con el de mayor tamaño. En concordancia con lo anterior, el brote de entre 16–20 cm logró el mayor índice de calidad de Dickson, con una diferencia del 37,64 y 25,76 %, en contraste con los brotes de entre 6–10 y 11–15 cm, respectivamente (Tabla 5).

Los resultados hallados se asemejan a los reportados por Ashango (2017), quien logró mayor crecimiento en plántulas de *Ensete ventricosum* propagadas a partir de rizomas de

mayor tamaño. En este mismo contexto, Patiño-Martínez *et al.* (2019) hallaron que plantas de banano bocado (*Musa* AA Simmonds), obtenidas a partir de cormos de entre 300–700 y 700–1000 g expresaron mejores parámetros de crecimiento, con relación a plantas procedentes de cormos de menor tamaño. Por su parte, Rai *et al.* (2020) también reportaron mayor ganancia de masa seca y área foliar en plántulas de banano Kepok (*Musa* AAB Simmonds) provenientes de rizomas de mayor tamaño. El índice de calidad de Dickson, obtenido en plántulas de plátano a los 60 días de aclimatación en vivero fue mayor en plántulas provenientes de brotes de entre 16–20 cm, en relación a los de tamaño inferior (Tabla 5), lo cual se acerca a los promedios reportados por Ramírez *et al.* (2006) para plántulas de banano (*Musa* AAA Simmonds), con medias de hasta 12 puntos.

En general, los resultados alcanzados denotan que el crecimiento y la calidad de las plántulas durante la aclimatación en vivero son proporcionales a el tamaño del brote o explante inicial, lo cual puede estar relacionado con las mayores reservas nutritivas que potencian el crecimiento inicial de las plántulas en etapa

de aclimatación (Taji y Williams, 2005; Smith, 2013). En este sentido, varias investigaciones han concluido que un mayor tamaño del explante o semilla, puede determinar una menor dependencia de los nutrientes del medio donde

**Tabla 5**

*Efecto del tamaño de brote sobre el crecimiento y calidad de plántulas de plátano a los 60 días de aclimatación en vivero.*

| Tamaño de brote | Masa seca de planta (g) | Área foliar (cm <sup>2</sup> ) | Índice de calidad de Dickson (ICD) |
|-----------------|-------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| 6 – 10 cm       | 22,95 a <sup>1/</sup>   | 1019,52 a                      | 9,08 a                             |
| 11 – 15 cm      | 42,73 b                 | 1744,92 ab                     | 10,81 a                            |
| 16 – 20 cm      | 53,58 c                 | 2106,04 b                      | 14,56 b                            |
| Promedio        | 39,75                   | 1623,49                        | 11,72                              |
| C.V. %          | 17,50                   | 17,98                          | 17,14                              |
| p-valor ANOVA   | 0,0001                  | 0,0375                         | 0,0015                             |

Nota. C.V. = coeficiente de variación; ANOVA = análisis de varianza; <sup>1/</sup> = promedios con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey,  $p \leq 0,05$ ). Elaboración propia.

El índice de calidad de Dickson se correlacionó positiva y significativamente ( $p < 0,05$ ) con las variables morfométricas y de crecimiento a los 60 días en etapa de vivero (Tabla 6). Estos resultados se acercan a los reportados por Binotto *et al.* (2010), quienes concluyeron

**Tabla 6**

*Relación entre el crecimiento y calidad de plántulas de plátano propagadas en cámara térmica a los 60 días de aclimatación en vivero*

|     | Altura de planta (cm)  | Diámetro de tallo (mm) | Longitud de biomasa radical (cm) | Masa seca de planta (g) | Área foliar (cm <sup>2</sup> ) |
|-----|------------------------|------------------------|----------------------------------|-------------------------|--------------------------------|
| ICD | R = 0,80<br>P < 0,0001 | R = 0,80<br>P < 0,0001 | R = 0,75<br>P < 0,0005           | R = 0,74<br>P < 0,0001  | R = 0,83<br>P < 0,0001         |

Nota. ICD: índice de calidad de Dickson; R: coeficiente de correlación de Pearson; P: significancia estadística de las correlaciones  $\alpha \leq 0,05$ . Elaboración propia.

Lo anterior sugiere que la calidad de una planta depende de un crecimiento equilibrado entre las estructuras morfológicas, y de las respectivas funciones fisiológicas desempeñadas, lo cual ha sido indicado por diversos autores en otras especies de interés agrícola (Binotto *et al.*, 2010; Rezende *et al.*, 2016; Alves *et al.*, 2018; Lin *et al.*, 2019). La calidad de una planta se traduce en un mayor sistema radical de anclaje,

se desarrollan, dada la cantidad superior de reservas nutritivas contenida en sus órganos y tejidos, que pueden ser movilizados y destinados al crecimiento inicial de las plántulas (Cicek y Tilki, 2007; Yang & Wen, 2017; Shi *et al.*, 2019).

que las variables de materia seca y diámetro del tallo son las que están más fuertemente correlacionadas con la calidad de planta. De forma similar, Lin *et al.* (2019) reportaron que los índices fisiológicos y morfométricos se correlacionan con el vigor de las plantas.

una mayor exploración del suelo, una mejor capacidad fotosintética, y de adaptación al estrés postrasplante.

## Conclusiones

El uso de bovinaza compostada pura no es adecuado como sustrato para la propagación de plátano en condiciones de cámara térmica. La

mezcla de bovinaza compostada con cascarilla de arroz, puede usarse como un sustrato adecuado para la propagación de plátano en cámara térmica. Brotes o explantes con tamaño de entre 16–20 cm de longitud originan plántulas con mayor capacidad de crecimiento y calidad en fase de aclimatación.

## Agradecimientos

Emitimos un fraterno agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, por financiar este trabajo de investigación a través de los proyectos institucionales “Selección de clones élites de plátano (*Musa* AAB Simmonds.) de alto potencial productivo a partir de fincas plataneras de Manabí” con CUP 381232 y “Fortalecimiento de la agricultura familiar local mediante aplicación de buenas prácticas de manejo de suelo, cultivos, bioinsumos y poscosecha” con CUP 384767 que se ejecutan actualmente en la institución, tal como consta en la Secretaría de Planificación del Estado Ecuatoriano.

## Referencias

- Álvarez, E., Ceballos, G., Cañán, L., Rodríguez, D., González, S., y Pantoja, A. (2013). *Producción de material de siembra limpio en el manejo de las enfermedades limitantes del plátano*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). ISBN 978-958-694-120-4.
- Alves, R., Gomes, G., Malta, E., Andrade, G., y do Sacramento, C. (2018). Manejo de matrizes interfere no rendimento e na qualidade de mudas de cacaueiros. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40 (3), 1 – 8. <https://doi.org/10.1590/0100-29452018582>
- Ashango, T. (2017). Effect of corm and corm pieces on regeneration and multiplication of enset (*Ensete ventricosum* (Welw.) Cheesman). *International Journal of Research – GRANTHAALAYAH*, 5 (5), 281–289. <https://doi.org/10.29121/granthaalayah.v5.i5.2017.1860>
- Baiyeri, K., y Aba, S. (2005). Response of *Musa* species to macro-propagation. I: Genetic and initiation media effects on number, quality and survival of plantlets at prenursery and early nursery stages. *African Journal of Biotechnology*, 4 (3), 223–228. <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/15084>
- Binotto, A. F., Lúcio, A., y Lopes, S. (2010). Correlations between growth variables and the Dickson quality index in forest seedlings. *Cerne, Lavras*, 16 (4), 457–464. <https://doi.org/10.1590/S0104-77602010000400005>
- Cedeño-García, G., Soplin-Villacorta, H., Helfgott-Lerner, S., Cedeño-García, G., y Sotomayor-Herrera, I. (2016a). Aplicación de biorreguladores para la macropropagación del banano cv. Williams en cámara térmica. *Agronomía Mesoamericana*, 27 (2), 397–408. <https://doi.org/10.15517/am.v27i2.24390>
- Cedeño-García, G., Soplin-Villacorta, H., Cargua-Chávez, J., Cedeño-García, G. (2016b). Potencial de enraizamiento en agua y vigor de plántulas de banano obtenidas en cámara térmica. *Revista La Técnica*, 16, 6–15. [https://doi.org/10.33936/la\\_tecnica.v0i16.529](https://doi.org/10.33936/la_tecnica.v0i16.529)
- Cicek, E., y Tilki, F. (2007). Seed size effects on germination, survival and seedling growth of *Castanea Sativa* Mill. *Journal of Biological Sciences*, 7 (2), 438–441. <https://doi.org/10.3923/jbs.2007.438.441>
- Coyne, D., Wasukira, A., Dusabe, J., Rotifa, I., y Dubois, T. (2010). Boiling water treatment: A simple, rapid and effective technique for nematode and banana weevil management in banana and plantain (*Musa* spp.) planting material. *Crop Protection*, 29 (12), 1478–1482. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.08.008>
- Esakkimuthu, D., y Shakila, S. (2017). Studies on the effect of media on sucker production of banana cv. POOVAN. *The Asian Journal of Horticulture*, 12 (1), 55–58. <https://doi.org/10.15740/HAS/TAJH/12.1/55-58>
- Gabriel, M. L., Atis, M. I., Badar, A. J., y Pascua, M. E. (2013). Development of low-cost and rapid multiplication techniques of tissue-cultured *Musa acuminata* (AA Group) cv. ‘Lacatan’ banana seedlings. *MMSU Science and Technology Journal*, 3 (1), 108–124. [http://research.mmsu.edu.ph/stjournal/vol3\\_dev\\_low\\_cost\\_rapid\\_multiplication.pdf](http://research.mmsu.edu.ph/stjournal/vol3_dev_low_cost_rapid_multiplication.pdf)
- Jacobsen, K., Omondi, B. A., Almekinders, C., Alvarez, E., Blomme, G., Dita, M., skra-Caruana, M., Ocimati, W., Tinzaara, W., Kumar, P. L., y Staver, C. (2019). Seed degeneration of banana planting materials: strategies for improved farmer access to healthy seed. *Plant Pathology*, 68, 207–228. <https://doi.org/10.1111/ppa.12958>
- Karanja, A. W., Njeru, E. M., y Maingi, J. M. (2019). Assessment of physicochemical changes during composting rice straw with chicken and donkey manure. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8 (1), 65–72. <https://doi.org/10.1007/s40093-019-0270-x>
- Khater, E. (2015). Some Physical and Chemical Properties of Compost. *International Journal of Waste Resources*, 5 (1), 1000172. <https://doi.org/10.4172/2252-5211.1000172>
- Kumar, N., Krishnamoorthy, V., Nalia, L., y Soorianathasundharam, K. (2002). A new factor for estimating total leaf area in banana. *InfoMusa*, 11 (2), 42 – 43. [www.musalit.org/seeMore.php?id=14204](http://www.musalit.org/seeMore.php?id=14204)
- Lassois, L., Lepoivre, P., Swennen, R., Van den Houwe, I., y Panis, B. (2013). Thermotherapy, chemotherapy, and meristem culture in banana. En Lambardi, M., Ozudogru, E., y Mohan, S. (Eds.). *Protocols for micropropagation of selected economically important horticultural plants*, 419–433. Methods in molecular biology, New York, USA: Springer Science+Business Media. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-074-8\\_32](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-074-8_32)

- Lin, K-H., Wu, C-W., y Chang, Y-S. (2019). Applying Dickson quality index, chlorophyll fluorescence, and leaf area index for assessing plant quality of *Pentas lanceolata*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47 (1), 169–176. <https://doi.org/10.15835/bnha47111312>
- Muhidin, Nurmas, A., Sadimantara, G., Pratama, A., Rakian, T., Sutariati, G., Leomo, S., y Yusuf, D. (2021). The effect of banana humps size on the vegetative growth of dwarf banana seedling. *International Conference on Agriculture, Environment and Food Security:2020*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 782, 042061. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/782/4/042061>
- Murray, D. (1960). The effect of deficiencies of the major nutrients on growth and leaf analysis of the banana. *Tropical Agriculture*, 37 (2), 97–106. <https://journals.sta.uwi.edu/ojs/index.php/ta/article/view/4175/0>
- Njau, N., Mwangi, M., Kahuthia-Gathu, R., Muasya, R., y Mbaka, J. (2011, octubre, 10–13). Macropropagation technique for production of healthy banana seedlings. En Tenywa, J. S., Taulya, G., Kawube, G., Kawuki, R., Namugwanya, M., y Santos, L. *African Crop Science Conference Proceedings*, 10, 469 – 472. Congress conducted by African Crop Science Society, Maputo, Mozambique.
- Ntamwira, J., Sivirihauma, C., Ocimati, W., Bumba, M., Vutseme, L., Kamira, M., y Blomme, G. (2017). Macropropagation of banana/plantain using selected local materials: a cost-effective way of mass propagation of planting materials for resource-poor households. *European Journal for Horticultural Science*, 82 (1), 38–53. <https://doi.org/10.17660/eJHS.2017/82.1.5>
- Opoku, E. M., Mensah, B. D., Amoako, P., Owusu-Nketia, S., y Dapaah, H. (2017). Sucker multiplication in plantain using chicken manure as a substrate supplement. *African Journal of Plant Science*, 11(5), 168–173. <https://doi.org/10.5897/AJPS2017.1539>
- Panattoni, A., Luvisi, A., y Triolo, E. (2013). Review. Elimination of viruses in plants: twenty years of progress. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11(1), 173–188. <https://doi.org/10.5424/sjar/2013111-3201>
- Patiño-Martínez, A. A., Rodríguez-Yzquierdo, G. A., Miranda-Salas, T. C., y Lemus-Lemus, L. M. (2019). Efecto de fertilización y peso del cormo sobre la multiplicación de semilla de bananito (*Musa AA*). *Temas Agrarios*, 24 (2), 139–146. <https://doi.org/10.21897/rta.v24i2.1857>
- Rai, I. N., Sudana, I. M., Astawa, I. G., y Dwiyan, R. (2020). The effect of chopped corm sizes and types of soaking material on growth seedling of kepok banana (*Musa paradisiaca* L. ABB Kepok). *International Journal of Life Sciences*, 4 (2), 32–41. <https://doi.org/10.29332/ijls.v4n2.432>
- Ramírez, H., Rodríguez, G., y Arturo, S. M. (2006). *Efecto de diferentes sustratos y dosis de nitrógeno sobre el desarrollo de plantas de banana (Musa AAA) en etapa de vivero*. [Tesis de pregrado, Universidad Central de Venezuela]. Biblioteca Central. <http://sibucv.ucv.ve/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=84525#>
- Rezende, F., Hardt, V., Branco, C., y Moura, M. (2016). Biochar in substrate composition for production of teak seedlings. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 51 (9), 1449–1456. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000900043>
- Saharinen, M. H. (1998). Evaluation of changes in CEC during composting. *Compost Science & Utilization*, 6 (4), 29–37. <https://doi.org/10.1080/1065657X.1998.10701938>
- Sajith, K., Uma, S., Saraswathi, M., Backiyarani, S., y Durai, P. (2014). Macropropagation of banana - Effect of bio-fertilizers and plant hormones. *Indian Journal of Horticulture*, 71 (3), 299–305. <https://iahs.org.in/indian-journal-of-horticulture-other-publications/indian-journal-of-horticulture/>
- Scott, G. (2021). A review of root, tuber and banana crops in developing countries: past, present and future. *International Journal of Food Science and Technology*, 56 (3), 1093–1114. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14778>
- Sebayang, N., Puspita, D., y Basri, S. (2018). Different planting media in barangan banana (*Musa Acuminata* Colla) breeding in southeast Aceh. *Indonesian Journal of Agricultural Research*, 1(3), 307–316. <https://doi.org/10.32734/injar.vi13.473>
- Shi, W., Villar-Salvador, P., Li, G., y Jiang, X. (2019). Acorn size is more important than nursery fertilization for outplanting performance of *Quercus variabilis* container seedlings. *Annals of Forest Science* 76, 22. <https://doi.org/10.1007/s13595-018-0785-8>
- Smith, R. H. (2013). Chapter 4 – Explant Preparation. *Plant Tissue Culture* (3a Ed., 45–51). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-415920-4.00004-9>
- Sosa-Rodríguez, F., Ortiz, R., Hernández, R., Armas, P., y Guillén, D. (2009). Propagación in vitro de *Heliconia standley* Macbride en Cuba. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 15 (2), 17–23. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rcsh/v15nspe/v15nspea4.pdf>
- Steffens, B., y Rasmussen, A. (2016). The physiology of adventitious roots. *Plant Physiology*, 170 (2), 603–617. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01360>
- Taji, A., y Williams, R. (2005). Use of in vitro breeding strategies in the development of Australian native plants. *Acta Horticulturae*, 683, 87–94. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.683.7>
- Tchoa, K., Mongomaké, K., Teixeira, J., Koné, D., Kouadio, J. (2011). Effect of substrate type and bulb size on in vivo production of seedlings in three cultivars of plantain (*Musa* spp.). *The African Journal of Plant Science and Biotechnology*, 5 (1), 50–55.
- Tchoa, K., Brahima, S. A., Kpatolo, C., Siaka, T., Daouda, K., y Mongomaké, K. (2016). Effects of substrates, weight and physiological stage of suckers on massive propagation of plantain (*Musa paradisiaca* L.). *International Journal of Research – GRANTHAALAYAH*, 4 (1), 1–13. <https://doi.org/10.29121/granthaalayah.v4.i1.2016.2837>
- Tumuhimbise, R., y Talengera, D. (2018). Improved propagation techniques to enhance the productivity of banana (*Musa* spp.). *Open Agriculture*, 3(1), 138–145. <https://doi.org/10.1515/opag-2018-0014>
- Yang, L., y Wen, B. (2017). Seed Quality. En Thomas, B., Murray, B., Murphy, D. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, 553–563. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-394807-6.00205-7>

# Evaluation of mechanical properties of matrices derived from fish scale collagen

## Evaluación de propiedades mecánicas de matrices derivadas a partir de colágeno de escamas de pescado

Juan Manuel Sánchez-Soto<sup>1</sup> 

Ruth López-Alcántara<sup>2</sup> 

Andrea del Pilar Sánchez-González<sup>3</sup> 

Eyleen Jeniffer Torres-Mendoza<sup>4</sup> 

<sup>1</sup>Research group SENAGROTIC, Tecnoparque Nodo la Granja, Servicio Nacional de Aprendizaje – SENA, Colombia. Doctorado en Proyectos, Universidad Internacional Iberoamericana, México [juan.sanchez@doctorado.unini.edu.mx](mailto:juan.sanchez@doctorado.unini.edu.mx)

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Campeche, México. Doctorado en Proyectos, Universidad Internacional Iberoamericana, México [rutlopez@uacam.mx](mailto:rutlopez@uacam.mx)

<sup>3</sup>Research group SENAGROTIC, Tecnoparque Nodo la Granja, Servicio Nacional de Aprendizaje – SENA, Colombia. Doctorado en Ingeniería con énfasis en Ingeniería de Alimentos, Universidad del Valle, Colombia [apsanchezg@sena.edu.co](mailto:apsanchezg@sena.edu.co)

<sup>4</sup>Eyleen Jeniffer Torres-Mendoza. Research group SENAGROTIC, Tecnoparque Nodo la Granja, Servicio Nacional de Aprendizaje – SENA, Colombia [etorresm@sena.edu.co](mailto:etorresm@sena.edu.co)

Recibido: 17/10/2022 Aceptado: 20/10/2022

**Abstract** The development of biodegradable materials arises as an alternative to reduce the pollution caused by plastic waste to the environment, with this premise this study was proposed to develop plastic biopolymers from bioactive compounds with different matrices modified cassava starch (5 – 12 %), fish scale collagen (10 – 40 %), lemon essential oil (0,5 – 1,5 %) and gelatinization temperature (70 – 80 °C); A Box Behnken response surface experimental design was used; with the determination of their mechanical properties (maximum stress, Young's modulus, shear strength, stress at break and percentage elongation at break). According to the results found, it was determined that the modified cassava starch had the greatest influence on the mechanical properties, taking into account its importance to create more resistant materials, but it evidences plasticizing difficulties, where the fish scale collagen has a significant influence. In addition, it is evidenced that lemon essential oil had a great influence on Young's modulus ( $46,28 \pm 2,31$  MPa) and the percentage of elongation ( $69,69 \pm 2,16$  %); while the gelatinization temperature of 80 °C is not recommended for this type of starch-protein matrices due to damage of the structure; determining a better mechanical resistance and a great increase of Young's modulus. In conclusion, the characteristics and performance of the film based on cassava starch, collagen flakes and lemon essential oil have a positive impact on the maximum level of mechanical efficiency of the biodegradable films, achieving a better performance in their mechanical properties.

**Keywords:** bioplastics, package, starch, collagen, mechanical properties, cassava, essential oil, fish scale.

**Resumen** La elaboración de materiales biodegradables, surge como alternativa para disminuir la contaminación causada por los desechos plásticos al medio ambiente, con esta premisa, se propuso este estudio comprendido en el desarrollo de biopolímeros plásticos, a partir de compuestos bioactivos con diferentes matrices de almidón modificado de yuca (5 – 12 %), colágeno de escamas de pescado (10 – 40 %), aceite esencial de limón (0,5 – 1,5 %) y temperatura de gelatinización (70 – 80 °C). Se utilizó un diseño experimental de superficie de respuesta Box Behnken; con la determinación de sus propiedades mecánicas (esfuerzo máximo, módulo de Young, fuerza de corte, esfuerzo a la ruptura y porcentaje de elongación de ruptura). Según los resultados encontrados, se determinó que el almidón modificado de yuca fue el de mayor influencia en las propiedades mecánicas, teniendo en cuenta su importancia para crear materiales más resistentes, pero evidencia dificultades plastificantes, donde el colágeno de escamas de pescado incide significativamente. Además, se evidencia que el aceite esencial de limón presentó gran influencia en el módulo de Young ( $46,28 \pm 2,31$  MPa), y en el porcentaje de elongación ( $69,69 \pm 2,16$  %); mientras que la temperatura de gelatinización de 80 °C no es recomendada para este tipo de matrices almidón – proteína por daños de la estructura; determinando una mejor resistencia mecánica y un gran aumento del módulo de Young. En conclusión, las características y el rendimiento de la película a base de almidón de yuca, colágeno de escamas, y aceite esencial de limón; tienen un impacto al considerar el nivel máximo de eficacia mecánica de películas biodegradables y alcanzar un mejor comportamiento en sus propiedades mecánicas.

**Palabras clave:** bioplástico, envase, almidón, colágeno, propiedades mecánicas, yuca, aceite esencial, escamas de pescado.

## Introduction

In the industry, packaging production uses indistinctly different materials with properties of conservation, that enhance distribution and marketing of various products. Packaging plays a key role in extending the shelf life of food and serves as protection for non-food products. In addition, the environmental problems caused by plastic polymers and the concern of consumers for food safety and health is well-known, which has generated an increase in the search for new biodegradable and edible materials based on biopolymers, such as polysaccharides (starch, agar, cellulose, chitosan, among others), proteins (collagen/gelatin, soy, myofibrillar protein, whey, wheat, amorphous zein, etc.) and lipids (wax, fatty acids) (Hou *et al.*, 2019).

According to Assis (2019) the main functions of packaging are: to protect the product against mechanical, physical, chemical, and microbiological damage. Its application in food, especially in highly perishable products, is based on some properties, such as cost, availability, functional attributes, mechanical properties, optical properties, barrier against gas flow, structural resistance to water and microorganisms among others (Cardozo & Puerto, 2019).

In the case of collagen, as indicated by Perez- Puyana *et al.* (2020), the addition of chemical agents induces changes in both the mechanical properties and the architecture of the matrices, helping to overcome the loss of mechanical strength and structural stability, the author has proposed the formation of hybrid matrices, i.e., the mixture of collagen with other natural polymers that makes possible to obtain films with different mechanical and architectural characteristics.

When starch is used, it must have a gelatinization process, which is defined as the loss of semi-crystallinity of starch granules in the presence of heat and high amounts of water, with little or no occurrence of depolymerization. Gelatinization occurs over a narrow range of

temperatures that varies depending on the starch source. Cassava starch gelatinizes in water at temperatures between 60 °C and 67 °C, which consists of a swelling of the starch molecules due to water penetrating their molecular structure (León *et al.*, 2020).

However, for film production, starch alone does not produce mechanical and barrier properties suitable for packaging (dos Santos *et al.*, 2018). Therefore, components such as distilled water, which is commonly used as a plasticizer to achieve starch destructure in mixtures to obtain thermoplastic starches, must be considered in order to achieve better mechanical and barrier properties, besides being the most abundant and economical plasticizer. Another important component is glycerol, which has often been used for starch films due to its inherent compatibility with amylose chains, decreasing the intermolecular forces between starch molecules and promoting better mechanical properties. In turn, glycerol-plasticized starch films are more flexible and feasible for various uses (Nordin *et al.*, 2020).

At low starch concentrations, glycerol can act as an anti-plasticizer, decreasing the elongation at break, as well as the permeability to moisture and oxygen, due to the formation of cross-links between hydrogen bonds, small plasticizer molecules and starch side chains (Assis, 2019). However, glycerol produces hygroscopic films with high water vapor permeability, and these properties can be improved by adding hydrophobic components such as lipids to the films (Marín, 2019).

Essential oils are used as natural ingredients to improve film characteristics such as mechanical and barrier properties. In addition, they offer other beneficial properties in film development such as antioxidant and/or antimicrobial activity. According to the scientific literature studied, oregano essential oil is well-known for its antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory properties, thus being a natural alternative for food preservation (Cabezas, 2020). According to dos Santos *et al.*

(2018), the essential oil contributes to increase the elongation and reduce the tensile strength of films.

On the other hand, Susilawati *et al.* (2019), determined that thickness is one of the most important properties that determine the quality characteristics of bioplastics. The thickness should be adjusted to the product to be packaged. Thick packages increase the tensile strength value, but reduce the elongation value (Rusli *et al.*, 2017). The process temperature is another important variable to take into account because biopolymers are thermosensitive to high temperatures (Murillo, 2020), consequently, mechanical and barrier properties may limit the characteristics required for a package such as: protecting, preserving, distributing and storing. The research group of Wang *et al.* (2016), studied the mechanical and water solubility properties of collagen-starch films demonstrating that the mechanical properties of the hybrid film are improved as a function of increasing concentration (in the range of 10 % to 50 %) and the type of starch used. Likewise, this group evidenced an improvement in the thermostability of the collagen-starch material (Denaturation temperature [Td] of 95 °C) as the proportion of starch in the formulation increased compared to the collagen film (Td of 92 °C).

On the other hand, Ulyarti *et al.* (2020) investigated the effect of adding different concentrations of gelatin (0 %, 1 %, 1,5 %, 1,5 %, 2 %, 2,5 % and 3 %) to 1 % cassava starch to produce edible bioplastic films, concluding that the best formulation was to use 3 % gelatin or to work with 15 % modified cassava starch. In other words, increasing the concentration of gelatin in starch or using modified cassava starch increases the mechanical properties of the film. Alzáte-Pérez *et al.* (2018) reported on the development of a partially hydrolyzed collagen-based bioplastic from bocachico (*Prochilodum magdalenae*) scales, reinforced with rice husk at 3 %, 5 % and 10 %. Based on this material the bioplastic was elaborated, which was characterized by its resistance and deformation, therefore it could be used as a traditional plastic. Considering the above, the objective of this work was to

evaluate the mechanical properties of bioplastics made with fish collagen, cassava starch, lemon essential oil and different gelatinization temperatures.

## Methodology

In the literature there are few studies on obtaining and characterizing the properties of starch-collagen based films and even less information on cassava-fish protein modified starch-based bioplastics. (Mroczkowska *et al.*, 2021), (Alias & Ishak, 2020), (Oluwasina & Awonyemi, 2021).

## Materials

The physicochemical characterization of the modified cassava starch OXIGEL®3 had an amylose content of 22,49 % and amylopectin of 77,51 %, moisture of 13,51 %, protein of 0,55 %, carbohydrate of 85,36 %, fat of 0,39 % and ash of 0,16 %. In general, it can be said that comparing a modified cassava starch and a native cassava starch, the former exhibits better functional properties in terms of texture, mechanical properties, solubility and consistency for gel formation (higher presence of amylopectin and protein).

The characterization of the fish scale collagen obtained a moisture content of 8,63 %, fat of 0,05 %, dietary fiber of 0,16 %, protein of 86,33 % and ash of 2,68 %, and the characterization of the lemon essential oil showed a specific weight of 0,85 at 25 °C, a refractive index of 1,47 and a density of 0,85 g/ml method AOAC (2003). The lemon essential oil for the study produces a crosslinking effect that leads to a structure that is more solid and resistant to the bioprocesses it undergoes, decreasing the free volume and molecular mobility of the polymer in this case the modified cassava starch.

## Experimental design

A large number of variables affect the production process and the resulting physical and mechanical properties of natural polymer-based films. However, the factors with the higher

impact in these properties will be evaluated using statistical methods. In other words, to optimize the process parameters, the Box-Behnken surface method is used over the following four factors (modified cassava starch, fish scale collagen, lemon essential oil and gelatinization temperature) while the independent or response

variables (caliper, maximum stress, Young's modulus, breaking strength, stress at break, percent elongation at break) were employed. For the Box-Behnken design, the design points are placed at combinations of the high and low levels of the factors and their midpoints as shown in Table 1.

**Table 1**

*Matrix of factors and variables using a Box Behnken response surface design to define plastic films*

| Factors                             | Levels |     |     |
|-------------------------------------|--------|-----|-----|
|                                     | -1     | 0   | 1   |
| A = Modified cassava starch (%)     | 5      | 8,5 | 12  |
| B = Fish scale collagen (%)         | 10     | 25  | 40  |
| C = Lemon essential oil (%)         | 0,5    | 1   | 1,5 |
| D = Gelatinization temperature (°C) | 70     | 75  | 80  |

Source: Authors.

### Film production by the Casting Method

The polymeric films were prepared by the 'casting' method, first the ingredients were mixed: Fish scale collagen, modified starch, lemon essential oil, distilled water, chitosan and glycerin; this mixture was subjected to heating in a continuous stirring plate at 4000 rpm to ensure the homogenization of the materials until reaching the different gelatinization temperatures ranging between 70 – 80 °C. After the solution of the film components was formed, it was deposited in aluminium trays and then evaporated at 70 °C in a forced convection oven for 12 hours, finally obtaining the biodegradable films.

### Mechanical properties

Mechanical properties (maximum stress, Young's modulus, rupture strength, stress at break and percent elongation at break) were measured according to ASTM standard method D882 (American Society for Testing and Materials [ASTM], 1980). Films with dimensions of 5 \* 1 cm were used and loaded into a texturometer (LS1, Lloyd Ltd., Largo, FL, USA) with a force capacity 1000 N. The specimen speed and initial distance were set at 5 mm/min and 4 cm, respectively. They were analyzed using Nexygen Plus software. (Lloyd Ltd., Version 3.0). Results are reported as the average of 10 measurements.

## Results and discussion

In this section are summarized the results found after determination and optimization of the base matrix of the biopolymer to be developed by combining concentrations of modified cassava starch, fish scale collagen, lemon essential oil and gelatinization temperatures, mentioned above and using the Box Behnken 4-factor response surface method for a total of 27 treatments.

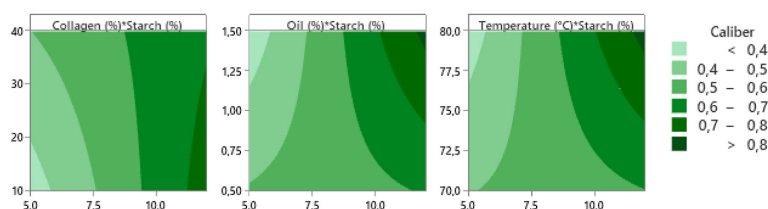
### Caliber (mm)

With respect to this variable, starch was the only factor that had a statistically significant effect ( $p < 0,05$ ) on the size of the processed films. Figure 1 shows the contour plots of starch versus the other factors and its behaviour against the film size, where it can be observed that the higher the starch content, the larger the film size. Starch contents between 5 – 9 % allow us to obtain films with calibers between 0,4 – 0,6 mm, whilst films with starch higher than 9 % one could obtain calibers between 0,6 – > 0,8 mm.

As indicated by Guarás (2018), the packages that have starch as material coming from cereals present random type-A schemes, while the diffractograms of starches coming from tubers, rhizomes and corn have high

amylose content with type-B patterns influencing the crystal structures of both types A and B to obtain double, parallel, six-row helices, with a crystallographic repeat distance of 1,05 nm, giving rise to larger gauges, as corresponds in this study. According to Adamiak and Sionkowska (2020) the caliber increases

with the addition of chitosan reinforcing the collagen structure and increases the pore size. It should be noted that the swelling properties of chitosan/collagen composites depend on the amount of crosslinking agent and the weight ratio of the components.



**Figure 1**

*Contour plot for caliber in relation to starch vs. collagen, oil and gelatinization temperature*

Source: Authors.

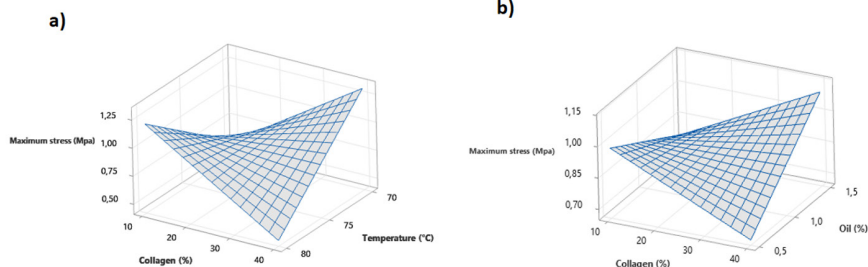
According to the results obtained by Abarca and Hidalgo (2021) the best derived matrix obtained with the combination of 11,5 % starch, 6 % collagen, 70 % water, 5 % vinegar, 6,50 % glycerin, 0,40 % citric acid, 0,6 % talc yielded a caliber of 0,231 mm compared to the present study which was 0,6 – > 0,8 mm, leading to an increase in resistance to mass transfer and vapor pressure; this effect on the structure of the film may be caused by the swelling of water in the polymer.

### Maximum stress (MPa)

Maximum stress can be defined as the stress that a material can withstand before breaking by stretching from both ends under specified

conditions of temperature, humidity and speed. The films produced obtained maximum stress values ranging from 0,19 – 1,98 Mpa.

The combination of A: 12 %, B: 10 %, C: 1 % and D: 75 °C obtained the highest values of  $1,89 \pm 0,07$  Mpa. Just like the study given by the maximum stresses performed by Gastelum *et al.* (2018) where it indicates that the material significantly increases its mechanical properties compared to the other treatments when one of its components, in this case the starch in the polymeric matrix helps to decrease the percentage of deformation, preventing the composite material from reaching a rupture.



**Figure 2**

*Response surface for maximum stress in relation to the most influential interactions*

Note. a) collagen\*temperature, b) collagen\*oil. Source: Authors.

Figure 2 presents the response surface graphs for these interactions, with respect to B\*D, an inversely proportional relationship is observed, as the temperature increases but the amount of collagen decreases the maximum stress increases or as the temperature decreases but the amount of collagen increases the maximum stress also increases. The highest points for this interaction are encountered in:  $0,94 \pm 0,049$  Mpa for 80 °C; 10 % collagen and 70 °C; 40 %. On the other hand, Figure 3, presents the interaction between B\*C, a proportional relationship is observed that as the collagen and oil content increases, a higher value of maximum stress is obtained ( $1,12 \pm 0,09$  Mpa), however, a greater influence is observed with the oil factor. With respect to the other interactions, it is observed that the maximum stress value is only influenced by the % starch, regardless of whether the % collagen or gelatinization temperature increases or decreases.

The increase in the mechanical properties in this material for elaborated packaging containing fish scale collagen can be influenced by the molecular weight of the protein. Palma-Rodríguez *et al.* (2017) report on the dependence of this type of protein in relation to the plasticizing power they have, when the elements with low molecular weight materials produce greater plasticizing power in the films than those with high molecular weights which would seriously indicate that the limit of the thermal properties of proteins is being reached; concordant with the results of 10% and 40% of collagen for maximum effort. In addition, the same study relates the combination of the concentration of poly-vinyl alcohol (PVOH) with starch, affected with a reduction in the melting temperature data, a variable directly related to the maximum stress behaviour of the element with which it is combined.

A similar case study is presented by Holguin-Cardona (2019) where he applies to 8 prototypes of bioplastics mechanical tests that present a

maximum stress of 3,25 MPa, compared to the ASTM D-638 standard of 3,46 MPa (minimum value 3 MPa), recommending the use of thickening agents such as polysaccharides that will increase volume performance and lower production costs. This last point is relevant for any process of elaboration of biopackaging and for the case of the present research study, this value is below the standard of conventional plastics, but for the study the value of  $1,89 \pm 0,07$  MPa for biodegradable derived matrices is important to take into account since it was observed that the incorporation of modified cassava starch reinforced the matrix increasing the maximum stress, behaviour that relates Bejarano-Martínez (2018), where he obtains a value by increasing the starch content increasing in his proposal 12,5 % presenting a result of 1,35 MPa of higher maximum stress.

### Young's modulus (MPa)

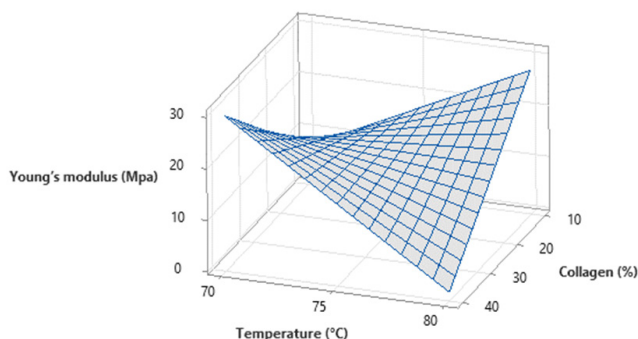
Young's modulus or modulus of elasticity (ratio of stress to strain over the linear part of the stress-strain curve) is a measure of film stiffness (Granda *et al.*, 2014), i.e. the higher the modulus, the higher the stiffness of the films. In this study the obtained values varied between 1,94 – 49,2 MPa, the combination of A: 12 %, B: 25 %, C: 1 % and D: 70 °C obtained the highest values with  $46,28 \pm 2,31$  MPa. This could be explained by the fact that as the amount of starch increases, the stiffness of the material increases, and therefore the Young's modulus values.

With respect to oil, according to Slavutsky and Bertuzzi (2015) the incorporation of some lipid component produces some changes in the film such as an increase in Young's modulus and tensile strength and a decrease in elongation, which may be correlated with the water content. According to Malihi *et al.* (2022) hydrophobic compounds, such as essential oils, can improve the moisture barrier properties of the film, improving its strength, conclusion is similar for this study as increasing the oil content increased Young's modulus values. However, the effect of

the addition of essential oils on the mechanical properties of films is a relatively complex process and contradictory results are found in literature.

With respect to the interactions, those with statistically significant influence were: B\*D, A\*B and B\*C. Figure 3 shows an inversely proportional relationship between the two factors (BD), where the highest Young's modulus

values occur at points B: 10 % and D: 80 °C or B: 40 % and D: 70 °C. According to Alias and Ishak (2020), the temperature and time of the protein during molding affects the tensile strength and Young's modulus of the films, behaviour that is evidenced in this study. On the other hand, A\*B interactions are more influenced by the % starch, regardless of whether it increases or decreases the % collagen, and B\*C by oil, or of whether it increases or decreases the % collagen.



**Figure 3**

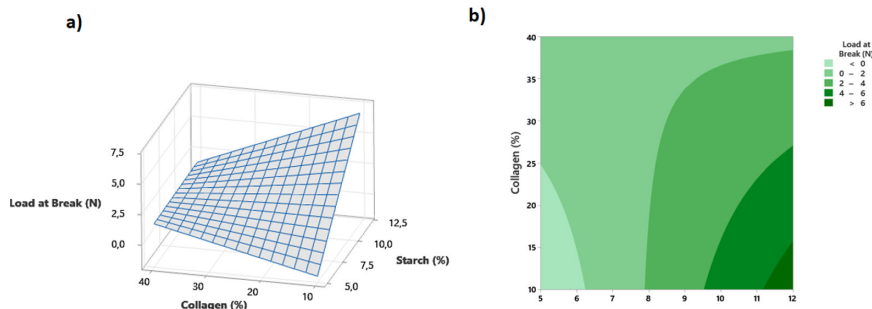
*Response surface for Young's modulus with BD interaction*

Source: Authors.

### Load at break (N)

The results obtained for the load at break, defined as the maximum load (N) necessary to stretch the composite material to its breaking point, in the films produced, obtained values ranging from 0,62 N – 5,97 N. The combination A: 12 %, B: 40 %, C: 1% and D: 75 °C obtained the highest values of  $5,19 \pm 0,42$  N. Regarding

the interactions obtained, the only one that had a statistically significant influence was that of A\*B. Figure 4 shows an inversely proportional relationship both in the response surface and in the contour plot; as starch increases but collagen content decreases, the breaking strength value increases; however, it is more influenced by the % starch than by collagen.



**Figure 4**

*Response surface and contour plot for Load at break with starch\*collagen interaction*

Source: Authors.

In comparison with the films composed of starch and collagen at 10 % in the study by Wang *et al.* (2016), the films that have a higher percentage of collagen show a greater presence of starch granules in the material obtained, indicating a more compact distribution, showing a greater fragility to breakage when subjected to heating, for the case of this study the modified cassava starch has  $22,49 \pm 0,19$  of amylose which allowed its shape to be maintained in the films made.

According to Guarás (2018) when starch uses high temperatures for gelatinization it is recommended not to use extrusion processes, since this unitary operation aims to decrease the content of plasticizers with boiling point above so that it does not denature. In addition, it should be taken into account that viscosity increases when there is high humidity, directly affecting the load at break with a higher degree of gelatinization of the material, without forgetting that this variable is the main one for the polymer degradation processes.

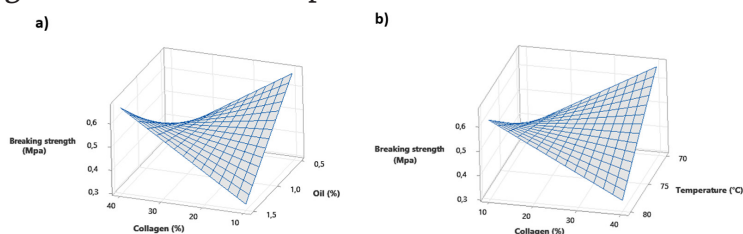
Studies carried out by Gutierrez (2020) shows the negative statistical effect of collagen on the force necessary to cut the films, considering that the collagen concentration measure increases, it is necessary to apply less cutting force, according to the results found, it is shown that the films present a force to rupture of  $25,25 \pm 1,17$  N, these results are much higher than those found with collagen from fish scales and modified cassava starch with maximum values of 5,97 N, being closer to those of tilapia

skin with force values of  $8,5 \pm 1,6$  N, referenced by the same author in his study.

### Breaking stress (MPa)

It is important to bear in mind that the maximum stress is different from the breaking stress, the latter refers to the minimum force per unit section capable of producing a rupture. The films produced obtained values that varied between 0,15 - 1,19 MPa, the combination of A: 12 %, B: 10 %, C:1 % and D: 75 °C obtained the highest values with  $1,11 \pm 0,23$  MPa. According to the Pareto diagram (Figure 1d), starch was the only factor that showed a positive and direct effect on the variable ( $p > 0,05$ ), behaviour similar to that of maximum stress.

With respect to the interactions, those with statistically significant influence were: B\*C, A\*B, B\*D and A\*C. The breaking stress value of the A\*B and A\*C interactions is only influenced by the % starch, regardless of whether the amount of collagen or oil increases or decreases. On the other hand, Figure 5 presents the response surface plots of the interactions with significant influence (B\*C and B\*D), both showing an inversely proportional relationship between the two factors. The behaviour of the B\*C interaction is comparable to the study reported by Jiang *et al.* (2022), who found the inversely proportional relationship of bovine collagen with oregano essential oil, causing changes in the mechanical properties, possibly since the protein is affected by the phenolic compounds of the essential oil.



**Figure 5**

*Response surface for the breaking strength in relation to the interactions*

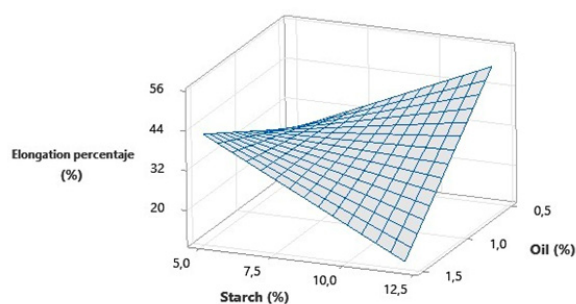
Note. a) B\*C and b) B\*D. Source: Authors.

Regarding the B\*D interaction, Chisenga *et al.* (2019) in their study concludes that at higher gelatinization temperatures a structural loss occurs within the starch granule collapsing its structure, therefore, in this case decreases the values of breaking stress if combined with higher concentration of collagen creating more elastic films but weak in its configuration.

### Total elongation percentage (%)

The elongation percentage represents the longitudinal increase relative to the initial length

of the sample after withstanding a tensile force, being a measure of the extensibility of the film until it breaks (Alias & Ishak, 2020). In this study the films produced obtained values ranging from 7,81 % - 72,54 %. The combination of A: 8,5 %, B: 25 %, C: 0,5 % and D: 70 °C obtained the highest values with  $69,69 \pm 2,16$ . Regarding collagen, the addition of this factor can provide a flexible nature of the film produced, however, high values make it more rigid and the elongation percentage value decreases, similar behaviour to the study of Susilawati *et al.* (2019) who also used fish gelatin.



**Figure 6**

*Response surface for the total elongation percentage with AC interaction*

Source: Authors.

With respect to the interactions, those with statistically significant influence were: AC and BC. Figure 6 shows that as the concentration of oil and starch decreases, the elongation percentage increases. That is to say that by incorporating oil to the formulation of the films these become less plasticized, these results are comparable to those of Slavutsky and Bertuzzi (2015) who used sunflower oil and as its concentration increased, Young's modulus increased but the elongation percentage decreased. On the other hand, the BC interaction the elongation value is only influenced by the % of oil, regardless of whether it increases or decreases the % of collagen.

## Conclusions

This study shows that starch has a positive and direct effect on the variables of caliber, maximum stress, Young's modulus, load at

break and stress at break, the higher the starch content the value of these variables increases, however, the percentage of deformation of the film decreases, which leads to form a more resistant but less flexible material. On the other hand, collagen and oil increase the total elongation percentage, considering that these factors influence the plasticizing power of the films, the incorporation of starch in the film combined with collagen serves as a potential solution for biodegradable packaging addressing the challenges faced by the environment.

The incorporation of lemon essential oil does influence mechanical changes of the biodegradable films, increasing the oil content, increasing the Young's modulus value, but decreasing the elongation percentage, the EOs have great potential in multifunctional and controlled release applications such as bioactive

food packaging. It was also concluded that the optimum gelatinization temperature for these factors should be within a range of 70 – 75 °C, since the temperature of 80 °C generated a structural loss within the starch granule thus collapsing the film structure and its mechanical characteristics.

## Acknowledgment

The authors would like to thank the Servicio Nacional de Aprendizaje - SENA, Regional Tolima del Centro Agropecuario la Granja, for the support provided as well as the permission to conduct the experiments in the laboratory facilities at Tecnoparque nodo la Granja, and finally to the Universidad del Tolima for the development of the study.

## References

- Abarca, P. F. J., & Hidalgo, L. D. M. (2021). *Obtención de película biodegradable a partir de colágeno (Gallus gallus domesticus) y almidón (Musa balbisiana) para el recubrimiento de frutas*. (Undergraduate thesis, Universidad de Guayaquil). Institutional repository. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/53887>
- Adamiak, K., & Sionkowska, A. (2020). Current methods of collagen cross-linking: Review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161, 550–560. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.075>
- Alias, S. A., & Ishak, K. M. K. (2020). Preparation and characterization of protein bioplastics from fish waste using different plasticizers. *Materials Science Forum*, 982 MSF, 67–72. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.982.67>
- Alzáte-Pérez, S. I., Quintanilla, J. P., Paredes, C. R., & Velasco, E. (2018, september, 13–14). Bioplásticos de colágeno parcialmente hidrolizado obtenido de las escamas del bocachico (*Prochilodum magdalenae*), reforzados con cáscarilla de arroz. In *Memorias del IV Simposio de Materiales Poliméricos, Biopolímeros. Informador Técnico*, 82 (2), 103–106. Cali, Colombia. <https://doi.org/10.23850/22565035.1983>
- American Society for Testing and Materials [ASTM]. (1980). D882–80, Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting. In *Manual book of ASTM standards*. ASTM. <https://www.astm.org/>
- AOAC. (2003). *Official Methods of Analysis*. Association of Analytical Washington, DC, USA. <https://www.aoac.org/>
- Assis, A. M. (2019). *Conservação de melão "cantaloupe" minimamente processado com diferentes recobrimentos*. [Master thesis, Universidade Federal De Campina Grande]. Institutional repository. <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/bitstream/riufcg/3533/3/ANAMARINAASSISALVES-DISSERTAÇAOPPGSAACADEMICO2019.pdf>
- Bejarano-Martínez, N. L. (2018). *Rendimiento del proceso de extracción de almidón a partir de frutos de plátano (Musa paradisiaca)*. [Undergraduate thesis, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. Institutional repository. <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/7578>
- Cabezas, J. A. (2020). *Recubrimientos biodegradables obtenidos a partir de cáscara y semilla de sandía (Citrullus lanatus)*. [Degree thesis, Universidad Agraria del Ecuador]. Institutional repository. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/CABEZASRODRIGUEZ JOSE ALBERTO.pdf>
- Cardozo, J. R., & Puerto, R. L. (2019). *Agregado de valor a frutos silvestres de agraz a través de la aplicación de recubrimientos comestibles a base de almidones de papas andinas*. [Degree thesis, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia]. Institutional repository. [https://repositorio.uptc.edu.co/bitstream/001/2815/1/TGT\\_1419.pdf](https://repositorio.uptc.edu.co/bitstream/001/2815/1/TGT_1419.pdf)
- Chisenga, S. M., Workneh, T. S., Bultosa, G., & Alimi, B. A. (2019). Progress in research and applications of cassava flour and starch: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 56 (6), 2799–2813. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03814-6>
- dos Santos, K. C., Almeida, N. L., Haas, T. M. C., Brandelli, A., Rodrigues, E., Hickmann, S. F., & Cladera, F. O. (2018). Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. *Food Packaging and Shelf Life*, 16, 138–147. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.006>
- Gastelum, A. N., Hernández, M. S., Gonzalez, B., Vega, Y., & Muñoz, I. M. (2018). Análisis comparativo de las propiedades mecánicas de un material compuesto reforzado con fibras de carbono y las de su matriz polimérica de resina epóxica. *Materia (Rio de Janeiro)*, 23 (2). <https://doi.org/10.1590/s1517-707620180002.0428>
- Granda, D., Medina, Y., Culebras, M., & Gómez, C. (2014). Desarrollo Y Caracterización De Una Película Activa Biodegradable Con Antioxidantes (Alfa-Tocoferol) a Partir De Las Proteínas Del Lactosuero Tt - Development and Characterization of an Active Biodegradable Film With Antioxidants (Alpha-Tocopherol) From. *Vitae*, 21 (1), 11–19. <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v21n1/v21n1a2.pdf>
- Guarás, M. P. (2018). *Desarrollo de Nanocompuestos Basados en Almidón Termoplástico a Escala Planta Piloto*. [Doctoral thesis, Universidad Nacional de Mar del Plata]. Repositorio Institucional CONICET Digital. Argentina. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/91843>
- Gutierrez, R. S. (2020). *Películas biodegradables a partir de colágeno de piel de pez diablo (Pterygoplichthys pardalis)*. [Master thesis, Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutierrez]. Institutional repository. <http://repositorio.digital.tuxtla.tecnm.mx/xmlui/handle/123456789/2034>
- Holguin-Cardona, J. S. (2019). *Obtención de un Bioplástico a partir de Almidón de Papa*. [Undergraduate thesis, Fundación Universidad de América]. Institutional repository. <https://repositorio.uamerica.edu.co/handle/123456789/2034>

[edu.co/bitstream/20.500.11839/7388/1/6132181-2019-1-IQ.pdf](https://edu.co/bitstream/20.500.11839/7388/1/6132181-2019-1-IQ.pdf)

Hou, C., Gao, L., Wang, Z., Rao, W., Du, M., & Zhang, D. (2019). Mechanical properties, thermal stability, and solubility of sheep bone collagen-chitosan films. *Journal of Food Process Engineering*, 43 (1), 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13086>

Jiang, J., Watowita, P. S. M. S. L., Chen, R., Shi, Y., Geng, J.-T., Takahashi, K., Li, L., & Osako, K. (2022). Multilayer gelatin/myofibrillar films containing clove essential oil: Properties, protein-phenolic interactions, and migration of active compounds. *Food Packaging and Shelf Life*, 32, 100842. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100842>

León, G., León, D., Monroy, M., Espriella, S., & Herrera, A. (2020). Modificación química de almidones mediante reacciones de esterificación y su potencial uso en la industria cosmética. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 39 (5), 620–626. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4263410>

Malihi, N., Danafar, F., & Moosavi-nasab, M. (2022). The effect of *Olivaria decumbens* Vent. essential oils and lysozyme on physicochemical and functional properties of fish gelatin film. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16 (3), 2356–2364. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01344-y>

Marín, D. (2019). *Nanoliposomas a partir de productos naturales infrautilizados y residuos agroalimentarios como ingrediente funcional en alimentos*. [Doctoral thesis, Universidad Complutense de Madrid]. Institutional repository. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/57956/1/T41485.pdf>

Mroczkowska, M., Culliton, D., Germaine, K., & Neves, A. (2021). Comparison of mechanical and physicochemical characteristics of potato starch and gelatine blend bioplastics made with gelatines from different sources. *Clean Technologies*, 3 (2), 424–436. <https://doi.org/10.3390/cleantechnol3020024>

Murillo, R. G. (2020). *Aplicación de la tecnología de extrusión en productos con alto contenido en proteína*. [Degree thesis, Universidad Politécnica de Valencia]. Institutional repository. <https://riunet.upv.es:443/handle/10251/150018>

Nordin, N., Othman, S. H., Rashid, S. A., & Basha, R. K. (2020). Effects of glycerol and thymol on physical, mechanical, and thermal properties of corn starch films. *Food Hydrocolloids*, 106, 105884. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105884>

Oluwasina, O. O., & Awonyemi, I. O. (2021). Citrus peel extract starch-based bioplastic: effect of extract concentration on packed fish and bioplastic properties. *Journal of Polymers and the Environment*, 29 (6), 1706–1716. <https://doi.org/10.1007/s10924-020-01990-7>

Palma-Rodríguez, H. R., Salgado-Delgado, R., Páramo-Calderón, D., Vargas-Torres, A., & Meza-Nieto, M. (2017). Caracterización parcial de películas biodegradables elaboradas con almidón de plátano y proteínas séricas de la leche. *Acta Universitaria*, 27(1), 26–33. <https://doi.org/10.15174/au.2017.1215>

Perez-Puyana, V., Alonso-González, M., Rubio-Valle, J. F., Guerrero, A., & Romero, A. (2020). Use of genipin to crosslink collagen and chitosan-based biomaterials. En *24th International Congress on Project Management and Engineering July*, 656–665. [http://dspace.aeipro.com/xmlui/bitstream/handle/123456789/2459/AT03-017\\_20.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.aeipro.com/xmlui/bitstream/handle/123456789/2459/AT03-017_20.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Rusli, A., Metusalach, M., & Tahir, M. M. (2017). Characterization of Carrageenan Edible films Plasticized with Glycerol. *Journal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20 (2), 219. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.17499>

Slavutsky, A. M., & Bertuzzi, M. A. (2015). Formulation and characterization of nanolaminated starch based film. *LWT - Food Science and Technology*, 61 (2), 407–413. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.034>

Susilawati, Rostini, I., Intan, R. P., & Rochima, E. (2019). Characterization of Bioplastic Packaging from Tapioca Flour Modified with the Addition of Chitosan and Fish Bone Gelatin. *World Scientific News*, 135, 85–98. [www.worldscientificnews.com](http://www.worldscientificnews.com)

Ulyarti, U., Nazarudin, N., Surhaini, Lisani, Ramadon, R., & Lumbanraja, P. (2020). Cassava Starch Edible Film with Addition of Gelatin or Modified Cassava Starch. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 515 (1), 6–11. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/515/1/012030>

Wang, K., Wang, W., Ye, R., Liu, A., Xiao, J., Liu, Y., & Zhao, Y. (2016). Mechanical properties and solubility in water of corn starch-collagen composite films: Effect of starch type and concentrations. *Food Chemistry*, 216, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.048>