

**EVALUACIÓN DE LOS METODOS CONCENTRACIÓN A VACÍO Y SECADO
POR ASPERSIÓN DE UN BIOINSUMO OBTENIDO A PARTIR DE JUGO DE
FIQUE (*Furcraea spp.*) PARA EL CONTROL *IN VITRO* DE LA GOTA EN LA
PAPA (*Phytophthora Infestans*)**

RUBÉN DARIO SOLARTE ERASO

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
SAN JUNA DE PASTO
2011**

**EVALUACIÓN DE LOS METODOS CONCENTRACIÓN A VACÍO Y SECADO
POR ASPERSIÓN DE UN BIOINSUMO OBTENIDO A PARTIR DE JUGO DE
FIQUE (*Furcraea spp.*) PARA EL CONTROL *IN VITRO* DE LA GOTA EN LA
PAPA (*Phytophthora Infestans*)**

RUBÉN DARIO SOLARTE ERASO

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar el título de
Ingeniero Agroindustrial**

**DIRECTOR
PhD: OSWALDO OSORIO MORA**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2011**

NOTA DE RESPONSABILIDAD

“Las ideas y conclusiones aportadas en el trabajo de grado son responsabilidad exclusiva de su autor”

Artículo 1° del acuerdo N° 323 de Octubre 11 de 1966, emanada del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación

Jurado
MSc: OSCAR ARANGO

Jurado
Ing. DIEGO MEJÍA

San Juan de Pasto, Noviembre de 2011.

DEDICATORÍA

A Dios porque hoy veo el cumplimiento de sus promesas tal como lo dice Josué 1:9, y además porque en él siempre encontré apoyo y descanso cuando todos parecían darme la espalda.

A mis padres JOSE RODRIGO SOLARTE y MARIA NORMA ERASO quienes han sido la razón de todo este camino recorrido y hoy ver escalado un peldaño más en la búsqueda de un sueño que cada vez está más cercano.

A mi hermano JOSE LUIS SOLARTE, juntos en un mismo propósito claro y justo, hoy a punto de dar sus primeros frutos. Fuerza y perseverancia.

RUBÉN DARIO SOLARTE ERASO

AGRADECIMIENTOS

Presento agradecimientos a todos aquellos que hicieron parte de forma activa en el desarrollo de este trabajo.

A la Vicerrectoria de investigaciones (VIPRI) de la Universidad de Nariño, así como al grupo Tecnologías emergentes en Agroindustria (TEA) por la financiación de este trabajo.

PhD. OSWALDO OSORIO MORA. Por su valiosa colaboración y aportes en el desarrollo de este trabajo.

Ing. Diego Mejía E. Por su asesoría y correcciones del trabajo de grado.

MSc. Oscar Arango B. Por las correcciones del trabajo de grado.

Ing. David Álvarez S. Por su asesoría y colaboración brindada.

Ing. José Fernando Vasco. Por su colaboración en el desarrollo del trabajo en la Universidad la Gran Colombia.

Y en general a todos aquellos que de una forma u otra hicieron parte en el desarrollo de este trabajo. A todos muchas gracias.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	16
1. IDENTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
2. JUSTIFICACIÓN	19
3. OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	22
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	22
4. MARCO TEORICO.....	23
4.1 JUGO DE FIQUE.....	23
4.2 DESHIDRATACIÓN	27
4.2.1 Evaporación controlada.....	27
4.2.2 Secado por Aspersión	27
4.3 ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL JUGO DE FIQUE	29
5. DISEÑO METODOLÓGICO	31
5.1 PROCEDENCIA Y RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL	31
5.2 OBTENCIÓN DEL JUGO	31
5.2.1 Lavado y desinfección de las hojas.....	31
5.2.2 Extracción del jugo:	32
5.2.3 Filtración y fermentación.....	32
5.3 DISEÑO EXPERIMENTAL	32
5.3.1 Concentración a vacío controlado.....	33
5.3.2 Secado por aspersión.....	33
5.4 PROTOCOLOS DE OBTENCIÓN	34

5.4.1	Concentración a vacío controlado	34
5.4.2	Secado por aspersión.....	34
5.5	EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i>	36
5.6	SENSIBILIDAD DEL PATÓGENO <i>Phytophthora Infestans</i>	37
5.7	CUANTIFICACIÓN DE SAPONINAS	38
5.7.1	Extracción e hidrolisis de sapogeninas.....	38
5.7.2	Hidrólisis	38
5.7.3	Purificación	38
5.7.4	Análisis por HPLC-PDA.....	38
5.8	DETERMINACIÓN DE SOLUBILIDAD.....	39
5.9	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	40
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
6.1	PORCENTAJE DE SOLUBILIDAD DE LAS MUESTRAS	41
6.2	CONCENTRACIÓN A VACÍO CONTROLADO	41
6.2.1	Porcentaje de concentración	44
6.2.2	Actividad de agua (A_w).....	48
6.2.3	Porcentaje de Crecimiento	51
6.3	SECADO POR ASPERSIÓN.....	56
6.3.1	Actividad de Agua.....	59
6.3.2	Porcentaje de crecimiento	62
6.4	COMPARACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS APLICADOS PARA CADA UNO DE LOS METODOS DE CONCENTRACIÓN.....	67
6.5	CONTENIDO DE SAPONINAS EN EL BIOINSUMO DE FIQUE.....	69
6.6	DISCUSIÓN.....	72

7.	CONCLUSIONES.....	74
8.	RECOMENDACIONES	75
	BIBLIOGRAFÍA	76
	NETGRAFIA.....	82

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Composición química de la hoja del fique	24
Tabla 2. Matriz experimental - evaporación vacío controlado	33
Tabla 3. Matriz experimental -secado por aspersion.....	33
Tabla 4. Resultados obtenidos mediante el método de concentración a vacío. 42	
Tabla 5. Análisis de varianza para la concentración a vacío controlado	45
Tabla 6. Óptima Respuesta Concentración a Vacío controlado.....	45
Tabla 7. Análisis de varianza para la Aw del bioinsumo Concentrado	49
Tabla 8. Óptima Respuesta Actividad de agua bioinsumo Concentrado.....	49
Tabla 9. Análisis de varianza para el porcentaje de Crecimiento del hongo P. Infestans.....	52
Tabla 10. Óptima Respuesta Porcentaje de crecimiento	53
Tabla 11. ANOVA para porcentaje de crecimiento.....	55
Tabla 12. Prueba de múltiples rangos.....	55
Tabla 13. Actividad anti fúngica del bioinsumo de fique pulverizado sobre el patógeno Phytophthora Infestans.....	57
Tabla 14. Análisis de varianza para Actividad de Agua.....	60
Tabla 15. Óptima Respuesta Actividad de agua	60
Tabla 16. Análisis de varianza para el porcentaje de Crecimiento.	63
Tabla 17. Óptima respuesta porcentaje de crecimiento	63
Tabla 18. ANOVA para porcentaje de crecimiento.....	65
Tabla 19. Prueba de múltiples rangos.....	66
Tabla 20. ANOVA para porcentaje de crecimiento.....	67
Tabla 21. Prueba de múltiples rangos.....	67
Tabla 22. Contenido de las muestra para el análisis en cada una de las etapas 69	
Tabla 23. Resultados para hecogenina en el jugo de fique mediante HPLC	70

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Cultivo de fique.....	23
Figura 2. Representación esquemática de un secador por aspersion.....	28
Figura 3. Máquina de extracción	32
Figura 4. Baño Rotavapor marca Eyela.....	34
Figura 5. Equipo de secado Spray	35
Figura 6. Aqualab <i>LITE</i>	36
Figura 7. Cámara de siembra	37
Figura 8. Equipo HPLC.....	39
Figura 9. Bioinsumo concentrado	41
Figura 10. Actividad Biológica del bioinsumo de fique concentrado a vacío	43
Figura 11. Porcentaje de concentración alcanzado en cada tratamiento del bioinsumo de fique (<i>Furcraea spp.</i>).....	44
Figura 12. Grafico de Pareto para % Concentración.....	46
Figura 13. Grafico de Efectos para % Concentración.....	47
Figura 14. Superficie de Respuesta % Concentración	47
Figura 15. Actividad de Agua de las muestras a diferentes concentraciones.....	48
Figura 16. Grafico de Pareto para Actividad de Agua	50
Figura 17. Efectos Principales para Actividad de Agua	50
Figura 18. Superficie de Respuesta actividad de agua	51
Figura 19. Porcentaje de crecimiento <i>In vitro</i> de <i>Phytophthora Infestans</i>	52
Figura 20. Grafico de Pareto para % Crecimiento	53
Figura 21. Efectos Principales Porcentaje de Crecimiento.....	54
Figura 22. Superficie de Respuesta % de crecimiento	54
Figura 23. Gráfica de medias para porcentaje de crecimiento	56
Figura 24. Bioinsumo pulverizado	56
Figura 25. Actividad Biológica del bioinsumo de fique secado por aspersion	58
Figura 26. Actividad de agua para cada uno de los tratamientos.....	59
Figura 27. Grafico de Pareto para Aw de Agua.....	61
Figura 28. Efectos Principales para Aw.....	61
Figura 29. Porcentaje de Crecimiento para cada uno de los tratamientos	62

Figura 30. Grafico de Pareto para % de Crecimiento.....	64
Figura 31. Efectos Principales Porcentaje de Crecimiento.....	64
Figura 32. Superficie de Respuesta actividad de agua	65
Figura 33. Gráfica de medias para porcentaje de crecimiento	66
Figura 34. Inhibición <i>in-vitro</i> sobre el crecimiento de <i>Phytophthora infestans</i>	68
Figura 35. Sapogenina Cristalizada.....	69
Figura 36. Cromatograma muestra uno (M1)	70
Figura 37. Cromatograma muestra dos (M2)	71
Figura 38. Cromatograma muestra tres (M3)	71
Figura 39. Cromatograma muestra cuatro (M4)	72

GLOSARIO

ACTIVIDAD BIOLÓGICA: Es una expresión que se emplea para describir los efectos benéficos o adversos que se producen sobre la materia viva.

CONCENTRACIÓN: Proceso mediante el cual la densidad y viscosidad aumentan con el contenido de sólido hasta que la disolución o bien se transforma en saturada o resulta inadecuada para una transmisión de calor adecuada.

DISEÑO EXPERIMENTAL: Es un conjunto de experimentos o pruebas, de tal manera que los datos generados puedan analizarse estadísticamente para obtener conclusiones válidas y objetivas acerca de un sistema o proceso.

FACTORES: Variables que influyen en el sistema y que pueden ser controladas por el investigador.

FIQUE: Plantas grandes, de tallo erguido, densamente poblado de hojas de color verde, en forma radial, angostas, carnosas, puntiagudas, acanaladas, y dentado espinosas.

IN VITRO: Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

***Phytophthora infestans*:** Es un protista fungoide de la clase Oomicetes parásito de las plantas produciendo una enfermedad conocida como tizón tardío.

SECADO SPRAY: Operación continua para convertir una solución líquida, suspensión o papilla, en un polvo seco mediante la deshidratación de gotas minúsculas.

SAPONINAS: Las saponinas son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, llamadas así por sus propiedades como las del jabón: cada molécula está constituida por un elemento soluble en lípidos (el esteroide o el triterpenoide) y un elemento soluble en agua (el azúcar), y forman una espuma cuando son agitadas en agua. Las saponinas son tóxicas, se cree que su toxicidad proviene de su habilidad para formar complejos con esteroides.

RESUMEN

Del 100% de la hoja de fique, solo el 4% se utiliza como fibra, el 96% del peso total de la hoja son desechos (Cadefique, 2006), debido al deterioro que ocasionan estos vertimientos al ambiente (Martínez y Caicedo, 2002), se propuso estudiar más a fondo estos residuos con el fin de brindar alternativas de uso.

En estudios previos se determinó que a nivel *in vitro* la concentración efectiva de jugo capaz de inhibir totalmente el crecimiento del fitopatógeno *Phytophthora Infestans* es de 75.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Alvarez y Col., 2010). Concentración que resulta de difícil manejo en campo, lo cual hace conveniente buscar alternativas para reducir esta dosis en volumen.

En consecuencia de esto, esta investigación busco evaluar dos técnicas de deshidratación que permitieran reducir en volumen la dosis letal recomendada por Álvarez *et al* (2010), así como definir si los tratamientos térmicos aplicados para lograr tal propósito influían en el potencial biocida del bioinsumo de fique. La concentración a vacío mediante la utilización de un rotavapor evita las altas temperaturas, mientras que el secado spray ofrece grandes ventajas, tanto por su simplicidad como por ser el apropiado para materiales sensibles al calor, ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto (5 a 30 s) (Deasy, 1983)

Obtenidos las muestras de cada uno de los tratamientos se sembró en cajas de Petri con medio nutritivo agar tomate (agar 18 g, sacarosa 18 g, carbonato de calcio 0,5 g, solución madre tomate 200 mL, solución madre arveja 200 mL, agua destilada 600 mL; para 1 litro de medio de cultivo) de acuerdo al protocolo propuesto por Caicedo y Chalparizan (2008).

Finalmente se realizo la cuantificación de hecogenina sobre el bioinsumo para los tratamientos más efectivos en la evaluación *In Vitro* y se obtuvo que el tratamiento térmico evaluado en cada uno de los métodos no afecta significativamente el contenido de hecogenina.

Como conclusión final se obtiene que los dos métodos evaluados resultan eficaces en la conservación de los componentes activos presentes en el bioinsumo de fique, así como en la preservación del potencial fúngico del bioinsumo al ser evaluado a nivel *in vitro*, encontrándose porcentajes hasta del 100% en inhibición del fitopatógeno, siendo los tratamientos C1, C2 y P1 los mejores tratamientos en la inhibición el patógeno en estudio.

Palabras Claves: Concentración, Vacío controlado, Secado Spray, Bioinsumo, *In vitro*, *Phytophthora infestans*, Jugo de fique, hecogenina.

ABSTRACT

100% fique leaf, only 4% is used as fiber, 96% of the total weight of the sheet are wastes (Cadefique, 2006), due to the damages caused by these discharges to the environment (Martinez and Caicedo, 2002), was proposed to further explore these residues to provide alternative uses.

Previous studies found that in vitro at the effective concentration of juice can completely inhibit the growth of phytopathogen *Phytophthora infestans* is 75,000 ug mL⁻¹ (Alvarez *et al.*, 2010). Concentration is difficult to manage in the field, making it convenient to look for ways to reduce the dose by volume.

In consequence, this research sought to evaluate two techniques that allow reductions in dehydration lethal dose amount recommended by Alvarez *et al.* (2010), as well as define whether the heat treatments applied to achieve this purpose influenced the biocide potential of bio-products of fique. Concentration under vacuum using a rotary evaporator avoids the high temperatures, while the spray drying offers many advantages, both for its simplicity and because it is appropriate for heat sensitive materials, since the time of exposure to elevated temperatures is very short (5 to 30 s) (Deasy, 1983).

Samples obtained from each treatment were sown in Petri dishes with nutrient medium tomato agar (agar 18 g, sucrose 18 g, 0.5 g calcium carbonate, tomato stock solution 200 mL, 200 mL stock solution peas, water 600 mL distilled; for 1 liter of culture medium) according to the protocol proposed by Caicedo and Chalparizan (2008).

Finally, quantification was performed on the bio-products hecogenin more effective treatments for the evaluation in vitro and that the heat treatment was evaluated in each of the methods does not significantly affect hecogenin content.

As a final conclusion is obtained that tested the two methods are effective in the conservation of the active components present in the of fique bio-products, as well as the preservation of bio-products of fungal potential when evaluated in vitro level, finding percentages to 100% in inhibition of plant pathogens, treatments being C1, C2 and P1 the best treatments in inhibiting the pathogen under study.

Key Words: Concentration, controlled vacuum, spray drying, bio-products, in vitro, *Phytophthora infestans*, fique juice, hecogenin.

INTRODUCCIÓN

Los principales departamentos productores de fique se ubican en la región andina del país, son 13 departamentos y se calcula unos 72 municipios productores de fique. Sin embargo, los cinco (5) principales departamentos productores son Cauca, Nariño, Antioquia, Santander y Boyacá y representan el 99% de la superficie cosechada, estimada en más de 23.000 hectáreas (MADR, IICA & Corpoica, 2004a).

Los tres (3) principales departamentos de mayor área cultivada son Cauca, Nariño y Santander, que representan el 87.2% en el periodo 2002 – 2008 (Secretaría Técnica Nacional Del Fique Cadefique, 2008). El Departamento de Nariño ocupó el primer lugar en área cultivada en el país, en el 2008 con 7.292 ha, el segundo lugar en rendimiento, con 1.2 ton/ha y produjo 7.540 toneladas de fibra que equivalen a un 34.1 % del total nacional siendo el segundo departamento en producción (Cruz H, 2008).

Del 100% de la hoja de fique, solo el 4% se utiliza como fibra, los residuos del proceso de extracción constituyen el 96% del peso de la hoja, de esta cantidad, el 50% lo constituyen los jugos de fique (Cadefique, 2006).

La demanda internacional de sustancias que se encuentran en la planta de fique, ha incentivado a que se realicen investigaciones para obtener un mejor aprovechamiento de sus componentes, buscando un modelo sostenible de la cadena de fique. Los productos industriales del jugo de fique tienen el potencial de ser competitivos (Cadefique, 2006).

El jugo de fique además de ser un residuo de la producción de fibras naturales, es una sustancia que se caracteriza por tener propiedades tensoactivas, plaguicidas, y por poseer esteroides naturales entre los que se han encontrado saponinas y fitoesteroles (Gomez & Vanegas, 2001).

En estudios de actividad biológica, las propiedades biocidas del jugo de fique han sido previamente estudiadas y documentadas en Colombia. Se ha realizado estudios *in vitro* del extracto de fique para determinar la acción biocida de esta sustancia sobre las estructuras micelial y conidial de los hongos fitopatógenos *Colletotrichum gloeosporoides* y *Sclerotinia sclerotiorum*, causantes de las enfermedades conocidas como pudrición algodonosa del Lulo (*Solanum quitoense*), antracnosis del tomate de árbol (*Solanum betacea*) (Gómez H, 2001) y tizón tardío o gota de la papa causado por el pseudohongo *Phytophthora infestans* (Alvarez y Col., 2010).

Las propiedades biocidas del jugo de fique pueden alterarse o perderse debido a su rápida degradación a temperatura ambiente (Rojas, 2008), lo cual se puede

controlar con métodos de conservación, que emplean efectos físicos o químicos que impiden o retardan la descomposición de material biológico; como el calor, frío, control de actividad del agua, del oxígeno en el aire, entre otras (Fellows, 1994).

Con el ánimo de solucionar estos problemas se utilizaron técnicas de deshidratación, las cuales se basaron en la disminución de la actividad de agua (A_w) mediante la reducción del contenido de humedad, evitando así el deterioro y contaminación microbiana de los mismos durante el almacenamiento. Para ello se pueden utilizar varios métodos de deshidratación o combinación de los mismos, tales como secado solar, aire caliente, microondas, liofilización, atomización, deshidratación osmótica, entre otros (Vega & Lemus, 2006).

1. IDENTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El fique es un producto estratégico para el desarrollo agropecuario y agroindustrial del país, teniendo en cuenta el proceso de expansión experimentado por el cultivo en los últimos años y la tendencia internacional de utilización de empaques biodegradables, así como el uso industrial de sus derivados (Caracterización Ocupacional Del Subsector Fiquero De Colombia, 2006).

Del proceso de desfibrado del fique, queda un 96% de residuos (Cadena Productiva Nacional Del Fique Cadefique, 2006), de estos el jugo constituye el 70% de los residuos que se desechan al ambiente. En Nariño, se producen cerca de 103.000 ton/año de jugo, que actualmente no está siendo aprovechado (ECOFIBRAS Empresa Cooperativa de Fibras Santander Limitada, 2005). Debido al deterioro que ocasionan estos vertimientos al ambiente (Martínez & Caicedo, 2002), se ha propuesto estudiar más a fondo el residuo con el fin de brindar alternativas de uso.

En tal sentido, Alvarez y Col (2010) adelantaron estudios a nivel *in vitro* del jugo de fique y determinaron que la concentración efectiva capaz de inhibir totalmente el crecimiento del fitopatógeno *Phytophthora Infestans* es de 100.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ concentración que resulta de difícil manejo en campo, lo cual hace conveniente buscar alternativas para reducir esta dosis.

La concentración mediante diversas técnicas de evaporación es una forma de reducir volúmenes y concentrar los compuestos activos. La evaporación es una operación unitaria empleada para remover agua de los alimentos líquidos diluidos y obtener un producto líquido concentrado (Singh y col., 1993; Geankoplis, 1998). Entre los beneficios aportados por este proceso se tienen la reducción de las necesidades de espacio para almacenamiento, ya que se reduce su peso y volumen; así como la protección contra el deterioro microbiano y prolongación de la vida útil (Avalo y Col, 2009).

En este mismo sentido buscando evitar que posibles componentes se pierdan y deterioren en un proceso térmico, se ha determinado evaluar dos técnicas para tal propósito, las cuales son la concentración a vacío y secado por aspersion, técnicas bastante utilizadas en la preservación de componentes, y la concentración de estos con respecto a una muestra inicial, logrando de esta reducir la actividad de agua (A_w).

2. JUSTIFICACIÓN

En Colombia, 70.000 familias dependen directamente del cultivo de fique y están ubicadas en zonas marginales, cuya tierra no es apta para otros productos. Información aportada por el Observatorio de Agrocadenas afirma que el cultivo de fique genera un significativo número de empleos por hectárea. Durante el año 2005, generó 0.70 empleos por hectárea, cifra superior a la de cultivos como cacao (0.50 empleos), caña de azúcar (0,18), algodón (0,40), maíz (0,22), y arroz (0,14). Sin embargo, para el período 2000 – 2005, la producción creció a una tasa de 1.4%, mientras el empleo aumentó a un ritmo anual de 4%, al pasar de 10.538 personas ocupadas en el sector a 12.264, lo que refleja una baja productividad laboral del sector (Colombia - Ministerio De Agricultura Y Desarrollo Rural - Observatorio Agrocadenas, 2006).

En el mes de octubre de 2006, el eslabón Industrial (Compañía de Empaques S.A., Coohilados del Fonce Ltda. y Empaques del Cauca S.A.), decidió la disminución en \$ 277 del precio de compra de fique (materia prima), pasando de \$1.650 a \$1.373 por kg en los departamentos de Nariño, Santander y Cauca. El precio de proyección para el año 2008, se situó en \$1.370, lo cual significa una disminución del 12% con referencia al precio pagado en 2006, que fue de \$1.550 (Cruz H, 2008).

Esta importante desvalorización de los precios de la fibra en los últimos 2 años ha impulsado a los productores, centros de investigación y a la Cadena Agroindustrial del fique, a buscar alternativas de aprovechamiento integral, sobre todo en las regiones más productoras, como Cauca, Nariño y Santander.

A esto se suma el alto grado de ineficiencia del proceso de extracción de la fibra. Del 100% de la hoja de fique, solo el 4% se utiliza como fibra. Los residuos del proceso de extracción constituyen el 96% del peso de la hoja, lo que sumó 518.400 toneladas en 2003; de esta cantidad, el 50% lo constituyen los jugos de fique (Secretaría Técnica Nacional Del Fique Cadefique, 2006).

En el departamento de Nariño, el beneficio del fique genera aproximadamente 103.000 toneladas/año de jugo, que actualmente no está siendo aprovechado (ECOFIBRAS Empresa Cooperativa de Fibras Santander Limitada, 2005).

Además, el lavado de la cabuya muchas veces se hace en las quebradas, contaminando el agua con graves consecuencias para la biodiversidad de las diferentes regiones; ello se debe a las propiedades fisicoquímicas de los jugos. En un estudio realizado por Martínez y Caicedo (2002), se concluyó que la concentración letal media CL_{50} (a las 96 horas) de los jugos del fique es de 1 mg/L (1 ppm) para alevinos de trucha arco iris de una pulgada; igualmente se encontró

que 3 ppm es la concentración crítica muriendo el total de peces expuestos (Martínez y Caicedo, 2002).

Por otro lado el jugo de fique es más tóxico que el mancozeb (fungicida) y que el propanil (herbicida). La concentración letal media CL₅₀, medida a las 48 horas, es de 1,0 mg/l para el jugo de fique, mientras que para el mancozeb es de 2,2 mg/l. El jugo de fique solo es superado en toxicidad por un insecticida, el clorpirifos (Peinado y Col., 2005).

No existe información acerca de toxicidad en otras especies causada por sustancias generadas a partir del jugo de fique. Entre estas sustancias se destaca la presencia de saponinas esteroidales. Sparg (2004) reporta que las saponinas, ingeridas por vía oral, tienen una leve toxicidad para las especies de sangre caliente, pero es tóxica para especies de sangre fría, propiedad que se ha utilizado para capturar peces (Sparg y Col., 2004).

Diversos estudios realizados sobre plantas de la familia de las Agaváceas (a la que pertenece el fique) dan cuenta de una interesante actividad biológica, debida a su composición (García y Col., 1999; Pereira y Col., 2006; meléndez & capriles, 2006; Verástegui., 2008; Khanna & Kannabiran, 2008; Sánchez y Col., 2005; Deepak y Col., 2005).

No existen reportes sobre la utilización efectiva de esta sustancia a nivel comercial, posiblemente debido a las dificultades para estabilizarlo.

Por otro lado La “gota o tizón tardío” causado por el patógeno *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, se constituye en el agente fitopatológico más perjudicial de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en las zonas húmedas del mundo (Proinpa, 2006). En Colombia se reporta como el limitante de mayor incidencia en el cultivo (Salazar, 2000; Castaño y Castro, 2006; Jaramillo, 2004), debido principalmente a condiciones climáticas favorables para el desarrollo del patógeno y a la siembra de materiales altamente susceptibles, como las variedades Diacol Capiro, Parda Pastusa, ICA Nevada y Tuquerreña (Jaramillo, 2004). Este patógeno es el responsable de pérdidas económicas de consideración, limitando la producción de la papa, puesto que, al no realizarse una adecuada estrategia de manejo, las pérdidas pueden oscilar entre el 70 y 100 % de la producción (Cevipapa, 2002).

Álvarez y Col, (2010) reporta en estudios a nivel *in vitro* sobre actividad anti fúngica del jugo de fique una concentración letal media CL₅₀ de 75.000 µg mL⁻¹ sobre el tizón tardío en la papa, concentración que para efectos de manejo en campo y estabilización resulta inconveniente, tal situación obliga a la búsqueda de alternativas en la evaporación de agua y de esta manera concentrar su poder fúngico.

Una de las ventajas de la evaporación es la eliminación del agua. A menor humedad es mayor el tiempo de vida de anaquel, lo cual reduce costos y facilita el transporte (Huntington, 2004).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar los métodos concentración a vacío y secado por aspersión de un bioinsumo obtenido a partir de jugo de fique (*Furcraea spp.*) para el control *in vitro* de la gota en la papa (*Phytophthora infestans*)

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar las condiciones adecuadas, tanto de secado por aspersión como de vacío controlado para el bioinsumo de fique.
- Determinar el grado de efectividad del bioinsumo concentrado y pulverizado en el control *in Vitro* de *Phytophthora Infestans*.
- Cuantificar el contenido de saponinas antes y después de los tratamientos.

4. MARCO TEORICO

4.1 JUGO DE FIQUE

Es un subproducto del proceso de obtención de fibra de cabuya, y representa el 70% de la hoja, éste es una suspensión con características variables, dependiendo de la edad, la estación del año y la fertilidad del suelo. De color verde ocre, tiene un olor característico fuerte, y es muy corrosivo. Su densidad media a escala experimental es de 1.02 Kg/L y su pH varía entre 4 y 5. Sus constituyentes se conocen en forma cualitativa, siendo agua, celulosa, materia orgánica y minerales, con los siguientes valores porcentuales:

- 85% humedad.
- 6% celulosa. (D-glucosa)
- 8% parte orgánica y amorfa (sacarosa, proteínas, nitrógeno, fósforo, calcio, potasio, saponinas y sapogeninas).
- 1% Minerales.

(Cadena Productiva Nacional del Fique Cadefique, 2006)

Figura 1. Cultivo de fique



Fuente: Esta investigación

En el Tabla 1 se puede observar la composición química de la hoja de fique.

Tabla 1. Composición química de la hoja del fique

Fibra		Jugo		Bagazo	
Cenizas	0,7 %	Clorofila	Cenizas		12,2%
Celulosa	73,8 %	Carotenoides	E.E.		3,64%
Resinas, ceras y grasas	1,9 %	Saponinas	Azúcares	Proteína	9,84
Lignina	11,3 %	Resinas		Elementos Nitrogenados	71,29
Pentosanos	10,5 %	Flavonoides		Calcio	21,65%
		Ácidos orgánicos		Fósforo	0,09%
TOTAL	98,2 %	Alquitranes		Magnesio	0,2%
		Agua		Fósforo	1,81%
		Lignina		Sodio	0,04%
		Calcio		Cobre	14 ppm
		Lipoides		Hierro	647 ppm
		Fósforo		Manganeso	33 ppm
				Zinc	17 ppm

Fuente: Arroyave y Velásquez, 2001.

El jugo de fique además de ser un residuo en la producción de fibras naturales, es una sustancia que se caracteriza por tener propiedades tenso activas, plaguicidas, y por poseer esteroides naturales entre los que se han encontrado saponinas y fitoesteroles (Gómez, 2001).

El jugo de fique presenta características especiales de tipo biocida pero no se ha podido establecer la composición química exacta del jugo. Mediante estudios fitoquímicos preliminares, llevados a cabo en la Universidad de Nariño por Benavides y Col (2009), sobre dos variedades de fique, uña de águila (*Furcraea macrophylla*) y negra común (*Furcraea gigantea*), tanto jugo fermentado como sin fermentar con ello logrado determinar la presencia de diversas sustancias en el jugo de fique, entre las que se encuentran alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas, esteroides, quinonas y glucósidos cardiotónicos.

El manejo de los problema fitosanitario se fundamenta en el uso de productos sintéticos, en donde los agricultores realizan aplicaciones calendario con moléculas protectantes como Mancozeb y sistémicos con productos a base de Metalaxil-M y Cymoxanil de manera intensiva (Castaño y Castro, 2006; Martínez y Osorio, 2007). El uso indiscriminado de estos productos actuando en el mismo sitio, provocado una alta presión de selección y sensibilidad reducida del patógeno (Salazar, 2000; Carreño y Col., 2006; Pérez y Forbes, 2008; García y Col., 2008). Estudios realizados en las regiones IV y V de Chile destacan que 254 aislamientos del hongo *Phytophthora Infestans* se tornaron resistentes a Metalaxil (Riveros y Col, 2003), sumado esto, se destaca la contaminación por su residualidad y acumulación en suelos, plantas, animales y en el mismo hombre, lo que ocasiona

alteraciones en los procesos bioquímicos normales y por lo tanto, graves enfermedades (Bravo y Col., 2000).

Como posible solución a esta problemática algunos autores han reconocido que los extractos de diferentes especies de plantas tienen propiedades fungicidas, cualidades que han generado gran interés por sus resultados promisorios en laboratorio e invernadero (Castaño y Castro, 2006). Hay que destacar que hay una vasta variedad de especies de interés para la investigación, de la cual menos del 10% de la población vegetal ha sido evaluada en la búsqueda de actividad biológica (Harvey, 2000).

Se ha encontrado que las sustancias activas como alcaloides (Valencia y col, 2007), flavonoides (Guenounea, 2001), saponinas y triterpenos (Apablaza, 2000) presentan un efecto biocida muy importante.

Gerald Blunden y col (1980) aislaron saponinas esteroidales a partir de las hojas del *Agave aurea*, *A. avellanidens*, *A. cerulata*, *A. cerulata ssp. subcerulata*, *A. cocui*, *A. goldmaniana*, *A. shawii* y *Furcraea macrophylla*. En todas estas especies, la hecogenina y la tigogenina fueron las saponinas aisladas en mayor cantidad. Se encontró Gitogenina en los extractos de todas las especies probadas a excepción del de *A. shawii*. La manogenina y la 9-dehidromanogenina fueron encontradas en todas las especies menos en el *A. cocui*. La *chlorogenina* se aisló del *A. cocui*, pero no se encontró en las otras especies. También se encontraron variaciones cualitativas y cuantitativas en los volúmenes de saponinas presentes en los extractos de las mismas especies provenientes de regiones diferentes en los casos de *A. cocui* y *Furcraea macrophylla*.

Niño y col (1980) realizaron una evaluación por antibiosis de la actividad antibroca de 21 extractos metanólicos de las plantas recolectadas en la Reserva Natural Bremen-La Popa (Quindío). Los bioensayos se realizaron bajo condiciones controladas. Se encontró que algunos extractos metanólicos mostraron actividad contra la broca del café (*Hypothenemus hampei*, Ferrari). Con base en los resultados obtenidos, el 52.4% de los extractos metanólicos evaluados a través del ensayo de antibiosis presentaron actividad contra la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferrari), de estos el 28.6% pertenecieron a la familia Asteraceae, seguidos por los extractos de las *Solanaceae* y *Euphorbiaceae* ambos con el 9.5% y la familia *Rubiaceae* con el 4.8% (Niño y col, 2007).

En la Universidad del Quindío, Valencia y col (2007) realizaron la evaluación de la actividad de *Bocconia frutescens* L. como insecticida sobre *Hypothenemus hampei* F. Extractos de hojas, semillas, y corteza se estudiaron en concentraciones de 2000 ppm, 1000 ppm y 500 ppm, encontrando que la corteza posee la mayor actividad insecticida. Posteriormente, se evaluó la actividad de un extracto rico en alcaloides. La mayor actividad insecticida se presentó en el extracto de la corteza *Bocconia frutescens* presentando 77.8% de mortalidad

de individuos a concentración de 2000 ppm, en comparación de hojas (62.2%) y semillas (64.4%) a la misma concentración. El extracto de corteza rico en alcaloides presentó actividad insecticida del 15.5 %, lo que indica que parte de la actividad insecticida de la planta es complementada por los alcaloides presentes en ella (Valencia y col, 2007).

En otra investigación se encontró que en las hojas de *Lupinus ballianus* C.P., Smith, estaban presentes 5 flavonoides y 5 alcaloides, entre otros metabolitos. El flavonoide genisteina fue determinado utilizando la espectroscopia UV-Visible. El espectro IR reveló la presencia del alcaloide lupinina o hidroxilupanina. El flavonoide y el alcaloide tienen marcada acción antibacteriana y el último muestra además una actividad antifúngica muy eficiente (Fuertes y col, 1998).

La presencia de isoflavonoides como la fitoalexina del isoflavonoide desarrollada en las raíces de la alfalfa por actividad inducida por la acción de un hongo patógeno (solani de Rhizoctonia), se evidenció que estos compuestos presentan una actividad antifúngica muy representativa (Guenounea et.al, 2001).

Fuertes y col, (1998) en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica demostraron que, la presencia de flavonoides y alcaloides, les confiere la actividad antibacteriana, y actividad anti fúngica en el caso de los alcaloides. La acción antimicrobiana se debería a que los flavonoides por la presencia de hidroxilos fenólicos en su estructura, penetran fácilmente a través de la membrana celular bacteriana, se combinan y precipitan las proteínas protoplasmáticas desnaturalizándolas y actuando como venenos protoplasmáticos. La acción antibacteriana y anti fúngica de los alcaloides se podría deber a la presencia de nitrógeno en su estructura como amina o amida.

El jugo de fique fermentado por un periodo de 4 días una temperatura de 35°C presentó muy buenos resultados en la inhibición *in vitro* del patógeno *Phytophthora Infestans* aplicado a una concentración efectiva EC₅₀ de 75.000 µg mL⁻¹ presentando una inhibición completa del patógeno causante de la gota en la papa (Álvarez y Col, 2010)

4.2 DESHIDRATACIÓN

4.2.1 Evaporación controlada. La evaporación es una operación unitaria empleada para remover agua de los alimentos líquidos diluidos y obtener un producto líquido concentrado (Singh y Heldman, 1993; Geankoplis, 1998). Entre los beneficios aportados por este proceso se tienen la reducción de las necesidades de espacio para almacenamiento, ya que se reduce su peso y volumen; y la protección contra el deterioro microbiano y prolongación de la vida útil de conservación (Avalo y Col., 2009).

El objetivo de la evaporación es concentrar una disolución consistente en un soluto no volátil y un disolvente volátil. En la mayor parte de las evaporaciones el disolvente es agua. La evaporación se realiza vaporizando una parte del disolvente para producir una disolución concentrada. La evaporación difiere del secado en que el residuo es un líquido a veces altamente viscoso en vez de un sólido; difiere de la destilación en que el vapor es generalmente un solo componente y, aun cuando el vapor sea una mezcla, en la evaporación no se intenta separar el vapor en fracciones; difiere de la cristalización en que su interés reside en concentrar una disolución y no en formar y obtener cristales (McCabe, 1991).

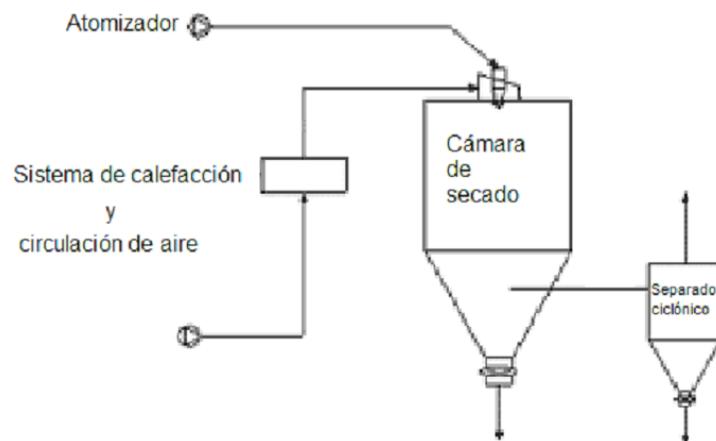
4.2.2 Secado por Aspersión. El secado por aspersión es un proceso que transforma una alimentación fluida en un producto seco en una sola operación (Fliková y Mujumdar, 1987). Los principales componentes de un secador por aspersión son (ver figura 2): un sistema de calefacción y circulación de aire, un atomizador que forma la aspersión (aspersor rotatorio o boquilla), una cámara de secado y un sistema de recuperación del producto (Brennan y Col., 1980). El fluido asperjado en forma de gotas entra inmediatamente en contacto con el flujo caliente del medio de secado. El resultado es una evaporación rápida manteniendo una baja temperatura de aire de secado sin que esto afecte al producto (Mujumdar, 1987).

El secado por aspersión es una operación continua para convertir una solución líquida, suspensión o papilla, en un polvo seco mediante la deshidratación de gotas minúsculas o nebulización, por lo general de 10 a 500 μm de diámetro. Dentro de la cámara de secado, se ponen en contacto una corriente de gas secante caliente en gran volumen con la suficiente energía para lograr la evaporación del líquido, con otra de partículas con una gran área superficial a través de la cual ocurre la evaporación de la humedad. La aspersión o atomización permite crear una superficie de intercambio muy grande entre el aire y el fluido pulverizado, propiciando intercambios de calor y de masa muy rápidos, lo cual se traduce en tiempos de residencia del producto a secar muy cortos (entre 5 y 100 s), circunstancia que es una de las grandes ventajas del secado por atomización,

que lo hace especialmente aplicable al secado de materiales sensibles al calor (Masters, 1991).

Este sistema de secado es ampliamente utilizado en la industria para la producción de productos con alto valor agregado por su alta calidad, costos de inversión de capital, tamaño de los equipos industriales y costo de operación (Ceballos, 2008)

Figura 2. Representación esquemática de un secador por aspersion



Fuente: (Mendoza y Col., 2004).

El proceso de secado por aspersion se realiza en 4 etapas (Long, 1978):

- En la primera etapa el alimento es forzado a pasar a través de un pequeño orificio, formando una lámina cónica líquida de pequeñas partículas, del orden de micras. El aire se expande adiabáticamente de la boquilla a la cámara de secado, efecto Joule-Thomson) y su temperatura cae de forma casi instantánea.
- La segunda etapa es la dispersión de las partículas en el aire (mezcla aire-rocío). Durante la aspersion de la alimentación, el área superficial específica se incrementa miles de veces. La superficie de la mezcla aire-rocío tiene gran influencia en el secado de las partículas. Si bien para formar las gotas se requiere poca energía, la ineficiencia mecánica, la presión, la inercia y la pérdida de viscosidad causan un elevado consumo de energía. Esta etapa dura aproximadamente 0.1 s.
- El secado propiamente es considerado como la tercera etapa. Corresponde al momento en que las gotas viajan y se convierten en materia seca, durante esta fase el solvente se evapora y el diámetro de la gota decrece. El tiempo es

relativamente grande comparado con el que toman las etapas precedente y depende de las condiciones de la aspersión, del líquido y de la saturación relativa del aire secante.

- La recolección de los sólidos secos es la última etapa. A la salida de la cámara de secado, el producto es recuperado del aire en un ciclón. Adicionalmente se requiere hacer la remoción del polvo de las paredes de la cámara de secado; para ello en la industria se emplean escobas de aire o raspadores giratorios.

Entre los problemas tecnológicos que se presentan para el secado de jugos de vegetales y otros por aspersión, están la alta higroscopicidad y naturaleza termoplástica de los polvos, lo cual da lugar a problemas como adhesión a las paredes del secador, difícil manejo, apelmazamiento debido a que contienen azúcares que los hace extremadamente difíciles para secarlos puros en una operación continua. Las proporciones variadas de sacarosa, fructosa y glucosa están generalmente presentes en estado amorfo; tales azúcares son muy higroscópicos e influyen en las características finales del producto, conducen a diferentes niveles de sorción de agua y a cambios en el estado de transición de fase (Bhandari y Col., 1997). Los encapsulantes son una excelente alternativa para prevenir estos problemas.

Pedroza-Islas y col., (1999) menciona que los encapsulantes o materiales formadores de pared más utilizados para este método han sido: Carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, ciclodextrinas, carboximetilcelulosa y derivados); gomas (arábiga, mezquite, alginato de sodio); lípidos (ceras, parafinas, grasas) y proteínas (gelatina, proteína de soya, caseinatos, suero de leche, zeína), desde luego que el tipo de material encapsulante tendrá influencia en la estabilidad de la emulsión antes de secar, en el tamaño de partícula, en las propiedades de flujo, en las mecánicas y en la vida útil del material deshidratado (Pedroza-Islas, 2002)

4.3 ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL JUGO DE FIQUE

La gota en la papa o también conocido como “tizón tardío” ocasionado por el patógeno *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, ha sido uno de los mayores problemas en los cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L.) sobre todo en las zonas húmedas del mundo (Proinpa, 2006). En Colombia se reporta como el limitante de mayor incidencia en el cultivo (Salazar, 2000; Castaño y Castro, 2006; Jaramillo, 2004), debido principalmente a condiciones climáticas para el desarrollo del patógeno y a la siembra de materiales altamente susceptibles, como las variedades Diacol Capiro, Parda pastusa, ICA Nevada y Tuquerreña (Jaramillo, 2004). Este es el responsable de pérdidas económicas considerables, limitando la producción de la papa, puesto que, al no realizarse una adecuada estrategia de

manejo, las pérdidas pueden oscilar entre el 70 y 100% de la producción (Cevipapa, 2002).

Realizadas aproximaciones en la evaluación del potencial químico que tiene el jugo de fique en el control de *Phytophthora infestans*, se encontró que el jugo de la especie *Furcraea spp* utilizada principalmente en la extracción de fibras, presenta cualidades fungicidas que pueden ser utilizadas en el manejo de este problema fitosanitario, ya que posee propiedades tensoactivas, plaguicidas y presenta contenidos de esteroides naturales entre los que se han encontrado saponinas y fitoesteroles (Preciado y Rangel, 2006; Rojas, 2008; Gómez y Vanegas, 2001), componentes que pueden interactuar como limitantes en el crecimiento del patógeno.

Tras diversas evaluaciones del jugo de fique a nivel *in vitro* como potencial inhibidor del fitopatógeno *Phytophthora infestans* causante de la gota en la papa, se concluyó que a concentraciones de $75.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ presenta una inhibición satisfactoria del fitopatógeno (Álvarez y col, 2010)

5. DISEÑO METODOLÓGICO

La investigación se desarrolló en las instalaciones de La Universidad de Nariño (Planta Piloto y laboratorio de microbiología) y en la Universidad La Gran Colombia de Armenia, en la cual se desarrollaron todas las pruebas de secado por aspersión del bioinsumo de fique. En lo que respecta al proceso de secado por aspersión hubo la necesidad de realizar pruebas preliminares basadas en condiciones descritas en la literatura.

5.1 PROCEDENCIA Y RECOLECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

El jugo se extrajo directamente de las pencas de fique de variedad Negra Común, procedentes del municipio de El Tambo y llevadas hasta las instalaciones de Planta Piloto de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad de Nariño.

La recolección del material vegetal se llevo a cabo en horas de la mañana por uno de los agricultores del municipio del Tambo, el cultivo de fique es propio de zonas con un clima templado y se da con mucha facilidad en terrenos de poca accesibilidad.

5.2 OBTENCIÓN DEL JUGO

5.2.1 Lavado y desinfección de las hojas. Se tomaron las pencas de fique y se extendieron sobre una superficie limpia previamente desinfectada con una solución de hipoclorito a una concentración de 200 ppm, luego se hizo un lavado inicial con abundante agua para posteriormente realizar un refregue con cepillo y jabón, terminado esto se procede a realizar un nuevo lavado con agua, con el fin de enjuagar el jabón y toda suciedad que haya sido desprendida en la anterior operación. Posteriormente se rocía cada una de las hojas de fique con una solución desinfectante de hipoclorito de sodio a una concentración de 100 ppm con una bomba de fumigar, se dejo por un periodo de 5 minutos y se enjuago con agua potable.

5.2.2 Extracción del jugo:

Figura 3. Máquina de extracción



Fuente: Esta investigación

La extracción se llevo a cabo mediante la utilización de un molino de rodillos sobre el cual se introdujo la penca de fique y por una operación de presión que ejerce este se obtuvo el bagazo y el jugo, este ultimo el de interés para la investigación a desarrollar.

5.2.3 Filtración y fermentación. Debido a la alta cantidad de residuos presentes en el jugo se hizo necesario realizar un proceso de filtración, para ello se utilizo unos lienzos que garanticen la separación de los residuos sólidos del jugo. Posterior a esto se llevo el jugo a unos recipientes plásticos, los cuales son llevados a una incubadora por un periodo de cuatro días a una temperatura de 35°C (Álvarez y col, 2010).

5.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Dado que en el trabajo de investigación se llevo a cabo una comparación en dos métodos de conservación y los factores en estudio fueron diferentes, lo que hace necesario plantear un diseño experimental para cada uno de estos.

5.3.1 Concentración a vacío controlado. Para esta parte del trabajo se desarrolló un diseño factorial multinivel 3^2 con tres repeticiones, para un total de 27 unidades experimentales. Los factores a evaluados y sus niveles se muestran en la tabla 2. Las variables de respuesta fueron el porcentaje de concentración, el porcentaje de crecimiento del hongo *Phytophthora Infestans* y la actividad de agua del jugo de fique concentrado, las cuales fueron analizadas mediante el programa estadístico STATGRAPHICS Plus 5.1 (Statistical Graphics Corp.1994–2002).

Tabla 2. Matriz experimental - evaporación vacío controlado

TRATAMIENTO	TEMPERATURA (°C)	TIEMPO (min)
C1	90	120
C2	90	90
C3	80	120
C4	70	60
C5	70	90
C6	90	60
C7	80	60
C8	80	90
C9	70	120

Fuente: Esta investigación

5.3.2 Secado por aspersion. El proceso de secado Spray o aspersion se realizo en base a un diseño experimental multinivel con arreglo factorial 3^2 con tres repeticiones, para un total de 27 unidades experimentales. Los factores a evaluar y sus niveles se muestran en la tabla 3. Las variables de respuesta fue el porcentaje de crecimiento del hongo *Phytophthora Infestans* y la actividad del agua, la cual fue analizada mediante el programa estadístico STATGRAPHICS Plus 5.1 (Statistical Graphics Corp.1994–2002).

Tabla 3. Matriz experimental -secado por aspersion

TRATAMIENTO	TEMPERATURA ENTRADA (°C)	VELOCIDAD DE AIRE (m/s)
P1	140	60
P2	140	70
P3	140	80
P4	150	60
P5	150	70
P6	150	80
P7	160	60
P8	160	70
P9	160	80

Fuente: Esta investigación

5.4 PROTOCOLOS DE OBTENCIÓN

5.4.1 Concentración a vacío controlado. Los ensayos se realizaron en rotavapor marca EYELA (figura 4) según la matriz experimental en los cuales se ajustaron los siguientes parámetros de acuerdo a ensayos preliminares: Presión de vacío 10 psi, velocidad de giro del balón de muestra 25 rpm; para el desarrollo de esta investigación se tomaron muestras de 300 ml para la ejecución de cada una de las unidades experimentales.

Figura 4. Baño Rotavapor marca Eyela.



Fuente: Esta investigación

5.4.2 Secado por aspersion. Se empleó un secador por aspersion de referencia YC – 015 con una capacidad de 1500 ml/h de fabricación china (Figura 5). Las condiciones de operación del aire de secado fueron: 140, 150 y 160 °C (temperatura de entrada) y 110 °C (temperatura de salida) aproximadamente; las velocidades de aire de entrada fueron de 60, 70 y 80 m/s Yanza, (2003).

Las condiciones que se manejaron para él proceso de secado son las siguientes, las cuales se definieron en base a ensayos preliminares.

Temperatura de entrada	(140 – 160 °C)
Temperatura de salida	(Depende de la de entrada – 110 °C)
Tiempo de salida del pistón	(1 seg)
Velocidad del aire entrada – Blowers	(60 – 80 m/s)
Revoluciones de la bomba	(50 rpm – 38 ml / min)

Figura 5. Equipo de secado Spray



Fuente: Esta investigación

a. Preparación de la muestra para secado Spray

Con el fin de lograr un excelente secado y evitar problemas presentados en pruebas preliminares como el quemado y adherencia del polvo en las paredes dificultando su recolección; fue preciso la utilización de un agente encapsulante que evite tales problemas en el proceso de secado por aspersión. Se realizó la adición de goma arábiga de tal forma que incremente en dos grados Brix con respecto a los iniciales que estaban entre 6 y 7 grados Brix, posteriormente se sometió a un proceso de concentración en rotavapor a un temperatura del baño de 80°C, presión de vacío de 80 mbar por un tiempo aproximado de 2 horas o en su defecto que alcance una concentración del 50% con respecto al volumen inicial (Yanza, 2003).

b. Actividad de agua

La prueba se realizó en un equipo AquaLab LITE referencia 7614AQUALITE con un rango de medida (0,03 - 1) (Figura 6). Para la realización de la prueba se tomó una muestra aproximadamente 0,3 gramos, se colocó en una copa y esta a su vez en el equipo, se esperó un tiempo aproximado de 3 min y se procedió a realizar la lectura.

Figura 6. Aqualab LITE



Fuente: Esta investigación

c. Almacenamiento.

El almacenamiento del bioinsumo de fique pulverizado se realizó en dos empaques diferentes; bolsas plásticas de alto calibre resellables y frascos de vidrio color ámbar con tapas de corcho, todo esto con el fin de comparar cuál de estos materiales era más propicio para el almacenamiento del producto en el tiempo a condiciones ambientales.

5.5 EVALUACIÓN *IN VITRO*

A cada uno de los tratamientos se les evaluó su poder inhibitor sobre el hongo *Phytophthora Infestans*. De cada tratamiento se tomaron $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ los cuales se aplicaron sobre el medio de cultivo. La unidad experimental evaluada fue una caja petri.

La elaboración del medio agar tomate siguió el siguiente protocolo. Teniendo en cuenta que por cada caja petri se adicionan 20 ml de medio de cultivo preparado. 1.75% (w/v) de agar agar o agar bacteriológico, 1.75% (w/v) de sacarosa, 0.05% (w/v) carbonato de calcio, 60% (v/v) de agua destilada, 10.5% (v/v) de pulpa de tomate y 9% (v/v) de pulpa de arveja. La pulpa de arveja y de tomate se mezclaron y se llevó a un beacker y se adiciono de un 100%, 40% (v/v) de agua destilada, y el 60% restante se mezclo con la sacarosa, carbonato de calcio, agar y se llevó a baño maría con agitación constante hasta su ebullición, después de terminada se

mezclaron con la solución madre tomate-arveja y se llevó a autoclave a 15 psi por 15 min.

Figura 7. Cámara de siembra



Fuente: Esta investigación

5.6 SENSIBILIDAD DEL PATÓGENO *Phytophthora Infestans*.

El comportamiento *in vitro* del patógeno se determinó por medio del crecimiento radial de las colonias de *Phytophthora Infestans*, para esto se utilizaron discos de micelio de 1,1 cm de diámetro del patógeno obtenidos con sacabocado, estos fueron llevados a cajas Petri con medio agar tomate enmendado con los diferentes tratamientos, cada unidad experimental fue evaluada mediante el programa gráfico ImageJ (Rasband, 2004) después de un período de incubación de 8 días a temperatura promedio de 18°C. Se determinó el porcentaje de crecimiento utilizando la relación propuesta por Riveros y col., (2003).

$$PC = \frac{DMCM - 1,1cm}{DMCA} \times 100$$

Donde: PC = porcentaje de crecimiento; DMCM = diámetro medio de colonia creciendo en el tratamiento; 1,1 cm = diámetro del cilindro con micelio; y DMCA = diámetro medio de colonia sin enmendar. Con base en el porcentaje de

crecimiento se determinó la sensibilidad del aislamiento evaluado mediante la escala propuesta por Shattock (1988), en donde:

Sensible (S): Menor del 10% del crecimiento del testigo
Intermedio (I): Entre 10 y 60% del crecimiento del testigo
Resistente (R): Mayor del 60% del crecimiento del testigo

Los datos obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza y prueba de comparación de medias por el método de LSD de Fisher a un nivel de significancia del 0,05 mediante el programa estadístico Statgraphics plus 5.1 (2002)

5.7 CUANTIFICACIÓN DE SAPONINAS

5.7.1 Extracción e hidrolisis de sapogeninas. Se hizo la extracción de sapogeninas a partir de la muestra de jugo fresco, concentrado a vacío y pulverizado, con el método propuesto por Gnoatto S. (2005), mediante cocción en agua grado HPLC la relación muestra: solvente es 1.5:10 m/v. El extracto obtenido fue filtrado en papel filtro cualitativo Watman.

5.7.2 Hidrólisis. Al extracto acuoso (filtrado) se lo combino con HCl concentrado (1,5 ml de HCl por cada 10 ml de filtrado). La mezcla se sometió a reflujo durante 2 a 4 horas. Se extrajeron las sapogeninas con cloroformo en relación 1:2 respecto al hidrolizado, se repitieron 4 veces la extracción luego se evaporo la fracción de cloroformo y el residuo es el crudo de sapogeninas.

5.7.3 Purificación. Se realizó por cristalización según la metodología seguida por Sharapin, (2000), con algunas modificaciones; se disolvió el residuo de crudo de sapogeninas en metanol caliente con ultrasonido durante 15 minutos para garantizar la solubilidad total, posteriormente se filtro con papel filtro cualitativo, se elimina el metanol del filtrado y el residuo son las sapogeninas cristalizadas.

5.7.4 Análisis por HPLC-PDA. Las sapogeninas cristalizadas se disolvieron en Acetonitrilo grado HPLC. Esta solución se purificó mediante SPE C18 para eliminar posibles contaminantes se y filtró con acrodisk de 0.45µm y se inyectó en HPLC.

Figura 8. Equipo HPLC



Fuente: Esta investigación

Método de análisis de sapogeninas por HPLC-PDA.

- Columna Analítica: Spherisorb® C8 4.6x100 mm; 5 μ m id.
- Fase Móvil: ACN: H₂O (60:40), modo isocrático.
- Flujo: 0.75 ml/min.
- Detección: 203nm y 235nm
- Inyección: 20 μ L loop.
- Temperatura: 30°C
- Diluyente: Acetonitrilo y Metanol

Para la cuantificación se utilizó el método de patrón externo utilizando como estándares el ácido oleanólico al 98% y acetato de hecogenina al 90%. La curva de calibración se realizó con cinco concentraciones diferentes y dos inyecciones para cada concentración así: Ácido oleanólico 20, 60, 80, 100 y 120 ppm se leyó a 203 nm y acetato de hecogenina 10, 20, 40, 60 y 100 ppm a 235nm. Los R² obtenidos fueron de 0,9979 para ácido oleanólico y 0,9984 para acetato de hecogenina, con %RSD < 1.

Las muestras se inyectaron por triplicado y también se obtuvieron valores de %RSD inferiores a 1.

5.8 DETERMINACIÓN DE SOLUBILIDAD.

La solubilidad se calculó mediante el método de Eastman y Moore, (1984) reportado por Cano y col., (2005) y Shittu & Lawal, (2007). 1 g de muestra (base seca) se coloca en 100 ml de agua destilada a 30 °C en un vaso agitado. La

suspensión se agitó por 5 min y luego se centrifugo a 3000 rpm por 5 min. Una alícuota de 25 ml del líquido sobrenadante se transfirió a una caja petri, se peso y se llevó a una estufa de secado a 105 °C por 5 h. Los sólidos recuperados se pesaron después del secado y se calculo el % de solubilidad por diferencia de pesos.

5.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de resultados se realizó utilizando la técnica de analisis de varianza con lo que determino la significancia estadística de los factores sobre las variables de respuesta, el análisis de resultados se hizo mediante:

- ✓ Tabla ANOVA
- ✓ Óptima Respuesta
- ✓ Diagrama Efectos Principales
- ✓ Diagrama de Pareto
- ✓ Superficie de Respuesta
- ✓ Prueba de Múltiples Rangos

También se realizó una comparación entre cada uno de los diseños, con el fin de determinar cuál de los dos métodos utilizados ofreció mejores resultados frente al porcentaje de inhibición del patógeno en estudio.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 PORCENTAJE DE SOLUBILIDAD DE LAS MUESTRAS

Considerando que las muestras evaluadas como fungicidas sistémicos tienen que ser evaluadas en campo deben presentar un grado de solubilidad adecuado donde el solvente sea agua, considerando que este es el recurso más utilizado en las soluciones realizadas por los campesinos. Las pruebas se realizaron siguiendo el método de Eastman y Moore, (1984) reportado por (Cano y col., 2005; Shittu & Lawal, 2007). Mediante este método se encontró un porcentaje de solubilidad del 98,755 para el bioinsumo en pulverizado y de 99,55 % para el bioinsumo obtenido mediante el método de concentración a vacío.

6.2 CONCENTRACIÓN A VACÍO CONTROLADO

El bioinsumo de fique al ser concentrado presenta algunos cambios físicos fácilmente apreciables a la vista, entre ellos el cambio de color, viscosidad y textura, el figura 9 se puede observar el cambio de color existente entre los tratamientos.

Figura 9. Bioinsumo concentrado



Fuente: Esta Investigación

A continuación se presentan los resultados promedio (Tabla 4), con base a la matriz de diseño experimental planteada para el desarrollo de la investigación.

Tabla 4. Resultados obtenidos mediante el método de concentración a vacío

Tratamiento	Factores		Variables respuesta			
	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Crecimiento medio micelial (cm)	Porcentaje de Crecimiento (%)	Aw	Porcentaje de Concentración (%)
C0	Testigo Absoluto		5,425	100,00	----	----
C1	90	120	1,100	0,0	0,623	92,8
C2	90	90	1,100	0,0	0,624	92,9
C3	80	90	1,252	2,8	0,701	90,4
C4	90	60	1,313	3,9	0,715	87,1
C5	70	60	2,325	22,6	0,958	51,1
C6	70	90	1,426	6,0	0,909	84,5
C7	70	120	1,263	3,0	0,655	90,9
C8	80	120	1,198	1,8	0,645	91,4
C9	80	60	2,264	20,2	0,915	68,2
CJ	Jugo sin concentrar		2,358	23,2	0,975	Sin concentrar

En cuanto a la evaluación del bioinsumo de fique concentrado a vacío (*Furcraea gigantea* Vent.) aplicado a una dosis de $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ se determinó que todos los tratamientos tienen efecto en la inhibición del fitopatógeno *Phytophthora Infestans* a nivel *in vitro*. Según la escala de Shattock los tratamientos C1, C2, C3, C4, C6, C7 y C8 presentan crecimientos por debajo del 10% indicando en la escala un nivel de sensibilidad; mientras que los tratamientos C5 y C9 incluido el testigo de bioinsumo de fique líquido (CJ) presentan un nivel intermedio en la escala. El buen efecto del bioinsumo concentrado a vacío controlado respecto al líquido, puede deberse a la concentración de los metabolitos secundarios presentes en esta especie y a su vez a la concentración de los mismos por la eliminación de agua.

La figura 10 muestra el crecimiento del hongo *Phytophthora Infestans* frente a cada uno de los tratamientos evaluados por el método de concentración a vacío controlado, para los ensayos se utilizó una dosis de $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ la cual resulto efectiva y letal en el control del hongo en los tratamientos C1 y C2, y con excelentes resultados en otros tratamientos. De acuerdo a los resultados, los tratamientos térmicos evaluados muestran que las propiedades anti fúngicas del bioinsumo en estado líquido no son alteradas o tienen un leve efecto sobre estas a al aplicar este tipo de tratamientos.

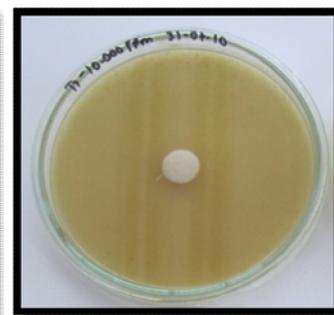
Figura 10. Actividad Biológica del bioinsumo de fique concentrado a vacío



C1 (90 °C x 120 min)



C2 (90 °C x 90 min)



C3 (80 °C x 90 min)



C4 (90 °C x 60 min)



C5 (70 °C x 60 min)



C6 (70 °C x 90 min)



C7 (70 °C x 120 min)



C8 (80 °C x 120 min)



C9 (80 °C x 60 min)



Bioinsumo Líquido

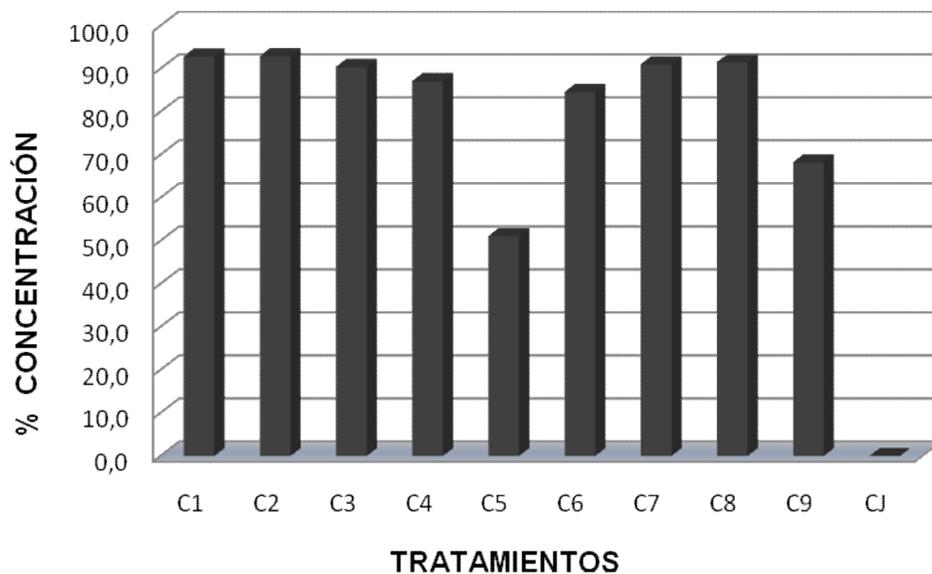
Fuente: Esta investigación



Testigo

6.2.1 Porcentaje de concentración. La figura 11 muestra los porcentajes de concentración del jugo de fique fermentado Vs cada uno de los tratamientos evaluados, la figura muestra que la concentración es directamente proporcional a la temperatura y tiempo de exposición.

Figura 11. Porcentaje de concentración alcanzado en cada tratamiento del bioinsumo de fique (*Furcraea spp.*)



Fuente: Esta investigación

El análisis de varianza (Tabla 5) indica los parámetros más influyentes en el proceso, con un nivel de confianza del 95%, es decir, con un error máximo permisible del 5%. Todos aquellos factores o interacciones que obtuvieron un valor $P < 0.05$ (última columna de la Tabla 5) son: A, B, AB, BB; estos serán considerados como los más relevantes en el proceso para obtener la máxima capacidad de concentración, igualmente se muestra que el modelo presentó un excelente ajuste con valor de R^2 de 98,6192 % minimizando las posibles causas de error a un 1,3808 % restante.

Tabla 5. Análisis de varianza para la concentración a vacío controlado

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
A: Temperatura	0,165888	1	0,165888	315,81	0,0000
B: Tiempo	0,374689	1	0,374689	713,31	0,0000
AA	0,000143407	1	0,000143407	0,27	0,6074
AB	0,104347	1	0,104347	198,65	0,0000
BB	0,0677698	1	0,0677698	129,02	0,0000
bloques	0,00000562963	2	0,00000281481	0,01	0,9947
Error Total	0,00998044	19	0,000525286		

Fuente: Esta investigación

Total (corr.) 0,722823 26

R-cuadrado = 98,6192 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 98,2905 por ciento

Tabla 6. Óptima Respuesta Concentración a Vacío controlado

Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
Temperatura	70,0	90,0	90,0
Tiempo	60,0	120,0	97,1963

Fuente: Esta investigación

Respuesta Optimizada

Meta: maximizar % Concentración

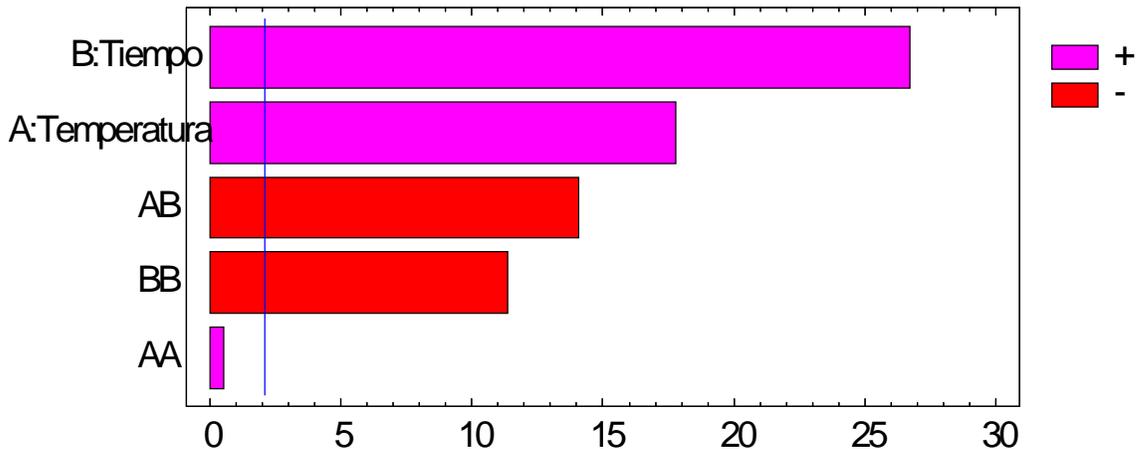
Valor Optimo = 94,977 %

Mediante estas condiciones se puede optimizar la variable respuesta encontrándose un valor óptimo de 94,977 % manejándose una temperatura de 90 °C y un tiempo de 97,1963 min.

El diagrama de Pareto estandarizado, mostrado en la Figura 12 es una representación gráfica del análisis de varianza donde igualmente se observan los factores más influyentes, en su respectivo orden sobre el proceso concentración del bioinsumo. Los efectos de color rojo (-) son inversamente proporcionales a la variable de respuesta (% concentración), mientras que los de color morado (+) son efectos directamente proporcionales a la variable de respuesta. El diagrama incluye una línea vertical cuya ubicación depende del intervalo de confianza determinado (95% para el caso de estudio). Todo efecto que sobrepase la línea será de considerable significancia para el proceso. Del diagrama se observa claramente que los factores más influyentes sobre el proceso son, en su orden, tiempo, temperatura; las interacciones temperatura – tiempo y

tiempo - tiempo. Esto indica que un cambio en el factor tiempo tendrá un efecto más relevante que cualquier cambio de otra variable, por lo cual la variable temperatura tiene menor importancia en el control del proceso. Las otras interacciones son fuentes menos significantes de variación para el proceso.

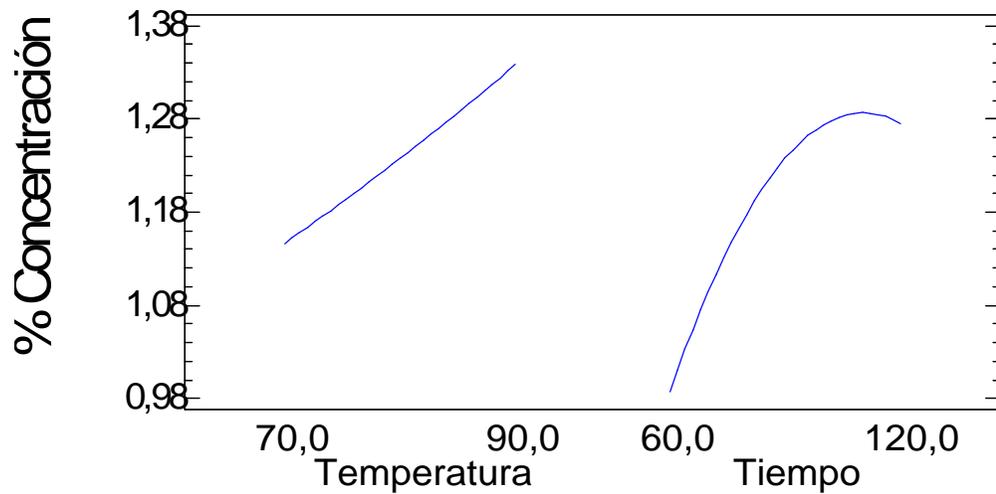
Figura 12. Grafico de Pareto para % Concentración



Fuente: Esta investigación

El efecto particular de cada una de las variables de entrada sobre la variable de respuesta puede observarse con mayor claridad en la Figura 13. Las representaciones de los efectos de la temperatura y el tiempo presentan pendientes que explican la gran significancia de estos efectos para el proceso y la sensibilidad de la variable de respuesta a estos factores, fenómeno que ya se observaba en el diagrama de Pareto estandarizado. El efecto tiempo, presenta una pendiente más pronunciada, lo que hace de esta variable sea de gran importancia para el proceso, mientras que la variable temperatura presenta una pendiente; esto indica que un pequeño cambio en la variable tiempo representa un gran aumento o disminución en el % de concentración del bioinsumo de fique.

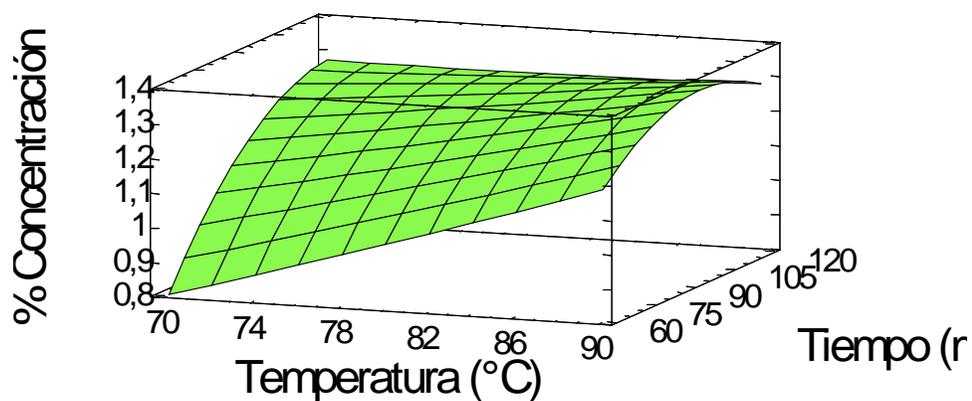
Figura 13. Grafico de Efectos para % Concentración



Fuente: Esta investigación

En la Figura 14 se muestra gráficamente la superficie de respuesta obtenida mediante el modelo. Se colocan las dos variables de entrada como parámetros del gráfico (eje x y eje y) y una tercera dimensión que sería la variable de respuesta misma (eje z). En este caso se asignan como parámetros del gráfico la temperatura y tiempo, y el % de concentración (variable de respuesta).

Figura 14. Superficie de Respuesta % Concentración

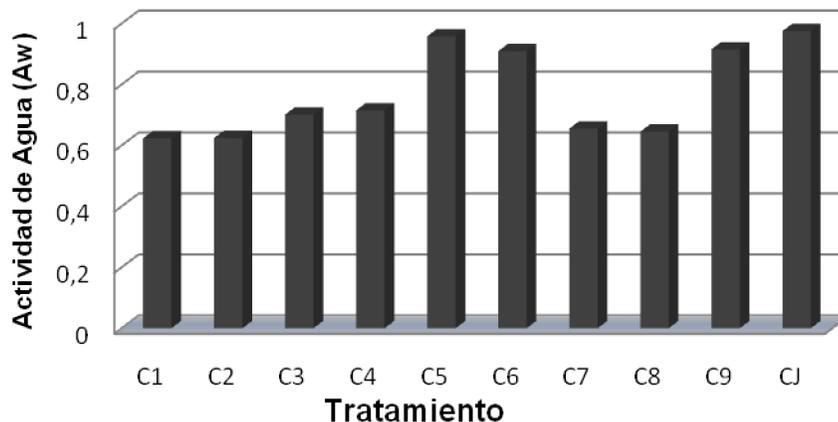


Fuente: Esta investigación

La superficie de respuesta en términos generales, muestra un ascenso sin formas complejas, y sin curvaturas pronunciadas. El óptimo se representa por el punto máximo de la superficie, se puede evidenciar que el tiempo disminuye su influencia a temperaturas más altas.

6.2.2 Actividad de agua (Aw). La figura 15 muestra la actividad de agua (Aw) del bioinsumo de fique concentrado a vacío controlado frente a cada uno de los tratamientos evaluados. La actividad de agua es una variable respuesta inversamente proporcional a la intensidad del tratamiento, o sea que a mayores temperaturas y tiempos menor es la actividad de agua.

Figura 15. Actividad de Agua de las muestras a diferentes concentraciones.



Fuente: Esta investigación

El análisis de varianza (Tabla 7) muestra los parámetros más influyentes en el proceso, con un intervalo de confianza del 95%, los factores e interacciones más relevantes en este proceso con un valor $P < 0.05$ (última columna de la Tabla 7) para obtener la mínima actividad de agua son: A, B, AB, BB; el análisis presenta un excelente ajuste con una alta correlación (valor de R^2) de 90,6451%.

Tabla 7. Análisis de varianza para la Aw del bioinsumo Concentrado

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A: Temperatura	0,1568	1	0,1568	70,09	0,0000
B: Tiempo	0,221112	1	0,221112	98,84	0,0000
AA	0,000240667	1	0,000240667	0,11	0,7465
AB	0,0333907	1	0,0333907	14,93	0,0010
BB	0,000308167	1	0,000308167	0,14	0,000308167
Bloques	0,00000555556	2	0,00000277778	0,00	0,9988
Error Total	0,042505	19	0,00223711		

Fuente: Esta investigación

Total (corr.) 0,454363 26

R-cuadrado = 90,6451 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 88,4178 por ciento

Tabla 8. Óptima Respuesta Actividad de agua bioinsumo Concentrado

Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
Temperatura (°C)	70,0	90,0	90,0
Tiempo (min)	60,0	120,0	120

Fuente: Esta investigación

Respuesta Optimizada

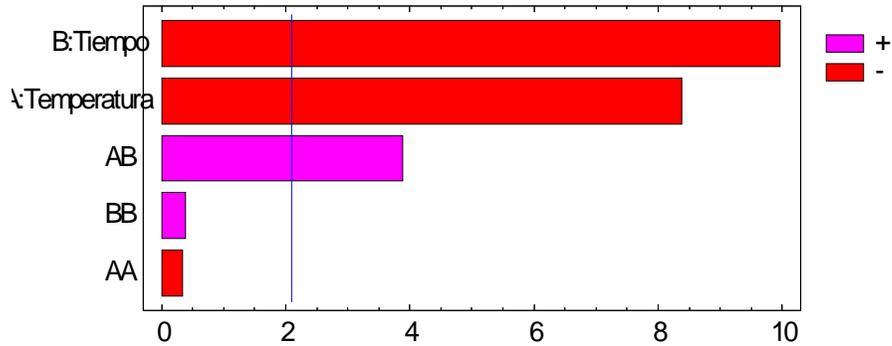
Meta: minimizar Aw

Valor Optimo = 0,598306

Mediante la optimización de la variable respuesta actividad de agua (Aw) se obtuvo un valor óptimo de 0,598306 a una temperatura de 90 °C y un tiempo de 120 min.

El diagrama de Pareto estandarizado (Figura 16) muestra los efectos e iteraciones más significativos sobre la actividad de agua del bioinsumo concentrado. Los efectos tiempo y temperatura tal como se muestran son inversamente proporcionales a la variable de respuesta (actividad de agua), mientras que la interacción temperatura - tiempo muestra un efecto directamente proporcional a la variable de respuesta, siendo estos dos factores y la interacción los que tienen realmente un efecto significativo sobre la variable respuesta, un leve cambio sobre el tiempo influirá en gran manera en la actividad de agua del producto

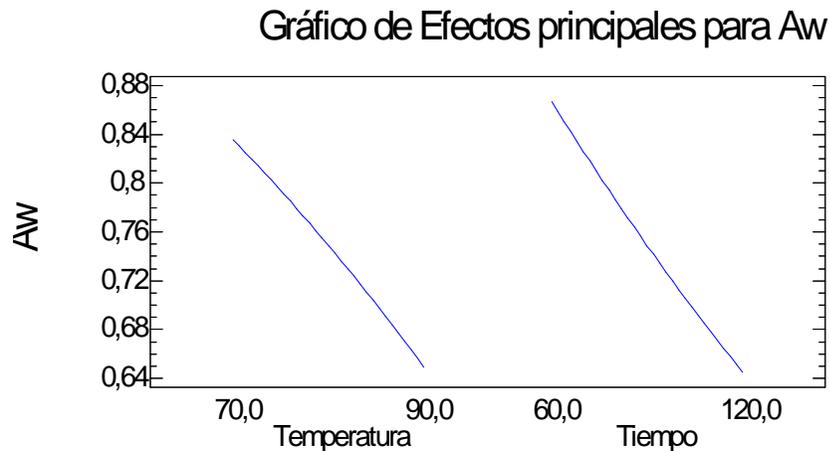
Figura 16. Grafico de Pareto para Actividad de Agua



Fuente: Esta investigación

El efecto particular de cada uno de los efectos sobre la variable de respuesta puede observarse con mayor claridad en la Figura 17. Las representaciones de los efectos de la temperatura y el tiempo presentan pendientes que explican la gran significancia de estos para los tratamientos, en este caso ambas variables presenta una excelente pendiente; esto indica que un pequeño cambio en el valor representa un gran aumento o disminución en la actividad de agua (A_w).

Figura 17. Efectos Principales para Actividad de Agua

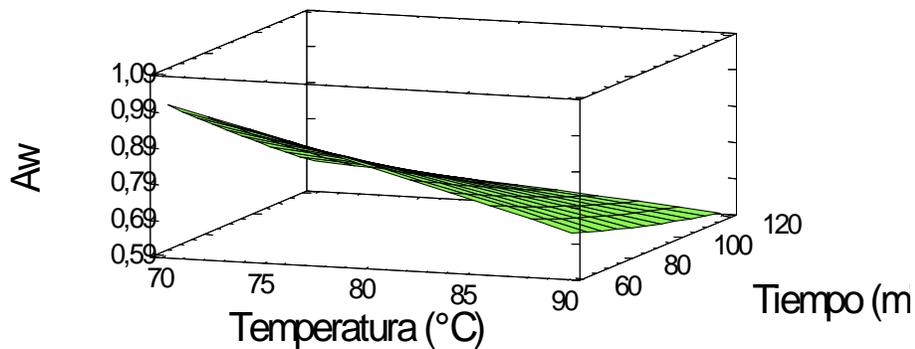


Fuente: Esta investigación

En la Figura 18 se muestra gráficamente la superficie de respuesta obtenida mediante el modelo. La superficie en general muestra un descenso, sin formas

complejas. El óptimo se representa en el punto mínimo de la superficie siendo 90°C por 120 min.

Figura 18. Superficie de Respuesta actividad de agua

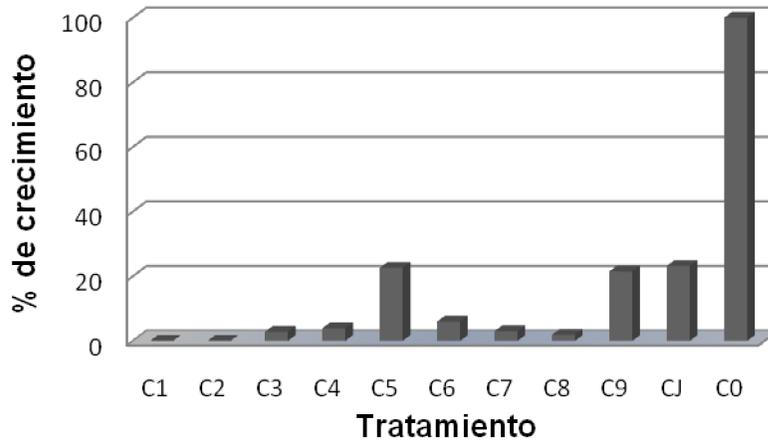


Fuente: Esta Investigación

En la superficie en términos generales, muestra una superficie en descenso, sin formas complejas, y sin curvaturas pronunciadas. El óptimo se representa por el punto mínimo de la superficie.

6.2.3 Porcentaje de Crecimiento. En la figura 19 se muestra el porcentaje de crecimiento Vs los tratamientos evaluados. Los tratamientos presentan un porcentaje de crecimiento que va desde el 0% hasta un 21.3%, para lo cual se evaluaron temperaturas en un rango de 70 °C a 90°C y tiempos entre 60 min a 120 min, se observa que los tratamientos con tiempos y temperaturas más altos presentan el menor crecimiento.

Figura 19. Porcentaje de crecimiento *In vitro* de *Phytophthora Infestans*



Fuente: Esta investigación

El análisis de varianza (Tabla 11) indica los parámetros más influyentes en el proceso con un intervalo de confianza del 95%. Todos aquellos factores o interacciones éntrelos mismos que obtengan un valor $P < 0.05$ serán considerados como los más relevantes en el proceso para obtener el mínimo crecimiento del hongo *Phytophthora Infestans*. El modelo presenta un excelente ajuste, se obtiene una alta correlación (valor de R^2) de 98,6192 %.

Tabla 9. Análisis de varianza para el porcentaje de Crecimiento del hongo *P. Infestans*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A: Temperatura	0,248278	1	0,248278	558,13	0,0000
B: Tiempo	0,356449	1	0,356449	801,30	0,0000
AA	0,027744	1	0,027744	62,37	0,0000
AB	0,0131341	1	0,0131341	29,53	0,0000
BB	0,0680535	1	0,0680535	152,99	0,0000
bloques	0,0000542222	2	0,0000271111	0,06	0,9411
Error Total	0,00845192	19	0,000444838		

Fuente: Esta investigación

Total (corr.) 0,722165 26

R-cuadrado = 98,8296 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 98,551 por ciento

Tabla 10. Óptima Respuesta Porcentaje de crecimiento

Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
Temperatura	70,0	90,0	90,0
Tiempo	60,0	120,0	105,161

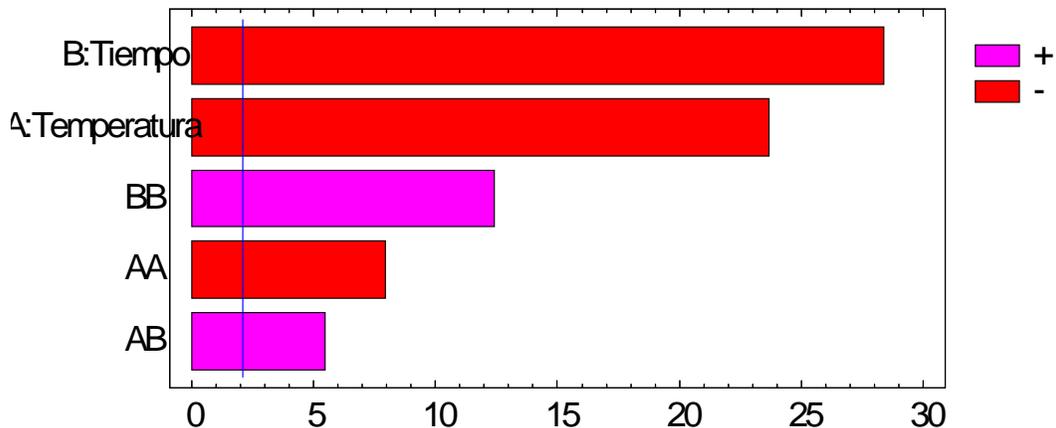
Fuente: Esta investigación

Respuesta Optimizada
 Meta: minimizar % Crecimiento
 Valor Optimo = 0

Mediante este modelo se puede optimizar la variable respuesta encontrándose un valor óptimo de 0 manejándose una temperatura de 90 °C y un tiempo de 105,161 min.

El diagrama de Pareto (Figura 20) muestra claramente el efecto significativo del tiempo, la temperatura y la interacción temperatura-temperatura de manera negativa sobre el porcentaje de crecimiento, además del efecto significativo pero positivo de las interacciones tiempo-tiempo y temperatura-tiempo; siendo el tiempo el la variable de mayor incidencia sobre el porcentaje de crecimiento.

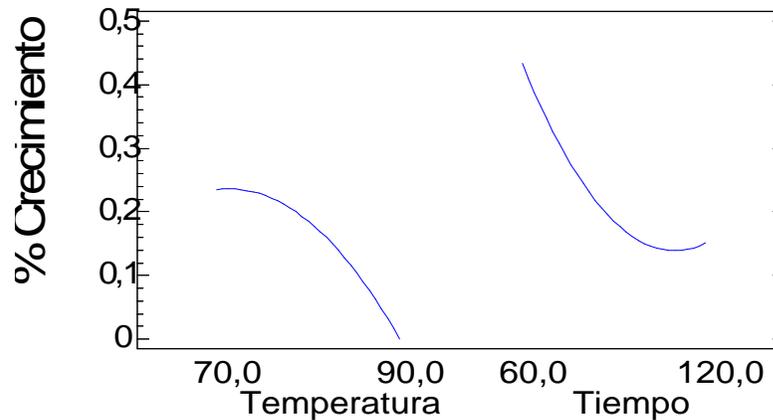
Figura 20. Grafico de Pareto para % Crecimiento



Fuente: Esta investigación

El diagrama de efectos principales (Figura 21) muestra un marcado efecto de la variable temperatura, se observa claramente el efecto negativo a medida que se incrementa la temperatura y el tiempo sobre el porcentaje de crecimiento.

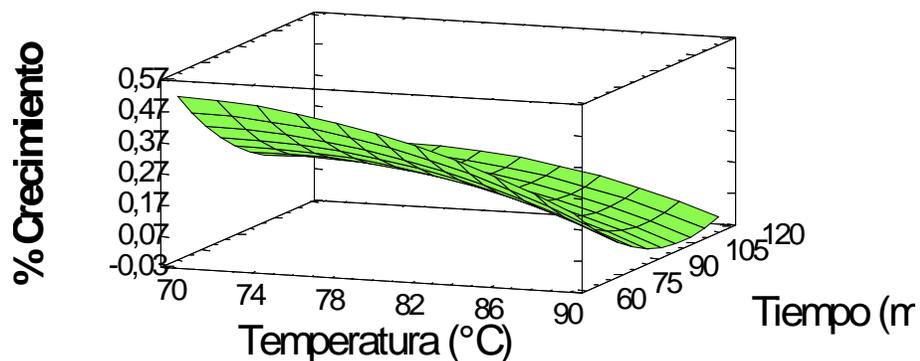
Figura 21. Efectos Principales Porcentaje de Crecimiento



Fuente: Esta investigación

En la Figura 22 se muestra gráficamente la superficie de respuesta obtenida mediante el modelo. La superficie en términos generales, muestra una superficie en descenso, sin formas complejas, y sin curvaturas pronunciadas; sin embargo a temperaturas bajas y tiempos altos se observa unas leves curvas. El óptimo se representa por el punto mínimo de la superficie, que represente la variable (90°C x 105 min)

Figura 22. Superficie de Respuesta % de crecimiento



Fuente: Esta Investigación

La Tabla 11 muestra que hay diferencia significativa entre los grupos, asociados a cada uno de los tratamientos, evaluados a un nivel de confianza del 95%. Por otro lado realizado un análisis de múltiples rangos a cada uno de los tratamientos mediante el método de (LSD) de Fisher se observa una diferencia significativa entre todos los grupos excepto en dos de ellos, tal como se puede apreciar en la tabla 12.

Tabla 11. ANOVA para porcentaje de crecimiento

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,956173	9	0,106241	3498,62	0,0000
Intra grupos	0,000607333	20	0,0000303667		
Total (Corr.)	0,95678	29			

Fuente: esta investigación

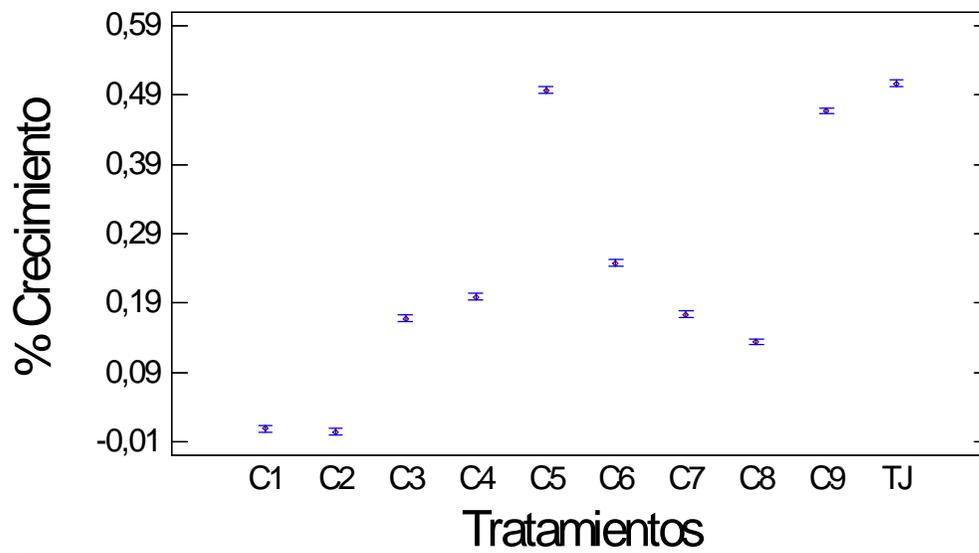
Tabla 12. Prueba de múltiples rangos

	Muestras	Media	Grupos Homogéneos
C2	3	0,00466667	X
C1	3	0,00933333	X
C8	3	0,134667	X
C3	3	0,168333	X
C7	3	0,174	X
C4	3	0,199333	X
C6	3	0,247667	X
C9	3	0,466667	X
C5	3	0,496333	X
TJ	3	0,506	X

Fuente: esta investigación

De la gráfica de medias (Figura 23) podemos inferir que los tratamientos que menor porcentaje de crecimiento provocaron frente a *P. infestans* son C1 y C2.

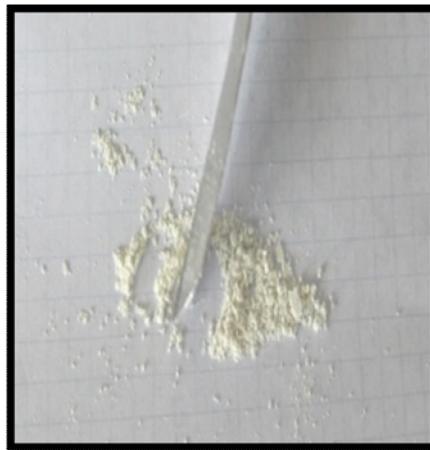
Figura 23. Gráfica de medias para porcentaje de crecimiento



Fuente: esta investigación

6.3 SECADO POR ASPERSIÓN

Figura 24. Bioinsumo pulverizado



Fuente: Esta Investigación

Tabla 13. Actividad anti fúngica del bioinsumo de fique pulverizado sobre el patógeno *Phytophthora Infestans*

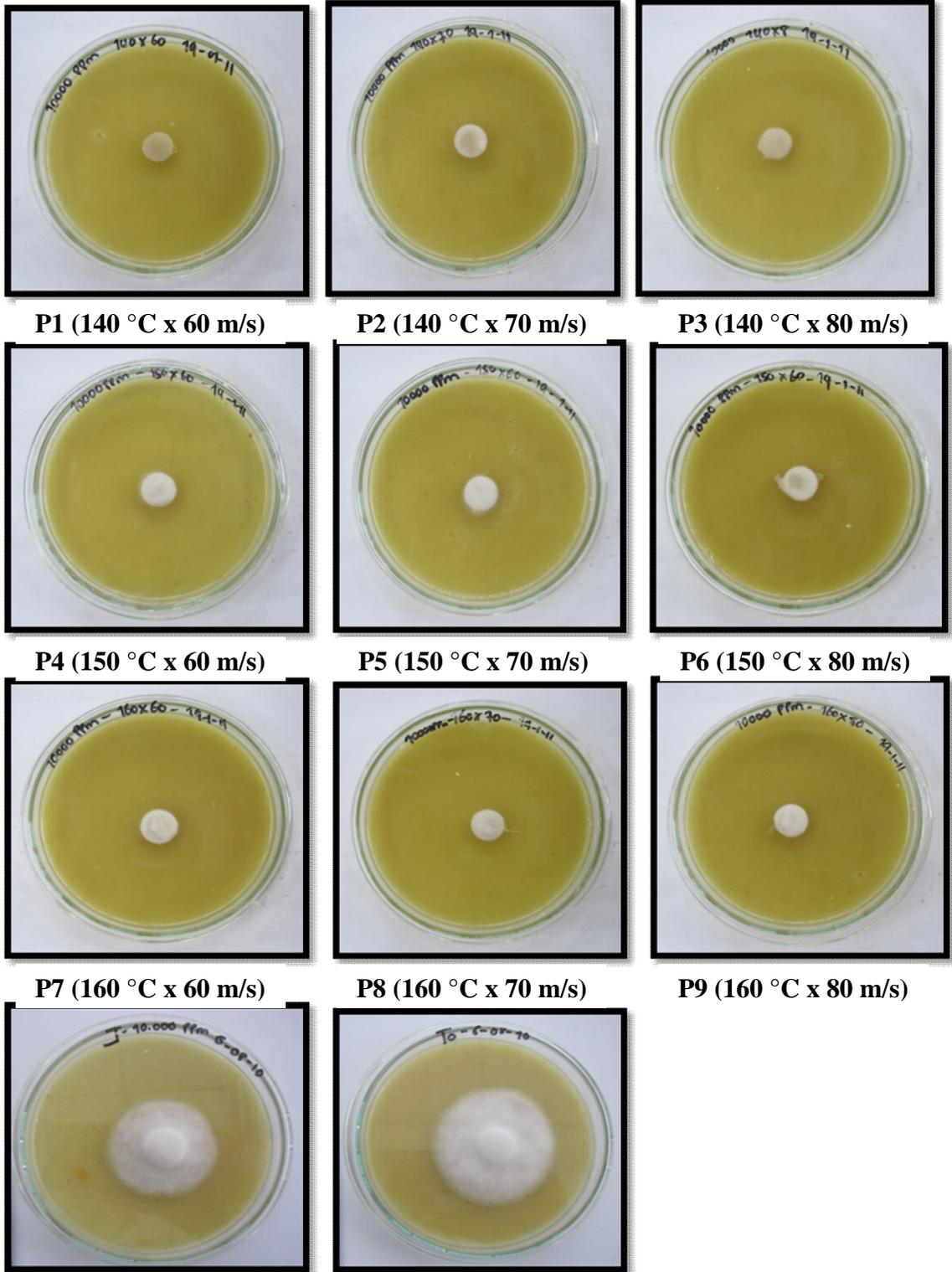
Tratamiento	Factores		Variables respuesta		
	Temperatura (°C)	Velocidad del aire (m/s)	Crecimiento medio micelial (cm)	Porcentaje de Crecimiento (%)	Aw
P0	Testigo Absoluto		5,425	100,00	----
P1	140	60	1,101	0,00	0,335
P2	140	70	1,196	1,77	0,338
P3	140	80	1,254	2,84	0,342
P4	150	60	1,317	3,98	0,348
P5	150	70	1,335	4,29	0,350
P6	150	80	1,355	4,72	0,355
P7	160	60	1,389	5,36	0,359
P8	160	70	1,436	6,19	0,362
P9	160	80	1,466	6,76	0,365
PJ	Jugó sin pulverizar		2,358	23,2	0,975

Fuente: Esta Investigación

En cuanto a la evaluación del bioinsumo de fique pulverizado (*Furcraea gigantea Vent.*) en concentración de 10.000 µg mL⁻¹ se determinó que todos los tratamientos tienen efecto en la inhibición del fitopatógeno *Phytophthora Infestans* a nivel *in vitro*. Según la escala de Shattock todos los tratamientos (P1 a P9) presentan crecimientos por debajo del 10% indicando un nivel de sensibilidad; mientras que el testigo bioinsumo de fique líquido (PJ) presenta un nivel intermedio en la escala. El buen efecto del bioinsumo de fique pulverizado con respecto al líquido, puede deberse a la concentración de los metabolitos secundarios presentes en esta especie y a su vez a la concentración de los mismos por la eliminación de agua.

En la figura 25 se muestra el crecimiento medio del micelio para cada uno de los tratamientos del método secado por aspersion.

Figura 25. Actividad Biológica del bioinsumo de figue seco por aspersión



P1 (140 °C x 60 m/s)

P2 (140 °C x 70 m/s)

P3 (140 °C x 80 m/s)

P4 (150 °C x 60 m/s)

P5 (150 °C x 70 m/s)

P6 (150 °C x 80 m/s)

P7 (160 °C x 60 m/s)

P8 (160 °C x 70 m/s)

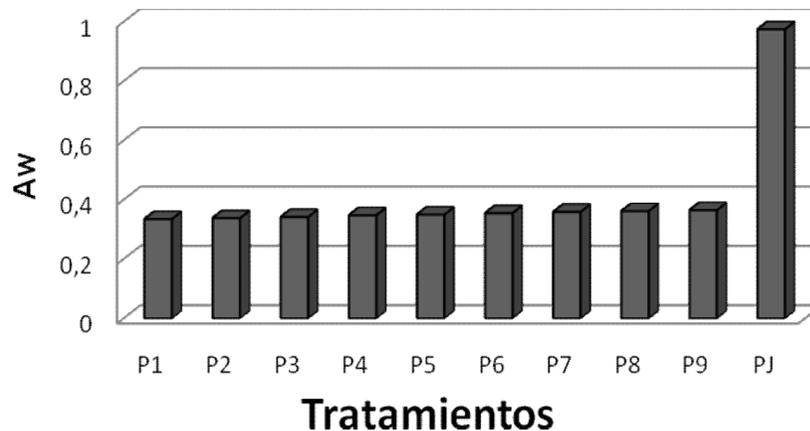
P9 (160 °C x 80 m/s)

Bioinsumo Líquido
Fuente: Esta investigación

Testigo

6.3.1 Actividad de Agua. En la figura 25 se representa el comportamiento de la actividad de agua (Aw) con respecto a cada uno de los tratamientos evaluados.

Figura 26. Actividad de agua para cada uno de los tratamientos.



Fuente: esta investigación

El análisis de varianza (Tabla 12) indica los parámetros más influyentes en el proceso, con un intervalo de confianza del 95%. Todos aquellos factores o interacciones entre los mismos que obtengan un valor $P < 0.05$ fueron considerados como los más relevantes en el proceso para obtener la mínima actividad de agua, para la variable respuesta analizada ninguno de los factores y sus interacciones presenta diferencia estadísticamente significativa, esto es debido a que la pérdida de agua entre los tratamientos es muy similar, resaltando que el producto fue seco casi en su totalidad.

Por otro lado el modelo presenta un excelente ajuste, se obtiene una alta correlación (valor de R^2) de 93,7551 % se minimizan las posibles causas de error a un 6,2449 % restante.

Tabla 14. Análisis de varianza para Actividad de Agua.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	F-ratio	P-Valor
A:Temperatura in	0,000008	1	0,000008	0,90	0,3545
B:Velocidad	5,55556E-8	1	5,55556E-8	0,01	0,9378
AA	6,66667E-7	1	6,66667E-7	0,08	0,7871
AB	0,000003	1	0,000003	0,34	0,5680
BB	1,66667E-7	1	1,66667E-7	0,02	0,8925
bloques	0,002522	2	0,001261	141,96	0,0000
Error total	0,000168778	19	0,00000888304		
Total (corr.)	0,00270267	26			

Fuente: Esta investigación

R-cuadrada = 93,7551 porciento

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 92,2683 porciento

Tabla 15. Óptima Respuesta Actividad de agua

Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
Temperatura (°C)	140,0	160,0	140,0
Velocidad (m/s)	60,0	80,0	60

Fuente: Esta investigación

Respuesta Optimizada

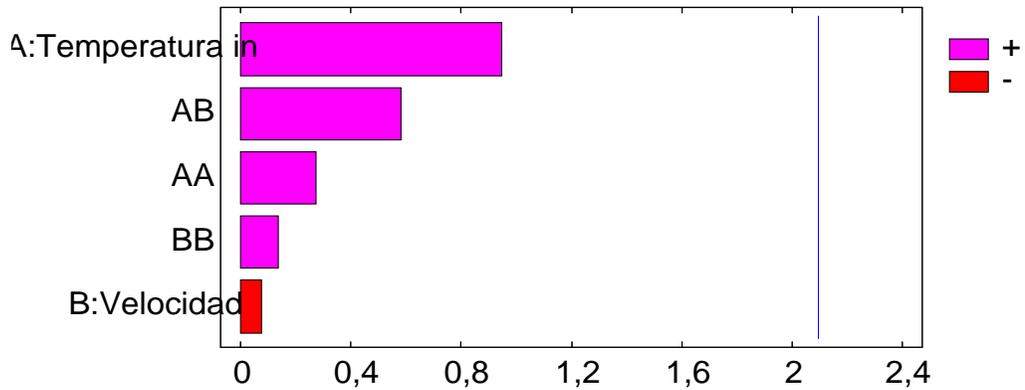
Meta: minimizar Aw

Valor óptimo = 0,349389

Mediante este modelo es posible optimizar el proceso de secado teniendo en cuenta la mínima actividad de agua posible; con base en ello el programa mediante la óptima respuesta da como valor óptimo 0,0329848 manejando los factores en: temperatura 140 °C y velocidad de 60 m/s.

El diagrama de Pareto estandarizado (Figura 26) muestra que ninguno de los factores analizados (temperatura y tiempo) ejerce un efecto significativo sobre la variable respuesta, tanto positivo como negativo. Indicando que un variación leve en estos factores no afectara de manera significativa la variable respuesta analizada.

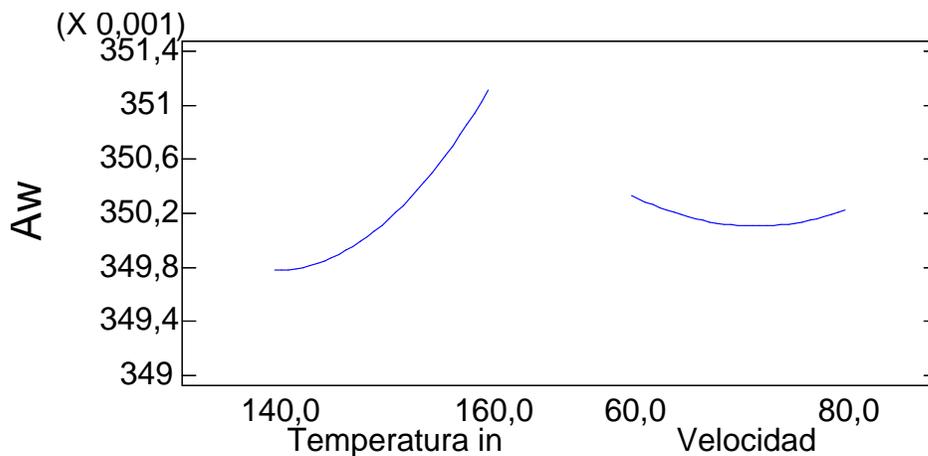
Figura 27. Grafico de Pareto para Aw de Agua.



Fuente: Esta Investigación

En la Figura 27. Las representaciones de los efectos de la temperatura y velocidad presentan pendientes muy poco pronunciadas, lo que explica la poca significancia de estos efectos sobre la variable respuesta. Se puede apreciar que el efecto temperatura presenta una línea con pendiente levemente pronunciada, mientras que en el efecto velocidad su pendiente es casi nula, por lo cual la variable que mayor efecto tiene sobre la actividad de agua es la temperatura, aunque estadísticamente no difieren.

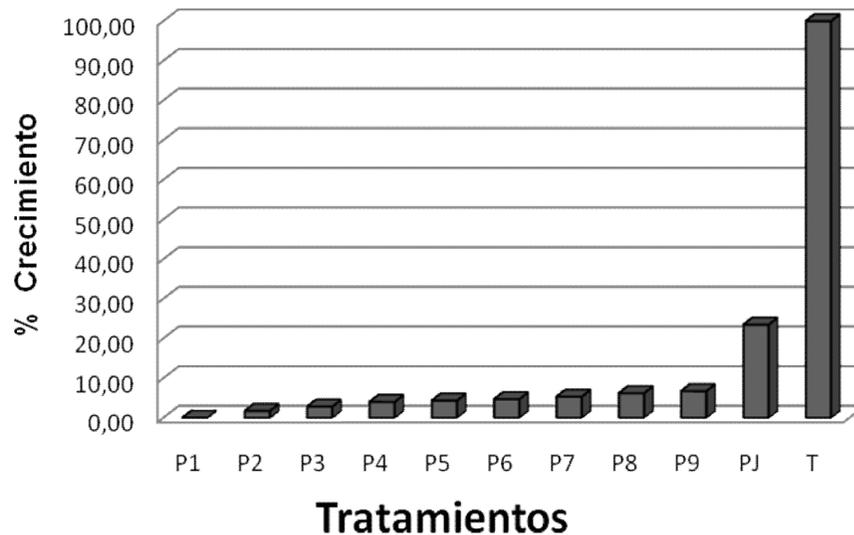
Figura 28. Efectos Principales para Aw



Fuente: Esta Investigación

6.3.2 Porcentaje de crecimiento. En la figura 28 se muestra el porcentaje de crecimiento de hongo *Phytophthora Infestans* frente a cada uno de los tratamientos.

Figura 29. Porcentaje de Crecimiento para cada uno de los tratamientos



Fuente: Esta Investigación

El análisis de varianza (Tabla 14) indica los parámetros más influyentes en el porcentaje de inhibición del bioinsumo pulverizado sobre el hongo en estudio, esto llevado a cabo a un nivel de confianza del 95%. Todos aquellos factores o interacciones éntrelos mismos que obtengan un valor $P < 0.05$ mostrados en la tabla serán considerados como los más relevantes en el proceso para obtener el mínimo crecimiento del hongo *Phytophthora Infestans*; además el modelo presento un excelente ajuste, obteniéndose una alta correlación (valor de R^2) de 94,1505 %.

Tabla 16. Análisis de varianza para el porcentaje de Crecimiento.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	F-Ratio	P-Valor
A: Temperatura	0,0940548	1	0,0940548	212,22	0,0000
B: Tiempo	0,0209966	1	0,0209966	47,38	0,0000
AA	0,00660709	1	0,00660709	14,91	0,0011
AB	0,0123742	1	0,0123742	27,92	0,0000
BB	0,00147611	1	0,00147611	3,33	0,0838
bloques	0,0000259294	2	0,0000129647	0,03	0,9712
Error Total	0,0084207	19	0,000443195		

Fuente: Esta Investigación

Total (corr.) 0,143955 26

R-cuadrado = 94,1505 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 92,7577 por ciento

Tabla 17. Óptima respuesta porcentaje de crecimiento

Factor	Inferior	Mayor	Óptimo
Temperatura (°C)	140,0	160,0	140,0
Velocidad (m/s)	60,0	80,0	60

Fuente: Esta Investigación

Respuesta Optimizada

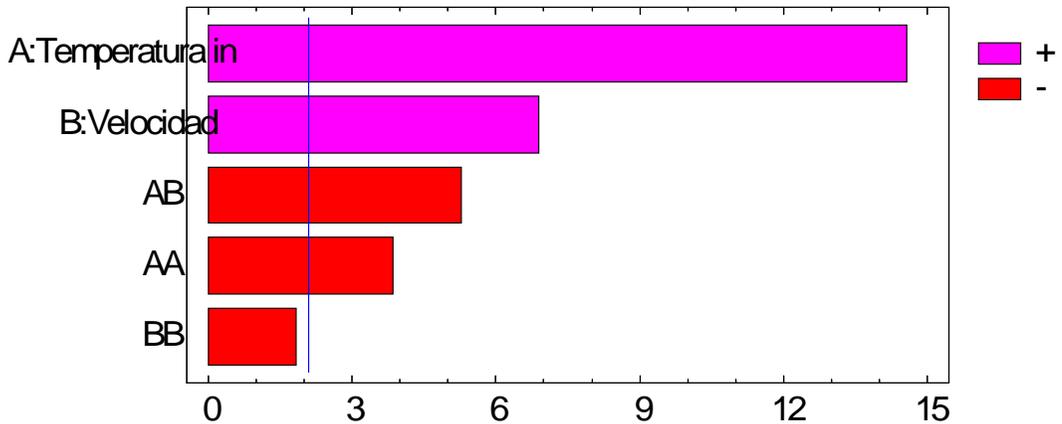
Meta: minimizar % Crecimiento

Valor Optimo = 0,0329848

Optimizada la respuesta se logra obtener un valor óptimo de crecimiento de 0,0329848 a unas condiciones de 140 °C y 60 m/s

El diagrama de Pareto estandarizado mostrado en la Figura 29 es una representación gráfica del análisis de varianza donde igualmente se observan los factores más influyentes, en su respectivo orden, sobre el proceso de pulverización del bioinsumo. Del diagrama se observa claramente que los factores más influyentes sobre el proceso son, en su orden, temperatura y velocidad con influencia positiva; además las interacciones temperatura in-velocidad, temperatura in – temperatura in con una influencia negativa sobre el proceso. Esto indica que un cambio en la temperatura tendrá un efecto más relevante que cualquier otro cambio de otra variable, por lo cual la temperatura es la variable de mayor importancia en el control del proceso. Las otras interacciones son fuentes insignificantes de variación para el proceso.

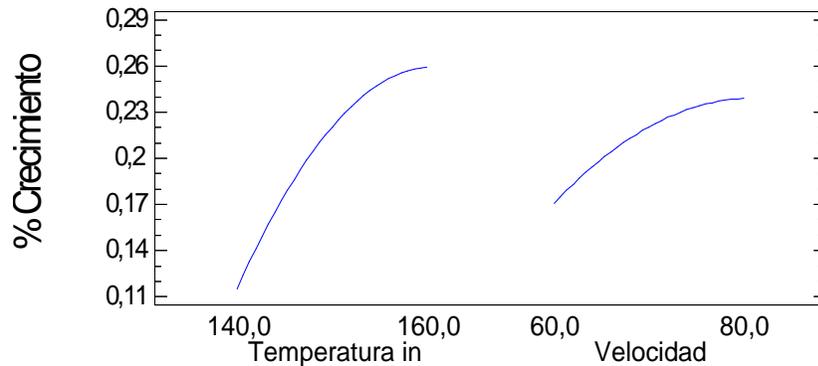
Figura 30. Grafico de Pareto para % de Crecimiento.



Fuente: Esta Investigación

El efecto particular de cada una de las variables de entrada sobre la variable de respuesta puede observarse con mayor claridad en la Figura 30. El efecto tiempo, presenta una línea con una pendiente pronunciada inicialmente pero que al final en una temperatura de 160 °C la pronunciación de la pendiente disminuye con una tendencia a ser constante, mientras que el efecto de la velocidad no tiene un efecto tan impórtate sobre la variable respuesta; por lo tanto el efecto de la temperatura presenta una mayor influencia en el porcentaje de crecimiento.

Figura 31. Efectos Principales Porcentaje de Crecimiento

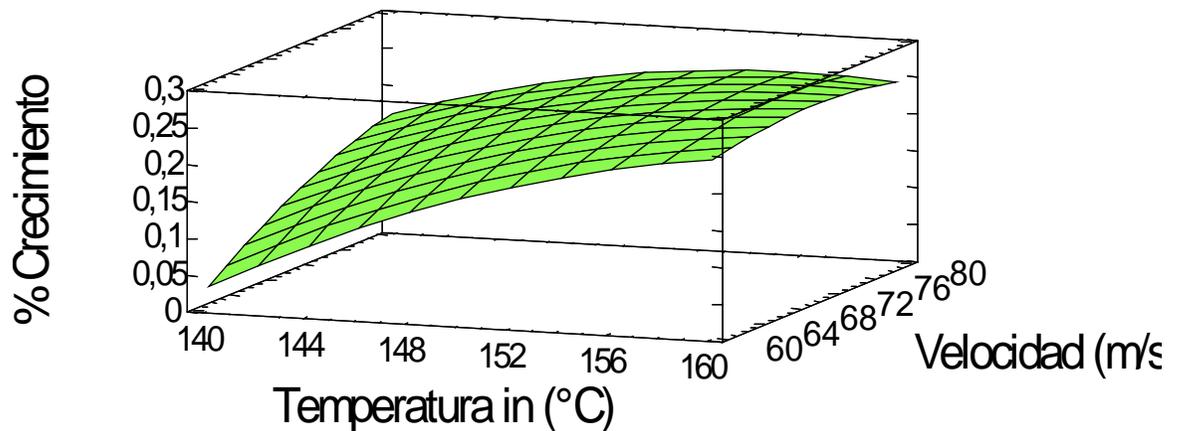


Fuente: Esta Investigación

En la Figura 32 se muestra gráficamente la superficie de respuesta obtenida mediante el modelo. La superficie en términos generales, muestra una superficie en un leve ascenso, sin formas complejas, y sin curvaturas pronunciadas, y el

óptimo en el porcentaje de crecimiento se representa por el punto mínimo de la superficie, que es de cero (0) a unas condiciones de 140°C y 60 m/s.

Figura 32. Superficie de Respuesta actividad de agua



Fuente: Esta Investigación

La Tabla 16 muestra que hay diferencia significativa entre los grupos, asociados a cada uno de los tratamientos, evaluados a un nivel de confianza del 95%. Por otro lado realizado un análisis de múltiples rangos a cada uno de los tratamientos mediante el método de (LSD) de Fisher se observa una diferencia significativa entre todos los grupos, tal como se puede apreciar en la tabla 17.

Tabla 18. ANOVA para porcentaje de crecimiento

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,41708	9	0,0463422	4401,93	0,0000
Intra grupos	0,000210554	20	0,0000105277		
Total (Corr.)	0,417291	29			

Fuente: esta investigación

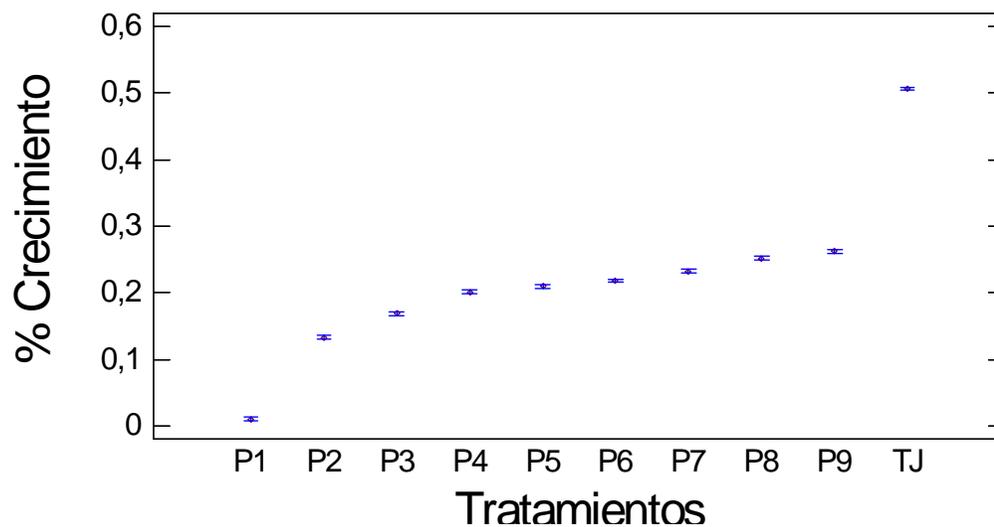
Tabla 19. Prueba de múltiples rangos

	Muestra	Media	Grupos Homogéneos
P1	3	0,010926	X
P2	3	0,133412	X
P3	3	0,169098	X
P4	3	0,201508	X
P5	3	0,209805	X
P6	3	0,218534	X
P7	3	0,232899	X
P8	3	0,251631	X
P9	3	0,262623	X
TJ	3	0,506	X

Fuente: esta investigación

De la gráfica de medias (Figura 33) podemos inferir que los tratamientos que menor porcentaje de crecimiento provocaron frente a *P. infestans* son P1 y P2, siendo P1 el de mayor inhibición sobre el patógeno en estudio.

Figura 33. Gráfica de medias para porcentaje de crecimiento



Fuente: esta investigación

6.4 COMPARACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS APLICADOS PARA CADA UNO DE LOS METODOS DE CONCENTRACIÓN

La Tabla 18 muestra que hay diferencia significativa entre los grupos, asociados a cada uno de los tratamientos evaluados a un nivel de confianza del 95% para ambos métodos. Por otro lado realizado un análisis de múltiples rangos a cada uno de los tratamientos mediante el método de (LSD) de Fisher se observa una diferencia significativa entre todos los grupos, tal como se puede apreciar en la tabla 19.

Tabla 20. ANOVA para porcentaje de crecimiento

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,13965	18	0,0633137	2948,84	0,0000
Intra grupos	0,000815888	38	0,0000214707		
Total (Corr.)	1,14046	56			

Fuente: esta investigación

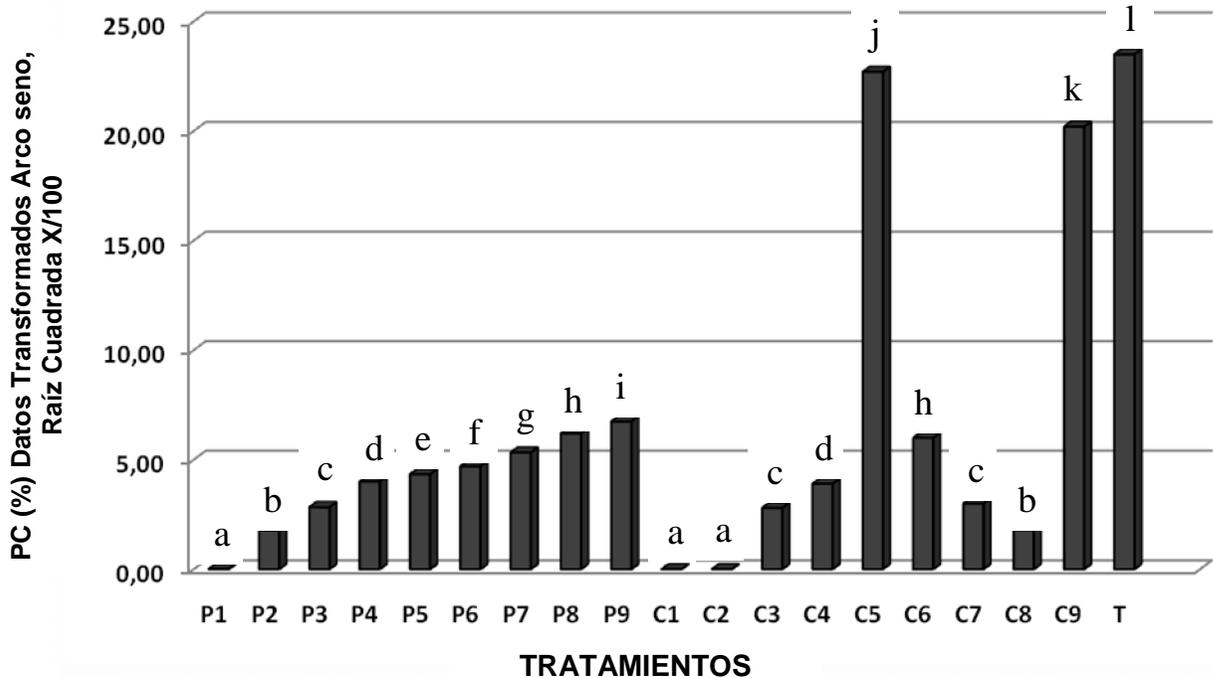
Tabla 21. Prueba de múltiples rangos

	Muestra	Media	Grupos Homogéneos
C2	3	0,00466667	X
C1	3	0,00933333	X
P1	3	0,010926	X
P2	3	0,133412	X
C8	3	0,134667	X
C3	3	0,168333	X
P3	3	0,169098	X
C7	3	0,174	X
C4	3	0,199333	X
P4	3	0,201508	X
P5	3	0,209805	X
P6	3	0,218534	X
P7	3	0,232899	X
C6	3	0,247667	X
P8	3	0,251631	X
P9	3	0,262623	X
C9	3	0,466667	X
C5	3	0,496333	X
TJ	3	0,506	X

Fuente: esta investigación

De la figura 32 podemos inferir que los tratamientos que menor porcentaje de crecimiento provocaron frente a *P. infestans* de ambos métodos son P1, C1 y C2.

Figura 34. Inhibición *in-vitro* sobre el crecimiento de *Phytophthora infestans*



*** Letras iguales no existe diferentes estadísticamente significativa.**

Fuente: esta investigación

Realizada una comparación de medias mediante un análisis de varianza a un nivel de confianza del 95% para la variable respuesta porcentaje de crecimiento en cada uno de los métodos de concentración en estudio, se encontró diferencia estadísticamente significativa ($P\text{-Valor} < 0,05$); teniendo en cuenta la diferencia se realizó un test de rangos múltiples utilizando la prueba Fisher (LSD), con lo cual se determinó que de los tratamientos evaluados los que mejor respuesta presentan frente a la inhibición del patógeno es el P1, C1 y C2 alcanzando el máximo porcentaje de inhibición (100%).

6.5 CONTENIDO DE SAPONINAS EN EL BIOINSUMO DE FIQUE

Figura 35. Sapogenina Cristalizada



Fuente: esta investigación

En la tabla 16 se muestra el comportamiento frente al contenido de hecogenina en cada una de las muestras evaluadas, las cuales corresponden a los mejores tratamientos de inhibición sobre el fitopatógeno en estudio, para cada uno de los dos métodos planteados para esta investigación, así como también dos testigos (jugo fresco y jugo fermentado por cuatro días).

Tabla 22. Contenido de las muestra para el análisis en cada una de las etapas

	Muestras			
	M1	M2	M3	M4
	Fermentado 4 días	Jugo Fresco	Concentrado a vacío	Pulverizado
Muestra analizada (g)	0,012	0,012	0,012	0,012
Extracto seco obtenido (g)	0,2153	0,1418	0,5017	0,3463
Muestra Inicial (L)	0,3	0,3	0,5	0,5

Fuente: esta investigación

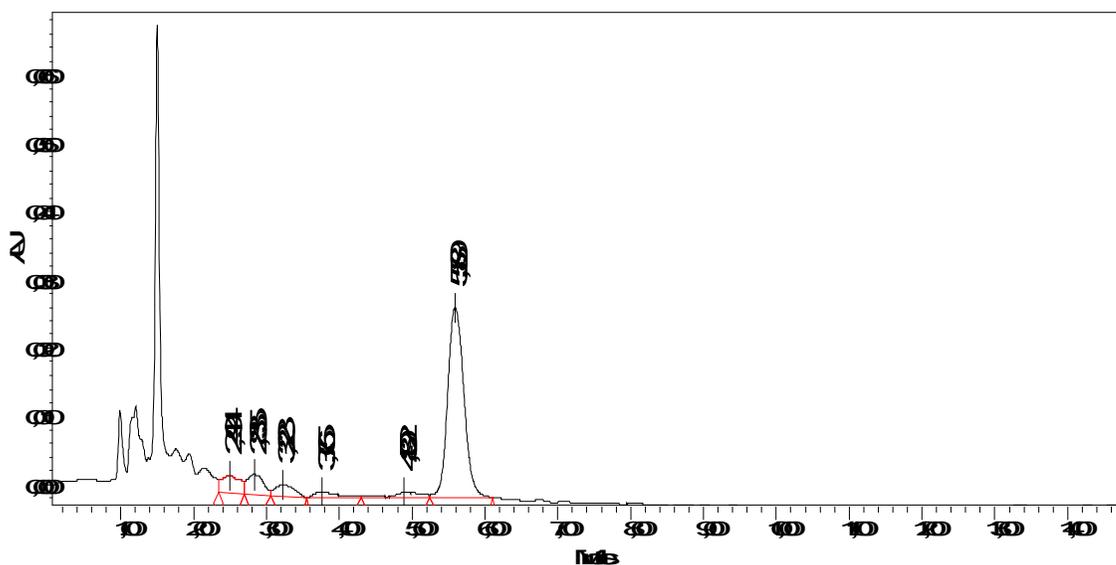
Tabla 23. Resultados para hecogenina en el jugo de fique mediante HPLC

	Muestras			
	M1	M2	M3	M4
	Fermentad o 4 días	Jugo Fresco	Concentrado a vacío	Pulverizado
Área	539826	426725	440190	536155
Sobre Muestra analizada (mg/L)	21,64	16,79	17,37	21,49
sobre extracto seco (mg/L)	19,42	9,92	36,31	31,00
sobre Muestra Inicial (mg/L)	64,72	33,07	72,62	62,01

Fuente: esta investigación

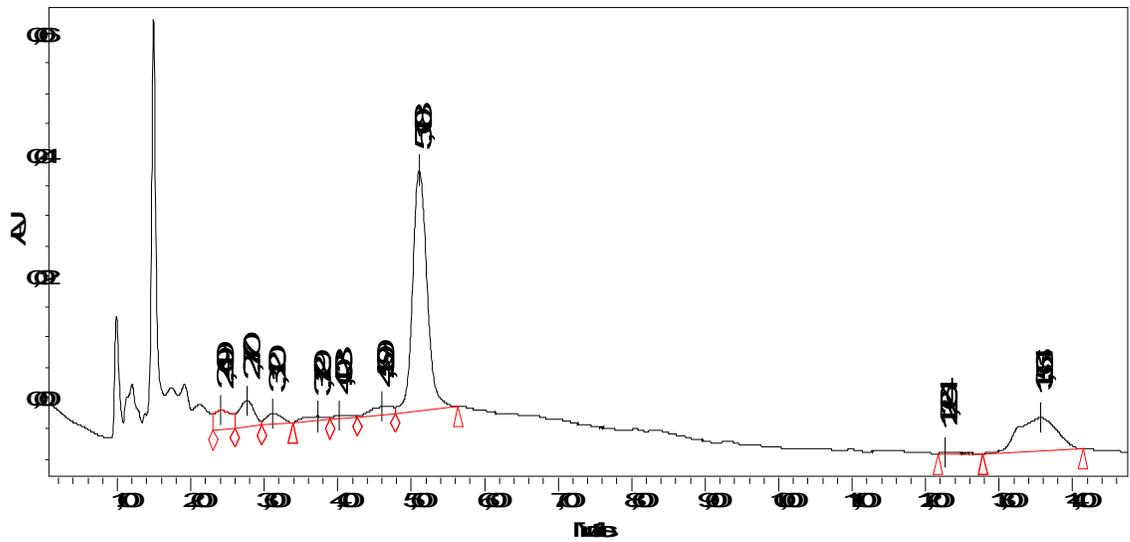
Los resultados muestran que los tratamientos térmicos aplicados en cada uno de los dos métodos no provocan un cambio significativo en el contenido de hecogenina.

Figura 36. Cromatograma muestra uno (M1)



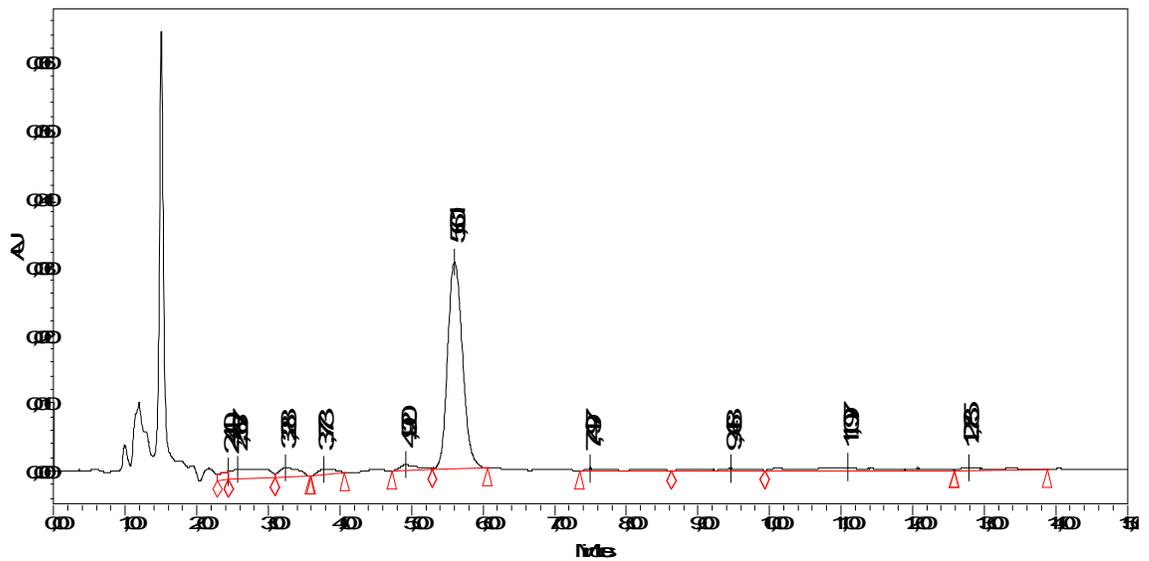
Fuente: esta investigación

Figura 37. Cromatograma muestra dos (M2)



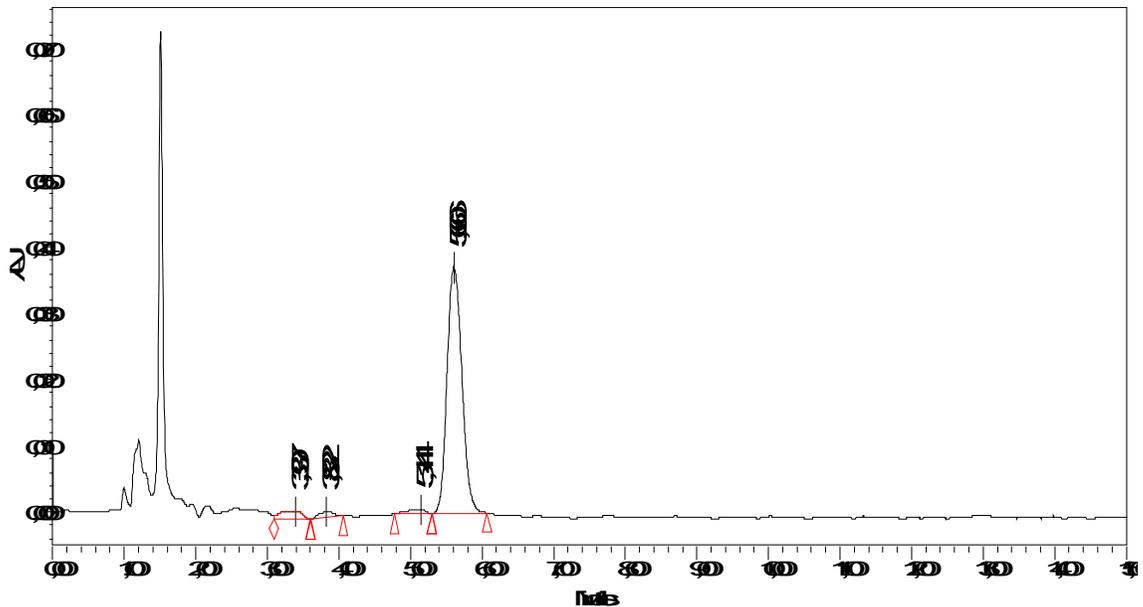
Fuente: Esta Investigación

Figura 38. Cromatograma muestra tres (M3)



Fuente: Esta Investigación

Figura 39. Cromatograma muestra cuatro (M4)



Fuente: Esta Investigación

6.6 DISCUSIÓN

En el proceso de evaporación a vacío controlado en rotavapor se logró alcanzar una concentración el bioinsumo de fique casi del 93%, siendo lograda esta en los tratamiento C1 y C2, cabe considerar que son expuestos a la misma temperatura pero tiempos diferentes; lo que nos llevo a concluir mediante este proceso de evaporación que esta era la máxima concentración que se podía lograr, cabe considerar que la temperatura interna por utilizar un presión de vacío de 10 psi es reducida en 20°C experimentalmente. El producto obtenido en las más altas concentraciones presenta una textura melcochosa que hace difícil su recuperación y manejo por lo cual es preferible la utilización del tratamiento C7 que presenta una consistencia más fluida, aunque es necesario utilizar una dosis letal más alta debido a que la de estudio no es suficiente pero presenta resultados promisorios, el grado de inhibición es directamente proporcional al porcentaje de concentración.

En cuanto al proceso de pulverización o secado spray los resultados fueron excelentes lográndose en un 100% de los tratamientos un nivel de sensibilidad según la escala de Shattock. Dentro del proceso pulverización es necesario considerar otros factores como es el caso de los encapsulantes, el cual se evaluó y no presento ningún tipo de efecto sobre el patógeno en estudio. El bioinsumo en polvo presentó unas propiedades excelentes para su manejo, en cuanto a un menor volumen y mayores periodos de conservación; es relevante dar a conocer que el bioinsumo posee propiedades higroscopicas las cuales se evidencia

después de unos 10 min aproximadamente de estar expuesto el bioinsumo en polvo al ambiente, es por ello que se hizo necesario buscar un empaque que preservara el producto en optimas condiciones para su posterior evaluación.

La actividad de agua es una de las variables respuesta que mayor información nos da, debido a que como lo evidencian los resultados a una menor actividad de agua mayor es el grado de inhibición del bioinsumo sobre el patógeno *Phytophthora Infestans*.

De los métodos utilizados en el proceso de concentración de bioinsumo de fique, con el fin de lograr una mayor concentración y por tanto una menor actividad de agua, se encuentra que ambos métodos ofrecen muy buenas ventajas pero que se tienen que considerar de acuerdo al entorno donde se apliquen; en cuanto al proceso de concentración por medio de rotavapor es relativamente económico y de fácil aplicación, pero su debilidad proviene en los altos tiempos que dura el proceso y en que el producto presenta una actividad de agua que lo hace propenso al deterioro fácilmente; mientras en el método de secado Spray se obtiene un producto con una actividad de agua muy baja que permite la conservación del producto y además el tiempo que dura el proceso es relativamente corto, el problema radica en los altos costos energéticos y la inversión inicial de un equipo de secado spray.

7. CONCLUSIONES

Realizado el respectivo análisis estadístico en cada uno de los tratamientos se concluye que en el método de concentración a vacío el factor más influyente es el tiempo, mientras que en el secado por aspersión el factor más influyente es la temperatura.

Tanto el Bioinsumo de fique concentrado a vacío como el secado por aspersión presentan una alta solubilidad en agua, propiedad que brinda facilidades para una posterior evaluación en campo.

El bioinsumo pulverizado ofrece mayores y mejores ventajas que el bioinsumo concentrado a vacío con respecto a su respuesta frente al fitopatógeno evaluado, manejo y periodos de conservación.

La temperatura aplicada en los niveles evaluados en cada uno de los métodos no provoca un daño significativo sobre las propiedades fúngicas del jugo de fique, tal como lo muestran los resultados en el contenido de hecogenina en algunos de los tratamientos.

Por ser el jugo de fique altamente rico en azúcar se hace necesario utilizar un agente encapsulante con el fin de evitar adherencia del polvo en las paredes del secador Spray durante el proceso de pulverización.

Para el método de concentración a vacío los tratamientos más efectivos en la Inhibición del fitopatógeno fueron el C1 (90°C x 120) y C2 (90 °C x 90 min) los cuales presentaron resultados similares; mientras que para el método secado por aspersión el tratamiento P1 (140°C x 60 m/s) fue el más efectivo.

La reducción en la actividad de agua está directamente relacionada con el grado de inhibición del bioinsumo sobre el fitopatógeno y el grado de conservación del producto.

8. RECOMENDACIONES

Se recomienda que los resultados promisorios que fueron encontrados en la evaluación *In Vitro*, tanto para el método de concentración a vacío controlado como en el método de secado Spray puedan ser llevados a campo para determinar la eficacia de estos directamente sobre los cultivos, en los cuales intervendrán otros factores que en laboratorio no se consideran.

Evaluar de una forma exhaustiva el periodo de conservación del producto en ambos métodos y los posibles envases a utilizar.

Se recomienda que en el proceso de pulverización se utilice otro tipo de encapsulante y se realice la respectiva evaluación, con el fin de determinar la incidencia que estos podrían llegar a tener sobre el producto final.

En caso de seguir la metodología propuesta de acuerdo a los resultados encontrados tener en cuenta el equipo en el cual se realiza el proceso, ya que esto implicaría variaciones en los resultados esperados.

BIBLIOGRAFÍA

ALVAREZ, D., DELGADO, D., SALAZAR, C., & HURTADO, A. (2010). Sensibilidad *in vitro* de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary al extracto de fique (*Furcraea gigantea vent.*) y fungicidas sistéticos. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

APABLAZA G, DIAZ M, SAN MARTIN R y MOYA E. (2000). Control de oidio de las cucurbitáceas con saponinas presentes en extractos de quillay (Quillaja saponaria), Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Facultad de Ingeniería Civil Industrial, Pontificia Universidad Católica de Chile.

AVALO, B., PEREZ, S y TOVAR, M. (2009). Caracterización preliminar del proceso de concentración del jugo natural de naranja en un evaporador de tres efectos. *INCI*, 34 (11), 784-790. ISSN 0378-1844.

BENAVIDES, C. O., BACCA, E. D., & ORTIZ, B. Y. (2009). Estudio fitoquímico cualitativo del jugo de dos variedades de fique del departamento de Nariño. Informe de investigación, Universidad de Nariño., San Juan de Pasto.

BHANDARI, B., DATTA, N and HOWES, T. (1997). Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. En: *Drying Technology*. Vol. 15, (2), 671-684.

BLUNDEN, G., CARABOT, A And JEWERS K. (1980). Steroidal sapogenins from leaves of some species of *Agave* and *Furcraea*. *Phytochemistry*, 19(11).

BRAVO, L., BERMÚDEZ, T. y MONTES, B. (2000). Inhibición de *Fusarium moniliforme* mediante polvos vegetales y algunos de sus componentes químicos. *Manejo Integrado de Plagas*, 57:29-34, 56 p.

BRENNAN, J. G., BUTTERS, J. R., COWELL, N. D. y LILLY, A. E. V. (1980). Las operaciones de la ingeniería de los alimentos. 2a Edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 86-91 y 102-118.

CANO-CHAUCA, M., STRINGHETA, P. C., RAMOS, A. M., & CAL-VIDAL, J. (2005). Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 420-428.

CARACTERIZACION OCUPACIONAL DEL SUBSECTOR FIQUERO DE COLOMBIA. (2006). *Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA)*. Pasto: Impresiones Ángel.

CARREÑO, N., VARGAS, A., BERNAL, A., RESTREPO, S. (2006). Problemas fitopatológicos en especies de la familia solanaceae causadas por los género *Phytophthora*, *Alternaria* y *Ralstonia* en Colombia. En: *Agronomía Colombiana*, 25 (2). Bogotá.

CASTAÑO, J. y CASTRO, R. (2006). Efecto de once extractos vegetales sobre el tizón tardío causado por *Phytophthora infestans* (Mont de Bary) en papa (*Solanum phureja* Juz. et Buk) en *Revista Agronomía* Vol. 10 No. 1-2, 148 p.

CEBALLOS P, A. (2008). Estudio comparativo de tres sistemas de secado para la Producción de un polvo deshidratado de fruta. Tesis postgrado: Magister en Ingeniería Química, Universidad Nacional-Sede Manizales. 37- 40.

CEVIPAPA. 2002. El correo de la papa: Evaluación de clones de papa con resistencia a *Phytophthora infestans* como estrategia para el manejo integrado de la gota. Bogotá: Boletín sinaipapa. 22 p.

COLOMBIA - MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL - OBSERVATORIO AGROCADENAS. (2006). *La cadena del fique en Colombia . Una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005. Informe de la actividad.* Bogotá.

CORTÉS, M. G., SIMOES, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.

COSTABEBER, Ijoni., EMANUELLI, Tatiana. (2002). Influencia de hábitos alimentarios sobre las concentraciones de pesticidas organoclorados en tejido adiposo. *Ciênc. Technol. Aliment.*, Campinas, 22(1), 54-59.

DEASY, P. (1983). *Microencapsulation and Related Drug Process.* Marcel Dekker Inc. N.Y. 21-59 p.

DEEPAK, S. A., OROS, G., SATHYANARAYANA, S. G., SHETTY, N. P., SHETTY, H. S., & SASHIKANTH, S. (2005). Antisporulant activity of leaf extracts of Indian plants against *Sclerospora graminicola* causing downy mildew disease of pearl millet. *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, 38:1 , 31-39.

ECOFIBRAS Empresa Cooperativa de Fibras Santander Limitada. (2005). VI Encuentro Nacional de Fique. Memorias. Provincia del Alto Ricaurte.

FELLOWS, P. (1994). *Tecnología del procesado de los alimentos: Principios y Practicas.* Zaragoza (España): Acribia.

FLIKOVÁ, I., And MUJUMDAR, A. S. (1987). Industrial spray drying systems in hand book of industrial drying. Mujumdar A. S. Editor. Marcel Dekker Inc. New York. 243.

FUERTE, C., ROQUE, M y TRISTAN, M. (1998). Flavonoides y alcaloides de lupinus ballianus c.p. smith con actividad antibacteriana y antifúngica. Ciencia e Investigación, 1(2).

GARCÍA, H., MARÍN, M., JARAMILLO, S. y COTES, J. (2008). Sensibilidad de aislamientos Colombianos de Phytophthora infestans a cuatro fungicidas sistémicos. Agronomía Colombiana 26 (1), 47-57.

GARCÍA, M., SÁENZ, M., PUERTA, R., QUILEZ, A., & FERNÁNDEZ, M. (1999). Antibacterial activity of Agave intermixta and cissus sicyoides. *Fitoterapia*. 70 , 71-73.

GEANKOPLIS, C. (1998). Procesos de transporte y Operaciones Unitarias. 3ª ed. Acirbia. Zaragoza, España. 1258 p.

GNOATTO, S., SCHENKEL, E., BASSANI, V. (2005). HPLC Method to Assay Total Saponins in Ilex paraguariensis Aqueous Extract. J. Braz. Chem. Soc. 16 (4), 723-726.

GOMEZ, E. M., & VANEGAS, G. E. (2001). Evaluacion de la producción de esteroides a partir del jugo de fique con cunninghamella spp. Medellín: Universidad Pontificia Bolivariana de Medellín. Facultad de Ingeniería Química.

GÓMEZ H, J. E. (2001). Evaluación del extracto de fique en el desarrollo in-vitro de Colletotrichum gloeosporoides (Penz) Penz & Sacc. y Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary (CORPOICA).

GÓMEZ, M y VANEGAS, E. (2001). Evaluación de la producción de esteroides a partir del jugo de fique con Cunninghamella spp, Tesis pregrado, Universidad Pontificia Bolivariana de Medellín, Facultad de Ingeniería Química.

GUENOUNEA D, GALILIA S, PHILLIPS D, VOLPIN H AND CHET I. (2001). The defense response elicited by the pathogen Rhizoctonia solani is suppressed by colonization of the AM-fungus Glomus intraradices Plant Science, 160(5).

HUNTINGTON, H. (2004). The influence of the Spray Drying Process on Product Properties. Drying Technology 22(6), 1261-1287.

JARAMILLO, S. 2004. Monografía sobre Phytophthora infestans (Mont) de Bary. Medellín: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, 137 p.

KHANNA, V. G., & KANNABIRAN, K. (2008). Antimicrobial activity of saponin fractions of the leaves of *Gymnema sylvestre* and *Eclipta prostrata*. *World J Microbiol Biotechnol*, 24, 2737–2740.

LONG, G. (1978). Spraying theory and practice. *Chemical Engineering*, 85(6), 73-77.

LÓPEZ, L., XÓCHITL, G., GALINDO, H. (2009). Actividad antioxidante de extractos metanólicos y acuosos de distintas variedades de maíz mexicano. *Revista Electrónica Nova Scientia*, N° 3 Vol. 2 (1), 51 – 65.

MADR, IICA & Corpoica. (2004a). *Diagnostico Estrategico de la cadena del fique*. Bogota D.C.

MARTÍNEZ, A. M., & CAICEDO, T. X. (2002). *Bioensayo de toxicidad de los jugos de fique en peces, en el Municipio de Tambo (Nariño)*. Bogotá: Universidad El Bosque: 26 p.

MASTERS, K. (1991). *Spray drying handbook* (Quinta ed.). New York: Longman Scientific and Technical.

MELÉNDEZ, P., & CAPRILES, V. (2006). Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. *Phytomedicine*, 13, 272-276.

MUJUMDAR, A. (1983). *Advances in Drying*. Hemisphere Publishing Corporation N.Y. 164-166.

NIÑO, J., BUSTAMANTE, A., CORREA, Y y MOSQUERA, O. (2007). Evaluación de extractos vegetales para el control de la broca del café (*hypothenemus Hampei, ferrari*), Universidad Tecnológica de Pereira. *Scientia et Technica* Año XIII, No 33.

PEDROZA-ISLAS, R., VERNON-CARTER, E. J., DURÁN-DOMÍNGUEZ, C., TREJO, S. (1999). Using biopolymer blends for shrimp feedstuff microencapsulation. I. Microcapsule particle size, morphology and microstructure. *Food Research International* 32: 367-374.

PEDROZA-ISLAS, R., (2002). Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola.

PEINADO, J., PEÑALOSA, N., y GAMBOA, M. (2005). *Actualización, ajuste y validación de la guía ambiental del subsector fiquero*. Bogotá: Universidad de la Salle y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.

PEREIRA, B., OLIVEIRA, P., & PAZ, J. (2006). Chemical structure and biological activity of steroidal saponins from *Furcraea gigantea*. *Chemistry of natural compounds*, 42 (3), 316 - 321.

PÉREZ, W. y FORBES, G. (2008). Manual técnico: El tizón tardío de la papa. Perú, Centro internacional de la papa (CIP), 41.

PIA, J. M., CÁCERES, R. E., CÁCERES, C. X., JAIME, L., LAMI, J. C. (2008). El orujo de uva como un subproducto de la vinificación con valor económico significativo. *Revista Enología* N°6. Año IV Enero-Febrero. 2-3.

PRECIADO, D y RANGEI, E. 2006. Extracción de un biofungicida a partir del jugo de fique (*Furcraea spp.*). Medellín, Trabajo de grado Facultad de ingeniería química, Universidad pontificia bolivariana. 78 p.

PROINPA. (2006). Papa andina: Innovación para el desarrollo en los Andes 2002 - 2006. En: www.papandina.cip.cgiar.org/fileadmin/documentpool/Administrativo/Informe/Fase/06-10-11-Compendio_2002_2006.pdf; Consultado: Agosto, 2009.

RIVEROS, F., SOTOMAYOR, R., RIVERA, V., SECOR, G., ESPINOZA, B. (2003). Resistencia de *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary a Metalaxyl en cultivo de papas en el norte de Chile. *Agricultura técnica*, 63 (2), 117-124.

ROJAS, S. M. (2008). Elaboración y evaluación de un bioinsumo a partir del jugo de fique (*fucraea spp.*) para el control de la gota (*Phytophthora Infestans*) del cultivo de la papa en el departamento de Nariño. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ingeniería Agroindustrial.

ROSALES, M., GONZÁLES, R., NURIA, R., GALLEGOS, J., PERALTA, J., KARCHESY, J. (2009). Evaluación química y capacidad antioxidante de extractos polifenólicos de cortezas de *pinus cooperi*, *P. angelmannii*, *P. leiophylla* y *P. teocote*. *Maderas y bosques* 15(3), 87-105.

SALAZAR, C. (2000). Dinámica temporal de las poblaciones de *Phytophthora infestans* a los fungicidas Metalaxyl, Cymoxanil y Propamocarb en cultivos de papa. Tesis de maestría. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 70 p.

SÁNCHEZ, E., HEREDIA, N., & GARCÍA, S. (2005). Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of *Agave* species. *International Journal of Food Microbiology*, 98 (3), 271-279.

SECRETARÍA TÉCNICA NACIONAL DEL FIQUE CADEFIQUE. (2006). Cadena Agroindustrial del Fique. Informe de coyuntura. Bogotá.

SHARAPIN, N. (2000). Sapogeninas esteroidales: Materia prima para la fabricación de hormonas esteroidales. En: Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Pinzón, R. Cytel. Colombia. 96-98.

SHATTOCK, R. (1988). Studies on the inheritance o resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans*, *Plant Pathology*, 37, 4 -11.

SINGH, R y HELDMAN, D. (1993). Introduction to Food Engineering. 2^a ed. Academic Press. Nueva York, EEUU. 499 p.

SPARG, S., LIGHT, M., & VAN STADEN, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology* , 94, 219-243.

STATGRAPHICS PLUS 5.1. (2002). *Statistical Graphics Corp.*

VALENCIA O, GUTIERREZ J, SILVA D, GÓMEZ M, E ISAZA J. (2007). Actividad insecticida de extractos de *bocconia frutescens* L. sobre *Hypothenemus hampei* F. Universidad del Quindío, Grupo de Polifenoles Universidad Tecnológica de Pereira-CENIVAM, *Scientia et Technica* Año XIII, No 33.

VEGA, A., LEMUS, R. (2006). Modelado de la cinética de secado de papaya chilena (*basconcellaea pubescens*). *Información Tecnológica*. Vol. 17, No 3, pp. 23-31.

VERÁSTEGUI, Á., VERDE, J., GARCÍA, S., HEREDIA, N., ORANDAY, A., & RIVAS, C. (2008). Species of *Agave* with antimicrobial activity against selected pathogenic bacteria and fungi. *World J Microbiol Biotechnol* , 24, 1249-1252.

WARREN, McCabe., JULIAN, Smith., PETER, Harriott. (1991). OPERACIONES UNITARIAS EN INGENIERA QUIMICA. Cuarta edición. 482- 490 p.

YANZA, E. (2003). Diseño de un secador por atomización a nivel piloto para jugo concentrado de tomate de árbol [Tesis Pregrado] Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Manizales-Colombia: Universidad Nacional de Colombia. Manizales. 16 p.

NETGRAFIA

CADENA PRODUCTIVA NACIONAL DEL FIQUE CADEFIQUE. (2006). *Guía ambiental del subsector fiquero*. Obtenido de http://201.234.78.28:8080/dspace/bitstream/123456789/1146/1/2007222154336_GuiaAmbientalFiquera2006.pdf

CRUZ H, D. (2008). *Cadena Agroindustrial del fique*. Obtenido de http://www.agronet.gov.co/www/docs_agronet/2008519105246_BULLETS_CADEFIQUE_2008.pdf

HARVEY, A. (2000). Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products [On line] *Drug Discovery Today* 5(7): 294-300. <http://www.ibmb.uni.wroc.pl/prace2/praca18.pdf>; Consultado: Enero, 2010.

MARTÍNEZ, E y Osorio, J. (2007). Estudios preliminares para la producción de un biosurfactante bacteriano activo contra *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary. *Revista Corpoica - Ciencia y tecnología agropecuaria*, p.5 – 16 [On line: <http://www.corpoica.gov.co/SitioWeb/Archivos/Revista/1.Estudiospreliminares.pdf>]; Consultado: Febrero, 2009.