

Evaluación de un bioinsumo a partir del jugo del fique (*Furcraea spp.*) para el control de la roya (*Hemileia vastatrix*) en el café, variedad Caturra

Juan Felipe Villota Montezuma¹
Carlos Hernán Pantoja Agreda²

Fecha de recepción: septiembre de 2015 / Fecha de aceptación: diciembre de 2015

Resumen

Se presenta un estudio de evaluación de un bioinsumo a partir de jugo de fique (*Furcraea spp.*) para el control del crecimiento y desarrollo de roya (*Hemileia vastatrix*) en el café variedad caturra, el cual ataca directamente al desarrollo de la planta disminuyendo la productividad y la calidad del café. Las hojas de fique (*Furcraea spp.*) variedad "negra común" son recolectadas en el municipio de Nariño, posteriormente se extrae el jugo de fique por medio de un molino de rodillos almacenándolo en recipientes esterilizados durante 6 días realizando un proceso de fermentación natural. Después de someter el jugo a una pasteurización para frenar el proceso de fermentación, se realiza un estudio de caracterización fisicoquímica determinado valores de pH, densidad, punto de ebullición, sólidos solubles, y un análisis fitoquímico por cromatografía de capa delgada (CCD) y una caracterización cuantitativa por medio de HPLC se logró determinar la presencia de metabolitos secundarios tales como saponinas, alcaloides, flavonoides, taninos, esteroides los cuales tienen propiedades biosida para el estudio del control de roya (*Hemileia vastatrix*) en el café variedad caturra. La investigación se la realiza en la finca Cielo Verde ubicada en la vereda La Pradera en el municipio de Nariño, departamento de Nariño, identificando la severidad en porcentaje del patógeno utilizando la escala propuesta por James Clive. Se evalúa diferentes concentraciones del bioinsumo entre 1.000, 10.000 y 100.000 µg/mL, determinando el porcentaje de acción biosida de la roya en las hojas de café.

Palabras claves: fique (*Furcraea spp.*), jugo de fique, caracterización fisicoquímica, café variedad Caturra, roya (*Hemileia vastatrix*).

Abstract

The aim of this article is to present an evaluation study of a bio-input made of fique extract (*Furcraea spp.*) in order to take control of the development and the spreading of rust (*Hemileia vastatrix*); a disease that directly attacks to the plant development of Caturra coffee variety decreasing the productivity and the quality of the grain. First, the leaves of fique, black common variety, are picked up in the municipality of Nariño; then, the juice of the leaves is extracted through a roller mill and it is stored in sterile containers for six days in order to obtain a fermentation natural process. After that, the juice is pasteurized to stop the fermentation process. In addition to this, a study of physicochemical characterization is carried out to determine pH, density, boiling point and soluble solids levels. A phytochemical analysis by thin layer chromatography (TLC) and a quantitative characterization (HPLC) are lead to ascertain the presence of secondary metabolites such as saponins, alkaloids, flavonoids, tannins, steroids. These metabolites have biocidal properties that can be considered for studies on coffee rust control, specifically, related to Caturra coffee variety. The research is conducted in Cielo Verde farm, located in vereda: La Pradera; municipaliy: Nariño; department: Nariño. These research is undertaken identifying the severity percentage of the pathogen utilizing the scale proposed by James Clive. Different concentrations of the bio-input are evaluated, 1.000, 10.000 y 100.000 µg/mL, determining the incident rate of the biocide of the rust on the leaves of the coffee crops.

Keywords: fique (*Furcraea spp.*), fique extract, physicochemical characterization, Caturra coffee variety, rust (*hemileia vastatrix*).

¹ Investigador Universidad Mariana. Pasto-Nariño. juanchoh.47@gmail.com

² Investigador Universidad Mariana. Pasto-Nariño. pantoja.ch@gmail.com

Introducción

El fique (*Furcraea spp.*) es una planta muy común en diferentes regiones tropicales; en el país, especialmente Antioquia, Caldas, Risaralda y Nariño se ha caracterizado por su producción y principalmente por ser una fuente de ingresos económicos gracias a su actividad artesanal, telas, sogas, empaques, entre otros productos derivados de la cabuya. Según el ministerio de agricultura y desarrollo rural (Ministerio de Agricultura y Desarrollo, 2012) la producción de fique en el país, en el año 2010 ha llegado a 19.646 hectáreas con una producción de 23.959 toneladas de las cuales se aprovecha el 4% en peso de toda la hoja (aproximadamente 1.220 kilogramos por hectárea) y el 96% es desechado contaminando suelos y fuentes hídricas ocasionando un problema ambiental.

En la producción y manejo de fique es muy común la generación de desechos en especial los jugos después del desfibrado los cuales generalmente son vertidos en fuentes hídricas cercanas ocasionando incrementos en valores de DBO y DQO causando graves consecuencias en la biodiversidad acuática, esto se debe por las diferentes propiedades fisicoquímicas de los jugos por sus altos contenidos de azúcares, principalmente sacarosa, glucosa y fructosa, proteínas, saponinas, entre otros compuestos.

Otro impacto ambiental que se observa, también por el proceso de desfibrado, es la generación de biosólidos los cuales son desaprovechados contaminando los suelos aledaños disminuyendo sus propiedades esenciales, paralelamente a lo anterior se puede observar la acumulación de moscas y otros insectos que pueden ocasionar problemas de salud al campesino y en la planta con la prolongación de hongos y microorganismos alterando su capacidad fotosintética e impidiendo el desarrollo normal de la misma (Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial, 2006)

Metodología

Caracterizar fisicoquímicamente el jugo de fique (*Furcraea spp.*)

Recolección y extracción de las muestras de fique (*Furcraea spp.*)

Se tomó diferentes hojas de fique (*Furcraea spp.*) Variedad “negra común” del municipio de Nariño ubicada a 2467 msnm, coordenadas 1°17'20"N 77°21'28"O. Luego de ser recolectadas, se realizó una extracción del jugo de fique (*Furcraea spp.*), utilizando un molino de rodillos de tal forma que podamos aprovechar en su totalidad este jugo. Ya extraído, pasa a un proceso de filtrado para eliminar sustancias sólidas presentes, se envasó en frascos de vidrio esterilizados de 500 ml almacenándolos en neveras a 4°C para su conservación. (Hurtado, Acosta, Álvarez & Meneses, 2011)

Determinación de la densidad relativa del jugo de fique (*Furcraea spp.*)

Para la determinación de la densidad relativa se tomó una muestra del jugo a una temperatura aproximada de 20°C. Se toma un picnómetro de 50 ml y se registraran pesos del picnómetro vacío, posteriormente se pesa el picnómetro completamente lleno con un fluido de referencia, en este caso se utilizara agua destilada; y se tomara el peso del picnómetro lleno con el líquido al cual se le determinara la densidad (muestra del juego de fique). Se debe tener en cuenta para el cálculo que la densidad será el coeficiente de entre la masa de la muestra y el volumen del picnómetro (Hurtado, Acosta, Alvarez & Meneses, 2011)

Determinación de pH del jugo de fique (*Furcraea spp.*)

En esta prueba se utilizó un pHmetro previamente calibrado tomando tres muestras de

30 ml del jugo de fique en un Beaker, mezclarlo con una cantidad mínima de fenolftaleína y titularlo con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0,1N teniendo en cuenta el volumen de NaOH que se utiliza (Hurtado, Acosta, Alvarez & Meneses, 2011)

Determinación del punto de ebullición del jugo de fique (*Furcraea spp.*)

Para la determinación del punto de ebullición del jugo de fique se toma la muestra de fique en un Beaker de 50 ml y se lo pone a una plancha. Con un termómetro de mercurio se tendrá una temperatura gradual hasta que se vuelva constante (Rojas, M. 2008)

Análisis fitoquímico preliminar

La muestra de jugo de fique (*Furcraea spp.*) fue sometida a pruebas cualitativas para comprobar la presencia de metabolitos secundarios. Estas pruebas consistieron en reacciones de coloración y ensayos de detención. A continuación se presenta la metodología para la determinación de los anteriores metabolitos secundarios presentes en el jugo de fique.

Determinación de alcaloides

Se toma una muestra del jugo de fique, se mezcla con ácido clorhídrico y posteriormente es calentado a baño maría durante 5 minutos aproximadamente, después se enfrió y filtro. En tubos de ensayo se colocan 2 ml de la muestra y se añaden 2 gotas de los reactivos de Dragendorff, Wagner y Mayer. La prueba se considera positiva al momento de aparecer un precipitado o turbidez (Rojas, M. 2008)

Determinación de saponinas

Ensayo de la espuma o agua caliente: Se disuelve la muestra en agua caliente agitándolo. Durante 3 a 5 minutos, la formación de espuma después de 30 minutos se considera positiva la prueba.

Ensayo de hemólisis: A una suspensión de glóbulos rojos en solución salina diluida, se le añade una cantidad de la muestra que se presume que contiene saponinas. Si los glóbulos rojos se rompen, se asume que la muestra es positiva (Rojas, M. 2008)

Determinación de flavonoides

Prueba de Shinoda: Se coloca varias limaduras de magnesio en un tubo de ensayo. Se añade 2 ml de la muestra y por la pared del tubo, gota a gota, se deja caer varias gotas de HCl. La aparición de colores naranjas, rosado, rojo o violeta, se considera positiva la prueba (Rojas, M. 2008)

Determinación de taninos

Se toma alícuota de 1ml de la muestra para las pruebas de Cloruro férrico (FeCl₃) y acetato de plomo, para ambos casos se considera positiva la prueba si hay presencia un precipitado (Rojas, M. 2008)

Determinación de esteroides

Prueba de Lieberman - buchard: se toma una muestra del jugo de fique y se diluye con cloroformo, posteriormente se agrega gotas de anhídrido acético y varias gotas de ácido sulfúrico concentrado, la mezcla se agita hasta formar una coloración violeta, azul y verde (Rojas, M. 2008)

Obtener un bioinsumo a partir de la fermentación del jugo de fique (*Furcraea spp.*).

Fermentación de jugo de fique (*Furcraea spp.*)

En la fermentación de jugo de fique, después de la extracción y filtración, este se almacenó en recipientes cerrados y esterilizados con el fin de realizar una fermentación por acción de la flora natural presente en el jugo durante 6 días a temperatura ambiente (Benavides, Arango, Hurtado, Rojas & Rojas (2011)

Pasteurización de jugo de fique (*Furcraea* spp.)

Ya pasado este lapso de tiempo el jugo pasa a un proceso de pasteurización el cual se realiza en baño maría a una temperatura aproximada de 65°C por 30 minutos; después, pasa por un choque térmico. Este proceso detiene el proceso de fermentación del jugo. El jugo de fique después de la fermentación, presenta variaciones en sus características organolépticas tales como color, olor. El color presente en el jugo de fique fermentado es un verde más claro en comparación al jugo sin fermentar; igual con el olor, este es más penetrante. (Moreno, Vilorio, Lopez & Belén 2002).

Análisis de metabolitos secundarios por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas (CG-FID)

Las muestras de jugo de fique (*Furcraea* spp.) pasan por un análisis mediante cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas con el fin de determinar la presencia de los anteriores metabolitos secundarios y conocer cuál o cuáles presentan actividad biocida. Las

pruebas se realizan en el cromatografo instalado en los laboratorios de química de campo Alvernia de la Universidad Mariana en Pasto.

Ya identificados los compuestos por el análisis cromatográfico, se realizó la cuantificación de los metabolitos secundarios por medio de HPLC para determinar alcaloides, taninos y sapogeninas y por cromatografía flavonoides, el jugo de fique debe estar previamente filtrado, y pasteurizado. Los análisis se realizan en los laboratorios especializados instalados en la Universidad Nariño de Pasto.

Evaluar la actividad biocida del bioinsumo en plantas de café variedad caturra, por medio de tratamientos in situ

Identificación de la presencia de la roya (*Hemileia vastatrix*) en el café variedad caturra

La experimentación e identificación de roya (*Hemileia vastatrix*) en los cultivos de café variedad caturra, la investigación toma la finca Cielo Verde ubicada en la vereda la Pradera en el municipio de Nariño.



Figura 1. Plantas de café, variedad Caturra.
Fuente: La presente investigación, 2015.

Para evaluar el desarrollo de roya en las plantas de café variedad caturra se determinó valores de severidad e incidencia. Para determinar

los valores de la severidad en porcentaje se utilizó la escala gráfica modificada de Clive James (Álvarez, Salazar, Arango & Delgado, 2013).

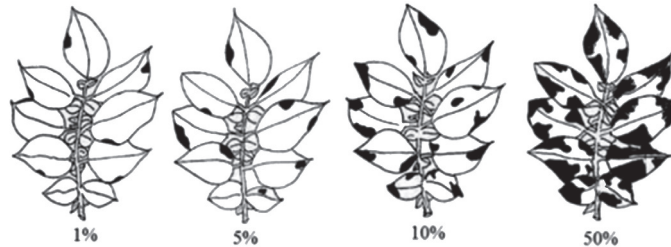


Figura 2. Escala de severidad propuesta por James Clive.
Fuente: Álvarez, David E., 2013.

Igualmente, se evaluó la incidencia del patógeno en las plantas de café variedad caturra,

se determinó el porcentaje de incidencia aplicando la siguiente ecuación.

$$P. I. = \frac{\text{número de plantas afectadas}}{\text{número total de plantas}} * 100$$

Determinar la concentración efectiva de bioinsumo en las plantas de café variedad caturra

Para la determinación de la concentración efectiva, se estableció experimentalmente tres diferentes concentraciones del bioinsumo para evaluar cuál de ellos es el más óptimo para la actividad biocida frente a los cultivos de café infectados con roya. Se presenta distintas concentraciones las cuales son: 1.000, 10.000 y 100.000 $\mu\text{g/mL}$ (Álvarez, Salazar, Arango & Delgado, 2013).

Evaluar la concentración del bioinsumo

Ya esterilizado y determinadas las concentraciones del jugo de fique por laboratorio, se realizó la aplicación en campo para determinar cuál de las tres concentraciones es la óptima.

Para la aplicación se tomó como referencia un sistema de calendario fijo, este es

un proceso de control de roya se estableció con base en el desarrollo fenológico del cultivo, la evaluación de la enfermedad en diferentes zonas productoras de café y la distribución de la cosecha (Rivillas, Serna, Cristancho & Gaitán, 2011)

Diseño experimental

Para el análisis estadístico, se realizó un diseño completamente al azar (DCA) donde se comparó la media del porcentaje de inhibición del bioinsumo a tres concentraciones a distintas fermentaciones. El diseño experimental se realizó por triplicado. Se tomó como variable de respuesta el porcentaje de incidencia de la roya presente en el café.

Para determinar el porcentaje de incidencia se tomó diferentes muestras de hojas café infectadas con el patógeno una hectárea específica de la finca.

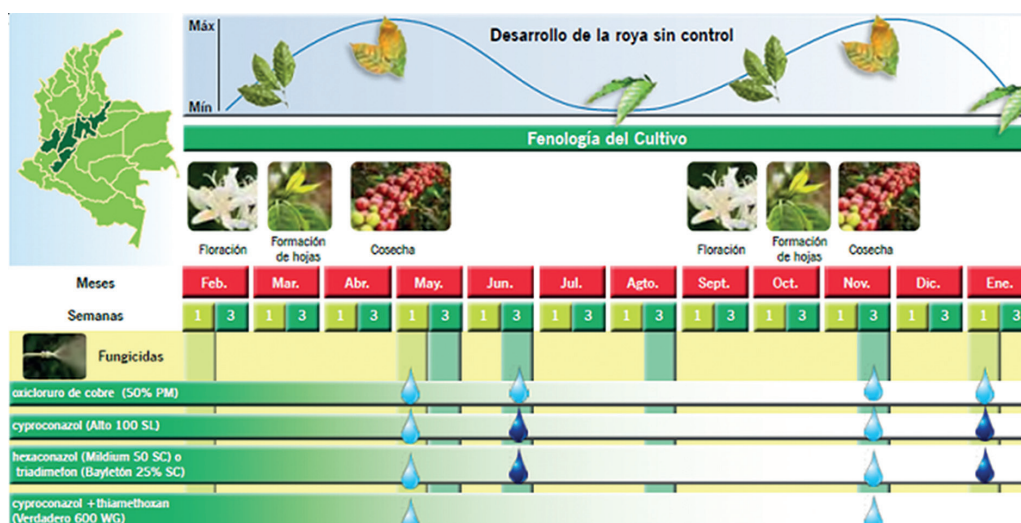


Figura 3. Calendario fijo de aspersión de fungicidas.

Fuente: Rivillas O., Serna G., Crisanchó A., Gaitán B., 2011.

Tabla 1. Diseño experimental para la determinación de incidencia de la roya en el café.

Tratamiento	Concentración $\mu\text{g/mL}$	Fermentación (días)
1	1.000	0
2	1000	6
3	10.000	0
4	10.000	6
5	100.000	0
6	100.000	6

Fuente: La presente investigación, 2015.

El análisis de datos resultantes se realizó a través del *software* Statgraphics. La variable respuesta es el porcentaje de incidencia y la severidad de la enfermedad en las plantas.

En el análisis de varianza ANOVA, si el valor P es menor a 0,05 se considera que existe diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos, en cuanto al porcentaje de incidencia.

Resultados

Caracterizar fisicoquímicamente el jugo de fique (*Furcraea spp.*)

Recolección y extracción de las muestras de fique (*Furcraea spp.*)

Se obtuvieron las hojas de fique (*Furcraea Gigantea*) variedad “negra común” en el

municipio de Nariño ubicada a 2467 msnm, coordenadas 1°17'20"N 77°21'28"O. Las pencas fueron guardadas y transportadas a la Universidad Nariño en la ciudad Pasto, donde se lavaron y posteriormente se realizó una extracción del jugo utilizando un molino de rodillos instalado en la Planta Piloto de procesos unitarios.

En la extracción del jugo de fique se evidenciaron distintas características organolépticas, un color verde oscuro, un olor fuerte a celulosa y muy espumoso, estas características físicas coinciden con los resultados realizados al jugo de fique, utilizando la misma variedad de fique (negra común) para su experimentación. Como se mencionó anteriormente el jugo de fique representa el 96% del jugo y el 4% restante representa a la fibra, el rendimiento de jugo de fique (Rojas, Myriam, Luque, 2005).



Figura 4. Hojas de fique (*Furcraea Gigantea*) variedad "negra común".

Fuente: La presente investigación, 2015.

Determinación de las propiedades físicas del jugo de fique (*Furcraea spp.*)

Se realizó un estudio de las propiedades físicas del jugo de fique, como resultado se

obtuvo en la densidad relativa 1.03g/cm³, el pH a temperatura ambiente a 15°C se obtuvo 5.6. El punto de ebullición del jugo de fique es de 93°C, inferior a la del agua (94°C), en la determinación de sólidos solubles el refractómetro mostró como resultado 13 y 14° Brix.



Figura 5. Molino de rodillos para extracción de jugo de fique.

Fuente: La presente investigación, 2015.

Análisis fitoquímico preliminar

Se realizó un estudio experimentalmente mediante las pruebas cualitativas al jugo de fique, las cuales dieron como resultado la presencia de saponinas tanto en el ensayo de espuma como en el ensayo de hemólisis y en la determinación de alcaloides por la prueba Dragendorff. La presencia de saponinas en el jugo de fique, como metabolito secundario representativo, pudo causarse gracias a la poca acción de bacterias sobre este, además las saponinas poseen azúcares en su estructura el cual pudo ayudar en la determinación (Sánchez, Arreaza & Abadía, 2012).

Tabla 2. Resultados pruebas cualitativas de metabolitos secundarios.

Pruebas		Muestra
Metabolito	Prueba	
Flavonoides	Shinoda	ND
Saponinas	Espuma H ₂ O	+
	Hemolisis	+++
Taninos	FeCl ₃	ND
	AC. Plomo	ND
Esteroides	Lieberman - Buchard	ND
	Dragendorff	++
Alcaloides	Wagner	+
	Mayer	ND

Fuente: La presente investigación, 2015.

Fermentación del jugo de fique (*Furcraea spp.*)

Proceso de fermentación del jugo de fique (*Furcraea spp.*)

El jugo de fique después de la extracción, paso a ser filtrado y almacenado en recipientes ámbar previamente esterilizados y cerrados durante un periodo de 6 días para que desarrolle un proceso fermentativo natural a temperatura ambiente, este proceso fermentativo es causado por la acción de los microorganismos, *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida lusitaniae*, presentes en el jugo de fique, encargados del consumo de azúcares glucosa, fructosa y sacarosa durante el proceso de fermentación.

Proceso de pasteurización del jugo de fique (*Furcraea spp.*)

El jugo de fique pasó por un proceso de pasteurización lenta el cual consistió en un calentamiento a baño maría a 65°C durante 30 minutos aproximadamente; después pasó por un proceso de choque térmico con un baño de hielo a 5°C de tal forma interrumpir la actividad enzimática realizada por peroxidasas y polifenol oxidasa.

Análisis cromatográfico

En el proceso de hidrolisis acida tuvo un eficiencia del 87%, de 100mL de jugo de fique. También se identificó dos sapogeninas mayoritarias la hecogenina y tigogenina con un porcentaje de área de 51% y 49%. En el análisis por HPLC, las muestras fueron filtradas en filtros de jeringa de 0.45µm e inyectadas en el equipo. La cuantificación de las sapogeninas (hecogeninas) se empleó un estándar de alta pureza de hecogenina analizando las mismas en condiciones operacionales donde observó una cantidad sapogeninas de 10.80 mg/L usando una columna C8 de 150 mm, a longitud de onda de 205 y 238 nm.

Evaluar la actividad biocida del bioinsumo en plantas de café variedad caturra, por medio de tratamientos in situ

Identificación de la presencia de la roya (*Hemileia vastatrix*) en el café variedad caturra

Se evaluó el bioinsumo, tanto fermentado (6 días) y sin fermentar (0 días), a los 8 días después de la aplicación, donde se observó la acción antifúngica con la reducción del

porcentaje en el incidencia del patógeno, donde se determinó que las concentraciones de 10.000 a 100.000 $\mu\text{g/mL}$ tuvieron un efecto inhibitorio

sobre el crecimiento de roya a nivel in situ en comparación al testigo, el cual mantuvo un crecimiento significativo.



Figura 6. Presencia de roya (*Hemileia vastatrix*) en las hojas.
Fuente: La presente investigación, 2015.

Tabla 3. Porcentaje de incidencia del patógeno en el café, jugo de fique fermentado.

Tratamientos	Fermentación (días)	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Porcentaje incidencia (%)
Tratamiento 1	6	1.000	27,3
	6	10.000	20,5
	6	100.000	2,8
Tratamiento 2	6	1.000	19,6
	6	10.000	15,0
	6	100.000	2,8
Tratamiento 3	6	1.000	30,6
	6	10.000	16,1
	6	100.000	2,0
Tratamiento 4	6	1.000	31,1
	6	10.000	18,4
	6	100.000	2,2

Fuente: La presente investigación, 2015.

Tabla 4. Porcentaje de incidencia del patógeno en el café, jugo de fique fermentado.

Tratamientos	Fermentación (días)	Concentración (µg/mL)	Porcentaje incidencia (%)
Tratamiento 5	0	1.000	37,9
	0	10.000	21,9
	0	100.000	5,2
Tratamiento 6	0	1.000	25,8
	0	10.000	20,2
	0	100.000	4,6
Tratamiento 7	0	1.000	38,6
	0	10.000	21,6
	0	100.000	6,0
Tratamiento 8	0	1.000	38,4
	0	10.000	21,6
	0	100.000	5,0

Fuente: La presente investigación, 2015.

Discusión

Caracterizar fisicoquímicamente el jugo de fique (*Furcraea spp.*)

En el estudio preliminar del jugo de fique, en la extracción del jugo, se presentó diferentes características organolépticas, un color verde fuerte y espumoso y un olor fuerte a celulosa (Rojas & Luque E. 2005).

La densidad relativa puede estar relacionada con la variación de las concentraciones de sólidos solubles en ambas muestras de jugo de fique, el cual se observó el incremento en los resultados de 13 a 14°Brix a temperatura ambiente, este incremento pudo ser causado por la acción enzimática que produce azúcares solubles tales como glucosa (Lozano (2012) & Barrante, 2013).

En cuanto al pH, el resultado disminuyó después del proceso de fermentación natural de 5,6 a 4,5. Este cambio es causado por la actividad de mohos filamentosos tipo *Rhizopus sp.*, presentes en el jugo de fique los cuales se caracterizan por producir ácidos orgánicos. Este estudio fue realizado en tres tipos de variedades de fique (*Furcraea gigantea*, *F. castilla* y *F. macrophylla*), en su estudio el pH varió entre 4.5 a 5 (Casierra & Fánor, 2009).

Los resultados obtenidos en el punto de ebullición se observó que las temperaturas fueron iguales. El efecto de la temperatura en el jugo de fique es importante ya que las variaciones de temperatura es causante del aumento en concentración (°Brix) 5 (Casierra & Fánor, 2009). También se puede observar que tras el aumento de la temperatura la densidad disminuyó, esto pudo ser causado por aumento de la tasa de flujo

másico del jugo debido a la reducción en el peso (Armas, Lezama & Iparraguirre. 2012).

En el análisis fitoquímico preliminar, Las saponinas presentes en el extracto de la hoja de fique, entre otras propiedades, actúan como agentes surfactantes biodegradables que, disueltos en el agua, reducen su tensión superficial y actúan como disgregantes de grasas y aceites. (Zainal, Rahman, Abdul, Ariff, Saari & Asbi, 1999).

También se evidenció la presencia de saponinas en el jugo de fique por la formación de espuma el cual se basó en la medición de la altura y el tiempo que dura la espuma formada por una solución de saponinas mediante agitación (Sanchez, Arreaza & Abadía B, 2009).

En la prueba de hemolisis propuesta por R. Kobert en 1962, este método las saponinas son capaces de formar complejos con los esteroides de la membrana celular de los eritrocitos, en consecuencia ocurre un aumento de la permeabilidad celular, continuo de la ruptura de la membrana del eritrocito y la pérdida o liberación de la hemoglobina. La actividad hemolítica asociada a la presencia de saponinas ha sido observada por otros investigadores, no sólo para los extractos de *S. saponaria L.* sino también, para extractos de otras especies que de igual forma presentan elevadas concentraciones de estos metabolitos secundarios (Hernández, Lugo, Díaz Villanueva, 2005).

Se determinó la presencia alcaloides en el jugo de fique, por medio de la prueba Dragendorff, este metabolito pudo ser representativo junto a las saponinas ya que presentan gran diversidad estructural y múltiples actividades biológicas. Su biogénesis deriva de distintos metabolitos primarios nitrogenados como, por ejemplo: la ornitina (que origina los alcaloides del tropano, los pirrolidínicos y los pirrolizidínicos) (Mena, Tamargo, Salas & Plaza, 2015) En otros estudios la caracterización de alcaloides se ha demostrado múltiples reportes de la actividad citotóxica

de este metabolito. Los ensayos de actividad antibacteriana permitieron confirmar que la especie es inactiva frente a diferentes cepas ensayadas los alcaloides de tipo β -carbolina son nematocidas y poseen baja citotoxicidad, lo que los constituye en posibles fármacos (Benavente, Kurina & Lugo 2008).

Obtener un bioinsumo a partir de la fermentación del jugo de fique (*Furcraea spp.*)

Proceso de fermentación del jugo de fique (*Furcraea spp.*)

En el proceso de fermentación del juego Se encontraron consumos de glucosa para ambos microorganismos superiores al 80% entre el primero y segundo día de fermentación. La sacarosa presentó porcentajes de consumo entre el 80% y el 95% para *S.cerevisiae*, mientras que para *C.lusitaniae* los porcentajes de consumo fueron variables presentándose valores cercanos al 5% (Guauque, Castaño & Gómez, 2010).

En el proceso de fermentación natural del jugo de fique existe la producción de etanol el cual es realizado por las levaduras presentes en el jugo, este crecimiento de etanol pudo formarse a partir de la producción de CO_2 que corresponde a un metabolito directamente asociado al crecimiento celular; esto evidencia una mayor producción de biomasa por parte de este microorganismo debido a que es un microorganismo nativo aislado del jugo de fique. En cuanto la parte química del jugo de fique se pudo considerar el aumento en metabolitos secundarios tales como hecogenina y tigogenina los cuales aportan con el aumento de saponinas, aunque al agotarse se produciría una ruptura o transformación de las saponinas [5].

Para el proceso de fermentación natural en el jugo de fique, entre sus componentes, existe una levadura identificada como *Candida lusitaniae*, encargada de realizar este proceso. En otro estudio, de la identificación de bacterias productoras de polihidroxicanoatos (PHA)

en suelos contaminados con desechos de fique. (Gutiérrez, Torres, Ramírez, Vélez, Cardona & Oscar, 2001) Se demostró que el jugo de fique fermentado tiene capacidades para la inhibición de microorganismos y de patógenos con acción deletérea.

Proceso de pasteurización del jugo de fique (*Furcraea spp.*)

El jugo de fique pasó por un proceso de pasteurización lenta el cual consistió en un calentamiento a baño maría a 65°C durante 30 minutos aproximadamente; después pasó por un proceso de choque térmico con un baño de hielo a 5°C de tal forma interrumpir la actividad enzimática realizada por peroxidasas y polifenol oxidasa. Las peroxidasas tuvieron una reducción con la aplicación de tratamientos térmicos de 65% a 98% de su actividad inicial, y las polifenol oxidasa una disminución del 90%.

El proceso de pasteurización prolongó la vida útil del jugo de fique en un periodo de conservación de 10 a 15 días además, con este proceso puede detener el crecimiento de algunas bacterias patógenas presentes en el jugo. (Sánchez, Marín & Mora, 2012).

Análisis cromatográfico

Con los anteriores resultados se pudo observar que las concentraciones de hecogeninas es mayor a la de tigogeninas en relación a la cuantificación de saponinas expuesta por (Benavides, Arango, Hurtado & Rojas, 2011) los porcentajes de hecogeninas y tigogeninas fueron de 52,8% y 47,2%, aunque, en comparación, sus resultados mostraron una diferencia en sus concentraciones debido a que el jugo de fique paso por un proceso de fermentación de 4 días lo que favoreció el aumento de hecogeninas y tigogeninas.

La cuantificación de saponinas mostró altas concentraciones de saponinas utilizando HPLC con mezclas de etanol/agua donde se determinó

concentraciones de 56%. También, en el proceso de hidrolisis y cromatográfico comprobaron la presencia entre varios metabolitos la presencia de Hecogenina (3 β -hidroxi-5 α , 25R-espirostan-12-ona), Tigogenina (5 α , 25R-espirostan-3 β -ol) Se ha considerado que su concentración pueden aumentar cuando el extracto fue sometido a estímulo con levaduras después de la extracción lo que genera un aumento de hecogenina y tigogenina en el jugo de fique por un proceso de fermentación natural. (Guerra, Meneses, Simonet, 2008).

En la determinación del crecimiento de la roya se tomó una muestra significativa de todo el cultivo de café variedad caturra y se analizó la severidad en porcentaje del patógeno en las hojas teniendo como resultado un crecimiento entre 10 a 50% en la escala de Clive James (Moreno, Vilorio, Lopez & Belén, 2002) para la evaluación de las concentraciones del bioinsumo fermentado y no fermentado, se realizó un diseño experimental para analizar la concentración óptima de las cuales la más adecuada es 10.000 y 100.000 $\mu\text{g/ml}$, pues se observó un mejor control de roya en las hojas sin afectar la planta.

Conclusiones

La fermentación del jugo de fique contribuye con el aumento de las concentraciones de hecogeninas y tigogeninas para la determinación de saponinas como metabolito secundario con capacidad biocida.

La capacidad biocida del jugo de fique fermentado tuvo una mejor eficiencia en comparación al jugo sin fermentar debido al aumento de las concentraciones de saponinas presentes.

Las concentraciones de 100 $\mu\text{g/mL}$ en ambos extractos no tuvieron un efecto biocida concluyendo que la reducción micelial del hongo puede estar relacionado por la presencia de metabolitos secundarios, anteriormente

mencionados y también a las concentraciones del jugo en el medio de cultivo, lo que explica que el uso de concentraciones menores de 1.000 µg/mL no afecte con el crecimiento micelial del hongo.

Bibliografía

- Álvarez S., David Eduardo, Hurtado B. Andrés Mauricio, Salazar C., Arango B.O, Acosta J.M. (2013). *Evaluación del bioinsumo de fique (Furcraea gigantea) en el control del tizón tardío de la papa*. Pasto: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial.
- Álvarez D.E., Hurtado B., Salazar G. Claudia, Arango B., & Delgado B. (2011). *Sensibilidad in vitro de Phytophthora infestans al extracto de fique (Furcraea gigantea) y fungicidas sintéticos*. Pasto: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial.
- Armas V., Lezama R., Iparraguirre R. (2012). *Aumento ebulloscópico de extracto de jugo de yacón (Smallanthus sonchifolius) y determinación de gráficas de Dühring*. Perú: Escuela de Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Trujillo.
- Barrantes V.W. (2013). *Efecto de la concentración de sólidos solubles de aguamiel de cabuya (Furcraea andina) en las características sensoriales de una bebida destilada tipo tequila blanco*. Escuela Profesional de Ingeniería.
- Benavides Olga L., Arango Oscar, Hurtado Andrés M., Rojas Myriam C. Rojas. (2011). *Cuantificación de Saponinas del Jugo Fresco y Fermentado de Fique (Furcraea gigantea) mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC-PDA)*. Universidad de Nariño. Grupo de Investigación Tecnologías Emergentes en Agroindustria (TEA), Facultad de Ingeniería Agroindustrial.
- Benavente C.A., Kurina, M., Lugo, M.A.(2008). *Micofilas, endófitos fúngicos y alcaloides en poblaciones de Melicastuckertii (Poaceae) del Centro de Argentina*. Argentina: Sociedad Argentina de botánica.
- Casierra P.F., González A. (2009). *Cambio circadiano de pH y acidez titulable en la savia de fique (Furcraea castilla y F. macrophylla)*. Boyacá: Grupo de investigación Ecofisiología Vegetal. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.
- Guaunque M.P., Castaño J.C., Gómez, M. (2010). *Detección de metabolitos secundarios en Ambrosia Peruviana Willd y determinación de la actividad antibacteriana y antihelmíntica*. Armenia: Departamento de Química, Facultad de Ciencias Básicas y Tecnologías, Universidad del Quindío,
- Gutiérrez, C.Á.M., Torres T.M.M., Ramírez C. M.E., Vélez S. Y., Cardona, A. Vasco E. M., Oscar H. (2011). *Fermentación alcohólica de jugo de fique con Candida lusitaniae*. *Revista de Investigaciones Aplicadas*. Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín.
- Guerra J.O., Meneses A., Simonet A. M.(2008). *Saponinas esteroidales de la planta Agave brittoniana (Agavaceae) con actividad contra el parásito Trichomona vaginalis*. Escuela de Biología. Universidad de Costa Rica. Costa Rica. Pág. 1645-1652.
- Hernández S., R., Lugo C.E.C., Díaz J L., Villanueva S., (2005). *Extracción cuantificación indirecta de las saponinas de agave lechuguilla torrey*. Universidad de Guadalajara. Guadalajara.
- Hurtado A.M, Acosta M.J.M, Alvarez S., D, Meneses L. (2011). *Obtención de un bioinsumo a partir de jugo de fique (Furcraea spp.) para el control agroecológico de la gota (Phytophthora infestans) en la papa en el departamento de Nariño*. Colombia. Grupo

de Investigación Tecnologías emergentes en Agroindustria (TEA). Universidad de Nariño.

- Lozano R., W., A., (2012). *Uso del extracto de fique (Furcraea spp.) como coadyuvante de coagulación en tratamiento de lixiviados*. Grupo de Investigación GRESIA, Facultad de Ingeniería Ambiental, Universidad Antonio Nariño. Bogotá.
- Mena V., L., Tamargo S., Beatriz, S.O.E, Plaza, L.E. (2015). Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de Sapindussaponaria L. (jaboncillo). Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. La Habana, Cuba. pág. 106-116.
- Ministerio De Agricultura y Desarrollo (2010). Anuario estadístico del sector agropecuario y pesquero. Bogotá. *Dirección de política Sectorial – Grupo de Sistemas de Información*.
- Ministerio De Ambiente, Vivienda Y Desarrollo Territorial (2006). *Guía ambiental del subsector fiquero*. Bogotá: Departamento nacional de planificación. Colombia.
- Moreno M, J., Vilorio A., Lopez E., Douglas, B., (2002). Estabilidad de antocianinas en jugos pasteurizados de mora (*Robus glaucus*). *Laboratorio de biomoléculas*. Ingeniería de alimentos Universidad Simón Rodríguez. Carabobo. Venezuela.
- Rivillas O., Serna G. Cesar A., Cristancho A.M & Gaitán A.(2011). La roya del cafeto en Colombia. Impacto, manejo y costos de control. *Federación Nacional de Cafeteros de Colombia*. Bogotá.
- Rojas S.M. (2008). Caracterización Físicoquímica del jugo de fique (*Furcraea spp.*) elaboración y evaluación de un biofungicida útil en el control agroecológico de la gota (*Phytophthora Infestans*) en la papa. Pasto: Facultad de ingeniería agroindustrial. Universidad de Nariño.
- Rojas S.M.C., Luque T.E.. (2012). Biofungicida a partir del jugo de fique (*Furcraea spp.*) y evaluación de su efectividad sobre la gota (*Phytophthora infestans*) en el cultivo de papa. Pasto: (*solanumtuberosum*). *Revista educación en ingeniería*,16.
- Sanchez D.E., Arreaza L.C., Abadía B. (2005). Estudio de la cinética de degradación in vitro de cuatro forrajes tropicales y una leguminosa de clima templado. Programa de Fisiología y Nutrición Animal. C.I. Tibaitatá. *Revista CORPOICA*. Mosquera.
- Sánchez, S., Marín, M.A. Mora, A.L. & Yepes, M.S.,(2012). *Identificación de bacterias productoras de polihidroxicanoatos (PHAs) en suelos contaminados con desechos de fique*. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. *Rev. Colombiana Biotecnología*. Vol. XIV No. 2. 2012.
- Zainal B.S, Rahman R. A., Ariff A.B., Saari B.N., Asbi B.A. (1999) Effects of temperature on the physical properties of pink guava juice at two different concentrations. Department of Food Technology, Faculty of Food Science and Biotechnology, University Putra Malaysia. Malaysia.