

**EVALUACIÓN DE LA OBTENCIÓN DE UN CONSERVANTE DE ALIMENTOS
NATURAL BASADO EN LA EXTRACCIÓN DE ALICINA Y PARA APLICARLO
EN FRUTAS Y/O VERDURAS**

LAURA DANIELA MARTÍNEZ BARRANTES

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C
2020**

**EVALUACIÓN DE LA OBTENCIÓN DE UN CONSERVANTE DE ALIMENTOS
NATURAL BASADO EN LA EXTRACCIÓN DE ALICINA Y/O AJOENE PARA
APLICARLO EN FRUTAS Y/O VERDURAS**

LAURA DANIELA MARTÍNEZ BARRANTES

**Proyecto integral de grado para optar por el título de:
INGENIERO QUÍMICO**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C
2020**

Nota de aceptación

Jurado 1

Jurado 2

Bogotá, D.C. Octubre de 2020

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. MARIO POSADA GARCÍA-PEÑA

Consejero Institucional

Dr. LUIS JAIME POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. MARIA CLAUDIA APONTE GONZÁLES

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. RICARDO ALFONSO PEÑARANDA CASTRO

Secretaria General

Dra. ALEXANDRA MEJÍA GUZMÁN

Decano Facultad de Ingenierías

Dr. JULIO CÉSAR FUENTES ARISMENDI

Director Programa Ingeniería Química

Dr. IVÁN RAMÍREZ MARÍN

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a la autora.

DEDICATORIA

Quiero dedicarle esta tesis a Noe Fernando Morales, quién repentinamente se convirtió en lo más importante de la vida y en un modelo a seguir, a quién admiro y amo infinitamente y gracias a quién logre finalizar este proyecto, esta etapa de mi vida.

A Steffany Alejandra Herreño, quién sin ser mi compañera de trabajo de grado fue la mejor compañera de trabajo de grado y la mejor amiga del mundo

A mi hermano, Wilson Felipe Martínez por ser él y siempre estar conmigo

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, porque me dieron las bases de lo que hoy en día es una profesional recién graduada, sin experiencia en la materia, pero sin miedo a enfrentarse a los retos del futuro.

CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	21
INTRODUCCIÓN	22
OBJETIVOS	24
1. MARCO TEÓRICO	25
1.1 LA CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS	25
1.1.1 Antecedentes históricos	26
1.1.2 Agentes físicos	28
1.1.1.1 Daños mecánicos	28
1.1.1.2 Temperatura	28
1.1.1.3 Humedad	28
1.1.1.4 Condiciones ambientales	28
1.1.3 Agentes químicos	29
1.1.3.1 Reacción de Maillard	29
1.1.3.2 Enranciamiento de lípidos	29
1.1.4 Agentes biológicos	29
1.1.5 Métodos de conservación de alimentos	29
1.2 ESPECIE ALLIUM SATIVUM	32
1.3 MECANISMO DE EXTRACCIÓN	35
1.3.1.1 Fuerzas intermoleculares	35
1.3.1.2 Fuerzas de dispersión de London	36
1.3.1.3 Puentes de hidrógeno	37
1.3.2 Solventes	37
1.4 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN	40
1.4.1 Extracción asistida por ultrasonido	40
1.4.2 Extracción Soxhlet	41
1.4.3 Maceración	43
1.4.4 Extracción a contracorriente	43
1.4.5 Percolación	44
1.5 GRADO DE SOLVATACIÓN	44

1.6	HONGOS	45
1.6.1	Phylum Chytridiomycota	46
1.6.2	Phylum Zygomycota	46
1.6.3	Phylum Ascomycota	47
1.6.4	Phylum Basidiomycota	47
1.6.5	<i>Penicillium Spp</i>	48
1.6.6	<i>Cladosporium herbarum</i>	49
1.6.7	<i>Rhizopus stolonifer</i>	50
1.6.8	<i>Botrytis Cinerea</i>	51
1.7	CULTIVO FÚNGICO	52
1.7.1	Medios de cultivo	52
1.7.1.1	Fresas	54
2.	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE ALICINA Y/O AJOENE	55
2.1	MATERIAS PRIMAS	55
2.1.1	Especie <i>Allium Sativum</i>	55
2.1.2	Solución Etanol-Agua	57
2.2	SELECCIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN	58
2.2.1	Relación Ajo-Solvente	60
2.2.2	Cuantificación de la alicina	60
3.	EFFECTO DEL EXTRACTO SOBRE UN CULTIVO FÚNGICO AMBIENTAL EN CAJA PETRI Y DIRECTAMENTE EN FRUTAS	69
3.1	AISLAMIENTO DE HONGO AMBIENTAL	69
4.	ESPECIFICACIONES TÉCNICAS	80
4.1	BASE DE CÁLCULO	80
4.2	DESCRIPCIÓN DEL PROCESO	81
4.2.1	Descripción general	81
4.2.2	Diagrama de entradas y salidas	81
4.2.3	Diagrama de bloques	81

4.2.4	Diagrama de flujo de proceso (PFD)	83
4.3	BALANCE DE MASA	86
4.3.1	Lavadora	86
4.3.2	Descascarador	86
4.3.3	Trituradora	87
4.3.4	Mezclador	88
4.3.5	Macerador	88
4.4	EQUIPOS	89
4.4.1	Lavadora	89
4.4.2	Descascarador	90
4.4.3	Triturador de ajo	92
4.4.4	Tanque mezclador	93
4.4.6	Filtrador	95
4.4.7	Envasadora	96
5.	ANÁLISIS DE COSTOS	99
5.1	COSTOS DE OPERACIÓN	99
5.1.2	Mano de obra	100
5.1.3	Servicios auxiliares	101
5.1.4	Precio de venta	102
5.1.5	Equipos	103
5.2	INVERSIÓN TOTAL	103
6.	CONCLUSIONES	105
7.	RECOMENDACIONES	106
	REFERENCIAS	107
	ANEXOS	117

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Comparación características morfológicas tipos de ajo	57
Tabla 2. Selección del método de extracción	59
Tabla 3. Registro fotográfico crecimiento de hongos patógenos en fresas	78
Tabla 4. Densidades de los diferentes líquidos	82
Tabla 5. Corrientes del proceso	83
Tabla 6. Listado de equipos y su convención	84
Tabla 7. Datos técnicos de la lavadora de ajos	90
Tabla 8. Datos técnicos del descascarador de ajos	91
Tabla 9. Datos técnicos de la trituradora de ajos	92
Tabla 10. Datos técnicos del tanque mezclador	94
Tabla 11. Datos técnicos del macerador	95
Tabla 12. Datos técnicos de la envasadora de líquidos	96
Tabla 13. Descripción de los equipos y sus condiciones de operación	97
Tabla 14. Descripción precios de la materia prima.	100
Tabla 15. Descripción de precios de la mano de obra	101
Tabla 16. Descripción costo energético por equipo	101
Tabla 17. Descripción costo agua doméstica	102
Tabla 18. Costos totales de producción mensual	102
Tabla 19. Costo de los equipos	103
Tabla 20. Costo inversión total	104

LISTA DE ILUSTRACIONES

	pág.
Ilustración 1. Diferentes compuestos del ajo	33
Ilustración 2. Reacción de Alina con la enzima alinasa	34
Ilustración 3. Reacción enzimática de la Alina	56
Ilustración 4. Diagrama de flujo obtención del extracto de alicina	62
Ilustración 5. Preparación de materias para extracción de alicina	63
Ilustración 6. Dientes de ajo	63
Ilustración 7. Envases con el licuado de ajo y el solvente	64
Ilustración 8. Extracto de alicina 25g de ajo filtrado	65
Ilustración 9. Muestra de fresas para crecimiento del hongo ambiental	70
Ilustración 10. Crecimiento de hongo ambiental en una muestra de fresas	70
Ilustración 11. Ataque de rhizopus stolonifer a una fresa.	71
Ilustración 12. Preparación del medio de cultivo PDA casero	72
Ilustración 13. Correspondiente a 100g de papa y gelatina y sabor	73
Ilustración 14. Medio de cultivo PDA en recipiente plástico	73
Ilustración 15. Aislamiento de Rhizopus stolonifer en PDA	74
Ilustración 16. Rhizopus stolonifer tres días después de sembrado.	75
Ilustración 17. Diagrama de flujo para el aislamiento del hongo ambiental	76
Ilustración 18. Crecimiento del hongo en el control uno y cuatro días después de sembrado respectivamente	77
Ilustración 19. Diagrama de bloques del proceso	83
Ilustración 20. Diagrama de proceso	85
Ilustración 21. Diagrama de la lavadora	86
Ilustración 22. Diagrama del descascarador	87
Ilustración 23. Diagrama de la trituradora	87
Ilustración 24. Diagrama del mezclador	88
Ilustración 25. Diagrama del macerador	88
Ilustración 26. Diagrama de filtración	89
Ilustración 27. Lavadora	90
Ilustración 28. Descascarador	91
Ilustración 29. Trituradora	92
Ilustración 30. Tanque mezclador	93
Ilustración 31. Macerador	94
Ilustración 32. Filtrador	95
Ilustración 33. Envasadora	96

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Concentración de alicina en diferentes solventes	pág. 58
--	------------

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1. Ecuación de molaridad	pág. 66
Ecuación 2. Porcentaje de error	66
Ecuación 3. Balance de masa general	81
Ecuación 4. Precio de venta	102

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Tablas de equipos	pág. 118
Anexo B. Control de crecimiento del hongo	120

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

Abreviatura	Término
°C	Grados Celsius
kg	Kilogramos
g	Gramos
mg	Miligramo
mL	Mililitro
L	Litro
m ³	Metros cúbicos
COP	Moneda Colombiana

SÍMBOLOS

SÍMBOLO	TÉRMINO	UNIDAD
<i>M</i>	Molaridad	

GLOSARIO

ALLIUM: género de plantas con gran riqueza en aceites esenciales y en compuestos sulfurados con diferentes usos medicinales, ornamentales, comestibles y con aplicaciones industriales.¹

ALICINA: o (tiosulfinato de dialilo), biocompuesto organosulfurado propio del género *Allium* derivado de la transformación de la Alina por la acción de la enzima alinasa.²

CONCENTRACIÓN: relación entre la cantidad de soluto y la cantidad de solución. Mientras más soluto mayor será la concentración.³

CONSERVACIÓN: técnicas para prolongar la vida y disponibilidad de la comida.⁴

EXTRACTO: sustancia que en forma concentrada se extraerá de otra sustancia y que conservará sus propiedades esenciales y constitutivas.⁵

EXTRACCIÓN SÓLIDO LÍQUIDO: procedimiento en el cual se separan uno o varios componentes solubles contenidos en un sólido mediante el uso de un disolvente adecuado.⁶

FITOPATÓGENO: hongos y/o bacterias que causan alteraciones en las plantas antes durante o después de la cosecha.⁷

¹ VILLALOBOS, José Ramón Vallejo; PACHECO, Diego Felipe Peral; RAMOS, María Consuelo Carrasco. Las especies del género " Allium" con interés medicinal en Extremadura. *Medicina naturalista*, 2008, vol. 2, no 1, p. 3-8.

² KUETTNER, E. Bartholomeus; HILGENFELD, Rolf; WEISS, Manfred S. Purification, characterization, and crystallization of alliinase from garlic. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2002, vol. 402, no 2, p. 192-200

³ BENDER, D.; BÁRCENAS, M. E. El ajo y sus aplicaciones en la conservación de alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 2013, vol. 7, no 1, p. 25-36.

⁴ DESROSIER, Norman W., et al. *Conservación de alimentos*. México: Continental, 1964.

⁵ FLORENCIA UCHA. En: Definición ABC. 2009. {en línea} {27 de Julio 2020} disponible en: ([HTTPS://WWW.DEFINICIONABC.COM/GENERAL/EXTRACTO.PHP](https://www.definicionabc.com/general/extracto.php))

⁶ GONZÁLEZ CHAVARREA, Diana Maribel; YÁNEZ ANDRADE, Yazmín Mikol. *Diseño y Construcción de un Extractor Sólido-Líquido para la Obtención de Aceite de Semillas de Sambo y Zapallo*. 2012. Tesis de Licenciatura.

⁷ GUZMÁN, Ma Del Pilar Rodríguez. Biodiversidad de los hongos fitopatógenos del suelo de México. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 2001, no Es1, p. 53-78.

HONGO: organismo eucariota perteneciente al reino Fungi que se suelen desarrollar sobre materia orgánica ya que tienen capacidad de descomponer la materia gracias a su digestión externa segregando enzimas.⁸

INHIBICIÓN: suspensión temporal de una actividad o función de un organismo a través de un estímulo determinado.⁹

MACERACIÓN: mantener sumergida alguna sustancia sólida en un líquido para extraer de ella las partes solubles¹⁰

MEDIO de cultivo: mezcla de nutrientes que, en concentraciones adecuadas y en condiciones físicas óptimas permiten el crecimiento de microorganismos.¹¹

REPIQUE: extracción del borde de una colonia un trozo de micelio para sembrarlo en otra caja de Petri conteniendo medio de cultivo para posterior incubación.¹²

RHIZOPUS Stolonifer: tipo de moho fitopatógeno responsable de la conocida “pudrición blanda” que provoca un reblandecimiento de las superficies orgánicas.¹³

SOLUTO: sustancia que por lo general se encuentra en menor cantidad y que se disuelve en la mezcla.¹⁴

SOLVENTE: sustancia capaz de disolver y producir con otra sustancia una mezcla.¹⁵

SOLVATACIÓN: describe las propiedades relacionadas con las interacciones soluto- solvente para formar conglomerados moleculares.¹⁶

⁸ MORESO, José Juan. Tomates, hongos y significado jurídico. *J. Moreso, L. Prieto, y J. Ferrer. Los desacuerdos en el Derecho. Madrid: Fundación Coloquio Jurídico Europeo, 2010.*

⁹ VELÁSQUEZ PRIETO, Orlando Emilio, et al. Aislamiento, selección y evaluación de microorganismos controladores biológicos de Botrytis sp. 2018.

¹⁰ ESPAÑOLA, Real Academia. RAE.(2017). Macerar. Edición del tricentenario.

¹¹ REDDY, MV Bhaskara, et al. Characterization and use of essential oil from Thymus vulgaris against Botrytis cinerea and Rhizopus stolonifer in strawberry fruits. *Phytochemistry*, 1998, vol. 47, no 8, p. 1515-1520.

¹² LUGO, Mónica Alejandra, et al. Hongos asociados con dos poblaciones de Acromyrmex lobicornis (Formicidae) de San Luis, Argentina. 2013.

¹³ JIMÉNEZ, Alexander Berrocal. Clasificación de daños producidos por agentes de biodeterioro en la madera. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 2006, vol. 4, no 10, p. 54-62.

¹⁴ PLIEGO JR, Josefredo R. Modelos continuos do solvente: fundamentos. *Química Nova*, 2006, vol. 29, no 3, p. 535-542.

¹⁵ Ibid, p. 6

¹⁶ SHARAPIN, Nikolai. *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Convenio andres bello, 2000.

PDA: Agar papa dextrosa, es un medio de cultivo nutritivo sólido en el que pueden crecer especies bacterianas y fúngicas cuyo uso está focalizado en el aislamiento de hongos filamentosos y levaduras.¹⁷

¹⁷ GIL, Marielsa. Agar papa dextrosa fundamento, preparación y uso. 2020. {en línea} {26 de agosto 2020} disponible en: (<https://www.lifeder.com/agar-papa-dextrosa/>)

RESUMEN

La experimentación de este proyecto se llevó a cabo en condiciones caseras considerando que el proyecto se desarrolló en medio de la coyuntura nacional traída por la pandemia del Covid-19.

Este proyecto está basado en la extracción de un biocompuesto de una de las hortalizas más usadas en el mundo: La especie *Allium Sativum* o ajo. El ajo está compuesto por diferentes elementos organosulfurados que le aportan cada una de sus características. Entre esos biocompuestos se encuentra la alicina (tiosulfonato de dialilo) que parte de la interacción entre la enzima alinasa del ajo y un aminoácido no proteico llamado Alina cuando el diente de ajo se expone a situaciones de estrés. Teniendo en cuenta las propiedades de este biocompuesto se obtuvo un extracto de alicina para su evaluación antifúngica sobre hongos ambientales y su efecto sobre una muestra de fresas. Para su extracción se utilizó como solvente una solución de etanol-agua y como método de extracción se utilizó la maceración a temperatura ambiente. Se realizó un desarrollo experimental para determinar la mejor relación ajo-solvente utilizando 25, 50 y 100g de ajo para 100mL siendo la relación 25g de ajo/100mL de solvente la usada para el tratamiento en fresas.

Dentro de la verificación de las propiedades antifúngicas del ajo se aisló un hongo ambiental desde una muestra de fresas y se logró purificar una cepa de *Rhizopus Stolonifer* a partir de comparaciones de sus características físicas.

El medio de cultivo fue una modificación de PDA el cual se preparó con 4% de cada uno de los extractos de alicina y se sembró en él el *Rhizopus Stolonifer* se determinó que las tres relaciones de ajo-solvente son igual de efectivas contra este tipo de hongo ambiental y se hizo la réplica del extracto con 25g de ajo para su evaluación sobre una muestra de frutas. Esta evaluación se hizo sobre fresas y sobre la muestra orgánica se verificó fotográficamente y registró inhibición de hongos patógenos las muestras.

Finalmente se expusieron las especificaciones técnicas del proceso para hacer una propuesta con una maceración a temperatura ambiente para la extracción y se hace un análisis de costos en su producción que brinda las bases para un futuro análisis financiero.

Palabras clave: Alicina, ajo, extracción, inhibición, hongos

INTRODUCCIÓN

La especie *Allium Sativum* conocida comúnmente como ajo ha hecho parte del desarrollo de la humanidad desde hace más de 5000 años.¹⁸ No solo por sus usos alimenticios sino por sus diversas propiedades que benefician al ser humano. De todas las especies *Allium* el ajo es el que contiene la mayor concentración de componentes azufrados lo que le otorga una actividad antimicrobiana potente¹⁹. Entre los elementos azufrados que contiene, se encuentra la alicina, la cual se determinó desde 1944 como la responsable de la mayor actividad antibacterial y antifúngica del ajo²⁰. Basando en este compuesto organosulfurado de interesantes aplicaciones se evalúa la posibilidad de poder desarrollar un conservante de alimentos frescos o postcosecha que en primera instancia cubra la necesidad del público cada vez más consiente de los hábitos necesarios para tener un estilo de vida saludable lo cual implica el consumo de alimentos frescos libres de aditivos químicos que ponen en riesgo la salud y que también disminuya la cantidad de alimentos desechados debido a su degradación y la cantidad de desechos de empaques plásticos cuyo uso, si bien prolonga la vida útil de los alimentos frescos, genera un desecho desmesurado de recipientes plásticos no biodegradables.

Partiendo de esta necesidad, se evalúa principalmente el efecto que un extracto de alicina tendría sobre las frutas y verduras de consumo diario y como este componente podría servir de conservante para inhibir el crecimiento de hongos patógenos y prolongar la vida útil de los alimentos.

Para la extracción de la alicina, teniendo en cuenta sus características físicas y químicas se selecciona el método de extracción de la maceración y una solución etanol-agua (20-80) como solvente y se realiza una evaluación de la relación ajo-solvente a manejar fijando el solvente en 100mL, como variable de respuesta se tiene el halo de crecimiento de un hongo ambiental aislado desde una muestra de fresas.

Al determinar la mejor relación ajo-solvente, se hace una réplica de extracto para evaluarlo sobre una muestra de fresas. Mediante un registro fotográfico diario se determina la forma como el extracto actúa sobre las muestras orgánicas y se determina si hay una inhibición efectiva y el cambio en las propiedades organolépticas del material.

¹⁸ PINZÓN, H. El cultivo del ajo. Bogotá D.C.: Produmedios, editorial para el sector agropecuario, 2009. p.7

¹⁹ BENDER, D.; BÁRCENAS, M. E. El ajo y sus aplicaciones en la conservación de alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 2013, vol. 7, no 1, p. 25-36

²⁰ CANTWELL, Marita. Alliin in garlic. *Perishables Handling Q*, 2000, vol. 102, p. 5-6.

Con base en el desarrollo del extracto se establece una escalación teniendo como base de cálculo 125L de extracto de alicina que abastecerán semanalmente a los locales de comercio de frutas y verduras del barrio J. Vargas y se realizan los balances de masa para determinar las dimensiones que tendrían lo equipos a escala industrial realizando las especificaciones técnicas del proceso.

Una vez determinadas las especificaciones técnicas del proceso se realiza un análisis de costos que implica el costo de mano de obra, de las materias primas, de los servicios auxiliares, así como el costo de adquisición de los equipos para poder determinar la inversión inicial del proyecto.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluación de la obtención de un conservante de alimentos natural basado en extractos naturales obtenidos del ajo como la alicina

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener el extracto de alicina partiendo de la especie *Allium Sativum*.
- Determinar el efecto del extracto sobre un cultivo fúngico ambiental y directamente sobre unas muestras de frutas.
- Establecer las especificaciones técnicas del proceso.
- Realizar el análisis de costos del proceso.

1. MARCO TEÓRICO

El presente capítulo expone los fundamentos de la conservación de alimentos y su importancia histórica ya que es de vital importancia reconocer el estado actual del campo en el cual se va a participar para desarrollar de forma satisfactoria los objetivos del proyecto.

1.1 LA CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS

La conservación de alimentos involucra los procesos y tratamientos realizados a los alimentos con el fin de evitar o detener considerablemente el deterioro causado o acelerado por microorganismos o por el metabolismo de los alimentos como la oxidación de los lípidos que causan el enranciamiento.²¹

Hoy en día existen diversos métodos, muchos de ellos causan bien sea un desecho que no se puede reutilizar o un residuo químico en el alimento que progresivamente puede deteriorar la salud como es el caso de los nitratos utilizados para la conservación de carnes que consumido en grandes cantidades es potencialmente cancerígeno²². Es por ello por lo que se desea tener un mapa de qué es la conservación de alimentos y como ha ido evolucionando para hacer un diagnóstico de cómo está actualmente.

A continuación, se exponen algunos antecedentes históricos para reconocer la evolución en la conservación de alimentos:

²¹ ABDULMUMEEN, Hamid A., et al. Food: Its preservatives, additives and applications. En: *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 2012, vol. 1, no 2012, p. 36-47.

²²FERRÚS, Isabel Ferrandis; GÓMEZ, Javier García; FERNÁNDEZ, José Martínez. *¿ A dónde va el agua?*. Universitat de València, 2001. {en línea} disponible en: https://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/salud_5af065353fdd8_contaminacion_nitratos5.pdf

1.1.1 Antecedentes históricos. La conservación de alimentos data de los inicios de la evolución humana en el Neolítico, cuando se empezaba a desarrollar la agricultura y la población aumentaba surgió la necesidad de almacenar grandes cantidades de alimentos para tiempos de escasez partiendo de dicha necesidad se empezaron a desarrollar métodos como el secado, el ahumado y el salado.²³ Para el secado, por medio de ensayo error se disponían frutas o carnes al sol y al aire y se guardaban en la noche, el proceso se hacía por días hasta que los alimentos alcanzaban ciertas características. Se usaba el ahumado con las carnes y gracias al uso y manipulación del fuego, se exponía la carne por horas al humo proveniente de una fogata, esto le aportaba a la carne, así como un sabor más fuerte, una prolongación de la vida, lo mismo que pasaba con el salado. En ciertas regiones, donde se alcanzaban temperaturas bajas durante el invierno y era imposible alimentar y conservar al ganado, al llegar el invierno se eliminaba el ganado y el mismo frío permitía que el alimento se mantuviera conservando sus ventajas durante meses.²⁴ Los sistemas más avanzados de refrigeración consistían en jarrones de arcilla donde se trabaja el enfriamiento por aire circundante o con la misma temperatura de subsuelo.²⁵

Hasta el siglo XVII, los avances en la conservación de alimentos fueron muy limitados, después de este siglo una serie de desarrollos científicos como la observación de microorganismos, la estequiometría de la fermentación alcohólica y el conocimiento acerca de la combustión del oxígeno permitieron un avance de los sistemas de conservación de alimentos:

A finales del siglo XVIII Nicolás Appert, un pastelero que vivía en las proximidades de París empezó a utilizar el calor sobre recipientes cerrados, proceso que permitió conseguir una conservación prolongada de los alimentos. El sistema de conservación se basaba en cuatro puntos:

- 1) Introducir en botellas o tarros el material que se quería conservar
- 2) Tapar los recipientes
- 3) Someter los tarros cerrados a la acción del agua hirviendo durante un tiempo variable.
- 4) Retirar los tarros en el tiempo prescrito.

Appert murió olvidado en 1841 y fue Durand quien patentó el uso de recipientes de cristal, lata, cerámica, etc. para su uso en la conservación de alimentos. Antes de él el Italiano Lázaro Spallanzani había descubierto que los microorganismos no

²³ Ministerio de educación Presidencia de la nación. (2010). *Alimentos: Historia, presente y futuro*. Buenos Aires: Escritura en ciencias

²⁴ SALAS-SALVADÓ, Jordi; LORDA, Pilar García; RIPOLLÉS, José Ma Sánchez., et al. *La alimentación y la nutrición a través de la historia*. Barcelona: Editorial Glosa, SL, 2005. p. 200

²⁵ UCAarg (Dirección). (2012). *Conservación de Alimentos - UCA* [Película]. Obtenido de https://www.youtube.com/watch?v=_9QUXbk7RnQ&feature=youtu.be

aparecían tras la ebullición de la materia a altas temperaturas. Posteriormente, el sobrino de Appert, Raymond-Chevalier inventó el autoclave, aparato indispensable para acelerar la esterilización de los alimentos.²⁶

Los avances desarrollados por Appert pese a su impacto y fundamento no habían sido desarrollados con una justificación científica específica, pero en la misma época que él desarrollaba los sistemas enlatados, Louis Pasteur, estudiando la conservación de las bebidas alcohólicas relacionó las transformaciones orgánicas con la existencia de microorganismos causantes de dichas transformaciones, de esta manera desmintió un hecho que durante 2000 años se había pensado, el cual indicaba que la vida se generaba de forma espontánea, mediante un experimento en el que usó caldo en dos recipientes uno con filtros y el otro expuesto demostró que la comida se pudría a raíz de la contaminación de los microorganismos presentes en el aire. En 1863 después de haber llevado a cabo una serie de experimentos con el vino, Pasteur descubrió que si se calentaba a 55°C se extinguían las bacterias encargadas de agriar la bebida sin arruinar su sabor, de esta manera se desarrolló lo que hoy en día se conoce y lleva su nombre "Pasteurización"²⁷

Entre 1840 y 1860 la fabricación de equipos frigoríficos se generaliza y el hielo artificial empieza a estar presente masivamente a nivel industrial en donde se aprovecha en el almacenamiento en el sector cárnico para la exportación de carne de ganado poniéndose en marcha los mataderos frigoríficos, en el sector cervecero experimentando las fermentaciones a bajas temperaturas, entre otros sectores. Para el siglo XX, el frío industrial se extiende a la práctica siendo extremadamente inusual encontrar industrias que no utilice en mayor o menor medida estos equipos²⁸

El siglo XX supone un avance científico continuo, entre ellos, el desarrollo de la radioactividad. En la segunda guerra mundial se irradiaban alimentos como frutas y verduras a dosis muy bajas, de igual forma, gracias a los avances en el campo de la biología y la microbiología, se empiezan a desarrollar los empaques de atmósferas modificadas en los cuales se reduce el contenido de oxígeno para así reducir la respiración de los alimentos y su deterioro. Dichos avances combinan tratamiento de frío para evitar la alteración de los alimentos el mayor tiempo posible.

²⁶ SILVA PRADA, N. Los enlatados y la guerra. En: *El Tiempo*. Bogotá. 2016 {en línea}{30 de octubre 2019} disponible en (<http://blogs.eltiempo.com/love-cooking-love-history/2016/04/29/los-enlatados-y-la-guerra/>)

²⁷ BBC News. El brillante Louis Pasteur, más allá de la pasteurización. BBC. 2015. {en línea} {10 de noviembre 2019} disponible en (https://www.bbc.com/mundo/noticias/2015/08/150707_iwonder_louis_pasteur_guerra_contra_germenes_finde_dv)

²⁸ SALAS, op. Cit. p. 450

De igual forma, en el siglo XX a partiendo del proceso de pasteurización desarrollado por Louis Pasteur, se empiezan a desarrollar las tecnologías de altas presiones y de aplicación de calor en tiempos muy cortos UHT para la eliminación de microorganismos sin producir alteraciones notables en los contenidos nutricionales ni en las propiedades organolépticas de los alimentos.²⁹

Esta serie de desarrollos tecnológicos han sentado las bases de los métodos de conservación actuales que se dan a conocer a continuación:

Para aplicar los métodos de conservación se deben reconocer las diferentes causas del deterioro de los alimentos y su posible prevención. Las causas involucran agentes físicos, químicos y biológicos.

1.1.2 Agentes físicos. Los agentes físicos se incorporan a los alimentos debido a las prácticas de manipulación e higiene, estos agentes causan accidentes ligados al consumo de alimentos.³⁰ Por sí mismos no alteran las características nutricionales del alimento, pero sí su palatabilidad y pueden significar una vía de entrada de otras alteraciones. Se caracterizan:

1.1.1.1 Daños mecánicos. Implican golpes, cortes en general sin alteraciones graves que igualmente implica una disminución de la vida útil del alimento.

1.1.1.2 Temperatura. Considerando que las actividades enzimáticas doblan su velocidad cada 10°C, la temperatura acelera los procesos de descomposición y propicia el crecimiento microbiológico.

1.1.1.3 Humedad. Así como la temperatura, la humedad facilita el crecimiento de microorganismos, involucra tanto la humedad del ambiente como el contenido de humedad propio del alimento.

1.1.1.4 Condiciones ambientales. Incluye el aire, la luz, entre otros. El aire por contener oxígeno altera algunas proteínas, facilita la oxidación y produce reacciones que involucra cambios de color en el alimento. Por otro lado, la luz afecta el color y el desarrollo de algunas vitaminas.³¹

²⁹ SALAS, óp. Cit. p. 461

³⁰ FAJARDO, Isabel García. *Alimentos seguros*. Ediciones Díaz de Santos, 2008, 100p.

³¹ JULIARENA, P.; GRATTON, R. Capítulo 3. Conservación de los alimentos. Tecnología, Ambiente y Sociedad. UNICEN {en línea} {13 de julio de 2020} disponible en: <http://www.exa.unicen.edu.ar/catedras/tecnoambiente/CAP03.pdf>

1.1.3 Agentes químicos. Se manifiestan especialmente durante los procesos de almacenamiento del alimento. Puede afectar de forma notable las propiedades del alimento. Se puede generar debido a la contaminación medio ambiental, así como debido a las reacciones bioquímicas de los mismos alimentos originadoras del enranciamiento, pardeamiento, etc.

1.1.3.1 Reacción de Maillard. Es una serie de reacciones complejas entre los azúcares y los compuestos nitrogenados que genera pigmentos marrones en los alimentos. La reacción se ha considerado como la descomposición o polimerización del carbohidrato por una pequeña proporción molecular de aminoácidos.³²

1.1.3.2 Enranciamiento de lípido. Se produce por reacciones de hidrólisis y oxidación formando compuestos volátiles que dan olores y sabores característicos. El oxígeno, tiene acción directa sobre los doble enlaces de los ácidos grasos insaturados con la consecuente producción de compuestos peroxídicos.³³

1.1.4 Agentes biológicos. Los agentes que generan un mayor impacto sobre los alimentos son los de carácter biológico. Involucra los factores extrínsecos como las bacterias, los hongos, los virus, los parásitos, entre otros factores.³⁴

Reconociendo los diferentes agentes involucrados en el deterioro de los alimentos, se desarrollan los diferentes métodos de conservación utilizados actualmente:

1.1.5 Métodos de conservación de alimentos. Dentro de los métodos de conservación de alimentos se encuentran el uso de la temperatura, la esterilización, pasteurización, congelación, refrigeración y demás; los cuales, se explican a detalle a continuación:

1.1.5.1 Uso de la temperatura. Manejando las distintas temperaturas, se establecen métodos que conllevan bien sea a la inhibición del crecimiento de los microorganismos o a su destrucción.

1.1.5.2 Esterilización. La esterilización se aplica a los alimentos que tienen un pH mayor a 4.5. Consiste en colocar un alimento en un recipiente y someterlo a temperaturas superiores a los 100°C durante un tiempo considerable. La

³² ELLIS, G. P. The maillard reaction. En: *Advances in carbohydrate chemistry*. Vol 14, (May, 1959). p. 63-134.

³³ MARTÍNEZ DE LA CUESTA, P. J.; RUS MARTÍNEZ, E.; GALDEANO CHAPARRO, M. Enranciamiento oxidativo de aceites vegetales en presencia de α -tocoferol. En: *Grasas y aceites*. Vol, 46. No (Jul, 1995). p. 349-353

³⁴ JULIEARIENA, op. cit. p 4

esterilización podría afectar ciertas características ya que se destruyen componentes termolábiles como vitaminas.

1.1.5.3 Pasteurización. Así como la esterilización, la pasteurización maneja altas temperaturas, sin embargo, la temperatura alcanzada va hasta los 72°C e inmediatamente después de que se alcanza dicha temperatura, se enfría rápidamente a 4°C. La pasteurización está enfocada a productos ácidos cuyo pH es inferior a 4.5.

1.1.5.4 Congelación. Es una tecnología aplicada en su mayoría a frutas, verduras y alimentos derivados de animales, se relaciona con la disminución de la actividad fisicoquímica y bioquímica del alimento, la disminución de las reacciones enzimáticas y no enzimáticas debido a que a temperaturas por debajo de los 18°C el crecimiento microbiano se ve detenido y los alimentos retienen en su mayoría su valor nutritivo y atributos de calidad originales.³⁵

1.1.5.5 Refrigeración. La refrigeración trabaja también a bajas temperaturas, pero no por debajo de las temperaturas de congelación de los productos. Evita el crecimiento de microorganismos termófilo y de muchos mesófilos.

Considerando que la congelación y la refrigeración no destruyen los microorganismos, es importante que se mantenga una cadena de frío sobre el producto para así asegurar una correcta conservación. Si la temperatura desciende de un determinado valor, se produce en los alimentos cambios indeseables conocidos como daños por frío.

1.1.5.6 Modificación de la cantidad de agua. Los alimentos que contienen poca cantidad de agua como las semillas, tiene una vida más prolongada, esto se debe a que la mayoría de los procesos de un ser vivo se realizan en medio acuoso o utilizando agua como parte de las reacciones. La reducción de la cantidad de agua estabiliza al alimento frente a la actividad nociva de enzimas y microorganismos.³⁶

Secado. El secado en los alimentos, también conocido como deshidratación consiste en la extracción deliberada de agua por medios físicos. El agua contenida

³⁵ GÓMEZ-SÁNCHEZ, A. I., et al. Aspectos tecnológicos de la congelación en alimentos. En: *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, vol. 1, (ene, 2007) p. 80-96.

³⁶ JULIEARIENA, op. cit. p 4

en un alimento se transfiere a una fase fluida que lo rodea debido a los gradientes de actividad de agua (A_w)³⁷

1.1.5.7 Liofilización. Se define como el proceso en el cual el alimento se somete a una ultracongelación y a dos procesos de desecación con el fin de conservar sin daño los alimentos reduciendo las pérdidas de los compuestos responsables del sabor y el aroma en los alimentos

1.1.5.8 Conservantes. Los conservantes de alimentos o aditivos son sustancias que intencionalmente se les añaden a los alimentos con fines tecnológicos en cantidades controladas para conservar la calidad nutritiva del alimento y propiciar la muerte de los microorganismos que causan el deterioro de los alimentos o evitar su crecimiento. Estas sustancias deben estar bien caracterizadas químicamente y deben superar controles toxicológicos propios de cada territorio³⁸.

En la actualidad se intenta reducir en lo posible la adición de conservantes en los alimentos debido al efecto nocivo de algunas sustancias para la salud humana, se intenta sustituirlos por medios de conservación físicos como la esterilización o las atmósferas modificadas o por sustancias químicas de carácter natural como los ácidos orgánicos.³⁹

1.1.5.9 Empaques (atmósferas modificadas). El empaque de atmosfera modificada es un tipo de empaque en el cual se remueve el aire del empaque y se reemplaza por una mezcla de gases que dependen del tipo de producto⁴⁰.

Una de las formas de empaque es el empaque al vacío en donde el producto se envuelve una película de baja permeabilidad al oxígeno, se evacua todo el aire y se sella el empaque, esto permite que la presión alrededor del producto sea mucho menor que la atmosférica. En ocasiones este proceso es complementado con la adición de gases como el hidróxido de calcio con una humedad relativamente alta el cual reacciona con el dióxido de carbono producido por los procesos metabólicos de los microorganismos y produce carbonato de calcio lo que inhibe simultáneamente los procesos metabólicos.⁴¹

³⁷ FITO MAUPOEY, Pedro. *Introducción al secado de alimentos por aire caliente*. 2001.

³⁸ IBÁÑEZ, F.; TORRE, Paloma; IRIGOYEN, Aurora. Aditivos alimentarios. En: *Área de Nutrición y Bromatología, Universidad Pública de Navarra*, 2003, p. 3-5.

³⁹ *Ibíd.*, p. 2

⁴⁰ PARRY, R. T. (ed.). *Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods*. United Kingdom: Springer Science & Business Media, 2012. p. 15, 16, 17

⁴¹ *Ibíd.*, p. 16

Teniendo un panorama detallado de los métodos de conservación actuales se puede dar a conocer el mercado sobre el cual se hará el respectivo análisis y, por tanto, se hace necesario reconocer cada una de las materias primas, los métodos y materiales que se utilizarán para el desarrollo experimental:

1.2 ESPECIE ALLIUM SATIVUM

La especie *Allium Sativum* conocida comúnmente como ajo, ha estado presente en el desarrollo de la humanidad desde hace 5000 años. Se afirma que es originario de Turkestán, límite con China, Afganistán e Irán donde se distribuyó hacia el este a China e India, hacia el oeste al norte del continente Europeo y hacia las costas del mar mediterráneo, esta dispersión dio lugar a que hoy en día el existan numerosos cultivares permitiendo que crezca en casi todas las regiones del mundo en zonas templadas, subtropicales y tropicales permitiendo una clasificación de los tres grandes grupos de ajo: asiáticos, continentales y mediterráneos⁴².

El ajo llega a América desde España en la época de la conquista, siendo los ajos de tipo mediterráneo los que se empiezan a cultivar, por ende, todos los materiales cultivados hoy en día de ajo pertenecen al grupo de los rosados y su cultivo se ha desarrollado en las regiones del Altiplano Cundiboyacense, altiplano de Nariño y Montaña Santandereana⁴³. En los últimos años el área cultivada con ajo oscila entre las 300 hectáreas las cuales producen 3.000 toneladas anuales. La producción de ajo no logra cubrir la demanda interna por lo tanto se importan alrededor de 24.000 toneladas anuales, toneladas que en su mayoría provienen del mercado de China, ya que este país es el líder mundial en la producción de ajo con el 56% de la superficie mundial cultivada, es decir, cerca de 1.000.000 de hectáreas. Es por ello por lo que hoy en día en el mercado actual encontramos dos variedades de ajo el morado nativo, y el blanco asiático⁴⁴

El ajo, no brota de una semilla sino de dientes individuales. La planta de ajo tiene una altura de 40 a 60cm. El bulbo está compuesto de 7 a 30 bulbillos o dientes. Su tallo floral termina en inflorescencia llamada umbela de color rosado. La raíz es superficial, nace en una base de los dientes y durante el cultivo se encuentra a una profundidad de 30cm.⁴⁵

⁴² PINZÓN, H. El cultivo del ajo. Bogotá D.C.: Produmedios, editorial para el sector agropecuario, 2009. p.7

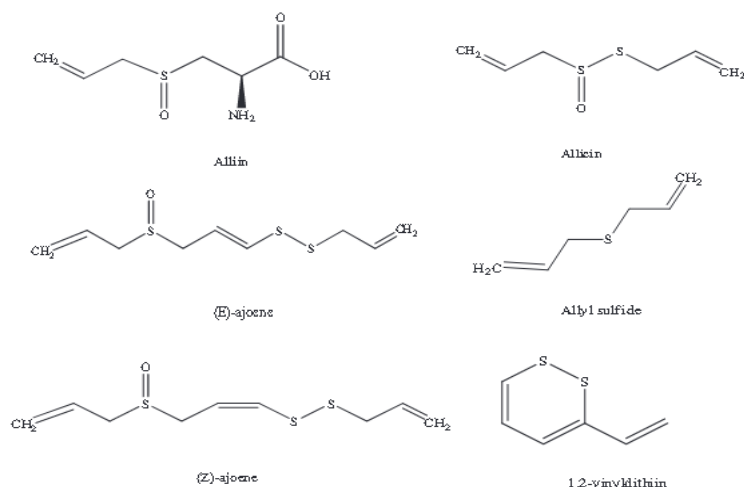
⁴³ TERÁN-QUIROGA, Oscar. El cultivo del ajo. Bolivia: *Plural Editores. Administración Departamental de Potosí. Proyecto de Desarrollo Agropecuario*, 1997. p 10.

⁴⁴ PINZÓN, op. cit. p 10

⁴⁵ PINZÓN, op. cit. p 14

El ajo fresco presenta distintos componentes entre los cuales destaca el agua, los carbohidratos, compuestos azufrados, fibra y aminoácidos libres. Tiene altos niveles de vitamina A y C, un alto contenido de compuestos fenólicos, polifenoles y Fito esteroides.⁴⁶ Contiene alrededor de 33 componentes azufrados, varias enzimas, 17 aminoácidos y algunos minerales que contribuyen a la actividad microbiana característica. Entre los principales compuestos azufrados se encuentra la alina, la alicina, el ajoene, el trisulfuro de dialilo, la salicisteína, los di sulfuros de alipropilo, entre otros. Entre las enzimas más importantes tiene la alinasa, la peroxidasa, y la mirosinasa. Los aminoácidos y glucósidos que contiene como la arginina también influyen de manera importante en su actividad antimicrobiana al igual que el selenio, el germanio, el telurio y las trazas de otros minerales. Sin embargo, el compuesto biológico y componente funcional del ajo viene siendo la alicina⁴⁷

Ilustración 1. Diferentes compuestos del ajo



Fuente: MARTINS, Natália; PETROPOULOS, Spyridon; FERREIRA, Isabel CFR. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre-and post-harvest conditions: A review. *Food chemistry*, 2016, vol. 211, p. 41-50.

Diversos estudios han identificado que dentro del ajo se encuentra un componente sulfurado natural denominado Alicina (tiosulfato de dialilo) con peso molecular aproximado de 162g/mol. Este componente parte de la interacción entre la enzima ali-alquil-sulfonato-liasa aislada y la alina (un aminoácido no proteico S-alilcisteína

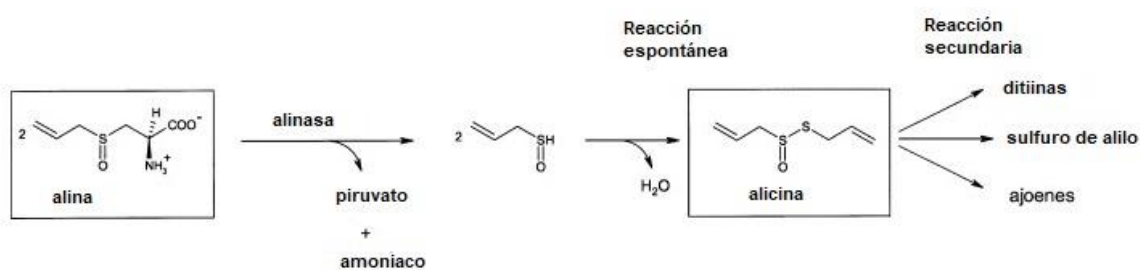
⁴⁶ BENDER, D.; BÁRCENAS, M. E. El ajo y sus aplicaciones en la conservación de alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 2013, vol. 7, no 1, p. 25-36.

⁴⁷ *Ibíd*, p. 4

S-óxido). La enzima alinasa es una glucoproteína homodimérica que comprende entre el 10 y el 12% de las proteínas solubles de cada diente de ajo, se encuentra de forma natural en las vacuolas y es físicamente separada de su sustrato natural alina en el citosol al vulnerar los dientes de ajo lo que sugiere que es un sistema de defensa primitivo de la planta⁴⁸.

Cada subunidad de alinasa consta de 448 aminoácidos que representan un peso molecular de 51500 molar. Con su actividad C-S liasa es capaz de adherirse a los enlaces de $C_{\beta}-S_{\chi\delta}$ dando así origen a los diferentes componentes organosulfurados del ajo responsables de la mayoría de las propiedades del ajo.⁴⁹

Ilustración 2. Reacción de Alina con la enzima alinasa



Fuente: KUETTNER, E. Bartholomeus; HILGENFELD, Rolf; WEISS, Manfred S. Purification, characterization, and crystallization of alliinase from garlic. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2002, vol. 402, no 2, p. 192-200.

Por otro lado, la alicina fue aislada e identificada en 1944 como el componente responsable por la actividad antibacterial y antifúngica del ajo. Esta volátil molécula es pobremente soluble en agua y le otorga al ajo su olor característico. El contenido de alina (S-alil-sulfóxido de cisteína) en el ajo puede variar considerablemente dependiendo de la variedad de ajo que se use y a las prácticas de producción del ajo, se muestra que a niveles más bajos de riego de los cultivos se tiene un ajo con menor concentración de alina. La alina y la enzima alinasa son bastante estables con el calor al igual que cuando se secan por lo cual, los polvos secos pueden ser usados potencialmente para preservar la actividad biológica del ajo, sin embargo, esto inhibe la producción de la alicina, por lo cual es más conveniente hacer la extracción de este metabolito funcional con ajos frescos.⁵⁰

⁴⁸ KUETTNER, E. Bartholomeus; HILGENFELD, Rolf; WEISS, Manfred S. Purification, characterization, and crystallization of alliinase from garlic. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2002, vol. 402, no 2, p. 192-200.

⁴⁹ *Ibíd*, p. 2

⁵⁰ CANTWELL, Marita. Alliin in garlic. *Perishables Handling Q*, vol. 102, (May, 2000) p. 5-6.

Para poder obtener un extracto del biocompuesto llamado alicina se hace necesario reconocer los mecanismos de extracción y las variables involucradas en la extracción sólido-líquido lo cual se expone a continuación

1.3 MECANISMO DE EXTRACCIÓN

La importancia del método de extracción radica en el rendimiento del extracto. Se busca un método que, con un bajo costo operativo, genere un extracto con un alto porcentaje de alicina, así como la facilidad del mecanismo de extrapolarse a una escala piloto.

Siendo una extracción sólido - líquido la que se manejaría, es necesario hacer una buena elección del solvente, por ello es necesario tener un conocimiento de las diferentes fuerzas que se presentan en la interacción entre ellos para hacer una elección adecuada del solvente.

1.3.1 Interacciones soluto-solvente. Cabe resaltar que las interacciones que se presentan entre las especies en una solución son bastante fuertes para poder ser definidas por la ley cinética de los gases pero no se pueden definir por las leyes de físicas del estado sólido ya que el solvente no es un medio en el cual el soluto se difunde para distribuirse de forma aleatoria ni posee una estructura ordenada y cristalina.⁵¹

1.3.1.1 Fuerzas intermoleculares. Las fuerzas intermoleculares también conocidas como fuerzas de Van der Waals pueden ocurrir entre moléculas de capa cerrada. Se caracterizan por tres aspectos importantes. El primero radica en que son fuerzas de amplio rango efectivas desde distancias muy amplias a nivel atómico (>50 nm). También son fuerzas que pueden ser tanto repulsivas como atractivas, no se definen por una ley de poder ya que una fuerza puede ser atractiva a una larga distancia, pero repulsiva a una distancia más corta, finalmente, las fuerzas entre dos átomos o moléculas son inusualmente acompañadas por un fuerza de torque, es decir, estas fuerzas no solo atraerán a dos átomos sino que también tenderán a alinearlos mutuamente como sea más conveniente⁵².

Son clasificadas en dos diferentes categorías. La primera categoría comprende las llamadas fuerzas direccionales, de inducción y de dispersión las cuales no se pueden saturar. La segunda consiste en fuerzas de enlaces de hidrógeno y fuerzas

⁵¹ REICHARDT, Christian; WELTON, Thomas. *Solvents and solvent effects in organic chemistry*. John Wiley & Sons, 2011.

⁵² ISRAELACHVILI, Jacob N. The nature of van der Waals forces. *Contemporary Physics*, 1974, vol. 15, no 2, p. 159-178.

de transferencia de carga o par donante-receptor de electrones las cuales pueden ser saturadas y conducir compuestos moleculares estequiométrico⁵³

. Las interacciones de Van der Waals son uniones de tipo dipolo-dipolo y de carácter electrostático y se pueden clasificar en dos tipos de acuerdo a la naturaleza de los dipolos⁵⁴

- Fuerzas Dipolo-Dipolo: También conocidas como Fuerzas de Keesom son las frecuentes e intensas ya que se establecen entre moléculas polares que se orientan a sí mismas de tal manera que se enfrentan los polos de signo contrario de las moléculas contiguas. Estas fuerzas serán más intensas cuanto mayor sea la polaridad de las moléculas y cuanto mayor sea el tamaño de los átomos que la constituyen⁵⁵
- Fuerzas Dipolo inducido-Dipolo: Se presenta cuando interaccionan moléculas polares y apolares. el dipolo eléctrico de una molécula que posee un momento dipolar permanente puede inducir un dipolo momentáneo en moléculas contiguas⁵⁶. El campo de Coulomb de una molécula con momento dipolar causará que los electrones de un átomo neutro sean ligeramente desplazados hacia las cargas positivas del dipolo, los átomos contiguos sufrirán por ende un dipolo inducido. The Nature of van der Waals forces.⁵⁷ El momento dipolar inducido será entonces mayor cuanto mayor sea la polarización de la molécula apolar que experimenta la inducción del dipolo permanente, y cuánto.⁵⁸

1.3.1.2 Fuerzas de dispersión de London. Son las fuerzas que experimentan las moléculas apolares ya que debido al continuo movimiento de los electrones en los átomos en cualquier instante se puede presentar un pequeño momento dipolar entre las moléculas⁵⁹. La magnitud de esta fuerza aumenta con el tamaño de las moléculas ya que, cuanto mayor es el tamaño, los electrones están más lejos del núcleo y por ende más fácilmente polarizable es la molécula.⁶⁰ Este tipo de fuerzas se ve beneficiada por bajas temperatura, pues los movimientos de reordenación de

⁵³ REICHARDT, op. cit. 25

⁵⁴ MARTÍNES, J; IRIONDO, C. Tema 5. Fuerzas Intermoleculares. Interacciones de Van der Waals. Enlace de hidrógeno. Fuerzas intermoleculares y propiedades físicas. Aplicaciones a sistemas biológicos. {en línea} {1 de enero 2020}. Disponible en: (https://ocw.ehu.eus/pluginfile.php/8876/mod_resource/content/1/TEMA_5_v5.pdf)

⁵⁵ REICHARDT, op. cit. 30

⁵⁶ REICHARDT, op. cit. 25

⁵⁷ DZYALOSHINSKII, Igor E.; LIFSHITZ, Efrat M.; PITAEVSKII, Lev P. The general theory of van der Waals forces. *Advances in Physics*, 1961, vol. 10, no 38, p. 165-209.

⁵⁸ REICHARDT, op. cit. 25

⁵⁹ REICHARDT, op. cit. 25

⁶⁰ MARTÍNES, op. cit. 6

las moléculas serán más lentos de manera que un dipolo instantáneo tiene tiempo para inducir otro dipolo en una molécula cercana y así sucesivamente.⁶¹

1.3.1.3 Puentes de hidrógeno. Ocurre entre moléculas polares que contiene hidrógeno y alguno de estos elementos, Nitrógeno, Oxígeno o Flúor. Sucede cuando los átomos de hidrógeno de una molécula se enfrentan con los átomos que contienen una carga parcial negativa de la otra molécula.⁶² Los átomos de hidrógeno, en virtud de su tamaño a menudo se comparten entre ciertos átomos lo que resulta en una atracción efectiva entre esos dos átomos. Por ejemplo, en la molécula de agua, los átomos de hidrógeno se comparten entre los oxígenos y son responsables de la estructura de está permitiendo que a temperatura ambiente la molécula exista en estado líquido ya que una molécula tan ligera como el agua debería tener un punto de ebullición por debajo del cero y también son responsables que el hielo flote en agua ya que hacen la molécula de agua sólida más ligera que la líquida y son los responsables de la estructura helicoidal en el ADN.⁶³

La alicina experimenta una degradación en forma rápida permitiendo la transformación de ésta en nuevos compuestos organosulfurados: la vida promedio de alicina en 1 mM de ácido cítrico con un pH de 3 es de 10 días, 4 días en agua, 30h en diclorometano, 48h en metanol o cloroformo, 24h en etanol o acetonitrilo, 3h en éter y 2h en ciclohexano y 16 h en la ausencia de solventes. La alicina es una especie de aceite el cual es parcialmente soluble en agua y hexano, cerca de 1 al 2% y es muy soluble en la mayoría de los solventes orgánicos.⁶⁴

Las diferentes fuerzas explican la interacción existente entre el soluto y el solvente en el momento de hacer la extracción. Cuanto más compatible sea el soluto con la alicina, más fuerte será la interacción entre las moléculas del solvente y se tendrá un mejor rendimiento. Con base en dichos parámetros se evalúan los siguientes solventes:

1.3.2 Solventes. En un sentido variable, las soluciones son fases líquidas homogéneas que consisten en más de una sustancia en proporciones variables en donde la sustancia conocida como el solvente interactúan con las otras sustancias denominadas solutos.

⁶¹ MARTÍNES, op. cit. 8

⁶² REICHARDT, op. cit. 30

⁶³ LAWSON, Larry D. Bioactive organosulfur compounds of garlic and garlic products: role in reducing blood lipids. Chicago: American Chemical Society 1993. p. 303-330

⁶⁴ Ibíd, p 25

De acuerdo con estas interacciones hay solventes altamente estructurados y poco estructurados. Las interacciones que se presentan entre las especies en una solución son bastante fuertes para poder ser definidas por la ley cinética de los gases, pero no se pueden definir por las leyes de físicas del estado sólido ya que el solvente no es un medio en el cual el soluto se difunde para distribuirse de forma aleatoria ni posee una estructura ordenada y cristalina⁶⁵.

1.3.2.1 Agua. Cada molécula de agua puede potencialmente formar 4 puentes de hidrógeno con otras tantas moléculas de agua dando lugar a una estructura tetraédrica reticular relativamente ordenada. La conformación del agua permite que posea una gran cohesividad intermolecular condicionando su alto punto de ebullición, de fusión y elevado calor específico. El carácter transitorio de los puentes de hidrógeno que se forman y rompen continuamente, permite la movilidad de las moléculas. contribuyendo a que el agua sea líquida a temperatura ambiente y le confieren una resistencia estructural. El pequeño tamaño, la naturaleza polar de sus enlaces H-O, su estructura angular y su ya dicha capacidad para formar puentes de hidrógeno convierte a el agua en el líquido que más sustancias disuelve, por ello es reconocida como el disolvente universal.⁶⁶

Las moléculas de agua son polares con cargas parciales positivas en los hidrógenos, una carga parcial negativa en el oxígeno y una estructura general angular. Con componentes aniónicos que tengan átomos de oxígeno puede formar dichos puentes dado que el oxígeno actúa como aceptor de los mismo.⁶⁷

1.3.2.2 Metanol. El metanol, en condiciones normales es un líquido incoloro, volátil e inflamable con un ligero olor alcohólico, es miscible en agua, alcoholes, ésteres, cetona, entre otros solventes. Es un líquido altamente venenoso y nocivo para la salud. Sus vapores son sustancias muy inflamables que al contacto con el aire pueden llegar a ser muy explosivos.

Su estructura química es muy similar a la del agua con la diferencia de que el ángulo del enlace C-O-H en el metanol es un poco mayor que el del agua (108°C), debido a ello tienen propiedades semejantes por la existencia del grupo hidroxilo que puede formar puentes de hidrógeno permitiendo que sea un buen disolvente de sustancias

⁶⁵ REICHARDT, op. cit. 30

⁶⁶ AZCONA, Á.; FERNÁNDEZ, M. Capítulo 3 Propiedades y funciones biológicas del agua. {en línea}. {20 agosto de 2019} disponible en: (<https://www.ucm.es/data/cont/docs/458-2013-07-24-Carbajal-Gonzalez-2012-ISBN-978-84-00-09572-7.pdf>)

⁶⁷ BORLINGHAUS, Jan, et al. Allicin: chemistry and biological properties. *Molecules*, 2014, vol. 19, no 8, p. 12591-12618.

polares pudiéndose disolver sustancias iónicas como el cloruro de sodio en cantidades apreciable.

Está presente de forma natural en el ser humano, siendo elemento constitutivo de la sangre, la orina, la saliva, el aire expirado. Proviene de la de la alimentación a partir de frutas, hortalizas frescas, bebidas fermentadas y alimentos de dieta y de los procesos metabólicos. Los efectos que tiene en la salud humana dependen de la cantidad y del tiempo de exposición. La ingesta de grandes cantidades (de 10.3 a 200 mililitros) ha causado la muerte en seres humanos.

En su mayoría, se usa en la producción de formaldehído, ácido acético, cloro metano, como disolvente y anticongelante en pinturas, limpiadores para carburadores y compuestos para limpiar parabrisas de automóviles. Es un sustituto potencial de petróleo, teniendo un mayor potencial de uso como combustible ya que genera menor cantidad de ozono.⁶⁸

1.3.2.3 Etanol. Es un líquido transparente, subproducto natural de la fermentación vegetal. Es una sustancia polar con una función oxhidrilo, es el solvente por excelencia de uso en laboratorio. Es relativamente seguro y disuelve una gran cantidad de solventes orgánicos que son insolubles en agua.⁶⁹ En su composición, el etanol tiene un grupo etilo (C₂H₅) no polar que atrae moléculas no polares y un grupo hidroxilo (OH) que atrae moléculas polares, es el menos tóxico de los alcoholes lo que lo hace adecuado para uso en productos industriales de consumo humano como cosméticos, saborizantes y colorantes.⁷⁰

1.3.2.4 Diclorometano. El diclorometano, también conocido como cloruro de metileno es un compuesto líquido, incoloro, volátil, ligeramente soluble en agua, tiene un alto poder de disolución siendo totalmente miscible en una gran variedad de disolventes. Al tener contacto con superficies calientes o con llamas se descompone formando humos tóxicos y corrosivos. Reacciona violentamente con aluminio, magnesio, sodio, potasio, litio, bases y oxidantes fuertes.

En su mayoría es usado como disolvente para la eliminación y decapado de pinturas y barnices, como desengrasante de metales y se emplea en la elaboración de fármacos y aerosoles.

⁶⁸ INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. IDEAM. Metanol. {en línea}. {20 agosto de 2019} disponible en: (<http://documentacion.ideam.gov.co/>)

⁶⁹ CLARK, Jim. Uses of alcohols. {en línea}. {20 agosto de 2019} disponible en: (<https://www.chemguide.co.uk/organicprops/alcohols/uses.html>)

⁷⁰ BENTLEY, John; TURNER, Gerald Patrick Anthony. *Introduction to paint chemistry and principles of paint technology*. CRC Press, 1997. p 40

La exposición a esta sustancia durante cortos espacios de tiempo puede provocar enrojecimiento en la piel, sensación de quemazón y quemaduras graves en los ojos. Su ingestión puede originar fenómenos de aspiración dentro de los pulmones pudiendo llegar a ocasionar neumonitis química. A elevadas dosis puede provocar pérdida de conocimiento debido a la formación de la carboxihemoglobina la cual impide el transporte de oxígeno en la sangre⁷¹. Las emisiones de este compuesto en el medio ambiente causa efectos nocivos en los seres vivos, contribuye al calentamiento global a la formación del smog fotoquímico y pueden generar radicales libres en la atmosfera dañando la capa de ozono⁷².

1.4 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

La extracción se define como la acción de separar con un líquido una fracción específica de una muestra. Al tratarse de un biocompuesto organosulfurado extraído de un sólido, se utilizan métodos de extracción sólido-líquido en los cuales la alicina entrando en contacto con el solvente será arrastrada y contenida para posterior purificación. Los métodos evaluados son:

1.4.1 Extracción asistida por ultrasonido. La extracción asistida por ultrasonido se basa en el uso de la energía ultrasónica para asegurar una mayor eficiencia en el contacto entre la muestra y el solvente de extracción, permitiendo rápidas extracciones de compuestos orgánicos en matrices líquidas y sólidas, minimizando el volumen de la muestra procesada y la cantidad de solvente.⁷³

Se define ultrasonido como una forma de energía que viaja en ondas de sonido iguales o mayores a 20000 vibraciones por segundo, dichas ondas de alta intensidad permiten que se produzca un cambio permanente en los medios tratados.⁷⁴ Las ondas transmitidas comprimen y estiran el espacio molecular a través de su paso por el medio, a medida que se va atravesando el medio las oscilaciones de la onda varían a las del punto de salida causando una presión negativa a través del medio. La distancia entre las moléculas del medio exceda la mínima distancia molecular requerida para mantener el medio intacto lo que origina

⁷¹ EUROPEAN CHEMICAL AGENCY. ECHA. Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Diclorometano. {en línea}. {20 febrero de 2020} disponible en: (https://echa.europa.eu/documents/10162/13628/corap_justification_200-838-9_it_15235_en.pdf/d1623aff-cd3c-2e17-87b3-a1a378fa7127)

⁷² GONZÁLEZ, Carlos Andrés; BUSTAMANTE, Felipe; DE CORREA, Consuelo Montes. Hidrodechloración catalítica de diclorometano, cloroformo y tetracloroetileno. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, 2006, no 38, p. 73-87.

⁷³ *Ibíd*, p7

⁷⁴ ROBLES-OZUNA, L. E.; OCHOA-MARTÍNEZ, L. A. Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista iberoamericana de tecnología postcosecha*, 2012, vol. 13, no 2, p. 109-122.

que las fuerzas de cohesión se rompan y se cree un vacío denominado Burbujas de cavitación. Las colisiones entre las burbujas de cavitación constituyen la primera fuente de los efectos químicos y mecánicos de la energía de ultrasonido.

La extracción ultrasonido involucra una serie de parámetros que afectan su efectividad, entre ellos se encuentra:⁷⁵

- La frecuencia: Las frecuencias del ultrasonido altas, del orden de los MHz dificulta la producción de burbujas de cavitación, es por ello por lo que la alta frecuencia debe ir junto a una alta intensidad de sonido para asegurarse que las fuerzas de cohesión del medio líquido sean vencidas y se cree el vacío
- La intensidad: La cual es proporcional a la amplitud de la vibración de la fuente de ultrasonido. Un aumento en la amplitud de vibración producirá un incremento en la intensidad de vibración aumentando el efecto fotoquímico.
- El solvente: Debe ser mínimamente inhibitorio. Cuanto mayor sea su viscosidad y tensión superficial será más difícil la obtención de las burbujas de cavitación.
- Temperatura: La cavitación se obtiene mejor a bajas temperaturas con la generación del ultrasonido constante. Cuando la temperatura
- Tiempo de extracción: Tiempos mayores al óptimo causa una reducción en las recuperaciones obtenidas, probablemente por la degradación del compuesto o a degradación del solvente, causada por las ondas ultrasonido.

Las ondas ultrasónicas de elevada intensidad trabajan de manera que actúan en sinergia con otras formas de energía estimulando, acelerando o mejorando muchos procesos, por ende, varias de las aplicaciones prácticas del ultrasonido involucran estos procesos asistidos ultrasónicamente como la extracción.⁷⁶

1.4.2 Extracción Soxhlet. La extracción soxhlet es una extracción continua usada a altas temperaturas en donde la fracción del compuesto de interés tiene constante contacto con solvente de tal forma que se va arrastrando el producto de interés por el solvente hasta que este queda saturado⁷⁷. Para ello se utiliza un equipo denominado el extractor Soxhlet

En este método, se coloca inicialmente el solvente en un balón y este se lleva a temperatura de ebullición hasta que se encuentra con un condensador a reflujo. La

⁷⁵ MORALES, op. cit. p. 100

⁷⁶ ROBLES, op. cit. 23

⁷⁷ DE CASTRO, MD Luque; GARCIA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica chimica acta*, 1998, vol. 369, no 1-2, p. 1-10.

muestra se envuelve con una bolsa porosa, hecha de papel filtro o celulosa y se coloca en un cartucho dispuesto en el centro del equipo. El condensado cae sobre el cartucho con la muestra.⁷⁸

La muestra colocada en el cartucho debe ser debidamente preparada dividiéndola en fragmentos de menor tamaño para aumentar la superficie de contacto. El cartucho es un recipiente cilíndrico con base semiesférica que se apoya en la base del equipo al llenarlo con la muestra, no debe exceder un poco más de la mitad de su contenido y no se recomienda comprimir la muestra para que no se impida la difusión.⁷⁹

La cantidad de solvente debe ser la suficiente para que cuando se presente la evaporación de este no quede seco el valor inferior, la medida inicial se puede calcular añadiendo disolvente hasta que cubra el cartucho. La refrigeración se utiliza un condensador el cual utiliza agua corriente como fluido refrigerante.

Una vez se inicia el calentamiento y se alcanza la temperatura de ebullición, el solvente asciende por el equipo hasta que llega al condensador en donde, valga la redundancia se condensa cayendo en forma de gotas al cartucho. A medida que el condensado va cayendo sobre el cartucho este comienza a escurrir por la parte inferior del mismo llenando el recipiente de extracción hasta que llega al nivel de la bajada del sifón y rechupa con todo el material disuelto hacia el balón inferior. El tope del sifón está por encima del cartucho para asegurar que todas las veces el material a extraer quede embebido en el solvente.⁸⁰

La extracción soxhlet requiere una menor cantidad de solvente comparado con otros métodos de extracción como la maceración y como la muestra está repetidamente en contacto con porciones frescas de solvente ayuda a desplazar la extracción al equilibrio y la muestra no requiere de una filtración una vez se ha culminado el proceso. También permite la obtención de una mayor masa de muestra que otros métodos extractivos. La desventaja radica en el tiempo de la extracción y en la cantidad de solvente que se desperdicia.⁸¹

⁷⁸ NÚÑEZ, Carlos Eduardo. Extracciones con equipo Soxhlet. {en línea}. {20 febrero de 2020} disponible en: (<http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf>)

⁷⁹ Ibíd, p. 3

⁸⁰ Ibíd, p. 3

⁸¹ DE CASTRO. Op. cit. p. 2

1.4.3 Maceración. La maceración es un proceso en el cual un tejido organizado se deja en contacto con un solvente determinado empezando a generar un ablandamiento y una ruptura de la piel de la célula⁸² liberando sus constituyentes bioquímicos que son en su mayoría polifenoles, enzimas, lípidos, aminoácidos, entre otros.⁸³

El sistema del material particulado y el solvente se deposita en una vasija sellada para evitar la evaporación del solvente durante la extracción a temperatura ambiente con agitación esporádica por una determinada cantidad de tiempo. Pasado el tiempo, el líquido se filtra y el residuo sólido se presiona para recuperar la mayor cantidad de solución retenida posible.

Debido a que es un proceso estático, salvo por la agitación que se hace esporádicamente, el principio del proceso es la difusión molecular, la cual es bastante lenta. La agitación asegura una dispersión de la solución concentrada acumulada alrededor de la superficie de las partículas reemplazándola por solvente fresco para continuar con la extracción. Una vez se alcanza el equilibrio se realiza la respectiva filtración.⁸⁴

Unas de las mayores desventajas presentadas en este método es el tiempo y la eficiencia⁸⁵, sin embargo, el desarrollo de procesos a temperatura ambiente genera beneficios económicos en los que respecta a los servicios de energía y a los equipos utilizados.

1.4.4 Extracción a contracorriente. En la extracción a contracorriente ambas fases se agregan continuamente y fluyen en direcciones opuestas a medida que avanza la extracción. La alimentación se lava continuamente con el solvente extractor y el número de etapas en el que se genera el contacto íntimo entre solvente y alimentación se maximiza usando solventes con una distribución favorable de coeficientes o incrementando el flujo de alimentación del solvente.⁸⁶

Por lo general la alimentación o materia prima se pulveriza utilizando desintegradores de disco dentado para producir una suspensión fina, el material se

⁸² CUTTING, Keith F.; WHITE, Richard J. Maceration of the skin and wound bed 1: its nature and causes. *Journal of wound care*, 2002, vol. 11, no 7, p. 275-278.

⁸³ O'DONNELL, Liza, et al. Estrogen and spermatogenesis. *Endocrine reviews*, 2001, vol. 22, no 3, p. 289-318.

⁸⁴ UNITED NATIONS INDUSTRIAL DEVELOPMENT ORGANIZATION, et al. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*. Earth, Environmental and Marine Sciences and Technologies, 2008.

⁸⁵ ZHANG, Qing-Wen; LIN, Li-Gen; YE, Wen-Cai. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese medicine*, 2018, vol. 13, no 1, p. 20.

⁸⁶ WILSON, Ian D. *Encyclopedia of separation science*. 2000.

mueve en una dirección por un extractor cilíndrico donde se genera el contacto con el solvente extractor. Entre más movimiento exista de la materia prima más concentrado quedará el extracto final.

La extracción a contracorriente ofrece ventajas significativas ya que se puede extraer una cantidad unitaria de material vegetal con menor volumen de disolvente respecto a la maceración y también es un proceso que se desarrolla a temperatura ambiente evitando que los componentes termolábiles se expongan al calor siendo más efectivo y eficiente que la extracción continua en caliente.⁸⁷

1.4.5 Percolación. La percolación consiste en un lecho fijo de elementos de relleno sobre la que una fase líquida pasa en forma de película fluyendo bajo la acción de la gravedad.⁸⁸

El solvente pasa a través del material sólido compactado de forma adecuada y usualmente se acopla un lecho filtrante soportado (arena o material inocuo).⁸⁹

Este tipo de extracciones se realiza en percoladores, que son recipientes cilíndricos o cónicos que poseen dispositivos de carga y descarga logrando una extracción de hasta el 95% de los principios activos.⁹⁰

1.5 GRADO DE SOLVATACIÓN

La solvatación se usa comúnmente para describir las propiedades relacionadas con interacciones soluto-solvente para formar conglomerados moleculares.⁹¹ Dentro de la solución el índice de solvatación de un ion es el número de moléculas de disolvente que pueden considerarse en un momento dado como asociadas firmemente o de forma suelta a dicho ion

La mayoría de los iones no existe en la solución en forma de entidades aisladas, sino que se encuentran rodeados por una nube de moléculas de solvente orientadas. Como las moléculas externas se encuentran unidas al ion por fuerzas débiles, se produce un canje continuo entre estas moléculas y las moléculas libres inmediatas.⁹²

⁸⁷ HANDA, S. S. An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. En: *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, 2008, vol. 1. p. 266

⁸⁸ ATKINSON, Bernard. Reactores bioquímicos. España: Reverté, 2014, p. 100

⁸⁹ LLORENTE, Emilio, et al. Minería química. *España: Instituto Tecnológico GeoMinero de España*, 1991.

⁹⁰ SHARAPIN, Nikolai. *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Convenio andres bello, 2000.

⁹¹ HIRATA, Fumio (ed.). *Molecular theory of solvation*. Springer Science & Business Media, 2003.

⁹² NUFFIELD FOUNDATION. *Química: libro del alumno*. Reverté, 1984

Cuando se disuelven los iones en un disolvente, estos se separan y se rodean de las moléculas que forman el disolvente. Cuanto mayor es el tamaño del ion mayor el número de moléculas capaces de rodearlo indicando que el ion se encuentra mayormente solvatado⁹³

En la solvatación participan diferentes interacciones moleculares como los puentes de hidrógeno, atracción dipolo-dipolo, entre otras. Los puentes de hidrógeno pueden estar presentes solo en solventes de carácter polar y otras fuerzas como las interacciones ion-ion se darán en solventes iónicos.⁹⁴

Siendo la alicina un biocompuesto con alta actividad antimicrobiana, a continuación, se van a reconocer los microorganismos sobre los que se va a evaluar su efecto:

1.6 HONGOS

Los hongos son organismos eucariotas, cada uno de ellos tiene al menos un núcleo, una membrana nuclear, un retículo endoplasmático, mitocondrias, aparato de Golgi y un aparato secretor. Son secretores de enzimas que degradan una amplia variedad de sustratos orgánicos y nutrientes solubles que luego son absorbidos pasivamente e integrados a la célula por transporte activo. Los hongos se caracterizan por ser heterótrofos alimentándose de materia orgánica de la cual aprovechan la energía y el carbono.⁹⁵

Los hongos son organismos muy particulares, difieren de las plantas ya que ellos no elaboran su propio alimento a partir de la fotosíntesis, sino que viven a expensas de otros organismos vivos o muertos. No poseen la capacidad de moverse por el medio o alguna superficie. Pueden ser pluricelulares o unicelulares⁹⁶.

Por su modo de vida los hongos pueden ser Saprofitos, que se alimentan de sustancias en descomposición, los parásitos que se alimentan de los líquidos internos de otros seres vivos y los simbióticos que se asocian con otros organismos para beneficiarse mutuamente⁹⁷

A grandes rasgos se clasifican en dos, los macromicetos que están formados por una fructificación carnosa llamada píleo unida por un tallo llamado estipe. Por otro

⁹³ GOMEZ, Natagaima, et al. Obtención de celulosa a partir de residuos de la poda de pasto común por medio de líquido iónico (cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio). Bogotá, 2018, 138 p. Tesis de grado (Químico) Universidad Nacional Abierta y a Distancia

⁹⁴ *Ibíd*, p. 30

⁹⁵ GIUSIANO, Gustavo E. *Micología General. Microbiología, Pasitología e Inmunología*, 2012, vol. 5.

⁹⁶ *Ibíd*, p. 5

⁹⁷ CEUPE. Centro Europeo de Postgrado. Clasificación de hongos en alimentos. {en línea} {19 de abril del 2020} disponible en: (<https://www.ceupe.com/blog/clasificacion-de-hongos-en-alimentos.html>)

lado, están los micromicetos que son saprófitos ambientales y se clasifican según su morfología en mohos y levaduras.

Los mohos son hongos filamentosos que crecen en forma de masa enredada y que se extiende rápidamente llegando a cubrir varias pulgadas de área en 2 o 3 días⁹⁸. El total de la masa o cualquier parte de ella se llama micelio el cual está constituido por pequeños filamentos llamados Hifas. La pared celular del micelio semeja a un extenso sistema tubular por el que avanza el citoplasma para su dispersión y búsqueda de nutrientes⁹⁹.

Los mohos se reproducen asexualmente en la mayoría de los casos por medio de esporas asexuales generadas por mitosis y tiene diversas formas pudiendo ser mono o pluricelulares. El color de la mayoría de los mohos se debe al color de sus esporas asexuales las cuales se desarrollan en el extremo de las estructuras especializadas que se extienden en el aire a partir del micelio.¹⁰⁰

Las esporas pueden ser de origen asexuado (mitoesporas) o sexuado (meiospora). Las mitoesporas originadas en estructuras anamórficas son esporas desarrolladas en una hifa terminal que al madurar se separan y las meiosporas originan estructuras telemórficas. Dependiendo del tipo de hongo se originan diferentes tipos de esporas.¹⁰¹

La clasificación taxonómica de los hongos se expone a continuación:

1.6.1 Phylum Chytridiomycota. La gran parte de esta familia está representada por hongos acuáticos. Viven en varios sustratos. Pueden ser unicelulares a lo largo de todo su ciclo de vida o pueden formar un pequeño micelio no septado. En su ciclo de vida son el único grupo que presenta un flagelo en su parte posterior, también presentan paredes celulares.

La reproducción asexual se da por medio de zoosporas flageladas producidas por esporangios¹⁰².

1.6.2 Phylum Zygomycota. Este grupo se caracteriza por la formación de una espora de resistencia de pared gruesa llamada Zigóspora. También tiene otra estructura importante caracterizada por ser columelada relativamente larga que

⁹⁸ JAY, James M.; LOESSNER, Martin J.; GOLDEN, David A. *Modern food microbiology*. Springer Science & Business Media, 2008.

⁹⁹ CARRILLO, Leonor; AUDISIO, M. Carina; BEJARANO, N. Manual de Microbiología de los Alimentos. *San salvador de Jujuy. Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Agrarias SS Jujuy. Argentina*, 2007.

¹⁰⁰ BEJARANO, op. cit. p. 6

¹⁰¹ CARRILLO, Leonor. Los hongos de los alimentos y forrajes. *Universidad Nacional de Salta, Argentina*, 2003, vol. 118.p. 20

¹⁰² SOBRADO, S.; CABRAL, E.; ROMERO, F. Hongos: Diversidad vegetal. En: *Universidad Nacional del Nordeste*, 2013, p. 1-39.

crece de manera terminal a partir de una hifa especializada denominada esporangióforo los cuales pueden contener desde 50 hasta 100000 esporas. En este grupo hay aproximadamente 600 especies descritas, tanto acuáticas como terrestres e incluso parasitarias de vertebrados y humanos que tienen micelios simples formados por hifas ramificadas. El miembro más común de este grupo es el moho negro del pan, *Rhizopus Stolonifer*.¹⁰³

1.6.3 Phylum Ascomycota. Este grupo presenta una célula fértil en forma de saco en la que ocurre cariogamia y meiosis, dando como resultado generalmente 8 meioesporas endógenas. Esta estructura se denomina asco (esporangio). Forman un cuerpo fructífero denominada ascocarpo. Hay aproximadamente 30000 especies descritas muy diversas que incluyen hongos como levaduras, *Penicillium*, *Neurospora*, así como varios hongos que provocan la putrefacción de la madera y las frutas. Compiten con otros organismos eucariotas en la capacidad de ocupar un gran rango de hábitats. Un Ascomycota muy común es el *Botritis cinérea* conocido como la pobredumbre gris.¹⁰⁴

Algunos Ascomycotas como las levaduras no forman un cuerpo fructífero. Son organismos unicelulares muy simples que se reproducen asexualmente por fisión o gemación. La reproducción asexual se produce cuando los nutrientes son escasos y se inicia cuando se fusionan dos sepas haploides compatibles para formar un cigoto diploide.

1.6.4 Phylum Basidiomycota. Es igual al Ascomycota solo que en este grupo se denomina basidiocarpo y se caracteriza por ser una célula terminal en forma de clavo en la que se produce cariogamia y meiosis produciendo 4 esporas exógenas. Todos tienen micelios compuestos por hifas tabicadas con tabiques perforados denominados dolíporos. Son hongos terrestres que crecen en una gran variedad de sustratos como suelo, hojarasca, corteza, madera, entre otros.¹⁰⁵

Los hongos son microorganismos que pueden desarrollarse en los sustratos más variados, en todos los climas de la tierra e incluso en condiciones extremas siendo las esporas fúngicas componentes normales de ambientes externos.¹⁰⁶ Las esporas fúngicas del exterior pueden contaminar ambientes internos, la mayoría de hongos presentes en ambientes internos son saprofiticos pues obtienen lo que necesitan para su metabolismo de materiales muertos, materia orgánica, o sustratos como madera, papel, pintura, suelo, polvo, piel y alimentos.¹⁰⁷ La mayoría de se reproduce

¹⁰³ Ibíd, p. 14

¹⁰⁴ SOBRADO, op. cit. p. 15

¹⁰⁵ SOBRADO, op. cit. p. 16

¹⁰⁶ AIRA, M. J., et al. Concentracion atmosferica invernal de propagulos fungicos en un mercado interior de abastos en valparaiso (Chile). En: *Boletín Micológico*, vol. 18, (feb, 2003) p. 29-37

¹⁰⁷ ALBRIGHT, David M. Human health effects of airborne mycotoxin exposure in fungi-contaminated indoor environments. En: *Professional Safety*, vol. 46, no 11, (feb, 2001) p. 26.

de forma asexual por medio de la liberación de esporas lo que permite que su proliferación se de con mayor facilidad en el ambiente logrando su crecimiento en 48 horas y con sus estructuras de reproducción completas de 3 a 5 días.¹⁰⁸ Por otra parte, los mohos se desarrollan entre 15 y 30°C con un óptimo crecimiento alrededor de 20 a 25°C y algunas especies presentan un crecimiento lento pero significativo a -6°C pudiéndose encontrar incluso en almacenes frigoríficos. Los mohos resisten temperaturas muy bajas, sus esporas sobreviven y permanecen aptas para germinar cuando recuperan las condiciones normales y también pueden sobrevivir a temperaturas elevadas.¹⁰⁹

Entre los mohos ambientales más comunes identificados en centrales de abastos se encuentran ocho géneros *Penicillium spp.* 31.38%, *Candida sp.* 28.26%, *Cladosporium herbarum* 14.80%, *Rhodotorula sp.* 12.70%, *Rhizopus stolonifer* 10.79%, *Aspergillus niger* 0.89%, *Botrytis sp.* 0.43%, *Mucor sp.* 0.43% y *Mucor piriformis* 0.33%.¹¹⁰ a partir de esta investigación de los hongos ambientales más comunes encontrados en plazas de abastos los principales mohos se exponen a continuación:

1.6.5 *Penicillium Spp.* Pertenece al género de hongos conocidos como mohos verdes o azules. Se encuentra al aire libre y en lugares húmedos, cálidos y con baja luminosidad.¹¹¹ Su temperatura óptima de crecimiento es de 20 a 30°C, sin embargo, dependiendo de la especie puede crecer en el intervalo de 5 a -37°C. Sus esporas se encuentran en forma de bioaerosol en el aire con una concentración ambiental más o menos estable a lo largo del año, aunque se presentan concentraciones pico en primavera e invierno.¹¹²

Uno de los grandes problemas que genera este tipo de hongo para el hombre es la producción de micotoxinas que tienen diferentes efectos tóxicos en los alimentos. Al ser un hongo presente en el aire, Las *penicillium Spp* pueden considerarse hongos colonizadores tanto en condiciones de campo como de almacenamiento y producir toxinas como como la ocratoxina y la citrinina.¹¹³

¹⁰⁸ MORALES, M. Determinación de hidrocarburos en muestras de agua por extracción líquido-líquido asistida por ultrasonido. España, 2011, 24 p. Universidad de Alicante.

¹⁰⁹ CEUPE, op. cit. p. 1

¹¹⁰ CALIZAYA LIMACO, Carla; SALAZAR TORRES, Gian; SILVA ABURTO, José. Evaluación de hongos ambientales en mercados de abastos de la ciudad de Tacna-Perú. *Revista mexicana de micología*, 2010, vol. 31, p. 65-67.

¹¹¹ MARTIN, Patricia. Moho *Penicillium*. {en línea} {20 de marzo de 2020} disponible en (<https://quesodeoveja.org/moho-penicillium/>)

¹¹² INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO. *Penicillium spp.* {en línea}{04 de julio del 2020} disponible en: (<https://www.insst.es/documents/94886/353749/Penicillum+spp+2017.pdf/57121544-9157-4bbe-a6eb-b394c83bf9e1>)

¹¹³ BEJARANO, op. cit p. 3

La ocratoxina (OTA) se encuentra ampliamente distribuida como contaminante natural de cereales, legumbres y otros alimentos. Una de las propiedades toxicocinéticas más significativas de la OTA es su alta afinidad por proteínas plasmáticas. Dosis elevadas de las toxinas dan lugar a una intoxicación aguda cuyos principales signos clínicos son anorexia, pérdida de peso, hemorragias digestiva y deshidratación que provocan la muerte después de la administración.¹¹⁴

La ingesta de alimentos contaminados con dosis menores a 0.2mg/Kg de peso corporal durante periodos inferiores a 4 meses da lugar a la aparición de un efecto tóxico renal en los humanos puede llegar a ser Nefropatía Endémica de los Balcanes cuyos síntomas son anemia, proteinuria, amarillamiento de la piel, dolor de cabeza, anorexia y uremia.¹¹⁵

Por otro lado los efectos de la citrinina están relacionados con alteraciones de la función mitocondrial disminuye el contenido de ATP y actúa sobre enzimas de la ruta del colesterol y los triglicéridos. La ingesta de citrinina provoca pérdida de peso y diarrea debido a una degradación renal.¹¹⁶

En muchas ocasiones los alimentos destinados al consumo humano son el hábitat de *Penicillium spp.* El almacenamiento de frutas puede presentar importantes pérdidas debido a su crecimiento ya que deterioran los diferentes alimentos. Debido a su resistencia a bajas temperaturas su control es difícil por ello suelen ser tratados con fungicidas o soluciones desinfectantes.¹¹⁷

1.6.6 *Cladosporium herbarum.* Se considera un saprofito que se convierte en patógenos de plantas en diversas condiciones de estrés produciendo enfermedades de pudrición en varios cultivos frutales importantes como el de pera, uva y cereza. En pasas e higos es un moho superficial. En los cultivos de maracuyá causa los síntomas de verrucosa reduciendo la producción y calidad de dicha fruta.¹¹⁸

Es el hongo que con más frecuencia se encuentra presente en el aire y es uno de los hongos alergénicos respiratorios más importantes el cual se ha implicado en casos de asma y fiebre del heno. Se encuentran frecuentemente al aire libre en las zonas templadas del planeta y produce abundantes conidios que se encuentran en

¹¹⁴ LÓPEZ DE CERAIN, A., et al. Efectos tóxicos de la ocratoxina A. *Revista de toxicología*, 2000, vol. 17, p. 61-69.

¹¹⁵ LOPEZ, op. cit. p. 10

¹¹⁶ SORIANO DEL CASTILLO, José Miguel. *Micotoxinas en alimentos*. España: Ediciones Díaz de Santos, 2007. 374p.

¹¹⁷ MARTÍNEZ, Eva. Estudio de especies micotoxígenas del género *Penicillium*: *Penicillium verrucosum* Dierckx. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona, 2004. 305 p.

¹¹⁸ BARBOSA, Maria Angélica G., et al. Antagonism of *Trichoderma* species on *Cladosporium herbarum* and their enzymatic characterization. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2001, vol. 32, no 2, p. 98-104.

la atmosfera a lo largo del año con mayores concentraciones en las últimas semanas de verano.¹¹⁹

1.6.7 *Rhizopus stolonifer*. Este tipo de hongo corresponde a un mohó fitopatógeno versátil que puede crecer y desarrollarse en una amplia gama de temperaturas y humedades relativas. Tiene una velocidad de crecimiento muy rápida que le permite colonizar la superficie de los productos agrícolas.

En *Rhizopus stolonifer* es el responsable de la conocida “pudrición blanda” aquí los hongos forman cavidades microscópicas en la pared celular y atacan las celulosas de las paredes celulares degradando los carbohidratos y produciendo un reblandecimiento superficial.¹²⁰

Es un hongo saprófito que se encuentra sobre pedazos de fruta o cualquier material orgánico siendo su micelio es y pudiéndose reproducir sexual y asexualmente por medio de dos estructuras morfológicamente similares.¹²¹ La fecundación ocurre cuando dos hifas de distinta polaridad crecen cerca. Estas hifas emiten prolongaciones llamadas progamentagios que se aproximan y fusionan formando dos células apicales llamadas gamentangios. Una de las células contiene varios núcleos positivos y la otra, negativos así los gamentangios se fusionan produciendo cariogamia dando como resultado numerosos núcleos diploides. Esto formará un cigoto de pared gruesa llamado zigoesporangio que contiene una única espóra de resistencia llamada zigoespora. Tras un periodo de maduración y reposo la zigoespora germina y se desintegran los núcleos diploides hasta quedar uno solo.

De los cuatro núcleos haploides producidos se degeneran tres y el restante pasa por diferentes divisiones mitóticas originando varios núcleos haploides de la misma polaridad; así, la zigoespora germina y forma una hifa cuyo extremo se desarrolla un esporangio al que migran los núcleos producidos por mitosis que darán origen esporas que al germinar producirán micelios. Así la reproducción asexual empieza con la formación de esporangios que producen esporas.¹²² Las esporas pueden presentar sustancias poliméricas que le permiten a la espóra sobrevivir a condiciones adversas y recuperar la viabilidad cuando las condiciones son propicias.¹²³ Cuando los esporangios maduran las paredes delgadas se desintegran y se liberan las esporas multinucleadas las cuales son transportadas por el viento y

¹¹⁹ PONTÓN, José, et al. *Hongos y actinomicetos alergénicos*. Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología, 2002.

¹²⁰ JIMÉNEZ, Alexander Berrocal. Clasificación de daños producidos por agentes de biodeterioro en la madera. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 2006, vol. 4, no 10, p. 54-62.

¹²¹ SOBRADO, op. cit. p 22

¹²² SOBRADO, op. cit. p. 22

¹²³ GIUSIANO, op. cit. p. 100

cuando se encuentran las condiciones propicias de humedad y temperatura las esporas germinarán dando origen a un nuevo grupo de hifas.¹²⁴

1.6.8 *Botrytis Cinerea*. Conocido también como moho gris de la fruta o pudrición de la fresa. Es uno de los patógenos más difícil de controlar debido a que se desarrolla tanto en el campo como en el tránsito y almacenaje cuando las condiciones ambientales favorecen su crecimiento y desarrollo.¹²⁵

Es uno de los hongos patógenos más comunes ya que tiene la capacidad de infectar más de 200 distintas plantas huéspedes, además uno de los más agresivos y versátiles ya que tiene la capacidad de crecer y reproducirse en tejidos dañados y muertos de la fresa, vegetales y otras plantas. Se reproduce principalmente mediante esporas asexuales, las cuales se extienden fácilmente por el aire, por salpicaduras de agua y por actividad física/mecánica.¹²⁶

Las esporas de *Botrytis Cinerea* pueden ser producidas sobre cualquier material vegetal y transportadas grandes distancias por corrientes de aire. una vez se ha alcanzado la superficie del huésped, empieza el ciclo de infección que se puede dividir en 5 etapas:¹²⁷

- Adhesión y germinación de las esporas sobre la superficie del huésped
- Penetración en el tejido vegetal a través de heridas, aberturas naturales, o mediante la participación de actividades enzimáticas.
- Establecimiento del patógeno en la zona de penetración determinando la muerte de las células en la parte adyacente a la penetración.
- Fase de latencia durante la cual los mecanismos de defensa de la planta parecen controlar al patógeno.
- Transcurrido un tiempo en algunas lesiones primarias el patógeno es capaz de vencer las barreras defensivas de la planta e inicia su diseminación en el tejido vegetal circundante. Sobre el tejido infectado el patógeno produce una nueva generación de esporas que pueden iniciar un nuevo ciclo de infección.

B. Cinerea es responsable de una gama muy amplia de síntomas como la podredumbre blanda acompañada por el colapso y el empapamiento de los tejidos seguido de una rápida aparición de masas grises. En los frutos de piel gruesa el

¹²⁴ SOBRADO, op. cit. p. 22

¹²⁵ GUERRERO, Jairo Arturo. Estudio de residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas en áreas específicas de Colombia. *Agronomía Colombiana*, 2003, vol. 21, no 3, p. 198-209.

¹²⁶ BENITO, Ernesto P.; ARRANZ, Mónica; ESLAVA, A. Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 2000, vol. 17, p. S43-S46.

¹²⁷ *Ibid*, p. 43

síntoma del empapamiento es solo visible después del corte. En muchas frutas y hortalizas la infección suele comenzar en las flores y luego, cuando se presenta la podredumbre blanda se propaga y afecta los frutos adyacentes en desarrollo como en los calabacines, los pepinos, las judías verdes, las fresas y las manzanas.¹²⁸

El uso cuidadoso y estratégico de los fungicidas sigue siendo el medio principal para manejar el moho gris, sin embargo, *Botrytis* es notorio por volverse resistente a los fungicidas debido a su alta variabilidad genética, la producción de abundantes esporas y los ciclos múltiples de producción de esporas y desarrollo de enfermedades. A nivel mundial se han confirmado cepas de *Botrytis* en la fresa resistentes a casi todos los fungicidas con modos de acción de sitio-único. La aplicación repetida de los mismos fungicidas en los viveros y en los sitios de producción y almacenamiento de la fruta aumentan la presión selectiva y fomenta el desarrollo de la resistencia¹²⁹.

1.7 CULTIVO FÚNGICO

Las frutas y hortalizas son productos perecederos susceptibles al ataque de microorganismos antes y después de la cosecha y durante su almacenamiento. Uno de los factores microbiológicos que más afectan la calidad de estos productos y provocan grandes pérdidas en su producción son los hongos fitopatógenos. Dichos hongos aparte de afectar la calidad del producto y alterar sus propiedades organolépticas son capaces de producir sustancias como las micotoxinas como resultado de su metabolismo secundario las cuales se distribuyen con facilidad en los sustratos y pueden llegar a ser perjudiciales para la salud humana aún en bajas concentraciones.

Al identificar la patogenicidad de los microorganismos es necesario aislarlos para reconocerlos para ello se aíslan utilizando medios de cultivo artificiales con el fin de purificarlos y estimular su esporulación para la producción de inóculos.

1.7.1 Medios de cultivo. Los medios de cultivo son combinaciones de sustancias o soluciones que permiten y estimulan el crecimiento de uno o más organismos. Pueden ser sólidos o líquidos.

¹²⁸ WILLIAMSON, Brian, et al. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular plant pathology*, 2007, vol. 8, no 5, p. 561-580.

¹²⁹ KOIKE, S.; BOLDA, M. El moho gris, o Pudrición de fresa. California: Cooperative Extensión, 2016. {en línea}{03 de Julio de 2020} disponible en: (<https://ucanr.edu/blogs/fresamora/blogfiles/37849.pdf>)

Los medios de cultivo sólidos contienen agar y se preparan en frascos o cajas de Petri con el fin de aislar y mantener hongos y bacterias para determinar sus propiedades fisiológicas.¹³⁰

Existen tres tipos de medios de cultivo:¹³¹

- De nutrición pobre: son utilizados para obtener cultivos monospóricos y forzar la esporulación de algunos hongos. El más común de estos medios es el llamado agar-agua.
- Nutritivos: Entre ellos figuran los naturales, semisintéticos y los sintéticos. Los naturales contienen tejidos vegetales como hojas, granos, frutos, entre otros, en trozos o macerados que han sido esterilizados. Los semisintéticos contienen sustancias naturales como extractos de animales o preparados vegetales y elementos sintéticos.
- Sintéticos: los cuales vienen en forma deshidratada y están químicamente definidos reproducidos solo de manera específica cuando son requeridos.

De los medios de cultivo existentes uno de los más importantes es el “papa dextrosa agar” (PDA), este tipo de cultivo es de uso muy frecuente ya que es apropiado para el crecimiento de numerosas especies de hongos. Su preparación consiste en Papas partidas, dextrosa, agar y agua destilada. Las papas se hierven con el agua destilada durante 15 o 20 minutos esta suspensión se filtra con ayuda de una gasa y al filtrado se le agrega la dextrosa y el agar, posterior a ello se afora con agua destilada y se sella el matraz con un tapón de algodón y se esteriliza. Una vez se deja enfriar un poco, se vacía la suspensión en cajas de Petri.¹³²

Para el aislamiento de los patógenos. A la muestra con los síntomas observados se le hace una serie de pequeños cortes en las áreas donde se aprecian las lesiones y las infestaciones de los microorganismos. Los cortes se sumergen en una solución de hipoclorito de sodio al 1 % durante 1 minuto, posterior a ello se hace un lavado para eliminar el exceso de hipoclorito. Con unas pinzas esterilizadas después de ser pasadas por alcohol y ser flameadas se toman los pedacitos de muestra y se siembran de forma ordenada en las cajas de Petri con PDA. Las cajas se incuban de 5 a 7 días.¹³³

¹³⁰ GILCHRIST, L. *Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada*. CIMMYT, 1995.

¹³¹ *Ibíd*, p. 8

¹³² *Ibíd*, p. 9

¹³³ GILCHRIST, op. cit. p. 10

Los tejidos vegetales son un hábitat rico en nutrientes que proveen las mejores condiciones para el crecimiento de microorganismos, de entre las frutas del mercado la fresa es altamente preferida por hongos filamentosos y se expone a continuación:

1.7.1.1 Fresas. La fresa es una planta herbácea perteneciente a la familia de las rosáceas y al género *fragaria*.¹³⁴ Da un fruto blando de alto valor económico debido a su delicioso sabor, y sus propiedades ya que es una fuente importante de flavonoides y extremadamente ricas en vitamina C y ácidos fenólicos.¹³⁵

Su composición química consiste en un 89,65 de agua, 7% de hidratos de carbono, 0,7% de proteínas, 0,5% de lípidos y 2,2% de fibra. Entre los hidratos de carbono hay tres tipos de azúcares 2,6% de glucosa, 2,3% de fructosa y 1,3% de sacarosa.¹³⁶

La fresa es un fruto no climatérico lo que significa que debe recolectarse una vez haya alcanzado su madurez, esto la hace altamente sensible al daño mecánico y susceptible a la invasión de microorganismos patógenos por lo cual posee una vida postcosecha muy corta.¹³⁷

La sensibilidad al daño físico y las pudriciones causadas por microorganismos se acentúan en el transporte y comercialización por la falta de técnicas de manipulación.

¹³⁴ BIANCHI, P. G. *Guía completa del cultivo de las fresas*. Parkstone International, 2018.

¹³⁵ ODRIÓZOLA, ISABEL. Obtención de zumos y frutos cortados con alto potencial antioxidante mediante tratamientos no térmicos. *Memoria para optar el grado de Doctor. Universidad de Lleida. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria. Brasil*, 2009.

¹³⁶ CHORDI BARRUFET, Silvia, et al. *Contenido fenólico y capacidad antioxidante de fresa mínimamente procesada sometida a tratamientos de conservación por pulsos de luz de alta intensidad*. 2013. Tesis de Licenciatura.

¹³⁷ PLASCENCIA-TENORIO, Rosa I., et al. Antagonismo in vitro de aislados bacterianos de fresa comercial y silvestre vs *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*. *Ra Ximhai*, 2012, vol. 8, no 3, p. 103-

2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE ALICINA Y/O AJOENE

A continuación, se exponen los procesos realizados y las bases teóricas tenidas en cuenta para la obtención del extracto de alicina y/o ajoene, así como los respectivos procesos de cuantificación y selección del mejor extracto.

2.1 MATERIAS PRIMAS

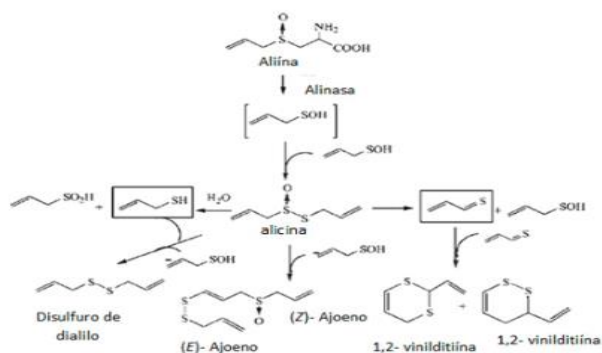
La determinación de las materias primas es de vital importancia para el establecimiento de los costos del proyecto, se busca en todos los aspectos utilizar las materias más rentables que minimicen los costos operativos.

2.1.1 Especie *Allium Sativum*. De todas las especies *Allium*, el ajo es el que contiene mayor concentración de componentes azufrados y es esto lo que le da la actividad antimicrobiana potente, ya que es capaz de modificar la biosíntesis de los lípidos y del RNA de los microorganismos disminuyendo el perfil de lípidos en los mismos, reacciona con los grupos tiol libres y es por ello por lo que se cree que el mecanismo antimicrobiano proviene de la interacción de la alicina con enzimas que contienen el grupo tiol como proteasa y alcohol deshidrogenasas. Se tiene conocimiento de que la alicina inhibe más de 300 bacterias tanto Grampositivas como Gramnegativas¹³⁸ así como diferentes tipos de hongos.¹³⁹

¹³⁸ BENDER, op. cit. p. 5

¹³⁹ *Ibíd*, p. 8

Ilustración 3. Reacción enzimática de la Alina



Fuente: BENDER, D.; BÁRCENAS, M. E. El ajo y sus aplicaciones en la conservación de alimentos. Temas selectos de ingeniería de alimentos, 2013, vol. 7, no 1, p. 25-36, adaptado de Kyung y Lee (2001).

La alicina es un componente inestable a temperatura ambiente debido a la naturaleza de los tiosulfatos, la unión S-S en la molécula $\text{CH}_3\text{-S-S-CH}_3$ es de 78 kcal/mol indicando una posible formación de un radical estable RSO similar al radical peróxido, por otra parte, la presencia de dos grupos alilo flanqueando los dos átomos de azufre contribuye también a la inestabilidad. Considerando esto y estudios hechos sobre los puntos de ebullición dieron valores que van desde 20°C a 30°C $\text{nC}_4\text{H}_9\text{S(O)SC}_4\text{H}_9$ hasta 64°C en $\text{CH}_3\text{S(O)SCH}_3$, debido a ello el punto de ebullición de la alicina no se puede establecer debido a que se puede descomponer en otros elementos organosulfurados al calentarla, sin embargo, se podría ubicar cercano a los 60°C¹⁴⁰

En diversas investigaciones científicas, se ha desarrollado el extracto de alicina para diferentes usos medicinales y alimenticios, evidenciando su excelente capacidad inhibitoria contra crecimientos de microorganismos patógenos. En un estudio realizado por Bronwyn G. Hughes* and Larry D. Lawson se determina que la alicina tiene efecto contra 9 cultivos fúngicos inhibiendo su crecimiento siendo su actividad antifúngica reducida en un 70% después de un mes de almacenamiento.¹⁴¹

Para el desarrollo del extracto, se evalúan los dos ajos que se comercializan normalmente en el mercado, el ajo morado y el ajo blanco. Las diferencias entre

¹⁴⁰ VILLALON, Gregorio Cruz. *Efecto de la alicina sobre el crecimiento y producción de biocapas en staphylococcus epidermidis*. España, 2009, 180 p. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.

¹⁴¹ HUGHES, Bronwyn G.; LAWSON, Larry D. Antimicrobial effects of *Allium sativum* L.(garlic), *Allium ampeloprasum* L.(elephant garlic), and *Allium cepa* L.(onion), garlic compounds and commercial garlic supplement products. *Phytotherapy Research*, 1991, vol. 5, no 4, p. 154-158.

estos dos tipos de ajo van desde la forma, el color, el tamaño, el número de dientes y claro está, la concentración de alicina. En lo que respecta a la concentración de alicina, se puede definir en términos de sabor, al ser un componente organosulfurados, la intensidad y picor del sabor determina la presencia de este compuesto en el ajo siendo mayor en el ajo morado que en el blanco.¹⁴²

Tabla 1. Comparación características morfológicas tipos de ajo

CARACTERÍSTICA	AJO MORADO	AJO BLANCO
TAMAÑO	Entre 45 y 55 mm	Entre 50 y 70mm
FORMA	Esférica	Achatada
NÚMERO DE DIENTES	De 8 a 10 por cabeza	De 10 a 12 por cabeza
ASPECTO EXTERNO	Túnicas que lo recubren son blancas o grisáceas	Túnicas que lo recubren son violáceas
ASPECTO INTERNO	Al retirar las túnicas externas, el diente tiene tonos morados	Al retirar las túnicas externas, el diente el completamente blanca

Fuente. Big Garlic. {En línea}{1 de noviembre de 2020} disponible en: (<http://www.interempresas.net/Distribucion-Hortofruticola/FeriaVirtual/Producto-Ajos-morados-Big-Garlic-119698.html>)

En el artículo realizado por Pradas Baena, I., Pereira Caro, G., Pérez Aparicio, J. y Moreno Rojas, J.M, se determinó que la cantidad de alicina en el ajo morado es en promedio 2.409 microgramos/mL frente a 1.610 microgramos/mL presentes en el ajo blanco.¹⁴³ Basado en dicha información, el ajo a trabajar será el Ajo morado nativo.

2.1.2 Solución Etanol-Agua. Partiendo de la ICH HARMONISED GUIDELINE, guía que expone los diferentes solventes orgánicos junto con sus restricciones o prohibiciones para consumo humano, se descartan aquellos solventes que allí se encuentren como el metanol y el diclorometano.

En la tesis realizada por Jennifer Cacao y Carlos Mora para la universidad de Guayaquil,¹⁴⁴ se manifiesta que la alicina puede extraerse de manera más eficiente

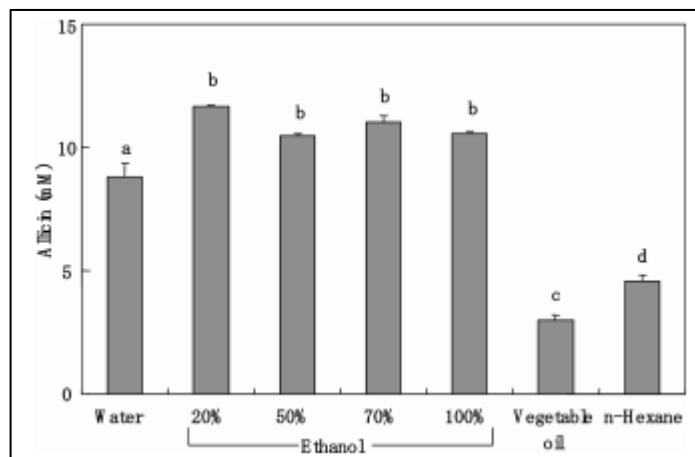
¹⁴² GARRIDO, Cristina. Cómo diferenciar el ajo morado español del chino cuando vayamos a comprar. En: ABC Sociedad, 2014 {en línea} {2 de julio del 2020} disponible en: (<https://www.abc.es/sociedad/20140501/abci-diferencias-ajoespanol-chino-201404301109.html>)

¹⁴³ FERRUS, op cit. p57

¹⁴⁴ CACAO VARGAS, Jennifer Vanesa; MORA CASTILLO, Carlos Alberto. *Caracterización para el desarrollo de un inhibidor de crecimiento bacteriano a partir del ajo (Allium sativum) para superficies*

en soluciones etanólicas, sin embargo, la alicina se descompone en menos de medio mes en 100% agua o etanol. Estos resultados se basan en el un artículo de Hiroyuki Fujisawa, Kaoru Suma, et al¹⁴⁵ para la revista de agricultura y ciencia de la comida del año 2008 en donde se preparó un extracto de alicina con 100% agua, soluciones agua-etanol 20, 50, 70 y 100% etanol, aceite vegetal y n-Hexano.

Gráfica 1. Concentración de alicina en diferentes solventes.



Fuente: FUJISAWA, Hiroyuki, et al. Biological and chemical stability of garlic-derived alliin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2008, vol. 56, no 11, p. 4229-4235.

La gráfica indica una mayor concentración de alicina en una solución etanol- agua del 20%.

Según la selección de solventes anterior y los resultados obtenidos en el trabajo de Fujisawa, se establece como base para la experimentación como solvente la solución 20% etanol y 80% agua.

2.2 SELECCIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN

Teniendo en cuenta los métodos de extracción mencionados en el anterior capítulo, para seleccionar dicho método se da a conocer la siguiente tabla, la cual, ayuda a determinar por medio de un puntaje el mejor método

de trabajo en la cocina. 2019. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química.

¹⁴⁵ FUJISAWA, Hiroyuki, et al. Biological and chemical stability of garlic-derived alliin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2008, vol. 56, no 11, p. 4229-4235.

Tabla 2. Selección del método de extracción

	Ultrasonido	Soxhlet	Maceración	Contracorriente	Percolación
Costo	1	1	5	4	4
Condiciones de operación	3	1	5	5	5
Repetibilidad	5	2	5	3	4
Puntaje total	15	2	125	60	80
Alternativa elegida	4	5	1	3	2

Fuente: elaboración propia

Referente al costo, en el Anexo A. se presenta una tabla de los equipos que utiliza cada método de extracción, así como las especificaciones de cada equipo. Haciendo una comparación entre los costos de la implementación de cada proceso se asigna un valor de 1 a 5 siendo 1 el menos conveniente y 5 el más conveniente.

En temperatura se da un puntaje de 1 a 5 dependiendo de si es más o menos factible de operar a temperatura ambiente.

La repetibilidad es un factor de que tanto varía el contenido de alicina después de la repetición del mismo proceso, y para ello se tiene en cuenta que tantos factores se deben controlar para mantener las mismas condiciones, teniendo un valor de 1 para el menos controlable y 5 para el más controlable.

El rendimiento está asociado al producto de interés y a las posibilidades de que durante el proceso el producto de interés se transforme en otro tipo de compuesto con un valor de 1 para el método de más riesgo y 5 al de menos riesgo.

El método se elige multiplicando en cada fila los valores asignados para encontrar y seleccionar aquel cuyo resultado sea mayor, en este caso se selecciona la maceración.

En el artículo de Fujisawa¹⁴⁶ la preparación del extracto de alicina se realiza a partir de una maceración de 10g de ajo en los solventes evaluados con posterior centrifugación, al ser un proceso que se puede ejecutar a temperatura ambiente, resulta bastante conveniente para la alicina ya que esta, a temperaturas por encima de la temperatura ambiente, tiende a descomponerse en sub compuestos de poco interés aplicativo. Así que de acuerdo con el resultado de la tabla anterior y al

¹⁴⁶ FUJISAWA, op. cit. p. 2

desarrollo de Fujisawa, se realiza la extracción utilizando una maceración a temperatura ambiente.

2.2.1 Relación Ajo-Solvente. La relación ajo solvente, proporciona un impacto importante en términos de concentración. A mayor cantidad de ajo, mayor concentración de alicina, lo que se espera es encontrar la concentración que disminuya el consumo de ajo para un proceso más rentable.

Para efectos de este proyecto, se evalúan cantidades de ajo que permitan ser cuantificadas por una gramera casera de tipo resorte que mide la extensión o contracción de un resorte. El ajo se coloca sobre el plato y el resorte estirado ejerce una presión sobre él que estará calibrado para conocer la masa. Este tipo de grameras tienen una escala de hasta 3.000 gramos con una resolución de 10 gramos. Lo que permite una medición de 25, 50 y 100 gramos de ajo.

La influencia de esta relación se da en términos de la concentración de la alicina a mayor cantidad de ajo mayor concentración.

2.2.2 Cuantificación de la alicina.

En el artículo de Larry D. Lawson escrito en colaboración de Zhen-YuJ. Wang y Bronwyn G. Hughes en Mayode 1990¹⁴⁷ se realiza una identificación por medio del método HPLC de los productos de la degradación de la alicina y de la alicina misma en diferentes formas del ajo. Los tiosulfatos se extrajeron usando 10mL de agua por cada gramo de productos de ajo (tabletas, polvo, ajo fresco, entre otras formas). Como los tiosulfatos son más solubles en solventes orgánicos se hizo una verificación de la eficiencia de la extracción utilizando una solución de alicina 0,6% en peso disuelta en aceite de soya y luego se hizo la extracción de está usando 10mL de agua por cada gramo de aceite teniendo una eficiencia muy buena del 89%. El extracto se evaluó en HPLC encontrando que la mayor cantidad de alicina se encuentra en los dientes frescos de ajo aproximadamente 3.600microgramos por cada gramo de ajo es decir que la alicina corresponde al 0,36% del cada gramo de ajo.

Más adelante en el año 1991 en el artículo realizado por Bronwyn G. Hughes y Larry D. Lawson¹⁴⁸ se estudia el efecto de los componentes organosulfurados del ajo en

¹⁴⁷ LAWSON, Larry D.; WANG, Zhen-Yu J.; HUGHES, Bronwyn G. Identification and HPLC quantitation of the sulfides and dialk(en)yl thiosulfates in commercial garlic products. *Planta medica*, 1991, vol. 57, no 04, p. 363-370.

¹⁴⁸ HUGHES, Bronwyn G.; LAWSON, Larry D. Antimicrobial effects of *Allium sativum* L.(garlic), *Allium ampeloprasum* L.(elephant garlic), and *Allium cepa* L.(onion), garlic compounds and commercial garlic supplement products. *Phytotherapy Research*, 1991, vol. 5, no 4, p. 154-158.

la inhibición de 9 diferentes tipos de hongos entre los que se encuentran *Trichophyton mentagrophytes*, *rubrum*, *tonsurans* y *schoenleinii*, *Microsporium audouinii* y *Candida albicans* entre otros. Para ello realizaron el extracto de ajo con dientes frescos utilizando 10mL de agua por cada gramo de ajo seguido de dos extracciones usando dos volúmenes de cloroformo. La mezcla fue liofilizada y secada para quitar las trazas de cloroformo y luego y re- disuelta en agua. Mediante esta forma de extracción y la cuantificación realizada por el método HPLC de los componentes organosulfurados propios del ajo, el 76% corresponde a la alicina siendo está el 0,37% del ajo.

En una revisión detallada que Larry D. Lawson hace acerca del ajo¹⁴⁹ se detalla el contenido de organosulfurados que contiene el ajo respecto a otro tipo de alimentos como la cebolla, el cual es alrededor de 3mg por cada gramo de ajo, 4 veces mayor que la cebolla. Cerca del 95% de los componentes organosulfurados se encuentra en el ajo intacto y se pueden encontrar en dos clases los 5 - (+) - Alquil-L-cisteína sulfóxidos y los γ -L-Glutamil-5-alkil-L-cisteínas otro tipo de organosulfurados se encuentran una vez el ajo es expuesto a situaciones de estrés Alkyl alkanethiosulfonates entre este tipo de compuestos se encuentra la alicina en una cantidad de 2,5 a 4,5 miligramos por gramo de ajo macerado es decir del 0,25% al 0,45%

Como se evidencia en las investigaciones anteriores, la cantidad de alicina presente por gramo de ajo puede variar acorde a su método de extracción, tipo de ajo, solventes, entre otros factores, sin embargo, a nivel general este valor se mantiene en un promedio de 0,35%.

Otro factor que hace variar la concentración de alicina es el tipo de ajo la cual es más abundante en el ajo criollo morado, de acuerdo con Pradas Baena, I., Pereira Caro, G., Pérez Aparicio, J. y Moreno Rojas, J.M¹⁵⁰ se determina que la proporción del ajo morado corresponde a 1,3115% de alicina por cada gramo de ajo. Sustentando esto está el estudio realizado por Henry Mujica, María Pérez De Camacaro, María Elena Sanabria Chopite y Aracelis Giménez,¹⁵¹ donde se determina la cantidad de alicina en el ajo morado es en promedio 9,78mg por cada gramo de ajo fresco. Siendo esta 0,978% del ajo.

¹⁴⁹ LAWSON, Larry D. Garlic: a review of its medicinal effects and indicated active compounds.

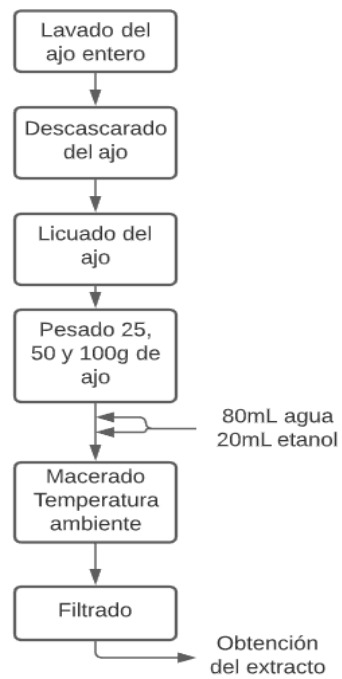
¹⁵⁰ PRADAS, I., PEREIRA, G., PERÉZ, J. & MORENO, J. Elaboración de un extracto de ajo rico en compuestos saludables. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de investigación y Formación Agraria y Pesquera. Cordoba, 2016. 1-16p.

¹⁵¹ MUJICA, Henry, et al. Efecto de la densidad de siembra, fertilización potásica y almacenamiento de los bulbos sobre la concentración de alicina en ajo criollo morado (*Allium sativum* check for this species in other resources L.) determinada mediante HPLC. *Revista Científica UDO Agrícola*, 2013, vol. 13, no 1, p. 128-134.

Considerando las condiciones de las diferentes experimentaciones y la cercanía de los datos. Se determina que el valor de alicina por gramo de ajo será de 0,0978.

Partiendo del método de extracción seleccionado se inicia la extracción de la alicina.

Ilustración 4. Diagrama de flujo obtención del extracto de alicina



Fuente: elaboración propia

Ilustración 5. Preparación de materias para extracción de alicina



Fuente: elaboración propia.

Ilustración 6. Dientes de ajo



Fuente: elaboración propia

Los dientes de ajo son triturados utilizando una licuadora de mano hasta conseguir una consistencia pastosa.

Posterior a ello se pesan 25, 50 y 1000 gramos del licuado de ajos y se sumergen en tres envases de vidrio con 100mL de una solución 80% agua y 20%etanol.

Ilustración 7. Envases con el licuado de ajo y el solvente



Fuente: elaboración propia.

El licuado de ajo se deja macerando a temperatura ambiente. De acuerdo con el estudio de Pradas Baena, I., Pereira Caro, G., Pérez Aparicio, J. y Moreno Rojas, J.M¹⁵²

el mejor tiempo al usar la maceración es de 24 horas.

Cada envase se deja por 24 horas en condiciones ambiente, pasado este tiempo cada frasco se filtra y se obtiene un líquido de color amarillento.

¹⁵² PRADAS, I., PEREIRA, G., PERÉZ, J. & MORENO, J. Elaboración de un extracto de ajo rico en compuestos saludables. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de investigación y Formación Agraria y Pesquera. Cordoba, 2016. 1-16p

Ilustración 8. Extracto de alicina
25g de ajo filtrado



Fuente: elaboración propia

De acuerdo con Cavallito, C. y Bailey Jonh¹⁵³ La alicina aislada en un estado puro es un líquido aceitoso incoloro. Por otro lado. A partir de Tantawan Pirak,¹ * Anuvat Jangchud¹ & Pantipa Jantawat²¹⁵⁴ en su complejo obtenido de alicina se obtuvo un color amarillo suave.

El color del extracto obtenido es ligeramente amarillo lo cual corresponde a un complejo de alicina y otros compuestos organosulfurados Según Larry D. Lawson¹⁵⁵ de los componentes organosulfurados la alicina representa entre el 70 y el 80% de estos, esto también depende del tipo de ajo seleccionado y acorde con Henry Mujica, María Pérez De Camacaro, María Elena Sanabria Chopite y Aracelis Giménez¹⁵⁶ la alicina correspondería a 9,78mg por cada gramo de ajo fresco.

Partiendo de este postulado y de acuerdo con la relación de 25g de ajo por cada 100mL se procede a determinar la concentración de alicina en el extracto, por medio la siguiente ecuación:

¹⁵³ CAVALLITO, Chester J.; BAILEY, John Hays. Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action. *Journal of the American Chemical Society*, 1944, vol. 66, no 11, p. 1950-1951.

¹⁵⁴ PIRAK, Tantawan; JANGCHUD, Anuvat; JANTAWAT, Pantipa. Characterisation of physical, chemical and antimicrobial properties of allicin–chitosan complexes. *International journal of food science & technology*, 2012, vol. 47, no 7, p. 1339-1347.

¹⁵⁵ LAWSON, op. cit. p 10

¹⁵⁶ MUJICA, Henry, et al. Efecto de la densidad de siembra, fertilización potásica y almacenamiento de los bulbos sobre la concentración de alicina en ajo criollo morado (*Allium sativum* check for this species in other resources L.) determinada mediante HPLC. *Revista Científica UDO Agrícola*, 2013, vol. 13, no 1, p. 128-134.

Ecuación 1. Ecuación de molaridad

$$\text{Molaridad} = \frac{\text{moles de soluto}}{\text{litros de solución}}$$

Los moles de soluto en este caso son los moles de alicina presentes en el extracto, y se determinan a continuación:

$$25gAjo \left(\frac{0,00978g \text{ Alicina}}{1gAjo} \right) \left(\frac{1mol \text{ Alicina}}{162,28g \text{ Alicina}} \right) = 0,00150665516 \text{ mol Alicina}$$

Una vez determinados los moles del soluto, la molaridad se da a continuación:

$$M = \frac{0.00151 \text{ moles Alicina}}{0.1L} = 0,01506M$$

Este resultado difiere de HIROYUKI FUJISAWA¹⁵⁷ donde se tiene una concentración de 0.012M en una extracción por maceración utilizando como solvente una solución agua-etanol (80-20); esto se puede observar a continuación por medio del porcentaje de error:

Ecuación 2. Porcentaje de error

$$\%error = \frac{|valor \text{ experimental} - valor \text{ exacto}|}{valor \text{ exacto}} * 100$$

El error se puede observar a continuación

$$\%error = \frac{|0,015066 - 0,012|}{0,012} * 100 = 25,55\%$$

Pese a que es un porcentaje de error bastante alto. Se debe considerar que la especie de ajo utilizada es diferente y que de acuerdo con Pradas Baena, I., Pereira Caro, G., Pérez Aparicio, J. y Moreno Rojas, J.M¹⁵⁸, en donde se da a conocer que la variedad de ajo morada criolla tiene un porcentaje más alto de alicina que lo que da una extracto más concentrado, aquí para una extracción con maceración y agitación constante se obtuvo una concentración de 0.015M; tomando la ecuación 2, a continuación se puede dar a conocer el porcentaje de error relativo en la concentración de alicina entre la variedad de ajo morada autóctona:

$$\%error = \frac{|0,015066 - 0,015|}{0,015} * 100 = 0,44\%$$

¹⁵⁷ FUJISAWA, op. cit. p. 3

¹⁵⁸ PRADAS, op. cit. p 10

Otro criterio de análisis para el extracto es la densidad del extracto.

Ilustración 8. Determinación de la densidad del extracto.



Fuente: elaboración propia.

Con el uso de un recipiente de contenido volumétrico conocido (50mL) y una gramera se tasa el cero y se depositan 50mL del extracto en el recipiente y se mide su peso el cual fue alrededor de 55g

Teniendo en cuenta la ecuación de la densidad:

Ecuación 3. Densidad

$$\rho = \frac{\text{masa}}{\text{Volumen}}$$

Se determina la densidad del extracto:

$$\rho = \frac{55g}{50mL} = 1,1 \text{ g/mL}$$

De acuerdo con la ficha técnica de la alicina¹⁵⁹ su densidad corresponde a 1,148g/mL teniendo un porcentaje de error de:

$$\%error = \frac{|1,1 - 1,148|}{1,148} * 100 = 4,1\%$$

¹⁵⁹ ECHEMI.{en línea} {20 de julio 2020} disponible en: (http://www.echemi.com/sds/allicin-pid_Seven43169.html)

Un error pequeño y se discute que los implementos utilizados carecen de más precisión para la evaluación de más cifras significativas. Sin embargo, el dato obtenido es cercano al real y se podría hacer una medición más certera con material de laboratorio.

3. EFECTO DEL EXTRACTO SOBRE UN CULTIVO FÚNGICO AMBIENTAL EN CAJA PETRI Y DIRECTAMENTE EN FRUTAS

Teniendo en cuenta la situación actual del mundo, bajo el panorama de cuarentena en el que tuvo que ser desarrollado el presente trabajo, los métodos aquí utilizados tuvieron que ajustarse sin perder la rigurosidad técnica a metodologías caseras con el uso de materiales y equipos que están disponibles en casa.

3.1 AISLAMIENTO DE HONGO AMBIENTAL

Se parte de una muestra de fresas ya que este fruto tiene una vida postcosecha muy corta debido a su exquisito sabor y a su alto valor nutricional además es un fruto no climatérico altamente sensible al daño mecánico haciéndolo susceptible a la invasión de microorganismos patógenos como el Moho gris o *botritis cinérea* y podredumbre blanca o *rhizopus stolonifer*.¹⁶⁰

La adquisición de las fresas se hizo en un mercado local comercializador de frutas, verduras, hortalizas y alimentos frescos en el barrio J. J. Vargas.

Como se realizó en el estudio de Jesenia Molina Roa las muestras de fresas se lavaron con agua corriente jabón común y se secaron con una toalla de papel estéril.¹⁶¹

Posterior a ello las fresas se depositaron en un plato de cerámica y se dejaron en oscuridad cerca de una fuente de calor para estimular el crecimiento de hongos patógenos.

¹⁶⁰ PLASCENCIA, op. cit. 20

¹⁶¹ MOLINA, J. Aislamiento y caracterización de hongos patógenos presentes en lulo, tomate de árbol y mora castilla potencialmente patógenos para cultivos de gulupa (*Passiflora edulis* var. *edulis* Sims). Bogotá, 2010, 43 p. Tesis de grado (Microbiología agrícola y veterinaria) Pontificia Universidad Javeriana.

Ilustración 9. Muestra de fresas para crecimiento del hongo ambiental



Fuente: elaboración propia

Después de 5 días en las condiciones mencionadas, se evidenció el crecimiento de un hongo ambiental:

Ilustración 10. Crecimiento de hongo ambiental en una muestra de fresas



Fuente: elaboración propia

Por sus características físicas, el hongo presente es el *Rhizopus Stolonifer*. Este tipo de hongo presenta un crecimiento muy acelerado pudiendo cubrir toda una caja de Petri en 3 días a temperatura ambiente.¹⁶²

¹⁶² VAZQUEZ, José. Rhizopus stolonifer: características morfología y ciclo vital. {en línea} {1 de agosto del 2020} disponible en: (<https://www.lifeder.com/rhizopus->

La caracterización del hongo se hizo partiendo de Schipper 1984 donde se realiza una caracterización del género *Rhizopus* tanto microscópica como morfológicamente. Por las limitaciones en el acceso a un laboratorio, las caracterizaciones se hicieron únicamente de forma morfológica: Las estructuras de las colonias del *Rhizopus stolonifer* son de aspecto firme, de micelio aéreo denso y algodonoso blanco inicialmente y luego con tono grisáceo.¹⁶³

Ilustración 11. Ataque de *rhizopus stolonifer* a una fresa.



Fuente: STRAWBERRY PLANTS. Strawberry Plant Diseases: Problems Caused by Bacteria, Fungi, Molds, and Viruses. 2020. {en línea} {30 de Julio 2020} disponible en: (<https://strawberryplants.org/diseases-fungi-molds/>)

Una vez identificado el hongo, se realizó el cultivo de este en PDA.

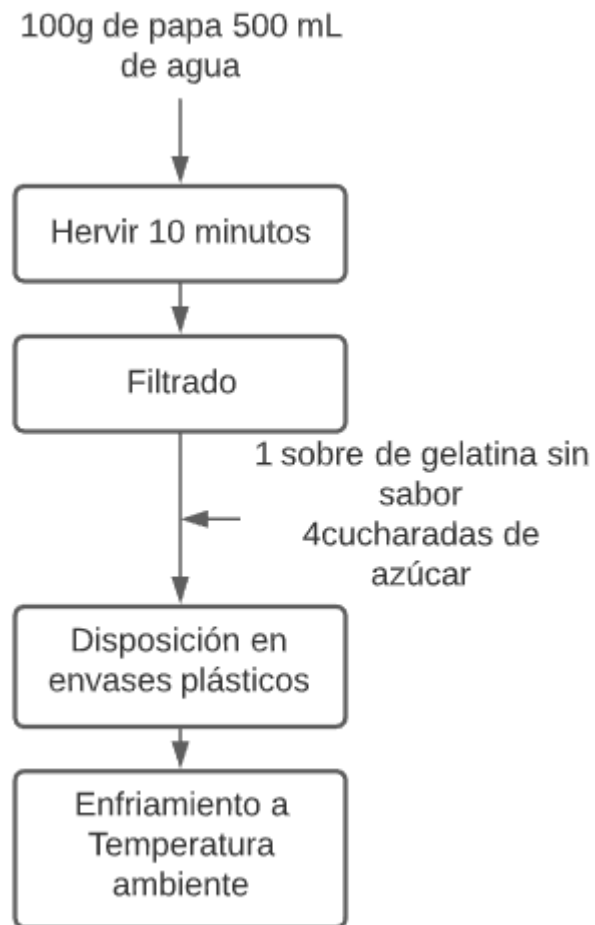
Por limitaciones en el acceso al material de laboratorio, el PDA tuvo una modificación en su preparación de acuerdo con Belén Ana¹⁶⁴ en lugar de agar-agar, se hizo uso de gelatina sin sabor:

[stolonifer/#:~:text=%26%20Hewelke%20\(1893\)-,Morfolog%C3%ADa,son%20de%20tonalidad%20pardo%20oscuro.](#))

¹⁶³ SHIPPER, M. A. A. A revision of the genus *Rhizopus* I. The *Rhizopus stolonifer*-group and *Rhizopus oryzae*. *Stud. Mycol.*, 1984, vol. 25, p. 1-19.

¹⁶⁴ BELÉN, Ana. ¿Cómo hacer un medio de cultivo casero? {en línea} {5 de junio del 2020} disponible en: (<https://www.youtube.com/watch?v=7OCa0GwS1Po&feature=youtu.be>)

Ilustración 12. Preparación del medio de cultivo PDA casero



Fuente: elaboración propia

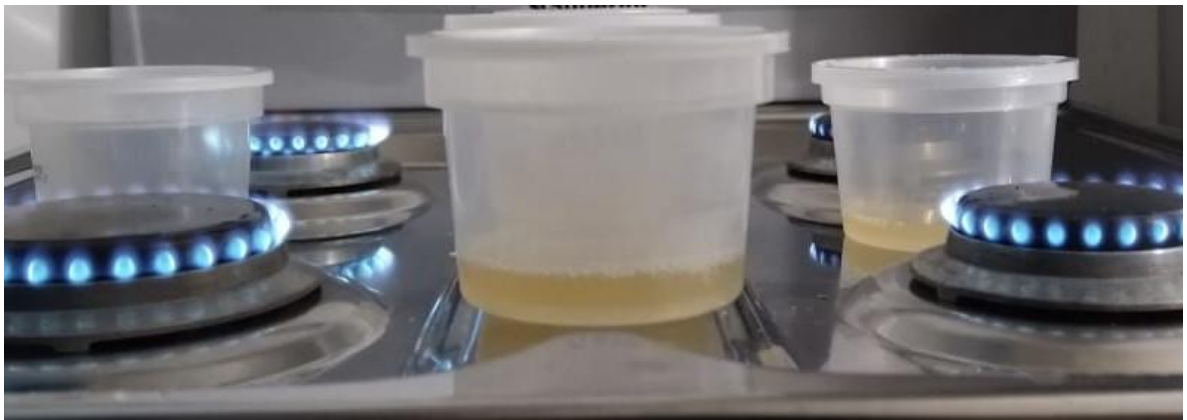
Ilustración 13. Correspondiente a 100g de papa y gelatina y sabor



Fuente: elaboración propia

Como se explica en la guía elaborada por L. Gilchrist¹⁶⁵ 100 gramos de papa común se ponen a hervir en 500mL de agua, posteriormente se hace el filtrado usando una gasa y al filtrado se le añade la gelatina sin sabor y 4 cucharadas de azúcar. El medio se dispone en recipientes plásticos previamente esterilizados con alcohol

Ilustración 14. Medio de cultivo PDA en recipiente plástico



Fuente: elaboración propia

Una vez dispuestos en los recipientes plásticos y se dejan a temperatura ambiente hasta que solidifiquen.

¹⁶⁵ GILCHRIST, L. *Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada*. CIMMYT, 1995.

Para aislar el hongo, con un asa metálica esterilizada se toma una pequeña muestra del tejido algodonoso seleccionando las partes de tono negro o marrón oscuro donde se evidencian las esporas y se planta en el PDA

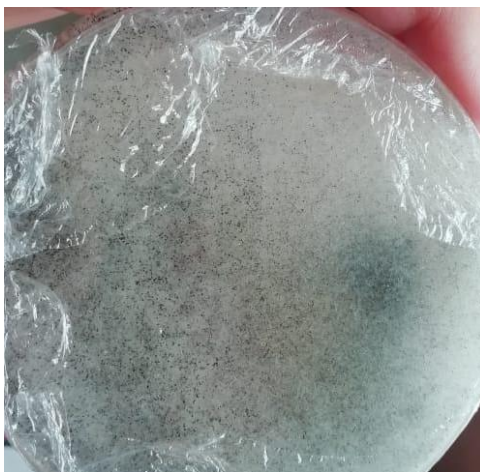
Ilustración 15. Aislamiento de *Rhizopus stolonifer* en PDA



Fuente: elaboración propia

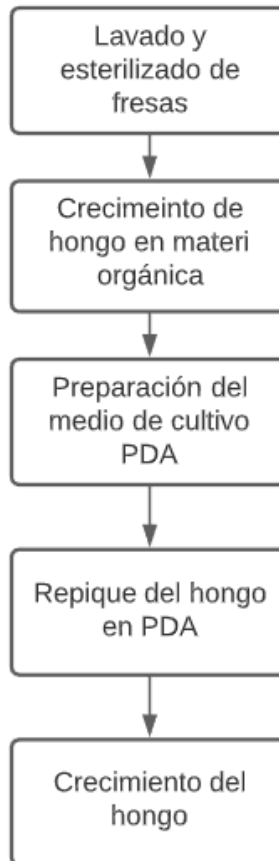
Tres días después, *rhizopus stolonifer* abarcó la totalidad de la caja de Petri

Ilustración 16. *Rhizopus stolonifer* tres días después de sembrado.



Fuente: elaboración propia

Ilustración 17. Diagrama de flujo para el aislamiento del hongo ambiental

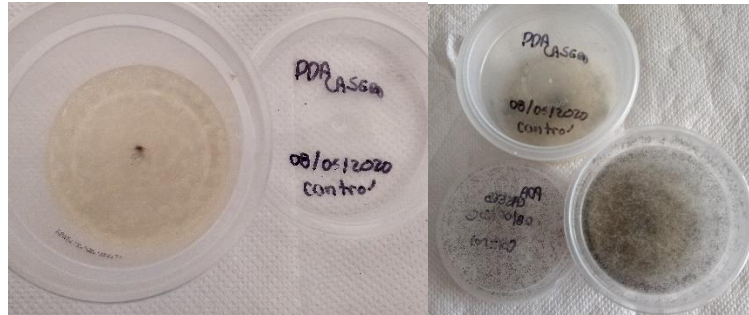


Fuente: elaboración propia

Para evaluar el efecto del extracto de alicina sobre el *Rhizopus stolonifer*. Se preparó nuevamente el medio de acuerdo con Katherine Monserrate y Silvia Franco¹⁶⁶ utilizando 4% de cada extracto de ajo en la preparación de los medios de cultivo Ver Anexo B y dejando un control positivo sin extracto.

¹⁶⁶ BASURTO VERA, Katherine Monserrate; FRANCO SALVATIERRA, Silvia Patricia. *Efecto del extracto de ajo (allium sativum) sobre la conservación del chorizo parrillero del cerdo criollo negro ibérico*. 2019. Tesis de Licenciatura. Calceta: ESPAM MFL.

Ilustración 18. Crecimiento del hongo en el control uno y cuatro días después de sembrado respectivamente



Fuente: elaboración propia

Acorde con el seguimiento en el crecimiento del hongo, se evidencia el impacto de cada extracto sobre el crecimiento de *Rhizopus Stolonifer*.

Se hace la réplica del extracto de alicina preparado con 25g de Ajo para evaluar el efecto del hongo directamente sobre una muestra de frutas, por su composición y sus propiedades las fresas son altamente atacadas por la podredumbre blanca, y se eligen como sujeto de estudio.

Las fresas se adquirieron en un mercado Local en el barrio J. J. Vargas, el mismo día.

Antes de ser tratada con el extracto, cada una de las muestras fueron lavadas y desinfectadas de acuerdo con¹⁶⁷ la guía encontrada de Molina, en donde da a conocer que se deben lavar con agua corriente y jabón, para posteriormente ser secados con una toalla de papel estéril. Para asegurar un buen control sobre la muestra, las fresas a tratar se expusieron en una cámara de luz ultravioleta por un periodo de 24 horas las 12 fresas y fueron esterilizadas para garantizar que todas las muestras partirán del mismo punto.

Para evaluar el efecto del extracto por medio de la aspersión se difundió en 9 de las 12 fresas y se distribuyó en tres réplicas de tres fresas y un control también de tres fresas.

El registro fotográfico se hizo diariamente para evaluar el cambio en las propiedades del material orgánico y verificar la presencia de algún hongo patógeno ambiental.

¹⁶⁷ MOLINA, op. cit. p. 15

Tabla 3. Registro fotográfico crecimiento de hongos patógenos en fresas







Imagen	Descripción
 <p>Una fotografía de un plato blanco con fresas. En la parte superior hay un grupo de fresas etiquetado como 'Blanco'. Debajo, hay tres grupos de fresas etiquetados como 'R1', 'R2' y 'R3'.</p>	<p>Día 0. Después de haber expuesto las muestras de fresa a luz ultravioleta por 24 horas las 6 muestras reflejadas en la parte inferior de la imagen se trataron con el extracto por medio de aspersión y el blanco se dejó sin tratar.</p>
 <p>Una fotografía de un plato blanco con fresas. En la parte superior hay un grupo de fresas etiquetado como 'Blanco'. Debajo, hay tres grupos de fresas etiquetados como 'R1', 'R2' y 'R3'.</p>	<p>Día 1. No se refleja crecimiento fúngico en las muestras de fresas, sin embargo, se refleja un leve cambio de color en el blanco.</p>
 <p>Una fotografía de un plato blanco con fresas. En la parte superior hay un grupo de fresas etiquetado como 'Blanco'. Debajo, hay tres grupos de fresas etiquetados como 'R1', 'R2' y 'R3'.</p>	<p>Día 2. El blanco refleja un crecimiento de un hongo ambiental que empieza a proliferarse en la fresa central, las muestras tratadas (R1, R2, R3) no presentan crecimiento.</p>

Tabla 3. (Continuación)

	<p>Día 3. El blanco presenta una infestación completa en la fresa central y las réplicas tratadas se empiezan a contaminar desde la parte inferior.</p>
	<p>Día 4. La totalidad de las fresas correspondientes al blanco están infestadas de hongos patógenos, y las tratadas empiezan a infestarse</p>
	<p>Día 5. Ya se evidencia un ataque total de hongos patógenos ambientales sobre la muestra de frutas</p>

Fuente: elaboración propia

De acuerdo con la tabla anterior se evidencia que el extracto de alicina controla el crecimiento de hongos patógenos, si bien no prolonga la vida útil ya que las propiedades organolépticas cambiaron, si protege las frutas de ataques fúngicos.

4. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS

A partir de los datos obtenidos en la experimentación se determinan los requerimientos técnicos en el proceso para la obtención del extracto de alicina a partir de la especie *Allium Sativum*. Inicialmente se propone un diagrama de bloques para el reconocimiento de las materias y el respectivo balance de masa para determinar los equipos que se van a usar y su respectiva capacidad.

4.1 BASE DE CÁLCULO.

De acuerdo con la experimentación el extracto de alicina tiene una concentración aproximada de 0,0151 M. Para una inhibición del crecimiento de rhizopus sobre las superficies orgánicas se aplicaron 100mL de extracto.

La producción del extracto de alicina está basada en la cantidad de fresa que el establecimiento de comercio de productos frescos “La siembra” Ubicado en el barrio J. J. Vargas comercializa en la semana. Aproximada se reciben 20kg de fresa semanal. Con base en lo anterior, para lograr una cobertura a nivel local, se requiere tratar aproximadamente 600kg de fresa semanal.

De acuerdo con el desarrollo experimental 100mL de extracto están diseñados para tratar 500 gramos fresa y se requiere realizar una repetición en la aplicación al 4 día, es decir, se requerirían 200mL para tratar 500 gramos de fresa semanalmente; a continuación, se muestra la determinación de la cantidad de extracto semanal:

$$600kg \left(\frac{100mL}{0.5kg} \right) = 240.000mL$$

Teniendo en cuenta lo anterior, se necesitan 240L de extracto semanalmente, si se consideran desperdicios o algún incremento en la distribución semanal se realizará un aproximado de 250L semanal para un total de 1000L al mes y 12000L al año.

El proceso a un nivel local no requiere una planta de magnitud industrial:

Capacidad de producción la planta: La planta tendrá una operación de 8 horas al día 4 días a la semana produciendo 1000L mensuales. El proceso se repetirá día de por medio para cubrir el requerimiento mensual

Ubicación de la planta: La planta estará ubicada en la localidad de Barrios Unidos a 1.9 km del mercado “La siembra” para facilidades en la distribución del extracto.

4.2 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

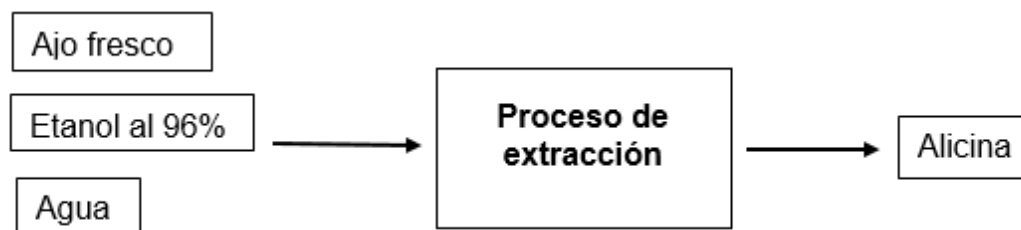
Teniendo en cuenta los procesos realizados en el capítulo anterior, a continuación, se da a conocer el proceso para una producción mensual de 25 litros de extracto de alicina⁰

4.2.1 Descripción general. En la descripción general del proceso se listan cada una de las etapas

- Recepción de materias primas
- Acondicionamiento del ajo fresco (lavado)
- Descascarillado
- Triturado
- Macerado
- Filtrado

4.2.2 Diagrama de entradas y salidas. Permite reconocer las etapas del proceso para entender conceptualmente cada una de las entradas y salidas del proceso de extracción de la alicina a partir de la especie *Allium Sativum*¹⁶⁸.

Diagrama 1. Diagrama de entradas y salidas



Fuente: elaboración propia

4.2.3 Diagrama de bloques. El diagrama de bloques permite tener una visual general del funcionamiento del proceso de producción de extracto de alicina a partir de la especie *Allium Sativum* y reconocer las corrientes de manera gráfica.

Teniendo en cuenta la base de cálculo determinada anteriormente se realiza el balance de masa general del proceso para determinar la cantidad de solvente y ajo del proceso.

Ecuación 3. Balance de masa general

¹⁶⁸ WELCH, Thomas Elliott. *Moving Beyond Environmental Compliance: A Handbook for Integrating Pollution Prevention with ISO 14000*. CRC Press, 1997.

$$m_1 = m_2$$

Tomando en cuenta el balance de masa general, y, que la masa 1 es la masa del etanol sumado la masa del agua, y la cantidad de extracto; se determina la cantidad de solvente determina la cantidad final de extracto. Al ser una solución de 80% agua y 20% etanol tenemos que:

$$m_{et} = 250 * 0,2 = 50L$$

$$m_{agua} = 250L * 0,8 = 200L$$

Por tanto, la determinación cantidad de solvente semanal

$$m_{et} + m_{agua} = 125L$$

Y, de acuerdo con la preparación del extracto por cada 100mL de solvente (agua etanol se necesitan 25g de ajo; la cantidad de ajo necesaria para 6.25L de solvente es:

$$250L \text{ solv.} \left(\frac{1.000mL \text{ solv.}}{1L \text{ solv.}} \right) \left(\frac{25g \text{ ajo}}{100mL \text{ solv.}} \right) = 62.500g \text{ ajo}$$

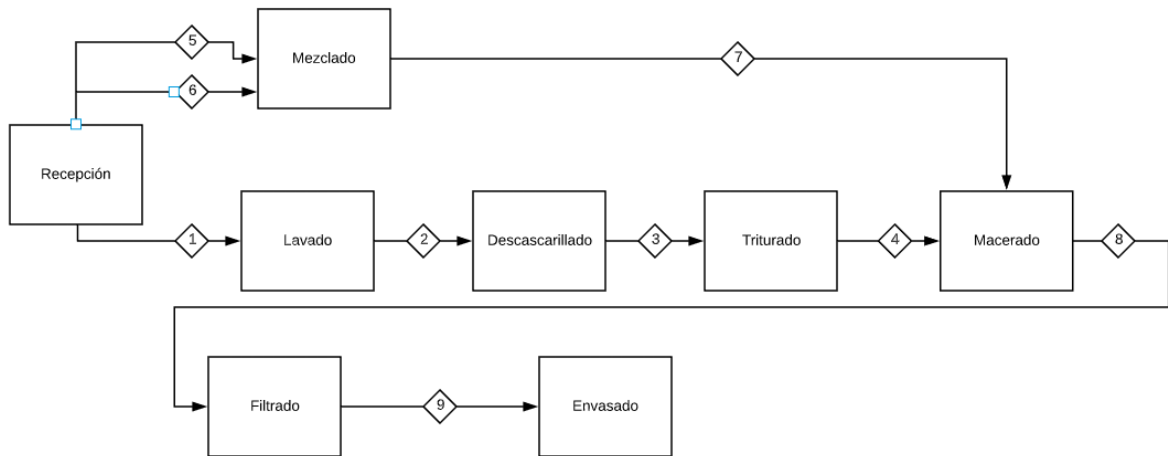
Teniendo en cuenta que el etanol, el agua y el producto son de carácter líquido y su medición es volumétrica, a partir de la tabla 4 tenemos las densidades para su uso.

Tabla 4. Densidades de los diferentes líquidos

Líquido	Densidad (g/mL) a 20°C
Etanol 96%	0,812
Agua	1
Alicina	1,148

Fuente: YAWS, Carl L. Yaws handbook of thermodynamic properties for hydrocarbons and chemicals. New York: Knovel, 2009.

Ilustración 19. Diagrama de bloques del proceso



Fuente: elaboración propia

La corriente del diagrama de bloques del proceso se da a continuación:

Tabla 5. Corrientes del proceso

Número	Corriente
1	Ajo fresco entero
2	Ajo fresco entero lavado
3	Ajo fresco sin cáscara en dientes
4	Ajo triturado
5	Etanol 96%
6	Agua
7	Solución etanol- agua 20-80%
8	Mezcla Ajo-Solvente
9	Extracto de alicina

Fuente: elaboración propia

4.2.4 Diagrama de flujo de proceso (PFD). Mediante el diagrama PFD se representa el proceso con la respectiva simbología para cada equipo, se relacionan las corrientes con sus respectivos flujos teniendo como base los 125L a producir semanalmente.

También se presenta una descripción de los equipos y el detalle del proceso:

Tabla 6. Listado de equipos y su convención

Convención	Tipo de equipo	Descripción
L-100	Lavadora	Lavadora hidrodinámica en acero inoxidable AISI 304.
P-100	Descascador	Pelador de ajo automático.
T-100	Trituradora	Trituradora de ajo industrial, eléctrica de acero inoxidable.
TK-100	Mezclador	Tanque en acero inoxidable con sistema de agitación.
M-100	Macerador	Tanque en acero inoxidable con agitador universal de flujo radial dinámico.
F-100	Filtrador	Filtro industrial auto limpiante en acero inoxidable.
E-100	Envasadora	Envasadora de líquidos de 5 a 100mL en acero inoxidable.

Fuente: elaboración propia

El proceso da inicio con la recepción de materias primas. Los solventes se dirigen hacia el tanque mezclador TK-100 por medio de una tubería. Al ajo fresco se le realizan unas pruebas de calidad a partir de Figueroa-González, J. J., Reveles-Hernández, M., AlvaradoNava, M. D. y García-Guardado, K. B¹⁶⁹ consisten en evaluar físicamente características como el peso el cual debe estar entre los 46,1 y los 89,1g, el diámetro debe oscilar entre 53mm y 74mm y el número de dientes de ser cercano a los 32, unas muestras aleatorias de ajo se toman para realizar dichas pruebas y una vez confirmadas se realiza la descarga en la lavadora de hidrodinámica L-100 donde inicia su acondicionamiento. Mientras que el tanque TK-100 se prepara la solución (80-20) de agua-etanol para la maceración.

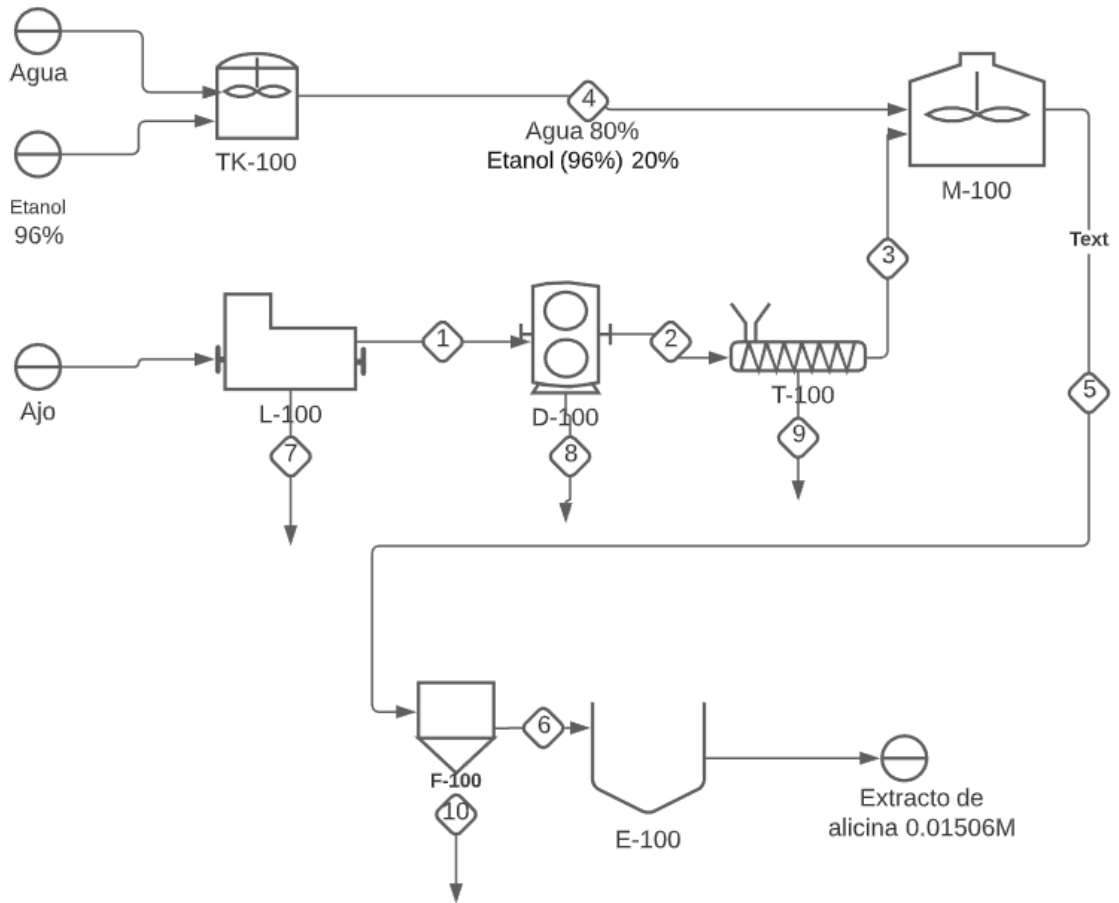
El acondicionamiento del ajo consta de tres etapas, la anterior mencionada que es el lavado, la salida de la lavadora corresponde a la corriente 1 que ingresa al pelador de ajo automático D-100 donde se desprenden 2 corrientes; el residuo de cáscara en la corriente 7 y el ajo lavado y descascarado que corresponde a la corriente 2 la cual finaliza en la trituradora de ajo industrial T-100 cuya función es ampliar el área de contacto del ajo que tendrá contacto con el solvente.

Para la maceración, el tanque TK-100 en la corriente 4 se descarga al macerador M-100 donde también se descarga el ajo acondicionado desde la corriente 3 y se deja con agitación radial dinámica por un periodo de 24 horas.

¹⁶⁹ FIGUEROA GONZÁLEZ, Juan José, et al. Tipificación fisicoquímica y productos agroindustriales de ajos zacatecanos. 2014.

Pasado el tiempo el macerado en la corriente 5 inicia el proceso de filtración para disponer del residuo de ajo triturado de la corriente 8 y obtener el extracto de alicina de la corriente 6 para ser envaso en su presentación de 1L

Ilustración 20. Diagrama de proceso.



Fuente: elaboración propia

4.3 BALANCE DE MASA.

Para el dimensionamiento de los equipos se realiza el respectivo balance de masa por operación unitaria:

4.3.1 Lavadora. Se realiza el lavado de la materia prima para eliminar los residuos de tierra y suciedad provenientes del proceso de transporte del ajo, estos residuos pueden significar hasta un 5% de pérdidas en el peso efectivo del ajo¹⁷⁰. El ajo ingresa entero, en bulbos.

Ilustración 21. Diagrama de la lavadora



Fuente: elaboración propia

$$m_i = m_1 + m_7$$

$$46.741,8g = 44.516g + m_7$$

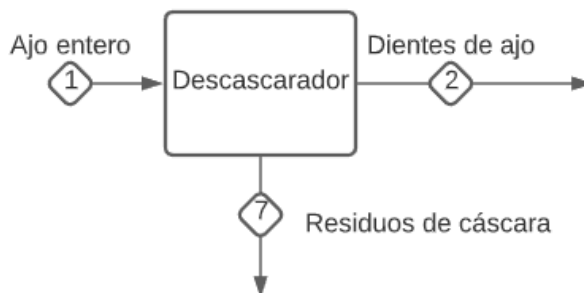
$$m_7 = 46.741,8g - 44.516g = 2225,8g$$

4.3.2 Descascarador. De la totalidad del ajo según el libro de Tipificación fisicoquímica y productos agroindustriales de ajos zacatecanos de Figueroa¹⁷¹ entre el 73 y el 78% corresponde al ajo fresco tras eliminar la cáscara.

¹⁷⁰ ARCE ARBILDO, Lady. "Obtención de ajo (*Allium sativum* L.) en polvo y su evaluación en almacenamiento. 2006.

¹⁷¹ FIGUEROA GONZÁLEZ, Juan José, et al. Tipificación fisicoquímica y productos agroindustriales de ajos zacatecanos. 2014.

Ilustración 22. Diagrama del descascarador



Fuente: elaboración propia

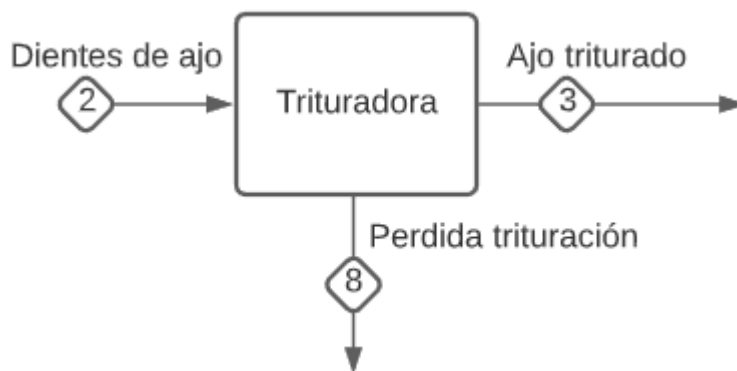
$$m_1 = m_2 + m_7$$

$$m_2 = 44.516g * 0,78 = 34.722,5g$$

$$m_7 = 44.516g * 0,22 = 9.793,5g$$

4.3.3 Trituradora. De acuerdo con la experimentación realizada, para obtener los 25g de ajo necesarios para la obtención del extracto se partió de 27.8g de dientes de ajo. Lo que nos da un porcentaje de pérdida aproximado de 10% por razones como materia prima pegada a los equipos

Ilustración 23. Diagrama de la trituradora



Fuente: elaboración propia

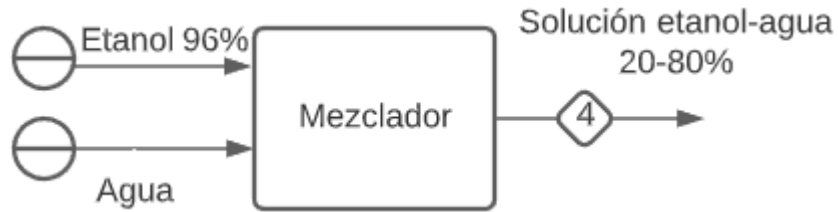
$$m_2 = m_3 + m_8$$

$$m_3 = 34.722,5g * 0,9 = 31.250,2g$$

$$m_8 = 34.722,5g * 0,1 = 3.472,3g$$

4.3.4 Mezclador. En el mezclador se puede observar la mezcla entre etanol y agua, como se muestra a continuación

Ilustración 24. Diagrama del mezclador



Fuente: elaboración propia

$$m_{et} = 125 * 0,2 = 25L$$

$$m_{agua} = 125L * 0,8 = 100L$$

$$m_{et} + m_{agua} = m_4$$

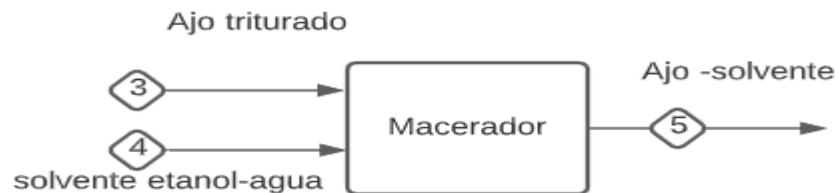
$$m_{et} = 25L \left(\frac{1.000mL}{1L} \right) \left(\frac{0,812g}{1mL} \right) = 20.300g$$

$$m_{agua} = 100L \left(\frac{1.000mL}{1L} \right) \left(\frac{1g}{1mL} \right) = 100.000g$$

$$m_4 = 120.300g$$

4.3.5 Macerador. La maceración se realiza por un periodo de 24 horas a temperatura ambiente con agitación constante.

Ilustración 25. Diagrama del macerador



Fuente: elaboración propia

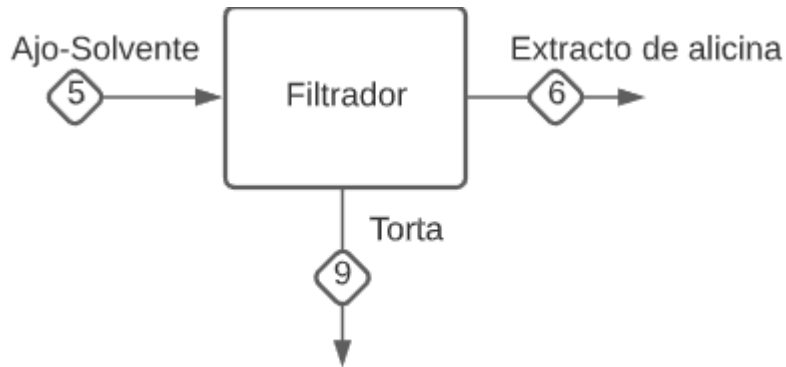
$$m_3 + m_4 = m_5$$

$$31.250,5 + 120.300g = 161.550,5g$$

4.3.6 Filtrador. El macerado pasa a un proceso de filtración para obtener el extracto de alicina.

De acuerdo con la parte experimental para cubrir la necesidad semanal de extracto de alicina el producto serán 143.500g de extracto de alicina

Ilustración 26. Diagrama de filtración



Fuente: elaboración propia

$$m_5 = m_6 + m_9$$

$$m_9 = 161.550,5g - 143.500 = 18.050g$$

4.4 EQUIPOS

Con base en los balances de masa se consultan los equipos a nivel industrial necesarios para la extracción de alicina y se determinan las características del diseño.

4.4.1 Lavadora. En la etapa de lavado se debe retirar completamente cualquier impureza con la que venga la materia prima principalmente la tierra. Debe tener la capacidad para lavar aproximadamente 30kg de ajo.

Se usará la lavadora general de alimentos Ref. 10017 de acero inoxidable. Tiene una capacidad de producción de 20 a 40Kg por carga con un tiempo de lavado de 3 a 5 minutos por carga

Ilustración 27. Lavadora para alimentos con capacidad de 20 a 40 kg por carga



Fuente: IMARCA. Distribuidora imarca C.A. Lavadora general de alimentos. {en línea} {20 de agosto} disponible en: (<http://imarca.com.ve/Lavadora-general-de-Alimentos.php>)

La lavadora tiene un sistema colador y un sistema de volcado permitiendo que el operador retire los ajos lavados sin necesidad de tocarlos .

Tabla 7. Datos técnicos de la lavadora de ajos

Capacidad	kg/h	20-40
Volumen	m ³	2,12
Área	m ²	1,925
Material	Acero inoxidable	

Fuente: IMARCA. Distribuidora imarca C.A. Lavadora general de alimentos. {en línea} {20 de agosto} disponible en: (<http://imarca.com.ve/Lavadora-general-de-Alimentos.php>)

4.4.2 Descascarador. Se encuentra en el mercado un descascarador de acero inoxidable con capacidad de procesamiento de 25Kg por hora de acero inoxidable que permite obtener en dos cochadas el ajo pelado necesario para continuar con la producción

Ilustración 28. Descascarador para ajos



Fuente: ALIBABA. Pelador eléctrico de ajos fábrica GRT-G160. {en línea} {20 de Julio 2020} disponible en: (<https://spanish.alibaba.com/product-detail/grt-g160-factory-price-electric-garlic-peeler-machine-220v-60837000560.html?spm=a2700.8699010.normalList.22.7dd82a9efW1Oui>)

Tabla 8. Datos técnicos del descascarador de ajos

Capacidad	kg/h	25
Volumen	m ³	0,0189
Área	m ²	0,042
Material	Acero inoxidable	

Fuente: ALIBABA. Pelador eléctrico de ajos fábrica GRT-G160. {en línea} {20 de Julio 2020} disponible en: (<https://spanish.alibaba.com/product-detail/grt-g160-factory-price-electric-garlic-peeler-machine-220v-60837000560.html?spm=a2700.8699010.normalList.22.7dd82a9efW1Oui>)

4.4.3 Triturador de ajo. El triturador de ajo debe aumentar el área de contacto de ajo para mejorar el rendimiento de la extracción sólido líquido.

Ilustración 29. Trituradora



Fuente: MADE IN CHINA. Máquina de ajo pelado ajo el ajo pelado máquina dispensador. {en línea} {31 de julio 2020} disponible en: (<https://spanish.alibaba.com/product-detail/industrial-garlic-crusher-electric-garlic-crusher-garlic-crusher-machine-62294114407.html?spm=a2700.8699010.normalList.1.7bba500eeDE4Pr&s=p>)

Tabla 9. Datos técnicos de la trituradora de ajos

Capacidad	kg/h	300
Volumen	m ³	0,2879
Área	m ²	0,2769
Material	Acero inoxidable	

Fuente: MADE IN CHINA. Máquina de ajo pelado ajo el ajo pelado máquina dispensador. {en línea} {31 de julio 2020} disponible en: (<https://spanish.alibaba.com/product-detail/industrial-garlic-crusher-electric-garlic-crusher-garlic-crusher-machine-62294114407.html?spm=a2700.8699010.normalList.1.7bba500eeDE4Pr&s=p>)

4.4.4 Tanque mezclador. Para el almacenamiento y el mezclado de la solución de etanol-agua se requiere un tanque agitador de acero inoxidable con resistencia a la corrosión.

Ilustración 30. Tanque mezclador



Fuente: ALIBABA Tanque de mezcla Industrial de acero inoxidable de 50 500 litros a precio de fábrica. {en línea} {20 de Julio 2020} disponible en: (<https://spanish.alibaba.com/product-detail/industrial-50-500-liter-factory-price-stainless-steel-mixing-tank-62211448937.html?spm=a2700.galleryofferlist.0.0.718b5cbcexlpMP>)

El tanque es de almacenamiento cilíndrico y de orientación vertical para aprovechar el espacio.

Tabla 10. Datos técnicos del tanque mezclador

Capacidad	L	50-500
Volumen	m ³	0,63
Área	m ²	0,052
Material	Acero inoxidable	

Fuente: ALIBABA Tanque de mezcla Industrial de acero inoxidable de 50 500 litros a precio de fábrica. {en línea} {20 de Julio 2020} disponible en: (<https://spanish.alibaba.com/product-detail/industrial-50-500-liter-factory-price-stainless-steel-mixing-tank-62211448937.html?spm=a2700.galleryofferlist.0.0.718b5cbcexlpMP>)

4.4.5 Macerador

Para la maceración se necesita un tanque con agitación constante durante un periodo de 24h que permita que porciones frescas del solvente estén en contacto con el ajo para un mejor rendimiento en la extracción.

Ilustración 31. Macerador



Fuente: ALIBABA Industrial Heated Steel Lotion Making Emulsifier Machines body lotion mixer {en línea} {20 de Julio 2020} disponible en: (<https://spanish.alibaba.com/product-detail/industrial-heated-steel-lotion-making-emulsifier-machines-body-lotion-mixer->

Tabla 11. Datos técnicos del macerador

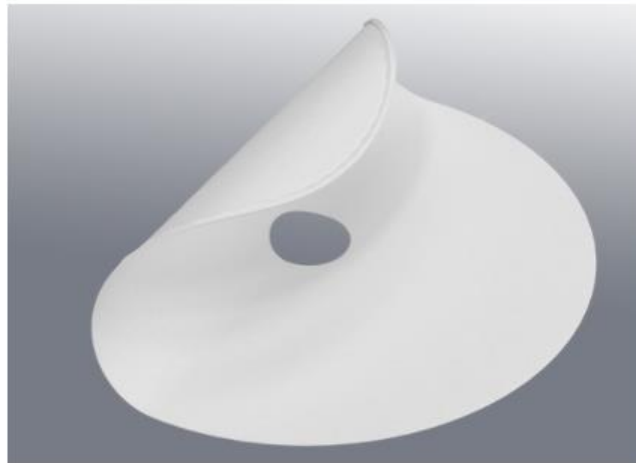
Capacidad	L	50-500
Volumen	m ³	300
Área	m ²	0.84
Material	Acero inoxidable	

Fuente: : ALIBABA Industrial Heated Steel Lotion Making Emulsifier Machines body lotion mixer {en línea} {20 de Julio 2020} disponible en: <https://spanish.alibaba.com/product-detail/industrial-heated-steel-lotion-making-emulsifier-machines-body-lotion-mixer-62239670904.html?spm=a2700.7735675.normalList.81.38b334eekDcNMX>

4.4.6 Filtrador

El proceso de filtración garantiza un extracto libre de residuos sólidos que puedan afectar la estética del producto en la aplicación final. Su facilidad en la instalación y mantenimiento es de vital importancia para un producto libre de partículas sólidas.

Ilustración 32. Filtrador



Fuente: SEFAR. Filtros de disco horizontales. {en línea} {20 de Julio 2020} disponible en: <https://www.sefar.com/es/609/Filtraci%C3%B3n%2Bde%2BProceso/Equipo/Filtros%2Bde%2Bdisco%2Bhorizontales/Filtros-de-disco-horizontales.htm?Folder=6917307>

El filtro de disco horizontal se caracteriza por su ajuste preciso y su fácil instalación. La tecnología de tejido combina un tejido de filtro fino con un soporte resistente.

4.4.7 Envasadora. La envasadora deberá tener una capacidad para envasar los 125L en presentación de 1L.

Ilustración 33. Envasadora



Fuente: DISEYCO LTDA. Envasadora de líquidos. {en línea} {26 de Julio 2020} disponible en: (<http://www.catalogodeempaque.com/ficha-producto/Envasadora-de-liquidos-%C2La-Experta%C2+101382>)

Tabla 12. Datos técnicos de la envasadora de líquidos

Capacidad	L	80
Volumen	m ³	Bajo pedido
Material	Acero inoxidable	

Fuente: DISEYCO LTDA. Envasadora de líquidos. {en línea} {26 de Julio 2020} disponible en: (<http://www.catalogodeempaque.com/ficha-producto/Envasadora-de-liquidos-%C2La-Experta%C2+101382>)

A continuación, se presenta un resumen de los equipos y las condiciones de operación de cada uno:

Tabla 13. Descripción de los equipos y sus condiciones de operación

EQUIPO	ESPECIFICACIÓN	MATERIAL	CONDICIONES DE OPERACIÓN
Lavadora	Debe tener una capacidad para lavar de 30kg de ajo semanal.	Acero inoxidable	Los equipos van a operar a condiciones ambientales propias de la ciudad de Bogotá, D.C que incluye una temperatura que oscila entre los 13°C y los 20°C y humedad relativa que oscila entre 77 y 83%
Descascador	Debe tener una capacidad para descascarar 30kg de ajo semanal	Acero inoxidable	
Trituradora	Debe aumentar el área de contacto del ajo sin pulverizar la materia prima	Acero inoxidable	
Mezclador	Debe tener la capacidad de mezclar uniformemente 125 L de solvente	Acero inoxidable	
Macerador	Debe mantener una operación de 24 horas con agitación constante	Acero inoxidable	
Filtrador	Debe asegurar un extracto libre de partículas sólidas y ser de fácil mantenimiento para retirar la torta	Acero inoxidable	
Envasadora	Debe tener la capacidad de envasar el extracto en presentaciones de 1L	Acero inoxidable	

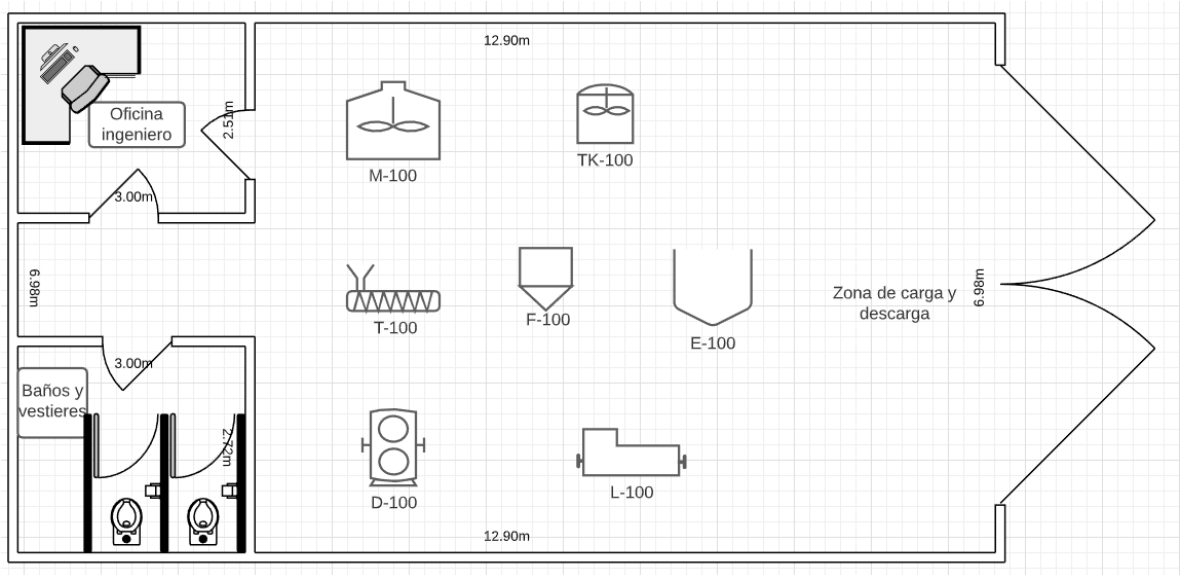
Fuente: INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. (IDEAM) Características Climatológicas de ciudades principales o, Bogotá, D. C: IDEAM, 2001. {en línea} {1 de agosto 2020} disponible en: (<http://www.ideam.gov.co/documents/21021/418894/Caracter%C3%ADsticas+de+Ciudades+Principales+y+Municipios+Tur%C3%ADsticos.pdf/c3ca90c8-1072-434a-a235-91baee8c73fc>)

4.5 PLANO DE DISTRIBUCIÓN DE PLANTA

Acorde con la página de Fincaraíz.com¹⁷² una bodega en el barrio J. Vargas oscila entre los 90 y los 140m²

Teniendo en cuenta la dimensión de los equipos se opta por la bodega de 90 m² y el plano de distribución de planta sería el siguiente:

Ilustración 34. Propuesta distribución de planta.



Fuente: elaboración propia

Para un valor aproximado, cada equipo no supera el metro cuadrado de área por lo tanto se distribuyen en la bodega de la manera cómo se evidencia en la ilustración 34 y se considera dejar dos metros de espacio entre cada equipo para desplazamiento. Se incluye un área de carga y descarga, si bien no puede entrar el camión por la ubicación de la bodega se deja esta área para reposar las estibas mientras se cargan los quipos y se involucra el área de oficina y el área de baños para los operarios.

¹⁷² DEL SECTOR INMOBILIARIO, Perspectivas. Fincaraíz. com.co. 2020. {en línea} disponible en: https://www.fincaraiz.com.co/bodega-en-arriendo/bogota/jose_joaquin_vargas-det-4973778.aspx

5. ANÁLISIS DE COSTOS

El análisis de costos permite tener una visual general de la extracción de alicina a partir de la especie *Allium Sativum* a un nivel económico. Para sentar las bases de una evaluación económica más detallada.

5.1 COSTOS DE OPERACIÓN

Para evaluar los costos de operación se tiene en cuenta el costo asociado a las materias primas, la mano de obra y los servicios auxiliares necesarios para producir 125L de extracto de alicina semanal.

5.1.1 Materia prima. El costo de la materia prima se obtiene multiplicando el valor comercial por la cantidad necesaria para la producción del extracto.

Para el caso del ajo, el precio se toma del boletín diario de precios actualizado por Corabastos¹⁷³

El costo del agua se tomó a partir de las tarifas de agua dadas por el acueducto de Bogotá para el año 2020 según los precios para su uso industrial.¹⁷⁴ Por último, el precio del Etanol al 96% De grado alimenticio se buscó en el catálogo de proveedores de Sapanish.alibaba¹⁷⁵

¹⁷³ DE BOGOTÁ, Alcaldía Mayor. . Bogotá Boletín de precios Central de Abastos–Corabastos. 2020. {en línea} {26 de agosto 2020} disponible en: (<https://www.corabastos.com.co/sitio/historicoApp2/reportes/BoletinDescarga.php>)

¹⁷⁴ EMPRESA DE ACUEDUCTO Y ALCANTARILLADO DE BOGOTÁ EAAB: ES.P. Tarifas 2020. 2019 {en línea}{6 de febrero de 2020} disponible en: ([¹⁷⁵ ALIBABA. Etanol desnaturalizado/alcohol etílico al 96% de grado de alimentos {en línea} {20 de Julio 2020} disponible en: <https://spanish.alibaba.com/product-detail/denatured-ethanol-ethyl-alcohol-96-food-grade-62525568088.html>](https://w0www.acueducto.com.co/wps/portal/EAB2/Home/atencion-al-usuario/tarifas/tarifas_2020!/ut/p/z1/nZFN4NAEIZ_Sw8e64yTrSy9rZJqG4jZFlmdS9BgN4Jxg7GV_vtKCqUWSUPnNsPzzsc7wJABN_I7ZfKusk1eD_kL-9uF9CmOJC0ILQRqT83jYK4oiQk2Z8DXIXoSaYmCQtTPq2CdpKG38gTwnXochcJgTcEMMUroP_qfna7TXwD4cvsN8Bn5diDyHxC1jhRKMRwi7n4DExZNDBI78NcWT8CmtsXXw1RTzKQBbsvXsi1b960dyvuuO57uHXSw73vXWGvq0t3Zg4NTkr09dZCNSTge0jTNsHq85eKjVzefYZwUaw!!/dz/d5/L2dBISEvZ0FBIS9nQSEh/.))</p></div><div data-bbox=)

Tabla 14. Descripción precios de la materia prima.

Materia prima	Valor comercial (COP/Kg)	Cantidad (Kg)	Costo Semanal (COP)	Costo anual (COP)
Ajo morado	\$ 9.000	44,516	\$ 400.644	\$ 19.230.912
Agua	\$ 4,045	100	\$ 400,5	\$ 19.416
Etanol (96%)	\$ 3.982,42	20,3	\$ 80.640,126	\$ 3.880.470,048
Total	\$ 12.986	164,816	\$ 481.656,12	\$ 23.130.798.05

Fuente: elaboración propia

5.1.2 Mano de obra. Para la mano de obra, se consideran 2 operarios encargados de los procesos de adecuación y carga de los equipos y el proceso de reemplazo del filtro extrayendo la torta residual, así como de la supervisión general de los quipos. Los operarios tendrán una asignación salarial correspondiente al salario mínimo legal vigente con el respectivo auxilio de transporte el cual corresponde a \$ 980.657 COP¹⁷⁶ Y se le suma el 20.5% que el empleador debe pagar de prestaciones sociales¹⁷⁷

Se cuenta con un ingeniero químico a cargo de la supervisión de la planta cuyas bases en ingeniería económica permite que a su vez esté al tanto de la parte administrativa. Según la página de computrabajo¹⁷⁸ de acuerdo con una estimación a partir de 1.551.821 fuentes obtenidas de empresas, el sueldo medio para un ingeniero químico es de \$ 2.139.407

¹⁷⁶ EL EMPLEO. Definido salario mínimo en Colombia para 2020. {en línea} {20 de agosto 2020} disponible: (<https://www.eempleo.com/co/noticias/noticias-laborales/definido-salario-minimo-en-colombia-para-2020-5993#:~:text=El%20salario%20m%C3%ADnimo%20mensual%20legal,de%20transporte%2C%20ser%C3%A1%20de%20%24980.657.&text=El%20presidente%20Iv%C3%A1n%20Duque%20anunci%C3%B3,ser%C3%A1%20del%206%20por%20ciento.>)

¹⁷⁷ CONTABLE, Consultorio. Universidad EAFIT. ". *El sistema de información*, 2020. {en línea} {20 de agosto 2020} disponible en: (<https://www.eafit.edu.co/escuelas/administracion/departamentos/departamento-contaduria-publica/planta-docente/Documents/Nota%20de%20clase%2072%20aspectos%20sobre%20salario,%20nomina%20y%20parafiscales.pdf>)

¹⁷⁸ COMPUTRABAJO. Salario de Ingeniero químico en Colombia. 2020. {en línea} {10 de agosto 2020} disponible en: (<https://www.computrabajo.com.co/salarios/ingeniero-quimico>)

Tabla 15. Descripción de precios de la mano de obra

Cargo	Empleados	Sueldo neto	Prestaciones sociales	Total mensual (COP)	Total anual (COP)
Operario	2	\$ 980.657	\$ 201.034,685	\$ 2.363.383,4	\$ 28.360.600,4
Ingeniero Químico	1	\$ 213.9407	\$ 438.578,435	\$ 2.577.985,4	\$ 30.935.825,2
Total	3	\$ 312.0064	\$ 639.613,12	\$ 4.941.368,8	\$ 59.296.425,7

Fuente: elaboración propia

5.1.3 Servicios auxiliares. Los servicios auxiliares involucrados en el funcionamiento de la planta solo involucran la energía y el agua. Para la energía se tiene en cuenta que el precio por kilowatt (kWh) lo define Enel Codensa para uso industrial en \$ 397.8218 COP¹⁷⁹ y el precio del agua como se indicó anteriormente lo define el acueducto en \$ 4.032,77 COP/m³.¹⁸⁰

Tabla 16. Descripción costo energético por equipo

Equipo	Potencia (kWh)	Consumo kW/hora)	Costo semanal (COP)	Costo Anual (COP)
Lavadora	1,68	0,14	\$ 55,7	\$ 2.896,4
Descascarador	0,18	0,36	\$ 238,7	\$ 12.412,4
Trituradora	7,5	7,5	\$ 2.983,6	\$ 155.147,2
Mezclador	0,37	0,37	\$ 147,2	\$ 7.654,4
Macerador	4,5	108	\$ 42.964,7	\$ 2.234.164,4
Envasadora	0,37	0,37	\$ 147,2	\$ 7.654,4
Total	14,6	116,74	\$ 46.537,1	\$ 2.419.929,2

Fuente: elaboración propia

Respecto al costo del servicio de agua, se tiene en cuenta que el único equipo que requiere agua para su operación es la lavadora de alimentos

¹⁷⁹ ENEL-CODENSA. Codensa Energy Rates. 2020 {en línea} {20 de agosto 2020} disponible en: <https://www.enel.com.co/en/people/energy-rates.html>

¹⁸⁰ EMPRESA DE ACUEDUCTO Y ALCANTARILLADO DE BOGOTÁ EAAB: ES.P. op. cit.

Tabla 17. Descripción costo agua doméstica

Equipo	Consumo	Costo semanal	Costo anual
Lavadora	0,5m ³	\$ 2.016,4	\$ 104.852,02

Fuente: elaboración propia

5.1.4 Precio de venta. Para determinar el precio de venta se tiene en cuenta la siguiente ecuación:

Ecuación 4. Precio de venta

$$P = C * \left(\frac{100}{100 - R} \right)$$

Donde

P: Precio de venta

C: Costo de producción

R: Margen de ganancia

El costo de producción tiene en cuenta los costos operacionales y la producción, en este caso mensual del extracto de alicina la cual será de 500L

Tabla 18. Costos totales de producción mensual

Tipo de costo	Costo mensual (COP)	Requerimiento mensual (L)	Costo de producción (COP/L)
Materia prima	\$ 1.926.624,48	500	\$ 3.853,24896
Mano de obra	\$ 4.941.368,8	500	\$ 9.882,7376
Servicios auxiliares	\$ 194.214	500	\$ 388.428
Total	\$ 7.062.207,28	500	\$ 14.124,41456

Fuente: elaboración propia

Una vez determinado el costo de operación se procede a determinar el precio de venta. Por ser un producto natural, innovador y que es ecológico cuya producción y es amigable con el ambiente, se espera un margen de ganancia (R) del 50%

$$P = 14.124 \frac{COP}{L} * \left(\frac{100}{100,50} \right)$$

$$P = 28.248,82912 \frac{COP}{L}$$

El precio de venta para el extracto sería entonces \$ 28.248,83 COP por litro.

5.1.5 Equipos. La inversión total debe contemplar la adquisición de bienes para la producción de 500L al mes de extracto. Estos bienes involucran los equipos cuya consulta de precios se realizó directamente con los proveedores y el valor total incluye los gastos de envío a Colombia. Adicional a ello se involucran los costos derivados de la importación de los equipos y la logística involucrada en traerlos a la ciudad de Bogotá. Para el caso de la envasadora, el proveedor está localizado en la ciudad de Bogotá y el valor incluye los gastos de envío a la bodega en el barrio J. Vargas. Para los demás equipos se tiene en cuenta los costos para la importación desde China. De acuerdo con la página de la Dian¹⁸¹ los valores asociados al arancel para mercancía de tipo Máquinas y aparatos es el IVA correspondiente al 19% y un seguro correspondiente al 1% el precio de la logística teniendo en cuenta la información de la ANDI¹⁸² está alrededor de los \$2.814.989

Tabla 19. Costo de los equipos

Equipo	Precio	Arancel	Logística	Total
Lavadora	\$ 11.508.000	\$2.301.600	\$2.814.989	\$16.624.589
Descascador	\$ 1.540.347,6	\$308.070	\$2.814.989	\$4.663.406
Trituradora	\$ 3.822.174	\$764.435	\$2.814.989	\$7.401.598
Mezclador	\$ 1.918.000	\$383.600	\$2.814.989	\$5.116.589
Macerador	\$ 3.836.000	\$767.200	\$2.814.989	\$7.418.189
Filtro	\$ 1.208.340	N/A	N/A	\$ 1.208.340
Envasadora	\$ 10.435.000	N/A	N/A	\$ 10.435.000
Total	\$34.267.862			\$52.867.711

Fuente: elaboración propia

Adicional al precio de los equipos habría que sumar \$30.000 COP correspondiente a la inscripción del registro de importación¹⁸³ para un total de \$52.897.711

5.2 INVERSIÓN TOTAL

Para la inversión total se realiza la sumatoria de los costos anuales y el valor de la adquisición de los equipos.

¹⁸¹DIAN {En línea.} {22 de septiembre de 2020} disponible en: <https://muisca.dian.gov.co/WebArancel/DefResultadoConsNomenclaturas.faces>

¹⁸²Taller costos ANDI. {En línea.} {22 de septiembre de 2020} disponible en: <http://www.andi.com.co/Uploads/Escenarios%20Eficientes%20en%20la%20operacio%CC%81n%20de%20transporte%20de%20carga%20por%20carretera.pdf>

¹⁸³Mincomercio {En línea.} {22 de septiembre de 2020} disponible en: <https://www.mincit.gov.co/estudios-economicos/como-importar-a-colombia>

Tabla 20. Costo inversión total

Equipos	\$52.867.711
Materia prima	\$ 23.130.798,05
Mano de obra	\$ 59.296.425,7
Servicios auxiliares	\$ 12.905.131,2
Total	\$148.200.066

Fuente: elaboración propia

Se requiere un total de \$426.670.292,9 COP como inversión para ejecutar el proyecto.

6. CONCLUSIONES

- El extracto de alicina inhibe casi en su totalidad el crecimiento del hongo ambiental *Rhizopus stolonifer* en la experimentación in vitro, sin embargo, debido a componentes orgánicos también presentes en las muestras orgánicas no presenta una inhibición sobre las mismas.
- El extracto de alicina por sí solo no proporciona una conservación de las propiedades organolépticas de los alimentos, pero si presenta inhibición en el crecimiento fúngico, su extracción podría ser incluida con otros biocompuestos para una conservación de alimentos
- Para el desarrollo del extracto de alicina a nivel industrial para el abastecimiento semanal de los establecimientos del barrio J. Vargas, se necesitan 125L y su producción requiere de 6 equipos industriales entre ellos está una lavadora industrial, descascaradora, trituradora, tanque mezclador y macerador finalizando por una operación de filtrado y una envasadora para una distribución en botellas en presentación de 1L.
- El extracto de alicina se puede comercializar por un valor de \$ 28248.83 COP y traería una ganancia del 50%. Para poder recuperar la inversión asociada a la compra de los equipos y la operación de la planta por un año, inversión que corresponde a un valor de \$426.670.292,9 COP.

7. RECOMENDACIONES

- La alicina, pese a sus propiedades es un componente bastante inestable, para evaluar los factores que pueden afectar su extracción se pueden hacer estudios variando el pH y la temperatura del solvente para determinar las condiciones óptimas
- Para verificar la estabilidad de la alicina se puede realizar un estudio del extracto en el tiempo evaluando la concentración diaria de la misma y verificar en qué condiciones es más estable por más tiempo.
- El extracto puede llegar a ser purificado para obtener alicina cuya aplicación podría tener un mejor efecto sobre los microorganismos y podría ser útil como ingrediente en la elaboración de productos antibacteriales como geles e incluso creación de películas que sirvan como empaques protectores.
- Se podría hacer un estudio del efecto de la alicina sobre diferentes hongos ambientales para determinar su concentración mínima inhibitoria sobre cada uno de ellos.
- La alicina es realmente un biocompuesto con mucho potencial en el área de los biocidas, por ende se recomienda validar en qué otros campos puede tener aplicación

REFERENCIAS

ABDULMUMEEN, Hamid A., et al. Food: Its preservatives, additives and applications. En: *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 2012, vol. 1, no 2012, p. 36-47.

ATKINSON, Bernard. Reactores bioquímicos. España: Reverté, 2014, p. 100

AIRA, M. J., et al. Concentración atmosférica invernal de propagulos fúngicos en un mercado interior de abastos en Valparaíso (Chile). En: *Boletín Micológico*, vol. 18, (feb, 2003) p. 29-37

ALBRIGHT, David M. Human health effects of airborne mycotoxin exposure in fungi-contaminated indoor environments. En: *Professional Safety*, vol. 46, no 11, (feb, 2001) p. 26.

ALIBABA. Pelador eléctrico de ajos fábrica GRT-G160. {en línea} {20 de Julio 2020} disponible en: (<https://spanish.alibaba.com/product-detail/grt-g160-factory-price-electric-garlic-peeler-machine-220v-60837000560.html?spm=a2700.8699010.normalList.22.7dd82a9efW1Oui>)

ALIBABA Maquinaria y equipo {en línea} {20 de Julio 2020} disponible en: (https://spanish.alibaba.com//maquinaria-y-equipo-quimico/p43_p1416?spm=a2700.8293689-es_ES.HomeLeftCategory.dlv2category.165d1061Tvoa74)

AZCONA, Á.; FERNÁNDEZ, M. Capítulo 3 Propiedades y funciones biológicas del agua. {en línea}. {20 agosto de 2019} disponible en: (<https://www.ucm.es/data/cont/docs/458-2013-07-24-Carbajal-Gonzalez-2012-ISBN-978-84-00-09572-7.pdf>)

BBC News. El brillante Louis Pasteur, más allá de la pasteurización. BBC. 2015. {en línea} {10 de noviembre 2019} disponible en (https://www.bbc.com/mundo/noticias/2015/08/150707_iwonder_louis_pasteur_querra_contra_germenes_finde_dv)

BENITO, Ernesto P.; ARRANZ, Mónica; ESLAVA, A. Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 2000, vol. 17, p. S43-S46.

BARBOSA, Maria Angélica G., et al. Antagonism of *Trichoderma* species on *Cladosporium herbarum* and their enzymatic characterization. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2001, vol. 32, no 2, p. 98-104.

BENTLEY, John; TURNER, Gerald Patrick Anthony. Introduction to paint chemistry and principles of paint technology. CRC Press, 1997. p 40

BEJARANO, N.; CARRILLO, L. Frutas y hortalizas. L. Carrillo, MC Audisio, NV

Bejarano, SE Gómez, E. Ancasi, & MR Benítez, Manual de Microbiología de los Alimentos, 2007, p. 71-83.

BIANCHI, P. G. *Guía completa del cultivo de las fresas*. Parkstone International, 2018.

BORLINGHAUS, Jan, et al. Allicin: chemistry and biological properties. *Molecules*, 2014, vol. 19, no 8, p. 12591-12618.

CARRILLO, Leonor; AUDISIO, M. Carina; BEJARANO, N. Manual de Microbiología de los Alimentos. *San salvador de Jujuy. Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Agrarias SS Jujuy. Argentina, 2007.*

CACAO VARGAS, Jennifer Vanesa; MORA CASTILLO, Carlos Alberto. *Caracterización para el desarrollo de un inhibidor de crecimiento bacteriano a partir del ajo (Allium sativum) para superficies de trabajo en la cocina*. 2019. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química

CARRILLO, Leonor. Los hongos de los alimentos y forrajes. *Universidad Nacional de Salta, Argentina, 2003, vol. 118.p. 20*

CAVALLITO, Chester J.; BAILEY, John Hays. Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. Isolation, physical properties and antibacterial action. *Journal of the American Chemical Society*, 1944, vol. 66, no 11, p. 1950-1951

CALIZAYA LIMACO, Carla; SALAZAR TORRES, Gian; SILVA ABURTO, José. Evaluación de hongos ambientales en mercados de abastos de la ciudad de Tacna-Perú. *Revista mexicana de micología*, 2010, vol. 31, p. 65-67.

CEUPE. Centro Europeo de Postgrado. Clasificación de hongos en alimentos. {en línea} {19 de abril del 2020} disponible en: (<https://www.ceupe.com/blog/clasificacion-de-hongos-en-alimentos.html>)

CLARK, Jim. Uses of alcohols. {en línea}. {20 agosto de 2019} disponible en: (<https://www.chemguide.co.uk/organicprops/alcohols/uses.html>)

CUTTING, Keith F.; WHITE, Richard J. Maceration of the skin and wound bed 1: its nature and causes. *Journal of wound care*, 2002, vol. 11, no 7, p. 275-278.

CHORDI BARRUFET, Silvia, et al. *Contenido fenólico y capacidad antioxidante de fresa mínimamente procesada sometida a tratamientos de conservación por pulsos de luz de alta intensidad*. 2013. Tesis de Licenciatura.

COMPUTRABAJO. Salario de Ingeniero químico en Colombia. 2020. {en línea} {10 de agosto 2020} disponible en: (<https://www.computrabajo.com.co/salarios/ingeniero-quimico>)

CONTABLE, Consultorio. Universidad EAFIT. ". *El sistema de información*, 2020. {en línea} {20 de agosto 2020} disponible en: (<https://www.eafit.edu.co/escuelas/administracion/departamentos/departamento-contaduria-publica/planta-docente/Documents/Nota%20de%20clase%2072%20aspectos%20sobre%20salario,%20nomina%20y%20parafiscales.pdf>)

DE BOGOTÁ, Alcaldía Mayor. . Bogotá Boletín de precios Central de Abastos–Corabastos. 2020. {en línea} {26 de agosto 2020} disponible en: (<https://www.corabastos.com.co/sitio/historicoApp2/reportes/BoletinDescarga.php>)

DE CASTRO, MD Luque; GARCIA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica chimica acta*, 1998, vol. 369, no 1-2, p. 1-10.

DESROSIER, Norman W., et al. Conservación de alimentos. México: Continental, 1964.

DZYALOSHINSKII, Igor E.; LIFSHITZ, Efrat M.; PITAEVSKII, Lev P. The general theory of van der Waals forces. *Advances in Physics*, 1961, vol. 10, no 38, p. 165-209.

EL EMPLEO. Definido salario mínimo en Colombia para 2020. {en línea} {20 de agosto 2020} disponible: (<https://www.empleo.com/co/noticias/noticias-laborales/definido-salario-minimo-en-colombia-para-2020-5993#:~:text=El%20salario%20m%C3%ADnimo%20mensual%20legal,de%20transporte%2C%20ser%C3%A1%20de%20%24980.657.&text=El%20presidente%20Iv%C3%A1n%20Duque%20anunci%C3%B3,ser%C3%A1%20del%206%20por%20ciento.>)

EMPRESA DE ACUEDUCTO Y ALCANTARILLADO DE BOGOTÁ EAAB: ES.P. Tarifas 2020. 2019 {en línea}{6 de febrero de 2020} disponible en: ([https://www.acueducto.com.co/wps/portal/EAB2/Home/atencion-al-usuario/tarifas/tarifas_2020!/ut/p/z1/nZFN4NAEIZ_Sw8e64yTrSy9rZJqG4jZFImdS9BqN4Jxq7GV_vtKCqUWSUPnNsPzzsc7wJABN_I7ZfKusk1eD_kL-9uF9CmOJC0ILQRqT83jYK4oiQk2Z8DXIXoSaYmCQtTPq2CdpKG38gTwNXochcJgTcEMMUroP_qfna7TXwD4cvsN8Bn5diDyHxC1jhRKMRwi7n4DExZNDBI78NcWT8CmtsXXw1RTzKQBbsvXsi1b960dyvuuO57uHXSw73vXWGVq0t3Zg4NTkr09dZCNSTge0jTNsHq85eKjVzefYZwUaw!!/dz/d5/L2dBISEvZ0FBIS9nQSEh/.\)](https://www.acueducto.com.co/wps/portal/EAB2/Home/atencion-al-usuario/tarifas/tarifas_2020!/ut/p/z1/nZFN4NAEIZ_Sw8e64yTrSy9rZJqG4jZFImdS9BqN4Jxq7GV_vtKCqUWSUPnNsPzzsc7wJABN_I7ZfKusk1eD_kL-9uF9CmOJC0ILQRqT83jYK4oiQk2Z8DXIXoSaYmCQtTPq2CdpKG38gTwNXochcJgTcEMMUroP_qfna7TXwD4cvsN8Bn5diDyHxC1jhRKMRwi7n4DExZNDBI78NcWT8CmtsXXw1RTzKQBbsvXsi1b960dyvuuO57uHXSw73vXWGVq0t3Zg4NTkr09dZCNSTge0jTNsHq85eKjVzefYZwUaw!!/dz/d5/L2dBISEvZ0FBIS9nQSEh/.)))

EUROPEAN CHEMICAL AGENCY. ECHA. Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Diclorometano. {en línea}. {20 febrero de 2020} disponible en: https://echa.europa.eu/documents/10162/13628/corap_justification_200-838-9_it_15235_en.pdf/d1623aff-cd3c-2e17-87b3-a1a378fa7127

ELLIS, G. P. The maillard reaction. En: *Advances in carbohydrate chemistry*. Vol 14, (May, 1959). p. 63-134.

ENEL-CODENSA. Codensa Energy Rates. 2020 {en línea} {20 de agosto 2020} disponible en: <https://www.enel.com.co/en/people/energy-rates.html>

ALIBABA. Etanol desnaturalizado/alcohol etílico al 96% de grado de alimentos {en línea} {20 de Julio 2020} disponible en: <https://spanish.alibaba.com/product-detail/denatured-ethanol-ethyl-alcohol-96-food-grade-62525568088.html>

ESPAÑOLA, Real Academia. RAE.(2017). Macerar. Edición del tricentenario.

FAJARDO, Isabel García. *Alimentos seguros*. Ediciones Díaz de Santos, 2008, 100p.

FIGMAY. Extractor Soxhlet. {en línea}. {10 marzo de 2020} disponible en: <https://figmay.com/extractor-soxhlet/>

FLORENCIA UCHA. En: Definición ABC. 2009. {en línea} {27 de Julio 2020} disponible en: <HTTPS://WWW.DEFINICIONABC.COM/GENERAL/EXTRACTO.PHP>

FUJISAWA, Hiroyuki, et al. Biological and chemical stability of garlic-derived allicin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2008, vol. 56, no 11, p. 4229-4235.

GILCHRIST, L. *Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada*. CIMMYT, 1995.

GARRIDO, Cristina. Cómo diferenciar el ajo morado español del chino cuando vayamos a comprar. En: ABC Sociedad, 2014 {en línea} {2 de julio del 2020} disponible en: <https://www.abc.es/sociedad/20140501/abci-diferencias-ajoespanol-chino-201404301109.html>

GIUSIANO, Gustavo E. Micología General. *Microbiología, Pasitología e Inmunología*, 2012, vol. 5.

GÓMEZ-SÁNCHEZ, A. I., et al. Aspectos tecnológicos de la congelación en alimentos. En: *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, vol. 1, (ene, 2007) p. 80-96.

GONZÁLEZ CHAVARREA, Diana Maribel; YÁNEZ ANDRADE, Yazmín Mikol. Diseño y Construcción de un Extractor Sólido-Líquido para la Obtención de Aceite de Semillas de Sambo y Zapallo. 2012. Tesis de Licenciatura.

GOMEZ, Natagaima, et al. Obtención de celulosa a partir de residuos de la poda de pasto común por medio de líquido iónico (cloruro de 1-butil-3-metilimidazolio). Bogotá, 2018, 138 p. Tesis de grado (Químico) Universidad Nacional Abierta y a Distancia

GASPAR, Pablo, y FRANCÉS, Eva. El tomate. Zaragoza, 2013, 103 p. Trabajo de grado (Química Industrial). Universidad de Zaragoza, Escuela de Ingeniería y Arquitectura.

GILCHRIST, L. *Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada*. CIMMYT, 1995.

GONZÁLEZ, Carlos Andrés; BUSTAMANTE, Felipe; DE CORREA, Consuelo Montes. Hidrodechloración catalítica de diclorometano, cloroformo y tetracloroetileno. *Revista Facultad de Ingeniería Universidad de Antioquia*, 2006, no 38, p. 73-87.

GUZMÁN, Ma Del Pilar Rodríguez. Biodiversidad de los hongos fitopatógenos del suelo de México. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 2001, no Es1, p. 53-78.

HANDA, S. S. An overview of extraction techniques for medicinal and aromatic plants. En: *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, 2008, vol. 1. p. 266

HUGHES, Bronwyn G.; LAWSON, Larry D. Antimicrobial effects of *Allium sativum* L.(garlic), *Allium ampeloprasum* L.(elephant garlic), and *Allium cepa* L.(onion), garlic compounds and commercial garlic supplement products. *Phytotherapy Research*, 1991, vol. 5, no 4, p. 154-158.

IBÁÑEZ, F.; TORRE, Paloma; IRIGOYEN, Aurora. Aditivos alimentarios. En: *Área de Nutrición y Bromatología, Universidad Pública de Navarra*, 2003, p. 3-5.

IMARCA. Distribuidora imarca C.A. Lavadora general de alimentos. {en línea} {20 de agosto} disponible en: (<http://imarca.com.ve/Lavadora-general-de-Alimentos.php>)

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Compendio de normas para trabajos escritos. NTC-1486-6166. Bogotá D.C. El instituto, 2018 ISBN 9789588585673 153 p.

INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. IDEAM. Metanol. {en línea}. {20 agosto de 2019} disponible en: (<http://documentacion.ideam.gov.co/>)

INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO. Penicillium spp. {en línea}{04 de julio del 2020} disponible en: (<https://www.insst.es/documents/94886/353749/Penicillum+spp+2017.pdf/57121544-9157-4bbe-a6eb-b394c83bf9e1>)

INSTITUTO DE HIDROLOGÍA, METEOROLOGÍA Y ESTUDIOS AMBIENTALES. (IDEAM) Características Climatológicas de ciudades principales o, Bogotá, D. C: IDEAM, 2001. {en línea} {1 de agosto 2020} disponible en: (<http://www.ideam.gov.co/documents/21021/418894/Caracter%C3%ADsticas+de+Ciudades+Principales+y+Municipios+Tur%C3%ADsticos.pdf/c3ca90c8-1072-434a-a235-91baee8c73fc>)

ISRAELACHVILI, Jacob N. The nature of van der Waals forces. *Contemporary Physics*, 1974, vol. 15, no 2, p. 159-178.

JAY, James M.; LOESSNER, Martin J.; GOLDEN, David A. *Modern food microbiology*. Springer Science & Business Media, 2008.

Juliarena, P.. Gratton, R. (SF) Tecnología, ambiente y sociedad, Capítulo 3, UNICEN

JIMÉNEZ, Alexander Berrocal. Clasificación de daños producidos por agentes de biodeterioro en la madera. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 2006, vol. 4, no 10, p. 54-62.

JULIARENA, P.; GRATTON, R. Capítulo 3. Conservación de los alimentos. Tecnología, Ambiente y Sociedad. UNICEN {en línea} {13 de julio de 2020} disponible en: <http://www.exa.unicen.edu.ar/catedras/tecnoambiente/CAP03.pdf>

KOIKE, S.; BOLDA, M. El moho gris, o Pudrición de fresa. California: Cooperative Extensión, 2016. {en línea}{03 de Julio de 2020} disponible en: (<https://ucanr.edu/blogs/fresamora/blogfiles/37849.pdf>)

KUETTNER, E. Bartholomeus; HILGENFELD, Rolf; WEISS, Manfred S. Purification, characterization, and crystallization of alliinase from garlic. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2002, vol. 402, no 2, p. 192-200.

LAWSON, Larry D. Bioactive organosulfur compounds of garlic and garlic products: role in reducing blood lipids. Chicago: American Chemical Society 1993. p. 303-330

LABOTIENDA. Extractor Soxhlet. {en línea}. {10 marzo de 2020} disponible en: (<https://www.labotienda.com/es/productos-laboratorio/extractor-soxhlet-250-ml/>)

LLORENTE, Emilio, et al. Minería química. *España: Instituto Tecnológico GeoMinero de España*, 1991.

LUGO, Mónica Alejandra, et al. Hongos asociados con dos poblaciones de *Acromyrmex lobicornis* (Formicidae) de San Luis, Argentina. 2013.

MADE IN CHINA. Máquina de ajo pelado ajo el ajo pelado máquina máquina dispensador. {en línea} {31 de julio 2020} disponible en: (https://es.made-in-china.com/co_999fengxiang/product_Fx-128-Peeling-Garlic-Machine-Garlic-Peeler-Machine-Garlic-Peeling-Machine_ehheisny.html)

MARTÍNES, J; IRIONDO, C. Tema 5. Fuerzas Intermoleculares. Interacciones de Van der Waals. Enlace de hidrógeno. Fuerzas intermoleculares y propiedades físicas. Aplicaciones a sistemas biológicos. {en línea} {1 de enero 2020}. Disponible en: (https://ocw.ehu.eus/pluginfile.php/8876/mod_resource/content/1/TEMA_5_v5.pdf)

MARTÍNEZ, Eva. Estudio de especies micotoxígenas del género *Penicillium*: *Penicillium verrucosum* Dierckx. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona, 2004. 305 p.

MARTÍNEZ DE LA CUESTA, P. J.; RUS MARTÍNEZ, E.; GALDEANO CHAPARRO, M. Enranciamiento oxidativo de aceites vegetales en presencia de α -tocoferol. En: *Grasas y aceites*. Vol, 46. No (Jul, 1995). p. 349-353

MARTIN, Patricia. Moho *Penicillium*. {en línea} {20 de marzo de 2020} disponible en (<https://quesodeoveja.org/moho-penicillium/>)

MARTINS, Natália; PETROPOULOS, Spyridon; FERREIRA, Isabel CFR. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre-and post-harvest conditions: A review. *Food chemistry*, 2016, vol. 211, p. 41-50.

Ministerio de educación Presidencia de la nación. (2010). *Alimentos: Historia, presente y futuro*. Buenos Aires: Escritura en ciencias

MUJICA, Henry, et al. Efecto de la densidad de siembra, fertilización potásica y almacenamiento de los bulbos sobre la concentración de alicina en ajo criollo morado (*Allium sativum* check for this species in other resources L.) determinada mediante HPLC. *Revista Científica UDO Agrícola*, 2013, vol. 13, no 1, p. 128-134.

MOLINA, J. Aislamiento y caracterización de hongos patógenos presentes en lulo, tomate de arbol y mora castilla potencialmente patogenos para cultivos de gulupa (*Passiflora edulis* var. *edulis* sims). Bogotá, 2010, 43 p. Tesis de grado (Microbiología agrícola y veterinaria) Pontificia Universidad Javeriana.

MORALES, M. Determinación de hidrocarburos en muestras de agua por extracción líquido-líquido asistida por ultrasonido. España, 2011, 24 p. Universidad de Alicante.

MORESO, José Juan. Tomates, hongos y significado jurídico. *J. Moreso, L. Prieto, y J. Ferrer. Los desacuerdos en el Derecho. Madrid: Fundación Coloquio Jurídico Europeo*, 2010.

NÚÑEZ, Carlos Eduardo. Extracciones con equipo Soxhlet. {en línea}. {20 febrero de 2020} disponible en: (<http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf>)

ODRIOZOLA, ISABEL. Obtención de zumos y frutos cortados con alto potencial antioxidante mediante tratamientos no térmicos. *Memoria para optar el grado de Doctor. Universidad de Lleida. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria. Brasil*, 2009.

O'DONNELL, Liza, et al. Estrogen and spermatogenesis. *Endocrine reviews*, 2001, vol. 22, no 3, p. 289-318.

PARRY, R. T. (ed.). *Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods*. United Kingdom: Springer Science & Business Media, 2012. p. 15, 16, 17

PRADAS, I., PEREIRA, G., PERÉZ, J. & MORENO, J. Elaboración de un extracto de ajo rico en compuestos saludables. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de investigación y Formación Agraria y Pesquera. Cordoba, 2016. 1-16p.

PIRAK, Tantawan; JANGCHUD, Anuvat; JANTAWAT, Pantipa. Characterisation of physical, chemical and antimicrobial properties of allicin–chitosan complexes. *International journal of food science & technology*, 2012, vol. 47, no 7, p. 1339-1347.

PINZÓN, H. El cultivo del ajo. Bogotá D.C.: Produmedios, editorial para el sector agropecuario, 2009. p.7

PONTÓN, José, et al. *Hongos y actinomicetos alergénicos*. Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología, 2002.

PLASCENCIA-TENORIO, Rosa I., et al. Antagonismo in vitro de aislados bacterianos de fresa comercial y silvestre vs *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*. *Ra Ximhai*, 2012, vol. 8, no 3, p. 103-110.

REDDY, MV Bhaskara, et al. Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*, 1998, vol. 47, no 8, p. 1515-1520.

REICHARDT, Christian; WELTON, Thomas. *Solvents and solvent effects in organic chemistry*. John Wiley & Sons, 2011.

ROBLES-OZUNA, L. E.; OCHOA-MARTÍNEZ, L. A. Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista iberoamericana de tecnología postcosecha*, 2012, vol. 13, no 2, p. 109-122.

SALAS-SALVADÓ, Jordi; LORDA, Pilar García; RIPOLLÉS, José Ma Sánchez., et al. *La alimentación y la nutrición a través de la historia*. Barcelona: Editorial Glosa, SL, 2005. p. 200

SILVA PRADA, N. Los enlatados y la guerra. En: *El Tiempo*. Bogotá. 2016 {en línea}{30 de octubre 2019} disponible en (<http://blogs.eltiempo.com/love-cooking-love-history/2016/04/29/los-enlatados-y-la-guerra/>)

SOBRADO, S.; CABRAL, E.; ROMERO, F. Hongos: Diversidad vegetal. *Universidad Nacional del Nordeste*, 2013, p. 1-39.

SORIANO DEL CASTILLO, José Miguel. *Micotoxinas en alimentos*. España: Ediciones Díaz de Santos, 2007. 374p.

TERÁN-QUIROGA, Oscar. El cultivo del ajo. Bolivia: *Plural Editores. Administración Departamental de Potosí. Proyecto de Desarrollo Agropecuario*, 1997. p 10.

BENDER, D.; BÁRCENAS, M. E. El ajo y sus aplicaciones en la conservación de alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 2013, vol. 7, no 1, p. 25-36.

UNITED NATIONS INDUSTRIAL DEVELOPMENT ORGANIZATION, et al. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*. Earth, Environmental and Marine Sciences and Technologies, 2008.

UCAarg (Dirección). (2012). *Conservación de Alimentos - UCA* [Película]. Obtenido de https://www.youtube.com/watch?v=_9QUXbk7RnQ&feature=youtu.be

VILLALON, Gregorio Cruz. *Efecto de la alicina sobre el crecimiento y producción de biocapas en staphylococcus epidermidis*. España, 2009, 180 p. Tesis Doctoral. Universidad de Extremadura.

VELÁSQUEZ PRIETO, Orlando Emilio, et al. Aislamiento, selección y evaluación de microorganismos controladores biológicos de Botrytis sp. 2018.

VILLALOBOS, José Ramón Vallejo; PACHECO, Diego Felipe Peral; RAMOS, María Consuelo Carrasco. Las especies del género " Allium" con interés medicinal en Extremadura. *Medicina naturista*, 2008, vol. 2, no 1, p. 3-8.

WELCH, Thomas Elliott. *Moving Beyond Environmental Compliance: A Handbook for Integrating Pollution Prevention with ISO 14000*. CRC Press, 1997.




WILSON, Ian D. *Encyclopedia of separation science*. 2000.

WILLIAMSON, Brian, et al. Botrytis cinerea: the cause of grey mould disease. *Molecular plant pathology*, 2007, vol. 8, no 5, p. 561-580.

ZHANG, Qing-Wen; LIN, Li-Gen; YE, Wen-Cai. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese medicine*, 2018, vol. 13, no 1, p. 20.

ANEXOS

ANEXO A.
TABLAS DE EQUIPOS

EQUIPO	Imagen	PRECIO (COP)	ESPECIFICACIONES
Lavadora ultrasonido industrial		\$ 13.883.400	Capacidad efectiva: 60L Temperatura de operación: 0-40°C Potencia: 1.5 kWh
Extractor soxhlet		\$ 3.463.137	Capacidad efectiva: 50L Temperatura de operación: +50°C-100°C Potencia: 0.3 kWh
Tanque para maceración		\$ 3.836.000	Capacidad efectiva: 50-500L Temperatura: ambiente Potencia (con agitación): 4.5 kWh

Tanque percolador		\$ 3.856.500	Capacidad efectiva 600L Temperatura: ambiente Potencia (con agitación): 4.5 kWh
--------------------------	---	--------------	--

Fuente: ALIBABA Maquinaria y equipo {en línea} {20 de Julio 2020} disponible en:
(https://spanish.alibaba.com//maquinaria-y-equip-qu-mico/p43_p1416?spm=a2700.8293689-es_ES.HomeLeftCategory.dlv2category.165d1061Tvoa74)

ANEXO B.
CONTROL DE CRECIMIENTO DEL HONGO





