UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

DEPARTAMENTO CIENCIAS DE LA TIERRA

INGENIERA/O AGROINDUSTRIAL

TÍTULO

“REVISIÓN DOCUMENTAL DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS A PARTIR DE *Caesalpinia spinosa* (GUARANGO) EN LA POSTCOSECHA DE FRUTOS”

AUTOR

Martha Cecilia Cuzco Merino

Shashambi Piquitsa Tanguila Grefa

DIRECTOR DE PROYECTO

BQF. Edwin Fernando Basantes Basantes, MS.c

Puyo – Ecuador

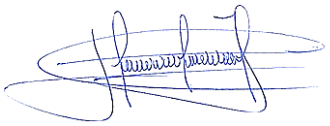
Enero 2021

DECLARATORIA DE AUTORÍA

Quienes suscriben Martha Cecilia Cuzco Merino con C.I: 1600700742 y Shashambi Piquitsa Tanguila Grefa con C.I: 2200513006, hacen constar que son autores del Trabajo de Integración Curricular titulado: REVISIÓN DOCUMENTAL DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS A PARTIR DE *Caesalpinia spinosa* (GUARANGO) EN LA POSTCOSECHA DE FRUTOS, el cual constituye una elaboración personal realizada únicamente con la dirección del Tutor de dicho trabajo, Msc. Edwin Fernando Basantes Basantes. En tal sentido, manifestamos la originalidad de la conceptualización del trabajo como interpretación de datos y elaboración de conclusiones dejando establecido que aquellos aportes intelectuales de otros autores se han referenciado debidamente en el texto de dicho trabajo.

En el cantón Pastaza, a los 29 días del mes de enero del 2021





…… ……..

Martha Cecilia Cuzco Merino Shashambi Piquitsa Tanguila Grefa

C.I: 1600700742 **C.I: 2200513006**

CERTIFICACIÓN DE APROBACIÓN POR EL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El tribunal de sustentación del trabajo de Integración Curricular aprueba el trabajo de Integración Curricular titulado: REVISIÓN DOCUMENTAL DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS A PARTIR DE *Caesalpinia spinosa* (GUARANGO) EN LA POSTCOSECHA DE FRUTOS.



Firmado electrónicamente por:
FRANKLIN ROLANDO VILLAFUERTE CARRILLO

Msc. Franklin Rolando Villafuerte Carrillo

Presidente del Tribunal



Firmado electrónicamente por:
AIDA SALOME ROMERO

Msc. Aida Salome Romero Vistin

Miembro del tribunal



Firmado electrónicamente por:
SANTIAGO NICOLAS AGUIAR NOVILLO

Msc. Nicolas Santiago Aguiar Novillo

Miembro del tribunal

CERTIFICADO DE PORCENTAJE DE SIMILITUD OBTENIDO EN EL SISTEMA ANTI PLAGIO

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND

Certificado No. 50-SAU-UEA-2021

Puyo, 18 de febrero de 2021

Por medio del presente **CERTIFICO** que:

El Trabajo de Integración Curricular correspondiente a las estudiantes: CUZCO MERINO MARTHA CECILIA con C.I. 1600700742 y TANGUILA GREFA SHASHAMBI PIQUITSA con C.I. 2200513006, con el Tema: **"REVISIÓN DOCUMENTAL DE LA ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DE EXTRACTOS A PARTIR *DE Caesalpinia spinosa* (GUARANGO) EN LA POSTCOSECHA DE FRUTOS.",** de la carrera, Ingeniería Agroindustrial. Director de la investigación Ing. Basantes Basantes Edwin Fernando MSc., ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 2%, Informe generado con fecha 18 de febrero de 2021 por parte del director conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,

Firmado electrónicamente por:
ITALO MARCELO

Ing. Italo Marcelo Lara Pilco M.Sc.
ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .

DERECHOS DE AUTOR

©2020, Martha Cecilia Cuzco Merino y Shashambi Piquitsa Tanguila Grefa

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho de autor.

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida.

A mis padres por todo el esfuerzo que hicieron para brindarme una educación, por su apoyo y sobre todo por la confianza depositada en mí.

A mi mejor amiga Andrea Plazarte (+), por esas ganas y el esfuerzo que puso para continuar con sus estudios y luchar por la vida, “sus triunfos serán los míos”.

Martha Cecilia Cuzco Merino

DEDICATORIA

A Dios por ser ese amigo que siempre me acompaño, por guiarme por el camino del bien y permitirme alcanzar esta meta.

A mis padres por el rotundo apoyo que me ofrecieron a lo largo de mi vida universitaria.

A mis hijos John y Jack por ser el motor de motivación y una pieza clave de superación.

Shashambi Piquitsa Tanguila Grefa

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Estatal Amazónica, por darme la oportunidad de realizarme como profesional, a mis maestros que fueron parte de mi formación y que aportaron con sus conocimientos para poder culminar mi carrera universitaria.

A mis hermanos Juan Carlos e Isabel por su apoyo incondicional durante toda esta etapa, gracias por su cariño y sus consejos.

El más sincero agradecimiento al Msc. Edwin Basantes, por brindarnos su valiosos tiempo y conocimiento para el desarrollo de este trabajo investigativo.

Martha Cecilia Cuzco Merino

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Estatal Amazónica por ser la entidad que me acogió durante todo el camino académico, por brindarme todas las herramientas para cumplir una más de mis metas.

Al Msc. Edwin Basantes, por brindarnos la orientación y tiempo necesario para hacer realidad la culminación de este trabajo.

Shashambi Piquitsa Tanguila Grefa

RESUMEN

Se estima que en los países en desarrollo el porcentaje de pérdidas en los alimentos es más del 40% y ocurren con mayor frecuencia en las etapas de postcosecha y procesamiento de los productos. En el sector agroindustrial las pérdidas económicas se dan principalmente por el manejo inadecuado de la materia prima y el ataque de enfermedades en las frutas, ocasionando el deterioro y acelerando su proceso de senescencia en el mismo. La presente investigación tuvo como objetivo revisar de forma documental la actividad antifúngica de extractos a partir de *Caesalpinia spinosa* (guarango) para el control postcosecha de frutos. Para lo cual, se realizó una investigación de tipo documental, que se basó en la en revisión y recopilación de información de diferentes fuentes bibliográficas relacionadas con el tema de estudio. Los resultados obtenidos determinaron que la capacidad inhibitoria de los extractos hidroalcohólicos de *Caesalpinia spinosa* sobre el crecimiento micelial in vitro de la *Alternaria* en el tomate fue del 89,92% e in situ fue del 78,69% a una concentración de 8%. En los extractos acuosos la capacidad inhibitoria sobre el *Penicillium sp* en los cítricos fue del 100% a una concentración 10000 ppm. Para los hongos que atacan la fresa *Rhizopus sp* y *Botrytis cinérea* la capacidad inhibitoria del extracto acuoso fue de 8,5% a 250 ppm y del 20% a 10000 ppm de concentración. Las variaciones en la capacidad inhibitoria de los extractos a partir de *Caesalpinia spinosa* es diferente para cada tipo de hongo y esto se debe a una variación en la concentración del extracto y al tipo de solvente utilizado, es decir, que a mayor concentración del extracto mayor será la presencia de metabolitos secundarios y por ende mayor será su actividad antifúngica en la postcosecha de futas.

Palabras clave: Extractos, postcosecha, antifúngica.

ABSTRAC

It is estimated that in developing countries the percentage of losses in food is more than 40% and they occur more frequently in the post-harvest and product processing stages. In the agroindustrial sector, economic losses are mainly due to the inadequate handling of raw material and the attack of diseases in fruits, causing deterioration and accelerating its senescence process. The objective of this research was to review in a documentary way the antifungal activity of extracts from Caesalpinia spinosa (guarango) for the postharvest control of fruits. For which, a documentary research was carried out, which was based on the review and compilation of information from different bibliographic sources related to the study topic. The results obtained determined that the inhibitory capacity of the hydroalcoholic extracts of Caesalpinia spinosa on the in vitro mycelial growth of Alternaria in tomato was 89.92% and in situ it was 78.69% at a concentration of 8%. In the aqueous extracts, the inhibitory capacity on Penicillium sp in citrus fruits was 100% at a concentration of 10,000 ppm. For the fungi that attack the strawberry Rhizopus sp and Botrytis cinérea the inhibitory capacity of the aqueous extract was 8.5% at 250 ppm and 20% at 10,000 ppm concentration. The variations in the inhibitory capacity of the extracts from Caesalpinia spinosa is different for each type of fungus and this is due to a variation in the concentration of the extract and the type of solvent used, that is, the higher the concentration of the extract, the higher It will be the presence of secondary metabolites and therefore greater will be its antifungal activity in the postharvest of fruit.

Keywords: Extracts, postharvest, antifungal.

TABLA DE CONTENIDO

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA 1
Capítulo 1: INTRODUCCIÓN 1
1.1 Planteamiento del problema 2
1.2 Objetivos 2
1.2.1 Objetivo general: 2
1.2.2 Objetivos específicos: 2
1.3 Justificación 3
Capítulo 2: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA 4
2.1 El Guarango (*Caesalpinia spinosa)* 4
2.1.1 Nomenclatura botánica 5
2.1.2 Origen geográfico 5
2.1.3 Usos de la Caesalpinia spinosa 5
2.2 Análisis Químico de Caesalpinia spinosa 7
2.3 Metabolitos Secundarios de la *Caesalpinia spinosa* 9
2.3.1 Los taninos 9
2.3.2 Los flavonoides 11
2.3.3 Compuestos fenólicos 12
2.3.4 Alcaloides 12
2.3.5 Cumarinas 13
2.4 Etapa de Postcosecha 13
2.4.1 Perdidas en la Postcosecha de frutas 13
2.4.2 Principales enfermedades en la postcosecha de frutas 14
2.5 Condiciones en las que se desarrollan los principales hongos que atacan a las frutas 15

2.5.1 Hongos filamentosos o mohos 15
2.5.2 Tipos de hongos 16
2.6 Alternativa de control para hongos en la Postcosecha de las frutas..... 20
2.6.1 Extractos naturales 20
2.7 Métodos para la obtención de extractos naturales 21
2.7.1 Clasificación de los métodos extractivos 21
2.7.3 Procedimiento para obtención de los extractos a partir de la harina de Caesalpinia spinosa 23
2.7.4 Cuantificación de taninos de los extractos 25
2.7.5 Preparación de los inóculos..... 26
2.8 Actividad Antifúngica de *Caesalpinia spinosa* 26
Capítulo 3: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN 29
3.1 Tipo o Diseño de Investigación: 29
3.2 Métodos de Investigación:..... 29
Capítulo 4: ANÁLISIS DE RESULTADOS 30
4.1 Resultados 30
4.1.1 Determinar los metabolitos secundarios de Caesalpinia spinosa 30
4.1.2 Analizar la base documental de la actividad antifúngica de extractos de Caesalpinia spinosa en la postcosecha 31
4.1.3 Identificar las tecnologías para la obtención de los extractos del guarango..... 33
4.2 Conclusiones 35
4.3 Recomendaciones..... 35
REFERENCIAS..... 36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Análisis químico proximal del polvo de las vainas del guarango.....7
Tabla 2 Análisis químico de las semillas.....7
Tabla 3 Análisis químico de las gomas o hidrocoloides.....8
Tabla 4 Análisis químico del germen.....8
Tabla 5 Análisis químico de la cáscara.....9
Tabla 6 Metabolitos secundarios presentes en la *Caesalpinia spinosa*.....30
Tabla 7 Actividad antifúngica de los extractos de *Caesalpinia spinosa en la postcosecha* de frutos.....31
Tabla 8 Métodos más utilizados para la obtención de extractos del guarango.....33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Árbol de guarango *(Caesalpinia spinosa).*.....4
Figura 2 Estructura química de los taninos hidrolizable.....10
Figura 3 Estructura química del tanino de la *Caesalpinia spinosa*.....11
Figura 4 Estructura química del flavan-3,4-diol.....11
Figura 5 *a)* Podredumbre gris (*Botrytis cinérea). b)* Moho azul *(Penicillium expansum)* en peras.....15
Figura 6 Daño por ataque de *Alternaria solani* en el tomate *(Solanum lycopersicum).*.....16
Figura 7 Pudrición blanda en la fresa *(Fragaria L.)*.....17
Figura 8 Características macroscópica de colonias de *Penicillium*.....18
Figura 9 Podredumbre azul en el limón *(Citrus limon)*.....19
Figura 10 Podredumbre en las naranjas ocasionado por el hongo de *P. digitatum.*.....19
Figura 11 Síntomas del moho gris en la fresa *(Fragaria L.)*.....20
Figura 12 Clasificación de los métodos extractivos.....21

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

La *Caesalpinia spinosa* o comúnmente conocida como guarango, es una especie vegetal andina que se encuentran distribuida ampliamente en la sierra ecuatoriana, es una planta que tiene la capacidad de tolerar sequías y adaptarse en ambientes con suelos de escasos recursos, áridos o en tierras con faltas de fuentes hídricos, siendo un árbol que realiza la fijación de nitrógeno atmosférico, lo que proporciona la fertilidad del suelo, produciendo unas leguminosas ricos en metabolitos secundarios, con un tiempo de producción hasta 50 años o más (Nieto, Barona, y Ortíz, 2006).

El valor más importante de esta leguminosa arbórea está centrado en su alto contenido de principios activos, que cumple una función muy importante para las diferentes industrias, entre ellas la curtiembre, cosmética, química, farmacéutica y la alimentaria. Donde la *Caesalpinia spinosa* presenta la mayor concentración de uno de sus metabolitos secundarios como son los taninos en un valor de 40% a 60%, llegando a tener en su composición también alcaloides, esteroides, flavonoides, fenoles, gomas, etc. Muchos de estos compuestos tienen la capacidad de actuar como agente antifúngico y bactericida, que pueden estar localizados en cualquier parte de la planta (Gómez, 2019).

Estudios han determinado que los taninos poseen un efecto tóxico que se encarga de inhibir a ciertos microorganismos, llegando a poseer la capacidad antimicrobiana para las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, además garantiza una fuerte actividad antifúngica sobre algunos hongos fitopatógeno que presentan mayor impacto dentro del sector hortofrutícola (Játiva, 2011).

En la actualidad se estima que las empresas agroalimentarias presentan grandes pérdidas económicas como consecuencia del mal manejo de las materias primas durante el proceso de la postcosecha y la aparición de las enfermedades en las frutas, generadas por la presencia de hongos, que son responsables de acelerar el proceso de senescencia de los frutos. Debido a estas consecuencias sea fomentado el estudio de los extractos naturales para combatir a estos microrganismos, dado que es una alternativa que garantiza la seguridad alimentaria y ayudaría a la reducción en el uso de fungicidas químicos responsables de generar daños a la salud y al medio ambiente.

Para el desarrollo de este trabajo se recurrió a investigar sobre la capacidad antifúngica de los extractos de *Caesalpinia spinosa*, en documentos científicos, tesis de posgrado y pregrado, que ayudaran a corroborar la eficacia de estos extractos sobre el crecimiento micelial de hongos patógenos que atacan a los frutos en la postcosecha.

Por tal motivo el presente trabajo tiene como propósito realizar una revisión documental de la actividad antifúngica de extractos a partir de *Caesalpinia spinosa* en la postcosecha de frutos, la misma que servirá como base para futuras investigaciones en donde demuestren la capacidad inhibitoria que poseen los extractos naturales sobre algunos microorganismos.

1.1 Planteamiento del problema

En las empresas agroalimentarias el mayor porcentaje de pérdidas económicas es causado por el manejo inadecuado de la materia prima durante el proceso de postcosecha y por el ataque de enfermedades a frutas y hortalizas, ocasionado principalmente por la presencia de hongos patógenos que causan la pudrición y aceleran el proceso de senescencia del producto. Pérez (2018) menciona que más del 40% de las pérdidas de alimentos se producen en la etapa de postcosecha y de procesamiento en los países en desarrollo.

La falta de información documentada y estudios de comparación bibliográfica sobre la eficacia de la actividad antifúngica a partir del extracto de guarango para su aplicación en procesos de postcosecha, ha generado que los productores y las industrias agroalimentarias sigan utilizando métodos químicos que ayudan a controlar y alargar la vida útil de los productos agrícolas durante el almacenamiento, transporte y comercialización, pero el uso excesivo de estos métodos químicos han ocasionado problemas ambientales y enfermedades en las personas que manipulan y consumen estos productos alimenticios.

Por esta razón surge la necesidad de buscar nuevas alternativas para solucionar esta problemática, la cual ayude a prevenir y controlar el ataque de hongos patógenos a los productos en la etapa de postcosecha. Como nueva alternativa surge la utilización de extractos naturales a partir de la *Caesalpinia spinosa* para controlar la actividad antifúngica en el proceso de postcosecha de frutas, lo cual permitirá alargar la vida útil del producto y evitar pérdidas económicas en las empresas.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general:

- Revisar de forma documental la actividad antifúngica de extractos a partir de *Caesalpinia spinosa* (GUARANGO) para el control postcosecha de frutos

1.2.2 Objetivos específicos:

- Determinar los metabolitos secundarios de *Caesalpinia spinosa*

- Analizar la base documental de la actividad antifúngica de extractos de *Caesalpinia spinosa* (Guarango) en la postcosecha
- Identificar las tecnologías para la obtención de los extractos del guarango

1.3 Justificación

Los extractos de *Caesalpinia spinosa* posee un gran potencial en el sector agroindustrial debido a su concentración del 40% a 60% de taninos, los cuales se lo logra obtener principalmente de las vainas secas del guarango, estos compuestos han sido utilizados en la industria alimentaria como complementos alimenticios y conservantes (De la Cruz, 2004). En la industria alimentaria son empleados para la preservación y maduración de alimentos debido a sus propiedades antioxidantes y antisépticas, empleados como sustitutos de la malta en la producción de cerveza, como clarificador en la industria de los vinos, para la elaboración de helados, salsas, condimentos, en la fabricación de plásticos y adhesivos, entre otros (Pavón, 2015; De la Cruz, 2004).

En los últimos años el sector agroindustrial se ha enfocado en ofrecer al consumidor productos orgánicos, lo cual ha promoviendo una producción sana y segura de alimentos, es decir alimentos libre de residuos fitosanitarios, microorganismos patógenos y toxinas, por este motivo así como productores e industrias han optado por buscar nuevas alternativas que ayuden a prevenir y controlar el ataque de hongos en los frutos después de su cosecha, permitiendo prolongar su vida útil y evitando perdidas económicas en los mismos

La aplicación de extractos naturales a partir de la *Caesalpinia spinosa* en los frutos durante la etapa de postcosecha aportara de manera significativa en el control de microorganismos indeseables, retrasando el crecimiento y desarrollo de hongos del género: *Alternaria, Rhizopus, Penicillium y Botrytis cinérea*, en los productos, ocasionados por el manejo inadecuado de los frutos durante la cosecha, transporte, almacenamiento y comercialización por parte de los productores y las empresas.

La presente investigación servirá como base para futuros estudios que muestren la eficacia de la actividad antifúngica del extracto de *Caesalpinia spinosa* en los productos, a su vez ofreciendo tanto a productores como a las empresas soluciones sustentables, efectivas y de bajo costo para controlar el ataque de hongos en los frutos durante la etapa de postcosecha, de esta manera garantizar al consumidor productos de calidad e inocuos.

CAPITULO 2: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1 El Guarango (*Caesalpinia spinosa)*

El guarango cuyo nombre científico es *Caesalpinia spinosa,* es un árbol originario del Perú, pertenece a la familia de las Caesalpinaceas. En el Ecuador se lo conoce por el nombre de vinillo, campeche o guarango, en Perú por tara o taya, Europa por Acacia amarilla o Dividivi de los Andes (Cortez, 2012).

La *Caesalpinia spinosa* es una especie arbórea que crece de 3 a 5 metros de altura, pero puede alcanzar una altura de hasta 8 m en su estado adulto (Dostert, et al., 2009). Posee un tronco corto y redondo con un diámetro aproximado de 10-30 cm, provisto de una corteza espinosa de color gris y ramillas densamente pobladas (Figura 1). Su copa es irregular y poco densa con ramas ascendentes, logrando alcanzar un diámetro de hasta 15 m (De la Cruz, 2004).



Figura 1. *Árbol del guarango (Caesalpinia spinosa)* (Ortega, 2013).

Las hojas son de color verde oscuro, lisas o ligeramente espinosas, son hojas compuestas bipinnadas alternas en forma ovalada, compuesta de 6-8 pares de foliolulos de 3 cm de largo y 2 cm de ancho (Ortega, 2013). Las flores son de color amarillo rojizo dispuestos en forma de racimos terminales multifloros de 8-15 cm de largo (De la Cruz, 2004).

Los frutos son en forma de vainas aplanadas y curvas de color naranja de aproximadamente de 6-10 cm de largo y 1-2,5 cm de ancho, posee en su interior de 5-8

semillas redondas y ligeramente aplanadas de color negro cuando estas están maduras, miden de 4-7 mm de diámetro (Dostert, et al., 2009). El árbol de guarango da frutos a los 3 o 4 años y puede tener un rendimiento aproximado de 20-40 kg de vainas cosechándolos 2 veces al año (De la Cruz, 2004).

2.1.1 Nomenclatura botánica

La clasificación taxonómica de *Caesalpinia spinosa* según Ortega (2013) es la siguiente:

Especie botánica	*Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze.
Reino	Planta
División	Magnoliophyta (Angiosperma).
Clase	Magnoliopsida (Dicotiledonea).
Subclase	Rosidae
Familia	Fabaceae o Leguminosae
Género	Caesalpiniaceae
Especie	Caesalpinia spinosa

2.1.2 Origen geográfico

La *Caesalpinia spinosa* es nativa del Perú, este país es considerado como el mayor productor de guarango en el mundo, abarcando el 80% de la producción mundial (Bonilla et al., 2016). Se distribuye entre los 4° y 32° latitud sur por las diferentes regiones subtropicales y semitropicales desde Venezuela hasta Argentina. Se ha logrado introducir en zonas secas o áridas de Asia, África, Medio Oriente, hasta lograr adaptarla en California (Castell, 2012).

En el Ecuador el guarango se distribuye entre las provincias de la región sierra desde el Carchi hasta Loja. Esta especie arbórea crece en áreas con precipitaciones anuales de 400 a 800 mm y se adaptan mejor entre los 1800 y 2500 m.s.n.m. Se desarrolla en suelos francos arenosos a temperaturas de 16°C a 20°C, generalmente esta especie no tolera humedades relativas superiores al 80% (Cortez, 2012).

2.1.3 Usos de la Caesalpinia spinosa

El guarango, también conocido como tara o taya, es utilizado desde la antigüedad en la medicina tradicional con el objetivo de tratar diversos padecimientos debido a su efecto

antibiótico contra enfermedades respiratorias e infecciones en la piel (Callohuari, Sandoval, y Huamán, 2017). En la actualidad es usada en la industria alimentaria y principalmente en la curtiembre debido a su contenido de taninos (Pavón, 2015).

Según Narváez, Calvo, y Troya (2009) los usos de la tara son los siguientes:

- En la industria de la curtiembre el guarango es aplicado en el proceso como una nueva alternativa en la sustitución del cromo, por su composición en grandes porcentajes de taninos, proporcionando flexibilidad y resistencia al cuero.
- En la industria de los plásticos la goma es utilizada como un polímero natural por su contenido en taninos para la fabricación de materiales plásticos, adhesivos y galvanizados.
- En la industria del papel la goma de tara funciona durante el proceso de manufactura como un agente retenedor de humedad proporcionando particularidades especiales al papel, trabajando también como verificador de irregularidades en las prensas y calandras.
- En la industria minera, la goma de tara trabaja como floculante en operaciones de separación de líquidos de sólidos por procesos de filtración, sedimentación y clarificación, acelerando la sedimentación de los lodos, lo cual facilita su rápida remoción.
- En la industria farmacéutica se aplica en medicamentos gastroenterológicos para combatir úlceras y en medicinas antibacterianos, antiinflamatorias, antisépticas, antimicóticos, odontológicos y antiescorbúticos.
- En la industria cervecera es usado como sustituto de la malta con el objetivo de proporcionar el cuerpo característico a la cerveza y para los vinos actúa como clarificador. El ácido gálico es otro producto obtenido a partir del guarango, ampliamente utilizado dentro de la industria del aceite que funciona como antioxidante para el producto, el mismo que trabaja como un compuesto decolorante para la cerveza.
- En la industria alimentaria son empleados como estabilizantes en la producción de jugos, también ayuda a la preservación y maduración de alimentos debido a sus propiedades antioxidantes y antisépticas (Chávez y Pomachari, 2018).

2.2 Análisis Químico de Caesalpinia spinosa

De la Cruz, P. (2004) reporta la composición química proximal en los frutos (vainas y semillas) de *Caesalpinia spinosa* cuyos resultados se muestra en la tabla 1.

Tabla 1

Análisis químico proximal del polvo de las vainas de Caesalpinia spinosa

Componente	**Porcentaje (%)**
Humedad	11,70
Proteínas	7,17
Cenizas	6,24
Fibra bruta	5,30
Extracto etéreo	2,01
Carbohidratos	67,58
Taninos	62,00

De la Cruz, P. (2004) reporta la composición química de las semillas de *Caesalpinia spinosa* cuyos resultados se muestra en la tabla 2.

Tabla 2

Análisis químico de las semillas

Componente	**Porcentaje (%)**
Humedad	12,01
Proteínas	19,62
Cenizas	3,00
Fibra bruta	4,00
Extracto etéreo	5,20
Carbohidratos	56,17

De la Cruz, P. (2004) reporta la composición química de las gomas o hidrocoloides de *Caesalpinia spinosa* cuyos resultados se muestra en la tabla 3.

Tabla 3

Análisis químico de las gomas o hidrocoloides

Componente	Porcentaje (%)
Humedad	13,76
Proteínas	2,50
Cenizas	0,53
Fibra bruta	0,86
Extracto etéreo	0,48
Carbohidratos	81,87
Azúcares totales	83,2

De la Cruz, P. (2004) reporta la composición química del germen de *Caesalpinia spinosa* cuyos resultados se muestra en la tabla 4.

Tabla 4

Análisis químico del germen

Componente	Porcentaje (%)
Humedad	11.91
Proteínas	40,22
Cenizas	8,25
Fibra bruta	1,05
Extracto etéreo	12,91
Carbohidratos	25,66

De la Cruz, P. (2004) reporta la composición química de la cáscara de *Caesalpinia spinosa* cuyos resultados se muestra en la tabla 5.

Tabla 5

Análisis químico de la cáscara

Componente	Porcentaje (%)
Humedad	10,44
Proteínas	1,98
Cenizas	3,05
Fibra bruta	1,05
Extracto etéreo	0,97
Carbohidratos	83,56

2.3 Metabolitos Secundarios de la *Caesalpinia spinosa*

Los metabolitos secundarios son sustancias ecológicamente eficaces que se encuentran presente en todo el reino vegetal (Alvarez, 2012). También se los conoce como compuestos orgánicos sintetizados por el organismo, los cuales no cumplen un rol directo sobre el desarrollo o reproducción del mismo y desempeñan funciones defensivas contra microorganismos, animales e insectos (Cruz, 2016).

2.3.1 Los taninos

Son compuestos polifenólicos de origen vegetal que poseen grupos hidroxifenólicos, alifáticos y en otros casos grupos carboxílicos. Cuando se produce la hidrólisis total de una molécula de tanino da como resultado una molécula de hidrato de carbono, de ácido gálico y del ácido m-digálico (Játiva, 2011).

Los taninos son compuestos que se oxidan al estar en contacto con el aire, se caracterizan por ser solubles en agua, acetona y alcohol, su peso molecular esta entre los 500 y 3000, la mayoría de sus compuestos son incristalizables de naturaleza coloidal y con propiedades astringentes (Ali, 2012). Tiene la capacidad de formar complejos con proteínas, ácidos nucleicos, alcaloides, polisacáridos, esteroides y saponinas, brindando a la planta una acción protectora contra insectos, bacterias, virus y contra la invasión de diferentes tipos de hongos (Játiva, 2011).

Los taninos están presentes en diferentes especies vegetales de todo el mundo, pero se han identificado entre 500 especies de plantas aproximadamente, las cuales presentan diferentes cantidades de taninos, entre las principales familias botánicas podemos destacar

las: Rosaceae, Fagaceae, Leguminosae, Polygonaceae, Myrtaceae y Rhyzophoraceae (Apolin y Garay, 2017).

De acuerdo a su estructura los taninos se clasifican en: taninos hidrolizables y condensados (Játiva, 2011).

2.3.1.1 Taninos hidrolizables. Son moléculas polifenólicas que se hidrolizan con facilidad cuando se emplean ácidos, álcalis o enzimas para formar un azúcar, un ácido fenolcarboxílico y un polialcohol. En la Figura 2 se puede observar la estructura química de los taninos hidrolizables, en donde se muestra que dependiendo del tipo de ácido que se forma en la reacción se subdividen en: acido gálico y ácido elágico (Alvarez y Lock, 1992).

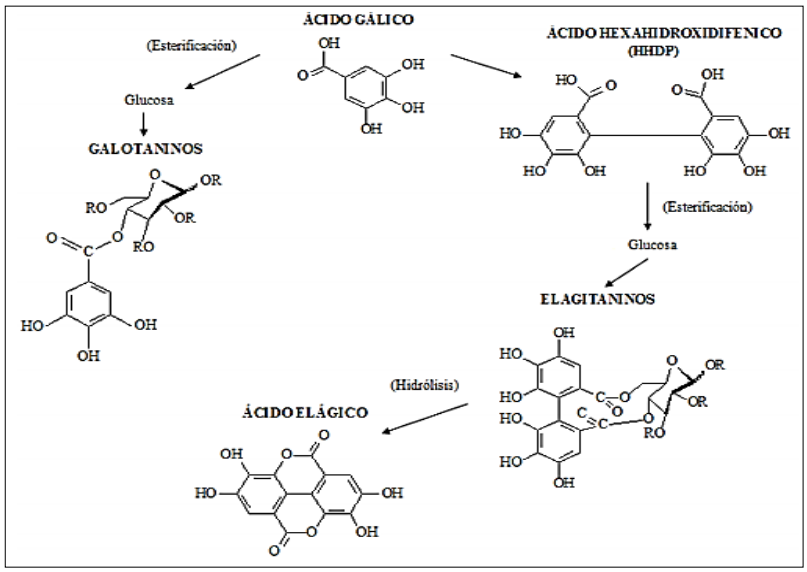


Figura 2. *Estructura química de los taninos hidrolizables.* Tomado de "Determinación del contenido de taninos procedentes del guarango *(Caesalpinea spinosa)* y evaluación de su uso como fungicida" (Játiva, 2011).

En la Figura 3 se muestra la estructura química del tanino (ácido gálico) de la *Caesalpinia spinosa*, este tanino es fácilmente hidrolizable debido a la acción de la enzima tanasa. Esto permitió a asignar a dicho tanino la estructura de un tipo de éster poligaloilo del ácido químico con un peso molecular de 800 aproximadamente (Alvarez y Lock, 1992).

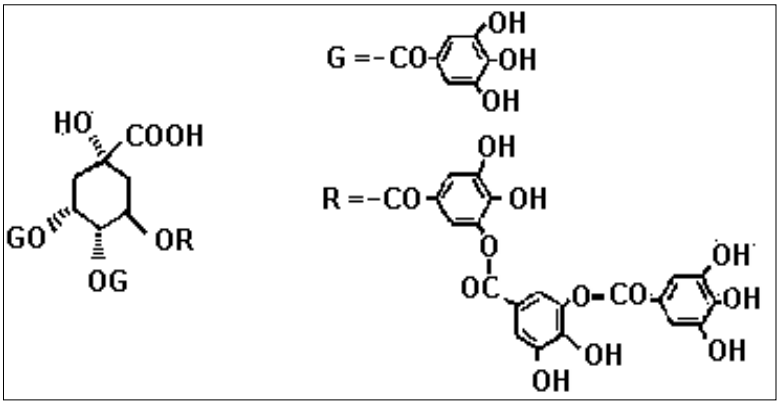


Figura 3. *Estructura química del tanino de la Caesalpinia spinosa.* Tomado de "Extracción de taninos (Ácido gálico) a partir del polvo de vaina de tara (Caesalpinia spinosa)" (Alvarez y Lock, 1992).

2.3.1.2 Taninos condensados. También conocidos como compuestos no hidrolizables, son polímeros de flavan-3,4-dioles (Figura 4), como catequinas y epicatequina. Este tipo de taninos se encuentran presentes en las leguminosas tropicales de las siguientes formas: extractables, ligados a fibras y ligados a proteínas (León, 2018).

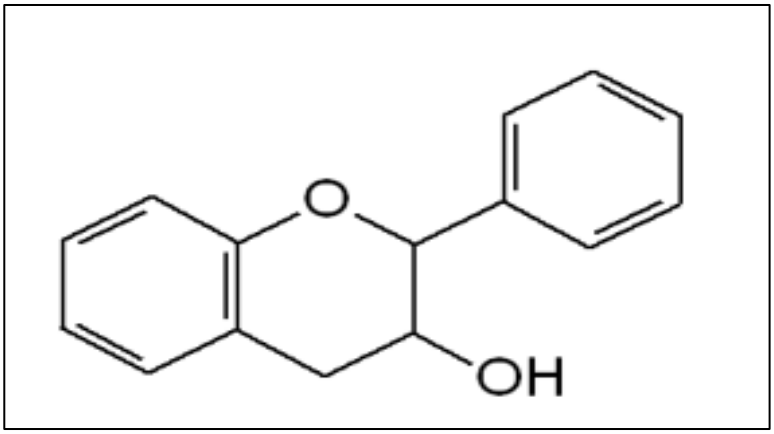


Figura 4. *Estructura química del flavan-3,4-diol.* Tomado de "Extracción de taninos (Ácido gálico) a partir del polvo de vaina de tara *(Caesalpinia spinosa*)" (Alvarez y Lock, 1992).

2.3.2 Los flavonoides

Se encuentran en todas las plantas superiores principalmente en las partes aéreas como: flores, hojas y frutos. Algunos de estos compuestos son responsables de una coloración amarillenta en ciertas flores (Apolin y Garay, 2017).

Los flavonoides se producen mediante ruta biosintética mixtas, del ácido shikímico y de los policéticos. Esta ruta biosintética del ácido shikímico facilita la síntesis de los aminoácidos aromáticos y de los ácidos cinámicos. Pero la ruta de los poliacetatos origina las quinonas y las xantonas (Apolin y Garay, 2017).

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular y se clasifican de acuerdo a sus variaciones estructurales. En el momento que ocurre una modificación del esqueleto común en los compuestos flavonoides ya sea por oxidación, reducción, glicosilación o alquilación, el núcleo fenilpropanoide genera un bajo número de estructuras básicas de: flavonas, flavanonas, antocianonas, isoflavonas, flavonoles, neoflavonas y chalconas (Apolin y Garay, 2017).

Las propiedades físicas de los flavonoides según Apolin y Garay (2017) son las siguientes:

- Solubles en agua caliente, en disolventes orgánicos polares y en alcohol.
- Son sustancias sólidas cristalizadas de color blanco o amarillento.
- Son insolubles en disolventes apolares.
- Se oxidan rápidamente a comparación que otras sustancias, por esto se los consideran como antioxidantes.

2.3.3 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son considerados metabolitos secundarios que poseen las plantas, existen aproximadamente 8000 compuestos fenólicos, cada uno con diferente estructura química y actividad. Poseen un anillo benceno, uno aromático, uno o más grupos hidróxidos que incluyen derivados funcionales como esteres, glicósidos, metil esteres, etc. (Cortez, 2012).

Se encuentran unidos con mayor frecuencia a compuestos como: glucosa, ramnosa, ácidos glucurónico, galacturónico, xilosa, galactosa, arabinosa, pero también pueden estar unidos a ácidos orgánicos, aminas, ácido carboxílicos, lípidos y otros compuestos fenólicos (Cortez, 2012).

2.3.4 Alcaloides

Son un grupo de metabolitos secundarios que se encuentran en los organismos vivos, mayormente en las plantas, compuestas por sustancias orgánicas nitrogenadas, constituidos de una estructura compleja, donde la molécula consta de grupos atómicos que poseen nitrógeno y crean anillos cerrados (Chávez y Gutiérrez, 2013).

2.3.5 Cumarinas

Son un grupo de metabolitos secundarios sintetizados de origen vegetal, gracias al trabajo del ácido shikímico, que presenta un heteroátomo que es el oxígeno, con un heteronúcleo llamado benzo 2-pirona o benzo α-pirona, donde su formación es la pieza clave en la síntesis de ciclación de todo compuesto cumarina (Herrera et al., 2017).

2.4 Etapa de Postcosecha

El propósito de la etapa postcosecha es preservar la calidad e inocuidad de los productos procedentes del campo y evitar posibles pérdidas de las materias primas durante la etapa de manejo, transporte y comercialización que pueden ser producidos por agentes patógenos o la inadecuada manipulación humana (Carvajal, 2012).

2.4.1 Perdidas en la Postcosecha de frutas

Las principales causas de las pérdidas de las frutas en la actualidad durante la etapa de postcosecha están asociado con la inadecuada manipulación de los productos, incluido a esto la falta de selección de frutas con posibles alteraciones físicas que faciliten un foco proliferación de microorganismos que al desarrollarse actúa como un agente infectivo, produciendo una enfermedad que muestra como síntoma física una podredumbre en la parte superficial o en todo el fruto (Guamán, 2017; Moreno, 2012).

En la producción hortofrutícola los agentes más dañinos con mayor frecuencia son los hongos, causantes de la podredumbre de las frutas en el proceso de la postcosecha, en los cuales los más predominantes están los *Penicillium digitatum, Penicillium italicum, Botrytis, Alternaria y Rhizopus*, en donde el hongo más agresivo es el *Penicillium* al cual se atribuye como el principal causante del 80-90% de las podredumbres en las frutas (Guamán, 2017).

La pérdida de alimentos en el mundo según la FAO es alrededor de 1.300 millones de toneladas y en el entorno de América latina anualmente es de 127 millones de toneladas, y en términos de productos frutícolas la perdida alcanza los 55%, determinando que la pérdida de alimento (PDA) ocurre durante la producción, postcosecha, almacenamiento y transporte (FAO, 2016).

El manejo de la postcosecha en el Ecuador presenta una serie de problemas relacionado fuertemente a partir de la producción agrícola que muestra como resultado que de cuatro de cada diez productos sufre un ataque de pudrición en la estructura física de la materia prima desde la cosecha hasta llegar al consumidor final, ocasionando una pérdida de postcosecha del 40% o más (Guamán, 2017).

2.4.2 Principales enfermedades en la postcosecha de frutas

2.4.2.1 Enfermedad en la mora. La *Botrytis sp* es un enfermedad que produce la pudrición de la mora atacando drásticamente antes y durante la postcosecha, agrediendo diferentes partes de la planta como el fruto, las yemas de las plantas y presentando como síntoma físico un moho blanco en la superficie del producto (Guamán, 2017).

2.4.2.2 Enfermedad en el tomate. La *Alternaría sp* es uno de los principales causantes en atacar al tomate durante la etapa de postcosecha, produciendo daños al fruto con manchas necróticas oscuras, cóncavas, deprimidas en la zona peduncular (Guamán, 2017).

La *Botrytris cinérea* es otra enfermedad que ataca al tomate produciendo el llamado moho gris en la superficie de la materia prima, atacando principalmente a las flores y frutos, con la particularidad de generar deformaciones y manchas en todo el fruto (Guamán, 2017).

2.4.2.3 Enfermedad en la fresa. La *Botrytris cinérea* es un hongo muy reconocido en producir grandes pérdidas en la cadena de postcosecha de la fresa originando una pudrición gris, los síntomas de la enfermedad suelen detectarse en los productos maduros dado a que presentan una pudrición blanda conjuntamente con una cepa de micelio y conidias de color plomo, presentando una fácil propagación en frutos maduros que no han sido adecuadamente manipuladas o por la contaminación del hongo en la materias primas (Merchán, Ferrucho, y Álvares, 2014).

2.4.2.4 Enfermedad en los Cítricos. Los *Penicillium* son los principales causantes del deterioro de los productos cítricos a lo largo de toda la etapa de postcosecha, en los cuales el *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum* son los primeros patógenos con mayor actividad de proliferación, que se originan a través de las heridas generando una podredumbre blanda y húmeda en el producto. *Colletotrichum gloeosporioides* es una enfermedad que genera antracnosis o podredumbre en las naranjas. *Fusarium proliferatum y F. oxysporum* dan origen a la aparición de la pudrición peduncular en las mandarinas después de los 10 días en la etapa de transporte y comercialización. *Phytophthora parasítica* y *P. citrophthor* es otra enfermedad que ataca a los limones cuando estas están en condiciones de lluvia y humedad que dan la aparición de la podredumbre marrón (Murray, Candan, y Vázquez, 2019).

2.4.2.5 Enfermedad en la manzana y pera. El *Penicillium expansum* es el hongo con mayor impacto negativo en toda la postcosecha de manzanas y peras en el mundo, presentando como síntoma una podredumbre blanda, acuosa y de color marrón claro. Toda esta infección ocurre cuando la materia prima presenta una herida en donde existe la

presencia del hongo que lo infecta, desarrollando primeramente un micelio blanco y finalmente por una esporulación azul (Figura 5B) que da origen al nombre de la enfermedad (Murray, Candan, y Vázquez, 2019; Moreno, 2012)

La *Botrytris cinérea* conocida como la enfermedad de la pudrición gris (Figura 5A) que también afecta mundialmente a las peras y manzanas durante la postcosecha. Otras enfermedades en frutas de pepitas como la manzana y la pera, está la *Alternaría sp,* podredumbre por alternaría, *Alternaría sp, Fusarium sp, Penicillium sp,* causantes del corazón mohoso, *Rhizopus stolonifer* (Murray, Candan, y Vázquez, 2019).

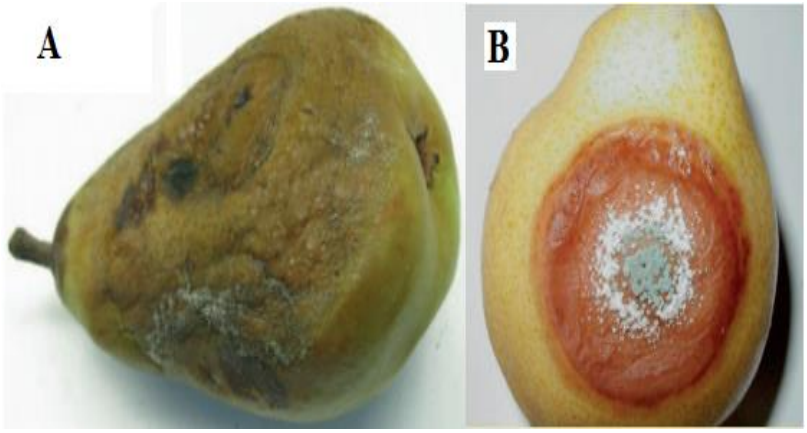


Figura 5. a) *Podredumbre gris* (*Botrytris cinérea*), b) *Moho azul (Penicillium expansum) en peras.* Tomado de "Manual de poscosecha de frutas: manejo integrado de patógenos" (Murray, Candan, y Vázquez, 2019).

2.5 Condiciones en las que se desarrollan los principales hongos que atacan a las frutas

2.5.1 Hongos filamentosos o mohos

Son aquellos microorganismos eucarióticos y se reproducen de dos maneras diferentes sexual o asexualmente por medio de esporas. Estos hongos se caracterizan por la ausencia de clorofila, por lo cual no realizan el proceso de fotosíntesis y se nutren a partir de materia orgánica ya elaborada. Poseen una pared celular la cual está formada por quitina, que es un polisacárido que le da rigidez y es responsable de su morfología (Arias y Piñeros, 2008).

Los mohos se desarrollan en ambientes húmedos, a un pH de 4-6 y con baja luminosidad, la temperatura influye en el crecimiento, germinación de las esporas y en su reproducción (Arias y Piñeros, 2008). Los mohos por lo general son los responsables de

causar el deterioro en los órganos de las plantas en las etapas de cosecha y postcosecha, además de ocasionar oxidaciones y podredumbres en los productos, generan efectos nocivos en la salud del consumidor debido a la presencia de micotoxinas en los alimentos (Macías, 2020).

2.5.2 Tipos de hongos

2.5.2.1 Alternaria sp. Es un hongo dematiáceo (abundante pigmentación) perteneciente a la familia Pleosporaceae, se compone de 275 especies de mohos, la mayor parte de estas especies de *Alternaria* son saprofitas, por esta razón se las puede encontrar en el suelo, descomponiendo tejidos de las plantas, en materia en descomposición y en el aire (Rivas y Mühlhauser, 2014).

La enfermedad causada por la *Alternaria* se la conoce como tizón temprano o mancha café, en la Figura 6 se puede observar los daños ocasionados por este tipo de hongo, que se caracteriza por la presencia de síntomas como lesiones circulares de color café oscuro acompañada de bordes de color gris y de aspecto velloso, el tamaño de estas lesiones circulares es de 8-10 mm, pero pueden variar y esto dependerá de las condiciones y el medio en donde estas se desarrollen. Los síntomas se observan principalmente en ramas tiernas y en frutos jóvenes, pero también afecta a hojas y frutos maduros (Castro et al., 2000).



Figura 6. *Daño por el ataque de Alternaria solani en el tomate (Solanum lycopersicum).* Tomado de "Manejo integrado de plagas y enfermedades. Alternaria en tomate" (Instituto de Investigaciones Agropecuarias, 2018).

La *Alternaria sp* puede causar daños y alteraciones antes y después de la cosecha de los productos agrícolas. Por lo general este tipo de hongo ocasiona daños en los cultivos oleaginosos, en las frutas (cítricos, tomate, manzanas, etc.), en los cereales (sorgo, cebada y trigo) y en los vegetales (coliflor, zanahoria, papas y brócoli). La *Alternaria* puede crecer en

temperaturas de -3 a 35°C, pero se desarrolla con mayor rapidez entre los 22-28°C, en ambientes con una humedad relativa mayor al 80% y 0,99 de actividad de agua (Macías, 2020).

2.5.2.2 Rhizopus sp. Este hongo ataca especialmente a cultivos del tomate, los principales síntomas son la presencia de lesiones húmedas y blandas, las cuales se expanden rápidamente en los frutos maduros. El micelio del *Rhizopus* invade los tejidos y los recubre con un moho de color blanquecino, provocando una descomposición rápida en los productos (Pérez, 2018).

2.5.2.2.1 Rhizopus stolonifer. Este hongo es el causante de la enfermedad conocida como pudrición blanda en los frutos. En la Figura 7 se puede evidenciar los principales síntomas de la pudrición blanda en la fresa, en el cual presentan una decoloración marrón claro, acompañado de un ablandamiento en los tejidos del fruto, lo cual provoca una segregación acuosa del mismo y por último el fruto es cubierto por un micelio de color blanco en donde se logra evidenciar puntuaciones negras que corresponde a los esporangios (estructura productora de esporas) del hongo (Farrera, Zambrano, y Ortiz, 2007).



Figura 7. *Pudrición blanda en la fresa (Fragaria L).* Tomado de "Identificación de hongos asociados a enfermedades del fruto de la fresa en el municipio Jáuregui del estado Táchira" (Farrera, Zambrano, y Ortiz, 2007).

El *Rhizopus stolonifer* puede crecer y desarrollarse en temperaturas de 10-30°C, pero las condiciones óptimas para su desarrollo son de 10-12°C y 70-80% de humedad relativa (Pérez, 2018). El hongo se ve afectado a temperaturas inferiores de 4°C, por lo tanto el manejo adecuado de la temperatura seria la forma más simple y eficaz de controlarlo (Ruíz, 2017).

2.5.2.3 Penicillium sp. Es un hongo filamentoso que se encuentra en gran cantidad en el suelo, con una capacidad de crecimiento rápido, afectando negativamente con la podredumbre a los alimentos y frutas. En la Figura 8a se puede observar las colonias de *Penicillium* desarrolladas en PDA y en la Figura 8b síntomas ocasionados en los tomates a 5 días más tarde de la incubación artificial (Vilanova et al., 2014).

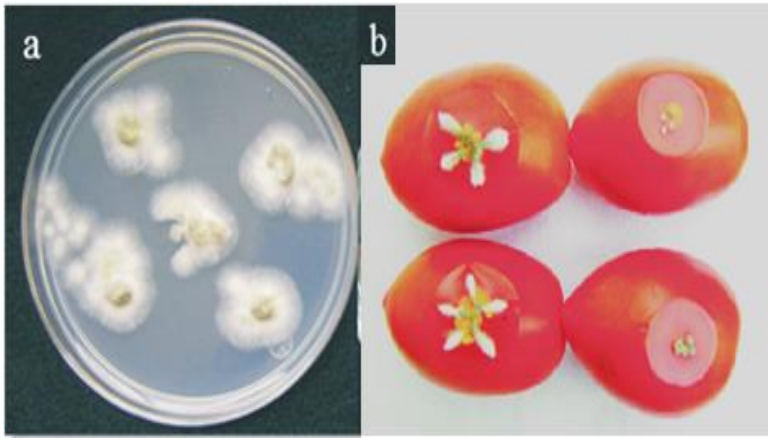


Figura 8. a). *Características morfológicas de colonias de Penicillium. b) Síntomas de pudrición en el tomate.* Tomado de "Identificación morfológica y molecular de Penicillium oxilicum causante de pudrición de tallos y frutos de tomate" (Allende et al., 2013).

2.5.2.3.1 Penicillium Italicum. Es un hongo del género moho azul que se caracteriza también por producir la podredumbre en los cítricos, como se lo muestra en la Figura 9, este hongo provoca pérdidas alrededor del 80% antes, durante y después de la cosecha (Guédez et al., 2010).

El hongo *P. Italicum* produce una contaminación en los productos cítricos por medio de esporas, que atacan a la fruta cuando esta muestra lesiones o no en la parte superficial y produce una enzima con la capacidad de degradar la lignina, que actúa como soporte del tejido vegetal en la corteza de la materia prima, originando negativamente el ablandamiento en los cítricos. Tiene la capacidad de crecer en un ambiente entre 3 y 32 °C, con una temperatura optima de desarrollo de 24 °C y con presencia de humedad relativa alta (Guédez et al., 2010).



Figura 9. *Podredumbre azul en el limón (Citrus limon).* Tomado de "Aplicación de esencias de canela y clavo como alternativa a los fungicidas de síntesis en el control de las podredumbres de limón" (Gonzáles, 2013).

2.5.2.3.2 Penicillium digitatum. Es un hongo conocido como moho verde, que ataca la parte superficial de frutas entre los principales afectados son los cítricos (Figura 10), la infección se produce principalmente en las heridas o microheridas existentes en la piel de la fruta, causadas por el manejo inadecuado durante las etapas de cosecha y postcosecha de la materia prima, originando infecciones irreversible en un tiempo de 48 horas a 20-25 °C. Considerado uno de los principales patógenos con mayor impacto debido a que causa pérdidas cerca del 80% en la postcosecha de frutos cítricos (Velásquez et al., 2014).

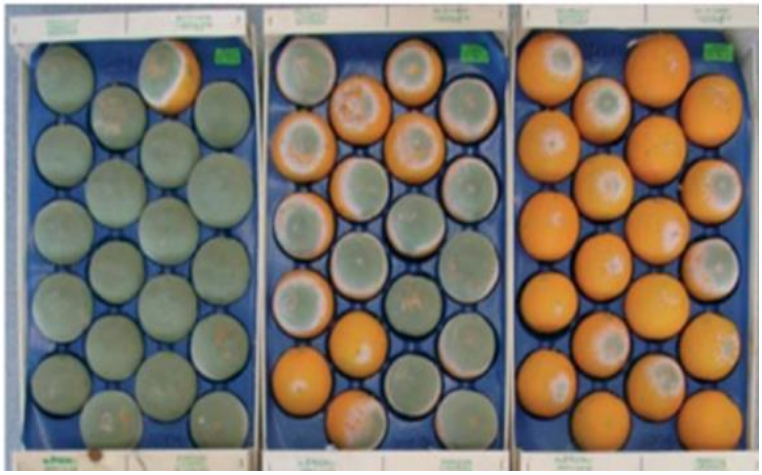


Figura 10. *Podredumbre en las naranjas ocasionado por el hongo P. digitatum.* Tomado de "La cicatrización de heridas en naranjas: ¿Es un proceso efectivo para evitar la podredumbre de poscosecha de Penicillium digitatum?" (Vilanova et al., 2014).

2.5.2.4 Botrytis cinérea. Produce una enfermedad en la frutilla *(Fragaria L.)* que genera un moho gris (Figura 11), apareciendo como una mancha de color amarillento o marrón claro en la parte final del cáliz, presentando una propagación acelerada que es capaz de infectar al 95% de la materia prima después de las 48 horas de la cosecha, llegando a producir perdidas hasta el 50% de la producción. Este hongo actúa en condiciones de alta humedad, atacando principalmente a las flores y frutas de la frutilla (Merchán, Ferrucho, y Álvares, 2014).



Figura 11. *Síntomas del moho gris en la fresa (Fragaria L).* Tomado de "Identificación de hongos asociados a enfermedades del fruto de la fresa en el municipio Jáuregui del estado Táchira" (Farrera, Zambrano, y Ortiz, 2007).

2.6 Alternativa de control para hongos en la Postcosecha de las frutas

2.6.1 Extractos naturales

Los extractos naturales son concentrados que se obtienen mediante el empleo de soluciones diluidas de bases o ácidos, pero los más utilizados para estos procesos son los solventes orgánicos debido a que presentan baja reactividad y bajo punto de ebullición (Guamán, 2017). Este concentrado está compuesto por una mezcla de principios activos y de sustancias inertes que se obtienen de la totalidad o partes de las plantas ya sean frescas o secas (Cruz, 2016).

La utilización de extractos vegetales para el control de enfermedades en la postcosecha de los frutos presenta sus ventajas debido a que son compatibles con otros compuestos naturales y aumenta su efectividad al atacar a cierto tipo de microorganismo patógeno en los productos, y sobre todo que los extractos vegetales presentan bajos riesgos para la salud humana y el medio ambiente (Gómez, 2019).

2.7 Métodos para la obtención de extractos naturales

2.7.1 Clasificación de los métodos extractivos

En el esquema de la Figura 12 se puede observar la clasificación de los métodos para la obtención de extractos vegetales, de los cuales la extracción con solventes es el método más utilizado en la industria farmacéutica y química (Cortez, 2012).

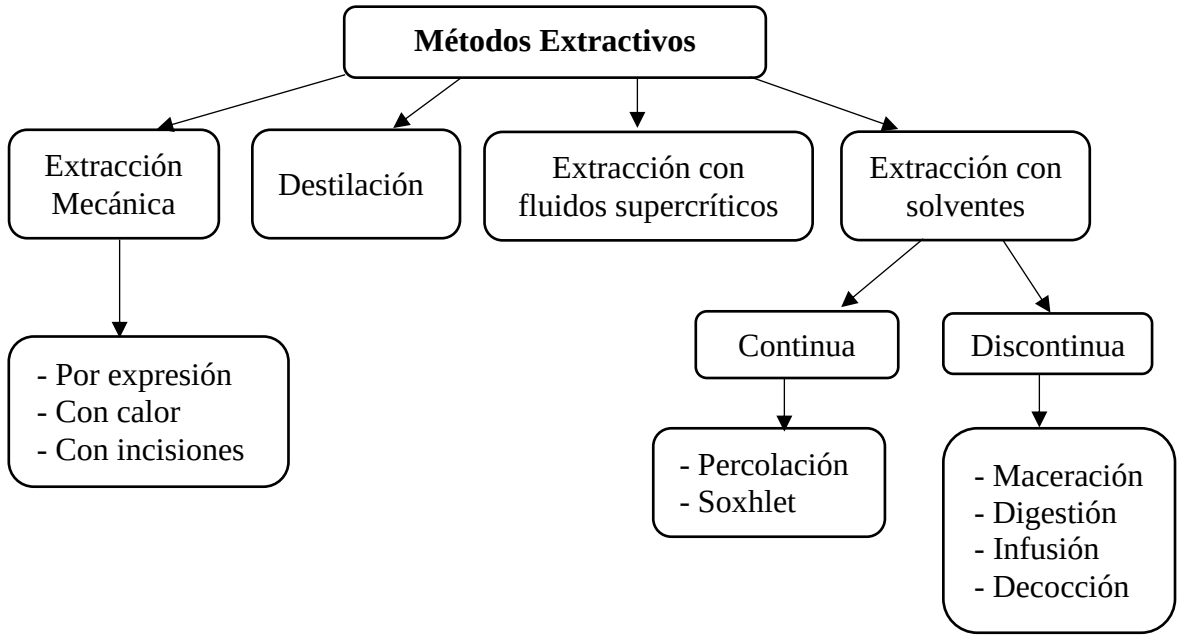


Figura 12. *Clasificación de los métodos extractivos*. Tomado de "Obtención de extracto tánico y extracto gálico a partir de la harina de vaina de guarango (*Caesalpinia spinosa) (*Mol.) o *Kuntz*, a escala laboratorio" (Cortez, 2012).

2.7.1.1 Extracción mecánica. Se realizar por expresión y consiste en ejercer presión sobre la droga (partes de la planta) ya sea por calor o por medio de incisiones los cuales permitan que fluyan los jugos de la planta, estos jugos contienen los principios activos de las plantas (Osorio, 2009).

2.7.1.2 Destilación. En este método se emplea una fuente de calor para lograr extraer los principios activos de las plantas, el método se basada en la diferencia de volatilidad que existe en los componentes de la planta, esto permite la separación de los componentes volátiles de otros que son nada o menos volátiles (Osorio, 2009; Santana, 2014;).

2.7.1.3 Extracción con fluidos supercríticos. Se usan equipos especiales los cuales permiten controlar la presión (P) y temperatura (T), debido a que se trabajan a condiciones

superiores de P y T críticas. Este método es muy selectivo y permite eliminar el gas extractor de una manera sencilla, pero para lograrlo su costo es elevado y encontrar las condiciones de P y T óptimas es complicado (Osorio, 2009).

2.7.1.4 Soxhlet. Se trabaja a temperaturas de ebullición usando solventes orgánicos para lograr obtenerlos extractos, se usa un equipo Soxhlet el cual permite la recirculación de los vapores condensados (Osorio, 2009; Amaguaña y Churuchumbi, 2018).

2.7.1.5 Percolación. En este método se suele utilizar disolventes alcohólicos o mezcla hidroalcohólica y se trabaja a temperatura ambiente, este disolvente atraviesa por todo el material pulverizado de la planta en un solo sentido, nuevamente todo el material de la planta es bañado con nuevas proporciones del disolvente en donde logra obtener todos sus componentes solubles (Carrión y García, 2010).

***2.7.1.6 Maceración*.** Se trabaja a temperatura ambiente, se usan disolventes tales como: agua, mezclas hidroalcohólicas o glicerina, esta técnica consiste en remojar todo el material vegetal previamente pulverizado en un tipo de solvente durante un tiempo de 2-14 días con agitaciones aleatorias, finalmente se procede a filtrar el líquido y coloca en un evaporador rotatorio el cual permite recuperar el solvente y obtener los extractos (Amaguaña y Churuchumbi, 2018).

2.7.1.7 Decocción. Esta técnica se lleva a cabo a temperaturas de ebullición en un tiempo de 15-30 min y el único solvente utilizado es el agua (Osorio, 2009).

***2.7.1.8 Digestión*.** Se trabaja a temperaturas de 50 o 60°C, utilizan como solventes el agua, glicerina o mezclas hidroalcohólicas, si se aumentan la temperatura se consigue un mayor rendimiento en la extracción de los principios activos, debido a que la viscosidad del solvente disminuye y esto le permite que ingrese más rápido al interior de las células del material vegetal facilitando el proceso de extracción (Carrión y García, 2010).

***2.7.1.9 Infusión*.** En esta técnica se puede trabajar a temperaturas próximas a ebullición durante 1-2 min o a temperaturas menores durante 30 min, el solvente utilizado es el agua (Osorio, 2009; Carrión y García, 2010).

2.7.2 *Procedimiento para la obtención la harina de Caesalpinia spinosa*

La harina de *Caesalpinia spinosa* es un polvo fino de color amarillo claro, posee un contenido aproximado del 68% en taninos (Castillo y Lema, 2011).

1. **Cosecha.** Para alcanzar la mayor concentración de taninos las vainas son cosechadas en una fase de maduración adecuada.
2. **Limpieza.** Este proceso se lo realiza manualmente en donde se elimina todo el material extraño presente.
3. **Selección.** Retirar vainas podridas y oxidadas, dejando las mejores vainas para la etapa de molienda.
4. **Molienda.** Reducción de tamaño de la partícula
5. **Tamizado.** Esta acción se lo realiza mediante la incorporación de cribas, tamices vibratorios o tamices de vaivén.
6. **Molienda Fina.** Este proceso se encarga de realizar la molienda de la fibra de las vainas a fin de obtener el polvo o la harina de guarango (Castillo y Lema, 2011) (Saavedra, 2016).

2.7.3 Procedimiento para obtención de los extractos a partir de la harina de Caesalpinia spinosa

En la investigación realizada por León (2018) sobre la "Evaluación in vitro de la capacidad inhibitoria de taninos presentes en la Tara (*Caesalpinia spinosa)* frente a *Fusarium sp*", detalló todo el procedimiento a seguir para la obtención del extracto acuoso a partir de la harina del guarango por los métodos de maceración y por calentamiento.

2.7.3.1 Extracto acuoso por maceración

1. Pesar 0,4 gramos de la harina de *Caesalpinia spinosa* y colocarlo en un frasco de vidrio obscuro.
2. Agregar 70 ml de H_2O destilada en el frasco de vidrio y dejar reposar la mezcla a temperatura ambiente durante 72 horas.
3. Filtrar el extracto acuoso con papel filtro, en este caso el autor lo realizó con ayuda de una bomba de vació Millipore, el extracto resultante lo aforo con agua destilada a 100 ml.
4. Colocar el extracto en una botella de plástico y almacenarlo en un lugar fresco, seco y alejado de la luz.

2.7.3.2 Extracto acuoso por calentamiento

León (2018), Játiva (2011) y Cortez (2012) coinciden con el procedimiento para la obtención del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* por calentamiento y lo describen de la siguiente manera:

1. Pesar 0,4 gramos de la harina de *Caesalpinia spinosa* y colocarlo en un vaso de precipitación.
2. Agregar 70 ml de H_2O destilada en el vaso de precipitación, posteriormente la mezcla obtenida se coloca en el soporte universal para calentarlo.
3. Controlar la temperatura de la mezcla durante 10 min con ayuda de un termómetro, la temperatura de calentamiento debe alcanzar los 60°C si se excede esta temperatura se obtendría sustancias no tánicas (Játiva, 2011).
4. Filtrar la muestra, con el objetivo de eliminar las partículas gruesas y el extracto resultante se lo afora con agua destilada a 100 ml.
5. Realizar un segundo filtrado con el fin de retener los sólidos suspendidos en la muestra (Játiva, 2011).
6. Colocar el extracto en una botella de plástico y almacenarlo en un lugar fresco, seco y alejado de la luz.

2.7.3.3 Extracto hidroalcohólico al 50% por agitación. Agregar 10 gramos de la harina de guarango en un matraz de 500 ml, posteriormente añadir 250 ml de etanol al 50%, agitar la mezcla durante 6 horas, para facilitar este proceso utilizaron un mezclador Rotomix, dejar la muestra 8 horas en reposo, terminado este tiempo agitar nuevamente por 30 min y proceder a filtrar el extracto con papel filtro, finalmente del extracto obtenido se toma 0,6 ml y se afora con agua destilada a 10 ml, el extracto final se coloca en frascos de plástico y se los conserva en un lugar oscuro, fresco y seco (Macas y Méndez, 2013; León, 2018).

2.7.3.4 Extracto hidroalcohólico al 30% por maceración. Colocar 0,4 gramos de harina de guarango en un frasco de vidrio, luego agregar 70 ml de etanol al 30% y dejar reposar por 72 horas a temperatura ambiente, posteriormente se filtra el extracto con papel filtro, en este caso el autor utilizó una bomba de vacío Millipore para el proceso de filtrado, el extracto resultante se aforo con agua destilada a 100 ml y finalmente se coloca el extracto obtenido en un frasco plástico y se lo almacena en un lugar fresco, seco y sobre todo alejado de la luz (León, 2018).

2.7.3.5 Extracto etanólico. Gómez (2019) en su trabajo investigativo del efecto in vitro e in situ del extracto etanólico de vainas de *Caesalpinia spinosa* sobre el hongo *Alternaria sp*, detalló el procedimiento utilizado para la obtención del extracto etanólico por el método de maceración de la siguiente manera.

1. Colocar 100 gramos del polvo del guarango en un recipiente de vidrio color ámbar de boca ancha, posteriormente adicionar 400 ml de etanol al 96% y dejarlo por un tiempo de 5 días para que la mezcla macere.
2. Agitar la mezcla de forma mecánica diariamente dos veces al día por un lapso de 10 min, con la finalidad de aumentar la liberación de pigmentos hacia la superficie.
3. Filtrar el extracto con ayuda de papel filtro y colocarlo en un rotavapor hasta conseguir un extracto puro, finalmente colocar el extracto seco en un frasco oscuro.

2.7.4 Cuantificación de taninos de los extractos

Para determinar el contenido de taninos presentes en los extractos hidroalcohólicos y acuosos de la harina de *Caesalpinia spinosa*, se realiza por el método colorimétrico que permite analizar la variación de absorbancia de la muestra a una determinada longitud de onda, para este procedimiento se usa el reactivo fenólico de Folin-Ciocalteu, cuyo resultado es una coloración azul y se cuantifica mediante un espectrofotómetro a 750 nm (León, 2018; Cortez, 2012).

En las investigaciones realizadas por Játiva (2011), León (2018) y Cortez (2012) coinciden con el procedimiento para la preparación de los extractos y determinar su concentración de taninos, el cual se lo desarrolla de la siguiente manera:

1. Preparar una solución en relación 1:10 en agua destilada, con el extracto de la harina de Caesalpinia spinosa.
2. De muestra preparada tomar 0,5 ml y añadir 0,5 ml de reactivo fenólico de Folin Ciocalteu en un frasco de color oscuro y dejar reposar por 3 min.
3. Añadir 10 ml de carbonato de sodio a 75 g/l de concentración y aforar a 25 ml con agua destilada, finalmente los frascos son recubiertos con papel aluminio.
4. Preparar en un frasco color ámbar una solución blanca: añadir 4 ml de agua destilada y agregar 0,25 ml de reactivo fenólico de Folin Ciocalteu, dejar reposar por 2 min, finalmente agregar 750 ml de carbonato de sodio al 20 % v/v (León, 2018).
5. Los frascos con las soluciones se colocan en el ultrasonido Fisher Scientific por 5 min, después dejarlos reposar por 1 hora a temperatura ambiente.

6. Colocar las muestras en el espectrofotómetro UV- Visible y proceder a medir la absorbancia a 750 nm en 60 y 120 min aproximadamente.

2.7.5 Preparación de los inóculos

Para aislar el inóculo de la *Alternaría sp* se lo realizó en una placa Petri, mismo que fue sembrado en agar papa dextrosa (PDA), donde el hongo se dejó en condiciones de oscuridad para su crecimiento y esporulación a una temperatura de 23 ± 2 °C a fin de obtener un cultivo puro (Gómez, 2019).

El aislamiento del inóculo del *Rhizopus sp* se llevó a cabo en placas Petri, donde el hongo fue sembrado en agar papa dextrosa (PDA) y con una modificación en el medio de cultivo con fructuosa enriquecido al 5%, mismo que es encubado a 25°C por 48 horas para su desarrollo (Pérez, 2018).

Para la preparación del inóculo del patógeno de género *Penicillium sp* se utilizó un cultivo de *P. digitatum y P. italicum,* sembradas en una placa Petri con agar papa dextrosa (PDA) e incubadas a 24°C por un periodo de 7-12 días hasta su crecimiento (Alamar, 2008).

2.8 Actividad Antifúngica de *Caesalpinia spinosa*

Gómez, R. (2019) realizó un estudio en el cual determino el efecto antifúngico in vitro e in situ del extracto etanólico a partir de las vainas de la *Caesalpinia spinosa* sobre *Alternaria sp.* Para determinar el efecto in vitro este autor trabajó con un diseño completamente al azar, mediante 4 tratamientos y 3 repeticiones a concentraciones de 0%; 0,5%, 1%, 8% de extracto etanólico, la siembra de los inóculos de la *Alternaria sp* se realizó por punción central, mismas que fueron incubadas a temperatura de 23°C ± 2°C, para determinar el efecto antifúngico in situ se trabajó con 4 tratamiento y 5 repeticiones en frutas de *S. Esculentum* (tomate), estas frutas fueron tratadas por inmersión en las diferentes concentraciones del extractos etanólico del guarango, posteriormente inoculadas con esporas de *Alternaria sp* en heridas de 2 mm para evaluar el crecimiento micelial durante un periodo de 8 días. El resultado obtenido de la actividad antifúngica in vitro e in situ muestra una acción muy significativa en la disminución de la velocidad del crecimiento de la *Alternaria sp* sometido a la concentración del 8% que representa el 89,72% y a una concentración del 1% representa el 79,69% de la inhibición del hongo con el extracto etanólico del guarango con un promedio micelial de 0,51 cm y 0,53 cm para cada caso.

Ferreira, et al., (2005) realizó un estudio para evaluar el efecto del extracto vegetal de *Caesalpinia spinosa* en crecimiento in vitro de los hongos *Fusarium solani y Phoma tarda.*

Estos autores estudiaron un extracto hexánico a partir de *Caesalpinia spinosa*, el mismo que fue ensayado para comprobar su actividad antifúngica como alternativa para el control físico o químico de enfermedades de fusariosis en diferentes cultivos, así como las manchas de *Phoma* en las hojas de café. Trabajaron con PDA para el crecimiento del micelio debido a su mejor producción de esporas, en concentraciones de 2204 mg/L, 4460 mg/L, 6370 mg/L 7644 mg/L, y 16169 mg/L. En dosis referencial de 0,173 g, 0,350 g, 0,500 g, 0,600 g, y 1.270 g. Observando que las dosis de 0,350 g, 0,500 g, 0,600 g y 1.270 g los promedios de desarrollo micelial fue positivamente más corto referente al tratamiento control. Los resultados obtenidos determinaron que los extractos a mayor concentración presentan la capacidad de inhibir el crecimiento micelial en un porcentaje de 3,95% a 32,20% para el hongo *Phoma tarda* y para el *Fusarium solani* en un rango de 7,29% a 33,83%.

En su trabajo de titulación Pérez (2018) evaluó el efecto inhibitorio in vitro de los extractos naturales a partir de *Caesalpinia spinosa* (guarango) y de *Chenopodium quinoa willd* (quinua) como tratamientos alternativos frente al hongo Rhizopus. Para obtener el extracto acuoso de la harina de vainas secas del guarango lo realizó aplicando calor a 55°C por 30 min, mediante centrifugación logró separar el extracto acuoso de los residuos sólidos de la harina de guarango. Para el extracto acuoso de los granos de quinua lo realizó a temperatura ambiente, mediante agitación continua por 24 horas a 130 rpm. Finalmente, los extractos pasaron por medio de papel filtro de 40 µm y almacenados a 4°C.

En la evaluación del efecto inhibitorio de los extractos acuosos anteriormente mencionados el autor utilizó un diseño completamente al azar, los tratamientos estudiados fueron; un tratamiento testigo y sus diluciones correspondientes para cada extracto acuoso obtenido: concentraciones de 300, 250, 200, 150, 50, 0.5 ppm de saponinas de quinua y los taninos del guarango a concentraciones de 400, 350, 250, 150, 100, 5 ppm. Para realizar esta evaluación utilizaron microplacas Elisa de 96 pocillos cóncavos, en donde se distribuyeron cada uno de los tratamientos. Utilizaron una concentración de 10^5 esporas/ml para cada unidad experimental y PDA (agar papa dextrosa) modificado con 5% de fructuosa como medio de cultivo y fuente de alimento para las esporas del *Rhizopus.* Posteriormente las microplacas fueron incubadas a 25°C en ausencia de luz, por medio de mediciones a 492 nm de densidad óptica cada 12 horas se determinó el crecimiento del micelio. Los resultados obtenidos en la investigación muestran un porcentaje de inhibición del 4,14% a partir del extracto acuoso de la harina de vainas secas de *Caesalpinia spinosa* sobre el hongo *Rhizopus* durante las primeras 12 horas de su crecimiento (Pérez, 2018).

Játiva, S. (2011) menciona que los cítricos son frutos susceptibles a la afección de ciertos hongos, entre los más predominantes están el *Penicillium digitatum* (moho verde) y *Penicillium italicum* (moho azul), mismos que afectan su calidad en la etapa de la postcosecha produciendo una podredumbre en la corteza de la fruta.

En su investigación realizó un estudio comparativo en el cual determino la acción inhibitoria de los extractos: guarango (36,25% concentración en taninos), chochos (concentración de 36,48% de alcaloides), soluciones de propóleos (20,00% de propóleos) y un producto químico conocido como Kocide (53,80% hidróxido de cobre) sobre los hongos *Brotrytis cinérea, Penicillum sp* y *Aspergillus niger.* Este autor trabajó con 3 concentraciones diferentes de 10.000 ppm, 5000 ppm y 2500 ppm de cada uno de los extractos mencionados. Para la preparación del medio de cultivo agregó PDA (agar papa dextrosa) y después se lo introdujo en la autoclave para su esterilización, finalmente añadió 1 ml de ácido cítrico con el propósito de evitar una contaminación bacteriana en el cultivo. Los hongos fueron sembrados en estos medios de cultivos y almacenados durante 6 días en la incubadora a 27°C y al 80% de humedad relativa. Los resultados obtenidos de esta investigación muestran el potencial de la actividad antifúngica del extracto acuoso del guarango frente a los hongos *Penicillium sp* y *Botrytis cinérea.* A concentraciones de 2500 ppm muestra un control significativo del 53,5%, a concentración de 5000 ppm la inhibición del hongo alcanza respuesta del 87,3% y a 10.000 ppm el control del hongo es total, demostrando que el *Penicillium sp* es susceptible a la toxicidad de los compuestos tánicos del guarango. Frente al hongo *Botrytis cinérea* el efecto inhibitorio es del 7,2% y 20% en las concentraciones de 5000 ppm y 10.000 ppm (Játiva, 2011).

CAPITULO 3: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo o Diseño de Investigación:

Investigación teórica con un enfoque documental la misma que se ajusta a la selección y recopilación de información por medio de la lectura crítica de documentos y materiales bibliográficos existentes en un documento, con el fin de tener antecedentes para profundizar en las teorías y aportaciones ya emitidas sobre el tema que es el principal estudio.

3.2 Métodos de Investigación:

El método utilizado para la determinación de la actividad antifúngica de extractos a partir de *Caesalpinia spinosa* (Guarango) para el control postcosecha: *Penicillun: digitatum y italicum* en los cítricos, *Alternaria* (tomate), *Botrytis cinérea* y *Rhizopus* en fresas, fue por medio de revisiones bibliográficas en las siguientes fuentes como: revistas técnicas, artículos científicos, normas técnicas ecuatorianas, libros, fichas técnicas, tesis de pregrado, posgrado y doctorado, se utilizó también buscadores web como: Scielo, researchgate, google académico, academia, entre otros, con las siguientes palabras claves: actividad antifúngica, extracto hidroalcohólicos, metabolitos secundarios, hongos filamentosos, *Caesalpinia spinosa*.

Posteriormente se analizó toda la información recopilada de las diferentes fuentes bibliográficas, con la finalidad de seleccionar documentos confiables, los cuales nos ayuden a corroborar sobre la eficacia de los extractos de *Caesalpinia spinosa* en la inhibición de hongos patógenos en los frutos durante la etapa de postcosecha. Finalmente, con la información recopilada se procedió al desarrollo del trabajo investigativo con el propósito de sustentar los objetivos planteado en el tema de estudio y determinar la eficiencia de los extractos de *Caesalpinia spinosa* en la inhibición de hongos patógenos en los frutos.

Para el cumplimiento del primer objetivo se utilizaron 4 tesis de pregrado y 1 artículo científico, los cuales ayudaron a corroborar la presencia de metabolitos secundarios de la *Caesalpinia spinosa.* Para el segundo y tercer objetivo se procedió a seleccionar trabajos de carácter experimental realizados por diferentes autores sobre la capacidad inhibitoria de los extractos acuosos e hidroalcolicos del guarango para los hongos del género *Alternaria, Botrytis cinérea, Rhizopus, y Penicillium* que atacan a los frutos, posteriormente se realizó una tabla comparativa en donde se muestra los resultados de la actividad antifúngica y los métodos más empleados en la obtención de estos extractos.

CAPÍTULO 4: ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Resultados

4.1.1 Determinar los metabolitos secundarios de Caesalpinia spinosa

De acuerdo a las investigaciones realizadas en los diferentes documentos como tesis de pregrado y artículos científicos se puede evidenciar la presencia de metabolitos secundarios en la *Caesalpinia spinosa*, estos resultados se muestran en la tabla 6.

Tabla 6

Metabolitos secundarios presentes en la Caesalpinia spinosa

Metabolitos secundarios	**(Angaspilco y Cárdenas, 2017)**	**(López, Oré, y Miranda, 2020)**	**(Ayala, 2014)**	**(Charco, 2015)**	**(De la Cruz, 2007)**	**(Goycochea, 2010)**	**(Cárdenas y Quintana, 2017)**
Flavonoides	(+++)	(++)	(+++)	(+++)			
Cumarinas	-	-	(+++)	(+++)			
Compuestos fenólicos		(+++)	(+++)	(+++)			
Alcaloides	-	-	(+++)	(+++)			
Taninos (hidrolizables)	69,44%	(+++)	(+++)	40%-60%	66% - 71,5%	50,17%	40% - 60%

Nota. Interpretación de la presencia de metabolitos secundarios de la *Caesalpinia spinosa*: (+++) abundante, (++) moderado, (+) leve, (-) nulo, los espacios en blanco indican que los autores no investigaron esos metabolitos. **Realizado por:** Cuzco y Tanguila

En la tabla 6 se puede evidenciar la presencia de flavonoides, cumarinas, compuestos fenólicos, alcaloides y taninos como los principales metabolitos secundarios de la *Caesalpinia spinosa*, la concentración de estos metabolitos es abundantes, siendo los taninos los compuestos de mayor interés para la industria alimentaria y por su capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos en la postcosecha de frutos.

4.1.2 Analizar la base documental de la actividad antifúngica de extractos de Caesalpinia spinosa en la postcosecha

En la tabla 7 se muestra la capacidad inhibitoria de los extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Caesalpinia spinosa* sobre los hongos del género *Botrytis cinérea, Penicillium sp, Alternaria sp* y *Rhizopus* que afectan a las frutas.

Tabla 7

Actividad antifungica de los extractos de Caesalpinia spinosa en la postcosecha de frutos

Autor	**Fruto**	**Tipo de hongo**	**Prueba in vitro/ in situ**	**Resultados del porcentaje de inhibición de los extractos de *Caesalpinia spinosa***
Gómez (2019)	*Solanum Esculentum* (Tomate)	*Alternaria sp*	In vitro	- El efecto antifúngico del extracto etanólico de las vainas de guarango, sobre el diámetro de crecimiento micelial del hongo *Alternaria sp* a los 8 días de su evaluación fue de 5.33 cm a una concentración del 0,5%, de 2.6 cm a una concentración del 1% y valores menores de 1.03 cm cuando trabajo a una concentración del 8% del extracto. - El porcentaje de inhibición del extracto etanólico de guarango fue del 89,92% a una concentración del 8% del extracto sobre el crecimiento del diámetro micelial de la *Alternaria sp*, del 65,21% a una concentración del 1% y de 24,1% a una concentración de 0,5% a los 8 días de su evaluación.
			In situ	- El resultado del crecimiento micelial de *Alternaria sp* en el tomate, alcanzo valores mayores de 3.72 cm cuando trabajaron a una concentración del 0,5% y de 2.02 cm a una concentración del 1% de extracto etanólico y de valores menores de 1.28 cm a una concentración del 8% del extracto etanólico a los 8 días de su evaluación. - El porcentaje de inhibición del extracto etanólico es del 78,69% a una concentración del 8% del extracto sobre el crecimiento del diámetro micelial de la *Alternaria sp*, del 59,39% a una concentración del 1% y de 32,18% a una concentración de 0,5% de extracto a los 8 días de su evaluación.

Pérez (2018)	*Fragaria L* (Fresa)	*Rhizopus sp*	In vitro	- El porcentaje de inhibición del extracto acuoso de harina guarango es del 8,50% a concentraciones de 250 ppm y de 4,14% a concentraciones de 400 ppm durante las primeras 12 horas del ciclo de vida del hongo.
Játiva (2011)	Cítricos (limón, naranja, mandarina, lima)	*Penicillium sp (Penicillium digitatum* y *italucum)*	In vitro	- El efecto antifúngico del extracto acuoso de la harina de guarango sobre el diámetro de crecimiento micelial del hongo *Penicillium sp*, fue de 0 cm a una concentración de 10000 ppm, de 15,0 - 17,5 cm a concentraciones de 5000 ppm y de 37,5 - 42,5 cm a una concentración de 2500 ppm del extracto a los 6 días de su estudio. - El porcentaje de inhibición del extracto acuoso sobre el *Penicillium sp* a los 6 días de su evaluación, fue del 100% a una concentración de 10000 ppm del extracto, del 87% a una concentración del 5000 ppm y de 54% a una concentración de 2500 ppm.
	Fragaria L (fresa)	*Botrytis cinérea*	In vitro	- El efecto antifúngico del extracto acuoso sobre el diámetro de crecimiento micelial del *Botrytis cinérea* a los 6 días de su estudio, fue de 58,5 - 65,0 cm a una concentración de 10000 ppm, de 67,5 a 72,5 cm a concentraciones de 5000 ppm y de 85,0 cm a una concentración de 2500 ppm del extracto a los 6 días. - El porcentaje de inhibición del extracto acuoso sobre el *Botrytis cinérea*, fue del 20% a una concentración de 10000 ppm del extracto y de 7,2% a una concentración de 5000 ppm.

Realizado por: Cuzco y Tanguila

El reducido efecto de la inhibición del extracto acuoso del guarango sobre el *Rhizopus* y *Botrytis cinérea* en la tabla 7, se atribuye a la variación en la concentración de taninos presente en el extracto, al tipo de solvente utilizado en el proceso de obtención, debido a que la constante dieléctrica de los solventes es diferente y esto puede generar mayor concentración de metabolitos secundarios en solventes con mayor constante dieléctrica (León, 2018). También se debe a que los autores trabajaron con concentraciones bajas de los extractos en sus investigaciones a diferencia de otros autores que manejaron concentraciones más altas, por ende, lograron porcentajes más elevados en la inhibición de estos hongos patógenos en la postcosecha de frutos (Pérez, 2018).

4.1.3 Identificar las tecnologías para la obtención de los extractos del guarango

Los métodos utilizados para la obtención de extractos naturales son mediante extracción mecánica, destilación, con fluidos súper críticos, percolación, maceración, soxhlet, digestión, infusión, decocción, entre otros. Los métodos más utilizados son las que se muestra en la tabla 8.

Tabla 8

Métodos más utilizados para la obtención de extractos del guarango

Autores	**Tipo de Extracto**	**Método extractivo**	**Cantidad de harina utilizada**	**Cantidad de solvente utilizado**	**Porcentaje de concentración de taninos**
(Ali, 2012)	Extracto hidroalcohólico	Percolación	5 g	100 ml de solvente (concentración de etanol 60%)	62,4%
(Cortez, 2012)	Extracto acuoso	Maceración	55 g	220 ml de agua destilada	43,46%
(Gómez, 2019)	Extracto etanólico	Maceración	100 g	400 ml de etanol al 96%	40-60%
(Játiva, 2011)	Extracto acuoso	Maceración	0.4 g	100 ml de agua destilada	42-65%

Realizado por: Cuzco y Tanguila

En la tabla 8 se muestran los métodos extractivos más utilizados en los diferentes trabajos investigativos para la obtención de extractos a partir de la *Caesalpinia spinosa*, estas tecnologías son la maceración y percolación, debido a que sus procedimientos son sencillos de realizarse, son económicos y permiten una extracción de hasta el 40-65% de sustancias extraíbles, también se muestra la cantidad de harina y de solvente utilizado para la obtención de extractos del guarango (Carrión y García, 2010).

4.1.3.1 Descripción de los procedimientos utilizados para la obtención de extractos del guarango.

*4.1.3.1.1 Extracto hidroalcohólico por percolación***.** Para la obtención de extracto hidroalcohólico utilizaron 5 g de harina de guarango y lo diluyeron en 100 ml del solvente (agua 40% y etanol 60%), por 20 min a 50°C. Después enfriaron el extracto por un tiempo de 30 min y posteriormente filtraron el extracto con un papel filtro. Para concentrar el extracto lo hicieron a temperaturas menores de 50°C por 40 min, hasta lograr un volumen promedio de 25 ml, finalmente secaron el extracto a 70°C por 70 min y lo almacenaron en un lugar fresco y seco a 25°C (Ali, 2012).

4.1.3.1.2 Extracto acuoso por maceración. Colocaron en un frasco de vidrio oscuro 0,4 g de harina de guarango y 70 ml de agua destilada, agitaron la mezcla y dejaron macerar por 72 horas a temperatura ambiente. Posteriormente filtraron el extracto con papel filtro y lo aforaron con agua destilada a 100 ml, finalmente colocaron el extracto en botellas de plástico y lo almacenaron en un lugar fresco, seco y alejado de la luz (Játiva, 2011; Cortez, 2012).

4.1.3.1.3 Extracto etanólico por maceración. Colocaron 100 g de harina de guarango y 400 ml de etanol al 96% en un frasco de vidrio color ámbar y dejaron macerar por 5 días. Agitaron la mezcla de forma mecánica 2 veces al día por 10 min, con la finalidad de aumentar la liberación de pigmentos hacia la superficie. Posteriormente filtraron el extracto con papel filtro y lo colocaron en un rotavapor hasta conseguir un extracto puro, finalmente colocaron el extracto seco en un frasco oscuro.

4.2 Conclusiones

- Se determinó que los metabolitos secundarios más abundantes en la *Caesalpinia spinosa* son los taninos (40% - 71,5%), flavonoides, Cumarinas, compuestos fenólicos y los alcaloides.
- Los extractos acuosos e hidroalcohólicos de la *Caesalpinia spinosa* demostraron tener una actividad inhibitoria sobre el crecimiento micelial de los hongos del género *Alternaria* (tomate), *Penicillium* (cítricos), *Botrytis cinérea y Rhizopus (fresa)*, que atacan a los frutos, pero el porcentaje de inhibición para cada tipo de hongo es diferente, esto se debe a la variación en la concentración del extracto y tipo de solvente utilizado, es decir, que a mayor concentración del extracto mayor será la presencia de metabolitos secundarios y por ende mayor será su actividad antifúngica en la postcosecha de frutos.
- Los métodos más utilizados para la obtención de extractos acuosos e hidroalcohólicos a partir de la *Caesalpinia spinosa* son mediante la extracción con solventes (maceración y percolación), debido a que estos métodos extractivos permiten obtener una mayor concentración de los metabolitos secundarios (taninos), son económicos y sencillos de realizarlos.

4.3 Recomendaciones

- Incentivar el uso de extractos vegetales para el control de enfermedades en la postcosecha de frutas, tanto a productores como a empresas con la finalidad de reducir la utilización y aplicación de productos químicos en los productos destinados al consumo humano.
- Realizar investigaciones sobre la capacidad inhibitoria de los extractos de *Caesalpinia spinosa* en la postcosecha de hortalizas, ya que aún no hay estudios que determinen la eficiencia antifúngica de extractos del guarango sobre estos productos.
- Se recomienda realizar la mezcla de los extractos de la *Caesalpinia spinosa* con otros extractos vegetales para determinar si existe mayor concentración de metabolitos secundarios y evaluar su capacidad inhibitoria sobre el crecimiento micelial de otros hongos que afectan en la postcosecha de las frutas.

REFERENCIAS

Alamar, D. (2008). *Cambios de expresión génica asociados a la respuesta de los frutos cítricos frente a la infección por hongos del género Penicillium* (Tesis doctoral). Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/4340/tesisUPV3000.pdf;jsessionid=3C4984815F812FF5C8614F44F2DC5A86?sequence=1

Ali, D. (2012). *Extracción de taninos (ácido gálico) a partir del polvo de vaina de tara (Caesalpinia spinosa)* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Altiplano, Perú. http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3404/Ali_Quinto_Danny_Edwin.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Allende, R., Picos, P., Márquez, I., Carrillo, J., García, R., y León, J. (2013). Identificación morfológica y molecular de Penicillium oxilicum causante de pudrición de tallos y frutos de tomate. *Revista Mexicana de Fitopatología, 31*(1), 13-19. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v31n1/v31n1a2.pdf

Alvarez, C., y Lock, O. (1992). Taninos. *Revista de Química, 6*(1), 47-63. Recuperado de http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/download/4619/4606/

Alvarez, T. (2012). *Biocontrol de Botrytis cinérea a partir de extractos fenólicos de fresa.* (Tesis de posgrado). Instituto Politécnico Nacional. Michoacán, México. http://handbook.usfx.bo/nueva/vicerrectorado/citas/TECNOLOGICAS_20/Industrias_de_la_alimentacion/37.pdf

Amaguaña, F., y Churuchumbi, E. (2018). *Estandarización fitoquímica del extracto de caléndula (Calendula officinalis)* (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador. https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16149/1/UPS-QT13324.pdf

Angaspilco, F., y Cárdenas, W. (2017). *Determinación de taninos y flavonoides del extracto acuoso de vainas de Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze "Taya" procedente de las provincias de Jaén, Contumazá y Cajamarca* (Tesis de pregrado). Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo. Cajamarca, Perú. http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/463/FYB-007-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Apolin, A., y Garay, V. (2017). *Efectividad antiinflamatoria del extracto etanólico de Caesalpinia spinosa sobre gingivitis crónica* (Tesis doctoral). Universidad Nacional Hermilio Valdizan, Huánuco, Perú. https://1library.co/document/z3d1v58y-efectividad-antiinflamatoria-extracto-etanolico-caesalpinia-spinosa-gingivitis-cronica.html

Arias, E., y Piñeros, P. (2008). *Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los paramos de Guasca y Cruz Verde* (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8233/tesis226.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Ayala, E. (2014). *Efecto genotóxico in vitro de las plantas medicinales antibacterianas Spartium junceum L. "retama", Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze "tara" y Eucaliptus globulus Labil "eucalito". Ayacucho-2013* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/915853/efecto-genotoxico-in-vitro-de-plantas-medicinales-antibacterian_hgPJVjM.pdf

Callohuari, R., Sandoval, M., y Huamán, O. (2017). Efecto gastroprotector y capacidad antioxidante del extracto acuoso de las vainas de Caesalpinia spinosa ‘tara’, en animales de experimentación. *Anales de la Facultad de Medicina, 78*(1), 61-66. http://dx.doi.org/10.15381/anales.v78i1.13023

Carrión, A., y García, C. (2010). *Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de metódica* (Tesis de pregrado). Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador. http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf

Carvajal, G. (2012). *Evaluación de las pérdidas poscosecha tanto físicasy de calidad en el sistema de producción agrícola del CADET. Tumbaco, Pichincha.* (Tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/966/1/T-UCE-0004-4%20.pdf

Castell, J. (2012). *Tara (Cæsalpinia spinosa): The sustainable source of tannins for innovative tanning processes* (Tesis doctoral). Universitat Politécnica de Catalunya, Barcelona, España.

https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/94584/TJCE1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Castillo, M., y Lema, D. (2011). *Determinación del proceso para la obtención de taninos a partir del fruto del guarango para la utilización en curtiembre* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/389/1/UNACH-EC-IAGRO-2011-0008.pdf

Castro, B., Timmer, L., Leguizamón, J., Müller, G., y Corrales, J. (2000). *Enfermedades de los cítricos en Colombia*. Produmedios. http://www.asohofrucol.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca_56_Enfermedades%20citricos.pdf

Charco, J. (2015). *Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de guarango (Caesalpinia spinosa), Nogal (Juglans regia) y Tomillo (Thymus vulgaris) en ratones (Mus musculus)* (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/3945/1/56T00517%20UDCTFC.pdf

Chávez, C., y Pomachari, W. (2018). *Estudio de factibilidad para la producción de tara (Caesalpinia spinosa) en el centro poblado Zapotal, distrito de Huarango, provincia de San Ignacio, Departamento de Cajamarca – Perú* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú. http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/3577/BC-TES-TMP-2408.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Chávez, L., y Gutiérrez, D. (2013). *Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de Tanacetum vulgare L., 'Palma real'* (Tesis de posgrado). Universidad Wiener. Lima, Perú. http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/52/014%20EAP%20FARMACIA%20Y%20BIOQUIMICA%20%20ESTUDIO%20FITOQUIMICO%20PALMERA%20REAL%20%28%20CHAVEZ%20y%20GUTIERREZ%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Cortez, D. (2012). *Obtención de extracto tánico y extracto gálico a partir de la harina de vaina de guarango (Caesalpinea Spinosa) (Mol.) O. Kuntz, a escala laboratorio*

(Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador. http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/1979/1/96T00158.pdf

Cruz, P. (2016). *Efecto de seis extractos de plantas amazónicas sobre el cultivo de brócoli (Brassica oleracea L. var Italica cv.Avenger) y su entomofauna asociada.* (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/5742/1/13T0838.pdf

De la Cruz, P. (2004). Aprovechamiento integral y racional de la Tara (Caesalpinia spinosa - Caesalpinia tinctoria). *Revista del Instituto de Investigación FIGMMG, 7*(14), 64-73. Recuperado de https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/iigeo/article/view/733/584

Dostert, N., Roque, J., Brokamp, G., Cano, A., La Torre, M., y Weigend, M. (2009). *Factsheet: Datos botánicos de Tara (Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze)*. Botconsult GmbH. http://www.botconsult.com/downloads/Tara_factsheet_final.pdf

FAO. (2016). *Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe.* Obtenido de https://www.eltelegrafo.com.ec/images/cms/DocumentosPDF/2016/INFORME-FAO.pdf

Farrera, R., Zambrano, A., y Ortiz, F. (2007). Identificación de hongos asociados a enfermedades del fruto de la fresa en el municipio Jáuregui del estado Táchira. *Revista de la Facultad de Agronomía, 24*(2), 269-281. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182007000200005

Ferreira, J., Cardoso, M., Estevao, P., Miranda, J., y Silva, S. (2005). Inhibit Inhibitory effect of ory effect of Caesalpinia spinosa leaflets crude extract on Fusarium solani and Phoma tarda. *Acta Scientiarum Biological. Sciences. 27*(2), 185-188. Recuperado de http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download;jsessionid=A6B9B1D47DC026F6AEF96D0AC15AD5E6?doi=10.1.1.430.1631&rep=rep1&type=pdf

Gómez R, R. (2019). *Efecto antifúngico in vitro e in situ del extracto etanólico de vainas de Caesalpinia spinosa "tara" sobre Alternaria sp* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú. http://www.dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/12445/GOMEZ%20RODRIGUEZ%2c%20Rocio%20Del%20Pilar.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Gonzáles M, R. (2013). *Aplicación de esencias de canela y clavo como alternativa a los fungicidas de síntesis en el control de las podredumbres de limón* (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica de Caratajena, Cartajena, Colombia. https://repositorio.upct.es/bitstream/handle/10317/3604/pfc5576.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Goycochea, R. (2010). *Evaluación de taninos y goma del fruto de la tara (Caesalpinia spinosa) (Molina) Kuntze provenientes de las lomas de Atiquipa, Arequipa-Perú* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/419/K50.G7-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Guamán, J. C. (2017). *Evaluación de Trichoderma harzianum Rafai y dos extractos vegetales en mora, fresa y tomate en post-cosecha, contra Botrytis sp., Aspergillus sp., y Penicillium sp.* (Tesis de pregarado). Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador. https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28201/1/Trabajo%20de%20Titulaci%C3%B3n.pdf

Guédez, C., Cañizalez, L., Castillo, C., Olivar, R., y Maffei, M. (2010). Alternativas para el control de hongos postcosecha en naranjas valencia (Citrus sinensis). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 30*(1), 43-47. Recuperado de https://www.redalyc.org/pdf/1994/199416355009.pdf

Herrera, I., Quimis, K., Sorroza, N., García, F., Maríscal, W., y Maríscal, R. (2017). Determinación de Taninos y Cumarinas presente en la planta tres filos. *Revista Polo del Conocimiento, 2*(7), 500-522. Recuperado de https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/download/257/pdf

Instituto de Investigaciones Agropecuarias. (2018). *Manejo integrado de plagas y enfermedades. Alternaria en tomate.* (Ficha técnica. 12). https://www.inia.cl/mateo/files/2018/09/FICHA_INIA_12.pdf

Játiva, S. (2011). *Deternimación del contenido de tanino procedente del guarango (Caesalpinia spinosa) y evaluación de su uso como fungicida* (Tesis de pregrado). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador. https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4372/1/CD-3971.pdf

León, M. (2018). *Evaluación in vitro de la capacidad inhibitoria de taninos presentes en la tara (Caesalpinia spinosa) frente a Fusarium sp* (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador. https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15211/1/UPS-CT007503.pdf

López, A., Oré, R., y Miranda, C. (2020). Caesalpinia spinosa: Efecto protector frente a radiación UV en la lipoperoxidación hepática en ratas y detección de fitoconstituyentes. *Revista de Investigación Científica REBIOL, 40*(1), 13 – 20. Recuperado de https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/facccbiol/article/view/2990/3385

Macas, Á., y Méndez, G. (2013). *Evaluación de la capacidad biotransformadora de taninos del guarango (Caesalpinia spinosa) a través de Trametes versicolor y Asperguillus niger* (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador. https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/4129/1/UPS-QT03518.pdf

Macías, M. (2020). *Alternaria: Alteraciones postcosecha en frutas.* (Tesis de posgrado). Universidad de Extremadura, Badajoz, España. http://dehesa.unex.es/bitstream/10662/10973/1/TFMUEX_2020_Macias_Miranda.pdf

Merchán, J., Ferrucho, R., y Álvares, J. (2014). Efecto de dos cepas de Trichoderma en el control de Botrytis cinerea y la calidad del fruto en fresa (Fragaria sp.). *Revista Colombiana de ciencias hortícolas, 8*(1), 44-56. http://dx.doi.org/10.17584/rcch.2014v8i1.2799

Moreno, K. (2012). *Evaluación de extractos antifúngicos para el control de los hongos postcosecha Penicillium expansum y Botrytis cinerea en frutos de manzana (Malus domestica)* (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Mexico http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/4362/T19625%20MORENO%20LEON%2C%20KARINA%20%20TESIS.docx.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Murray, R., Candan, A., y Vázquez, D. (2019). *Manual de poscosecha de frutas : manejo integrado de patógenos.* Buenos Aires. INTA Ediciones. Recuperado de https://inta.gob.ar/sites/default/files/manual_poscosecha_frutas.pdf

Narváez, A., Calvo, A., y Troya, A. (Enero, 2009). *Las poblaciones naturales de la tara (Caesalpinia spinosa) en el Ecuador: una aproximación al conocimiento de la diversidad genética y el contenido de taninos a través de estudios moleculares y bioquímicos.* Researchgate. Recuperado el 29 de octubre del 2020. https://www.researchgate.net/publication/309566304

Ortega, G. (2013). *Inducción al proceso de callogénesis in vitro a partir de cotiledones y ejes embriogénicos de semillas maduras de guarango (Caesalpinia spinosa) como coadyuvante para su preservación en el distrito metropolitano de Quito* (Tesis de pregrado). Escuela Politécnica del Ejército, Sangolquí, Ecuador. https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/6241/1/T-ESPE-038474.pdf

Osorio, E. (2009). *Aspectos básicos de Farmacognosia.* Recuperado de https://www.academia.edu/16696556/Aspectos_b%C3%A1sicos_de_farmacognosia

Pavón, D. (2015). *Uso potencial de la goma de tara (Caesalpinia spinosa) para el desarrollo de nuevas películas y recubrimientos comestibles compuestos* (Tesis de pregrado). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador. https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/10482/1/CD-6202.pdf

Pérez A, C. (2018). *Efecto inhibitorio in vitro de taninos de guarango (Caesalpinia spinosa) y saponinas de quinua (Chenopodium quinoa Willd) en Rhizopus sp.* (Tesis de pregrado). Universidad de las Américas, Quito, Ecuador. http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/10213/1/UDLA-EC-TIAG-2018-32.pdf

Rivas, L. M., y Mühlhauser, M. (2014). Alternaria spp. *Revista chilena de infectología, 31*(5), 605-606. http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182014000500013

Ruíz, C. (2017). Enfermedades de poscosecha en frutilla (Fragaria x ananassa Duchesne). *Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental, 4*(3), 41-45. Recuperado de http://revistafcaunlz.gramaweb.com.ar/wp-content/uploads/2017/10/Ruiz.pdf

Saavedra, I. (2016). *Desarrollo de un extracto de tara (Caesalpina spinosa) y estudio de su efecto sobre el contenido de neo-contamiantes, calidad y perfil sensorial de pan tipo Hallulla* (Tesis de posgrado). Universidad de Chile. Santiago, Chile. http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/149574/Desarrollo-de-un-extracto-

de-tara-caesalpinia-spinosa-y-estudio-de-su-efecto-sobre-el-contenido.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Santana, R. (2014). *Evaluación de métodos de extracción y dosis de aplicación de cola de caballo (Equisetum arvense) para el control ecológico de roya (Puccinia sp.) En el cultivo de cebolla blanca (Allium fistulosum)* (Tesis de posgrado). Universidad Técnica de Ambato. Ambato, Ecuador. https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/7557/1/tesis-019%20Maestr%c3%ada%20en%20Agroecolog%c3%ada%20y%20Ambiente%20-%20CD%20240.pdf

Velásquez, M., Álvarez, R., Tamayo, P., y Carvalho, C. (2014). Evaluación in vitro de la actividad fungistática del aceite esencial de mandarina sobre el crecimiento de Penicillium sp. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaría*, *15*(1), 7-14. Recuperado de http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v15n1/v15n1a02.pdf

Vilanova, L., Viñas, I., Torres, R., Usall, J., y Teixido, N. (2014). La cicatrización de heridas en naranjas: ¿Es un proceso efectivo para evitar la podredumbre de poscosecha de Penicillium digitatum?. *Revista Levante Agricola*, *1*(423), 213-217. Recuperado de https://repositori.udl.cat/bitstream/handle/10459.1/48607/022622.pdf?sequence=1&isAllowed=y