



## Informe técnico final

Nombre del proyecto	Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especies forrajeras.
Código del proyecto	PYT-2018-0289
Nº de informe	Nº6
Período informado	desde el 3 de noviembre del 2020 al 30 de agosto del 2021
Fecha de entrega	16-09-2021

## INSTRUCCIONES PARA CONTESTAR Y PRESENTAR EL INFORME

- Todas las secciones del informe deben ser contestadas, utilizando caracteres tipo Arial, tamaño 11.
  
- Sobre la información presentada en el informe:
  - Debe estar basada en la última versión del Plan Operativo aprobada por FIA.
  - Debe ser resumida y precisa. Si bien no se establecen números de caracteres por sección, no debe incluirse información en exceso, sino solo aquella información que realmente aporte a lo que se solicita informar.
  - Debe ser totalmente consistente en las distintas secciones y se deben evitar repeticiones entre ellas.
  - Debe estar directamente vinculada a la información presentada en el informe financiero y ser totalmente consistente con ella.
  
- Sobre los anexos del informe:
  - Deben incluir toda la información que complemente y/o respalde la información presentada en el informe, especialmente a nivel de los resultados alcanzados.
  - Se deben incluir materiales de difusión, como diapositivas, publicaciones, manuales, folletos, fichas técnicas, entre otros.
  - También se deben incluir cuadros, gráficos y fotografías, pero presentando una descripción y/o conclusiones de los elementos señalados, lo cual facilite la interpretación de la información
  
- Sobre la presentación a FIA del informe:
  - Se deben entregar tres copias iguales, dos en papel y una digital en formato Word (CD o pendrive).
  - La fecha de presentación debe ser la establecida en el Plan Operativo del proyecto, en la sección detalle administrativo. El retraso en la fecha de presentación del informe generará una multa por cada día hábil de atraso equivalente al 0,2% del último aporte cancelado.
  - Debe entregarse en las oficinas de FIA, personalmente o por correo. En este último caso, la fecha válida es la de ingreso a FIA, no la fecha de envío de la correspondencia.

## CONTENIDO

1.	ANTECEDENTES GENERALES .....	4
2.	EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO.....	4
3.	RESUMEN DEL PERÍODO ANTERIOR.....	5
4.	RESUMEN DEL PERÍODO INFORMADO .....	7
5.	OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO.....	8
6.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE).....	9
7.	RESULTADOS ESPERADOS (RE).....	10
8.	CAMBIOS Y/O PROBLEMAS .....	24
9.	ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO.....	25
10.	HITOS CRÍTICOS DEL PERÍODO.....	28
11.	CAMBIOS EN EL ENTORNO.....	29
12.	DIFUSIÓN.....	29
13.	CONCLUSIONES .....	31
14.	ANEXOS.....	33

## 1. ANTECEDENTES GENERALES

Nombre Ejecutor:	Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA)
Nombre(s) Asociado(s):	Casona El Monte, Soc. ARAYA y OMEGNA LTDA.
Coordinador del Proyecto:	Luis Ignacio Inostroza Fuentealba
Regiones de ejecución:	Biobío, Araucanía, Los Lagos
Fecha de inicio iniciativa:	2 de abril del 2018
Fecha término Iniciativa:	30 de Agosto 2021

## 2. EJECUCIÓN PRESUPUESTARIA DEL PROYECTO

Costo total del proyecto	
Aporte total FIA	
Aporte Contraparte	Pecuniario
	No Pecuniario
	Total

Acumulados a la Fecha	
Aportes FIA del proyecto	
1. Aportes entregados	Primer aporte
	Segundo aporte
	Tercer aporte
	Cuarto aporte
	Quinto aporte
	n aportes
2. Total de aportes FIA entregados (suma N°1)	
3. Total de aportes FIA gastados	
4. Saldo real disponible (N°2 – N°3) de aportes FIA	
Aportes contraparte del proyecto (Ejecutor y asociados)	
1. Aportes Contraparte programado	Pecuniario
	No Pecuniario
2. Total de aportes Contraparte gastados	Pecuniario
	No Pecuniario
3. Saldo real disponible (N°1 – N°2) de aportes Contraparte	Pecuniario
	No Pecuniario

### 2.1 Saldo real de aporte FIA disponible en el proyecto

Indique si el saldo real disponible, señalado en el cuadro anterior, es igual al saldo en el Sistema de Declaración de Gastos en Línea (SDGL):

SI	X
NO	

### 2.2 Diferencia entre el saldo real de aporte FIA disponible y lo ingresado en el SDGL

En el caso de que existan diferencias, explique las razones.

## 3. RESUMEN DEL PERÍODO ANTERIOR

Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos en el período anterior a éste informe. Entregar valores cuantitativos y cualitativos.

En el periodo anterior, se evaluó la producción de biomasa y clorofilas de 9 accesiones de alfalfa y 4 de trébol rosado para determinar los cultivares más productivos en términos de producción de biomasa y clorofila. Se evaluó el último corte de la primera temporada de crecimiento, la que se extendió desde mayo del 2019 a mayo del 2020. En la primera temporada se realizaron 5 cortes en alfalfa y 3 cortes en Trébol Rosado. La productividad anual de materia seca (MS) fluctuó entre 16,5 – 25,2 ton MS/ha en alfalfa y 18,0 – 19,0 ton MS/ha en trébol rosado. Los cultivares de alfalfa más productivos fueron Súper Lechera, ACB450 y ACB650. En trébol rosado el cultivar más productivo fue Syn II PRE III. Los contenidos de clorofilas sólo mostraron diferencias entre cultivares al inicio de la temporada de crecimiento (cortes de noviembre y diciembre). En estos cortes el cultivar con mayor contenido de clorofila, estimado por el índice espectral Ctr1, fue 350 ACB. El primer corte de la segunda temporada confirmó el alto potencial productivo de alfalfa en la precordillera de Ñuble. En alfalfa, la producción de biomasa varió entre 4.4 y 5.1 ton MS/ha. Por otro lado, la productividad de trébol rosado fluctuó entre 1,7 y 2,6 ton MS/ha. Los rankings de cultivares en términos de producción de MS y concentración de clorofilas fueron similares a los de la primera temporada de crecimiento.

En INIA-Carillanca (Temuco), se estableció un ensayo en macetas y cámara de crecimiento, para evaluar el efecto de la fertilización con Mg y S sobre la producción de biomasa y clorofila de Trébol Rosado (cv. Superqueli) y Alfalfa (cv. ACB350). El ensayo se estableció en diciembre del 2019. Se efectuaron dos cortes de evaluación. En cada corte, se evaluó el contenido de clorofila (medidor SPAD), altura máxima, peso verde por planta, peso seco por planta y porcentaje de materia seca. Los resultados indicaron que no hubo efecto de la fertilización con Mg-S sobre el contenido de clorofilas estimado mediante evaluaciones SPAD. De forma preliminar, los resultados confirman que el factor que

determina la productividad de clorofilas es la producción de biomasa. Quedó pendiente la determinación del contenido de clorofila (método químico) de 96 muestras derivadas del experimento. Las mediciones se efectúan en el laboratorio de alimentos de INIA-La Platina.

Se determinó el contenido de selenio en 9 accesiones de especies forrajeras perennes. Las muestras fueron analizadas en el laboratorio especializado en análisis de tejidos vegetales Agrolab (<http://www.agrolabchile.cl>). El contenido de selenio en especies gramíneas fue 4 veces mayor que al observado en especies leguminosas. El contenido de selenio de especies gramíneas y leguminosas fue 15.4 y 3.9 ng/g, respectivamente. El contenido de selenio varió significativamente entre especies, Ballica perenne (18,1 ng/g) y Bromo (16,5 ng/g) fueron las especies con mayor contenido. Por el contrario, alfalfa fue la especie con el menor contenido de selenio (1,25 ng/g).

Se efectuó la formulación del extracto de clorofilas en formato sólido. El extracto líquido fue homogenizado con un carrier (maltodextrina) y luego fue sometido a secado por atomización, utilizando un secador Büchi B-290 (servicio a terceros). El secado por atomización fue optimizado mediante el ajuste de las variables temperatura de entrada y contenido de sólidos en la muestra. El extracto en polvo obtenido mostró un color verde atractivo, menos de 7% de humedad y más de 95% de solubilidad. Se probó su solubilidad en dos matrices de alimento (yogurt y Sopa verduras reconstituida). En ambas matrices el comportamiento del extracto fue sobresaliente.

La prueba piloto del protocolo de extracción de clorofilas fue la única actividad retrasada por causa de la contingencia sanitaria. El inicio del pilotaje estaba programado durante el mes de septiembre del 2020 pero durante dicho mes, las comunas en las que correspondía efectuar la actividad estuvieron en cuarentena (Chillán y Linares). Se realizaron reuniones virtuales mediante la plataforma Meet con la empresa asociada para discutir el protocolo y re-programar la actividad.

#### 4. RESUMEN DEL PERÍODO INFORMADO

Informar de manera resumida las principales actividades realizadas y los principales resultados obtenidos en el período informado. Entregar valores cuantitativos y cualitativos.

El presente informe correspondería al Informe Técnico Final del proyecto PYT-2018-0289. Todas las actividades programadas para alcanzar los objetivos específicos se ejecutaron con apego total al plan operativo y se alcanzó el 100% de cumplimiento en los resultados esperados. El plazo de ejecución del proyecto se amplió 5 meses desde su fecha original término (31 de marzo del 2021), debido a la contingencia sanitaria.

Se evaluó la producción de biomasa y clorofilas de 9 accesiones de especies forrajeras perennes. Para esto se establecieron experimentos en campos experimentales de INIA en Chillán y Temuco. Los experimentos se evaluaron durante 2 temporadas de crecimiento. Se determinó que las especies más productivas fueron Alfalfa y Trébol Rosado. Producen en promedio entre 15-25 ton MS/ha/año, dependiendo de la temporada de crecimiento. Trébol rosado mostró mayor productividad en la primera temporada y luego una fuerte disminución debido a una caída en la persistencia de planta. En alfalfa ocurrió lo contrario. Alfalfa logró una mayor persistencia (3 a 4 temporadas de crecimiento) que trébol rosado (2 temporadas). El contenido de clorofila de especies forrajeras cambió a lo largo de la temporada de crecimiento, sin embargo, logra un promedio anual de 2.5 mg/g de peso fresco. En promedio, Alfalfa y Trébol rosado producen 230 kg/ha/año de clorofila.

Se estudió estrategias de manejo agronómico para aumentar la productividad de clorofila por hectárea. La estrategia de corte afectó la producción de biomasa de alfalfa y trébol rosado. El corte en pre-botón redujo entre un 10 a 20% la productividad de las especies estudiadas, relativo al corte en 10% flor. La estrategia de corte afectó el contenido de clorofila en la biomasa de especies forrajeras. El corte en pre-botón incrementó el contenido de clorofilas entre un 7 a 10%, relativo al corte en 10% flor. El incremento en el contenido de clorofila tuvo un efecto marginal en la producción de clorofila por unidad de superficie, dado que todos los experimentos ejecutados en el proyecto determinaron que la variable más importante en la determinación de la producción de clorofila es la producción de biomasa. La fertilización con magnesio y azufre no afectó la concentración y productividad de clorofilas.

Se implementó un protocolo para extraer y cuantificar clorofilas en los laboratorios de Alimento de INIA La Platina (Santiago) e INIA Carillanca (Temuco). En total se determinó el contenido de clorofilas de 426 muestras de forraje derivadas de todos los experimentos ejecutados en el proyecto. La metodología consiste en un proceso de extracción de clorofilas con metanol al 100% y cuantificación con espectrofotometría.

Se desarrolló un protocolo de elaboración de extractos de clorofila a escala laboratorio. El protocolo permite formular los extractos en formato líquido y polvo. Las evaluaciones físico-químicas permitieron determinar que el extracto líquido podría tener aplicaciones directas para el consumo diario de clorofila o la incorporación en formulaciones líquidas, requiriendo de almacenamiento en frío y ausencia de luz para mantener su estabilidad. Mientras que el extracto en polvo es una alternativa para uso como ingrediente en matrices tipo pre-mezclas en polvo, como sopas y jugos para reconstitución y para su adición como colorante en alimentos, sus requerimientos de almacenamiento corresponden a lugar fresco y seco, en ausencia de luz y en envase cerrado.

Se implementó un protocolo de extracción y formulación de clorofilas a partir de biomasa de alfalfa a escala piloto en planta de proceso de empresa asociada (Casona el Monte). La implementación fue exitosa, permitiendo obtener clorofila en formato líquido y polvo. El protocolo incluye las siguientes etapas: Recepción de materia prima (biomasa de alfalfa), lavado, triturado y prensado. Con esto se obtiene el extracto líquido. Luego con contratación de servicios externos se aplica un proceso de secado-spray para la obtención del formato polvo. Se obtuvo un extracto líquido y un extracto polvo con 324,4 mg de clorofila/kg biomasa y 574 mg de clorofila/kg de biomasa, respectivamente.

Se elaboró un estudio de factibilidad económica de la agregación de valor, para los dos principales actores de la cadena productiva de extractos de clorofilas. Estos son: pequeños productores de especies forrajeras de la precordillera de Ñuble y La Casona El Monte (empresa asociada), que es la encargada de formular y elaborar un producto final "Alfalfa en Polvo" (clorofilas). La factibilidad económica se estimó mediante 3 indicadores: Valor actual neto (VAN), tasa interna de retorno (TIR), Periodo de recuperación de la inversión (PRI). El análisis para el productor (con tecnología INIA), indicó que el establecimiento de una unidad productiva, es rentable en un horizonte de 5 años de evaluación, ya que el VAN de los flujos descontados a una tasa del 12% es positivo (\$3.107.366); por su parte la TIR es positiva (77%) y superior a la tasa de descuento (12%). El análisis para La Empresa, indica que el establecimiento de una unidad productiva de este tipo, es rentable para un horizonte de 10 años de evaluación, ya que el VAN de los flujos descontados a una tasa del 12% es positivo (\$25.240.285); por su parte la TIR es positiva (24%) y superior a la tasa de descuento (12%). El período de recuperación de la inversión es de 4 años y siete meses aproximadamente.

Se elaboró un estudio de mercado y un modelo de negocio para los extractos de clorofila. Para esto se contrató los servicios de la consultora AL Prospecta limitada. El estudio de mercado incluyó: tendencias de mercado, origen de la clorofila y sus compuestos, tamaño de mercado y principales regiones consumidoras, tamaño de mercado actual y potencial (2025), tendencias de consumo por regiones, aspectos regulatorios y ejemplos de productos comerciales formulados con clorofilas. El modelo de negocio incluyó un análisis FODA (Fortalezas, Oportunidades, Debilidades y Amenazas) para la producción y productos de extractos de clorofila en Chile. Se identificaron los actores del negocio y se propuso un modelo de negocio usando la metodología Canvas.

Se realizó difusión del proyecto mediante distintos instrumentos, entre los que se incluyen: seminario de lanzamiento, días de campo, programas radiales, publicaciones en prensa, publicaciones en revistas técnicas, presentaciones a congreso, entre otros.

## 5. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO

Desarrollar un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando como materias primas biomasa producida a partir de cultivares de especies forrajeras de origen nacional e introducido.

## 6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS (OE)

### 2.1 Porcentaje de Avance

El porcentaje de avance de cada objetivo específico se calcula luego de determinar el grado de avance de los resultados asociados a éstos. El cumplimiento de un 100% de un objetivo específico se logra cuando el 100% de los resultados asociados son alcanzados.

Nº OE	Descripción del OE	% de avance a la fecha
1	Evaluar la producción de biomasa y clorofila por unidad de superficie (hectárea) de especies (Alfalfa, trébol Rosado, Lotera, Ballica perenne y Festuca) y cultivares (líneas genéticas y comerciales) de forrajeras.	100%
2	Evaluar estrategias de manejo agronómico para optimizar la producción de clorofila por unidad de superficie, mediante fertilización, manejo del corte (época y frecuencias) y transporte a la industria.	100%
3	Desarrollar/validar un protocolo para la elaboración de extractos de clorofila con alto valor funcional, evaluando rendimiento de extracción, calidad y técnicas de concentración.	100%
4	Implementar un protocolo piloto para la extracción y formulación de clorofilas a nivel industrial.	100%
5	Desarrollar un modelo de negocios de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando como materias primas biomasa producida a partir de praderas.	100%

## 7. RESULTADOS ESPERADOS (RE)

### 3.1 Cuantificación del avance de los RE a la fecha

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
1	1	Especie con mayor producción de clorofila por unidad de superficie, identificada	Porcentaje de extracción	%	4%	1 especie seleccionada con >4% extracción	Marzo, 2019	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>El RE se reportó con un 100% de logro en el informe técnico N°2. Las especies seleccionadas fueron alfalfa y trébol rosado, las que en promedio produjeron cerca de 230 kg/ha de clorofila. Las especies gramíneas lograron producir sólo un 50% de lo que produce una leguminosa. Los resultados y conclusiones se basan en experimento evaluado durante dos temporadas de crecimiento.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)								
Anexo 1 y 3.								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
1	2	Cultivares con mayor producción de clorofila por unidad de superficie, identificado	Porcentaje de extracción		4%	3 cultivares seleccionados con >4% extracción	Enero, 2021	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>Se estableció un experimento para seleccionar el cultivar con mayor producción de clorofila. El experimento se sembró en el sector de Pueblo Seco de la comuna de San Ignacio, provincia del Diguillín, Región de Ñuble. El predio es propiedad del Agricultor Fernando Muñoz, quien es el presidente del GTT praderas de pre-cordillera de Ñuble coordinado por INIA. Se evaluó la producción de biomasa y se estimó el contenido de clorofila mediante índice espectral (Ctr1) durante dos temporadas de crecimiento (2019-2020 y 2020-2021). El experimento incluyó 9 cultivares de alfalfa y 4 cultivares de trébol rosado (Anexo 3).</p> <p>En Alfalfa se observó diferencias entre cultivares sólo en la primera temporada de crecimiento. A partir de la segunda temporada la producción de biomasa se estabiliza en torno a las 25 ton materia seca/ha/año. En trébol rosado la producción de MS fue mayor en la primera temporada de crecimiento. En la segunda temporada, la productividad cayó drásticamente. Asociado a la alta tasa de mortalidad de plantas. Los cultivares más productivos fueron las accesiones SynII que corresponde a material de mayor persistencia desarrollado por el programa de mejoramiento genético de INIA.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Anexo 3								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)				% de avance a la fecha	
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)		Fecha alcance meta
1	3	Método indirecto para la predicción del contenido de clorofila en biomasa en campo, calibrado y validado	R <sup>2</sup> (coeficiente de determinación)		0.75	1 modelo estadístico validado y calibrado con R <sup>2</sup> >0.75	Marzo, 2020	100%

Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.

El RE se reportó con un 100% de logro en el informe técnico N°3. Se validaron dos técnicas para predecir el contenido de clorofila de las praderas. La primera se basa en la estimación del contenido de clorofilas mediante el cálculo de índices espectrales. Los índices SRPI, NPQI, PRI2, NPCI, CTR1 y LIC2 mostraron la mayor correlación con el contenido de clorofila medido con técnicas de laboratorio (Anexo 1 y 2). Además, todos estos índices permitieron corroborar que trébol rosado y alfalfa son las especies con mayor contenido de clorofila. La segunda, consistió en ajustar modelos no-lineales con información de reflectancia del dosel y contenido de clorofila medido en laboratorio. Se evaluó la habilidad predictiva (coeficiente de correlación entre valor observado y predicho) de cuatro modelos estadísticos no-lineales: Partial least squares (PLS), Random Forest (RF), Support Vector Machines (SVM) y Ridge Regression (RR). Los resultados mostraron que los modelos son útiles como herramienta para la toma de decisiones en el proceso de producción de biomasa para la extracción de colorantes naturales (clorofila). El mejor de los modelos ajustados (SVM), permitió predecir el contenido de clorofilas con un valor de r=0.82. La metodología es rápida y de bajo costo en comparación a la técnica tradicional (química analítica) (Anexo 1 y 2).

Documentación de respaldo (indique en que n° de anexo se encuentra)

Anexo 1 y 2

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
2	4	Dosis de fertilización azufrada determinada	kg S/ha		Sin información estandarizada por especie y cultivar	Dosis óptima determinada por especie y cultivar	Enero, 2021	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>Para evaluar el efecto de la fertilización con magnesio (Mg) y azufre (S) sobre el rendimiento de materia seca y producción de clorofila de Trébol Rosado y Alfalfa, se estableció un experimento en macetas y condiciones controladas en cámara de crecimiento. Originalmente, se consideraba realizar el experimento en condiciones de campo, pero el establecimiento durante el año 2019 fue defectuoso (Informe técnico N°4). Se utilizó un diseño factorial completamente aleatorio con dos niveles de especie (alfalfa y trébol rosado), dos niveles de fertilización (T0 sin Mg y S; T1 con Mg y S) y 12 repeticiones. Se utilizó la variedad Superqueli INIA de trébol rosado y ACB350 de alfalfa. Se determinó la producción de materia seca, contenido de clorofilas (a, b y total), junto a otras características de las plantas en dos periodos de evaluación (cortes). Los resultados en las condiciones experimentales indicaron que no hubo efecto de la fertilización con Mg-S sobre el rendimiento de las dos especies ni la concentración de clorofila. Hubo efectos menores sobre la materia seca (%) pero son irrelevantes ya que los resultados se enmarcan en niveles normales para especies forrajeras pratenses en estado juvenil. En cuanto a diferencias entre las dos especies (alfalfa y trébol rosado), para concentración de clorofila no se observaron mayores diferencias entre las dos especies; la diferencia estuvo dada por el menor crecimiento de la alfalfa en el segundo período lo que explica la menor producción de clorofila por planta para dicha especie en la segunda evaluación y, como consecuencia, para la suma de las dos evaluaciones. Sin embargo, ambas especies muestran un buen potencial de producción de clorofila; a nivel productivo las diferencias estarán dadas por el rendimiento de biomasa (forraje) y el costo para producirla.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Anexo 4								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
2	5	Dosis de fertilización nitrogenada determinada	kg N/ha/año		250kg N/ha/año	<150 kg N/ha/año	Enero, 2021	0%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
RE condicionado a los resultados del OE 1. Si las especies más productivas seleccionadas pertenecían a la familia de las gramíneas, se probaría una estrategia de fertilización con nitrógeno. Pero si pertenecía a la familia de las leguminosas, se probaría con magnesio y azufre. El RE-1 indicó que las especies más productivas fueron las leguminosas, por lo que no se trabajó para alcanzar este RE (Plan Operativo proyecto PYT-2018-0289)								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Plan Operativo proyecto PYT-2018-0289								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
2	6	Dosis de fertilización con magnesio determinada	Kg Mg/ha		75 kg/ha	Dosis óptima determinada por especie y cultivar	Enero, 2021	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>Para evaluar el efecto de la fertilización con magnesio (Mg) y azufre (S) sobre el rendimiento de materia seca y producción de clorofila de Trébol Rosado y Alfalfa, se estableció un experimento en macetas y condiciones controladas en cámara de crecimiento. Originalmente, se consideraba realizar el experimento en condiciones de campo, pero el establecimiento durante el año 2019 fue defectuoso (Informe técnico N°4). Se utilizó un diseño factorial completamente aleatorio con dos niveles de especie (alfalfa y trébol rosado), dos niveles de fertilización (T0 sin Mg y S; T1 con Mg y S) y 12 repeticiones. Se utilizó la variedad Superqueli INIA de trébol rosado y ACB350 de alfalfa. Se determinó la producción de materia seca, contenido de clorofilas (a, b y total), junto a otras características de las plantas en dos periodos de evaluación (cortes). Los resultados en las condiciones experimentales indicaron que no hubo efecto de la fertilización con Mg-S sobre el rendimiento de las dos especies ni la concentración de clorofila. Hubo efectos menores sobre la materia seca (%) pero son irrelevantes ya que los resultados se enmarcan en niveles normales para especies forrajeras pratenses en estado juvenil. En cuanto a diferencias entre las dos especies (alfalfa y trébol rosado), para concentración de clorofila no se observaron mayores diferencias entre las dos especies; la diferencia estuvo dada por el menor crecimiento de la alfalfa en el segundo período lo que explica la menor producción de clorofila por planta para dicha especie en la segunda evaluación y, como consecuencia, para la suma de las dos evaluaciones. Sin embargo, ambas especies muestran un buen potencial de producción de clorofila; a nivel productivo las diferencias estarán dadas por el rendimiento de biomasa (forraje) y el costo para producirla.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Anexo 4								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
2	7	Variación genética (entre especies y cultivares) en el contenido de selenio del forraje, determinada	miligramos Se/tonelada de forraje		20 miligramos Se/tonelada de forraje	Contenido de selenio determinado por especie y cultivar (>20 miligramos Se/tonelada de forraje)	Diciembre, 2020	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>Se determinó el contenido de selenio en 9 accesiones de especies forrajeras perennes. Se evaluó muestras obtenidas en el experimento de Chillán. Las muestras corresponden al primer corte de la segunda temporada de crecimiento (21-10-2019). Las muestras fueron escogidas por su pureza de especies y representatividad de la producción anual. Las muestras fueron molidas (9 accesiones x 2 repeticiones x 1 corte =18 muestras) y dispuestas en bolsas de papel. Durante el mes de marzo del 2020 se contrataron los servicios del laboratorio especializado en análisis de tejidos vegetales Agrolab (<a href="http://www.agrolabchile.cl">http://www.agrolabchile.cl</a>).</p> <p>El contenido de selenio en especies gramíneas fue 4 veces mayor que al observado en especies leguminosas. El contenido de selenio de especies gramíneas y leguminosas fue 15.4 y 3.9 ng/g, respectivamente.</p> <p>El contenido de selenio varió significativamente entre especies, Ballica perenne (18,1 ng/g) y Bromo (16,5 ng/g) fueron las especies con mayor contenido. Por el contrario, alfalfa fue la especie con el menor contenido de selenio (1,25 ng/g).</p> <p>Al comparar los valores observados en especies forrajeras perennes con los reportados en la literatura para otros alimentos de hojas (lechuga y apio), es posible inferir que el contenido de selenio se encuentra en rangos altos para gramíneas, pero bajos para leguminosas (anexo 5).</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Anexo 5								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
2	8	Estrategia de corte que maximiza la producción de clorofila determinada	Numero de estrategias		0	1	Enero 2021	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>En el experimento en Pueblo Seco, se determinó el efecto de la estrategia de corte sobre la producción de biomasa y clorofila. Sobre los experimentos de alfalfa y trébol rosado, se impuso dos estrategias de cortes basadas en el desarrollo fenológico del cultivo (Anexo 3). Estas fueron: Pre-botón y 10% Floración.</p> <p>La estrategia de corte afectó la producción de biomasa de alfalfa y trébol rosado. En general, el corte en pre-botón redujo entre un 10 a 20% la productividad de las especies estudiadas, relativo al corte en 10% flor.</p> <p>La estrategia de corte afectó el contenido de clorofila en la biomasa de especies forrajeras. El corte en pre-botón incrementó el contenido de clorofilas entre un 7 a 10%, relativo al corte en 10% flor.</p> <p>En términos de producción de clorofila por unidad de superficie, el incremento en el contenido de clorofila ocasionado por el corte en pre-botón, no compensa la reducción en la producción de biomasa.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Anexo 3								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
3	9	Protocolo de extracción de clorofilas a escala laboratorio implementado	Número de protocolos		0	1	Septiembre, 2019	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>El RE se reportó con un 100% de logro en el informe técnico N°2. En el laboratorio de Alimentos de INIA-La Platina se elaboró e implementó el protocolo para la extracción y cuantificación de clorofilas a escala laboratorio. Se utilizó el método Metanol-100%, siendo el más efectivo en la extracción de clorofilas. Adicionalmente, se implementó un método espectrofotométrico para cuantificar clorofilas a y b. El protocolo permite evaluar el contenido de clorofilas de forma masiva en un alto número de muestras. Con este protocolo se determinó el contenido de clorofila de 426 muestras derivadas de todos los experimentos realizados en el proyecto.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Anexo 6								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
3	10	Protocolo de estabilización de extracto de clorofilas a escala laboratorio implementado	Número de protocolos		0	1	Septiembre, 2019	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>El RE se reportó con 100% de avance en el informe técnico 4. Se formuló clorofilas en formato polvo y se caracterizó su solubilidad en dos matrices alimenticias (anexo 7). Para la formulación de polvo, se elaboró el extracto líquido de acuerdo a lo reportado en informe técnico 4. El extracto en formato polvo se obtuvo mediante el uso de la técnica secado por atomización, utilizando un secador Büchi B-290 (servicio a terceros). Para ello, el extracto líquido fue homogenizado con un carrier (maltodextrina) y luego fue secado en el secador por atomización. El secado por atomización fue optimizado mediante el ajuste de las variables temperatura de entrada y contenido de sólidos en la muestra (anexo 7). El extracto en polvo obtenido mostró un color verde atractivo, menos de 7% de humedad y más de 95% de solubilidad. Se probó su solubilidad en dos matrices de alimento (yogurt y Sopa verduras reconstituida). En ambas matrices el comportamiento del extracto fue sobresaliente (anexo 7).</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Anexo 7								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
4	11	Protocolo de extracción de clorofilas a nivel piloto/industrial implementado	Número de protocolos		0	1	Diciembre, 2020	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>Se implementó un protocolo de extracción y formulación de clorofilas a partir de biomasa de alfalfa a escala piloto en planta de proceso de empresa asociada (Casona el Monte). La implementación fue exitosa, permitiendo obtener clorofila en formato líquido y polvo.</p> <p>El protocolo incluye las siguientes etapas: Recepción de materia prima (biomasa de alfalfa), lavado, triturado y prensado. Con esto se obtiene el extracto líquido. Luego con contratación de servicios externos se aplica un proceso de secado-spray para la obtención del formato polvo.</p> <p>Se obtuvo un extracto líquido y un extracto polvo con 324,4 mg de clorofila/kg biomasa y 574 mg de clorofila/kg de biomasa, respectivamente. Las recomendaciones de almacenamiento para la mantención adecuada de clorofila son almacenar en el caso del producto líquido en congelación y para el extracto en polvo en lugar fresco y seco, en ausencia de luz y en envase adecuado para aislar de la humedad relativa.</p> <p>El protocolo sólo extrajo el 25% de las clorofilas totales. El resto quedó en la torta de prensa como descarte. Por lo tanto, se estima que el protocolo puede ser optimizado aún más extrayendo un porcentaje más elevado de clorofila desde la torta de alfalfa y adicionando una etapa de concentración del extracto líquido.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Anexo 7 y 8								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
5	12	Estudio de mercado sobre extractos de clorofilas elaborado	Número de estudios		0	1	Diciembre 2019	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
Este RE se reportó con 100% de avance en el informe técnico 3. El estudio de mercado fue realizado por la consultora AL Prospecta Limitada. El estudio incluyó: tendencias de mercado, origen de la clorofila y sus compuestos, tamaño de mercado y principales regiones consumidoras, tamaño de mercado actual y potencial (2025), tendencias de consumo por regiones, aspectos regulatorios y ejemplos de productos comerciales formulados con clorofilas.								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Anexo 11								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
5	13	Factibilidad económica y rentabilidad positiva para los factores de la cadena productiva de extractos de clorofilas, demostrada	VAN		0	VAN>0	Diciembre 2020	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
<p>Se elaboró un estudio de factibilidad económica de la agregación de valor, para los dos principales actores de la cadena productiva de extractos de clorofilas. Estos son: los pequeños productores de especies forrajeras de la precordillera de Ñuble y La Casona El Monte (empresa asociada), que es la encargada de formular y elaborar un producto final, "Alfalfa en Polvo" (clorofilas).</p> <p>La factibilidad económica se estimó mediante 3 indicadores: Valor actual neto (VAN), tasa interna de retronó (TIR), Periodo de recuperación de la inversión (PRI).</p> <p>El análisis para el productor (situación base), indicó que el establecimiento de una unidad productiva, es rentable en un horizonte de 5 años de evaluación, ya que el VAN de los flujos descontados a una tasa del 12% es positivo (\$1.192.678); por su parte la TIR es positiva (40%) y superior a la tasa de descuento (12%)</p> <p>El análisis para el productor (con tecnología INIA), indicó que el establecimiento de una unidad productiva, es rentable en un horizonte de 5 años de evaluación, ya que el VAN de los flujos descontados a una tasa del 12% es positivo (\$3.107.366); por su parte la TIR es positiva (77%) y superior a la tasa de descuento.</p> <p>El análisis para La Empresa, indica que el establecimiento de una unidad productiva de este tipo, es rentable para un horizonte de 10 años de evaluación, ya que el VAN de los flujos descontados a una tasa del 12% es positivo (\$25.240.285); por su parte la TIR es positiva (24%) y superior a la tasa de descuento (12%). El período de recuperación de la inversión es de 4 años y siete meses aproximadamente.</p>								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Anexo 9								

Nº OE	Nº RE	Resultado Esperado (RE)	Indicador de Resultados (IR)					% de avance a la fecha
			Nombre del indicador	Fórmula de cálculo	Estado actual del indicador	Meta del indicador (situación final)	Fecha alcance meta	
5	14	Modelo de negocio para la comercialización de extractos de clorofilas validado por los actores de la cadena	Modelo de negocio validado		0	1	Diciembre 2020	100%
Descripción y justificación del avance de los resultados esperados a la fecha.								
El Resultado Esperado se reportó con un 100% de avance en el Informe técnico 3. Para la elaboración del modelo de negocio se contrató los servicios de la consultora AL Prospecta limitada. Basado en las conclusiones del estudio de mercado (RE 12) se elaboró un análisis FODA (Fortalezas, Oportunidades, Debilidades y Amenazas) para la producción y productos de extractos de clorofila en Chile. Se identificaron los actores del negocio y se propuso un modelo de negocio usando la metodología Canvas (anexo 11).								
Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)								
Anexo 11								

## 8. CAMBIOS Y/O PROBLEMAS

Especificar los cambios y/o problemas en el desarrollo del proyecto durante el período informado.

Describir cambios y/o problemas	Consecuencias (positivas o negativas), para el cumplimiento del objetivo general y/o específicos	Ajustes realizados al proyecto para abordar los cambios y/o problemas
Contingencia sanitaria COVID-19 (periodo segundo semestre 2020)	<p>Ocasionó un retraso en la obtención del RE11 (pilotaje a nivel industrial).</p> <p>Modificó parcialmente la forma de reunión y discusión de resultados del equipo de trabajo.</p>	<p>Se realizó el cambio de asociado ECOCREA por Casona el Monte. Se solicitó y aprobó una extensión del proyecto hasta 30 de agosto del 2021.</p> <p>Desde marzo del 2020, las reuniones del equipo técnico se efectúan de forma virtual a través de la plataforma Meet. Durante el periodo informado se han realizado 6 reuniones virtuales.</p>

## 9. ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL PERÍODO

### .1 Actividades programadas en el plan operativo y realizadas en el período del informe

#### **1.- Evaluación de la producción de forraje (estrategias de corte) y clorofila de 9 cultivares de alfalfa y 4 de trébol rosado (experimento Pueblo Seco).**

- Se evaluó la producción de materia seca de 9 cultivares de alfalfa (dormancia 4, 6, 7, 8.5 y 9) y 4 cultivares de trébol rosado durante esta segunda temporada de crecimiento (mayo 2020 - abril 2021).
- Se evaluó dos estrategias de corte (pre-botón y 10% floración) en esta segunda temporada.
- Medición de firmas espectrales en los ensayos establecidos (Pueblo Seco) previa al corte y estimación del contenido de clorofila a través de este método indirecto.
- Evaluación de modelos predictivos basados en información espectral y estimación de la producción de clorofila por corte, especies y total.

#### **2.- Evaluación de firma espectral de parcelas en campo.**

- Medición de firmas espectrales de los ensayos previa al corte y estimación del contenido de clorofila a través de este método indirecto.
- Evaluación espectros estrategias de corte (pre-botón y 10% floración) ensayo Pueblo Seco.

#### **3.- Estrategias de fertilización INIA Carillanca.**

- Se evaluó las dos especies más productivas en términos de su producción de biomasa y clorofilas (RE1). Alfalfa (cv. ACB 350) y Trébol Rosado (cv. Superqueli).
- Se evaluó el efecto de 2 dosis de fertilización con magnesio y azufre.
- Se evaluó el contenido de clorofila (medidor SPAD), altura máxima, peso verde por planta, peso seco por planta y % de materia seca.
- En INIA Carillanca, se implementó un protocolo de extracción de clorofila en laboratorio para determinar el contenido de clorofila de los cortes realizados en esta temporada.
- Se realizaron dos cortes de Biomasa, se liofilizaron y se les determino el contenido de clorofila (INIA Carillanca).

#### **4.- Extracción de clorofila a escala laboratorio y determinación de clorofila a y b).**

- Se implementó el mismo protocolo de extracción y cuantificación de clorofila realizada en INIA La Platina, para desarrollarlo en INIA Carillanca.
- Se utilizó el método de extracción sólido-líquido utilizando metanol como solvente, con ello fue posible extraer clorofila a y b mediante espectrofotometría.
- Se determinó el contenido de clorofila a 96 muestras liofilizadas (2 cortes) del ensayo de estrategias de fertilización en macetas establecido en INIA Carillanca.

#### **5.- Manejo agronómico de ensayos de campo (Pueblo Seco y Temuco).**

- Fertilización de mantención.
- Control de malezas manual.

#### **6.- Protocolo de extracción y estabilización de clorofilas a nivel piloto/industrial implementado.**

- Se trabajó en la formulación de extractos de clorofila en formato sólido.

- Se contrató servicios de secado por atomización.
- Se evaluaron dos tipos de carrier: maltodextrina y goma arábica.
- Se optimizó la técnica de secado por atomización mediante el ajuste de variables (temperatura y contenido de sólidos).
- Se caracterizó física y químicamente el extracto en polvo de los tipos de carrier utilizados (humedad y solubilidad).
- Se evaluó la estabilidad de la clorofila de los sistemas de extractos en polvo.
- Se realizó un análisis proximal en un laboratorio certificado (ANALAB) a las dos especies más productivas en términos de su producción de biomasa y clorofila (Alfalfa y Trébol Rosado).
- Se discutió el protocolo con la industria.
- Se llevó a cabo el pilotaje industrial durante los meses mayo-agosto del 2021.
- Se efectuaron 3 pruebas preliminares para los ajustes de proceso y parámetros.
- Se realizó la prueba final para la obtención de clorofila en formato líquido.
- Se realizó prueba final en formato polvo (servicios terceros empresa Maquiladora Inasec).

#### **7.- Estudio de factibilidad económica y rentabilidad positiva.**

- Se calcularon costos para la producción de biomasa de alfalfa en condiciones de campo y los costos de operación asociado al pilotaje industrial.
- Se realizaron dos evaluaciones (productor y empresa) para el estudio de factibilidad económica.
- Se consideraron dos escenarios: Evaluación del productor con paquete tecnológico INIA y sin paquete tecnológico INIA.
- Se utilizaron como indicadores: VAN, TIR, Relación Beneficio Costo y período de recuperación de la inversión.

#### **8.- Seminario ciclo radial.**

- Transmisión de ciclo radial (7, 14, y 21 de agosto) en la "Radio El Sembrador".
- Difusión de los resultados del proyecto FIA-Clorofilas a agricultores de la región de Ñuble mediante tres programas radiales de 60 minutos de duración.
- Sábado 7 Descripción y modelo de negocio para pequeños productores forrajeros de la precordillera de Nuble.
- Sábado 14 Resultados y experiencia del pilotaje industrial del proceso de extracción de clorofilas.
- Sábado 21 Papel de INIA y FIA en los procesos de innovación agrícola en la región de Ñuble.

#### **9.- Actividades de difusión.**

- Difusión Ciclo radial vía twitter INIA Quilamapu
- Publicación Diario La Discusión, sección Revista Agro 298 "Producen clorofila con biomasa de especies forrajeras".

## **.2 Actividades programadas y no realizadas en el período del informe**

### .3 Actividades programadas para otros períodos y realizadas en el período del informe

### .4 Actividades no programadas y realizadas en el período del informe

- **Difusión Ciclo radial vía Twitter INIA Quilamapu** “sábado 7 agosto <http://radioelsembrador.cl/online/> 08:00 o 19:00 horas, programa "Al servicio del mundo rural". Investigadores @iniachile L. Inostroza y C. Ruiz presentan proyecto Clorofilas. Colorantes naturales a partir de plantas forrajeras de precordillera. Con apoyo de @FIA\_Chile”.
- **Publicación Diario La Discusión, sección Revista Agro 298** “Producen clorofila con biomasa de especies forrajeras”.

## 10. HITOS CRÍTICOS DEL PERÍODO

Hitos críticos	Fecha programada de cumplimiento	Cumplimiento (SI / NO)	Documentación de respaldo (indique en que nº de anexo se encuentra)
Estudio de factibilidad económica y estimación de la rentabilidad para los actores de la cadena productiva de extractos de clorofilas aprobado por FIA.	Marzo 2020	SI	Anexo 9

**10.1. En caso de hitos críticos no cumplidos en el período, explique las razones y entregue una propuesta de ajuste y solución en el corto plazo.**

Se cumplieron todos los hitos críticos de proyecto.

## 11. CAMBIOS EN EL ENTORNO

Indique si han existido cambios en el entorno que afecten el proyecto en los ámbitos tecnológico, de mercado, normativo y otros

Tanto la contingencia sanitaria como los cambios políticos y sociales que enfrenta Chile, podrían alterar la inversión de la industria de alimentos para potenciar estos nuevos productos.

## 12. DIFUSIÓN

### 12.1 Describa las actividades de difusión programadas durante el período:

Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes	Documentación Generada
07/08/2021	Radio "El Sembrador de Chillan FM" <a href="http://www.radioelsembrador.cl/online/">http://www.radioelsembrador.cl/online/</a> . Online Podcast Biblioteca digital INIA: <a href="https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68128">https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68128</a>	Seminario de cierre, ciclo radial: Descripción y modelo de negocio para pequeños productores forrajeros de la precordillera de Ñuble		Anexo 10
14/08/2021	Radio "El Sembrador de Chillan FM" <a href="http://www.radioelsembrador.cl/online/">http://www.radioelsembrador.cl/online/</a> . Online Podcast Biblioteca digital INIA: <a href="https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68129">https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68129</a>	Seminario de cierre, ciclo radial: Resultados y experiencia del pilotaje industrial del		Anexo 10

		proceso de extracción de clorofilas.		
21/08/2021	Radio "El Sembrador de Chillan FM" <a href="http://www.radioelsembrador.cl/online/">http://www.radioelsembrador.cl/online/</a>  Online Podcast Biblioteca digital INIA: <a href="https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68130">https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/68130</a>	Seminario de cierre, ciclo radial: Papel de INIA y FIA en los procesos de innovación agrícola en la región de Ñuble.		Anexo 10

## 12.2 Describa las actividades de difusión realizadas durante el período:

Fecha	Lugar	Tipo de Actividad	Nº participantes*	Documentación Generada*
06/08/2021	Twitter INIA Quilamapu.  Publicación web: <a href="https://twitter.com/INIAQuilamapu/status/1423733787255615495/photo/1">https://twitter.com/INIAQuilamapu/status/1423733787255615495/photo/1</a>	Difusión Ciclo radial vía twitter		Anexo 10
31/08/2021	Diario "La Discusión" de Chillan. Sección Revista Agro 298, agosto 2021.  Publicación web revista digital: <a href="http://papel.ladiscusion.cl/papeldigital/2021/agro/08/">http://papel.ladiscusion.cl/papeldigital/2021/agro/08/</a>	Publicación web papel digital revista agro 298 "Producen clorofila con biomasa de especies forrajeras".		Anexo 10


\*Debe adjuntar en anexos material de difusión generado y listas de participantes

### 13. CONCLUSIONES

**13.1 ¿Considera que los resultados obtenidos hasta la fecha permitirán alcanzar el objetivo general del proyecto?**

Se logró alcanzar el objetivo general del proyecto en los plazos autorizados por FIA

**13.2 ¿Considera que el objetivo general del proyecto se cumplirá en los plazos establecidos en el plan operativo?**

Se logró alcanzar el objetivo general del proyecto en los plazos autorizados por FIA

**13.3 ¿Ha tenido dificultades o inconvenientes en el desarrollo del proyecto?**

Sólo las consecuencias de la PANDEMIA COVID19

**13.4 ¿Cómo ha sido el funcionamiento del equipo técnico del proyecto y la relación con los asociados, si los hubiere?**

La relación en el equipo técnico, que incluye investigadores en distintas ciudades de Chile (Santiago, Chillán y Temuco), fue 100% funcional y profesional.

**13.5 En relación a lo trabajado en el período informado, ¿tiene alguna recomendación para el desarrollo futuro del proyecto?**

No hay recomendaciones para el desarrollo futuro del proyecto.

**13.6 Mencione otros aspectos que considere relevante informar, (si los hubiere).**

No existen otros aspectos a mencionar.

## **14. ANEXOS**

Realice y enumere una lista de documentos adjuntados como anexos.

## **ANEXO 1. Evaluación de la producción de biomasa y clorofila por unidad de superficie de especies y cultivares de forrajeras.**

### **ESTABLECIMIENTO DE ENSAYOS EN CHILLÁN Y TEMUCO**

Para seleccionar la especie forrajera perenne con mayor producción de clorofilas por unidad de superficie, se establecieron dos experimentos, en las comunas de Chillán y Temuco. Ambos experimentos se establecieron en campos experimentales de INIA: Quilamapu y Carillanca, en Chillán y Temuco, respectivamente.

En ambas localidades, se preparó el suelo mediante las siguientes labores: barbecho químico con aplicación de glifosato (5L/ha), aradura con discos y rastraje y mullido con rubín. En ambas localidades, el cultivo antecesor fue un cereal (trigo). En Chillán y Temuco, la siembra se efectuó el 12/04 y 10/09 del 2018, respectivamente. Se sembraron nueve accesiones de siete especies forrajeras perennes. Las especies, cultivares y dosis de semilla se indican en Tabla 1.1. Las semillas se sembraron en hileras distanciadas a 20 cm. Las hileras fueron marcadas con un rayador y la semilla fue distribuida con una sembradora de hilera individual (ver registro fotográfico 1.2). Previo a la siembra se fertilizó el suelo aplicando los fertilizantes y dosis descritos en Tabla 1.2. El súper fosfato triple se incorporó en la hilera de siembra, mientras que el resto de los fertilizantes se aplicaron al voleo. Finalmente, el suelo fue compactado con rodillo.

Se realizó un control químico de malezas de acuerdo al tipo de especies. En leguminosas se controló especies de hoja angosta, mientras que en gramíneas se controló especies de hoja ancha. Los herbicidas utilizados se muestran en Tabla 1.3.

### **DISEÑO EXPERIMENTAL**

En ambas localidades se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con 4 repeticiones (Figura 1.1). El tamaño de cada parcela fue de 2x6 m con un surco muerto (sin sembrar) de 0,2 m entre parcelas.

401 Festuca	402 Trébol rosado	403 Ballica perenne 4n	404 Lotus tenuis	405 Ballica perenne 2n	406 Alfalfa dorm4	407 Alfalfa dorm7	408 Bromo	409 Lotus corniculatus
----------------	-------------------------	---------------------------------	------------------------	---------------------------------	-------------------------	-------------------------	--------------	------------------------------

301 Alfalfa dorm4	302 Trébol rosado	303 Lotus tenuis	304 Ballica perenne 2n	305 Ballica perenne 4n	306 Lotus corniculatus	307 Alfalfa dorm7	308 Bromo	309 Festuca
-------------------------	-------------------------	------------------------	---------------------------------	---------------------------------	------------------------------	-------------------------	--------------	----------------

201 Festuca	202 Ballica perenne 4n	203 Alfalfa dorm4	204 Lotus corniculatus	205 Trébol rosado	206 Lotus tenuis	207 Ballica perenne 2n	208 Alfalfa dorm7	209 Bromo
----------------	---------------------------------	-------------------------	------------------------------	-------------------------	------------------------	---------------------------------	-------------------------	--------------

101 Alfalfa dorm7	102 Ballica perenne 2n	103 Ballica perenne 4n	104 Trébol rosado	105 Alfalfa dorm4	106 Festuca	107 Lotus corniculatus	108 Bromo	109 Lotus tenuis
-------------------------	---------------------------------	---------------------------------	-------------------------	-------------------------	----------------	------------------------------	--------------	------------------------

**Figura 1.1.** Diseño experimental utilizado en localidades de Chillán (Quilamapu) y Temuco (Carillanca).

**Tabla 1.1.** Especies y dosis de semillas utilizadas para el establecimiento de forrajeras perennes en dos localidades (Chillán y Temuco).

<b>Especies</b>	<b>N. Vulgar</b>	<b>Cultivar</b>	<b>Dosis (kg/ha)</b>
<i>Medicago sativa</i>	Alfalfa dormancia 7	SARDI7	25
<i>Medicago sativa</i>	Alfalfa dormancia 4	ACB350	25
<i>Trifolium pratense</i>	Trebol rosado	Superqueli	15
<i>Lotus corniculatus</i>	Lotera hoja ancha	Quimey	32
<i>Lotus tenuis</i>	Lotera hoja angosta	Lt14	32
<i>Lolium perenne</i>	Ballica 2n	ExpoAR1	20
<i>Lolium perenne</i>	Ballica 4n	BaseAR1	25
<i>Bromus valdivianus</i>	Bromo	Bronco	30
<i>Festuca arundinacia</i>	Festuca	Excella2	16

**Tabla 1.2.** Dosis de fertilizantes utilizados en el establecimiento de especies forrajeras perennes.

<b>Fertilizante</b>	<b>Dosis (kg/ha)</b>
Urea	100
Sulpomag	100
SF triple	200

**Tabla 1.3.** Dosis de herbicidas utilizados para el control de malezas en praderas de especies forrajeras perennes.

<b>Herbicida</b>	<b>Control</b>	<b>Dosis</b>	<b>Fecha de aplicación</b>
Preside	Hoja ancha	50 gr/ha	18-07-2018
Venceweed	Hoja ancha	0,5 L/ha	18-07-2018
Centurion super	Hoja angosta	1 L/ha	08-08-2018

## **EVALUACIONES**

### **Producción de Materia Seca (MS)**

La producción de MS se evaluó mediante corte con barra segadora. Las leguminosas se cortaron a 5 cm sobre el nivel del suelo cuando alcanzaron un estado de desarrollo de 10% de floración. Las gramíneas se cortaron a 5 cm sobre el nivel del suelo cuando alcanzaron al menos 3 hojas plenamente expandidas. En el campo se determinó el peso fresco de la parcela y una sub-muestra de 500 g fue llevada a laboratorio para determinar el contenido de materia seca. Las sub-muestras fueron secadas en horno con ventilación forzada a 105°C por una hora y luego a 40°C, hasta alcanzar peso constante. La producción de MS se expresó en kg de MS/ha. La producción de MS se evaluó durante 2 temporadas de crecimiento (2018-2019 y 2019-2020) en Chillán (Quilamapu) y 1 temporada en Temuco (Carillanca 2018-2019). En Chillán se efectuaron 7 y 5 cortes durante la primera y segunda temporada de crecimiento, respectivamente. En Temuco, se efectuaron 3 cortes durante la temporada 2018-2019.

### **Contenido de clorofilas**

El contenido de clorofilas se evaluó mediante dos metodologías. La primera fue una evaluación in situ mediante espectroradiometría. Previo a cada corte de evaluación de la producción de MS se registró la firma espectral de cada parcela con un radiómetro modelo Handheld 2 de ASD (<https://www.malvernpanalytical.com/en>). El cual mide la reflectancia del dosel en la sección VIS-NIR del espectro electromagnético (350-1100 nm). Con la información colectada se calculó índices vegetacionales correlacionados con el contenido de clorofila de las plantas (Anexo 2).

El segundo método, correspondió a técnicas de laboratorio que cuantifican el contenido real de clorofilas en los tejidos (Anexo 6). Para ello, una fracción de la sub-muestra utilizada para la determinación del contenido de MS, fue molida y enviada al laboratorio de Alimentos de INIA-La Platina (Santiago). Se determinará el contenido de clorofila de 324 muestras, que corresponden a 36 parcelas cosechadas 9 veces (7 cosechas en Quilamapu y 2 en Carillanca). La información se utilizó para determinar la producción de clorofila por unidad de superficie.

### **Análisis estadísticos**

Todas las variables evaluadas fueron analizadas mediante análisis de variancia (ANDEVA). Las medias fueron comparadas mediante la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) con un umbral de confianza del 95%.

## **RESULTADOS**

### **Producción de Biomasa (Materia Seca)**

Durante la primera temporada de crecimiento, la producción de materia seca (MS) total varió ampliamente entre localidades. La obtenida en Carillanca fue cerca de un 20% menor a la obtenida en Quilamapu (Figura 1.2 y 1.3; Tablas 1.4 y 1.5). La primera causa de esta diferencia fue la fecha de siembra. En Quilamapu se efectuó en el otoño, mientras que en Carillanca durante la primavera del 2018. Debido a esta situación, era esperable la mayor producción de MS en Quilamapu que en Carillanca (Figura 1.3). La Tabla 1.4 muestra todos los cortes de biomasa (5 cortes) de la primera temporada que fue posible cosechar simultáneamente en especies gramíneas y leguminosas, siendo excluidos dos cortes (cortes 1 y 5) de especies gramíneas que no fueron posible de evaluar simultáneamente (gramíneas y leguminosas). En Carillanca, en cambio, se realizaron 3 cortes completos del ensayo y del total de la temporada de crecimiento (Tabla 1.5).

Durante la primera temporada de crecimiento en Quilamapu, alfalfa y trébol rosado fueron las especies más productivas. Por otro lado, En Carillanca, sólo trébol rosado fue la especie más productiva (Figura 1.3). Pese a que la alfalfa fue una de la especie más productiva en Quilamapu, en Carillanca fue la que mostró la menor producción de MS. Estos resultados fueron atribuidos a deficiencias en el pH del suelo que afectó la nodulación de alfalfa en Carillanca.

En Quilamapu, no se observaron diferencias en la producción de biomasa entre la primera y segunda temporada de crecimiento, la que fue cercana a las 12.5 ton de MS/ha en promedio (Figura 1.4). Las variedades de alfalfa y trébol rosado siguieron siendo las más productivas (Tabla 1.4 y 1.6). Lo que confirma la selección de las especies realizada durante la primera temporada de crecimiento. Sin embargo, cabe destacar que la productividad de biomasa de Trébol Rosado, durante la segunda temporada de crecimiento fue 30% menor relativo a la primera temporada. En cambio, la producción de biomasa de alfalfa, durante la segunda temporada fue casi un 40% superior a la obtenida durante la primera temporada (Figura 1.4).

### **Producción de Clorofila por Unidad de Superficie**

Se determinó el contenido de clorofila de 7 cortes en Quilamapu (Chillan) evaluados mediante métodos de química convencional, durante la primera temporada de crecimiento. La concentración de clorofila total (a+b) varió significativamente entre especies ( $P < 0.05$ ) y a lo largo de la temporada de crecimiento (Tabla 1.7). En especies gramíneas, el contenido de clorofilas (base peso fresco) varió ampliamente a lo largo de la temporada de crecimiento. Las especies gramíneas mostraron alta concentración de clorofilas a inicios de primavera (Corte 1) pero muy baja durante el verano (0.95 mg/g, corte 4; Tabla 1.7). En cambio, en especies leguminosas la concentración de clorofila fue más estable durante la temporada de crecimiento, en torno a 2.5 mg/g (Tabla 1.7).

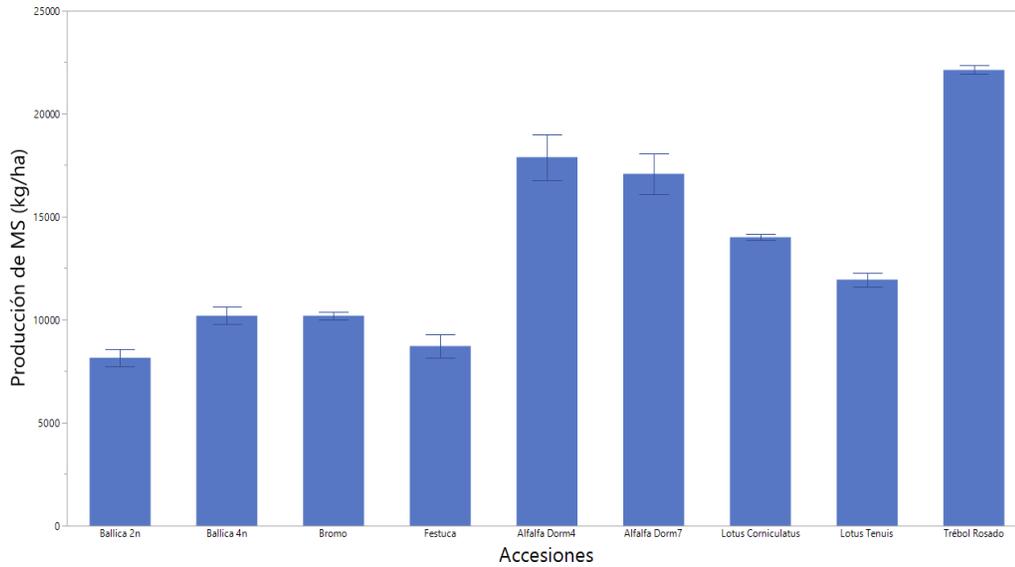
En cuanto a la producción de clorofila por unidad de superficie, especies leguminosas produjeron en promedio un 50% más clorofila que especies gramíneas (Figura 1.5). La producción de clorofila por unidad de superficie varió significativamente entre especies ( $P < 0.05$ ; Figura 1.6). Alfalfa y trébol rosado lograron la mayor producción anual de clorofilas con 230 kg/ha en promedio (Figura 1.6).

Durante la segunda temporada de crecimiento, el contenido de clorofilas se determinó mediante técnicas espectrales. Se utilizó el índice espectral Ctr1, que fue el que mostró la mayor correlación con contenido de clorofila total ( $r = -0.55$ ,  $P < 0.01$ ; Anexo 2). La figura 1.7 muestra los valores del índice Ctr1 para todas las accesiones. En todos los cortes se observó diferencias significativas entre especies. Alfalfa y trébol rosado mostraron siempre los menores valores, lo que indica un mayor contenido de clorofilas.

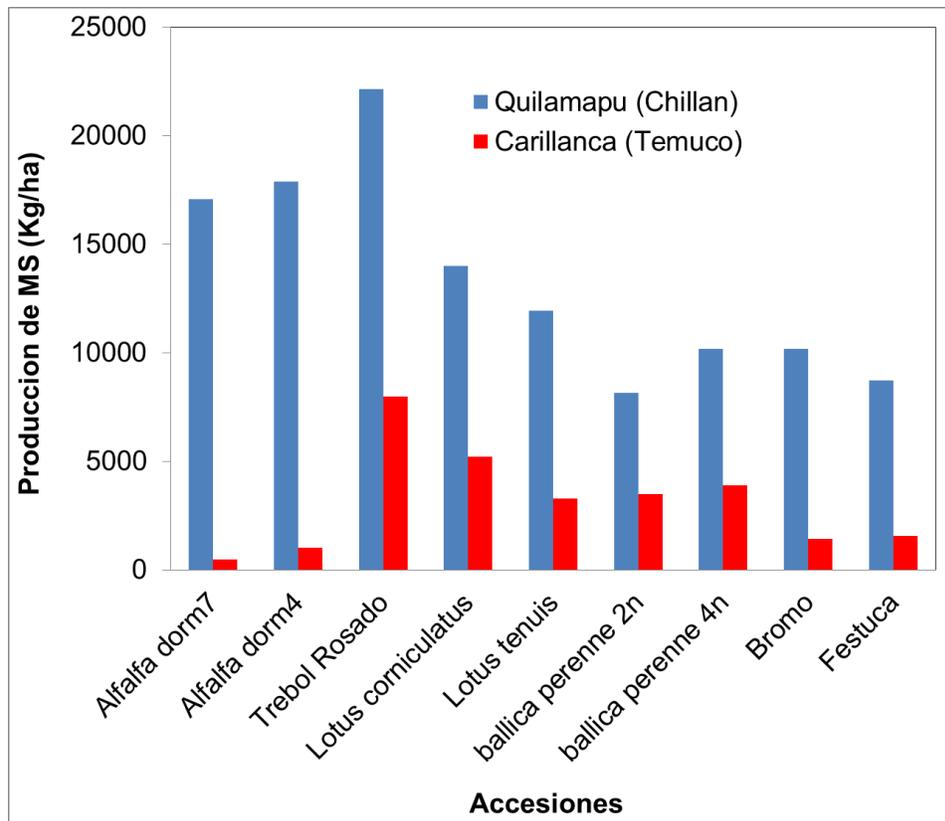
## CONCLUSIÓN

En base a los resultados se concluye lo siguiente:

1. El contenido de clorofilas de especies forrajeras perennes cambia a lo largo de una temporada de crecimiento. La variación es mayor en especies gramíneas que leguminosas. El contenido de clorofilas de especies forrajeras perennes alcanza un valor promedio anual de 2,5 mg/g.
2. En términos de producción de clorofila por unidad de superficie, las especies más productivas fueron las leguminosas. Entre estas, Alfalfa y trébol rosado lograron la mayor producción anual de clorofilas con 230 kg/ha en promedio.
3. La producción anual de clorofila la determina la capacidad de la especie para producir biomasa. El contenido de clorofilas tiene un rol marginal.



**Figura 1.2.** Producción de materia seca (MS) total de nueve accesiones de especies forrajeras perennes establecidas en Quilamapu. Temporada de crecimiento 2018-2019.



**Figura 1.3.** Producción de materia seca (MS) total de nueve accesiones de especies forrajeras perennes establecidas en Quilamapu y Carillanca. Temporada de crecimiento 2018-2019.

**Tabla 1.4.** Producción de materia seca, significancia estadística y diferencia mínima significativa (LSD de Fisher) de 7 cortes completos del ensayo y del total de la temporada de crecimiento (2018-2019) en INIA Quilamapu.

Especie	Cultivar	C2 (09-11-2018)		C3 (12-12-2018)		C4 (14-01-2019)		C6 (03-04-2019)		C7 (10-06-2019)		Total	
Alfalfa dorm7	SARDI7	2292.3	A	2213.3	C	3836.5	d	3424.8	c	1361.3	E	17083	E
Alfalfa dorm4	ACB350	2476.5	A	3160.8	D	3842.8	d	3311	c	1297	E	17892	E
Trébol Rosado	Superqueli	5732	D	6082.3	e	4718.3	e	4845.5	d	753.5	D	22132	F
Lotus corniculatus	quimey	4791	C	3419.5	d	2458.5	c	2663	b	673.5	D	14006	D
Lotus tenuis	Lt14	3731.3	B	3108.8	d	2179.8	c	2661.3	b	268.75	A	11950	C
ballica perenne 2n	ExpoAR1	2528.3	A	1419.3	ab	491.25	a	1217.8	a	645.25	Cd	8152.5	A
ballica perenne 4n	BaseAR1	2861.3	ab	2009.8	bc	743	a	1733.5	a	627.5	Cd	10193	B
Bromo	Bronco	3160.3	ab	2152.3	c	1429.5	b	1284.5	a	429.5	Ab	10194	B
Festuca	excella2	2887.3	ab	1506.3	ab	887.75	ab	1426.3	a	497	Bc	8724	Ab
Sign.		***		***		***		***		***		***	
LSD		905.02		510.04		625.5		532.11		165.11		1523.5	

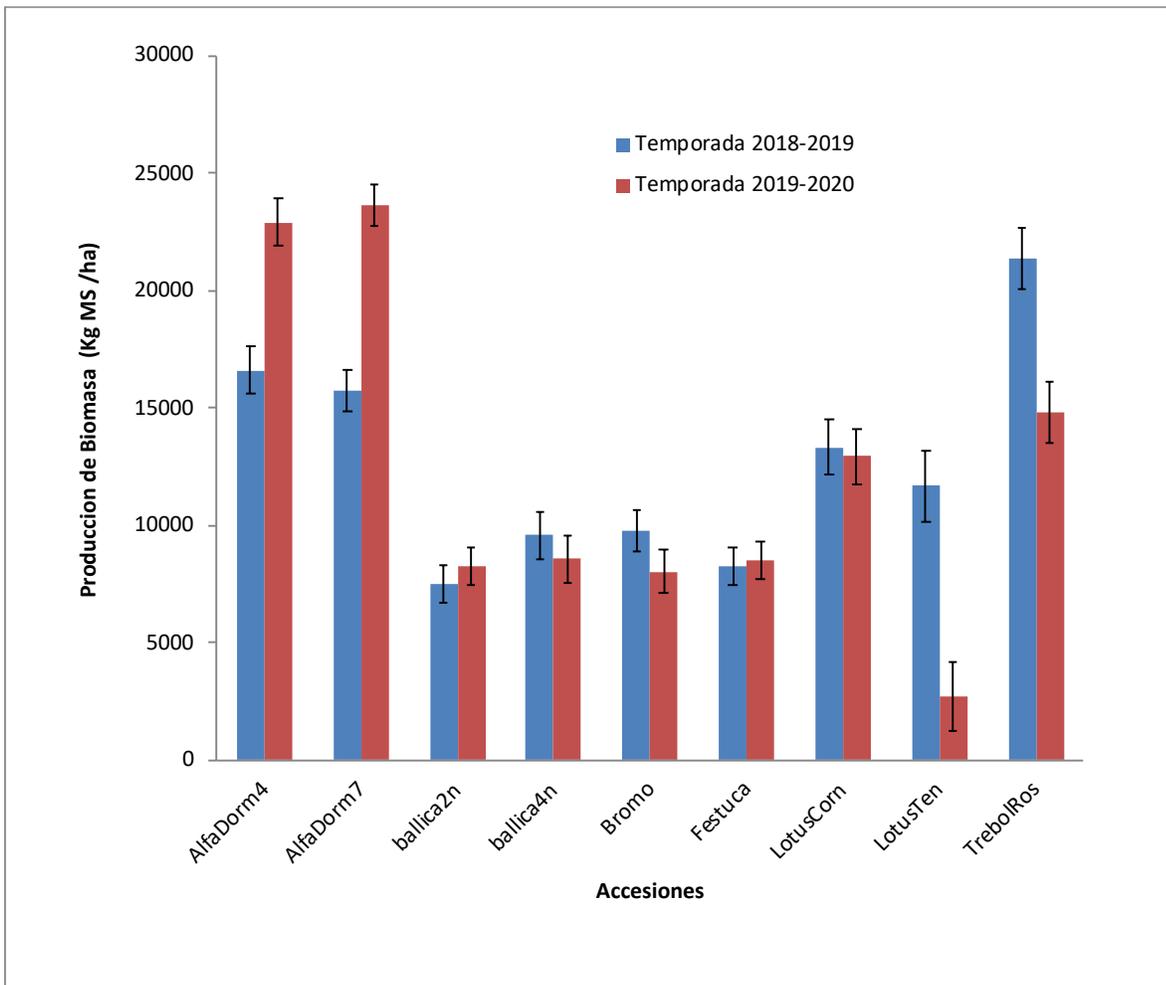
Según prueba de diferencias mínimas significativas (DMS) ( $P \leq 0,05$ ), letras minúsculas diferentes entre columnas, indican diferencias entre especies; \*  $P \leq 0,05$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*\*\*  $P \leq 0,001$ .

**Tabla 1.5.** Rendimiento (kg MS/ha), significación y diferencia mínima significativa (LSD de Fisher) de 3 cortes completos del ensayo y del total de la temporada de crecimiento en INIA Carillanca (2018-2019).

ESPECIE	VARIEDAD	1er Corte 27-12-2018	2do Corte 21-02-2019	3er Corte 08-05-2019	Total
Alfalfa dorm4	ACB 350	461	418	158	1037
Alfalfa dorm7	Sardi Seven	377	80	13	470
Trébol rosado	Superqueli INIA	2099	3890	2004	7993
L. corniculatus	Quimey	1451	1459	2305	5216
L. tenuis	Lt14	1304	1027	961	3292
Ballica perenne diploide	Expo AR1	2101	855	532	3488
Ballica perenne tetraploide	Base AR1	2313	1020	571	3904
Bromo	Bronco	436	471	536	1443
Festuca	Exella II	558	536	462	1557
Promedio		1233	1084	838	3156
EE		642,2	495,4	343,7	1030,5
Sign.		***	***	***	***
LSD		624,9	482,0	334,4	1504,0

Según prueba de diferencias mínimas significativas (DMS) ( $P \leq 0,05$ ), indican diferencias entre especies;

\*  $P \leq 0,05$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*\*\*  $P \leq 0,001$ .



**Figura 1.4.** Producción de biomasa expresada como materia seca (MS) de nueve accesiones de especies forrajeras perennes establecidas en Quilamapu, durante dos temporadas de crecimiento (2018-2019 y 2019-2020). Barras de error indican error estándar de la media.

**Tabla 1.6.** Producción de materia seca, significancia estadística y diferencia mínima significativa (LSD de Fisher) de 5 cortes y del total de la segunda temporada de crecimiento en INIA Quilamapu (2019-2020).

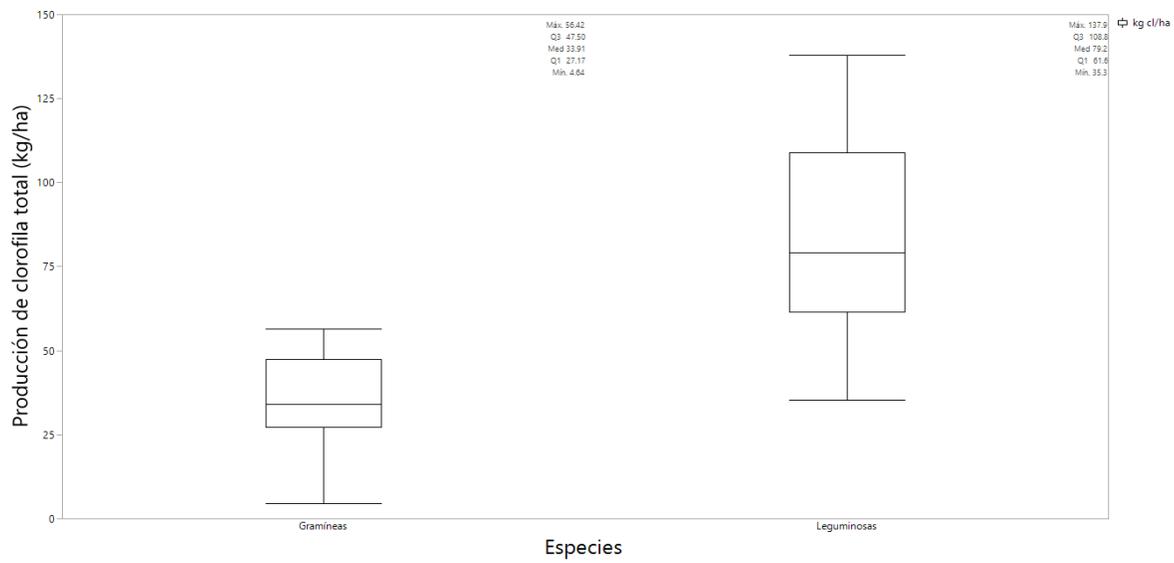
Especie	Cultivar	C1 (21-10-2019)		C2 (02-12-2019)		C3 (02-01-2020)		C4 (04-02-2020)		C5 (25-02-2020)		Total	
Alfalfa dorm7	SARDI7	4871,65	c	5833,91	e	4703,86	d	4715,61	d	3510,84	cd	23635,75	d
Alfalfa dorm4	ACB350	5093,36	c	5701,79	e	4510,21	d	4116,92	c	3472,82	c	22895	d
Trébol Rosado	Superqueli	5483,6	c	3091,38	bc	1683,88	c	sd	a	4515,03	e	14773,75	c
Lotus corniculatus	quimey	4847,7	c	2497,48	b	1572,9	c	sd	a	4018,24	de	12936,5	c
Lotus tenuis	Lt14	2713,89	ab	sd	a	sd	a	sd	a	sd	a	2714	a
ballica perenne 2n	ExpoAR1	2230,47	a	3877,36	cd	782,83	b	565,1	b	809,24	b	8265	b
ballica perenne 4n	BaseAR1	1963,9	a	4102,26	d	900,5	b	699,26	b	899,44	b	8565,5	b
Bromo	Bronco	2004,33	a	3724,34	cd	895,49	b	553,16	b	867,41	b	8044,75	b
Festuca	excella2	3301,56	b	2979,74	bc	952,8	b	434,9	ab	810,66	b	8479,5	b
	sign.	*		*		*		*		*		*	
	LSD	924,985		911,612		542,692		467,104		519,598		2212,081	

Según prueba de diferencias mínimas significativas (DMS) ( $P \leq 0,05$ ), letras minúsculas diferentes entre columnas, indican diferencias entre especies; \*  $P \leq 0,05$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*\*\*  $P \leq 0,001$ .

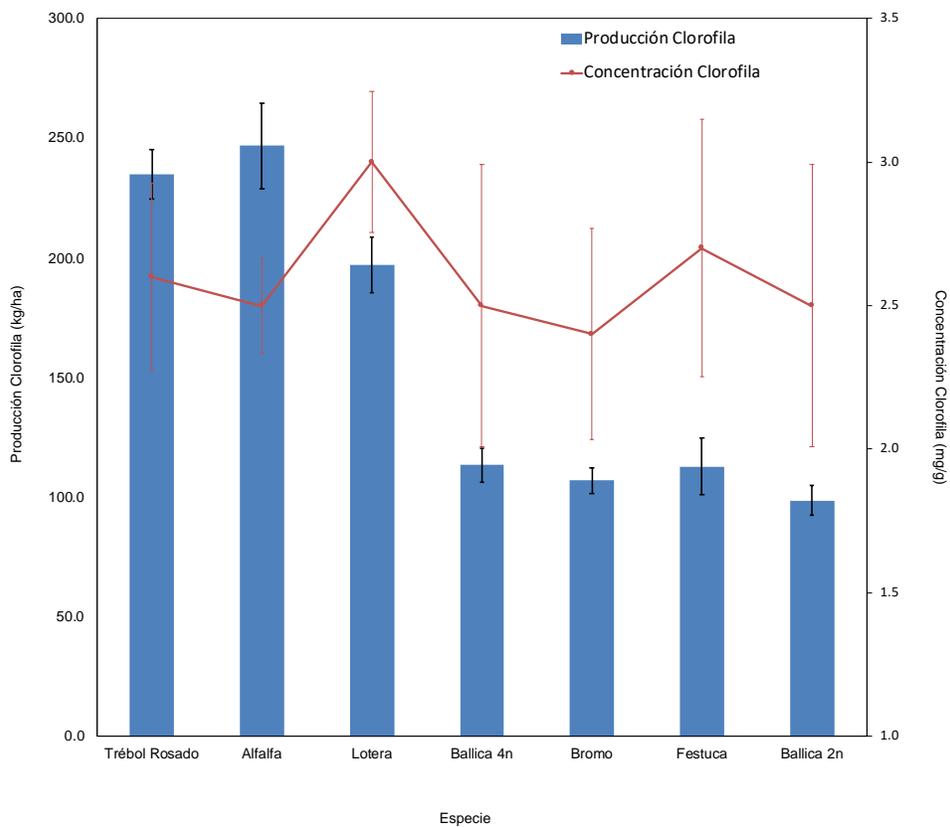
**Tabla 1.7.** Contenido promedio de clorofila total (mg/g) para especies forrajeras en los siete cortes, provenientes de INIA-Quilamapu (tratamiento de secado en estufa a 105°C por 1 hora, y 40°C por 24 horas). Temporada de crecimiento (2018-2019).

CLOROFILA TOTAL (mg/g muestra seca)								
Especie	Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4	Corte 5	Corte 6	Corte 7	Promedio
Alfalfa 7	-	1,6 ± 0,5 <sup>cd</sup>	2,0 ± 0,3 <sup>c</sup>	1,5 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>e</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>c</sup>	2,4 ± 0,2 <sup>e</sup>	2,1 ± 0,4
B. perenne 2n	3,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,2 <sup>d</sup>	2,8 ± 0,3 <sup>ab</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>d</sup>	3,9 ± 0,7 <sup>ab</sup>	1,6 ± 0,1 <sup>d</sup>	3,8 ± 0,5 <sup>ab</sup>	2,5 ± 1,2
B. perenne 4n	3,5 ± 0,4 <sup>a</sup>	1,5 ± 0,2 <sup>cd</sup>	2,8 ± 0,3 <sup>ab</sup>	1,0 ± 0,1 <sup>d</sup>	4,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,5 ± 0,3 <sup>d</sup>	3,1 ± 0,3 <sup>bcd</sup>	2,5 ± 1,2
T. Rosado	-	2,1 ± 0,5 <sup>bc</sup>	1,8 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,8 ± 0,4 <sup>ab</sup>	-	2,3 ± 0,4 <sup>c</sup>	3,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,8
Alfalfa 4	-	2,0 ± 0,7 <sup>bc</sup>	2,5 ± 0,3 <sup>b</sup>	1,7 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,8 ± 0,1 <sup>de</sup>	3,1 ± 0,6 <sup>b</sup>	2,9 ± 0,2 <sup>de</sup>	2,5 ± 0,5
Festuca	3,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,2 <sup>bcd</sup>	3,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,2 <sup>d</sup>	3,6 ± 0,3 <sup>bc</sup>	2,2 ± 0,5 <sup>c</sup>	3,7 ± 0,7 <sup>abc</sup>	2,7 ± 1,1
L. Corniculatus	-	2,2 ± 0,6 <sup>b</sup>	1,9 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	-	3,3 ± 0,2 <sup>b</sup>	3,3 ± 0,6 <sup>abcd</sup>	2,7 ± 0,6
Bromo	3,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,2 <sup>cd</sup>	2,5 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>d</sup>	3,1 ± 0,1 <sup>cd</sup>	2,2 ± 0,3 <sup>c</sup>	3,0 ± 0,1 <sup>cde</sup>	2,4 ± 0,9
L. Tenius	-	3,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,4 <sup>ab</sup>	3,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	-	4,3 ± 0,4 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,5 <sup>abcd</sup>	3,5 ± 0,6
*Espinaca control (8,2 ± 0,2)								

Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre especies de un mismo corte (Fisher LSD, 95% nivel de confianza). \*, Clorofila total espinaca control: 8,2 mg/g muestra seca).

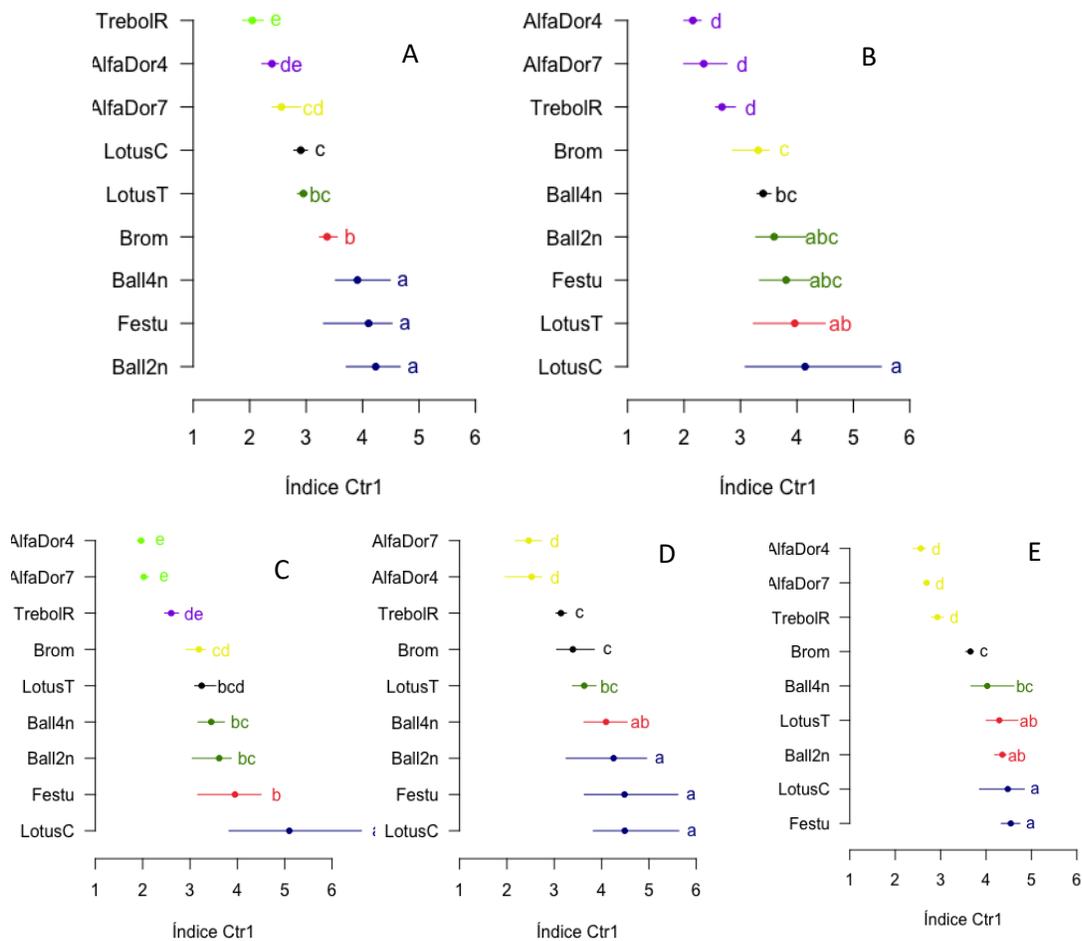


**Figura 1.5.** Producción de clorofila total (Kg/ha) de especies gramíneas y leguminosas durante la primera temporada de crecimiento (2018-2019) en Quilamapu (Chillán).



**Figura 1.6.** Producción y concentración de clorofila total (Kg/ha) de 7 accesiones de especies forrajeras establecidas en Campo Experimental Santa Rosa, INIA Quilamapu. Temporada (2018-2019).

Los cultivares fueron: Ballica diploide (2n) cv. ExpoAR1, Festuca cv. Exella2, Bromo cv. Bronco, Ballica tetraploide (4n) cv. BaseAR1, Alfalfa Dormancia 7 cv. SARDI7, Lotera de hoja ancha (*Lotus corniculatus*) cv. Quimey, Alfalfa Dormancia 4 cv. ACB350, Trébol Rosado cv. Superqueli.



**Figura 1.7.** Contenido de clorofila estimado por el índice espectral Ctr1. Valores menores indican mayor contenido de clorofilas. Barra de error indican diferencia mínima significativa (LSD Fisher, P=0.05). A, B, C, D y E corresponden a los cortes C1, C2, C3, C4 y C5, respectivamente de la temporada (2019-2020).

## 1.2. REGISTRO FOTOGRAFICO DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS



**Figura 1: Preparacion de suelo.**



**Figura 2: Calibracion sembradora manual.**



**Figura 3: Incorporación de la semilla.**



**Figura 4: Incorporación de fertilizante.**



**Figura 5: Paso del rodillo.**



**Figura 6: Control con herbicidas.**



**Figura 7: Evaluacion ensayo INIA Quilamapu.**



**Figura 8: Estabecimiento ensayo INIA Carrillanca.**



**Figura 9: Ensayo INIA Carillanca.**

## **ANEXO 2. Estimación del Contenido de Clorofilas Mediante el Uso de Herramientas de Sensoramiento Remoto**

### **METODOLOGÍA**

Las mediciones del contenido de clorofila por vía química convencional son lentas y de alto costo. Durante la ejecución del proyecto se determinó el contenido de clorofilas de la primera temporada de crecimiento de los experimentos de campo en Chillán y Temuco (Anexo 1). Esto totalizó 324 muestras. La lógica del proyecto fue utilizar esta información para validar técnicas que permitan predecir el contenido de clorofilas en terreno, de forma rápida y bajo costo. Para ello se utilizan técnicas de sensoramiento remoto basadas en mediciones de la reflectancia del dosel de las praderas estudiadas. Las 324 muestras fueron utilizadas para validar índices y modelos predictivos. Aquellos que mostraron la mayor correlación estadística con el contenido de clorofila estimado de forma convencional, fueron utilizados para predecir o estimar el contenido de clorofilas en los experimentos de Pueblo Seco y la segunda temporada de crecimiento del experimento en la localidad Quilamapu, ambos con 5 cortes durante la temporada 2019-2020.

Previo a cada corte de producción de MS se determinó la firma espectral del dosel y se colectó una imagen RGB. Para el registro espectral se usó un espectro-radiómetro modelo Handheld 2 de ASD. El cual mide la reflectancia de la hoja en la sección VIS-NIR del espectro electromagnético (350-1100 nm). Cada espectro consiste en 725 bandas con intervalo de un nanómetro. El equipo determina el campo de visión en función de la distancia del objeto que se desea medir. Se determinó que a una altura de 1.5 m, el equipo tiene un campo de visión de 35 cm. Lo cual es adecuado para este tipo de mediciones. Para maximizar el tiempo de medición, se configuró para coleccionar 5 espectros en cada medición. La firma espectral se utilizó para calcular 30 índices espectrales asociados al contenido de clorofilas (Tabla 2.1). La relación entre cada índice y el contenido de clorofilas se evaluó mediante análisis de correlaciones.

Con la información espectral y la evaluación química del contenido de clorofila en los tejidos, realizado por el laboratorio de Alimentos de INIA-La Platina, se ajustaron modelos predictivos del contenido de clorofila usando estadística no-lineal. Para esto, se evaluó la habilidad predictiva (coeficiente de correlación entre valor observado y predicho) de cuatro modelos estadísticos: Partial least squares (PLS), Random Forest (RF), Support Vector Machines (SVM) y Ridge Regression (RR). La habilidad predictiva de cada modelo se evaluó mediante validación cruzada con el método K-fold ( $k=5$ ,  $rep=10$ ). Todos los análisis se realizaron en el software R usando el paquete caret (<https://www.r-project.org/>). Con estos resultados se elaboró un resumen que fue presentado en el congreso anual de la Sociedad Chilena de Producción Animal (SOCHIPA), de modo de difundir los resultados y alcances del proyecto.

### **RESULTADOS**

#### **Índices espectrales**

Se estimaron 30 índices espectrales asociados al contenido de clorofila de las plantas (Tabla 2.1). Pese a que estos índices ya han sido descritos en la literatura, en este proyecto se realizó

una validación de ellos mediante un análisis de la correlación entre el valor del índice espectral y el contenido real de clorofilas cuantificado en laboratorio. Los índices que mostraron la mayor asociación con el contenido de clorofila fueron Ctr1, SRPI, NPQI, PRI2, NPCI, y LIC2 con valores de  $r$  que fluctuaron entre 0.48 y 0.55 ( $P < 0.01$ ; Figura 2.1). Además, estos seis índices lograron diferenciar significativamente ( $P < 0.05$ ) el contenido de clorofila de las especies evaluadas (Figura 2.2). Los resultados obtenidos a partir del análisis imágenes RGB confirman estos resultados (Figura 2.3).

## **Modelos predictivos**

Para el entrenamiento y validación de los modelos predictivos se utilizaron 148 observaciones ( $n$ ) y 725 variables predictivas ( $p$ , espectro) colectadas en el ensayo establecido en Quilamapu (Chillán). El entrenamiento se realizó con el 70% de las observaciones, el 30% restante se usó para validar el modelo con muestras que no participaron en el entrenamiento.

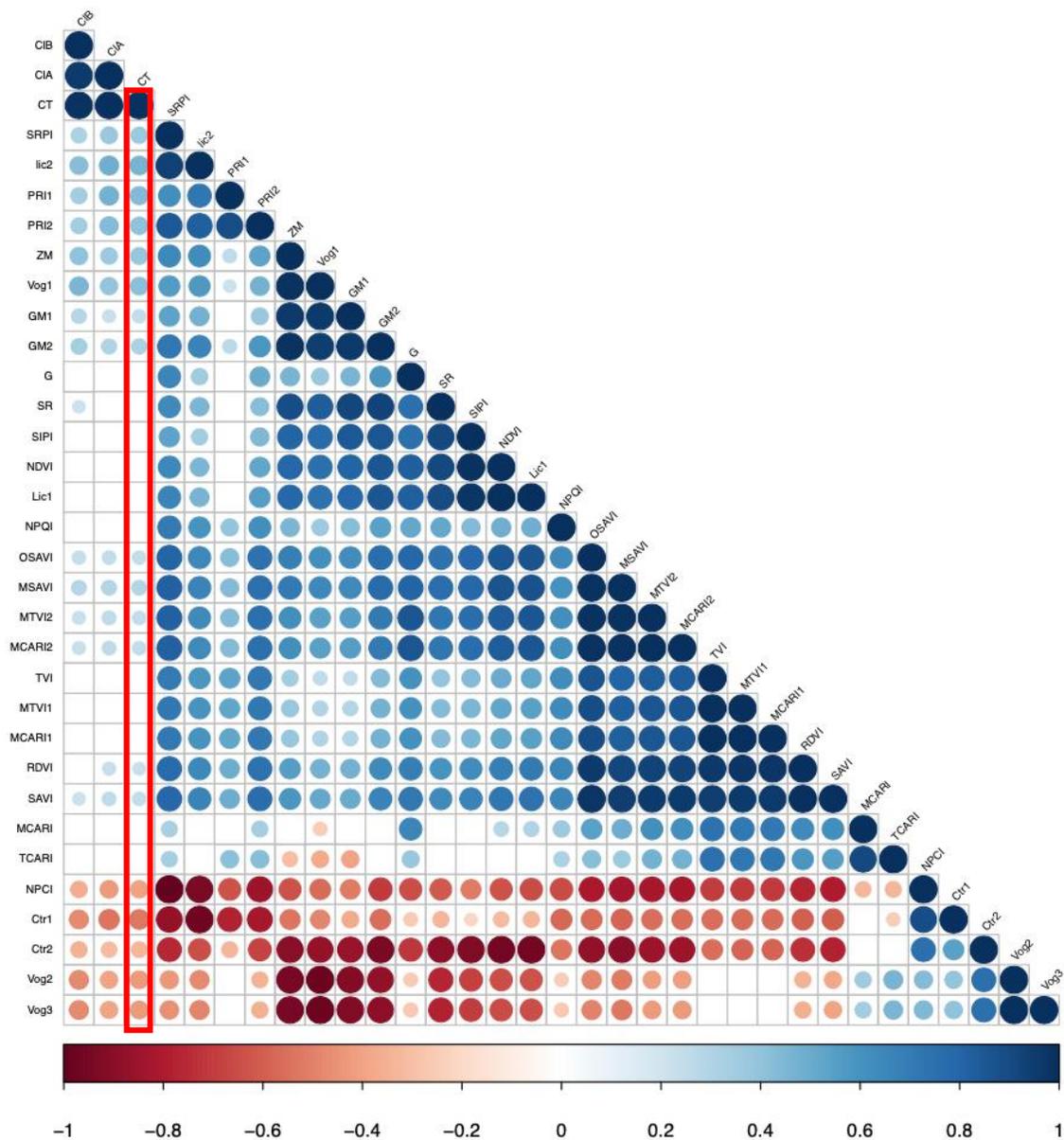
En la etapa de entrenamiento, los modelos que mostraron la mayor habilidad predictiva fueron PLS y RR con valores de  $r=0.80$ . El modelo con la menor habilidad predictiva fue RF (Figura 2.1). En la etapa de validación, los valores de  $r$  fueron 0.82, 0.75, 0.73 y 0.70 para SVM, RR, PLS y RF, respectivamente. Los resultados presentados son de tipo preliminar, se espera que los modelos mejoren su habilidad predictiva al incluir otras localidades y temporadas de crecimiento.

## **CONCLUSIÓN**

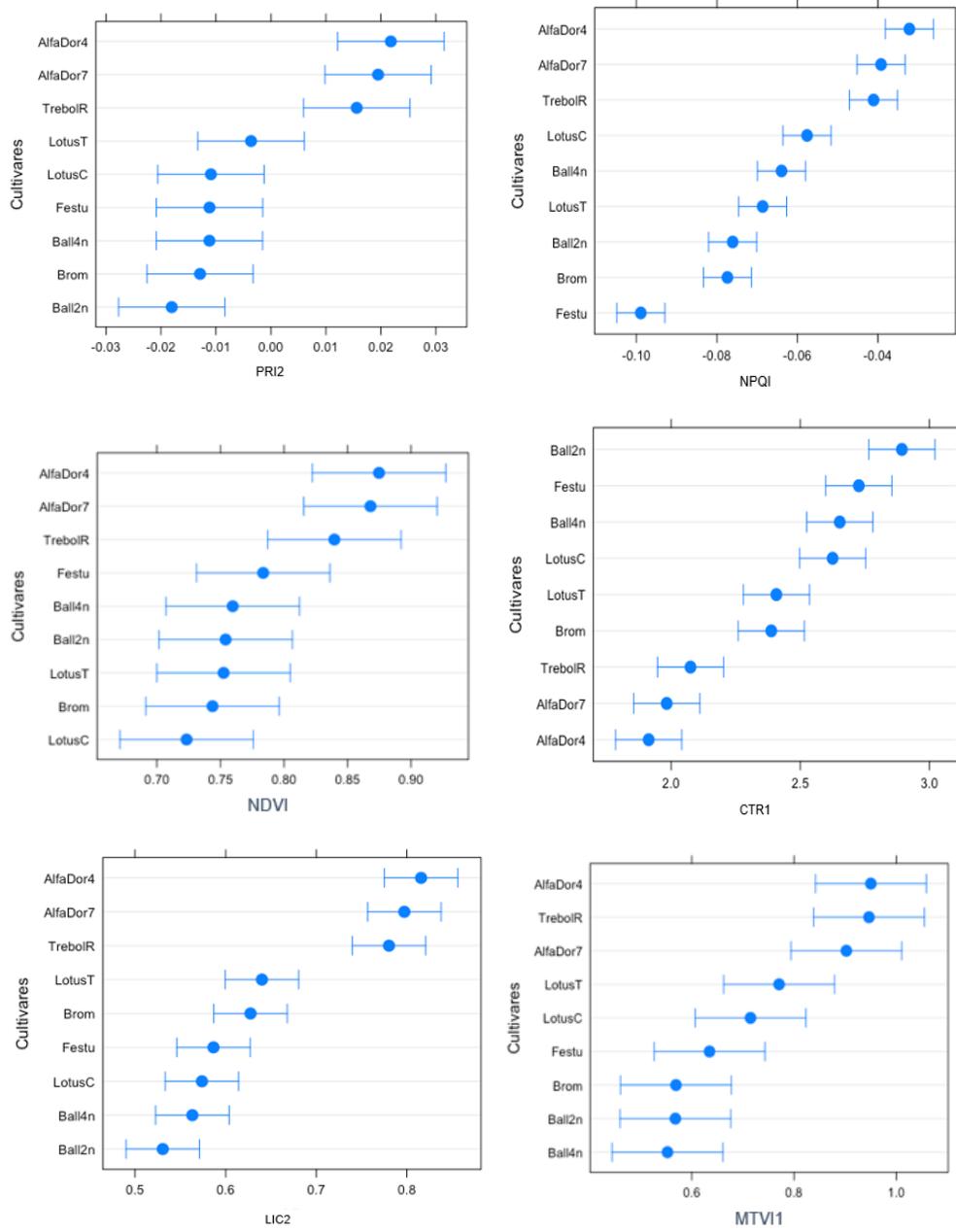
1. Los resultados permiten concluir que el índice Ctr1 presenta una correlación aceptable con el contenido de clorofila de especies forrajeras. Por esta razón, se escogió para estimar el contenido de clorofilas en los experimentos de Pueblo seco (Anexo 3) y segunda temporada de crecimiento en Quilamapu (Chillán).
2. Los modelos predictivos basados en información espectral y estadística no-lineal permiten predecir el contenido de clorofila de praderas permanentes cultivadas bajo condiciones de campo. La metodología es rápida y de bajo costo en comparación a la técnica tradicional (química analítica), siendo útiles como herramienta para la toma de decisiones en el proceso de producción de biomasa para la extracción de colorantes naturales.

**Tabla 2.1.** Índices de vegetación para la estimación bioquímica a partir de imágenes multispectrales e hiperespectrales.

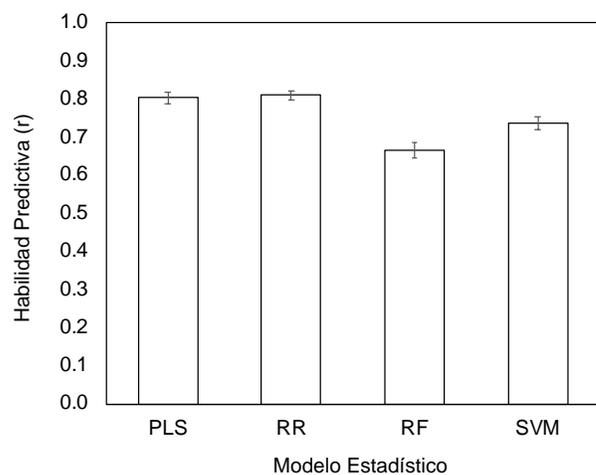
Vegetation Index	Equation	Reference
<b>Structural Indices</b>		
Normalized Difference Vegetation Index (NDVI)	$NDVI = (R_{NIR} - R_{red}) / (R_{NIR} + R_{red})$	Rouse <i>et al.</i> (1974)
Modified Triangular Vegetation Index (MTVI1)	$MTVI1 = 1.2 * [2 * (R_{800} - R_{670}) - 2.5 * (R_{800} - R_{670})]$	Haboudane <i>et al.</i> (2004)
Modified Triangular Vegetation Index (MTVI2)	$MTVI2 = \frac{1.5 * [2 * (R_{800} - R_{670}) - 2.5 * (R_{800} - R_{670})]}{\sqrt{(2 * R_{800} + 1)^2 - (6 * R_{800} - 5 * \sqrt{R_{800}}) - 0.5}}$	Haboudane <i>et al.</i> (2004)
Renormalized Difference Vegetation Index (RDVI)	$RDVI = (R_{800} - R_{670}) / \sqrt{(R_{800} + R_{670})}$	Rougean and Breon, (1995)
Simple Ratio Index (SR)	$SR = R_{NIR} / R_{red}$	Jordan (1969); Rouse <i>et al.</i> (1974)
Modified Chlorophyll Absorption in Reflectance Index (MCARI)	$MCARI1 = 1.2 * [2.5 * (R_{800} - R_{670}) - 1.3 * (R_{800} - R_{670})]$	Haboudane <i>et al.</i> (2004)
Modified Chlorophyll Absorption in Reflectance Index (MCARI)	$MCARI2 = \frac{1.5 * [2.5 * (R_{800} - R_{670}) - 1.3 * (R_{800} - R_{670})]}{\sqrt{(2 * R_{800} + 1)^2 - (6 * R_{800} - 5 * \sqrt{R_{800}}) - 0.5}}$	Haboudane <i>et al.</i> (2004)
Soil Adjusted Vegetation Index (SAVI)	$SAVI = (1 + L) * (R_{800} - R_{670}) / (R_{800} + R_{670} + L)$ [ L ∈ (0,1) ]	Huete (1988) Qi <i>et al.</i> (1994)
Improved SAVI with self-adjustment factor L (MSAVI)	$MSAVI = \frac{1}{2} [2 * R_{800} + 1 - \sqrt{(2 * R_{800} + 1)^2 - 8 * (R_{800} - R_{670})}]$	Qi <i>et al.</i> (1994)
Optimized Soil-Adjusted Vegetation Index (OSAVI)	$OSAVI = (1 + 0.16) * (R_{800} - R_{670}) / (R_{800} + R_{670} + 0.16)$	Rondeaux <i>et al.</i> (1996)
<b>Chlorophyll Indices</b>		
Greenness Index (G)	$G = (R_{554}) / (R_{677})$	-
Modified Chlorophyll Absorption in Reflectance Index (MCARI)	$MCARI = [(R_{700} - R_{670}) - 0.2 * (R_{700} - R_{550})] * (R_{700} / R_{670})$	Daughtry <i>et al.</i> (2000)
Transformed CARI (TCARI)	$TCARI = 3 * [(R_{700} - R_{670}) - 0.2 * (R_{700} - R_{550})] * (R_{700} / R_{670})$	Haboudane <i>et al.</i> (2002)
Triangular Vegetation Index (TVI)	$TVI = 0.5 * [120 * (R_{700} - R_{670}) - 200 * (R_{670} - R_{550})]$	Broge and Leblanc (2000)
Zarco-Tejada & Miller	$ZM = (R_{750}) / (R_{710})$	Zarco-Tejada <i>et al.</i> (2001)
Simple R. Pigment Ind. (SRPI)	$SRPI = (R_{430}) / (R_{680})$	Peñuelas <i>et al.</i> (1995)
Normalized Phaeophytinization Index (NPQI)	$NPQI = (R_{415} - R_{435}) / (R_{415} + R_{435})$	Barnes <i>et al.</i> (1992)
Photochemical Reflectance Index (PRI)	$PRI1 = (R_{528} - R_{567}) / (R_{528} + R_{567})$ $PRI2 = (R_{531} - R_{570}) / (R_{531} + R_{570})$	Gamon <i>et al.</i> (1992)
Normalized Pigment Chlorophyll Index (NPCI)	$NPCI = (R_{680} - R_{430}) / (R_{680} + R_{430})$	Peñuelas <i>et al.</i> (1994)
Carter Indices	$Ctr1 = (R_{695}) / (R_{420})$ $Ctr2 = (R_{695}) / (R_{760})$	Carter (1994) Carter <i>et al.</i> (1996)
Lichtenthaler indices	$Lic1 = (R_{800} - R_{680}) / (R_{800} + R_{680})$ $Lic2 = (R_{440}) / (R_{690})$	Lichtenthaler <i>et al.</i> (1996)
Structure Intensive Pigment Index (SIPI)	$SIPI = (R_{800} - R_{450}) / (R_{800} + R_{650})$	Peñuelas <i>et al.</i> (1995)
Vogelmann indices	$Vog1 = (R_{740}) / (R_{720})$ $Vog2 = (R_{734} - R_{747}) / (R_{715} + R_{726})$ $Vog3 = (R_{734} - R_{747}) / (R_{715} + R_{720})$	Vogelmann <i>et al.</i> (1993); Zarco-Tejada <i>et al.</i> (1999)
Gitelson and Merzlyak	$GMI = R_{750} / R_{550}$ $GM2 = R_{750} / R_{700}$	Gitelson & Merzlyak (1997)



**Figura 2.1.** Coeficientes de correlación entre el contenido de clorofila de especies forrajeras y 30 índices espectrales. Análisis realizado con 252 muestras del experimento de la localidad Quilamapu. CIA, Cib y CT corresponden a clorofila a, clorofila b y clorofila total, respectivamente.



**Figura 2.2.** Índices espectrales calculados para nueve especies forrajeras. Barra indica valor de diferencia mínima significativa (LSD).



**Figura 2.3.** Habilidad predictiva (coeficiente de correlación entre valores observados y predichos) de cuatro modelos no-lineales utilizados para predecir el contenido de clorofilas de especies forrajeras perennes cultivadas en Chillán. Barras indican error estándar.

## 2.1. REGISTRO FOTOGRAFICO DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS



Figura 1: Indice de vegetacion.

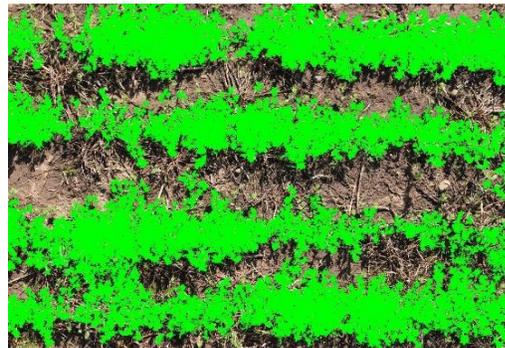


Figura 2: Determinacion porcentaje de cobertura.



Figura 3: Toma de espectros.



Figura 4: Medicion de reflectancia estrategias de corte.

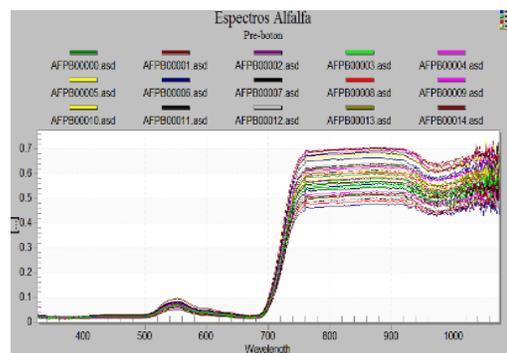


Figura 5: : Curvas de reflectancia ensayo Pueblo Seco, alfalfa en prebotón.

### ANEXO 3. Identificación de cultivares de Alfalfa y Trébol rosado con mayor producción de biomasa y clorofila por unidad de superficie y efecto de la estrategia de corte.

#### METODOLOGÍA

Para seleccionar el cultivar con mayor producción de clorofilas por unidad de superficie, se establecieron cultivares de las dos especies más productivas en términos de su producción de biomasa y clorofilas (RE1). Las especies fueron alfalfa y trébol rosado. Los ensayos se establecieron en la Comuna de San Ignacio, sector Pueblo seco de la Región de Ñuble. En predio perteneciente al Agricultor Fernando Muñoz, quien es el presidente del GTT praderas de la Precordillera de Ñuble, coordinado por INIA.

Se sembraron dos ensayos, el primero consideró 9 cultivares de alfalfa (dormancia 4, 6, 7, 8.5 y 9) y el segundo incluyó 4 cultivares de trébol rosado (Figura 3.1 y 3.2). Las forrajeras se establecieron en parcelas de 2x6m y se organizaron en un diseño experimental de bloques completos al azar con 4 repeticiones. En ambos ensayos, se preparó el suelo mediante las siguientes labores: barbecho químico con aplicación de Paraquat (1,5L/ha), aradura con discos y rastraje y mullido con rubín e incorporación de cal. Siendo el cultivo antecesor un cereal (trigo). La siembra se efectuó el 15/05/2019. Las especies, cultivares y dosis de semilla se indican en Tabla 3.1 y 3.2. Las semillas fueron provistas de forma gratuita por las empresas Baldrich, Anasac y SG2000. A quienes se les informó acerca de los alcances y proyecciones del proyecto FIA-Clorofilas. Todos los representantes de las empresas mostraron entusiasmo y expectativas con los resultados.

Las semillas se sembraron en hileras distanciadas a 20 cm. Las hileras fueron marcadas con un rayador y la semilla fue distribuida con una sembradora de hilera individual. Previo a la siembra se aplicaron los fertilizantes y dosis descritas en Tabla 3.3 y 3.4. Se incorporaron en la hilera de siembra y al voleo. Finalmente, el suelo fue compactado con rodillo. A partir de la segunda quincena de octubre del 2019, se dio inició a la temporada de crecimiento y con ello la evaluación de la producción de biomasa y clorofilas por unidad de superficie.

El experimento fue manejado con riego eventual. Se aplicaron 2 a 3 riegos durante cada temporada de crecimiento. Los riegos fueron aplicados mediante aspersion. En cada riego se aplicaron cerca de 50 mm.

#### Diseño experimental

En ambos ensayos se utilizó el mismo diseño experimental, el que consistió en bloques completos al azar con 4 repeticiones (Figura 3.1). El tamaño de cada parcela es de 2x6 m con un surco muerto de 0,2 m.

301	302	303	304	305	306	307	308	309	401	402	403	404	405	406	407	408	409
WL	Baralfa	L70	Super	650	Sardi	WL	350	450	450	Baralfa	650	L70	Super	WL	WL	350	Sardi
903	x42		Lechera	ACB	Grazer	458	ACB	ACB	ACB	x42	ACB		Lechera	903	458	ACB	Grazer

101	102	103	104	105	106	107	108	109	201	202	203	204	205	206	207	208	209
WL	Super	650	Baralfa	WL 903	450	Sardi	350	L70	450	650	WL	Sardi	Baralfa	L70	Super	WL	350
458	Lechera	ACB	x42		ACB	Grazer	ACB		ACB	ACB	903	Grazer	x42		Lechera	458	ACB

**Figura 3.1.** Diseño experimental ensayo Pueblo Seco (Alfalfa).

101 Super queli	102 Syn II PRE III	103 Red queli	104 Syn II INT IV	201 Super queli	202 Syn II INT IV	203 Syn II PRE III	204 Red queli	301 Syn II PRE III	302 Syn II INT IV	303 Red queli	304 Super queli	401 Syn II PRE III	402 Red queli	403 Syn II INT IV	404 Super queli
-----------------------	--------------------------	---------------------	-------------------------	-----------------------	-------------------------	--------------------------	---------------------	--------------------------	-------------------------	---------------------	-----------------------	--------------------------	---------------------	-------------------------	-----------------------

**Figura 3.2.** Diseño experimental ensayo Pueblo Seco (Trébol Rosado).

**Tabla 3.1.** Cultivares y dosis de semillas utilizadas para el establecimiento de forrajeras perennes en la localidad de Pueblo Seco (Alfalfa).

Especies	Cultivar	Dosis (kg/ha)	gr/parcela
Alfalfa dorm6	WL 458	25	24
Alfalfa dorm9	WL 903	25	24
Alfalfa dorm4	Baralfa x42	25	24
Alfalfa dorm6	Sardi Grazer	25	24
Alfalfa dorm7	L70	25	24
Alfalfa dorm8.5	Super Lechera	25	24
Alfalfa dorm9	650 ACB	25	24
Alfalfa dorm4	350 ACB	25	24
Alfalfa dorm6	450 ACB	25	24

**Tabla 3.2.** Cultivares y dosis de semillas utilizadas para el establecimiento de forrajeras perennes en la localidad de Pueblo Seco (Trébol rosado).

Especies	Cultivar	Dosis (kg/ha)	gr/parcela
Trébol Rosado	Superqueli	15	14
Trébol Rosado	Redqueli	15	14
Trébol Rosado	Syn II PRE III	15	14
Trébol Rosado	Syn II INT IV	15	14

**Tabla 3.3.** Dosis de fertilizantes utilizados en el establecimiento de especies forrajeras perennes en la localidad de Pueblo Seco (Alfalfa).

<b>Fertilizante</b>	<b>Dosis (kg/ha)</b>
Salitre sódico	190
SFT	540
Sulpomag	440
borax	20

**Tabla 3.4.** Dosis de fertilizantes utilizados en el establecimiento de especies forrajeras perennes en la localidad de Pueblo Seco (Trébol rosado).

<b>Fertilizante</b>	<b>Dosis (kg/ha)</b>
Salitre sodico	190
SFT	430
Sulpomag	380
borax	20

## **EVALUACIONES**

### **Producción de Biomasa o Materia Seca (MS)**

La producción de MS se evaluó mediante corte con barra segadora. En el campo se determinó el peso fresco de la parcela y de una sub-muestra de 500 g que fue llevada a laboratorio para determinar el contenido de materia seca. Las sub-muestras fueron secadas en horno con ventilación forzada a 105°C por una hora y luego a 40°C, hasta alcanzar peso constante. La producción de MS se expresó en kg de MS/ha. La producción de MS se evaluó durante dos temporadas de crecimiento (2019/2020 y 2020/2021). En alfalfa y trébol rosado se realizaron 5 y 3 cortes por temporada de crecimiento, respectivamente.

### **Estrategia de corte**

Se evaluó el efecto de dos frecuencias de corte mediante el uso de dos criterios basados en el estado de desarrollo de las plantas. Los tratamientos de corte fueron Pre-Botón y 10% flor (criterio recomendado). Para esta evaluación, se dividió cada parcela de 6 m de largo en sub-

parcelas de 3 m. Una sección fue cortada cuando las plantas alcanzaron el estado de prebotón y la otra en estados de 10% flor. La evaluación de la producción de MS se determinó como se describió en sección anterior.

### **Evaluación del contenido de clorofilas**

El contenido de clorofilas se evaluó mediante espectroscopia-NIR. Previo a cada corte de evaluación de la producción de MS se registró la firma espectral de cada parcela con un radiómetro modelo Handheld 2 de ASD (<https://www.malvernpanalytical.com/en>). El cual mide la reflectancia del dosel en la sección VIS-NIR del espectro electromagnético (350-1100 nm). Con la información colectada se estimaron 30 índices espectrales asociados al contenido de clorofila de las plantas (Anexo 2). Se determinó que el índice espectral que mostró la mayor correlación con el contenido de clorofilas fue el Ctr1 (Anexo 2). Por lo tanto, en este experimento, sólo se estimó el contenido de clorofilas mediante este índice.

### **Análisis estadísticos**

Todas las variables evaluadas fueron analizadas mediante análisis de varianza (ANDEVA). Las medias fueron comparadas mediante la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) con un umbral de confianza del 95%.

## RESULTADOS

### Producción de Biomasa (Materia Seca)

En especies forrajeras perennes, las temporadas de crecimiento se inician en primavera y finalizan en otoño. La primera temporada de crecimiento se extendió desde la siembra (mayo 2019) al último corte realizado en el otoño del 2020 (mayo 2020). Durante la primera temporada, se evaluaron 5 y 3 cortes de producción de MS en alfalfa y trébol rosado, respectivamente. Alfalfa y trébol rosado produjeron en promedio 20.0 y 18.0 ton MS/ha, respectivamente (Figura 3.2). En alfalfa los cultivares más productivos fueron 350 ACB, 450 ACB, 650 ACB y súper lechera (Figura 3.3 y Tabla 3.5). Mientras que en trébol rosado el cultivar más productivo fue Syn II PRE III (Figura 3.4 y Tabla 3.7).

La segunda temporada de crecimiento se extendió desde octubre del 2020 hasta abril del 2021. Alfalfa y trébol rosado alcanzaron una productividad anual de 24.9 y 8.6 kg/ha de MS, respectivamente (Figura 3.2). La producción de biomasa de alfalfa de la segunda temporada fue mayor por un 20% a lo obtenida en la primera temporada. Por el contrario, trébol rosado redujo en 45% su productividad anual, relativo a la primera temporada (Figura 3.2). Durante la segunda temporada, no se observó diferencias estadísticas en productividad anual entre los cultivares de alfalfa. En cambio, en trébol rosado, las accesiones Syn II superaron significativamente la producción anual de biomasa de los cultivares Redqueli y Superqueli.

### Contenido de clorofilas

Durante la primera temporada de crecimiento, se observó diferencias significativas en el contenido de clorofilas, estimado por el índice espectral Ctr1, sólo en los cortes 1 (noviembre) y 2 (diciembre). En este periodo (primavera), es cuando las plantas expresan su mayor potencial de crecimiento. El resto de los cortes no mostraron diferencias significativas (Figura 3.6). Estos resultados coinciden con lo reportado en Anexo 1, donde se informó la variación anual en el contenido de clorofila de especies forrajeras. Sin embargo, al promediar el contenido de clorofila de todos los cultivares a lo largo de un ciclo de crecimiento, se observa que el contenido de clorofilas es similar. En los cortes donde se observó diferencias significativas, el cultivar 350 ACB mostró los menores valores de índice Ctr1, lo que indica alto contenido de clorofilas (Figura 3.6). El contenido de clorofila de trébol rosado no mostró diferencias significativas entre cultivares ( $P>0.05$ ), estimado por el índice espectral Ctr1 (Figura 3.7).

En la segunda temporada de crecimiento, el contenido de clorofila se comportó de forma similar a lo observado en la primera temporada. En alfalfa, el contenido de clorofilas, estimado con el índice CTR1, varió a lo largo de la temporada de crecimiento (Figura 3.8). Se efectuaron mediciones en primavera, verano y otoño. Al promediar los valores del índice Ctr1 a lo largo de la temporada de crecimiento, se observaron diferencias significativas entre cultivares (Figura 3.9). Los cultivares Baralfax42, ACB350 y ACB450, mostraron los menores valores de Ctr1, lo que indica que presentaron los mayores valores de contenido de clorofila. En trébol rosado, no se observó diferencias significativas ( $P>0.05$ ) en el contenido de clorofilas. Todos los cultivares mostraron un valor de Ctr1 cercano a 3 (Figura 3.10).

## Efecto de la estrategia de corte sobre la producción de clorofilas

La estrategia de corte en la primera temporada tuvo efecto principalmente sobre la producción de biomasa. En Alfalfa, la estrategia de corte Pre-Botón (Tabla 3.10) redujo la producción de biomasa en un 11% pero no afectó el contenido de clorofilas (Figura 3.6) relativo al corte en 10% flor (Tabla 3.11). Por otro lado, en trébol rosado se observó que la estrategia de corte pre-botón (Tabla 3.12) redujo la producción de biomasa en un 8% pero incrementó el contenido de clorofilas en un 17% (Figura 3.7), relativo a la estrategia 10% flor (Tabla 3.13). Tanto en pre-botón como en 10% flor, no se observó diferencias significativas entre cultivares para el contenido de clorofilas estimados por el índice espectral Ctr1 (Tablas 3.14 y 3.15).

En la segunda temporada de crecimiento sólo se evaluó la estrategia de corte en alfalfa (3.11), dado que trébol rosado mostró una fuerte caída en su producción anual. Además, las parcelas mostraron alta heterogeneidad debido a la mortalidad de plantas que es común en la especie a partir de la segunda temporada.

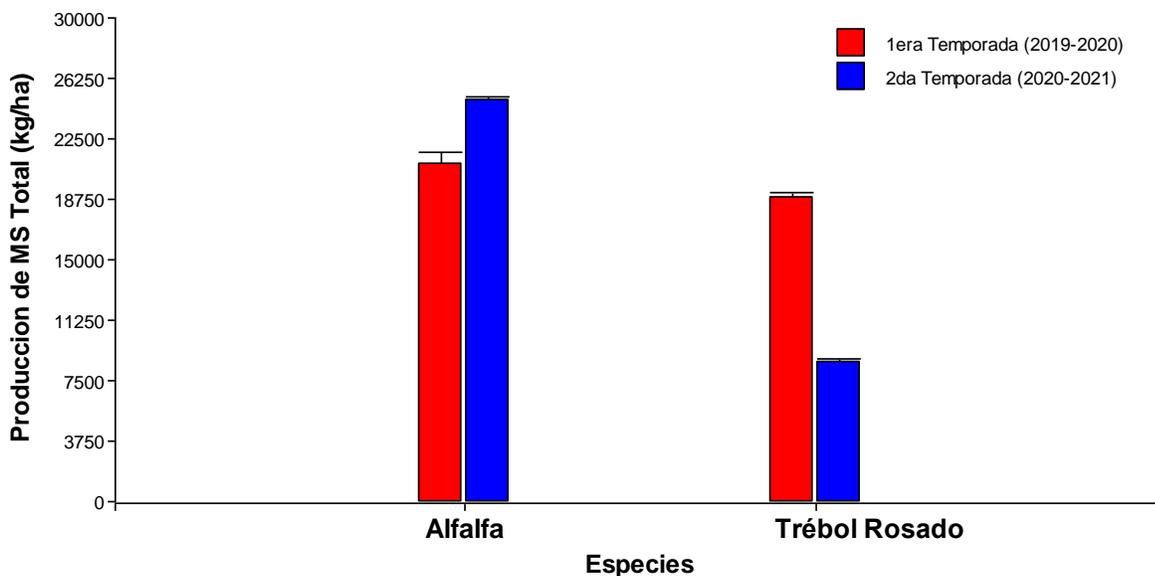
En alfalfa, los tratamientos de corte (10% flor y pre-botón) se aplicaron en la segunda, tercera y quinta cosecha o corte de biomasa (Tablas 3.16 y 3.17). Al igual que en la primera temporada, el corte en estado Pre-Botón (Tabla 3.16) redujo la producción de biomasa en un 22% relativo al corte en 10% flor (Tabla 3.17). Por otro lado, el corte en pre-botón redujo significativamente el contenido de clorofila a lo largo de la temporada de crecimiento (Figura 3.8). En promedio, el valor del índice Ctr1 se redujo un 7% en corte pre-botón relativo al corte en estado de 10% flor.

## CONCLUSIÓN

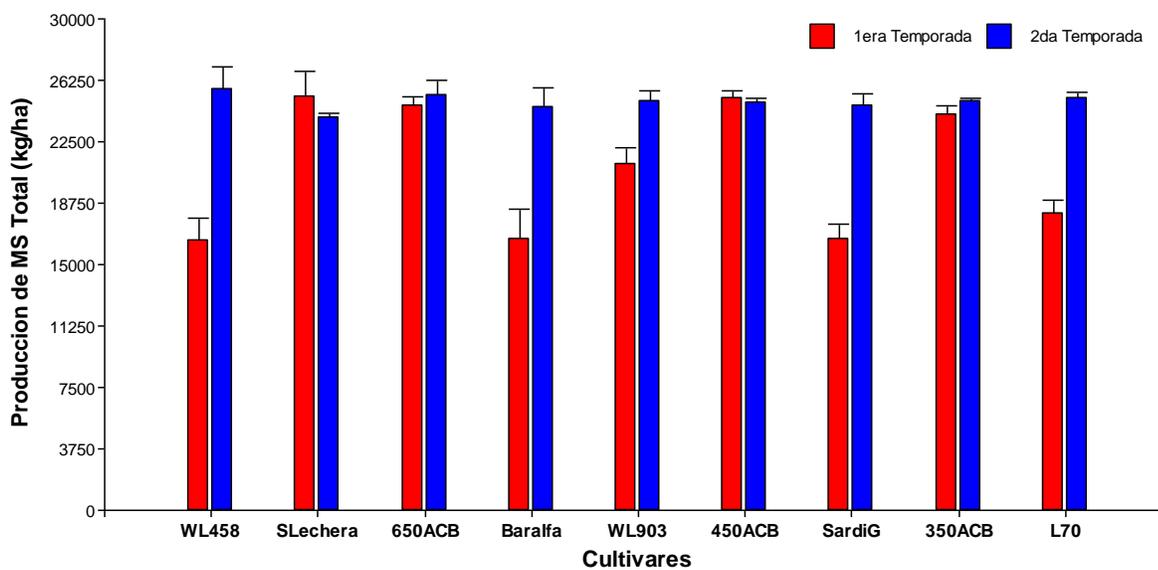
Los resultados obtenidos permiten concluir lo siguiente:

1. La producción de biomasa de alfalfa y trébol rosado es similar durante la primera temporada de crecimiento. Sin embargo, a partir de la segunda temporada de crecimiento la productividad de alfalfa duplica a la de trébol rosado. Esto debido a la baja persistencia de trébol rosado a partir de la segunda temporada. En la localidad estudiada (Pueblo seco, pre-cordillera de Ñuble), alfalfa podría lograr un alto nivel productivo por al menos 3 temporadas de crecimiento.
2. En alfalfa, cultivares de distinto origen y grado de dormancia invernal, muestran diferencias en productividad de biomasa sólo en la primera temporada de crecimiento. Luego, todos los cultivares alcanzan un alto nivel de productividad de biomasa, cercano a las 25 ton MS/ha/año.
3. En trébol rosado, accesiones Synll mostraron un mayor nivel de producción de biomasa que los cultivares Redqueli y Superqueli. El mayor nivel de productividad se asocia probablemente a su mayor persistencia.
4. El contenido de clorofila de alfalfa y trébol rosado es variable a lo largo de una temporada de crecimiento. En primavera y otoño se observan las mayores concentraciones de clorofila en los tejidos (estimado con índice espectral Ctr1).
5. Dependiendo de la época del año es posible observar diferencias estadísticas entre cultivares de alfalfa y trébol rosado en el contenido de clorofilas. Pero estas resultan poco relevantes en la determinación de la producción de clorofilas por unidad de superficie.

6. La estrategia de corte afectó la producción de biomasa de alfalfa y trébol rosado. En general, el corte en pre-botón redujo entre un 10 a 20% la productividad de las especies estudiadas, relativo al corte en 10% flor.
7. La estrategia de corte afectó el contenido de clorofila en la biomasa de especies forrajeras. El corte en pre-botón incrementó el contenido de clorofilas entre un 7 a 10%, relativo al corte en 10% flor.



**Figura 3.2.** Producción de biomasa de alfalfa y trébol rosado primera y segunda temporada de crecimiento en experimento establecido en localidad Pueblo Seco. Los valores corresponden a la media de 9 y 4 cultivares de alfalfa y trébol rosado, respectivamente. Barras de error indican valor de error estándar de la media.



**Figura 3.3.** Producción de biomasa total en alfalfa primera y segunda temporada de crecimiento en la localidad de Pueblo Seco. Barras de error indican valor de error estándar de la media.

**Tabla 3.5.** Producción de biomasa (kg de materia seca/ha) por corte (C1 a C5) y total anual (temporada 2019-20) de cultivares de alfalfa establecidos en Pueblo seco.

Cultivar	C1 (11-11-2019)		C2 (16-12-2019)		C3 (28-01-2020)		C4 (05-03-2020)		C5 (05-05-2020)		Total Temporada 2019-2020	
	Media	Letra	Media	Letra								
Baralfa x42	1186.3	Ab	3986.8	Ab	5220.3	a	4036.8	a	2081.1	a	16511.4	a
350 ACB	4522.9	D	6226.5	C	5807.0	a	4825.6	bc	2802.3	c	24184.3	c
WL 458	1072.6	A	2997.6	A	5295.1	a	4706.3	b	2413.3	b	16484.9	a
450 ACB	5803.3	E	6242.2	C	5798.2	a	4612.1	b	2727.8	c	25183.6	c
Sardi Grazer	1110.3	Ab	3255.1	A	5401.0	a	4573.2	b	2255.4	ab	16595.0	a
L70	1631.1	B	3899.8	Ab	5304.9	a	4851.4	bc	2403.9	b	18091.1	a
S. Lechera	4434.6	D	6523.9	C	6036.6	a	5463.3	d	2823.7	c	25282.1	c
650 ACB	4972.3	D	6093.4	C	5877.3	a	4840.9	bc	2911.0	c	24694.9	c
WL 903	2359.0	C	4661.3	B	5840.4	a	5229.6	cd	3009.3	c	21099.6	b
	***		***		Ns		***		***		***	
	549.4		1214.3		1006.9		475.2		285.4		2303.1	

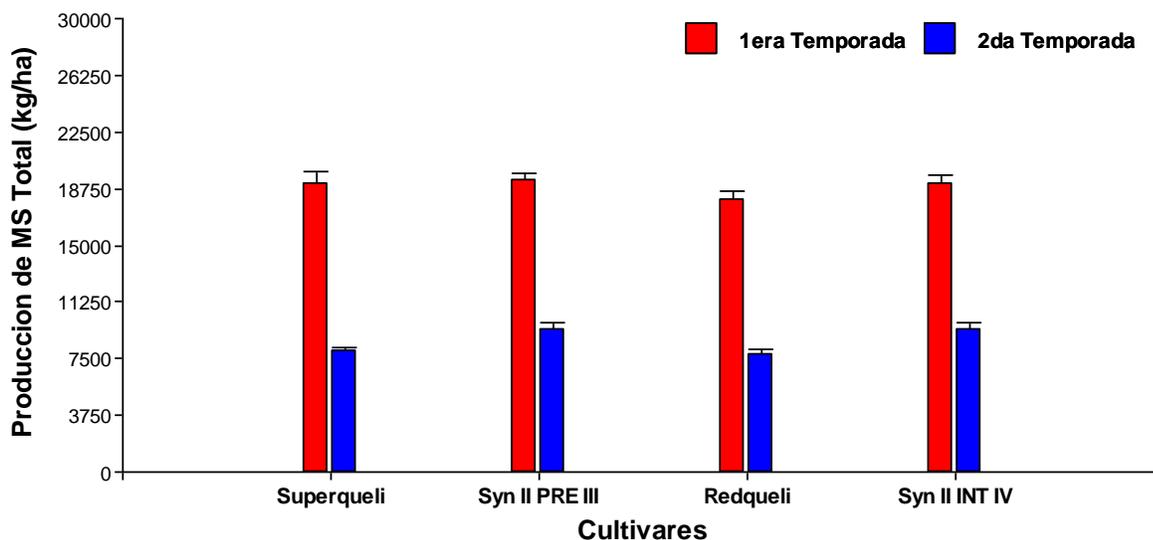
Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares según prueba LSD.

**Tabla 3.6.** Producción de biomasa (kg de materia seca/ha) por corte (C1 a C5) y total anual (temporada 2020-21) de cultivares de alfalfa establecidos en Pueblo seco.

Cultivar	C1 (14-10-2020)		C2 (01-12-2020)		C3 (05-01-2021)		C4 (11-02-2021)		C5 (26-03-2021)		Total Temporada 2020-2021	
	Media	Letra	Media	Letra								
Baralfa x42	4984.7	Bc	6155.7	A	6372.3	ab	3932.4	a	3158.2	a	24603.2	a
350 ACB	4822.2	Abc	5711.0	A	6923.6	ab	4308.5	ab	3193.3	a	24958.5	a
WL 458	5066.9	Bc	6279.3	A	6244.9	ab	4639.9	ab	3476.3	ab	25707.3	a
450 ACB	5079.2	C	5670.7	A	6502.9	ab	4208.5	ab	3389.9	ab	24851.1	a
Sardi Grazer	4470.5	A	5886.0	A	6217.0	ab	4550.7	ab	3584.6	ab	24708.8	a
L70	4674.5	Ab	6462.4	A	5866.8	a	4432.9	ab	3677.4	ab	25114.1	a
S. Lechera	4444.5	A	5686.6	A	5987.1	a	4359.3	ab	3490.3	ab	23967.8	a
650 ACB	4703.7	Abc	5987.6	A	5924.3	a	4837.5	b	3861.1	b	25314.1	a

WL 903	4800.0	Abc	5631.9	A	5862.0	a	4737.0	b	3940.1	b	24971.0	a
	*		0.05		0.05		0.05		0.05		0.05	
	401.3		868.1		713.7		737.6		650.2		2109.0	

Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares según prueba LSD.



**Figura 3.4.** Producción de biomasa total en trébol rosado primera y segunda temporada de crecimiento en la localidad de Pueblo Seco. Barras de error indican valor de error estándar de la media.

**Tabla 3.7.** Producción de biomasa (kg de materia seca/ha) por corte (C1 a 3) y total anual (temporada 2019-20) de cultivares de trébol rosado establecidos en Pueblo seco.

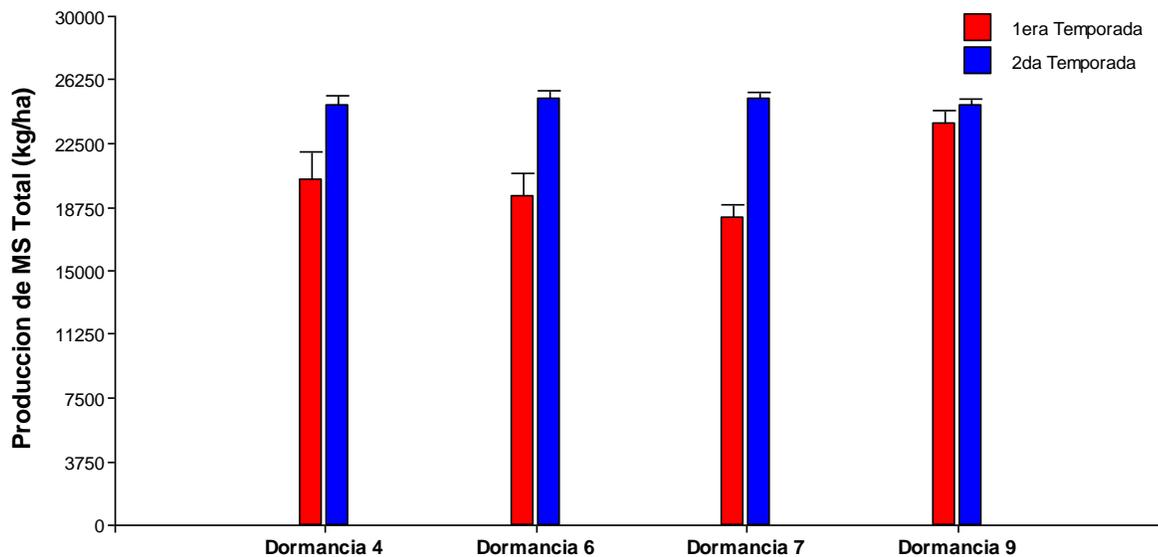
Cultivar	C1 (11-11-2019)		C2 (07-01-2020)		C3 (10-03-2020)		Total Temporada 2019-2020	
	kg/ha	Sign.	kg/ha	Sign.	kg/ha	Sign.	kg/ha	Sign.
Redqueli	6487.3	B	7640.7	a	3877.8	a	18005.8	a
Superqueli	6611.1	B	7842.1	a	4634.1	b	19087.4	ab
Syn II INT IV	6300.5	Ab	7805.4	a	4911.9	b	19017.8	ab
Syn II PRE III	5884.1	A	8704.8	a	4762.9	b	19351.7	b
Sign.	*		Ns		*		*	
LSD	455.1		1136.6		652.8		1339.8	

Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares según prueba LSD.

**Tabla 3.8.** Producción de biomasa (kg de materia seca/ha) por corte (C1 a 3) y total anual (temporada 2020-21) de cultivares de trébol rosado establecidos en Pueblo seco.

Cultivar	C1 (15-10-2020)		C2 (15-12-2020)		C3 (12-02-2021)		Total Temporada 2020-2021	
	kg/ha	Letras	kg/ha	Letras	kg/ha	Letras	kg/ha	Letras
Redqueli	1761.55	A	4595.28	a	1427.79	a	7784.6	a
Superqueli	2015.81	Ab	4293.74	a	1651.05	ab	7960.6	a
Syn II INT IV	2454.18	B	4603.30	a	2350.60	bc	9408.1	b
Syn II PRE III	2665.23	B	4153.00	a	2535.75	c	9354.0	b
Sign.	0.05		0.05		0.05		0.05	
LSD	661.18		734.92		818.45		1345.3	

Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares según prueba LSD.

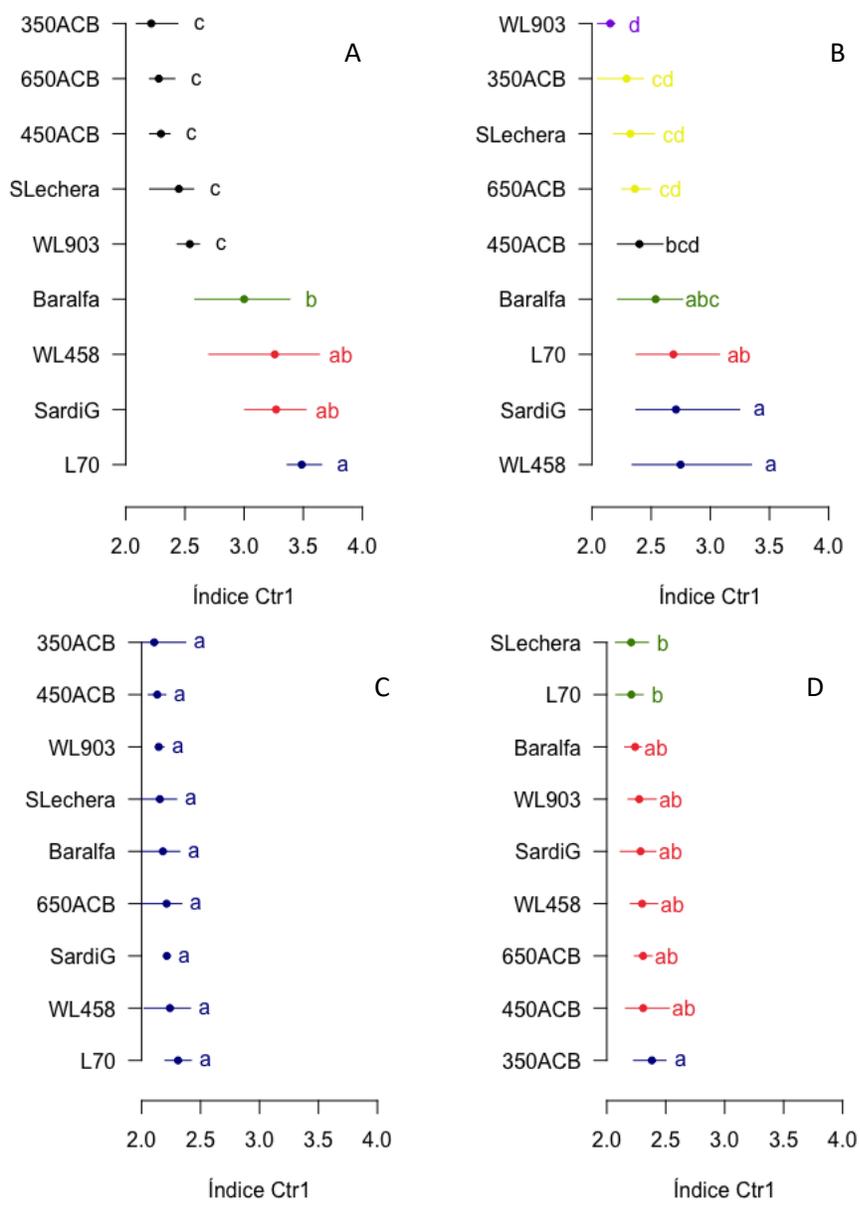


**Figura 3.5.** Producción de biomasa total en alfalfa con sus diferentes dormancias, primera y segunda temporada de crecimiento en la localidad de Pueblo Seco. Los valores corresponden a las dormancias de 9 cultivares de alfalfa, respectivamente. Barras de error indican valor de error estándar de la media.

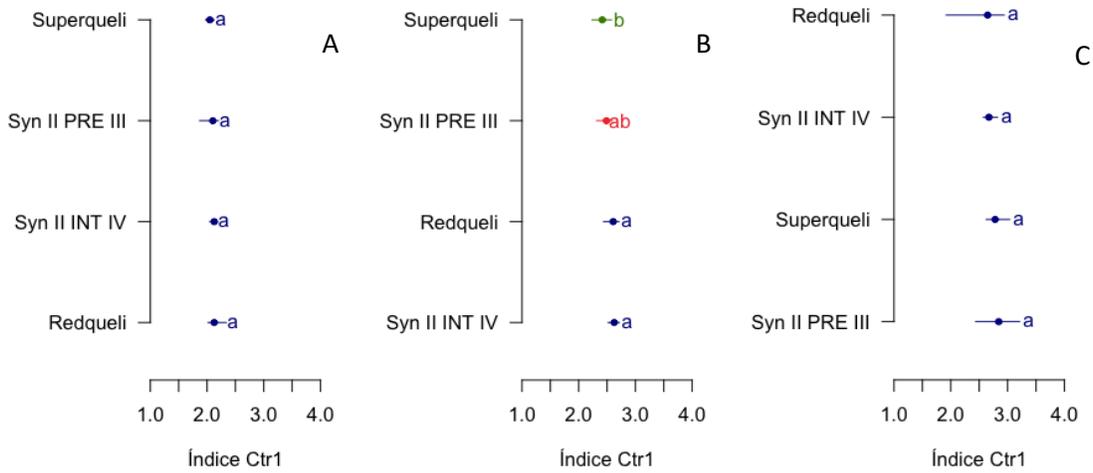
**Tabla 3.9.** Producción de biomasa (kg de materia seca/ha) en alfalfa con sus diferentes dormancias primera y segunda temporada de crecimiento establecidos en Pueblo seco.

Especie	Total Temporada 2019-2020		Total Temporada 2020-2021	
	Dormancia 4	20347.82	ab	24780.87
Dormancia 6	19421.16	a	25089.06	a
Dormancia 7	18091.05	a	25114.08	a
Dormancia 9	23692.20	b	24750.97	a
Sign.	***		***	
LSD	4039.96		1587.78	

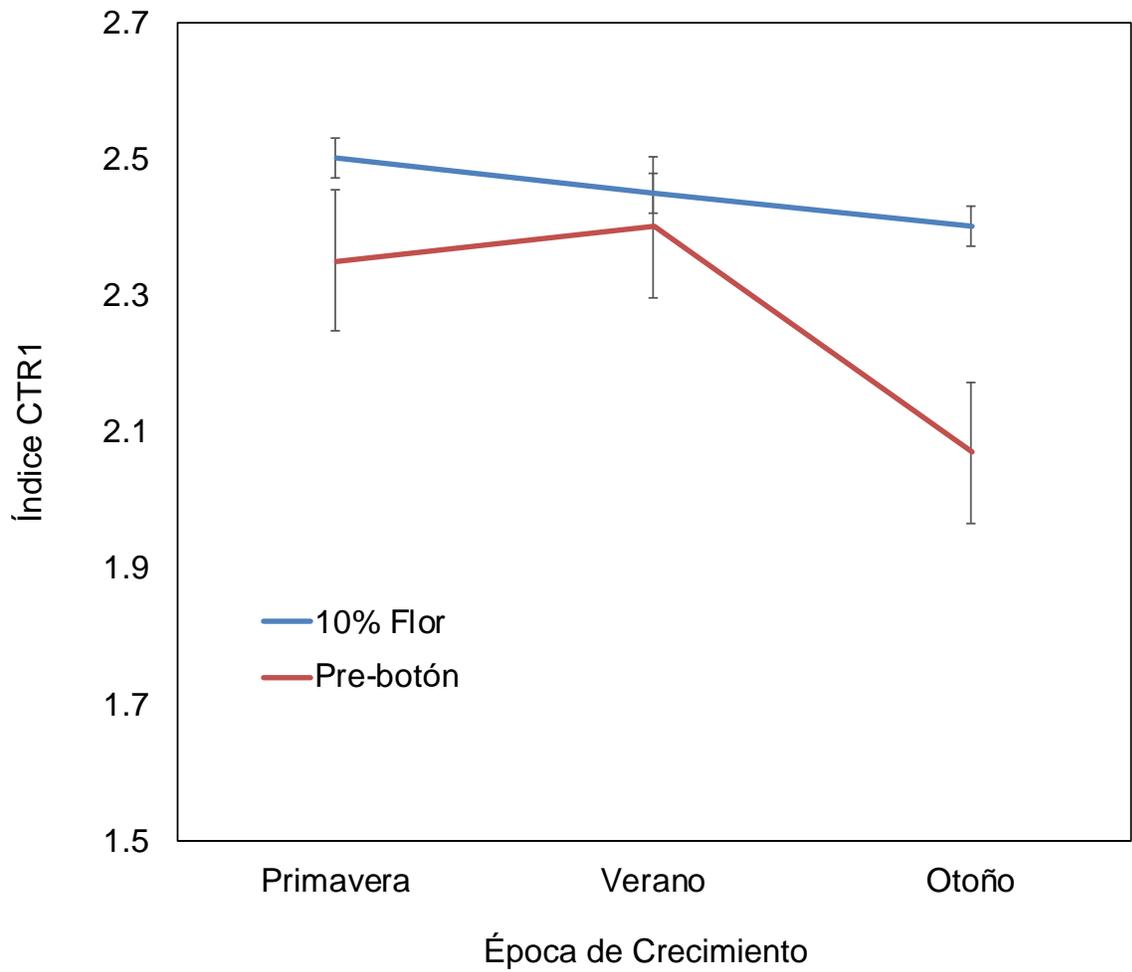
Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares según prueba LSD.



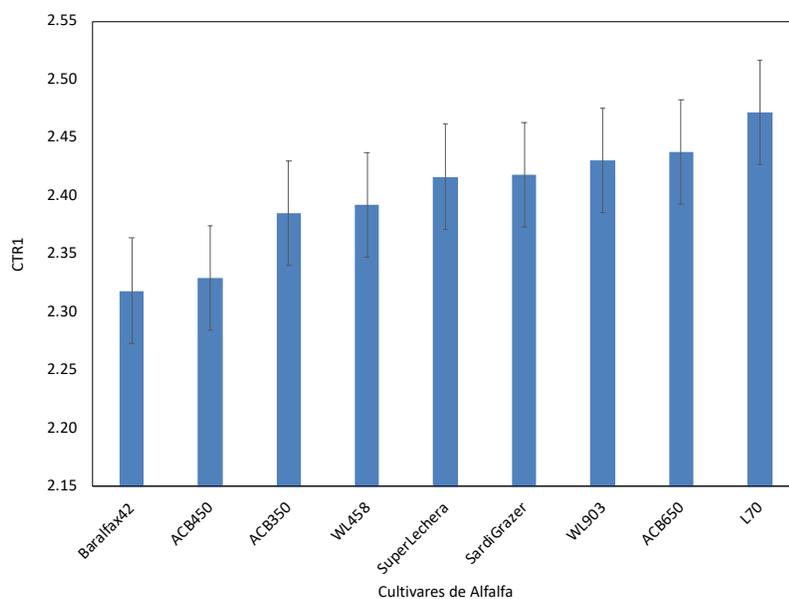
**Figura 3.6.** Contenido de clorofila estimado con índice espectral Ctr1 en cultivares de alfalfa cultivados en Pueblo Seco. Primera temporada de crecimiento. Cada gráfico (A hasta D) representa una fecha corte donde corte 1 es A y corte 4 es D. Letras distintas entre cultivares indican diferencias significativas según prueba LSD.



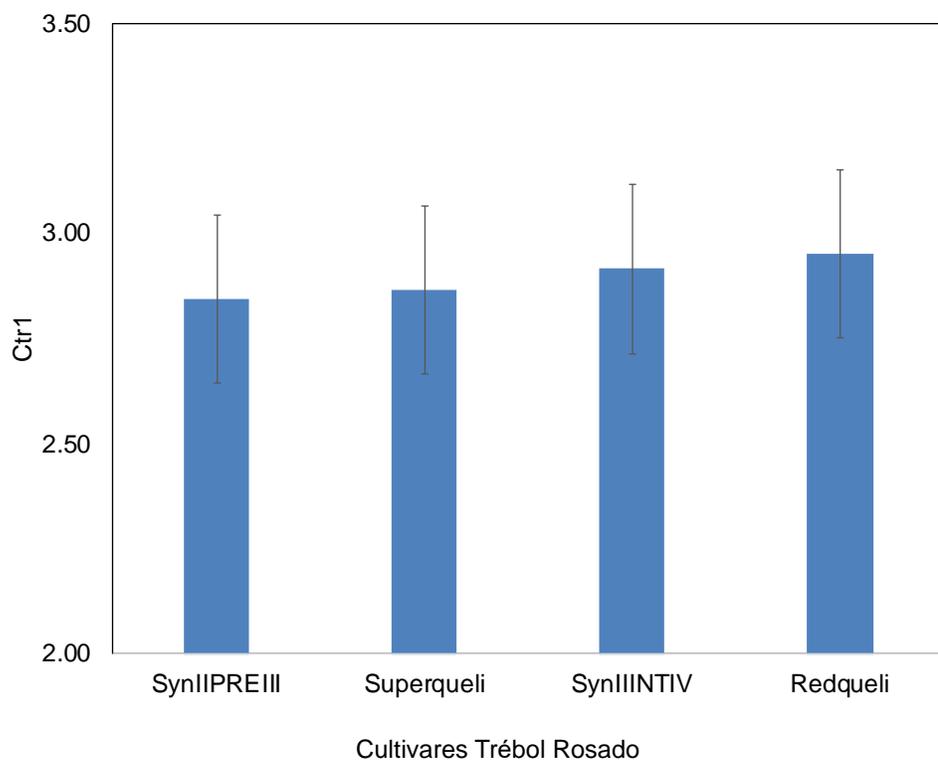
**Figura 3.7.** Contenido de clorofila estimado con índice espectral Ctr1 en cultivares de trébol rosado cultivados en Pueblo Seco. Primera temporada de crecimiento. Cada gráfico (A hasta C) representa una fecha corte donde corte 1 es A y corte 3 es C. Letras distintas entre cultivares indican diferencias significativas según prueba LSD.



**Figura 3.8.** Variación anual y efecto de la estrategia de corte en el contenido de clorofilas de 9 cultivares de alfalfa cultivados en Pueblo Seco. Datos segunda temporada de crecimiento (2020-2021). Menor valor del índice Ctr1 indica mayor contenido de clorofilas. Barras de error indican error estándar de la media.



**Figura 3.9.** Contenido de clorofila estimado con índice espectral Ctr1 en cultivares de alfalfa cultivados en Pueblo Seco. Segunda temporada de crecimiento. Los valores representan el promedio de 5 evaluaciones realizadas en la temporada. Barras de error muestran valor de la diferencia mínima significativa (LSD).



**Figura 3.10.** Contenido de clorofila estimado con índice espectral Ctr1 en cultivares de trébol rosado cultivados en Pueblo Seco. Segunda temporada de crecimiento. Los valores representan el promedio de 5 evaluaciones realizadas en la temporada. Barras de error muestran valor de la diferencia mínima significativa (LSD).

**Tabla 3.10.** Producción de biomasa (kg de materia seca/ha) por corte (C1 a 4) y total anual de cultivares de alfalfa establecidos en Pueblo seco. Primera temporada de crecimiento. Estrategia Pre-botón.

Cultivar	C1 (11-11-2019)		C2 (16-12-2019)		C3 (28-01-2020)		C4 (18-02-2020)		Total Pre-botón	
Baralfa x42	1186.3	ab	3986.8	Ab	5220.3	a	1955.0	A	12348.5	a
350 ACB	4522.9	d	6226.5	C	5807.0	a	2656.0	Bcd	19212.4	c
WL 458	1072.6	a	2997.6	A	5295.1	a	2363.3	B	11728.6	a
450 ACB	5803.3	e	6242.2	C	5798.2	a	2824.5	Cde	20668.2	c
Sardi Grazer	1110.3	ab	3255.1	A	5401.0	a	2660.3	Bcd	12426.8	a
L70	1631.1	b	3899.8	Ab	5304.9	a	2536.9	Bc	13372.6	a
Super Lechera	4434.6	d	6523.9	C	6036.6	a	3048.3	Def	20043.5	c
650 ACB	4972.3	d	6093.4	C	5877.3	a	3285.8	F	20228.8	c
WL 903	2359.0	c	4661.3	B	5840.4	a	3094.1	Ef	15954.8	b
Signif	*		*		*		*		*	
LSD	549.4		1214.3		1006.9		407.4		1934.3	

Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares según prueba LSD.

**Tabla 3.11.** Producción de biomasa (kg de materia seca/ha) por corte (C1 a 4) y total anual de cultivares de alfalfa establecidos en Pueblo seco. Primera temporada de crecimiento. Estrategia 10% flor.

Cultivar	C1 (11-11-2019)		C2 (16-12-2019)		C3 (28-01-2020)		C4 (05-03-2020)		Total 10% Floración	
Baralfa x42	1186.3	ab	3986.8	ab	5220.3	A	4036.8	a	14430.2	a
350 ACB	4522.9	d	6226.5	C	5807.0	A	4825.6	bc	21382.0	c
WL 458	1072.6	a	2997.6	A	5295.1	A	4706.3	b	14071.6	a
450 ACB	5803.3	e	6242.2	C	5798.2	A	4612.1	b	22455.8	c
Sardi Grazer	1110.3	ab	3255.1	A	5401.0	A	4573.2	b	14339.6	a
L70	1631.1	b	3899.8	ab	5304.9	A	4851.4	bc	15687.1	a
S. Lechera	4434.6	d	6523.9	C	6036.6	A	5463.3	d	22458.5	c
650 ACB	4972.3	d	6093.4	C	5877.3	A	4840.9	bc	21783.9	c
WL 903	2359.0	c	4661.3	B	5840.4	A	5229.6	cd	18090.3	b
	***		***		Ns		***		***	
	549.4		1214.3		1006.9		475.2		2142.8	

Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares según prueba LSD.

**Tabla 3.12.** Producción de biomasa (kg de materia seca/ha) por corte (C1 a 3) y total anual de cultivares de trébol rosado establecidos en Pueblo seco. Estrategia pre-botón.

Cultivar	C1 (11-11-2019)		C2 (07-01-2020)		C3 (26-02-2020)		Total Pre-botón	
Redqueli	6487.3	b	7640.7	a	2555.7	A	16683.7	a
Superqueli	6611.1	b	7842.1	a	2873.3	Ab	17326.5	ab
Syn II INT IV	6300.5	ab	7805.4	a	3237.0	Bc	17342.9	ab
Syn II PRE III	5884.1	a	8704.8	a	3665.9	C	18254.7	b
Sign.	*		Ns		*		*	
LSD	455.1		1136.6		680.0		1506.3	

Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares según prueba LSD.

**Tabla 3.13.** Producción de biomasa (kg de materia seca/ha) por corte (C1 a 3) y total anual de cultivares de trébol rosado establecidos en Pueblo seco. Estrategia 10% flor

Cultivar	C1 (11-11-2019)		C2 (07-01-2020)		C3 (10-03-2020)		Total 10% Floración	
Redqueli	6487.3	b	7640.7	a	3877.8	A	18005.8	a
Superqueli	6611.1	b	7842.1	a	4634.1	B	19087.4	ab
Syn II INT IV	6300.5	ab	7805.4	a	4911.9	B	19017.8	ab
Syn II PRE III	5884.1	a	8704.8	a	4762.9	B	19351.7	b
Sign.	*		Ns		*		*	
LSD	455.1		1136.6		652.8		1339.8	

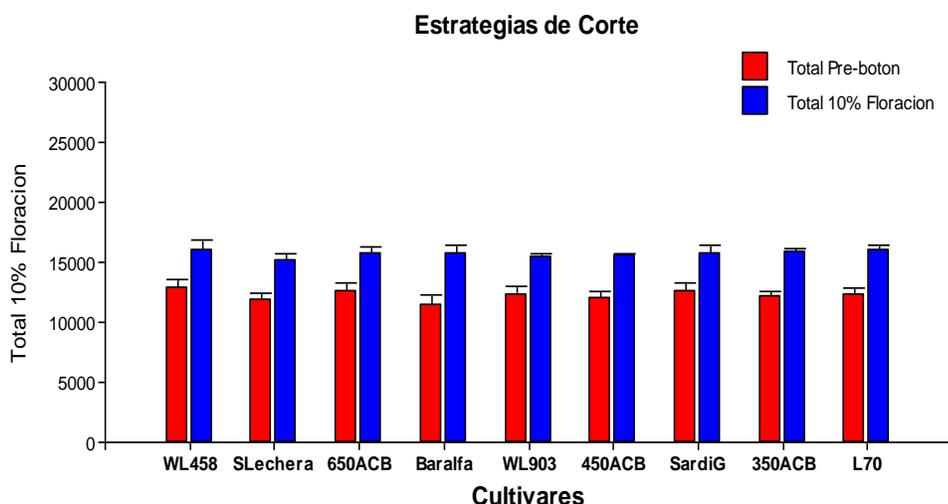
Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares según prueba LSD.

**Tabla 3.14.** Contenido de clorofila estimado con índice espectral Ctr1 en cultivares de alfalfa cultivados en Pueblo Seco bajo dos estrategias de corte (pre-botón y 10% flor).

Cultivar	Ctr1	
	Pre-botón	10%flor
350ACB	2.28	2.38
450ACB	2.33	2.31
650ACB	2.28	2.31
Baralfa	2.33	2.24
L70	2.36	2.21
SardiG	2.29	2.29
SLechera	2.24	2.21
WL458	2.25	2.30
WL903	2.32	2.27
<b>Media</b>	<b>2.30</b>	<b>2.28</b>
<b>Significancia</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>

**Tabla 3.15.** Contenido de clorofila estimado con índice espectral Ctr1 en cultivares de trébol rosado cultivados en Pueblo Seco bajo dos estrategias de corte (pre-botón y 10% flor).

Cultivar	Ctr1	
	Pre-botón	10%flor
Redqueli	2.25	2.67
Superqueli	2.17	2.78
Syn II INT IV	2.28	2.65
Syn II PRE III	2.33	2.84
Media	2.26	2.74
Significancia	2.26	2.74



**Figura 3.11.** Producción de biomasa total (kg de materia seca/ha) de cultivares de alfalfa establecidos en Pueblo Seco, bajo dos estrategias de corte (Pre-botón y 10% flor). Segunda temporada de crecimiento. Barras de error indican valor de error estándar de la media.

**Tabla 3.16.** Producción de biomasa (kg de materia seca/ha) por corte (C1 a 3) y total anual de cultivares de alfalfa establecidos en Pueblo seco. Segunda temporada de crecimiento. Estrategia Pre-botón.

Cultivar	C2 (16-11-2020)		C3 (07-01-2021)		C5 (11-03-2021)		Total Pre-botón	
Baralfa x42	4130.6	a	5311.7	a	2052.9	a	11495.2	a
350 ACB	4469.1	a	5052.9	a	2652.2	abc	12174.2	a
WL 458	4777.2	a	5261.9	a	2765.5	bc	12804.7	a
450 ACB	4386.4	a	5478.9	a	2178.4	ab	12043.7	a
Sardi Grazer	4463.4	a	5471.3	a	2642.1	abc	12576.7	a
L70	4571.9	a	5368.2	a	2306.5	ab	12246.7	a
Super Lechera	4144.6	a	5066.6	a	2644.2	abc	11855.4	a
650 ACB	4172.5	a	5552.7	a	2807.6	bc	12532.7	a
WL 903	4240.6	a	4991.7	a	3044.2	c	12276.5	a
Signif	*		*		*		*	
LSD	673.1		826.8		662.4		1712.2	

Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares según prueba LSD.

**Tabla 3.17.** Producción de biomasa (kg de materia seca/ha) por corte (C1 a 3) y total anual de cultivares de alfalfa establecidos en Pueblo seco. Segunda temporada de crecimiento. Estrategia 10% flor.

Cultivar	C2 (01-12-2020)		C3 (05-01-2021)		C5 (26-03-2021)		Total 10% Floración	
Baralfa x42	6155.7	a	6372.3	ab	3158.2	a	15686.2	a
350 ACB	5710.9	a	6923.6	ab	3193.3	a	15827.9	a
WL 458	6279.3	a	6244.9	ab	3476.3	ab	16000.5	a
450 ACB	5670.7	a	6502.9	ab	3389.9	ab	15563.5	a
Sardi Grazer	5886	a	6216.9	ab	3584.6	ab	15687.6	a
L70	6462.4	a	5866.8	a	3677.4	ab	16006.7	a
S. Lechera	5686.6	a	5987.1	a	3490.3	ab	15163.9	a
650 ACB	5987.6	a	5924.3	a	3861.1	b	15772.9	a
WL 903	5631.9	a	5861.9	a	3940.1	b	15433.9	a
	*		*		*		*	
	868.1		713.7		650.2		1555.8	

Letras distintas indican diferencias significativas entre cultivares según prueba LSD.

### 3.2. REGISTRO FOTOGRAFICO DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS



**Figura 1: Preparacion de suelo e incorporacion de Cal agricola.**



**Figura 2: Estacado de las parcelas.**



**Figura 3: Paso del rallador y fertilizacion.**



**Figura 4: Fertilizacion y siembra.**



**Figura 5: Emergencia de las plantulas.**



**Figura 6: Evaluacion ensayo Trebol Rosado.**



**Figura 7: Evaluación estrategias de corte en Alfalfa (Pre-boton).**



**Figura 8: estrategias de corte en Alfalfa (10% Floración).**

## **ANEXO 4. Evaluación de una estrategia de fertilización con magnesio y azufre para incrementar la producción de clorofila por unidad de superficie.**

### **ENSAYO DE FERTILIZACIÓN EN CONDICIONES DE CAMPO**

Se estableció un experimento de campo en la estación experimental Carillanca de INIA en Temuco. La siembra se efectuó el 25-09-2019. El ensayo se manejó según se indica a continuación:

#### **Manejo agronómico durante el establecimiento**

- Control de malezas hoja ancha en tres oportunidades el 06-11-2019 con mezcla de herbicidas Preside 50 WG (ia Flumetsulam) 60 g/ha mas Venceweed (ia Ester butílico del ácido 2,4 DB) 0.5 l/ha en 200 l de agua; el 28-11-2019 con herbicida Basagran (ia Bentazona-sodio ) 1,5 l/ha en 200 l de agua y el 05-02-2020 donde se controlaron malezas hoja ancha y gramíneas, con mezcla de herbicidas Preside 50 WG (ia Flumetsulam) 62,5 g/ha mas Venceweed (ia Ester butílico del ácido 2,4 DB) 1.5 l/ha más herbicida Centurión (ia Cletodima) 3 l/ha en 200 l de agua.
- Limpieza manual para eliminar exceso de malezas en el ensayo (11-12-2019).
- Riego por método de aspersion en ocho ocasiones: 05-12-2019; 11-12-2019; 19-12-2019; 27-12-2019; 02-01-2020; 15-01-2020; 23-01-2020 y 13-02-2020.

A pesar del manejo señalado, no se logró establecer el ensayo, fundamentalmente por problema de baja germinación y establecimiento de la alfalfa. En razón a lo anterior y por lo avanzado de la temporada, se decidió establecer un ensayo en macetas y cámara de crecimiento para evaluar el efecto de la fertilización con Mg y S sobre el rendimiento y producción de clorofila.

### **ENSAYO DE FERTILIZACIÓN EN CÁMARA DE CRECIMIENTO**

El objetivo fue evaluar el efecto del Mg y S sobre el rendimiento de materia seca y producción de clorofila de Trébol Rosado y Alfalfa. Para ello se utilizó la variedad Superqueli INIA de trébol rosado y ACB350 de alfalfa.

#### **METODOLOGÍA**

Se realizó un experimento en macetas en cámara de crecimiento, utilizando un diseño factorial completamente aleatorio con dos niveles de especie (Alfalfa y Trébol Rosado), dos niveles de fertilización (T0 sin Mg y S; T1 con Mg y S) y 12 repeticiones. El tamaño de cada maceta fue de 17,5 x 17,5 x 22 cm (L x A x Prof.), 7 litros de volumen aproximadamente cada una.

El 23-12-2019 se germinaron las semillas sobre papel en cámara de crecimiento, a objeto de obtener plántulas para el establecimiento del ensayo. La semilla de Trébol rosado fue inoculada con Rizofix-gel, principio activo Rhizobium sp; 200 ml/25 kg de semilla. La semilla de alfalfa ya estaba inoculada y peletizada. Paralelamente se procedió a coleccionar suelo de la serie Vilcún desde el potrero 13 de INIA Carillanca, tomando los primeros 20 cm de suelo y se dejó secar para llenar cada maceta posteriormente con 4 Kg de suelo seco. Los materiales sembrados y la fertilidad del suelo se indican a continuación:

**Tabla 4.1.** Especies utilizadas para el establecimiento de forrajeras perennes en Carillanca (Temuco).

Trat	Especie	Variedad	Código
1	T. Rosado	Superqueli	12C373 (897)
2	Alfalfa	ACB 350	11C126 (232)

**Tabla 4.2.** Análisis de suelo para el establecimiento de forrajeras perennes en Carillanca (Temuco).

NUTRIENTES DISPONIBLES #1			BASES DE INTERCAMBIO #2									
pH	pH	%	---ppm---			-----cmol (+) / kg-----						% SAT AI
H2O	Cacl2	M.O.	N	P	K	Ca	Mg	K	Na	Al	CICE	
6,23	LEG	15,22	12	17,78	280,5	7,16	0,96	0,72	0,04	0,08	8,96	0,88

**MICROELEMENTOS #3**

----- ppm -----				-----ppm-----		
Zn	Fe	Cu	Mn	B	S	Al Ext.
3,26	45,87	1,43	2,04	0,12	13,81	-

El 08-01-2020 se efectuó el llenado de las 48 macetas con 4 kilos de suelo seco cada una, el que posteriormente se saturó con agua. El 20-02-2020 se llevó a cabo el trasplante disponiendo 9 plantas equidistantes en cada maceta. La fertilización base correspondió a 40 u N (Can 27); 150 u P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 65 u CaO, y 3 u S (SFT); 90 u K<sub>2</sub>O, (Muriato de potasio). Los tratamientos con Mg y S fueron fertilizados con Kieserita aportando en total 25 u de S y 31,5 u de Mg; la dosis total fue parcializada y sólo se aplicó el 50% al momento del establecimiento del ensayo y el 50% restante el 20-04-2020. El 26-02-2020 se reemplazaron aquellas plantas que habían muerto, posteriormente se llevaron las macetas a cámara de crecimiento a 18/24 °C con 10/14 horas oscuridad/luz, respectivamente, y una intensidad lumínica de 100-120 μmol PAR cm<sup>-2</sup> dependiendo de la altura de la canopia. Las macetas fueron regadas de acuerdo al peso gravitacional de cada una, a objeto de mantener la humedad aprovechable entre 60 y 90% de la capacidad de campo (CC). Después del primer corte se comenzó a observar sintomatología foliar de déficit de K en la alfalfa, razón por la cual se decidió aplicar 30 unidades de potasio con fertilizante comercial Muriato de potasio (24-06-2020).

## EVALUACIONES

Corte con evaluación en dos oportunidades (13-05-2020 y 28-07-2020), evaluando las 48 macetas en cada oportunidad. Se midió el peso verde y las muestras fueron estabilizadas en nitrógeno líquido, mantenidas en freezer y posteriormente liofilizadas, estimándose el rendimiento en materia seca (g) y porcentaje de materia seca. Estas muestras fueron utilizadas para análisis de contenido de clorofila según se detalla en el Anexo 6 de este mismo informe. Se estimó la producción de clorofila por planta, multiplicando el rendimiento por planta (g MS/planta) por el contenido de clorofila reportado por espectrofotometría (mg/g de MS).

En cada corte se evaluó la altura máxima (cm), altura intermedia (cm) y número de plantas por maceta. El contenido de clorofilas se estimó de forma indirecta con equipo SPAD-Minolta. Para ello se midió en 3 folíolos centrales de la parte intermedia de tres plantas distintas por macetas, seleccionando aquellas visiblemente sanas, de coloración verdes intensos y provenientes de tallos vegetativos no elongados.

El análisis estadístico se realizó mediante ANDEVA y separación de medias por Duncan (P=5%), utilizando el software SAS.

## RESULTADOS

### Evaluación 1

En esta evaluación hubo un efecto significativo de la especie para la evaluación de clorofila (SPAD), altura máxima y % de MS, en tanto que un efecto significativo de la fertilización y especie sobre el % MS. Por otro lado, la interacción especie\*fertilización no fue significativa para las variables evaluadas (Tabla 4.3). La clorofila-SPAD y altura máxima fueron mayores para alfalfa, independientemente del nivel de fertilización; sin embargo, esto no se reflejó en mayor rendimiento de forraje evaluado como materia verde (g) y materia seca (g), lo que se explica por la diferente arquitectura de ambas especies al momento de la evaluación, presentando el trébol rosado menor altura, pero con mayor masa foliar al momento del corte. En cuanto al % de materia seca, el de alfalfa fue significativamente mayor que el del trébol (13,9 vs. 11,5%) y el de los tratamientos sin fertilizar mayores que los fertilizados. El mayor % MS de alfalfa es coherente con su mayor altura y se relaciona con que a igual fecha, la alfalfa tenía mayor altura producto de la elongación de sus tallos.

La evaluación de clorofila realizada con el equipo SPAD en la primera evaluación no mostró efectos significativos de la fertilización, pero sí de la especie (Tabla 4.3), siendo alfalfa superior a trébol rosado en este parámetro. Por otro lado, la evaluación de clorofila por método espectrofotométrico mostró efecto significativo de la especie para clorofila a y clorofila total (Tabla 4.5), pero contrariamente a la evaluación por SPAD, el trébol rosado fue significativamente superior a la alfalfa (8,7 y 7,4 mg/g; 12,6 y 11,2 mg/g para clorofila a y total, trébol y alfalfa respectivamente). La evaluación de clorofila por espectrofotometría tampoco mostró efecto significativo de la fertilización, lo que es concordante con la evaluación por SPAD e indica que para este corte no se visualiza que haya efecto significativo de Mg y S sobre este parámetro.

Al considerar en conjunto la producción de materia seca por planta con el contenido de clorofila obtenido por espectrofotometría, se observa que en la evaluación 1 no hubo efectos significativos de la especie ni de la fertilización, ni de su interacción sobre producción de clorofila por planta (Tabla 4.6, Figura 4.5).

## **Evaluación 2**

Posterior al primer corte, se evidenció sintomatología foliar anómala en alfalfa, la que se podría haber atribuido a déficit de K u otro nutriente. Es por ello que los resultados de este corte deben ser tomados con cautela (Tabla 4.4).

En cuanto a altura, peso verde, peso seco y materia seca, hubo interacción significativa entre especie y fertilidad (Tabla 4.4). En altura, los mayores valores fueron alcanzados por alfalfa y en trébol rosado fueron mayores sin fertilizante Mg-S que con fertilizante (Figura 4.1). El peso verde (Figura 4.2) y peso seco por planta (Figura 4.3) mostró significativamente mayor producción de trébol rosado que de alfalfa, siendo en trébol superior sin fertilizante Mg-S. En cuanto a % de materia seca (Figura 4.4), los mayores valores fueron en alfalfa sin fertilizante Mg-S y trébol rosado con fertilizante Mg-S.

La clorofila-SPAD (Tabla 4.4) fue afectada por la especie y no por la fertilización, presentando el trébol rosado mayor valor que la alfalfa (54,0 vs 48,3). Sin embargo, esta diferencia no se reflejó en la evaluación de clorofila por espectrofotometría (Tabla 4.5). Al ponderar peso seco por planta con contenido de clorofila por espectrofotometría, se observa un efecto altamente significativo de la especie, siendo trébol rosado superior a alfalfa (Tabla 4.6, Figura 4.5). Sin embargo, eso se debe a la diferencia en peso seco y no a la diferencia en contenido de clorofila.

## **Producción de clorofila considerando ambas evaluaciones**

Al considerar en conjunto las dos evaluaciones para estimar la producción total de clorofila por planta (Tabla 4.7), se observa que hubo un efecto altamente significativo de la especie y no de la fertilización (Tabla 4.6). Sin embargo, la diferencia a favor del trébol rosado se debe a la segunda evaluación en que hubo una significativa diferencia en crecimiento entre las dos especies y no a la mayor concentración de clorofila (Figura 4.5).

## **CONCLUSIONES**

Los resultados en las condiciones experimentales indican que no hubo efecto de la fertilización con Mg-S sobre el rendimiento de las dos especies ni la concentración de clorofila. Hubo efectos menores sobre la materia seca (%) pero son irrelevantes ya que los resultados se enmarcan en niveles normales para especies forrajeras pratenses en estado juvenil. En cuanto a diferencias entre las dos especies, para concentración de clorofila no se observaron mayores diferencias entre las dos especies; la diferencia estuvo dada por el menor crecimiento de la alfalfa en el segundo período lo que explica la menor producción de clorofila por planta para dicha especie en la segunda evaluación y, como consecuencia, para la suma de las dos evaluaciones. Sin embargo, ambas especies muestran un buen potencial de producción de clorofila; a nivel productivo las diferencias estarán dadas por el rendimiento de biomasa (forraje) y el costo para producirla.

**Tabla 4.3.** Contenido de clorofila, altura máxima, peso verde por planta, peso seco por planta y % de materia seca en la primera evaluación.

Especie	Fertilización Mg y S	SPAD	Altura max.(cm)	Peso verde (g/planta)	Peso seco (g/planta)	Materia seca (%)
Alfalfa	0	53,6	45,8	1,4	0,21	14,7
Alfalfa	1	50,8	41,2	1,4	0,19	13,1
Trébol rosado	0	47,2	28,4	1,8	0,22	11,7
Trébol rosado	1	45,8	27,7	1,5	0,18	11,4
<b>Promedio</b>		<b>49,4</b>	<b>35,8</b>	<b>1,6</b>	<b>0,20</b>	<b>12,7</b>
<b>EEM</b>		<b>4,89</b>	<b>7,31</b>	<b>0,63</b>	<b>0,08</b>	<b>1,11</b>
<b>Sign. Fert.</b>		<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>**</b>
<b>Sign. Especie</b>		<b>***</b>	<b>***</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>***</b>
<b>Sign. Fert. x Esp.</b>		<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>Ns</b>

EEM: error estándar de las medias.

ns indica diferencias no significativas (Duncan,  $p > 95\%$ ).

\*\* y \*\*\* indica diferencias significativas según ANDEVA ( $p = 1$  y  $0,1\%$ , respectivamente).

**Tabla 4.4.** Contenido de clorofila, altura máxima, peso verde por planta, peso seco por planta y % de materia seca en la segunda evaluación.

Especie	Fertilización Mg y S	SPAD	Altura max.(cm)	Peso verde (g/planta)	Peso seco (g/planta)	Materia seca (%)
Alfalfa	0	50,7	31,3	1,1	0,19	18,1
Alfalfa	1	46,2	32,8	1,2	0,21	17,3
Trébol rosado	0	53,9	28,8	3,4	0,53	15,8
Trébol rosado	1	54,1	23,8	2,5	0,45	18,0
<b>Promedio</b>		<b>51,2</b>	<b>29,1</b>	<b>2,0</b>	<b>0,34</b>	<b>17,3</b>
<b>EEM</b>		<b>6,13</b>	<b>4,12</b>	<b>0,33</b>	<b>0,07</b>	<b>2,07</b>
<b>Sign. Fert.</b>		<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>***</b>	<b>ns</b>	<b>Ns</b>
<b>Sign. Especie</b>		<b>**</b>	<b>***</b>	<b>***</b>	<b>***</b>	<b>Ns</b>
<b>Sign. Fert. x Esp.</b>		<b>ns</b>	<b>**</b>	<b>***</b>	<b>*</b>	<b>*</b>

EEM: error estándar de las medias.

ns indica diferencias no significativas (Duncan,  $p > 95\%$ ).

\*, \*\* y \*\*\* indica diferencias significativas según ANDEVA ( $p = 5, 1$  y  $0,1\%$ , respectivamente).

**Tabla 4.5.** Contenido de clorofila (mg/g) en las dos evaluaciones.

Especie	EVALUACIÓN 1				EVALUACIÓN 2		
	Fert. Mg y S	Clor. a	Clor. b	Clor.total	Clor. a	Clor. b	Clor. total
Alfalfa	0	7,52	3,69	11,21	8,31	3,95	12,26
Alfalfa	1	7,36	3,78	11,14	8,67	3,71	12,38
Trébol rosado	0	8,88	4,05	12,93	8,52	3,53	12,04
Trébol rosado	1	8,43	3,93	12,37	9,82	4,02	13,84
<b>Promedio</b>		<b>8,05</b>	<b>3,86</b>	<b>11,91</b>	<b>8,83</b>	<b>3,80</b>	<b>12,63</b>
<b>EEM</b>		<b>1,689</b>	<b>0,745</b>	<b>2,415</b>	<b>1,820</b>	<b>0,660</b>	<b>2,461</b>
<b>Sign. Fert.</b>		ns	ns	ns	ns	ns	ns
<b>Sign. Especie</b>		*	ns	*	ns	ns	ns
<b>Sign. Fert. x Esp.</b>		ns	ns	ns	ns	ns	ns

EEM: error estándar de las medias.

ns indica diferencias no significativas ( $p > 95\%$ ).

\* indica diferencias significativas según ANDEVA ( $p = 5\%$ ).

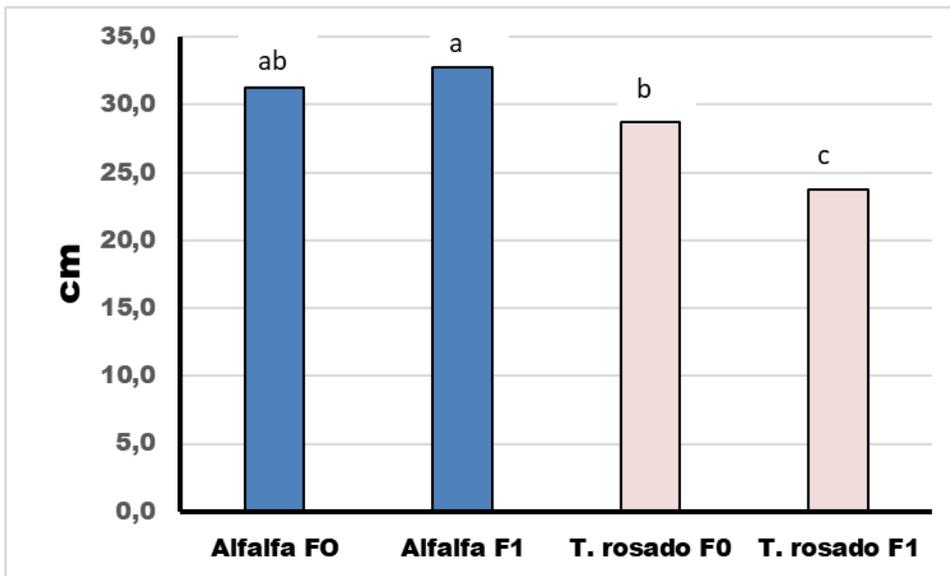
**Tabla 4.6.** Producción de clorofila por planta (mg/planta) en dos evaluaciones.

Especie	EVALUACIÓN 1				EVALUACIÓN 2			TOTAL		
	Fert. Mg y S	Clor. a	Clor. b	Clor. total	Clor. A	Clor. B	Clor. Total	Clor. a	Clor. b	Clor. total
Alfalfa	0	1,65	0,80	2,45	1,57	0,75	2,32	3,22	1,55	4,77
Alfalfa	1	1,49	0,76	2,24	1,77	0,76	2,53	3,26	1,52	4,78
Trébol rosado	0	1,91	0,87	2,77	4,52	1,87	6,39	6,43	2,73	9,17
Trébol rosado	1	1,48	0,68	2,16	4,38	1,79	6,17	5,86	2,47	8,33
<b>Promedio</b>		<b>1,63</b>	<b>0,78</b>	<b>2,41</b>	<b>3,06</b>	<b>1,29</b>	<b>4,35</b>	<b>4,69</b>	<b>2,07</b>	<b>6,76</b>
<b>EEM</b>		<b>0,840</b>	<b>0,382</b>	<b>1,220</b>	<b>0,917</b>	<b>0,345</b>	<b>1,255</b>	<b>1,483</b>	<b>0,616</b>	<b>2,093</b>
<b>Sign. Fert.</b>		ns								
<b>Sign. Especie</b>		ns	ns	ns	***	***	***	***	***	***
<b>Sign. Fert. x Esp.</b>		ns								

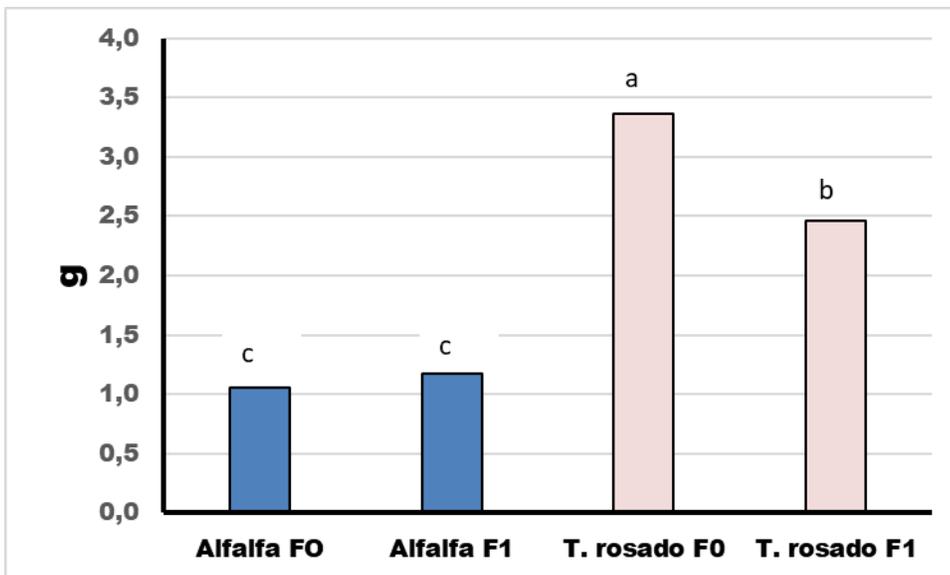
EEM: error estándar de las medias.

ns indica diferencias no significativas ( $p > 95\%$ ).

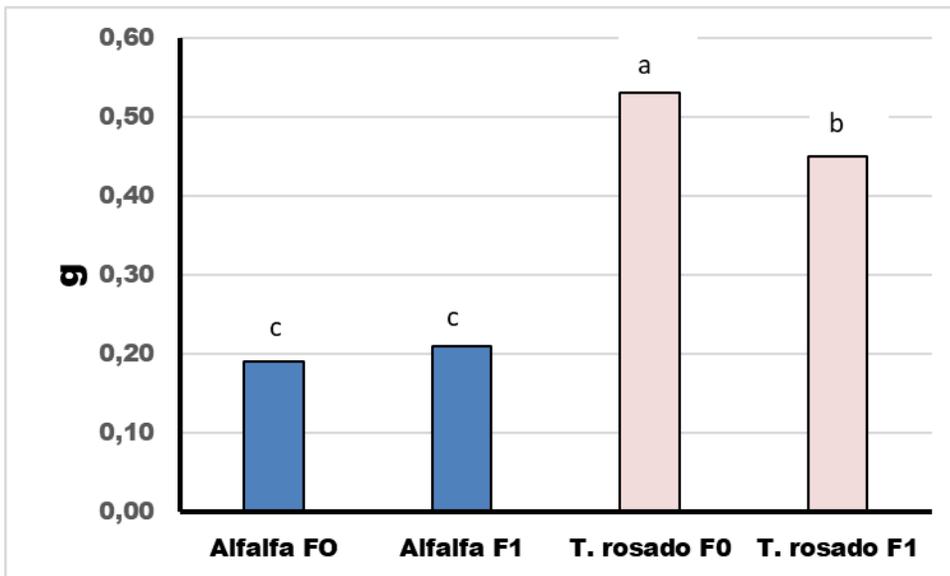
\*\*\* indica diferencias significativas según ANDEVA ( $p = 0,1\%$ ).



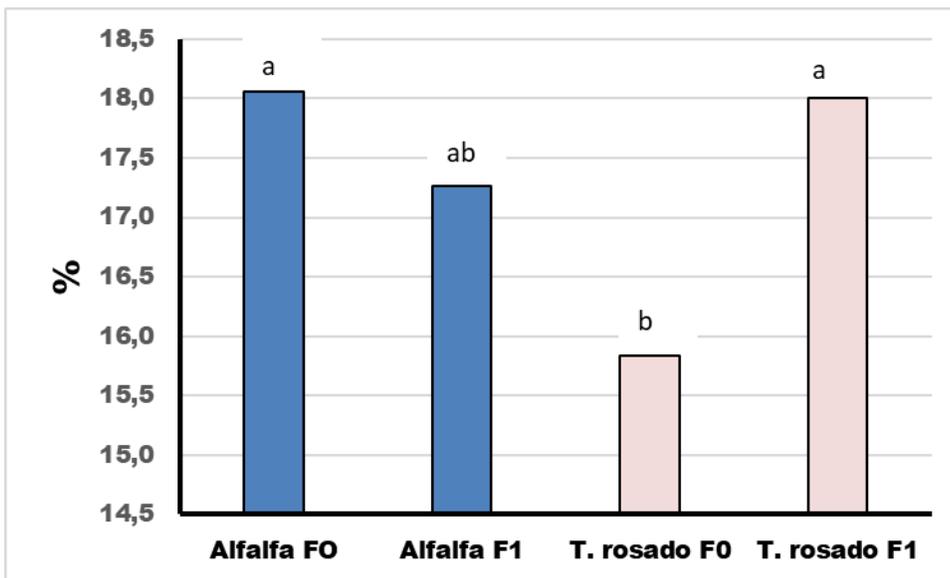
**Figura 4.1.** Altura máxima (cm) en el segundo muestreo. Letras distintas indican diferencias significativas según Duncan ( $p=5\%$ ). F0=sin Mg y S; F1=con Mg y S.



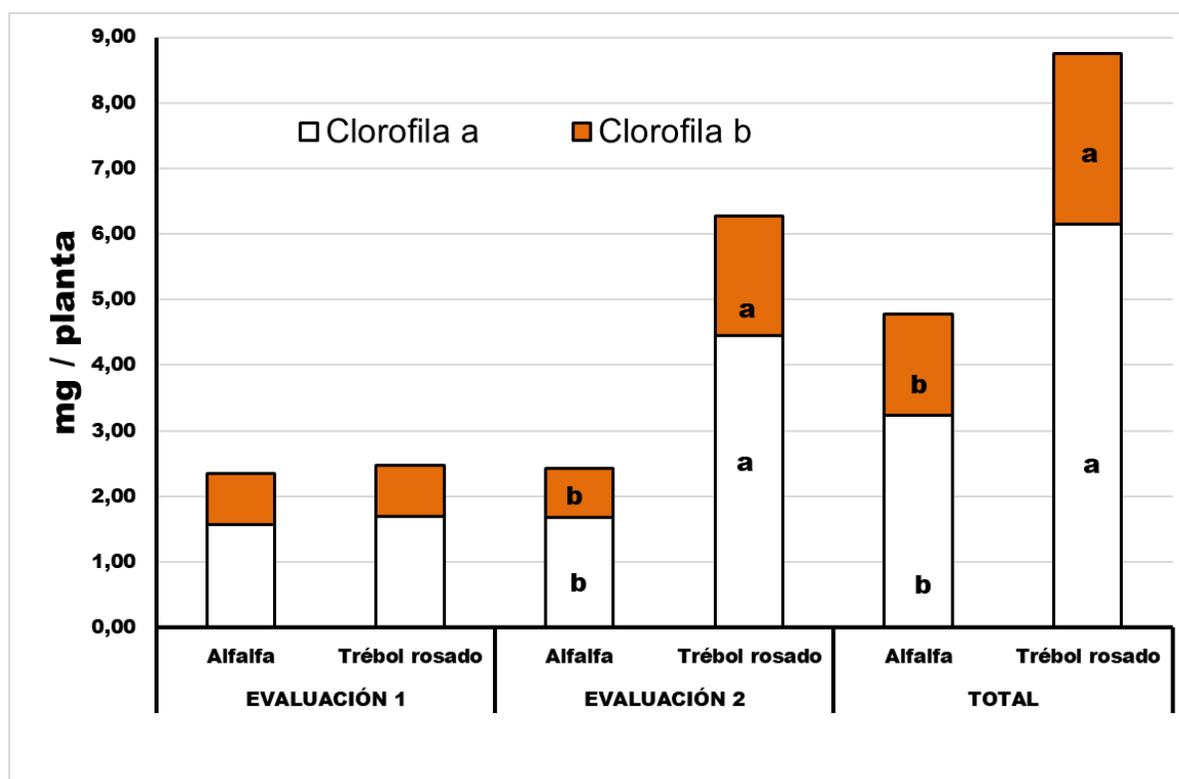
**Figura 4.2.** Peso verde por planta (g) en el segundo muestreo. Letras distintas indican diferencias significativas según Duncan ( $p=5\%$ ). F0=sin Mg y S; F1=con Mg y S.



**Figura 4.3.** Peso seco por planta (g) en el segundo muestreo. Letras distintas indican diferencias significativas según Duncan ( $p=5\%$ ). F0=sin Mg y S; F1=con Mg y S.



**Figura 4.4.** Materia seca (%) en el segundo muestreo. Letras distintas indican diferencias significativas según Duncan ( $p=5\%$ ). F0=sin Mg y S; F1=con Mg y S.



**Figura 4.5.** Producción de clorofila de alfalfa y trébol rosado por planta (mg/planta) en dos evaluaciones. Letras distintas en evaluación 2 y para total indican diferencias estadísticamente significativas entre las dos especies para cada tipo de clorofila (Duncan,5%).

**Tabla 4.7.** Contenido promedio de clorofila total (mg/g) para especies forrajeras y estrategias de fertilización, en los dos cortes realizados durante la primera temporada de crecimiento (2020), por liofilización.

CLOROFILA TOTAL (mg/g muestra seca)		
Especie	Corte 1	Corte 2
	Liofilización	Liofilización
Alfalfa	11,2 ± 2,9 <sup>a</sup>	12,3 ± 2,4 <sup>a</sup>
Trébol rosado	12,9 ± 1,7 <sup>a</sup>	12,0 ± 2,1 <sup>a</sup>
Alfalfa S y Mg	11,1 ± 2,8 <sup>a</sup>	12,4 ± 2,9 <sup>a</sup>
T. Rosado S y Mg	12,4 ± 2,1 <sup>a</sup>	13,8 ± 2,3 <sup>a</sup>
*Espinaca control	10,3 ± 0,2	10,3 ± 0,2

Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre especies de un mismo corte (Fisher LSD, 95% nivel de confianza). \*, Clorofila total espinaca control: 8,2 mg/g muestra seca).

#### 4.1. REGISTRO FOTOGRAFICO DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS



**Figura 1: Establecimiento de ensayo de fertilización (Mg y S) en macetas.**



**Figura 2: Crecimiento de Trébol rosado en etapa intermedia de desarrollo.**



**Figura 3: Evaluación de la altura máxima en Alfalfa.**



**Figura 4: Evaluación de la altura máxima en Trébol rosado.**



**Figura 5: Corte de ensayo.**



**Figura 6: Estabilización de muestra de la segunda evaluación (28-07-2020).**



**Figura 7: Medicion con SPAD en Trebol rosado.**



**Figura 8: Medicion con SPAD en Alfalfa.**

## ANEXO 5. EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DEL CONTENIDO DE SELENIO DE CULTIVARES Y LÍNEAS GENÉTICAS

### Evaluación del contenido de selenio

La evaluación del contenido de selenio en tejidos de especies forrajeras se evaluó en muestras obtenidas en el experimento de Chillán. Las muestras corresponden al primer corte de la segunda temporada de crecimiento (21-10-2019). Las muestras fueron escogidas por su pureza de especies y representatividad de la producción anual. Las muestras fueron molidas (9 accesiones x 2 repeticiones x 1 corte =18 muestras; Tabla 5.1) y dispuestas en bolsas de papel. Durante el mes de marzo del 2020 se contrataron los servicios del laboratorio especializado en análisis de tejidos vegetales Agrolab (<http://www.agrolabchile.cl>).

El contenido de selenio de especies forrajeras perennes se comparó con valores reportados en otras especies usadas para alimentación humana. Para esto se consultó el artículo "Selenium in food and the human body: A review" publicado en la revista "Science of The Total Environment" (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.06.024>).

**Tabla 5.1.** Especies y cultivares evaluados.

<b>Especies</b>	<b>N. Vulgar</b>	<b>Cultivar</b>
<i>Medicago sativa</i>	Alfalfa dormancia 7	SARDI7
<i>Medicago sativa</i>	Alfalfa dormancia 4	ACB350
<i>Trifolium pratense</i>	Trébol rosado	Superqueli
<i>Lotus corniculatus</i>	Lotería hoja ancha	Quimey
<i>Lotus tenuis</i>	Lotería hoja angosta	Lt14
<i>Lolium perenne</i>	Ballica 2n	ExpoAR1
<i>Lolium perenne</i>	Ballica 4n	BaseAR1
<i>Bromus valdivianus</i>	Bromo	Bronco
<i>Festuca arundinacia</i>	Festuca	Excella2

### Análisis estadísticos

El contenido de selenio se analizó mediante análisis de variancia (ANDEVA). Las medias fueron comparadas mediante la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) con un umbral de confianza del 95%.

## RESULTADOS

### Contenido de selenio en especies forrajeras perennes

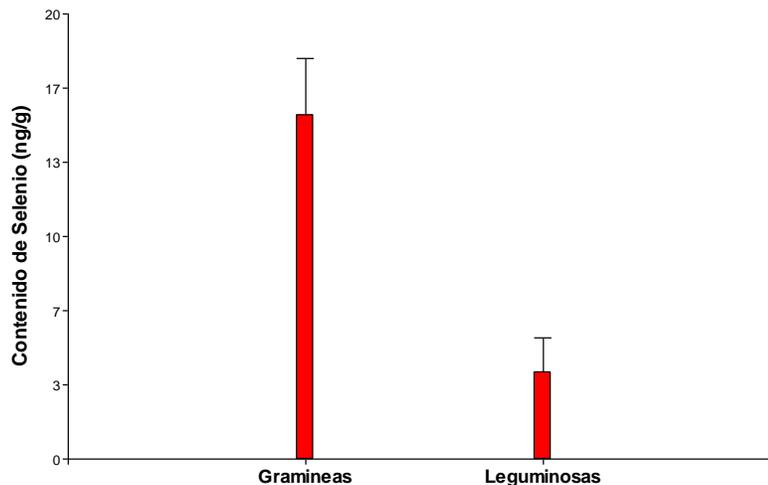
El contenido de selenio en especies gramíneas fue 4 veces mayor que el observado en especies leguminosas (Figura 5.1). El contenido de selenio de especies gramíneas y leguminosas fue 15.4 y 3.9 ng/g, respectivamente.

El contenido de selenio varió significativamente entre especies, Ballica perenne y Bromo fueron las especies con mayor contenido. Por el contrario, alfalfa fue la especie con el menor contenido de selenio (Figura 5.2 y Tabla 5.2).

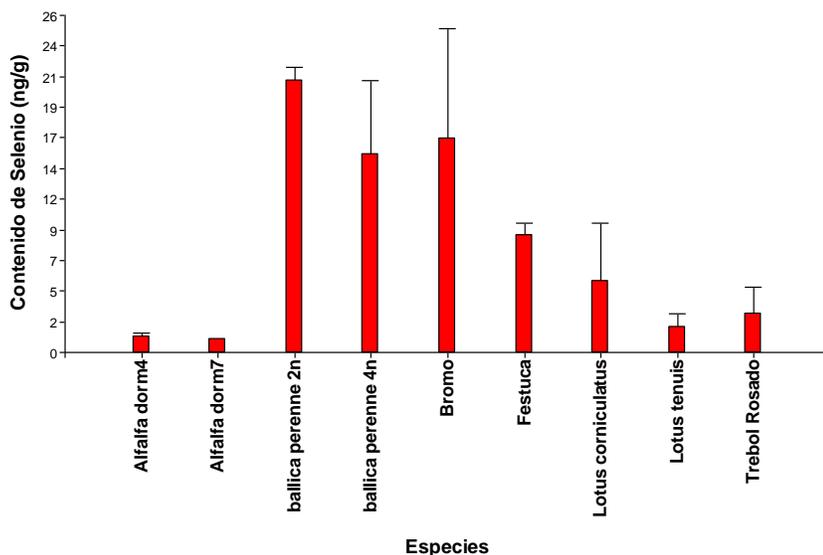
Al comparar los valores observados en especies forrajeras perennes con los reportados en la literatura para otros alimentos de hojas (lechuga y apio; Tabla 5.3), es posible inferir que el contenido de selenio se encuentra en rangos altos para gramíneas, pero bajos para leguminosas.

## CONCLUSIÓN

1. Las especies forrajeras perennes difieren estadísticamente en su contenido de selenio. Especies gramíneas logran concentraciones 4 veces mayores a las especies leguminosas.
2. El contenido de selenio de especies forrajeras perennes se encuentra en rangos altos para gramíneas, pero bajos para leguminosas relativo a otros alimentos de hojas (lechuga y apio).



**Figura 5.1.** Contenido de Selenio en Gramíneas y Leguminosas del 1er corte de la segunda temporada de crecimiento en experimento establecido en localidad de Quilamapu. Los valores corresponden a la media de 8 y 10 especies de Gramíneas y Leguminosas, respectivamente. Barras de error indican valor de error estándar de la media.



**Figura 5.2.** Contenido de selenio por especies del 1er corte de la segunda temporada de crecimiento en INIA Quilamapu. Barras de error indican valor de error estándar de la media.

**Tabla 5.2.** Contenido de selenio por especies, significancia estadística y diferencia mínima significativa (LSD de Fisher) del 1er corte de la segunda temporada de crecimiento en INIA Quilamapu.

Especie	Cultivar	Contenido de Selenio (ng/g)	
Alfalfa dorm7	SARDI7	1,0	a
Alfalfa dorm4	ACB350	1,25	abc
Trébol Rosado	Superqueli	3,0	a
Lotus corniculatus	quimey	5,5	ab
Lotus tenuis	Lt14	2,0	a
ballica perenne 2n	ExpoAR1	21,0	d
ballica perenne 4n	BaseAR1	15,25	bcd
Bromo	Bronco	16,5	cd
Festuca	excella2	9	abc
Sign.		***	
LSD		10,92	

Según prueba de diferencias mínimas significativas (DMS) ( $P \leq 0,05$ ), letras minúsculas diferentes entre columnas, indican diferencias entre especies; \*  $P \leq 0,05$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*\*\*  $P \leq 0,001$ .

**Tabla 5.3.** Contenido de Selenio en alimentos y bebidas según varios autores.

Type of sample	Origin	Se content (ng/g)	Reference
<i>Milk and dairy products</i>			
Cow's milk	Greece	13.1–21.9	Pappa et al. (2006)
	Ireland	14–18	Murphy and Cashman (2001)
Gouda cheese	Greece	85.4±10.0	Pappa et al. (2006)
Yoghurt	Greece	21.9–26.9	Pappa et al. (2006)
	Croatia	29.9	Klapeč et al. (2004)
Butter	Spain	50.0±30.0	Cabrera et al. (1996)
	Greece	4.4–13.8	Pappa et al. (2006)
Condensed milk	Australia	0.7–14.2	Fardy et al. (1994)
	Spain	75.0±25.0	Cabrera et al. (1996)
Ice-cream	Spain	100.0±40.0	Cabrera et al. (1996)
	UK	15.0–17.0	Barclay et al. (1995)
Fresh buffalo milk	Egypt	53	Akl et al. (2006)
<i>Fruits and vegetables</i>			
Apple	Australia	4.5	McNaughton and Marks (2002)
	Australia	30.0–50.0	Marro (1996)
Kiwi	Greece	1.4±0.2	Pappa et al. (2006)
Grapes	Australia	40.0–76.0	Marro (1996)
Sharon fruit	Greece	3.9±0.5	Pappa et al. (2006)
Mango	Greece	2.6±0.6	Pappa et al. (2006)
Orange	Australia	5.00	Marro (1996)
Potato	Australia	30.0–70.0	Marro (1996)
	Greece	4.6±1.4	Pappa et al. (2006)
Garlic	Slovakia	3.5	Kadrabova et al. (1997)
	Greece	13.4–13.7	Pappa et al. (2006)
Celery	Australia	9.3–14.2	Marro (1996)
Lettuce	Australia	3.0–22.8	Marro (1996)
Onion	India	127	Singh and Garg (2006)
	India	180	Singh and Garg (2006)
Pepper	India	150	Singh and Garg (2006)
	Greece	4.2±0.3	Pappa et al. (2006)
<i>Legumes, nuts, cereals and derivatives</i>			
Lentils	USA	28.0	USDA (1999)
	New Zealand	18.0	NZ-ICFRL (2000)
Bread	Greece	70.0–131.8	Pappa et al. (2006)
Pasta	Greece	5.8±0.2	Pappa et al. (2006)
Pasta, boiled	Australia	35.6–50.0	Marro (1996)
Rice	Greece	19.1±1.4	Pappa et al. (2006)
	Italy	20.1±45.3	Panigati et al. (2007)
Peanuts	USA	75.0	USDA (1999)
<i>Meat, chicken, fish and eggs</i>			
Beef, steak	Australia	80–200	Tinggi (1999)
Lamb	Spain	27–30	Díaz-Alarcon et al. (1996a)
	Spain	74–106	Díaz-Alarcon et al. (1996a)
Pork	USA	144–450	USDA (1999)
Pork kidney	Spain	849–1543	Díaz-Alarcon et al. (1996a)
	Spain	256–800	Díaz-Alarcon et al. (1996a)
Ham	Australia	200	Tinggi (1999)
Oyster	Australia	770	Marro (1996)

Type of sample	Origin	Se content (ng/g)	Reference
<b>Meat, chicken, fish and eggs</b>			
Salmon	Australia	270-368	Marro (1996)
Tuna (in oil) <sup>a</sup>	Egypt	810.0	Akl et al. (2006)
Sardines	Australia	570	Fardy et al. (1994)
Eggs	Greece	172.8	Pappa et al. (2006)
	Australia	0.7-14.2	Marro (1996)
<b>Miscellaneous</b>			
Apple juice	Australia	0.7-5.1	Marro (1996)
Beer	Australia	5.00	Marro (1996)
Cornflakes	Greece	19.7±0.6	Pappa et al. (2006)
	Australia	62.9	Marro (1996)
Extra virgin olive oil	Greece	1.1±0.6	Pappa et al. (2006)
Olive oil	Australia	5.30	Marro (1996)
Honey	Greece	1.7±0.004	Pappa et al. (2006)
Herbal tea	India	190±18	Manjusha et al. (2007)
Tea infusion <sup>b</sup>	Australia	5.00	Marro (1996)
Cardamon	India	80±4	Manjusha et al. (2007)
Mustard seeds	India	248±15	Manjusha et al. (2007)
Black pepper	India	116	Singh and Garg (2006)
Vinegar	Spain	0.653-2.344	Díaz et al. (1997)
Tap water	Greece	2.2±0.7 <sup>c</sup>	Pappa et al. (2006)
Sugar, raw	USA	69.0	Marro (1996)
Chocolate	UK	41.0	Barclay et al. (1995)
	USA	39.0	USDA (1999)
Margarine	Australia	0.71-18.6	Marro (1996)
	USA	Nd <sup>d</sup> -10	USDA (1999)
	New Zealand	6.00-16.0	NZ-ICFRL (2000)
Data are referred to wet weight.			
<sup>a</sup> Processed fishery food.			
<sup>b</sup> Tea, brewed 5 min.			
<sup>c</sup> Data expressed as µg/l.			
<sup>d</sup> nd, Not detectable.			

Fuente: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.06.024>

## ANEXO 6. IMPLEMENTACIÓN DE PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CLOROFILAS

Para desarrollar y validar los protocolos de extracción y cuantificación de clorofila, se implementó en el laboratorio de Alimentos de INIA La Platina (Santiago) dos métodos de extracción sólido-líquido utilizando solventes orgánicos, para clorofila a y b: utilizando acetona 80% y metanol 100% como solventes en alfalfa y espinaca (seleccionada como control). El contenido de clorofilas se evaluó por espectrofotometría, de acuerdo a lo propuesto por Abadía & Abadía (1993) con modificaciones y Wellburn (1994) con modificaciones.

### RESULTADOS

Le extracción de clorofilas con Metanol al 100% resultó ser más efectiva que la extracción con acetona. Por esto, todas las muestras evaluadas en el proyecto fueron analizadas con este método (Figura 6.1 y 6.2).

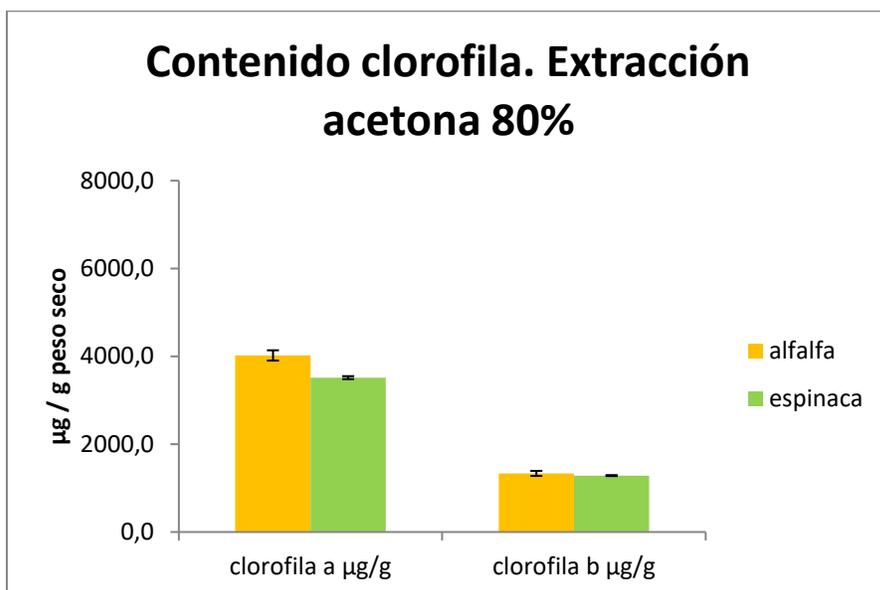
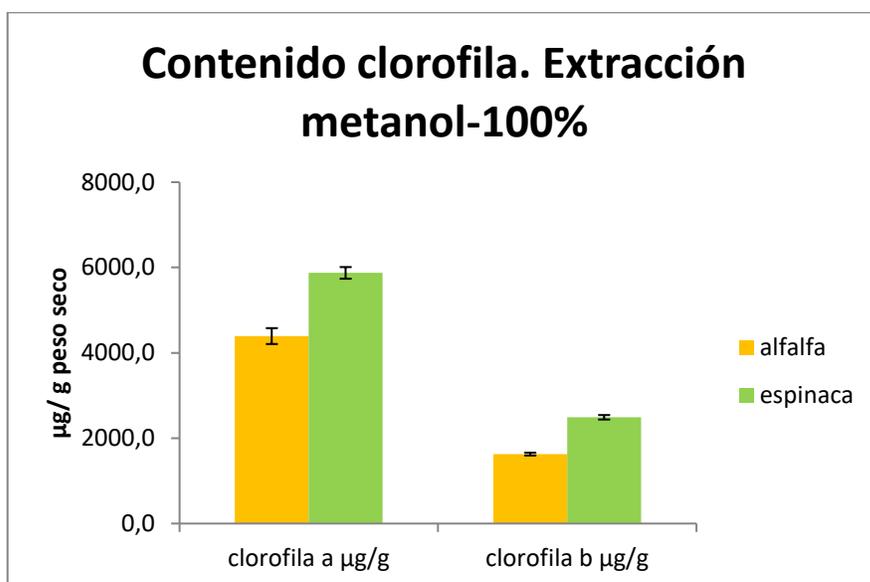


Figura 6.1. Contenido de clorofila a y b, extracción con acetona 80%.



**Figura 6.2. Contenido de clorofila a y b, extracción con metanol.**

### **Extracción de clorofilas con Método Metanol 100%**

Se empleó el método de extracción con metanol 100% para cuantificación de clorofila a, b y total en Praderas. Este procedimiento fue aplicado en muestras liofilizadas y secas en estufa, obtenidas de los ensayos establecidos en INIA Carillanca (muestras corte 1 y 2 de la temporada), en muestras secas en estufa de los ensayos establecidos en INIA Quilamapu (muestras corte 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 de la temporada) y en el ensayo de fertilidad establecidos en macetas en INIA Carillanca (muestras corte 1 y 2 de la temporada). El contenido de clorofilas se cuantificó por espectrofotometría, de acuerdo a lo propuesto por Wellburn (1994) con modificaciones. Se trabajó en este método en el Laboratorio de Alimentos ubicado en INIA La Platina.

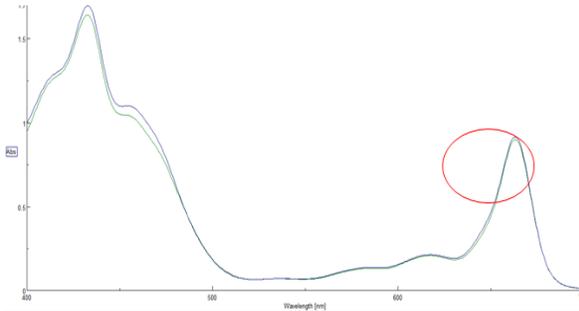
### **Protocolo de extracción**

Las muestras se sometieron a dos tipos de deshidratación: Liofilización (considerado proceso representativo para materia prima fresca) y secado en estufa (considerado proceso de secado convencional materia prima seca). Los tratamientos aplicados fueron Liofilización y secado en estufa 65°C/48h en muestras cosechadas en INIA Carillanca y secado en estufa aplicando shock térmico inicial 105°C/1h, luego 40°C/24h en muestras cosechadas en INIA Quilamapu. Para el ensayo de fertilidad en macetas en INIA Carillanca se utilizó el tratamiento con liofilización.

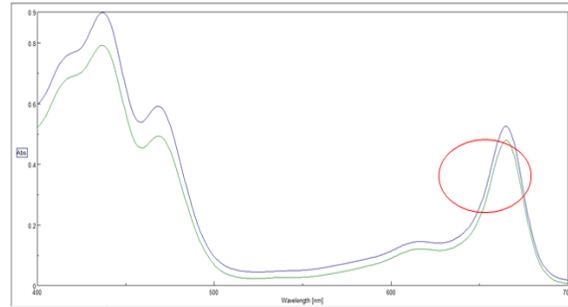
Las muestras una vez deshidratadas fueron sometidas a molienda y despachadas a Laboratorio de Alimentos ubicado en INIA La Platina. Para la extracción de clorofilas a escala laboratorio y su cuantificación mediante espectrofotometría. Esta metodología se implementó también en el laboratorio de Alimentos en INIA Carillanca, para evaluar los cortes del ensayo de fertilización.

Para la extracción se pesaron 100 mg de tejido, se le incorporo 10 ml de metanol y se homogenizo en vortex por 15 segundos, y luego se centrifugo a 6000 rpm por 10 min a 4°C (HERMLE, Z 300K, GERMANY). Se recuperó el sobrenadante y se volvió a repetir los pasos hasta extraer todo el color, se filtró en (PTFE 0,2µm; 13 mm de diámetro) para eliminar los restos vegetales. El extracto se colecto en un matraz de aforo de 25 ml. Y se analizó por espectrofotometría inmediatamente.

**Figura 6.3. Espectros de absorción.**



Espectro de absorción de alfalfa (verde) y espinaca (azul).  
Solvente : acetona.



Espectro de absorción de alfalfa (verde) y espinaca (azul).  
Solvente : metanol

Las concentraciones de Clorofila a (Chl a), Clorofila b (Chl b) se determinaron a través del espectrofotómetro (Jasco, V-730, Japon) según lo descrito en las ecuaciones 1 y 2, una vez cuantificadas los contenidos de clorofila a y b se realizó el cálculo para el contenido de clorofila total.

$$Chl a (\mu g \cdot mL^{-1}) = 15,65 A_{666} - 7,34 A_{653} \quad (1)$$

$$Chl b (\mu g \cdot mL^{-1}) = 27,05 A_{653} - 11,21 A_{666} \quad (2)$$

## **RESULTADOS**

En el marco del proyecto FIA-Clorofilas, se determinó el contenido de clorofilas de 420 muestras de forraje derivadas de los distintos experimentos realizados en INIA-Quilamapu (Chillán) y Carillanca (Temuco). A continuación se describen las cuantificaciones por experimento.

**SECCIÓN 1:** Ensayos INIA Carillanca informando resultados para muestras Liofilizadas y secas en estufa 65°C/48h, para cortes 1 y 2.

**SECCIÓN 2:** Resumen de resultados ensayos INIA Quilamapu (se comparan resultados desde cortes 1 al 7).

**SECCIÓN 3:** Ensayo de fertilidad establecido en macetas en INIA Carillanca (muestras corte 1 y 2 de la temporada).

## SECCIÓN 1. Evaluación de la estrategia de secado de la biomasa sobre el contenido de clorofila (ensayo Carillanca cortes 1 y 2).

### METODOLOGÍA:

Para determinar el efecto del proceso de secado sobre la cuantificación de clorofilas en muestras de biomasa de especies forrajeras, se establecieron dos tratamientos de secado: Liofilizado y secado en horno a 65°C por 48 horas. La comparación se realizó en los Cortes 1 y 2 del experimento establecido en Carillanca (Temuco; Anexo 1).

### RESULTADOS

#### CORTE 1

Las nueve especies forrajeras analizadas son las listadas en la Tabla 6.1.

**Tabla 6.1.** Listado de especies forrajeras analizadas obtenidas de cosecha de INIA Carillanca y Quilamapu.

<b>Especie</b>	<b>Nombre</b>
Alfalfa	ACB 350
Alfalfa	Sardi seven
T. rosado	Superqueli
L. corniculatus	Quimey
L. tenuis	Lt 14
B. perenne 2n	Expo AR1
B. perenne 4n	Base AR1
Bromo	Bronco
Festuca	Exella

En Tabla 6.2 se informan contenidos de clorofila a, b y total para muestras de especies forrajeras correspondientes a corte 1 de INIA Carillanca sometidas a tratamiento de Liofilización.

**Tabla 6.2.** Contenido de clorofila a y b para especies forrajeras (corte 1) INIA-Carillanca, muestras tratadas por liofilización.

Especie	Nombre	Clorofila a (mg/g)	CV (%)	Clorofila b (mg/g)	CV (%)	Clorofila total (mg/g)	CV (%)
Alfalfa	ACB 350	2,6 ± 1,1	40,7	1,0 ± 0,4	36,1	3,6 ± 1,4	39,4
Alfalfa	Sardi seven	1,9 ± 0,4	20,5	0,7 ± 0,2	30,0	2,6 ± 0,6	21,4
T. rosado	Superqueli	3,4 ± 0,9	25,3	1,3 ± 0,2	14,5	4,7 ± 1,0	21,5
L. corniculatus	Quimey	2,6 ± 0,3	12,7	1,0 ± 0,0	4,9	3,6 ± 0,4	10,3
L. tenuis	Lt 14	3,4 ± 1,2	35,4	1,4 ± 0,4	32,7	4,8 ± 1,7	34,6
B. perenne 2n	Expo AR1	1,8 ± 0,3	17,8	0,8 ± 0,1	14,4	2,6 ± 0,4	16,6
B. perenne 4n	Base AR1	1,8 ± 0,5	25,9	0,8 ± 0,2	21,1	2,6 ± 0,6	24,4
Bromo	Bronco	3,7 ± 0,3	8,8	1,5 ± 0,1	8,6	5,2 ± 0,4	7,9
Festuca	Exella	3,3 ± 0,4	11,4	1,3 ± 0,3	22,8	4,6 ± 0,6	13,4

En Tabla 6.3 se informan contenidos de clorofila a, b y total para muestras de especies forrajeras correspondientes a corte 1 de INIA Carillanca sometidas a tratamiento de Secado en estufa.

**Tabla 6.3.** Contenido de clorofila a y b para especies forrajeras (corte 1) INIA-Carrillanca, muestras tratadas por secado en estufa.

Especie	Nombre	Clorofila a (mg/g)	CV (%)	Clorofila b (mg/g)	CV (%)	Clorofila total (mg/g)	CV (%)
Alfalfa	ACB 350	1,3 ± 0,3	20,3	0,4 ± 0,1	15,1	1,7 ± 0,3	18,9
Alfalfa	Sardi seven	0,7 ± 0,2	24,7	0,3 ± 0,1	20,9	0,9 ± 0,2	23,2
T. rosado	Superqueli	1,4 ± 0,3	22,1	0,6 ± 0,1	23,1	1,9 ± 0,4	22,2
L. corniculatus	Quimey	1,2 ± 0,3	25,7	0,4 ± 0,1	26,3	1,7 ± 0,4	25,9
L. tenuis	Lt 14	1,7 ± 0,3	16,6	0,6 ± 0,1	20,1	2,3 ± 0,4	17,4
B. perenne 2n	Expo AR1	0,7 ± 0,2	26,5	0,3 ± 0,1	27,3	1,0 ± 0,3	26,7
B. perenne 4n	Base AR1	0,9 ± 0,2	20,5	0,4 ± 0,1	21,3	1,3 ± 0,3	20,7
Bromo	Bronco	1,9 ± 0,3	18,0	0,9 ± 0,2	19,3	2,7 ± 0,5	18,4
Festuca	Exella	1,6 ± 0,3	19,6	0,8 ± 0,2	20,1	2,4 ± 0,5	19,7

La Tabla 6.4, muestra la comparación y análisis estadístico del contenido de clorofila a, b y total, para las 9 especies forrajeras corte 1 INIA-Carillanca, tratadas por liofilización y Secado en estufa.

**Tabla 6.4** Comparación contenido promedio de clorofila a, clorofila b y clorofila total (mg/g), de las especies forrajeras evaluadas corte 1, por liofilización y secado en estufa, ensayo Carillanca.

Especie	Código	Clorofila total (mg/g)		*Pérdida (%)
		Liofilización	Secado en Estufa	
Alfalfa dorm4	A(1)	3,6 ± 1,4 <sup>bc</sup>	1,7 ± 0,3 <sup>cd</sup>	52,8
Alfalfa dorm7	A(2)	2,6 ± 0,6 <sup>c</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>e</sup>	65,4
T. Rosado	TR	4,7 ± 1,0 <sup>ab</sup>	1,9 ± 0,4 <sup>bc</sup>	59,6
L. Corniculatus	LC	3,6 ± 0,4 <sup>bc</sup>	1,7 ± 0,4 <sup>cd</sup>	52,8
L. Tenuis	LT	4,8 ± 1,7 <sup>ab</sup>	2,3 ± 0,4 <sup>ab</sup>	52,1
B. Perenne 2n	BP2	2,6 ± 0,4 <sup>c</sup>	1,0 ± 0,3 <sup>e</sup>	61,5
B. Perenne 4n	BP4	2,6 ± 0,6 <sup>c</sup>	1,3 ± 0,3 <sup>de</sup>	50,0
Bromo	B	5,2 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,5 <sup>a</sup>	48,1
Festuca	F	4,6 ± 0,6 <sup>ab</sup>	2,4 ± 0,5 <sup>ab</sup>	47,8

\*Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre especies de un mismo tratamiento (Fisher, 95% nivel de confianza). \*Pérdida (%): porcentaje pérdida de clorofila en tratamiento secado en estufa con respecto a tratamiento liofilizado.

Para ambos tratamientos de secado los mayores contenidos de clorofila se obtuvieron en las muestras de la especie Bromo. No obstante, los valores de clorofilas de todas las muestras secas en estufa, fueron significativamente menores que los valores obtenidos en las muestras liofilizadas, disminuyendo en más de un 50% su contenido de clorofilas, con respecto a las mismas muestras liofilizadas.

## CORTE 2

En Tabla 6.5 se informan contenidos de clorofila a, b y total para muestras de especies forrajeras correspondientes a corte 2 de INIA Carrillanca sometidas a tratamiento de Liofilización.

**Tabla 6.5.** Concentraciones de clorofila a, b, y total, para especies forrajeras (corte 2) INIA-Carrillanca (muestras liofilizadas).

Especie	Nombre	Clorofila a (mg/g)	CV (%)	Clorofila b (mg/g)	CV (%)	Clorofila total (mg/g)	CV (%)
Alfalfa dorm4	ACB350	4,2 ± 0,6	13,4	1,6 ± 0,2	15,5	5,7 ± 0,8	13,9
Alfalfa dorm7	SARDI7	1,9 ± 0,2	9,3	0,7 ± 0,1	10,4	2,5 ± 0,2	9,6
T. Rosado	Superqueli	3,8 ± 0,4	9,9	1,5 ± 0,2	11,9	5,3 ± 0,6	10,5
L. Corniculatus	quimey	4,5 ± 0,3	7,0	1,6 ± 0,1	8,3	6,1 ± 0,4	7,3
L. Tenius	Lt14	4,6 ± 0,3	6,0	1,7 ± 0,1	4,5	6,3 ± 0,3	5,5
B. Perenne 2n	ExpoAR1	2,7 ± 0,7	26,1	1,2 ± 0,4	36,7	3,9 ± 1,1	29,2
B. Perenne 4n	BaseAR1	3,9 ± 1,5	37,9	1,7 ± 0,6	38,5	5,6 ± 2,1	38,1
Bromo	Bronco	2,3 ± 0,5	20,1	0,9 ± 0,2	23,8	3,2 ± 0,7	21,0
Festuca	excella2	3,2 ± 1,2	39,1	1,2 ± 0,5	44,2	4,4 ± 1,8	40,5

En Tabla 6.6 se informan contenidos de clorofila a, b y total para muestras de especies forrajeras correspondientes a corte 2 de INIA Carrillanca sometidas a tratamiento de secado en estufa.

**Tabla 6.6.** Concentraciones de clorofila a, b, y total, para especies forrajeras (corte 2) INIA-Carrillanca (muestras secas en estufa).

Especie	Nombre	Clorofila a (mg/g)	CV (%)	Clorofila b (mg/g)	CV (%)	Clorofila total (mg/g)	CV (%)
Alfalfa dorm4	ACB350	1,4 ± 0,1	4,1	0,5 ± 0,0	3,5	1,9 ± 0,0	2,2
Alfalfa dorm7	SARDI7	0,8 ± 0,2	24,2	0,3 ± 0,1	35,8	1,1 ± 0,3	27,6
T. Rosado	Superqueli	1,4 ± 0,2	16,7	0,6 ± 0,1	13,1	2,0 ± 0,3	15,5
L. Corniculatus	quimey	1,8 ± 0,2	10,0	0,6 ± 0,1	8,1	2,4 ± 0,2	9,4
L. Tenius	Lt14	2,2 ± 0,3	13,4	0,8 ± 0,1	10,4	3,0 ± 0,4	12,5

B. Perenne 2n	ExpoAR1	1,9 ± 0,2	10,6	1,0 ± 0,1	12,4	2,9 ± 0,3	11,1
B. Perenne 4n	BaseAR1	2,1 ± 0,6	27,4	1,0 ± 0,3	28,6	3,1 ± 0,9	27,8
Bromo	Bronco	2,0 ± 0,2	10,5	0,9 ± 0,1	9,9	2,9 ± 0,3	10,2
Festuca	excella2	3,0 ± 0,3	8,6	1,4 ± 0,2	10,8	4,4 ± 0,4	9,3

La Tabla 6.7, muestra la comparación y análisis estadístico del contenido de clorofila total para las especies forrajeras corte 2, tratadas por liofilización y secado en estufa. Además, se calculó el porcentaje de pérdida de clorofila total para cada especie forrajera, entre ambos tratamientos (secado en estufa con respecto a liofilización).

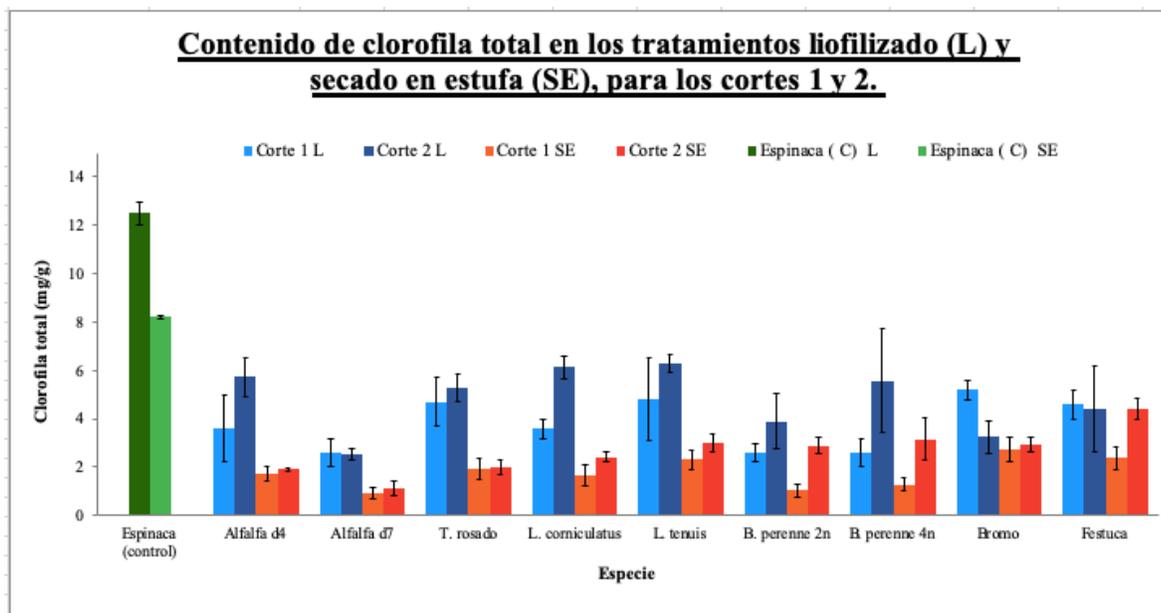
**Tabla 6.7.** Contenido promedio de clorofila total (mg/g), de las especies forrajeras evaluadas corte 2, por liofilización y secado por estufa, ensayo Carillanca.

Especie	Código	Clorofila total (mg/g)		*Pérdida (%)
		Liofilización	Secado en Estufa	
Alfalfa dorm4	A(1)	5,7 ± 0,8 <sup>ab</sup>	1,9 ± 0,0 <sup>d</sup>	66,8
Alfalfa dorm7	A(2)	2,5 ± 0,2 <sup>e</sup>	1,1 ± 0,3 <sup>e</sup>	56,3
T. Rosado	TR	5,3 ± 0,6 <sup>abc</sup>	2,0 ± 0,3 <sup>d</sup>	62,0
L. Corniculatus	LC	6,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,4 ± 0,2 <sup>cd</sup>	60,3
L. Tenuis	LT	6,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	3,0 ± 0,4 <sup>bc</sup>	52,3
B. Perenne 2n	BP2	3,9 ± 1,1 <sup>cde</sup>	2,9 ± 0,3 <sup>bc</sup>	25,7
B. Perenne 4n	BP4	5,6 ± 2,1 <sup>ab</sup>	3,1 ± 0,9 <sup>b</sup>	43,7
Bromo	B	3,2 ± 0,7 <sup>de</sup>	2,9 ± 0,3 <sup>bc</sup>	10,2
Festuca	F	4,4 ± 1,8 <sup>bcd</sup>	4,4 ± 0,4 <sup>a</sup>	0,0

\*Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre especies de un mismo tratamiento (Fisher, 95% nivel de confianza). \*Pérdida (%): porcentaje pérdida de clorofila total en tratamiento secado en estufa respecto al tratamiento liofilizado.

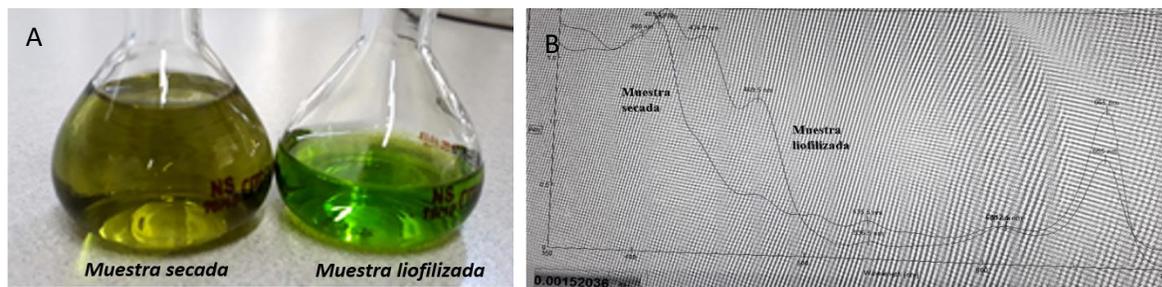
Se observa mayores pérdidas de contenido de clorofila para las muestras Alfalfa dorm4, Alfalfa dorm7, T. Rosado, L. Corniculatus L. Tenuis, B. Perenne 4n, siendo los valores alcanzados para muestras liofilizados mayores respecto a secado en estufa. Mientras que en cambio para las muestras B. Perenne 2n, Bromo, Festuca alcanzan valores similares en ambos tratamientos, siendo la pérdida (%) menor respecto a muestras liofilizadas.

La Figura 6.4 muestra comparación del contenido promedio de clorofila total para los cortes 1 y 2 de INIA Carillanca sometidos a liofilización y secado en estufa (considerando las 4 parcelas, de cada tratamiento), utilizando como control espinaca tratada por liofilización y secada en estufa.



**Figura 6.4.** Contenido de clorofila total, para especies forrajeras liofilizadas y secas en horno convencional (corte 1 y 2), ensayo Carillanca.

La Figura 6.5 (A) muestra los extractos obtenidos desde la especie forrajera para el tratamiento liofilizado y seco en estufa, además la Figura 6.5 (B) muestra el espectro de absorción de cada extracto



**Figura 6.5:** Extractos de alfalfa seca y liofilizada (A) y espectro de absorción de cada extracto (B)

En la Figura 6.5 (A) es posible observar visualmente el efecto del tratamiento de secado (materia prima seca versus fresca), evidenciándose cambio de color en muestra seca debido a la formación de compuestos de degradación de las clorofilas que tienen color verde-amarillo. Las primeras son de color amarillo y se forman por acidificación del medio, mientras que las últimas son de color verde-amarillo pardo y se generan por altas temperaturas. En la Figura 6.5 (B) se observa el espectro de absorción de las muestras de ambos tratamientos observándose la disminución de los peaks de clorofila y aparición de peaks de degradación. Esta comparación permite confirmar que la liofilización (deshidratado sin aplicación de

temperatura, sublimación del agua) es un tratamiento de deshidratación que no afecta las propiedades de la materia prima lo cual permite establecer como comportamiento de materia prima fresca.

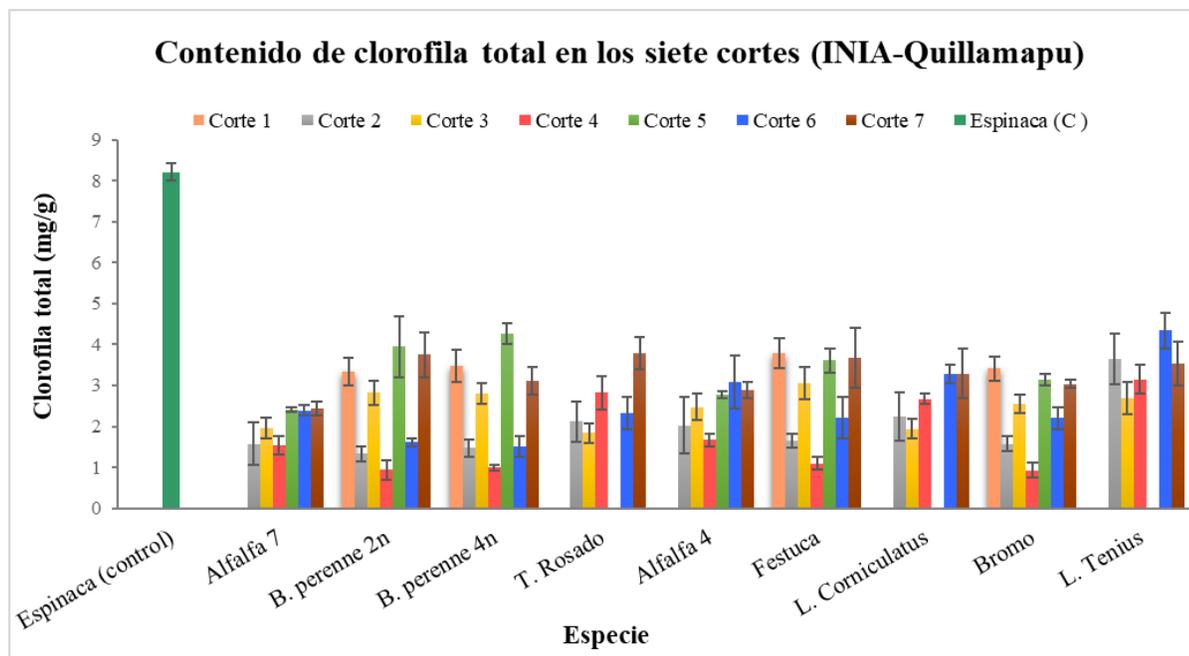
## **CONCLUSIÓN**

1. Las especies forrajeras del corte 2 obtuvieron mayor cantidad de clorofila total, respecto al corte 1, para ambos tratamientos evaluados. Se confirma que el proceso de liofilizado es el tratamiento con menor incidencia en el contenido de clorofila, en comparación al secado en estufa, ya que conserva de mejor manera las propiedades organolépticas y nutricionales del producto. El secado en estufa provoca una disminución en la cantidad de clorofilas ya que estas se degradan con la temperatura, generando compuestos de degradación clorofílicos (feofitinas y pirofeofitinas). Por lo mismo es que también disminuyen las cantidades de clorofilas en el tratamiento de secado.
2. La implicancia técnica de estos resultados, para el proceso de producción de clorofilas, es que el transporte y el proceso industrial de las muestras de forraje debería ser con material fresco. Ya que el proceso de secado (henificado) afecta el contenido y calidad de las clorofilas.

## SECCIÓN 2: RESUMEN CONTENIDO DE CLOROFILA - ENSAYOS INIA QUILAMAPU CORTES 1 AL 7

A continuación se muestra un resumen comparativo de los cortes 1 al 7 de los ensayos realizados en INIA-Quilamapu.

La Figura 6.6 presenta una comparación gráfica del contenido promedio de clorofila total (considerando las 4 parcelas de cada corte) para cada especie forrajera evaluada en los siete cortes, utilizando como control espinaca seca en estufa (secado en estufa aplicando shock térmico inicial 105°C/1h, luego 40°C/24h).



**Figura 6.6.** Gráfico del contenido de clorofila total, para especies forrajeras secas en estufa (corte 1, 2, 3, 4, 5, 6, y 7), ensayo INIA- Quilamapu.

Todas las especies forrajeras secas en estufa presentaron una disminución en el contenido de clorofila total, con respecto a la muestra control (espinaca seca en estufa). En general, los cortes 1, 5, y 7, obtuvieron mayor contenido de clorofila total en las 9 especies forrajeras evaluadas.

La Tabla 6.8 presenta el contenido promedio de clorofila total (considerando las 4 parcelas) y análisis estadístico para cada especie forrajera evaluada en los siete cortes, utilizando como control espinaca (seca en estufa). Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) unifactorial y test de Fisher LSD para identificar diferencias significativas entre especies forrajeras secas en estufa para un mismo corte.

**Tabla 6.8.** Contenido promedio de clorofila total (mg/g) para especies forrajeras en los siete cortes, provenientes de INIA-Quilamapu (tratamiento de secado en estufa a 105°C por 1 hora, y 40°C por 24 horas).

CLOROFILA TOTAL (mg/g muestra seca)								
Especie	Corte 1	Corte 2	Corte 3	Corte 4	Corte 5	Corte 6	Corte 7	Promedio
Alfalfa 7	-	1,6 ± 0,5 <sup>cd</sup>	2,0 ± 0,3 <sup>c</sup>	1,5 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>e</sup>	2,4 ± 0,1 <sup>c</sup>	2,4 ± 0,2 <sup>e</sup>	2,1 ± 0,4
B. perenne 2n	3,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,3 ± 0,2 <sup>d</sup>	2,8 ± 0,3 <sup>ab</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>d</sup>	3,9 ± 0,7 <sup>ab</sup>	1,6 ± 0,1 <sup>d</sup>	3,8 ± 0,5 <sup>ab</sup>	2,5 ± 1,2
B. perenne 4n	3,5 ± 0,4 <sup>a</sup>	1,5 ± 0,2 <sup>cd</sup>	2,8 ± 0,3 <sup>ab</sup>	1,0 ± 0,1 <sup>d</sup>	4,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,5 ± 0,3 <sup>d</sup>	3,1 ± 0,3 <sup>bcd</sup>	2,5 ± 1,2
T. Rosado	-	2,1 ± 0,5 <sup>bc</sup>	1,8 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,8 ± 0,4 <sup>ab</sup>	-	2,3 ± 0,4 <sup>c</sup>	3,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,8
Alfalfa 4	-	2,0 ± 0,7 <sup>bc</sup>	2,5 ± 0,3 <sup>b</sup>	1,7 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,8 ± 0,1 <sup>de</sup>	3,1 ± 0,6 <sup>b</sup>	2,9 ± 0,2 <sup>de</sup>	2,5 ± 0,5
Festuca	3,8 ± 0,4 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,2 <sup>bcd</sup>	3,1 ± 0,4 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,2 <sup>d</sup>	3,6 ± 0,3 <sup>bc</sup>	2,2 ± 0,5 <sup>c</sup>	3,7 ± 0,7 <sup>abc</sup>	2,7 ± 1,1
L. Corniculatus	-	2,2 ± 0,6 <sup>b</sup>	1,9 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	-	3,3 ± 0,2 <sup>b</sup>	3,3 ± 0,6 <sup>abcd</sup>	2,7 ± 0,6
Bromo	3,4 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,2 <sup>cd</sup>	2,5 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,9 ± 0,2 <sup>d</sup>	3,1 ± 0,1 <sup>cd</sup>	2,2 ± 0,3 <sup>c</sup>	3,0 ± 0,1 <sup>cde</sup>	2,4 ± 0,9
L. Tenius	-	3,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	2,7 ± 0,4 <sup>ab</sup>	3,2 ± 0,3 <sup>a</sup>	-	4,3 ± 0,4 <sup>a</sup>	3,5 ± 0,5 <sup>abcd</sup>	3,5 ± 0,6
*Espinaca control (8,2 ± 0,2)								

Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre especies de un mismo corte (Fisher LSD, 95% nivel de confianza). \*, Clorofila total espinaca control: 8,2 mg/g muestra seca).

Como se observa en la tabla 6.8, las especies forrajeras analizadas del corte 1, no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Lo contrario ocurrió en los demás cortes, donde sí se observaron diferencias estadísticamente significativas entre especies ( $p < 0,05$ ).

El mayor contenido clorofílico entre especies forrajeras difiere por cortes. En los cortes 1 y 3, fue la especie forrajera Festuca quien obtuvo la mayor cantidad de clorofila total, mientras que para los cortes 2, 4, y 6, fue la especie L. Tenius. Para el corte 5, fue la especie B. perenne 4n, y en el corte 7, tanto B. perenne 2n como T. Rosado se destacaron por presentar mayor contenido de clorofilas.

Las especies forrajeras B. perenne 4n y L. Tenius pertenecientes a los cortes 5 y 6 respectivamente, presentaron un contenido significativamente mayor de clorofila total, con 4,3 mg/g de muestra seca, respecto al resto de los cortes de INIA Quilamapu. Este valor representa el 52% del contenido clorofílico de la muestra control de espinaca seca en estufa.

Por su parte, las especies forrajeras B. perenne 2n y Bromo, correspondientes al corte 4, obtuvieron el menor contenido clorofílico, con 0,9 mg/g. Este corte se caracterizó principalmente por presentar menor contenido de clorofila total en la mayoría de sus especies forrajeras, respecto a los demás cortes.

Además, se indica que la especie forrajera L. Tenius fue la que, en promedio (considerando todos los cortes), presentó el mayor contenido clorofílico de todas las especies forrajeras secas en estufa provenientes de INIA-Quilamapu, mientras que la especie forrajera Alfalfa Dorm 7 fue la que obtuvo en promedio, el menor contenido de clorofila total, aun considerando que existió heterogeneidad entre cortes para una misma especie.

## **CONCLUSIONES**

1. Todas las especies forrajeras secas en estufa obtuvieron menor cantidad de clorofila total, respecto al contenido de clorofilas de la espinaca control seca en estufa.
2. El tratamiento de secado en estufa fue el principal causante de la pérdida generalizada de clorofilas, las cuales se ven afectadas negativamente por la temperatura.
3. Para la selección de las especies forrajeras de mayor potencial es necesario correlacionar la información de contenido de clorofila total con los rendimientos de cada especie y ensayo (Anexo 1).

### SECCIÓN 3: ENSAYOS DE FERTILIDAD EN MACETAS INIA CARILLANCA

Se informa el contenido de clorofila a y b y total, en muestras liofilizadas de especies forrajeras (Alfalfa y Trébol rosado), con 2 niveles de fertilidad, correspondientes al primer y segundo corte - ensayo INIA Carillanca 2020, proyecto FIA PYT-2018-0289-Clorofilas.

#### OBJETIVO

Cuantificar clorofila a y b, y total (mg/g), en especies forrajeras sometidas estrategias de fertilización con Mg y S.

Detalle de las muestras analizadas:

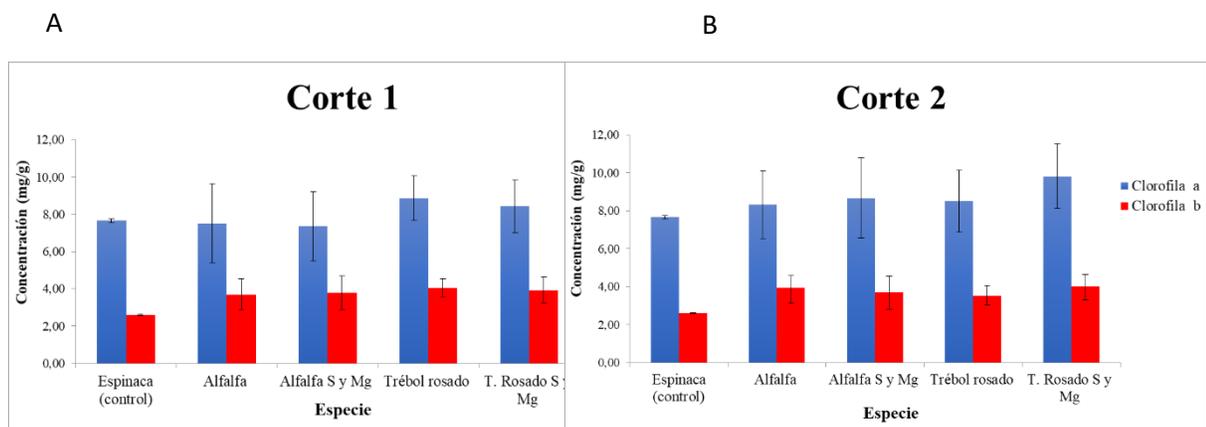
Espece repeticiones)	(N°	Corte 1	Corte 2
Alfalfa (12)		Temporada 2020	Temporada 2020
Trébol rosado (12)		Ensayo: Carillanca	Ensayo: Carillanca
Alfalfa S y Mg (12)		Fecha corte: mayo 2020.	Fecha corte: Julio 2020.
T. Rosado S y Mg (12)		Cantidad de muestras: 48.	Cantidad de muestras: 48.
		Etiqueta: Muestreo 1 Macetas FIA Clorofilas- mayo 2020	Etiqueta: Muestreo 2 Macetas FIA Clorofilas- Julio 2020

En paralelo, se cuantificó clorofilas (mg/g) a una muestra control de espinaca liofilizada, luego molida y tamizada bajo las mismas condiciones de las muestras de ensayo (Anexo 6.1).

#### RESULTADOS

##### Contenido de clorofila a, b y total en muestras de especies forrajeras liofilizadas (ensayo Carillanca).

A continuación, la Figura 6.7 (A-B) muestra el contenido de clorofila a y b para Alfalfa y Trébol Rosado y su nivel de fertilización respectiva. Se usa como control espinaca liofilizada, tanto para el corte 1 como para el corte 2. El detalle de los resultados se muestra en el Anexo 6.2 (Tabla 6.2.1 y Tabla 6.2.2; promedio y desviación estándar), respectivamente.



**Figura 6.7.** Contenido de clorofila *a* y *b* para Alfalfa y Trébol rosado, y su nivel de fertilización, evaluado por corte. Corte 1 (A) y Corte 2 (B).

Para el corte 1, las especies forrajeras mostraron valores superiores de clorofila *a* y *b*, respecto a la espinaca control, a excepción de las muestras de Alfalfa y Alfalfa S y Mg y su contenido de clorofila *a*. Mientras que la de mayor contenido clorofílico fue la especie forrajera T. Rosado.

Para el corte 2, todas las muestras forrajeras presentaron valores superiores de clorofila *a* y *b*, respecto al control, siendo T. Rosado S y Mg la de mayor contenido clorofílico.

En la Tabla 6.9 y 6.10 se presentan las concentraciones promedio y análisis estadístico del contenido de clorofila *a*, *b* y total (mg/g), por especie forrajera con su nivel de fertilización, para el corte 1 y 2 respectivamente. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) unifactorial y test de Fisher LSD para identificar diferencias significativas entre especies forrajeras liofilizadas.

**Tabla 6.9.** Contenido de clorofila *a*, *b*, y total, de las muestras forrajeras corte 1, liofilizadas, ensayo INIA-Carillanca.

Especie	Clorofila <i>a</i> (mg/g)	CV%	Clorofila <i>b</i> (mg/g)	CV%	Clorofila total (mg/g)	CV%
Alfalfa	7,5 ± 2,1 <sup>ab</sup>	28,4	3,7 ± 0,8 <sup>a</sup>	22,4	11,2 ± 2,9 <sup>a</sup>	26,3
Trébol rosado	8,9 ± 1,2 <sup>a</sup>	13,4	4,0 ± 0,5 <sup>a</sup>	12,0	12,9 ± 1,7 <sup>a</sup>	12,8
Alfalfa S y Mg	7,4 ± 1,9 <sup>b</sup>	25,4	3,8 ± 0,9 <sup>a</sup>	23,9	11,1 ± 2,8 <sup>a</sup>	24,8
T. Rosado S y Mg	8,4 ± 1,4 <sup>ab</sup>	16,5	3,9 ± 0,7 <sup>a</sup>	17,6	12,4 ± 2,1 <sup>a</sup>	16,7
*Espinaca control	7,6 ± 0,1	1,2	2,6 ± 0,0	1,5	10,3 ± 0,2	1,5

\*Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre especies (Fisher LSD, 95% nivel de confianza).

Para el corte 1, todas las especies forrajeras presentaron valores superiores de clorofila total, respecto a la espinaca control (10,3 mg/g). En la tabla 6.9, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las especies forrajeras (Fisher LSD, 95% nivel de confianza) ni respecto al de fertilización respectivo. Aun así, se puede observar que la especie forrajera Trébol rosado obtuvo mayor contenido de clorofila total (12,9 mg/g), y las muestras forrajeras con menor contenido de clorofila total fueron las correspondiente a Alfalfa S y Mg, y Alfalfa, ambas con 11,1 y 11,2 mg/g respectivamente.

## CORTE 2

**Tabla 6.10.** Contenido de clorofila *a*, *b*, y total, de las muestras forrajeras corte 2, liofilizadas, INIA-Carillanca.

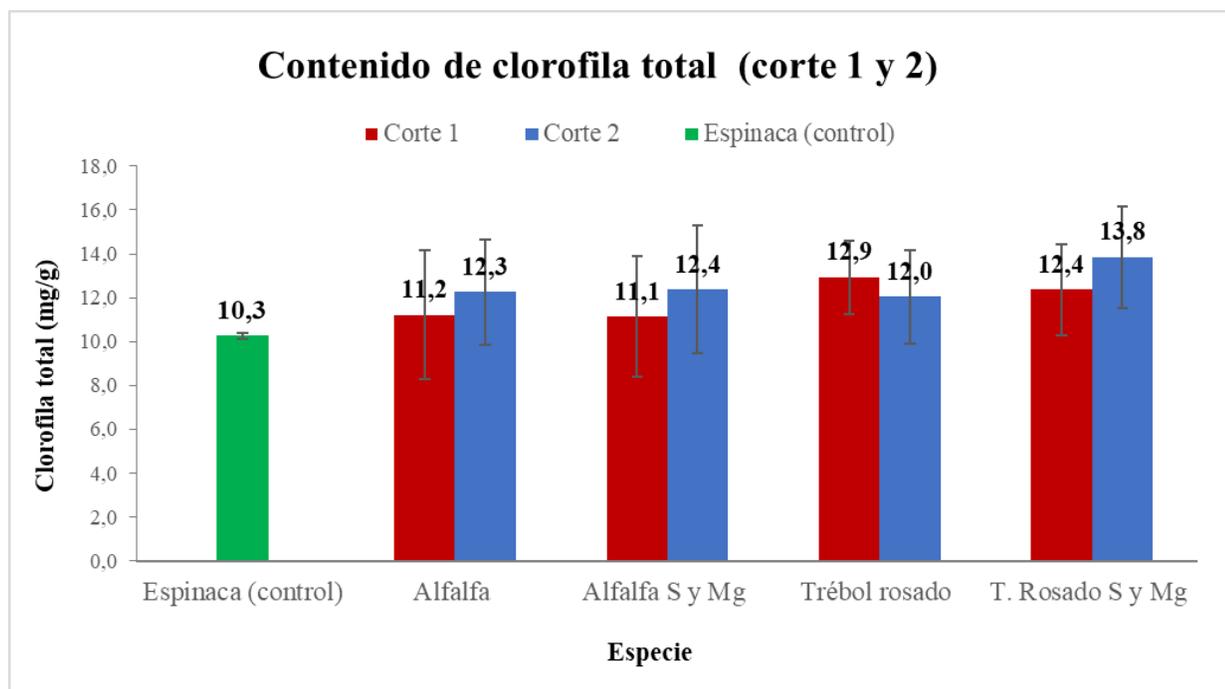
Especie	Clorofila <i>a</i> (mg/g)	CV%	Clorofila <i>b</i> (mg/g)	CV%	Clorofila total (mg/g)	CV%
Alfalfa	8,3 ± 1,8 <sup>b</sup>	21,5	4,0 ± 0,6 <sup>a</sup>	15,7	12,3 ± 2,4 <sup>a</sup>	20,0
Trébol rosado	8,5 ± 1,6 <sup>ab</sup>	19,1	3,5 ± 0,5 <sup>a</sup>	14,9	12,0 ± 2,1 <sup>a</sup>	17,8
Alfalfa S y Mg	8,7 ± 2,1 <sup>ab</sup>	24,3	3,7 ± 0,8 <sup>a</sup>	22,5	12,4 ± 2,9 <sup>a</sup>	23,6
T. Rosado S y Mg	9,8 ± 1,7 <sup>a</sup>	17,5	4,0 ± 0,6 <sup>a</sup>	15,3	13,8 ± 2,3 <sup>a</sup>	16,7
*Espinaca control	7,6 ± 0,1	1,2	2,6 ± 0,0	1,5	10,3 ± 0,2	1,5

\*Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre especies (Fisher LSD, 95% nivel de confianza).

Al igual que el corte 1, todas las especies forrajeras evaluadas del corte 2 presentaron valores superiores de clorofila total, respecto a la espinaca control y, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre especies forrajeras (Fisher LSD, 95% nivel de confianza) ni respecto al nivel de fertilización respectivo. No obstante, se observa que la especie forrajera con mayor contenido de clorofila total fue Trébol rosado S y Mg (13,8 mg/g), mientras que Trébol rosado fue la que presentó el menor contenido de clorofila total con 12,0 mg/g.

Considerando esta información y la de los cortes anteriormente informados (cortes 1 y 2), se realizó una evaluación del contenido de clorofila total para las especies forrajeras, del ensayo INIA-Carillanca.

La Figura 6.7 presenta una comparación gráfica del contenido promedio de clorofila total para cada especie forrajera evaluada y sus niveles de fertilización respectivos, en los 2 cortes, utilizando como control espinaca (liofilizada).



**Figura 6.8.** Gráfico del contenido de clorofila total, para especies forrajeras liofilizadas, del corte 1 y 2, ensayo INIA- Carillanca.

La figura 6.8 confirma que, para ambos cortes, las especies forrajeras liofilizadas presentaron un mayor contenido de clorofila total, respecto a la muestra control (espinaca liofilizada), y además, presentan similitud en el contenido clorofílico, tanto entre especies forrajeras (Alfalfa y T. rosado) como con su nivel de fertilización respectivo.

No obstante, el corte 2, en general, obtuvo contenido poco mayor de clorofila total en las especies forrajeras evaluadas, a excepción del T. Rosado que obtuvo su mayor contenido en el corte 1. Además, se observa que, la especie forrajera Alfalfa (y su nivel de fertilización) presentó menor contenido clorofílico, ambas con un promedio de 11,8 mg/g entre los dos cortes. Y, T. rosado S y Mg fue la muestra que, en promedio (considerando ambos cortes), presentó el mayor contenido clorofílico de entre todas las demás muestras forrajeras del ensayo-Carillanca, con 13,1 mg/g.

## 6.1. REGISTRO FOTOGRAFICO DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS



Figura 1: muestras liofilizadas ensayo INIA Carillanca.



Figura 2: Extractos de Clorofila.

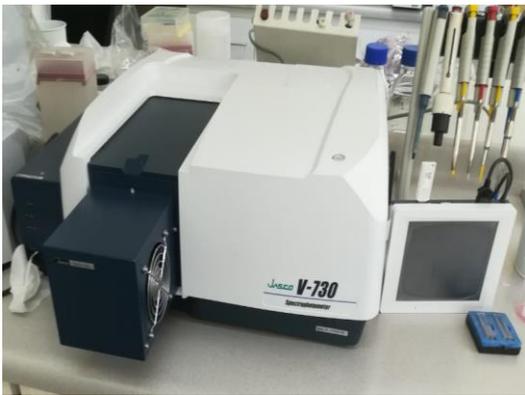


Figura 3: espectrofotometro (JascoV-730, japon).



Figura 4: Absorbancias de los extractos.

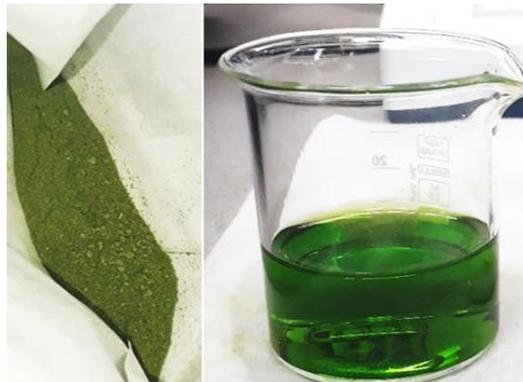
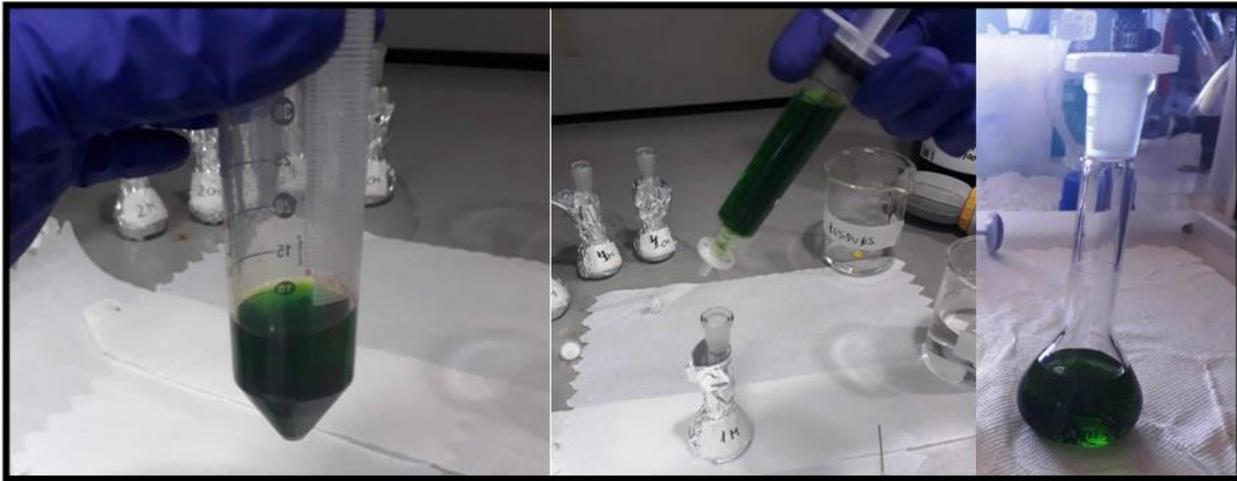


Figura 5: muestra y extracto de espinaca seca (control) en estufa (65°C, 48h).



**Figura 6. Imágenes del proceso de extracción de clorofilas para su posterior cuantificación, en INIA Carillanca.**



**Figura 7. Imágenes del tratamiento de la muestra control de espinaca (liofilizada, molida y tamizada) para su posterior cuantificación de clorofilas (mg/g). Ensayo Carillanca.**

## 6.2. RESULTADOS CONTENIDO DE CLOROFILA ENSAYO INIA-CARILLANCA

**Tabla 6.2.1.** Resultados del contenido de clorofila a, b, y total, de las muestras forrajeras corte 1, liofilizadas, ensayo INIA-Carillanca.

Muestreo 1 Macetas FIA Clorofilas – Mayo 2020	Clorofila <i>a</i> (mg/g)	DS	Clorofila <i>b</i> (mg/g)	DS	Clorofila total (mg/g)	DS
1	7,48	0,05	3,47	0,04	10,94	0,09
2	8,80	0,00	4,18	0,02	12,99	0,02
3	5,58	0,03	3,43	0,05	9,00	0,09
4	9,32	0,13	4,19	0,04	13,51	0,16
5	2,87	0,08	1,61	0,05	4,48	0,13
6	7,30	0,07	3,74	0,06	11,04	0,13
7	7,82	0,20	4,00	0,15	11,82	0,35
8	4,73	0,09	2,63	0,04	7,35	0,13
9	7,97	0,14	4,02	0,06	11,99	0,19
10	9,24	0,08	4,31	0,05	13,55	0,04
11	10,09	0,08	4,42	0,02	14,51	0,10
12	9,00	0,11	4,29	0,01	13,29	0,12
13	8,21	0,20	3,78	0,03	11,99	0,24
14	5,81	0,07	2,83	0,02	8,64	0,10
15	9,18	0,06	4,36	0,03	13,54	0,09
16	9,32	0,05	3,91	0,01	13,23	0,04
17	8,45	0,06	3,98	0,03	12,44	0,08
18	10,30	0,08	4,64	0,10	14,94	0,18
19	8,88	0,03	4,01	0,02	12,90	0,05
20	9,08	0,12	4,19	0,10	13,27	0,22
21	8,82	0,31	4,00	0,14	12,82	0,45
22	10,36	0,21	4,64	0,08	15,00	0,30

23	8,42	0,17	3,83	0,08	12,26	0,25
24	9,70	0,05	4,46	0,10	14,15	0,15
25	6,23	0,14	3,39	0,08	9,62	0,21
26	8,30	0,09	4,12	0,07	12,42	0,16
27	9,86	0,37	4,67	0,15	14,53	0,51
28	5,72	0,11	3,23	0,01	8,95	0,13
29	9,16	0,06	4,80	0,06	13,96	0,12
30	5,70	0,05	3,23	0,01	8,93	0,06
31	4,67	0,03	2,26	0,01	6,93	0,04
32	8,43	0,00	4,14	0,00	12,57	0,00
33	4,65	0,04	2,35	0,00	6,99	0,05
34	8,75	0,03	4,65	0,00	13,40	0,03
35	9,30	0,01	4,80	0,04	14,10	0,05
36	7,52	0,40	3,74	0,10	11,25	0,50
37	5,48	0,04	2,45	0,00	7,93	0,03
38	8,98	0,13	4,17	0,09	13,15	0,23
39	8,84	0,21	3,99	0,04	12,83	0,25
40	8,77	0,07	4,05	0,02	12,82	0,09
41	9,30	0,05	4,25	0,03	13,55	0,02
42	9,62	0,22	4,63	0,18	14,25	0,39
43	8,77	0,16	4,52	0,13	13,30	0,29
44	5,54	0,12	2,65	0,03	8,19	0,16
45	9,26	0,18	4,52	0,08	13,78	0,27
46	9,12	0,12	4,21	0,07	13,33	0,20
47	8,95	0,01	3,80	0,01	12,75	0,01
48	8,57	0,04	3,95	0,01	12,52	0,05

**Tabla 6.2.2.** Resultados del contenido de clorofila *a*, *b*, y total, de las muestras forrajeras corte 2, liofilizadas, ensayo INIA-Carillanca.

Muestreo 2 Macetas FIA Clorofilas – Julio 2020	Clorofila <i>a</i> (mg/g)	DS	Clorofila <i>b</i> (mg/g)	DS	Clorofila total (mg/g)	DS
1	8,16	0,03	3,66	0,00	11,82	0,04
2	8,92	0,06	4,11	0,03	13,03	0,09
3	10,48	0,18	4,63	0,10	15,11	0,28
4	4,42	0,10	2,50	0,08	6,92	0,19
5	8,72	0,02	4,12	0,00	12,84	0,02
6	5,82	0,05	3,22	0,03	9,04	0,08
7	10,66	0,01	4,78	0,00	15,43	0,01
8	8,74	0,10	4,19	0,07	12,92	0,17
9	9,70	0,13	4,35	0,01	14,04	0,15
10	7,30	0,06	3,78	0,02	11,08	0,05
11	8,41	0,07	3,85	0,05	12,27	0,11
12	8,43	0,27	4,22	0,16	12,66	0,44
13	9,17	0,04	3,77	0,04	12,94	0,08
14	6,31	0,02	2,94	0,01	9,25	0,03
15	10,50	0,25	4,32	0,09	14,82	0,34
16	7,44	0,03	3,01	0,02	10,45	0,01
17	9,47	0,04	3,80	0,05	13,26	0,09
18	8,85	0,11	3,53	0,06	12,38	0,17
19	10,23	0,10	4,00	0,02	14,23	0,12
20	11,15	0,04	4,29	0,02	15,43	0,06
21	7,87	0,08	3,51	0,05	11,38	0,13

22	6,26	0,06	2,71	0,03	8,98	0,09
23	7,70	0,05	3,28	0,05	10,98	0,11
24	7,23	0,49	3,15	0,21	10,38	0,70
25	11,47	0,00	4,98	0,02	16,45	0,02
26	9,77	0,04	4,37	0,03	14,14	0,08
27	8,94	0,10	3,93	0,09	12,87	0,18
28	10,21	0,22	4,05	0,10	14,26	0,32
29	10,75	0,01	4,46	0,05	15,21	0,04
30	7,09	0,02	3,05	0,00	10,13	0,02
31	9,85	0,17	4,05	0,02	13,90	0,15
32	9,81	0,21	4,14	0,09	13,95	0,30
33	4,83	0,05	2,59	0,01	7,42	0,06
34	5,26	0,10	2,10	0,02	7,37	0,12
35	8,62	0,04	3,70	0,01	12,31	0,03
36	7,47	0,04	3,12	0,04	10,59	0,09
37	12,91	0,03	5,17	0,02	18,08	0,05
38	7,86	0,06	3,30	0,06	11,16	0,12
39	9,69	0,08	4,51	0,03	14,19	0,11
40	10,07	0,07	4,19	0,03	14,26	0,09
41	10,90	0,16	4,21	0,08	15,11	0,24
42	11,58	0,26	4,57	0,03	16,15	0,30
43	8,31	0,07	3,62	0,04	11,93	0,10
44	7,80	0,08	3,14	0,02	10,95	0,05
45	8,83	0,09	3,65	0,05	12,47	0,14
46	7,86	0,05	3,39	0,08	11,25	0,13
47	10,45	0,11	4,00	0,04	14,45	0,15

48	11,60	0,17	4,49	0,11	16,10	0,28
----	-------	------	------	------	-------	------

## **ANEXO 7. PROTOCOLO EXTRACCIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE CLOROFILA A ESCALA LABORATORIO**

### **7.1 Protocolo de extracción y estabilización de clorofila en formato líquido**

#### **ETAPA 1: Recepción y caracterización de materia prima**

Se realizó la recepción y caracterización inicial de la materia prima en estado fresco, la especie forrajera utilizada para desarrollar el protocolo para elaboración de extractos de clorofila escala laboratorio fue Alfalfa. La materia prima fue cortada y despachada en caja de plumavit con gel pack vía Overnight, las muestras se recibieron en buenas condiciones y la alfalfa se mantenía aún en estado fresco.

La caracterización inicial de las muestras se realizó en base a la concentración de clorofila de la alfalfa fresca, la cuantificación se realizó mediante espectrofotometría de acuerdo con el “protocolo de extracción y cuantificación de clorofilas” (descrito anteriormente). El batch de alfalfa fresca utilizada alcanzó una concentración de  $7,0 \pm 0,4$  mg de clorofila total/g alfalfa fresca y un 17,7% de materia seca.

#### **ETAPA 2: Extracción de clorofila y concentración de extracto**

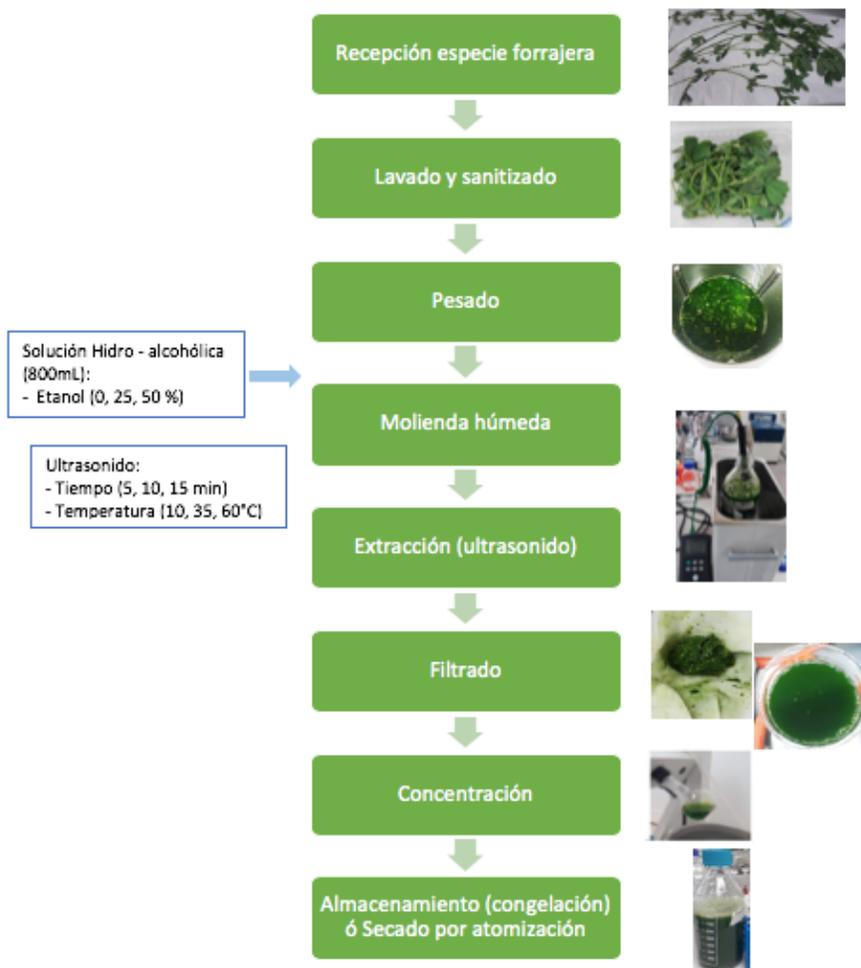
Se recibió la muestra de Alfalfa en estado fresco, se sometió a lavado y sanitizado. Posteriormente, se aplicó diseño de experimentos para evaluar las condiciones de proceso de extracción.

El diseño experimental aplicado fue Taguchi L9, optimizado mediante Metodología Superficie Respuesta (RSM) evaluando tres variables independientes:

- Contenido de etanol en solución hidroalcohólica (0-50%)
- Temperatura de extracción (10-60°C)
- Tiempo de extracción (5-15 min).

La variable respuesta utilizada fue: rendimiento de extracción de clorofila total.

La Figura 7.1 muestra el diagrama de flujo utilizado para la extracción de clorofila desde alfalfa fresca a escala laboratorio. El diagrama consideró procesos de molienda húmeda (adicionando solución hidro-alcohólica), extracción asistida por ultrasonido controlando temperatura y tiempo (de acuerdo con condición del diseño de experimentos), filtración y concentración. Además, se considera como siguiente etapa a realizar el secado por atomización del extracto para obtener un producto en polvo.



**Figura 7.1.** Diagrama de flujo a escala laboratorio y fotografías para la extracción de clorofila obtenida a partir de especie forrajera.

La Tabla 7.1 presenta las condiciones experimentales, y la variable respuesta “rendimiento de extracción de clorofila total”. Los resultados del rendimiento de extracción de clorofila fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) unifactorial y test de Fisher LSD para identificar diferencias significativas entre experimentos.

Se observa que los rendimientos de extracción significativamente más altos se alcanzaron en las corridas 1, 2 y 9, observándose el efecto de la mezcla agua: etanol para la extracción y la temperatura sobre el contenido de clorofila total. Además, en Tabla 7.1 se incorporaron observaciones de las apreciaciones visuales de cada extracto obtenido, siendo muy evidente la degradación de las clorofilas en los extractos que alcanzaban color amarillo, indicativo de la degradación de clorofila.

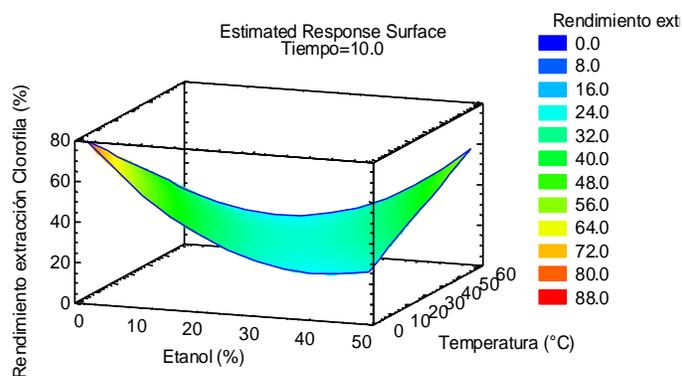
**Tabla 7.1.** Condiciones experimentales, y rendimiento de extracción de clorofila.

Experimento/ corrida	Variables Independientes			Variable dependiente	Observaciones
	factor A	factor B	factor C	Rendimiento de extracción (%)	
	% Etanol (0-50)	T° (°C) (10 - 60)	Tiempo (min) (5 -15)	filtrado	
1	0	10	5	60,0 <sup>a</sup>	Extracto color verde / 11°C máx.
2	0	35	10	61,6 <sup>a</sup>	Extracto color verde / 34°C máx.
3	0	60	15	24,7 <sup>d</sup>	Extracto color amarillo
4	25	10	10	36,4 <sup>c</sup>	Extracto color verde
5	25	35	15	26,5 <sup>d</sup>	Extracto color verde-amarillo /38°C máx.
6	25	60	5	23,4 <sup>d</sup>	Extracto color amarillo- verde
7	50	10	15	33,9 <sup>c</sup>	Extracto color verde / 15°C máx.
8	50	35	5	43,7 <sup>b</sup>	Extracto color verde
9	50	60	10	64,2 <sup>a</sup>	Extracto color verde

\*Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre experimentos de un mismo rendimiento de extracción (líquido) (Fisher, 95% nivel de confianza).

La Figura 7.2 muestra el gráfico de RSM para la maximización del rendimiento de extracción de clorofila total obtenida desde alfalfa fresca al aplicar diseño experimental. El gráfico de RSM muestra el efecto significativo del contenido de etanol y la temperatura que se observó en las extracciones, lo anterior se corroboró al determinar el rendimiento de extracción de clorofila.

Por otro, lado el diseño experimental y la RSM muestra que es factible de alcanzar sobre un 64% de rendimiento de extracción de clorofila total, incluso pudiendo llegar en condiciones óptimas de extracción a valores cercanos al 80%. La selección de las condiciones de proceso estarán condicionadas a la factibilidad de utilizar en planta de proceso una solución hidroalcohólica (agua: etanol), en caso que la planta no tenga la capacidad de trabajar con etanol, entonces la extracción deberá utilizar condiciones con solvente acuoso.



**Figura 7.2.** Gráfico RSM para la maximización del rendimiento de extracción de clorofila total.

**ETAPA 3: Estudio de estabilidad acelerada de los extractos**

Para realizar el estudio de estabilidad del extracto de clorofila se evaluó estabilidad en almacenamiento en dos condiciones: 1) luz natural a 20°C, y 2) en oscuridad a 60°C almacenando en estufa con aire forzado, por un período de almacenamiento de 25 días.

Con el objetivo de comparar estabilidad en dichas condiciones se elaboró, además, un extracto estabilizado en medio líquido a través de síntesis de clorofila a clorofila-cúprica.

Se cuantificó clorofila total (mg/mL de muestra) a las muestras de extracto de clorofila y extracto de clorofila cúprica, de acuerdo con las ecuaciones del método propuesto por Wellburn (1994) y se calculó la retención de clorofila total (%) a los 25 días de almacenamiento, respecto al tiempo cero.

La Tabla 7.2 presenta el contenido clorofílico de los extractos de clorofila, en condiciones de luz, y a 60°C en oscuridad, a los 25 días de almacenamiento.

**Tabla 7.2.** Retención de clorofila total (%) de los extractos de clorofila a los 25 días de almacenamiento.

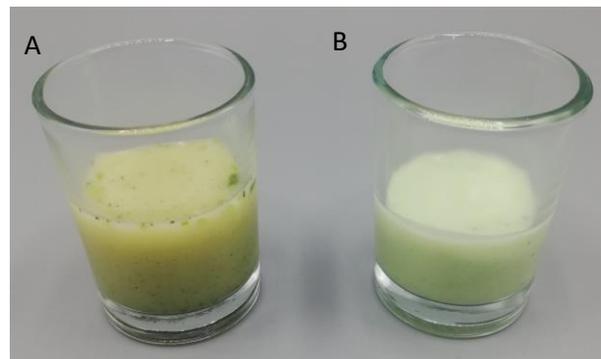
Extracto	Retención de clorofila total (%)	
	60°C / Día 25	Expuesto a la Luz natural/ Día 25
Clorofila	55,6 ± 0,9 <sup>b</sup>	5,3 ± 0,3 <sup>b</sup>
Clorofila cúprica	72,1 ± 0,5 <sup>a</sup>	64,7 ± 0,8 <sup>a</sup>

\*Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05) entre experimentos de un mismo rendimiento de extracción (líquido) (Fisher, 95% nivel de confianza).

Al exponer en almacenamiento los extractos durante 25 días se observa que en ambas condiciones evaluadas (efecto temperatura y luz) el extracto de clorofila tuvo una degradación significativamente mayor. Sin embargo, se observa que la luz es el factor con mayor efecto sobre la estabilidad de la clorofila por sobre la temperatura. En extracto en medio líquido sin otra tecnología habilitante el extracto de clorofila es sensible a degradación. Es por ello la importancia de su estabilización ya sea mediante síntesis de clorofila-cúprica o bien utilizando tecnologías como congelación o deshidratación (secado por atomización) para aumentar su estabilidad.

#### **ETAPA 4: Aplicabilidad de extracto de clorofila en matrices alimentarias**

Se evaluó la aplicación de extracto de clorofila en matrices alimentarias utilizando como matriz láctea (yogurt natural) y matriz en polvo para reconstituir (sopa de verduras). La Figura 7.3 muestra fotografías de las aplicaciones en ambas matrices alimentarias.



**Figura 7.3.** Fotografía de aplicación de extracto de clorofila en sopa de verduras reconstituida (A) y yogur natural (B)

Como se observa en la Figura 7.3 el extracto adicionado a sopa de verduras reconstituida entrega un adecuado color verde esperado para dicha matriz (Fig. 7.3 A), en el caso de la aplicación en yogurt natural se observó un comportamiento adecuado de solubilidad entregando coloración verde como fue esperado (Fig. 7.3 B). La aplicación del extracto en matriz alimentaria se realiza con el objetivo de evaluar la factibilidad de incorporación, su solubilidad, precipitación entre otras características. Una evaluación posterior a realizar para obtener datos de recomendaciones de uso, es evaluar diferentes dosis y tipos de extractos.

## 7.2 Protocolo de extracción y estabilización de clorofila formato polvo

### Obtención de extracto clorofila en formato polvo

Para la obtención del extracto de clorofila en formato polvo, se elaboró el extracto líquido siguiendo el diagrama de flujo del protocolo escala laboratorio descrito en la sección 1. Dicho protocolo contempla los siguientes pasos: se recepcionó la muestra de alfalfa en estado fresco, se sometió a lavado, luego a molienda húmeda (con solución hidro-alcohólica y relación sólido - líquido 1:5), posteriormente se realizó extracción asistida con ultrasonido, para luego filtrar y concentrar el extracto.

El extracto en formato polvo se obtuvo mediante el uso de la técnica, secado por atomización, utilizando un secador Büchi B-290 (servicio a terceros). Para ello se siguieron los siguientes pasos: El extracto líquido fue homogenizado con carrier (maltodextrina), para obtener la solución de alimentación la cual fue atomizada al secador por atomización, al finalizar este proceso se obtiene el extracto en polvo. La Figura 7.4 muestra el diagrama de flujo y fotografías para la obtención del extracto de clorofila en polvo.



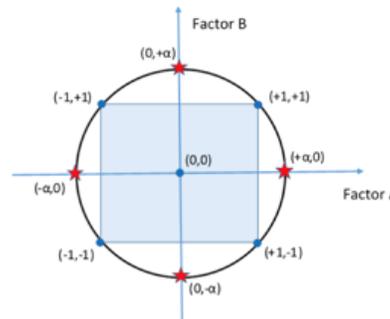
**Figura 7.4.** Diagrama de flujo a escala laboratorio para obtención de extracto clorofila en polvo, mediante secado por atomización.

Para el proceso de secado por atomización se aplicó diseño experimental composito central más punto axial, utilizando como variables independientes la temperatura de secado ( $^{\circ}\text{C}$ ) y el contenido de sólidos (%) de la solución de alimentación, sobre las variables respuesta “recuperación de clorofila y rendimiento del proceso”. Ambas variables de respuesta se maximizaron y se utilizó la variable deseabilidad para la optimización múltiple mediante Metodología de Superficie Respuesta. La Figura 7.5 muestra el diagrama y distribución de puntos experimentales para diseño experimental, incluyendo los niveles y rangos de variables independientes estudiadas.

**Variables independientes:**

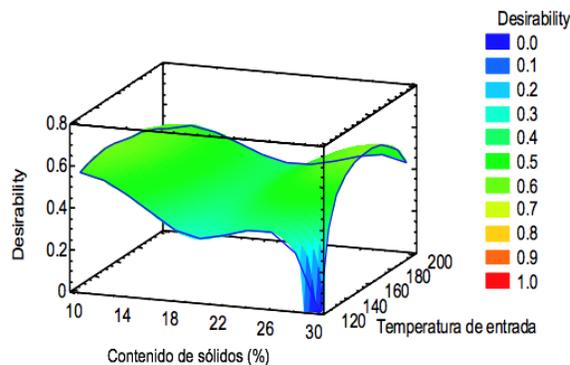
[Factor A] Temperatura de secado ( $120\text{--}200^{\circ}\text{C}$ )

[Factor B] Contenido de sólidos en alimentación ( $10\text{--}30\%$ )



**Figura 7.5.** Rangos de variables independientes estudiados y distribución de puntos experimentales del diseño de experimentos.

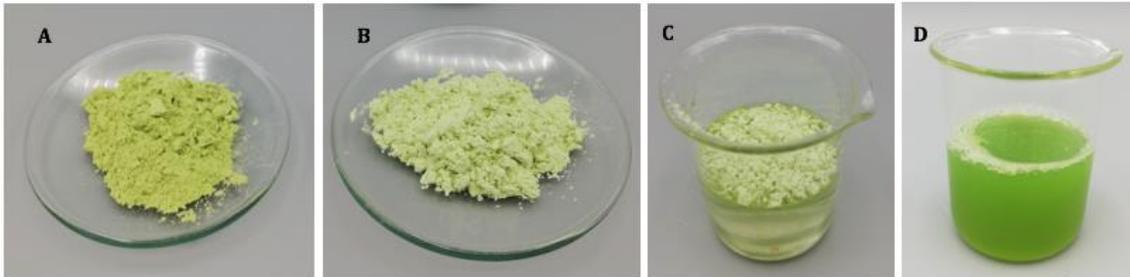
La Figura 7.6 muestra el gráfico de Metodología de Superficie Respuesta para la optimización del proceso de secado, se observó efecto significativo del contenido de sólidos y la temperatura de secado, siendo la condición óptima para el proceso de secado:  $30\%$  sólidos y  $150^{\circ}\text{C}$ . Estas condiciones establecidas son factibles de aplicar en secador por atomización a escala piloto e industrial, considerando como factores importantes para escalamiento el tipo de atomizador y el rendimiento del equipo a utilizar.



**Figura 7.6.** Gráfico Metodología de Superficie Respuesta para la maximización de variables respuesta, aplicando la variable de optimización Deseabilidad.

El extracto en polvo obtenido se muestra en la Figura 7.7 (A y B), se observa de atractivo color verde el cual dependerá del contenido de sólidos utilizado en el proceso de secado y del nivel

de concentración del extracto a secar. El agente carrier de secado utilizado, en este caso maltodextrina, es responsable del rendimiento del proceso y también de enmascarar el color verde y por lo tanto entregar protección.



**Figura 7.7.** Fotografías del extracto de clorofila en polvo obtenido mediante secado por atomización (A y B), extracto en polvo adicionado en agua (C) y extracto en polvo solubilizado (D).

El extracto en polvo de clorofila alcanzó una humedad  $< 7\%$ , valor que está de acuerdo con lo esperado para productos en polvo obtenidos por la técnica de secado por atomización. Adicionalmente, se evaluó la solubilidad del extracto en polvo, realizando la determinación de solubilidad en agua, como se observa en la Figura 7.7 (C) el extracto en polvo es adicionado en agua (en relación p/v conocido) y se solubiliza liberando el color verde (clorofila) Figura 7.7 (D), el valor de solubilidad fue  $>95\%$ , valor adecuado para extractos en polvo que tienen por objetivo ser incorporados en matrices de alimentos líquidos o para reconstituir.

El siguiente paso es elaborar una cantidad mayor de extracto de clorofila en polvo en las condiciones óptimas de proceso de secado por atomización establecidas. Con dicha producción se podrá realizar la caracterización química, física y morfológica del extracto en polvo. Además, se montará el estudio de estabilidad acelerada en estufa con aire forzado a  $60^{\circ}\text{C}$ , con el fin de determinar la cinética de degradación de clorofila.

### **Aplicabilidad de extracto de clorofila en polvo en matrices alimentarias**

El extracto de clorofila en polvo fue adicionado a dos matrices alimentarias para evaluar su comportamiento. Se utilizó como matriz láctea (yogurt natural) y matriz en polvo para reconstituir (sopa de verduras). La Figura 7.8 muestra fotografías de las aplicaciones en ambas matrices alimentarias.



**Figura 7.8.** Fotografía de aplicación de extracto de clorofila en polvo en yogurt natural (A), yogurt con polvo solubilizado (B) y sopa de verduras reconstituida (C).

Como se observa en la Figura 7.8 el extracto en polvo adicionado a yogurt natural tuvo un comportamiento adecuado de solubilidad entregando coloración verde como fue esperado (Fig. 7.8 B). También en sopa de verduras reconstituida, el extracto en polvo entrega un adecuado color verde esperado para dicha matriz, y al comparar con el control se observa un reforzamiento de la coloración (Fig. 7.8 C), atractivo para el consumidor. La solubilidad evaluada en ambas matrices fue la esperada y alcanzó valores sobre el 95%, observándose un comportamiento adecuado de solubilidad, en yogurt se produjo una disolución del polvo antes de su solubilización completa en la matriz, mientras que en la sopa reconstituida la solubilidad fue instantánea.

### Conclusiones y sugerencias

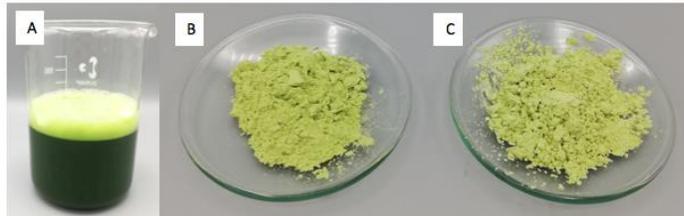
A partir de los resultados alcanzados se observó la factibilidad de obtención de extracto de clorofila en formato polvo, sin pardeamiento y pérdida de color aparente. Los siguientes pasos son claves para: caracterizar el producto obtenido en condiciones óptimas y para determinar la cinética de degradación de clorofila en el extracto en polvo, y con ello poder realizar la recomendación de uso y almacenamiento. Este protocolo se ajustará para ser escalado a planta piloto adecuando cada etapa del proceso a las capacidades que tenga la planta de extracción.

El extracto líquido podría tener aplicaciones directas para el consumo diario de clorofila o la incorporación en formulaciones líquidas, requiriendo de almacenamiento en frío y ausencia de luz para mantener su estabilidad. Mientras que el extracto en polvo es una alternativa para uso como ingrediente en matrices tipo pre-mezclas en polvo, como sopas y jugos para reconstitución y para su adición como colorante en alimentos, sus requerimientos de almacenamiento corresponden a lugar fresco y seco, en ausencia de luz y en envase cerrado. Dependiendo del uso final y aplicación en alimentos se optará por formato líquido o polvo.

### 7.3 Desarrollo y validación de un protocolo para la elaboración de extractos de clorofila con alto valor funcional, evaluando rendimiento de extracción

#### Caracterización de extracto clorofila en formato polvo

El extracto líquido de clorofila obtenido desde alfalfa fresca, fue transformado a polvo mediante el uso de la técnica, secado por atomización, utilizando un secador Büchi B-290 (servicio a terceros). Para ello se siguieron los siguientes pasos descritos en la sección 2: El extracto líquido fue homogenizado con carrier, para obtener la solución de alimentación la cual fue atomizada al secador por atomización, al finalizar este proceso se obtuvo extracto en polvo. Se evaluaron dos tipos de carrier: maltodextrina y goma arábica, su elaboración se realizó bajo las condiciones óptimas de proceso descritas en la sección 2 (30% sólidos y 150°C). Los sistemas obtenidos fueron dos: Extracto clorofila (CL) utilizando maltodextrina (MD) y Goma arábica (GA), los sistemas se nombrarán como CL-MD y CL-GA. La Figura 7.9 muestra fotografías del extracto líquido antes de secar y de los sistemas obtenidos como extracto de clorofila en polvo CL-MD y CL-GA.



**Figura 7.9.** Fotografías del extracto de clorofila antes de secar (A), extracto en polvo con carrier Maltodextrina (CL-MD) (B) y extracto en polvo con carrier Goma Arábica (CL-GA) (C).

La Tabla 7.3 muestra la caracterización química y física de los extractos en polvo de clorofila obtenidos mediante secado por atomización utilizando como carrier Maltodextrina y Goma Arábica. Ambos sistemas alcanzaron altas eficiencias de encapsulación de clorofila (>85%). Los valores de humedad, actividad de agua y rendimiento se encuentran dentro de los rangos esperados para extractos en polvo obtenidos por secado por atomización.

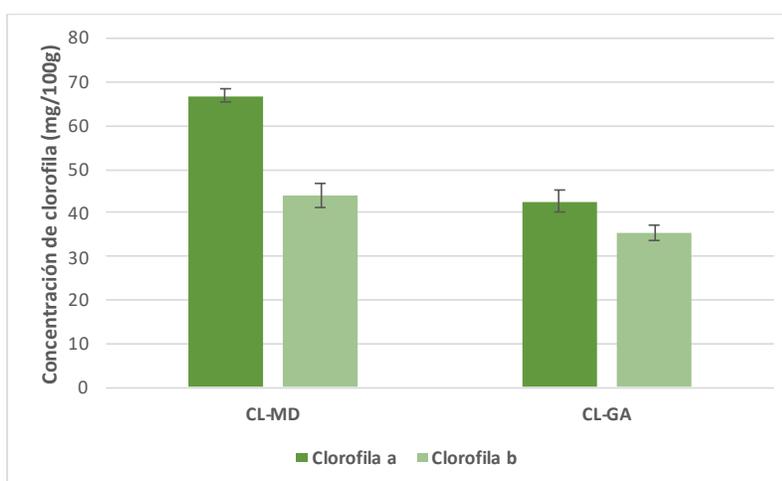
**Tabla 7.3.** Caracterización física y química de los extractos en polvo CL-MD y CL-GA.

	Sistema CL-MD	Sistema CL-GA
<b>Eficiencia de encapsulación (%)</b>	90,1 ± 1,1 <sup>a</sup>	85,2 ± 1,5 <sup>b</sup>
<b>Rendimiento del proceso (%)</b>	61,4 ± 0,9 <sup>a</sup>	50,4 ± 0,4 <sup>b</sup>
<b>Humedad (%)</b>	4,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	5,0 ± 0,3 <sup>a</sup>
<b>Actividad de agua</b>	0,326 ± 0,010 <sup>a</sup>	0,382 ± 0,009 <sup>a</sup>
<b>Higroscopicidad (g de agua/g micropartículas)</b>	75,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	77,1 ± 0,2 <sup>a</sup>

*Letras diferentes indican diferencias significativas mediante test de Tukey entre muestras evaluadas (p<0,05).*

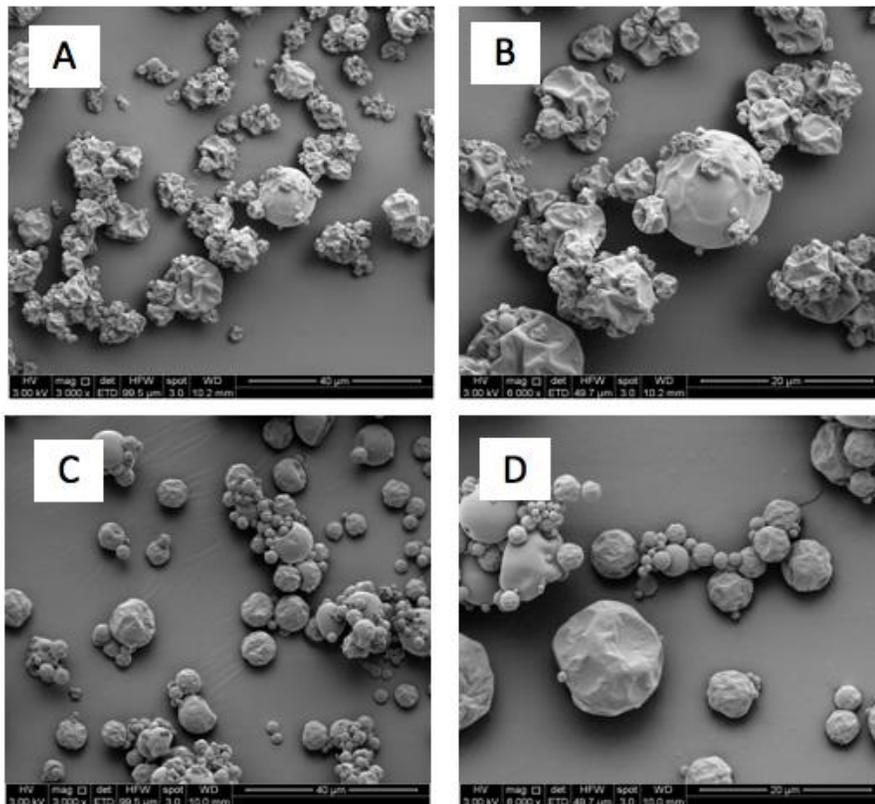
La solubilidad fue > 95% para ambos sistemas evaluados y la higroscopicidad fue similar entre los sistemas y es dependiente del tipo de agente encapsulante, el almacenamiento de las partículas se recomienda en envase cerrado, en ausencia de luz y protegido de la humedad ambiental.

El contenido de clorofila a y b (Figura 7.10) fue levemente menor en el sistema CL-GA, atribuido a la mayor protección y afinidad del extracto con el carrier maltodextrina vs goma arábica en el proceso de secado, se observó similar actividad antioxidante FRAP para los sistemas estudiados alcanzando un valor de 8,0 mg equivalente de Trolox/g de polvo.



**Figura 7.10.** Concentración de clorofila a y b en extracto en polvo con carrier Maltodextrina (CL-MD) y extracto en polvo con carrier Goma Arábica (CL-GA).

La Figura 7.11 muestra la morfología externa de los extractos en polvo para los sistemas evaluados CL-MD y CL-GA. Al analizar las fotografías SEM (Figura 7.11) se observó que el sistema CL-MD posee partículas esféricas, achatadas, con abolladuras y con tendencia a la aglomeración (Figura 7.11 A y B), mientras que en el sistema CL-GA se observaron partículas esféricas con abolladuras en la superficie y aglomeradas (Figura 7.11 C y D). La morfología descrita es esperada para extractos en polvo obtenidos por secado por atomización. El tamaño de partícula tuvo una distribución unimodal y el tamaño promedio para diámetro D (4,3) fue < 8 µm en ambos sistemas.

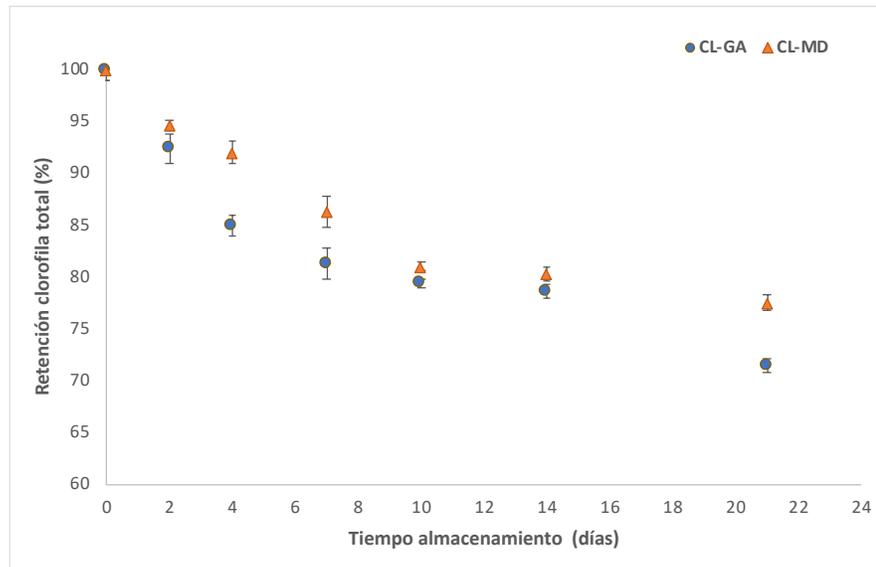


**Figura 7.11.** Microfotografías de extractos en polvo obtenidos bajo condiciones óptimas para los sistemas CL-MD (A y B) y CL-GA (C y D).

Se realizó Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM) como análisis microbiológico de acuerdo al Reglamento Sanitario de Los Alimentos (RSA) para mezclas secas de uso instantáneo, en ambos sistemas de extractos en polvo CL-MD y CL-GA se alcanzó valor ( $<8 \times 10^2$  UFC/g) muy por debajo del límite establecido en RSA ( $10^4$ - $10^5$ ), lo cual valida el potencial uso de los extractos como ingredientes.

#### Estabilidad acelerada

El estudio de estabilidad acelerada se llevó a cabo evaluando el contenido de clorofila a, b y total en almacenamiento a 60°C, en oscuridad con aire forzado y humedad relativa promedio de 15% durante 21 días de almacenamiento. La Figura 7.12 muestra la evolución de la estabilidad de clorofila total el tiempo de almacenamiento a 60°C, graficando retención (%) de clorofila total vs tiempo en días.



**Figura 7.12.** Estabilidad de clorofila de los sistemas de extractos en polvo CL-MD y CL-GA almacenados a 60 °C

La retención de clorofila total a los siete días de almacenamiento en condiciones acelerada alcanzó retenciones por sobre el 80%, mientras que al día 21 alcanzó retención sobre el 70% en ambos sistemas de extracto en polvo, mientras que el extracto en formato líquido sólo alcanzó un 45% de retención al mismo tiempo de almacenamiento. El extracto en polvo con carrier maltodextrina (CL-MD) mostró una retención significativamente mayor al día final de almacenamiento, lo cual se atribuye a la interacción y afinidad entre el carrier y el extracto de clorofila, lo cual imparte protección bajo condiciones aceleradas. De acuerdo a la evolución de clorofila total en el tiempo el ajuste de la cinética de degradación corresponderá a cinética de primer orden.

### Análisis proximal

El análisis proximal de alfalfa fresca y trébol rosado fresco se realizó con laboratorio certificado, ANALAB. Se informa análisis proximal completo (Tabla 7.4) incluyendo fibra dietaria.

**Tabla 7.4.** Análisis proximal de alfalfa y trébol rosado fresco

<b>Especie</b>	<b>Alfalfa fresca</b>	<b>Trébol Rosado fresco</b>
<b>Energía (kcal/100g)</b>	47,12	38,52
<b>Humedad (%)</b>	81,18	84,17
<b>Hidratos de carbono disponibles (%)</b>	4,97	5,72
<b>Azúcares totales (%)</b>	0,8	1,3
<b>Proteínas (%)</b>	3,66	3,91
<b>Materia Grasa (%)</b>	1,4	<0,4
<b>Cenizas (%)</b>	1,87	1,33
<b>Sodio (mg/100g)</b>	9,84	2,22
<b>Fibra Dietaria total (%)</b>	6,92	4,87
<b>Fibra Dietaria soluble (%)</b>	<1,0	<1,0
<b>Fibra Dietaria insoluble (%)</b>	6,28	4,83

El análisis proximal muestra que alfalfa y trébol rosado tienen bajo contenido graso (<1,4%), destaca el contenido de proteínas y aporte de fibra dietaria. Al comparar con otras especies como espinaca (Tabla de composición de alimentos, INTA.2018), se observa bajo contenido graso y menor contenido de proteínas (2,9%) y fibra dietaria (2,2%). Destaca además, el bajo aporte de sodio de ambas especies (9,84 y 2,22 mg/100g) vs espinaca (79 mg/100g).

### **Conclusiones y sugerencias**

A partir de los resultados alcanzados se observó un adecuado comportamiento y características óptimas para extractos de clorofila en polvo, impartiendo protección a las clorofilas. Las recomendaciones de almacenamiento para la mantención adecuada de clorofila son almacenar en lugar fresco y seco, en ausencia de luz y en envase adecuado para aislar de la humedad relativa. De esta manera los extractos en polvo podrán mantenerse en condiciones adecuadas para el manejo de un ingrediente en polvo.

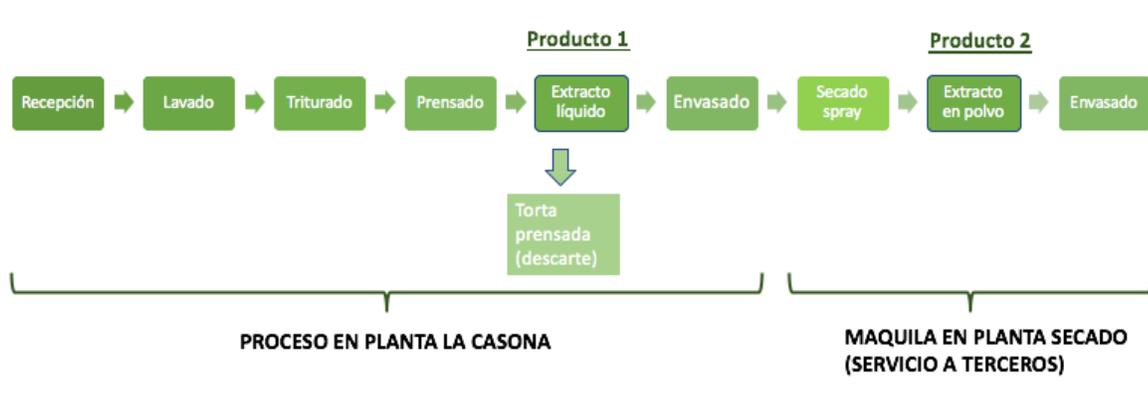
## ANEXO 8. IMPLEMENTACION PROTOCOLO EXTRACCIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE CLOROFILA A ESCALA INDUSTRIAL

### Objetivo 4: Implementar un protocolo piloto para la extracción y formulación de clorofilas a nivel industrial

Para implementar protocolo piloto en planta de empresa asociada, “La Casona El Monte”, se realizaron tres pruebas preliminares, para ajuste de proceso y parámetros para la obtención de extracto líquido de clorofila. Una vez realizado el escalamiento, se realizó la prueba final para obtención del extracto de clorofila en formato líquido en Casona el Monte. Para la obtención de un producto en formato polvo, se contrató servicios con empresa maquiladora de secado (Inasec).

El diagrama de flujo definitivo para el procesamiento de los prototipos en ambiente real fue el que se muestra en Figura 8.1. Se muestran las etapas y operaciones unitarias definidas para obtención de dos productos de clorofila, uno líquido y otro en polvo.

**Figura 8.1. Diagrama de flujo a escala piloto para extracción de clorofila obtenida a partir de especie forrajera.**



Basados en el protocolo a escala laboratorio desarrollado en el objetivo específico 3, se realizó el escalamiento y ajuste de procesos. El diagrama de flujo presentado en la Figura 8.1 permitió realizar el escalamiento de los procesos establecidos para la obtención de extracto de clorofila a partir de biomasa fresca de alfalfa. El escalamiento permitió establecer una capacidad de proceso diaria de 120 kg de alfalfa fresca por día en dependencias de planta proceso de La Casona El Monte.

Durante las pruebas preliminares se realizaron diferentes cambios de condiciones de recepción de materia prima, etapas del proceso de extracción y parámetros de proceso. En las pruebas preliminares se obtuvieron diferentes extractos líquidos variando su contenido de clorofila total entre 112 a 660 mg/kg de extracto, siendo este valor dependiente del tipo de alfalfa que ingresaba como materia prima (época de cosecha, corte de la materia prima, volumen, entre otros).

En base a las pruebas preliminares se definió que la materia prima de entrada debía ser ALFALFA FRESCA, sin picar ni triturar, para mantener la estructura intacta de la planta hasta el procesamiento y con ello evitar la degradación de las clorofilas. Lo que se observaba en el cambio de color de la alfalfa (de verde a verde pardo y café) e inicio de un proceso de fermentación.

El proceso de prensado implementado logró extraer un jugo o extracto de alfalfa, que representó el 83% del peso de la biomasa ingresada al proceso. Lo que es equivalente a extraer el porcentaje de materia seca típico de esta especie forrajera (20%). El extracto obtenido recuperó cerca de un 25% de las clorofilas totales contenidas en la biomasa, el resto quedó contenido en una torta de prensa. En términos cuantitativos, se logró un extracto o jugo de alfalfa que contiene 324,4 mg clorofila total/kg (ver Figura 8.2) y una torta prensada que contiene 995,4 mg clorofila total/kg (considerado descarte del proceso).

**Figura 8.2. Extractos de clorofila en formato líquido obtenidos del proceso de extracción en planta de La Casona El Monte, a partir de alfalfa fresca.**



A continuación, se presenta la descripción de las etapas de proceso del diagrama de flujo definitivo aplicado en planta de la empresa La Casona El Monte.

**RECEPCION:** La alfalfa se recepciona en volumen para trabajo semanal considerando capacidad diaria de proceso de 120 kg/día, la materia prima debe llegar en estado FRESCO entera, sin procesamiento adicional como picado o chipeado.

**LAVADO:** Al equipo lavador de frutas/verduras se agrega agua suficiente para hacer el lavado de alfalfa fresca a fin de retirar la tierra y otros elementos que pudiesen estar presentes. Es necesario sanitizar adicionando una solución de hipoclorito de sodio.



**TRITURADO:** Luego del lavado se procede a la trituración y para ello se coloca alfalfa en cantidades de un kilo aproximadamente, en la máquina trituradora. Es necesario encender y apagar la máquina en cada ocasión, ya que la alfalfa no pasa completamente por el ducto de molienda, quedando la fibra más grande atrapada en las aspas. Para esto se retira en forma manual el residuo y se pone dentro de barril para ser presada posteriormente.



**PRENSADO:**

Una vez que ya está la alfalfa triturada y puesta dentro del barril de presado se comienza con el prensado propiamente tal; fue necesario llenar lo más posible el barril contenedor para llegar hasta la capacidad completa de prensado. Se esperan unos minutos para lograr la máxima compactación y/o hasta que deje de salir líquido y se detiene el proceso.



Torta de alfalfa prensada

Solución de clorofila recién extraída

**ENVASADO:** Posterior al prensado, se colecta el líquido obtenido y se procede a envasar en el recipiente seleccionado. En este caso, se envasó en Doypack de 2 litros cada uno. Se rotulan las muestras y se introducen al congelador para su mantención.

### **SECADO SPRAY:**

Posterior a la obtención del extracto líquido de clorofila, se evaluó la opción de extender su vida útil y almacenar en condición de formato polvo (lo cual requiere sólo de lugar fresco y seco como condición de almacenamiento).

Para ello se utilizó el servicio a terceros con la planta de maquila “Inasec” ubicada en la Región Metropolitana.

El proceso consistió en mezclar el extracto de clorofila obtenido en planta de La Casona El Monte con un agente encapsulante o carrier, en este caso se utilizó maltodextrina. Se alimentó al secador una solución de alimentación de aproximadamente 30% sólidos y 165°C como temperatura de secado. Lo cual permitió un proceso de secado spray adecuado alcanzando un 25% de rendimiento para la obtención de polvo. Y con un contenido de clorofila total de 574 mg/kg.



### **ENVASADO:**

El polvo de clorofila obtenido se envasa en planta maquiladora en sacos de 20 kg para posteriormente ser re-empacado en sachet o la presentación definida por el interesado



### **PRODUCTOS FINALES**

Los productos finales obtenidos en la etapa de implementación de un protocolo piloto para la extracción y formulación de clorofilas a nivel industrial se muestran en la Figura 8.3, como clorofila líquida y clorofila en polvo.



**Figura 8.3. Productos finales obtenidos en la etapa de implementación de un protocolo piloto para la extracción y formulación de clorofilas a nivel industria, clorofila líquida y en polvo.**

### **Análisis proximal**

El análisis proximal del extracto líquido y en polvo se realizó con laboratorio certificado, ANALAB (Servicio a terceros). Se informa análisis proximal completo (Tabla 8.1) incluyendo fibra dietaria.

**Tabla 8.1. Análisis extracto líquido y en polvo obtenidos a partir de Alfalfa.**

<b>Muestras</b>	<b>Extracto líquido</b>	<b>Extracto en polvo</b>
<b>Energía (kcal/100g)</b>	Pendiente*	361,44
<b>Humedad (%)</b>		6,68
<b>Hidratos de carbono disponibles (%)</b>		85,33
<b>Azúcares totales (%)</b>		28,06

<b>Proteínas (%)</b>	5,03
<b>Materia Grasa (%)</b>	<0,4
<b>Cenizas (%)</b>	1,13
<b>Sodio (mg/100g)</b>	110
<b>Fibra Dietaria total (%)</b>	1,83
<b>Fibra Dietaria soluble (%)</b>	1,83
<b>Fibra Dietaria insoluble (%)</b>	<1

\*Los análisis fueron pagados y el laboratorio esta en proceso de emisión de informe de resultados.

### **Análisis microbiológicos**

Se realizó Recuento de Áerobios Mesófilos (RAM) como análisis microbiológico de acuerdo al Reglamento Sanitario de Los Alimentos (RSA) para mezclas secas de uso instantáneo, el extracto de clorofila en polvo alcanzó un valor de  $9 \times 10^4$  UFC/g, en el rango permitido por el RSA ( $10^4$ - $10^5$ ).

### **Conclusiones y sugerencias**

Se implementó un protocolo de extracción y formulación de clorofilas a partir de biomasa de alfalfa a escala piloto. La implementación fue exitosa, permitiendo obtener clorofila en formato líquido y en polvo.

Se obtuvo un extracto líquido y un extracto polvo con 324,4 mg de clorofila/kg biomasa y 574 mg de clorofila/kg de biomasa, respectivamente. Las recomendaciones de almacenamiento para la mantención adecuada de clorofila son almacenar en el caso del producto líquido en congelación y para el extracto en polvo en lugar fresco y seco, en ausencia de luz y en envase adecuado para aislar de la humedad relativa.

El protocolo sólo extrajo el 25% de las clorofilas totales. El resto quedó en la torta de prensa como descarte. Por lo tanto, como siguientes pasos se estima se puede optimizar el proceso aún más extrayendo un porcentaje más elevado de clorofila desde la torta de alfalfa y adicionando una etapa de concentración del extracto líquido para aumentar significativamente el contenido de clorofila en producto líquido y en polvo.

**A continuación se incluyen los informes de proceso detallados, entregados por La Casona El Monte para las tres pruebas preliminares realizadas y la prueba final llevada acabo en régimen de proceso con el diagrama de flujo final.**



**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

---

## INFORME FINAL

### OBTENCIÓN DE CLOROFILA A PARTIR DE ALFALFA

---

A partir de los resultados de las pruebas realizadas anteriormente, se definió la operación final para la obtención de clorofila a partir de alfalfa. Estimando en aproximadamente 120 kg/día de capacidad de proceso en planta de La Casona.

Esta operación se realizó los días martes 24 y miércoles 25 de agosto de 2021; se procesaron 278 Kg de alfalfa fresca, recién cortada, y se obtuvo un total de 231 litros de solución de clorofila.

El proceso aplicado puede resumirse en las siguientes etapas:

- Acopio de la alfalfa
- Lavado por lote a procesar (30 Kg aprox.)
- Trituración de la alfalfa recién lavada
- Prensado para extraer la solución de clorofila y retirar la torta de alfalfa prensada
- Maquilar en planta de secado spray el traspaso de jugo o extracto líquido a polvo

En este proceso, se logra un extracto o jugo de alfalfa que contiene 324,4 mg clorofila total/kg y una torta prensada que contiene 995,4 mg clorofila total/kg.

La solución puede ser utilizada en esta concentración; sin embargo, se deben estudiar los mecanismos para evitar la oxidación prematura y así extender su vida útil.

Una segunda opción y que fue probada, consiste en un secado spray, usando maltodextrina como carrier o excipiente. El resultado de este proceso ha sido satisfactorio – se obtuvo un polvo de clorofila con 574 mg/kg

### PROCESO EXTRACCION DE CLOROFILA A PARTIR DE ALFALFA

Figura 1.- Alfalfa lavada y puesta en el triturador



Figura 2.- Alfalfa triturada puesta en prensa hidráulica; se aplica presión y se obtiene la solución de clorofila y la torta residual



Torta de alfalfa prensada

Solución de clorofila recién extraída



**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

El diagrama de flujo final establecido para el procesamiento de alfalfa fresca en planta de procesos de La Casona se presenta en la siguiente figura 3, considerando como servicio a tercero en planta de maquilaje de secado por atomización la transformación del extracto líquido a polvo.

Figura 3.- Diagrama de flujo para obtención de extracto clorofila líquida y clorofila en polvo.



Figura 4.- Fotografía de los productos obtenidos en procesos descritos:  
Producto 1: extracto clorofila líquida y Producto2: clorofila en polvo





**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

---

#### **DATOS GENERALES**

Fechas de proceso : martes, 24 y miércoles 25 de agosto de 2021  
Cantidad de días trabajados : 2 días (8 horas por días aprox.)  
N° de trabajadores por día : 3 más una persona a cargo de airear la alfalfa  
Cantidad de extracciones : 9 en total  
Kilos de alfalfa procesados : 278 kilos de alfalfa fresca  
Litros de extracto obtenidos : 231 litros aprox.



## **PROCESO EXTRACCION DE CLOROFILA A PARTIR DE ALFALFA AGOSTO 2021.**

A continuación, se detallan los resultados de la extracción de clorofila - paso a paso cada proceso.

Se procesaron **278 Kg** de alfalfa – se obtuvo 231 litros de solución; se procesó los días martes 24 de agosto y miércoles 25 de agosto del 2021.

La solución extraída de clorofila se conservó en bidones de 20 litros, correspondientes a 9 bidones, los saldos, se conservaron en 2 bidones, uno con 18,5 lt y el otro con 7 lt, además de lo que se preparó para las muestras de clorofila y alfalfa.

A continuación, se detalla el proceso y los resultados de cada extracción.

### **PROCESO DE EXTRACCION DE CLOROFILA A TRAVES DE ALFALFA.**

**Martes 24 de agosto de 2021.**

#### **1. PRIMER PRENSADO.**

**INICIO 9:45 / TERMINO 11:35**

<b>PROCESO REALIZADO</b>	<b>KILOS PROCESADOS</b>	<b>LITROS OBTENIDOS</b>
<input type="checkbox"/> <b>LAVADO</b>	<b>30 kg</b>	<b>28 lt</b>
<input type="checkbox"/> <b>TRITURADO</b>		
<input type="checkbox"/> <b>PRENSADO</b>		

#### **2. SEGUNDO PRENSADO.**

**INICIO 11:45 / TERMINO 13:00**

<b>PROCESO REALIZADO</b>	<b>KILOS PROCESADOS</b>	<b>LITROS OBTENIDOS</b>
<input type="checkbox"/> <b>LAVADO</b>	<b>30 kg</b>	<b>26 lt</b>
<input type="checkbox"/> <b>TRITURADO</b>		
<input type="checkbox"/> <b>PRENSADO</b>		



**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

**3. TERCER PENSADO.**

**INICIO 13:10 / TERMINO 14:15**

PROCESO REALIZADO	KILOS PROCESADOS	LITROS OBTENIDOS
<input type="checkbox"/> LAVADO	30 kg	26 lt
<input type="checkbox"/> TRITURADO		
<input type="checkbox"/> PENSADO		

**4. CUARTO PENSADO.**

**INICIO 14:30 / TERMINO 15:45**

PROCESO REALIZADO	KILOS PROCESADOS	LITROS OBTENIDOS
<input type="checkbox"/> LAVADO	30 kg	24 lt
<input type="checkbox"/> TRITURADO		
<input type="checkbox"/> PENSADO		

**5. QUINTO PENSADO.**

**INICIO 16:00 / TERMINO 17:20**

PROCESO REALIZADO	KILOS PROCESADOS	LITROS OBTENIDOS
<input type="checkbox"/> LAVADO	30 kg	25 lt
<input type="checkbox"/> TRITURADO		
<input type="checkbox"/> PENSADO		

\*\*\*\*\*

**Miércoles 25 de agosto de 2021.**

**6. SEXTO PENSADO.**

**INICIO 09:40 / TERMINO 10:50**

PROCESO REALIZADO	KILOS PROCESADOS	LITROS OBTENIDOS
<input type="checkbox"/> LAVADO	30 kg	24 lt
<input type="checkbox"/> TRITURADO		
<input type="checkbox"/> PENSADO		



**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

**7. SEPTIMO PRENSADO.**

**INICIO 11:05 / TERMINO 12:20**

PROCESO REALIZADO	KILOS PROCESADOS	LITROS OBTENIDOS
<input type="checkbox"/> LAVADO	30 kg	24 lt
<input type="checkbox"/> TRITURADO		
<input type="checkbox"/> PRENSADO		

**8. OCTAVO PRENSADO.**

**INICIO 12:30 / TERMINO 13:45**

PROCESO REALIZADO	KILOS PROCESADOS	LITROS OBTENIDOS
<input type="checkbox"/> LAVADO	30 kg	24 lt
<input type="checkbox"/> TRITURADO		
<input type="checkbox"/> PRENSADO		

**9. NOVENO PRENSADO.**

**INICIO 14:30 / TERMINO 16:20**

PROCESO REALIZADO	KILOS PROCESADOS	LITROS OBTENIDOS
<input type="checkbox"/> LAVADO	38 kg	30 lt
<input type="checkbox"/> TRITURADO		
<input type="checkbox"/> PRENSADO		

**Muestras para análisis.**

<b>ANALAB</b>	2 kg Jugo o SOLUCION DE CLOROFILA 2 kg DE TORTA PRENSADA de alfalfa
<b>INIA</b>	1 FRASCO DE SOLUCION DE CLOROFILA 1 FRASCO DE TORTA PRENSADA

**Este Informe fue:**

**Preparado por:** Jaime Stuardo – Jefe Operaciones

**Revisado por:** Rocío Rodríguez - Gerente

**Aprobado por:** Yanett Omega – Directora I+D+i



**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

---

## INFORME PRIMERA PRUEBA OBTENCIÓN DE CLOROFILA A PARTIR DE ALFALFA

---

Proyecto de Innovación denominado “**Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especies forrajeras**” (PYT-2018-0289), cuyo Gestor es el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA).

Dentro de los compromisos que se adquieren por las partes, el INIA suministra la materia prima (alfalfa) a la empresa Casona El Monte para la realización de las actividades comprometidas como empresa asociada, la entrega de la biomasa se realiza en estado FRESCO y de acuerdo con el siguiente calendario de entrega:

Casona El Monte se compromete a realizar las actividades para el cumplimiento del **Objetivo específico 4 del Proyecto que considera “Implementar un protocolo piloto para la extracción y formulación de clorofilas a nivel industrial”**.

Las primeras actividades que comprometidas a realizar la CASONA EL MONTE Ltda. son:

- Adquisición de equipamiento Prensa de cesta más triturador y Marmita con agitación y manta calefactora (eléctrica). **HECHO**
- Realizar una prueba preliminar en planta, para ajustar los parámetros de procesamiento y las operaciones unitarias del protocolo de proceso para llevar a cabo el escalamiento (escala laboratorio a escala piloto en planta). La prueba preliminar se realiza con una cantidad significativa de biomasa fresca. **HECHO**

A continuación, un detalle de las prácticas y pruebas realizadas durante la primera experimentación.

### RECEPCIÓN MATERIA PRIMA

MARTES, 22-06-2021

Proveedor: Agrícola Almasol Ltda. - Factura N° 2163

Hora de Recepción: 13:00 hrs.,

Producto: 01 tonelada de alfalfa chipeada





**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

## INICIO DE PROCESOS – PRIMER DÍA

MARTES, 22-06-2021

Estandarización de Equipos // PROCEDIMIENTO

En máquina para lavar verduras se procedió al lavado de 30 Kg de la alfalfa recepcionada. Se pudo observar disolución de clorofila en forma significativa en el agua de lavado.



Una vez lavada, se llevó a la Trituradora para hacer el proceso de molienda, viéndose dificultado por la alta cantidad de fibra, por lo cual sólo decidió procesar solamente 10 kilos.





## SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA

Para el prensado se utilizaron los 10 kilos de alfalfa lavada y molida, pero además se le agregó 20 kilos de alfalfa sin moler para tener más volumen de prensado y optimizar el uso de la prensa.

Se extrajeron las primeras 2 muestras. Tanto de líquido escurrido como de sólido compactado. Ambas muestras pasaron a refrigeración para evitar principalmente el deterioro de la clorofila obtenida.

**Resultado Primera muestra, primer día:** Se procesaron 30 kilos y se obtuvo 18 litros de líquido (Clorofila más agua del lavado inicial de la alfalfa)



### CONTINUACIÓN PROCESO – SEGUNDO DÍA

MIÉRCOLES, 23-06-2021

Observación: La alfalfa estoqueada ha comenzado su proceso de fermentación.

A las 09:00 am se realiza la primera prueba del día; se procesan 40 kilos de alfalfa sin lavar ni moler, sólo se aplicó prensado. Esta operación se realizó con el propósito de visualizar lo que ocurría, por lo que no se apartaron muestras para análisis ni se cuantificó cantidad de líquidos ni sólidos.

Posteriormente, se realiza la segunda prueba en donde se muelen (trituran) 20 kilos de la alfalfa chipeada.

10 kilos fueron molidos en seco y 10 kilos se hidrataron con 10 litros de agua antes de moler.

En función del volumen de prensado, se hace molienda con 10 kilos extra de alfalfa con 10 litros más de agua; teniendo un total de 30 kilos de alfalfa y 20 litros de agua.



**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

Una vez molida la alfalfa, se traslada a la marmita que contiene 40 litros de agua fresca a 30°C y se realiza una “cocción” a la misma temperatura y agitación constante durante 15 minutos.



Luego se filtra y se lleva a la prensa. Antes de prensar, se pasa todo el líquido sobrante de la marmita por la prensa.

**Resultado Segunda muestra, segundo día:** Se obtienen 13,90 kilos de alfalfa compactada seca, más 60 litros de mezcla de agua con clorofila, en donde, por balance de masas, se concluye que se extrajo 16 kilos de clorofila con el agua mecánica propia de la alfalfa.  
Tiempo de proceso: 3 horas 20 minutos.

Se realiza una tercera prueba con prensado directo de 40 kilos de producto.

**Resultado tercera muestra, segundo día:** Se obtuvo 18,60 Kilos de clorofila con agua mecánica y 16,80 kilos de alfalfa seca por prensado. Se considera una pérdida en el procedimiento 4,6 Kg (ajuste de balance de masa)

Tiempo de proceso 1 hora.

Por último, se realiza una cuarta prueba con 40 kilos de producto, sólo prensado.

**Resultado Cuarta muestra, segundo día:** Se obtiene 20,15 kilos de clorofila y 18 kilos de producto seco. Se considera una pérdida en el procedimiento 1,85 Kg (ajuste de balance de masa)

Tiempo de proceso 1 hora.

Observación: La alfalfa a continua su proceso de fermentado durante el día.



**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

## CONTINUACIÓN PROCESO – TERCER DÍA

Jueves 24-06-2021

Observación: La alfalfa a fermentado toda la noche y se ha pardeado considerablemente, emitiendo gases mal olientes en forma de humo visible.

Se realiza la primera muestra del día. Se presan directamente 40 kilos de alfalfa

**Resultado muestra, tercer día:** Se obtiene 21 kilos de clorofila con agua mecánica y 19,60 kilos de alfalfa seca. El extracto de clorofila ya se ha pardeado bastante.

Tiempo de proceso 1 hora.

Se realizan 2 pruebas más de 40 kilos en iguales condiciones y proceso al antes descrito, con el propósito de afinar detalles de proceso, operación de máquinas y tiempos de proceso.

Se entregan muestras a INIA.

## CONCLUSIÓN:

Las equipos adquiridos cumplen con las funciones proyectadas; a saber, triturar o moler, presar y aplicar calor.

## SUGERENCIAS:

- 1.- Traer la alfalfa sin chipear, a fin de poder lavarla y quitarle los residuos provenientes del suelo, como tierra y pasto.
- 2.- Chipiarla o molerla en dependencias de la planta para luego proceder al presado.
- 3.- Es importante que, sobre todo en caso de venir el producto ya chipiado, traer la cantidad justa de alfalfa según los tiempos de proceso, ya que, la descomposición o fermentación de esta es muy rápida.
- 4.- Creemos que no es necesario el proceso de “calentar” la alfalfa molida, pudiendo pasar a la etapa del presado directamente luego del lavado y chipiado o molido. Sin perjuicio de esto, la marmita es capaz de hacerlo, pero es necesario evaluar el resultado de tiempo de proceso, cantidad de agua que se debe agregar, con lo cual se diluye la clorofila y la concentración o cantidad y calidad de clorofila que se obtiene.
- 5.- En caso de venir la alfalfa entera para poder lavarla, la trituradora no es suficiente para poder triturar la alfalfa en estas condiciones, para lo cual se necesitaría un molino.



**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

Se adjunta set de fotografías tomadas en orden de los diferentes muestreos





**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**





**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

---

## INFORME SEGUNDA PRUEBA OBTENCIÓN DE CLOROFILA A PARTIR DE ALFALFA

---

### RECEPCIÓN MATERIA PRIMA

MARTES, 29-06-2021

Proveedor: INIA LA PLATINA

Hora de Recepción: 13:30 hrs.,

Producto: 110 Kg de alfalfa fresca

### INICIO DE PROCESOS – PRIMER DÍA

Lavado de alfalfa / Molienda / Prensado

Se realiza el proceso de lavado de 25 Kg de alfalfa recepcionada. A diferencia de la alfalfa chipeada esta no desprende clorofila al ser lavada.

Después de realizar el proceso de lavado, se trituraron los 25 Kg de alfalfa, en donde también se vio dificultado el proceso debido a la alta cantidad de fibra, pero en menor manera que en las pruebas anteriores, ya que la materia prima estaba más homogénea en cuanto a su pureza.

Se realiza el proceso de prensado de los 25 kg de alfalfa lavada y molida, obteniendo una clorofila de un vibrante color verde.

**Resultado muestra, primer día:** se procesaron los 25 kilos de alfalfa y se obtuvieron 15,20 kg de líquido/clorofila y 12,75 kg de alfalfa prensada seca.

Tiempo de proceso: 1 h 45 min

### CONTINUACIÓN PROCESO – SEGUNDO DÍA

MIÉRCOLES, 30-06-2021

Observación: La alfalfa estoqueada se mantiene sana (sin fermentar).

A las 09:00 AM se realiza el proceso de lavado y sólo prensado de la alfalfa. Para esta prueba sólo se utilizaron 25 kilos debido a la falta de volumen de la prensadora.

El proceso de lavado se realizó en batch de 5 kilos de alfalfa en donde se midió el peso seco y después de lavado como se puede revisar en la siguiente tabla.



**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

*Tabla 1 Peso alfalfa sin y con lavar (Proceso sólo prensado)*

PESO ALFALFA (KG)	PESO ALFALFA + LAVADO (KG)
5	5,7
5	6,7
5	6,8
5	6,6
5	7

**Total**                    **25**    **32,8**

Se realiza el prensado de los 25 Kg de alfalfa sin moler y se obtiene una clorofila con un verde más opaco.

**Resultado primera muestra, segundo día:** 25 kg de alfalfa lavada y prensada; solución líquida/Clorofila 7,15 kg y 26,05 kg de alfalfa prensada seca.

Tiempo de proceso: 2 h 20 min

Luego se procesaron 40 kilos de alfalfa, los cuales se lavaron, molieron y prensaron.

*Tabla 2 Peso alfalfa sin y con lavar (Proceso sólo prensado)*

PESO ALFALFA (KG)	PESO ALFALFA + LAVADO (KG)
5	6,7
5	6,2
5	6,75
5	6,65
5	6,3
5	6,85
5	6,95
5	6,8

**Total**                    **40**    **53,2**

**Resultado segunda muestra, segundo día:** 40 kg de alfalfa lavada, molida y prensada; solución líquida/Clorofila 28,5 kg y 18,75 kg de alfalfa prensada seca.

Tiempo de proceso: 3h 40 minutos.



**SOC. COM. CASONA EL MONTE LTDA**

---

#### **CONCLUSIÓN:**

El cambio de la alfalfa sin chipear, de mejor calidad y sin otros elementos ajenos, fue de carácter positivo, ya que no hubo fermentación prematura ni despigmentación en el proceso de lavado. De acuerdo a lo anterior, el proceso de lavado, molienda y prensado obtuvo mejores resultados que el proceso de sólo lavado y molienda, debido a que sin el proceso de molienda la presión de la prensa hidráulica no es capaz de extraer todo el líquido retenido en la planta misma.

#### **SUGERENCIAS:**

1.- El proceso de molienda de la máquina moledora-prensadora no es capaz de triturar la alfalfa de una manera óptima, desde el punto de vista de producción eficiente, por lo que se sugiere una picadora/cortadora de alta potencia o especial para ese tipo de producto. Sin embargo, es importante señalar que en la medida que se fue conociendo el material (alfalfa) la operación se facilitó bastante y todo se hizo más eficiente que lo que resultó de la primera prueba.

Informe elaborado por área de Operaciones de Casona El Monte.

Santiago, 05 de junio de 2021.-

## 8.1. REGISTRO FOTOGRAFICO DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS



**Figura 1: Visita planta extractora (Casona el Monte).**



**Figura 2: Visita Agrícola Almasol, productora de Alfalfa.**



**Figura 3: Primer batch de Alfalfa chopeada (Almasol) para extracción en Casona El Monte.**



**Figura 4: Segundo batch de Alfalfa cortada con barra segadora (INIA La Platina) para extracción en la Casona El Monte.**



**Figura 5: Muestra de Alfalfa cortada con barra segadora y triturada para extracción de clorofila.**



**Figura 6: Tercer batch de Alfalfa cortado con barra segadora (Almasol) para extracción en Casona El Monte.**

## **Análisis de factibilidad económica para los actores de la cadena productiva de extractos de clorofilas**

**Proyecto PYT-2018-0289 Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especies forrajeras**

**Septiembre 2021**

**Carlos Inostroza V.**  
Ingeniero Comercial  
**INIA Quilamapu**

## I. JUSTIFICACIÓN

El presente documento se elaboró con el objetivo de analizar la factibilidad económica - financiera de la agregación de valor, para los dos principales eslabones de la cadena productiva de extractos de clorofilas. Estos son la producción de biomasa de alfalfa con clorofilas de alta calidad por los pequeños productores de especies forrajeras de la precordillera de Ñuble, y por otra parte la formulación y elaboración como producto final de Alfalfa en Polvo, alimento rico en nutrientes, que puede ser utilizado en batidos, jugos e infusiones y otros tipos de preparaciones, trabajo realizado por La Casona El Monte (en adelante “La Empresa”), que para fines de esta evaluación será la encargada de realizar esta labor.

## II. METODOLOGÍA

El estudio de factibilidad económica – financiera realizado consistió en analizar, para cada uno de los eslabones de esta cadena productiva (por separado), los indicadores económicos y financieros que por convención, más utilizados para este fin. En este sentido, se evaluó en primera instancia niveles de producción, costos, ingresos e inversiones en cada caso, además de los indicadores Valor Actual Neto (VAN), Tasa Interna de Retorno (TIR), Período de Recuperación de la Inversión (PRI) y Relación Beneficio/Costo (B/C).

Cabe destacar que el estudio de la factibilidad económica, tiene relación con analizar los recursos económicos y financieros necesarios para desarrollar o llevar a cabo un proyecto de inversión. De esta manera la factibilidad económica se trata de una propuesta de acción para resolver un problema práctico o satisfacer una necesidad del mercado. Es indispensable que dicha propuesta se acompañe de una investigación, que demuestre su factibilidad o posibilidad de realización (Arias, 2006).

Así, para cada caso, se debe considerar lo siguiente:

### 1. Análisis punto de vista del productor:

- Se realizó una evaluación para una unidad productiva correspondiente a 1 hectárea de alfalfa fresca.
- Se consideraron dos escenarios: (1) evaluación sin paquete tecnológico INIA; y (2) evaluación con paquete tecnológico INIA.
- En ambos escenarios la evaluación se realizó con un horizonte de 5 años (ciclo de vida estimado del cultivo de alfalfa).
- Se considera como “inversión inicial”, los egresos asociados a los gastos de puesta en marcha de una unidad productiva de este tipo.

- Se considera que el productor acordará un precio conveniente con La Empresa para vender su producción, también las cantidades.
- La fuente de información para esta parte del análisis, se obtuvo en base a los datos (producción, costos/inversiones e ingresos) que se generaron mediante las unidades productivas con las que se trabajó a lo largo de esta iniciativa (PYT-2018-0289).
- Los precios no incluyen IVA.

## **2. Análisis punto de vista de La Empresa:**

- La evaluación se realizó considerando como unidad productiva las instalaciones de la empresa. Así para efectos de este análisis la inversión inicial estará enfocada en la adquisición de equipamiento y gastos de puesta en marcha de una planta de producción de extractos de clorofila. Otros gastos e inversiones no se considerarán ya que se asume que la empresa cuenta con capacidad establecida al estar en funcionamiento. Solo se evalúa la inversión en la planta y el proceso productivo necesario para obtener un sachet de 200 gramos de Alfalfa en polvo, listo para comercializar.
- Algunos servicios se externalizarán: la empresa se encargará de obtener el extracto de clorofilas, realizando una inversión en activos para este fin, sin embargo, la obtención del polvo y el posterior packaging se externalizarán, asumiendo estos costos directos en el análisis del flujo de caja.
- En este caso se realizó la evaluación con un horizonte de 10 años.
- La fuente de información para esta parte del análisis, se obtuvo en base a los datos otorgados por la empresa y en base a información que se recabó del mercado (estudio de mercado, Anexo 11).
- Los precios no incluyen IVA.

Luego, en ambos casos se calcularon los indicadores: Valor Actual Neto (VAN), Tasa Interna de Retorno (TIR) y Período de Recuperación de la Inversión (PRI), entre otros.

### III. Marco teórico (indicadores financieros):

Tal como se mencionó, el análisis de factibilidad económica - financiera, considera una serie de indicadores (VAN, TIR; PRI, relación B/C), que permite dar cierto nivel de objetividad para evaluar proyectos de inversión. Así, para analizar inversiones, las matemáticas financieras prestan utilidad ya que su análisis se basa en la consideración de que el dinero, por el transcurrir del tiempo, debe ser remunerado con una rentabilidad que el inversionista le exigirá por no usarlo en el presente y aplazar su consumo a un futuro conocido. Esto se conoce como valor del dinero en el tiempo (Sapag, 2008).

Considerando lo anterior, los indicadores más utilizados para realizar evaluaciones de proyectos de inversión, son:

**Valor Actual Neto (VAN):** Es uno de los principales indicadores junto a la Tasa Interna de Retorno (TIR). El VAN permite actualizar los cobros y pagos de un proyecto o inversión para conocer cuánto se va a ganar o perder con dicha inversión. También se conoce como valor neto actual (VNA), valor actualizado neto o valor presente neto (VPN).

Así mide la cantidad de dinero que resulta luego exigir una determinada rentabilidad al proyecto (tasa de descuento), además de recuperar la inversión.

Su fórmula de cálculo es:

$$VAN = -I_0 + \sum_{t=1}^n \frac{F_t}{(1+k)^t} = -I_0 + \frac{F_1}{(1+k)} + \frac{F_2}{(1+k)^2} + \dots + \frac{F_n}{(1+k)^n}$$

**Donde:**

*F<sub>t</sub>*: Son los flujos de dinero en el período *t*

*I<sub>0</sub>*: Corresponde al monto de la inversión inicial (se resta a la sumatoria de los flujos)

*n*: Es el número de períodos

*k*: es la tasa de descuento exigida al proyecto (o rentabilidad)

Luego, dependiendo del resultado obtenido, se pueden tener los siguientes escenarios:

VAN > 0: El proyecto, a la tasa de descuento elegida, generará beneficios.

VAN = 0: El proyecto no generará ni beneficios ni pérdidas, siendo su realización, en principio, indiferente.

VAN < 0: El proyecto generará pérdidas, por lo que deberá ser rechazado.

Cabe mencionar que utilizar solo el VAN como criterio para decidir si se lleva a cabo o no una inversión no es suficiente, por lo que se debe complementar el análisis con otros indicadores.

**Tasa Interna de Retorno (TIR):** Tal como se mencionó en el apartado anterior, es uno de los indicadores más utilizados. Este indicador evalúa el proyecto en función de una única tasa de rendimiento por periodo, con la cual la totalidad de los beneficios actualizados son exactamente iguales a los desembolsos expresados en moneda actual (Sapag, 2008). Lo anterior significa en simples palabras que la TIR es la tasa que hace que el VAN del proyecto sea igual 0.

No se detallará su fórmula de cálculo ya que, para fines prácticos, el Software Microsoft Excel, calcula en forma automática su valor.

**Período de Recuperación de la Inversión (PRI):** Este indicador sirve para medir el tiempo que se tardará en recuperar la inversión realizada en el proyecto.

**Relación Beneficio/Costo (B/C):** Es el cociente de dividir el valor actualizado de los beneficios del proyecto (ingresos) entre el valor actualizado de los costos (egresos) a una tasa de descuento. Así la inversión en un proyecto productivo es aceptable si el valor de la Relación Beneficio/Costo es mayor o igual que 1. Al obtener un valor igual a 1 significa que la inversión inicial se recuperó después de haber sido evaluado a una tasa determinada, y quiere decir que el proyecto es viable, si es menor a 1 no presenta rentabilidad.

#### **IV. ASPECTOS RELEVANTES RESPECTO A LOS PROCESOS PRODUCTIVOS DE ALFALFA Y DE EXTRACTOS DE CLOROFILA**

##### **A. Aspectos técnicos del cultivo de Alfalfa (foco en la producción para BIOMASA)**

En Chile existen aproximadamente 60.000 ha de alfalfa, concentrándose el 70% de la superficie entre la región de Valparaíso y del Biobío. Se cultiva mayoritariamente bajo condiciones de riego. En la última década, gracias al desarrollo tecnológico impulsado por INIA, se cultiva bajo condiciones de secano con precipitaciones mayores a 500 mm. En riego, el cultivo de alfalfa tiene un costo de establecimiento que fluctúa entre \$1.200.000 a \$1.600.000/ha. En esta situación, se cultiva principalmente para la producción de heno y venta de fardos. En los últimos 5 años, el negocio ha sido altamente rentable debido a la mega sequía que ha afectado a nuestro país, la que ha incrementado la demanda de forraje para la alimentación animal en épocas de verano.

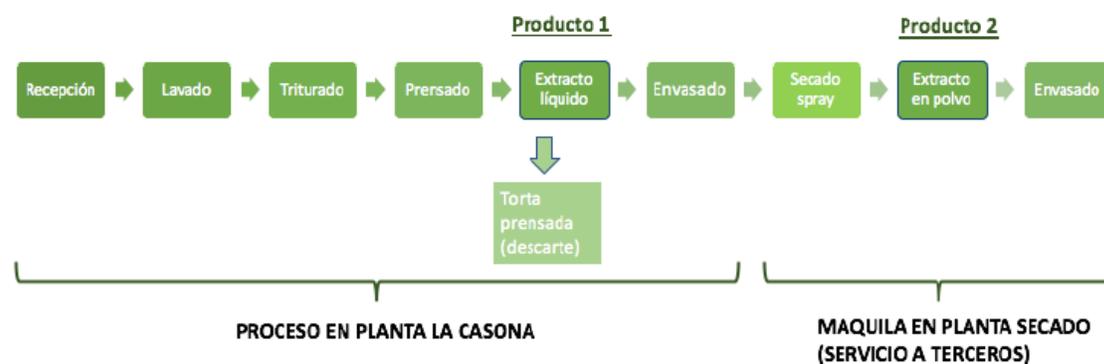
En la temporada de producción (primavera-verano), el costo por fardo puede fluctuar entre \$3000 a \$4000, pero en invierno puede alcanzar un precio de \$6000. Anualmente, una hectárea de alfalfa puede producir entre 16.000 a 20.000 kg de materia seca de alfalfa por hectárea, lo que equivale a una producción de 450 a 570 fardos/ha/año (35kg/fardo).

En condiciones de secano, se utiliza para la producción de heno y también para el pastoreo animal. Para siembras de secano se utilizan cultivares de menor potencial productivo pero con mayor persistencia, tolerantes a pastoreo y con mayor tolerancia a sequía. En secano se logra una producción anual de 8000 a 12000 kg de materia seca por hectárea.

En ambas situaciones, la siembra se efectúa temprano en otoño. La temporada de crecimiento se inicia en primavera. El forraje se cosecha con máquinas segadora-acondicionadora, luego de un período de deshidratación se procede al enfardado. El cultivo requiere un suelo con pH 6 con niveles óptimos de fertilidad. En condiciones de riego, se riega cada 10 a 15 días durante la primavera y verano.

## B. Aspectos técnicos de la producción de extractos de Clorofilas

En relación con el proceso productivo para la generación de extractos de clorofila en marco de la presente iniciativa, a modo de síntesis, se puede mencionar que el proceso inicia con la recepción por parte de La Empresa de **biomasa fresca**, así luego de una serie de transformaciones La Empresa es capaz de obtener extracto líquido, el que, en este caso de análisis, se entrega a una empresa externa que procesa dicho extracto para generar el polvo. Finalmente, este producto se envasa mediante un servicio efectuado por una empresa externa, la cual además se encargará de la impresión del packaging, con lo cual La Casona El Monte podría vender su producto al mercado.



Fuente: Documento técnico proyecto PYT-2018-0289

## V. ANÁLISIS DE LA FACTIBILIDAD ECONÓMICA PARA EL PRODUCTOR

### A. Productor sin tecnología INIA (situación base):

#### Detalle costos e inversiones: establecimiento + primer año post establecimiento

- a. **Inversiones (establecimiento):** Para fines de este análisis, se considerará como inversión los gastos de puesta en marcha (o establecimiento) del cultivo de la unidad productiva (Sapag, 2008), la cual para su establecimiento requiere un desembolso estimado de \$1.671.369.

INVERSIONES (GASTOS DE PUESTA EN MARCHA)						
DETALLE	UNIDAD	CANTIDAD (UNIDADES)	PRECIO (\$/UNIDAD)	COSTO (\$/Ha)	FASE	
Semilla Alfalfa	Kilo	25	10.420	260.504	Establecimiento	
Alambre de pua	Unidad	2	60.000	120.000	Establecimiento	
Polines	Unidad	220	1.500	330.000	Establecimiento	
Cinzel, marzo	ha	1	30.000	30.000	Establecimiento	
Rastra de discos, incorporación, marzo	ha	1	25.000	25.000	Establecimiento	
Aplicación fertilizante, marzo	ha	1	6.000	10.000	Establecimiento	
Vibrocultivador e incorporación fertilizante, mayo	ha	1	17.000	17.000	Establecimiento	
Aplicación de herbicida, abril	ha	1	6.000	6.000	Establecimiento	
Rodillado, mayo	ha	1	5.000	5.000	Establecimiento	
Siembra incluida fertilización adicional, 15/05/2019	ha	1	17.000	17.000	Establecimiento	
Aplicación herbicida (pivot)	ha	1	6.000	6.000	Establecimiento	
Soprocal	kg	1500	80	120.000	Establecimiento	
Urea	kg	190	504	95.735	Establecimiento	
Sulpomag	kg	640	392	250.837	Establecimiento	
Superfostato Triple	kg	540	622	335.799	Establecimiento	
Borax	kg	20	245	4.901	Establecimiento	
Paraquat	litro	1,5	8.395	12.592	Establecimiento	
Flete	Unidad	1	25.000	25.000	Establecimiento	
			<b>TOTAL</b>	<b>1.671.369</b>		

## b. Costos:

**b.1) Costos directos:** Se consideran costos directos de mano de obra (labores) y materiales (insumos), totalizando \$619.586, para el primer año de producción post establecimiento del cultivo.

COSTOS DIRECTOS					
LABORES (MANO DE OBRA DIRECTA)					
DETALLE	UNIDAD	CANTIDAD (UNIDADES)	PRECIO (\$/UNIDAD)	COSTO (\$/Ha)	FASE
Riego	ha	5	20.000	100.000	Producción
Fertilizacion de mantencion	ha	3	10.000	30.000	Producción
Corte 1, 11 noviembre 2019	Fardos	100	600	60.000	Producción
Corte 2, 16 diciembre 2019	Fardos	163	600	97.800	Producción
Corte 3, 28 enero 2020	Fardos	187	600	112.200	Producción
Corte 4, 5 marzo 2020	Fardos	160	600	96.000	Producción
Corte 5, 5 de mayo 2020	Fardos	87	600	52.200	Producción
			<b>SUB_TOTAL LABORES</b>	<b>548.200</b>	

INSUMOS (MATERIALES DIRECTOS)					
DETALLE	UNIDAD	CANTIDAD (UNIDADES)	PRECIO (\$/UNIDAD)	COSTO (\$/Ha)	FASE
Centurion Super	litro	1	34.445	34.445	Producción
Muriato De Potasio	kg	100	369	36.941	Producción
			<b>SUB_TOTAL</b>	<b>71.386</b>	

SUMATORIA	
LABORES	548.200
INSUMOS	71.386
<b>TOTAL COSTOS DIRECTOS</b>	<b>619.586</b>

**b.2) Costos Indirectos:** se estima un 3% de costo financiero sobre costos directos y un 10% de egresos por imprevistos (sobre costos directos), totalizando \$80.546.

COSTOS INDIRECTOS	80.546
COSTO FINANCIERO (3% SOBRE COSTOS DIRECTOS)	18.588
IMPREVISTOS (10% SOBRE COSTOS DIRECTOS)	61.959

## Detalle Costos: Año 2 – Año 5

a. **Inversiones:** No se consideran inversiones durante este periodo.

b. **Costos:**

**Costos directos:** Se consideran costos directos de mano de obra (labores) y materiales (insumos), totalizando \$718.373 por año, a contar del segundo y hasta el quinto año.

COSTOS DIRECTOS				
LABORES (MANO DE OBRA DIRECTA)				
DETALLE	UNIDAD	CANTIDAD (UNIDADES)	PRECIO (\$/UNIDAD)	COSTO (\$/Ha)
Aplicación herbicida	ha	1	6.000	6.000
Riego (2da temporada)	ha	5	20.000	100.000
Fertilizacion de mantencion	ha	3	10.000	30.000
Corte 1, 14 octubre 2020	Fardos	100	600	60.000
Corte 2, 1 diciembre 2020	Fardos	163	600	97.800
Corte 3, 5 enero 2021	Fardos	187	600	112.200
Corte 4, 11 febrero marzo 2021	Fardos	160	600	96.000
Corte 5, 26 marzo 2021	Fardos	87	600	52.200
			<b>SUB_TOTAL LABORES</b>	<b>554.200</b>

INSUMOS (MATERIALES DIRECTOS)				
DETALLE	UNIDAD	CANTIDAD (UNIDADES)	PRECIO (\$/UNIDAD)	COSTO (\$/Ha)
Sulpomag	kg	200	392	78.387
Centurion Super	litro	1	34.445	34.445
Muriato De Potasio	kg	100	369	36.941
Flete	unidad	1	25.000	25.000
			<b>SUB_TOTAL INSUMOS</b>	<b>174.773</b>

SUMATORIA	
LABORES	<b>544.200</b>
INSUMOS	<b>174.773</b>
<b>TOTAL COSTOS DIRECTOS</b>	<b>718.973</b>

**Costos Indirectos:** se estima un 3% de costo financiero sobre costos directos y un 10% de egresos por imprevistos (sobre costos directos), totalizando \$57.518.

COSTOS INDIRECTOS	
COSTO FINANCIERO (3% SOBRE COSTOS DIRECTOS)	21.569
IMPREVISTOS (5% SOBRE COSTOS DIRECTOS)	35.949
<b>TOTAL COSTOS INDIRECTOS</b>	<b>57.518</b>

### c. Detalle ingresos

Considerando que se deberá vender Alfalfa fresca, se estimó el precio por kilo de la materia prima bajo este formato (\$/KG pasto fresco), de acuerdo al tipo de corte. En este sentido se obtuvo el siguiente detalle de ingresos:

1. PRODUCCION E INGRESO BRUTO (\$/ha) - ESTABLECIMIENTO + PRIMER AÑO POST ESTABLECIMIENTO					
DETALLE	UNIDAD	CANTIDAD (UNIDADES)	CANTIDAD FRESCO (KG PF/Ha)	PRECIO (\$/KG PF)	PRECIO FRESCO (KG PF/Ha)
Primer corte, 11 noviembre (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	100	10.536	20,0	210.719
Segundo corte, 16 diciembre (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	163	17.067	23,3	397.662
Tercer corte, 28 enero (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	187	19.670	23,3	458.319
Cuarto corte, 5 marzo (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	160	16.776	23,3	390.888
Quinto corte, 5 mayo (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	87	9.111	23,3	212.281
	<b>TOTALES</b>	<b>697</b>	<b>73.160</b>		<b>1.669.869</b>

2. PRODUCCION E INGRESO BRUTO (\$/ha) - AÑO 2 AL AÑO 5					
DETALLE	UNIDAD	CANTIDAD (UNIDADES)	CANTIDAD FRESCO (KG PF/Ha)	PRECIO (\$/KG PF)	PRECIO FRESCO (KG PF/Ha)
Primer corte, 11 noviembre (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	159	16.740	20,0	334.803
Segundo corte, 16 diciembre (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	198	20.794	23,3	484.508
Tercer corte, 28 enero (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	207	21.739	23,3	506.524
Cuarto corte, 5 marzo (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	148	15.558	23,3	362.505
Quinto corte, 5 mayo (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	117	12.355	23,3	287.882
	<b>TOTALES</b>	<b>829</b>	<b>87.187</b>		<b>1.976.222</b>

#### d. Flujo de caja del productor (situación base)

ITEM	AÑO_0	AÑO_1	AÑO_2	AÑO_3	AÑO_4	AÑO_5
INGRESOS		1.669.869	1.976.222	1.976.222	1.976.222	1.976.222
COSTOS DIRECTOS		619.586	718.973	718.973	718.973	718.973
<b>MARGEN BRUTO</b>		-	1.050.283	1.257.249	1.257.249	1.257.249
COSTOS INDIRECTOS		80.546	57.518	57.518	57.518	57.518
<b>MARGEN NETO</b>		969.737	1.199.731	1.199.731	1.199.731	1.199.731
DEPRECIACIÓN						
<b>UTILIDAD ANTES DE IMPUESTO</b>		969.737	1.199.731	1.199.731	1.199.731	1.199.731
IMPUESTO (27%)		261.829	323.927	323.927	323.927	323.927
<b>UTILIDAD NETA</b>		707.908	875.803	875.803	875.803	875.803
DEPRECIACIÓN INVERSIÓN	-1.671.369					
<b>FLUJO DE CAJA</b>	<b>-1.671.369</b>	<b>707.908</b>	<b>875.803</b>	<b>875.803</b>	<b>875.803</b>	<b>875.803</b>
<b>FLUJO ACUMULADO</b>	<b>-1.671.369</b>	<b>-963.461</b>	<b>-87.658</b>	<b>788.146</b>	<b>1.663.949</b>	<b>2.539.753</b>

Tasa descuento	12%
<b>VAN</b>	<b>\$1.192.678</b>
<b>TIR</b>	<b>40%</b>
PERIODO RECUPERACIÓN INVERSIÓN	3,10
B/C	1,80

Luego, el análisis para el productor (situación base), indica que el establecimiento de una unidad productiva, es rentable en un horizonte de 5 años de evaluación, ya que el VAN de los flujos descontados a una tasa del 12% es positivo (\$1.192.678); por su parte la TIR es positiva y superior a la tasa de descuento, por lo tanto, la rentabilidad del proyecto es superior a la que se exige para fines de esta evaluación.

Por último, la inversión se recuperaría al tercer año y la razón beneficio costo indica que este tipo de unidad productiva debería ser considerada, al ser esta razón positiva.

## B. Productor con tecnología INIA:

- a. **Inversiones y costos de producción:** Se considera la misma estructura de producción que la analizada en la situación sin tecnología (base). La diferencia radica en que mediante la incorporación de tecnología se logra producir alrededor de un 30% adicional en relación a la situación base.

Por lo anterior, se omite la incorporación de tablas, ya que los valores se considerarán como constantes tanto para los gastos de puesta en marcha o de establecimiento del cultivo (inversión) como para los costos de mantención

- b. **Ingresos:** Considerando que se deberá vender Alfalfa fresca, se estimó el precio por kilo de la materia prima bajo este formato (\$/KG pasto fresco), de acuerdo al tipo de corte.

Por otra parte, como se menciona en el punto anterior, al incorporar tecnología, de acuerdo a los datos generados en marco de esta iniciativa, se ha evidenciado una mejora de alrededor del 30% en la cantidad producida por temporada en evaluación. En este sentido, los ingresos estimados serían los siguientes:

1. PRODUCCION E INGRESO BRUTO (\$/ha) - ESTABLECIMIENTO + PRIMER AÑO POST ESTABLECIMIENTO					
DETALLE	UNIDAD	CANTIDAD (UNIDADES)	CANTIDAD FRESCO (KG PF/Ha)	PRECIO (\$/KG PF)	PRECIO FRESCO (KG PF/Ha)
Primer corte, 11 noviembre (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	100	15.051	20,0	301.027
Segundo corte, 16 diciembre (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	163	24.381	23,3	568.088
Tercer corte, 28 enero (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	187	28.100	23,3	654.742
Cuarto corte, 5 marzo (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	160	23.966	23,3	558.412
Quinto corte, 5 mayo (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	87	13.015	23,3	303.259
	<b>TOTALES</b>	<b>697</b>	<b>104.515</b>		<b>2.385.527</b>

2. PRODUCCION E INGRESO BRUTO (\$/ha) - AÑO 2 EN ADELANTE					
DETALLE	UNIDAD	CANTIDAD (UNIDADES)	CANTIDAD FRESCO (KG PF/Ha)	PRECIO (\$/KG PF)	PRECIO FRESCO (KG PF/Ha)
Primer corte, 11 noviembre (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	159	23.915	20,0	478.290
Segundo corte, 16 diciembre (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	198	29.706	23,3	692.155
Tercer corte, 28 enero (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	207	31.056	23,3	723.605
Cuarto corte, 5 marzo (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	148	22.226	23,3	517.864
Quinto corte, 5 mayo (Fardos 30 kg c/u)	Fardos	117	17.651	23,3	411.260
	<b>TOTALES</b>	<b>829</b>	<b>124.553</b>		<b>2.823.174</b>

### c. Flujo de caja del productor (con tecnología INIA)

ITEM	AÑO_0	AÑO_1	AÑO_2	AÑO_3	AÑO_4	AÑO_5
INGRESOS		2.385.527	2.823.174	2.823.174	2.823.174	2.823.174
COSTOS DIRECTOS		619.586	718.373	718.373	718.373	718.373
<b>MARGEN BRUTO</b>		-	1.765.941	2.104.801	2.104.801	2.104.801
COSTOS INDIRECTOS		80.546	57.470	57.470	57.470	57.470
<b>MARGEN NETO</b>		1.685.395	2.047.331	2.047.331	2.047.331	2.047.331
DEPRECIACIÓN						
<b>UTILIDAD ANTES DE IMPUESTO</b>		1.685.395	2.047.331	2.047.331	2.047.331	2.047.331
IMPUESTO (27%)		455.057	552.779	552.779	552.779	552.779
<b>UTILIDAD NETA</b>		1.230.338	1.494.552	1.494.552	1.494.552	1.494.552
DEPRECIACIÓN						
INVERSIÓN	-1.671.369					
<b>FLUJO DE CAJA</b>	<b>-1.671.369</b>	<b>1.230.338</b>	<b>1.494.552</b>	<b>1.494.552</b>	<b>1.494.552</b>	<b>1.494.552</b>
<b>FLUJO ACUMULADO</b>	<b>-1.671.369</b>	<b>-441.031</b>	<b>1.053.521</b>	<b>2.548.073</b>	<b>4.042.624</b>	<b>5.537.176</b>

Tasa descuento	12%
<b>VAN</b>	<b>\$3.107.366</b>
<b>TIR</b>	<b>77%</b>
PERIODO RECUPERACIÓN	2,30
B/C	3,08

Luego, el análisis para el productor (con tecnología INIA), indica que el establecimiento de una unidad productiva, es rentable en un horizonte de 5 años de evaluación, ya que el VAN de los flujos descontados a una tasa del 12% es positivo (\$3.107.366); por su parte la TIR es positiva y superior a la tasa de descuento, por lo tanto, la rentabilidad del proyecto es superior a la que se exige para fines de esta evaluación.

Por otra parte, la inversión se recuperaría al segundo año y la razón beneficio costo indica que este tipo de unidad productiva debería ser considerada, al ser esta razón positiva.

**Por último, al incorporar la tecnología, se evidencia que se generaría un cultivo más competitivo, el VAN de la situación con tecnología es mayor que el de la situación base, también la TIR y por su parte, el periodo de recuperación de la inversión sería menor.**

**d. Sensibilización de precios y producción (con tecnología INIA)**

Se considera un análisis simple basado en tres escenarios: optimista, neutral (base) y optimista, para la producción y nivel de precios, utilizando tecnología, con variaciones de +- 25% en los precios y +- 30% en la producción, respectivamente (manteniendo las demás variables constantes)

<b>SENSIBILIZACIÓN PRECIO</b>			
<b>ESCENARIO</b>	<b>VARIACIÓN PRECIO (%)</b>	<b>PRECIO PROMEDIO (\$/KG PF)</b>	<b>VAN (12%)</b>
PESIMISTA	-25%	17,0	1.512.748
NEUTRAL	0	22,6	3.107.366
OPTIMISTA	25%	28,3	4.701.985

<b>SENSIBILIZACIÓN PRODUCCIÓN</b>			
<b>ESCENARIO</b>	<b>VARIACIÓN CANTIDAD (%)</b>	<b>PRODUCCIÓN PROMEDIO (\$/KG PF)</b>	<b>VAN (12%)</b>
PESIMISTA	-30%	16.034,8	1.193.824
NEUTRAL	0	22.906,8	3.107.366
OPTIMISTA	30%	29.778,9	5.020.909

## VI. ANÁLISIS DE LA FACTIBILIDAD ECONÓMICA PARA LA EMPRESA

### 1. Supuestos y consideraciones para el análisis:

- La empresa cuenta con capacidades productivas instaladas (al ser una empresa establecida), por lo que sólo se considera la evaluación para instalar una unidad productiva enfocada en fabricar extracto de clorofila, el cual, mediante un proceso productivo posterior (que se externalizará), podrá ser transformado en Clorofila de Alfalfa en polvo, con lo cual se comercializará mediante sachets de 200 gramos.
- Depreciación de equipos: se considera el método de depreciación lineal, sin valor residual (Sapag, 2008).
- Precio de venta: en base a información recabada del mercado, se consideró un precio de venta (sin IVA) un 10% de descuento en relación a lo ofertado por la competencia, en productos similares.
- Costos Directos: considera costos de materia prima (adquisición al productor a un precio promedio de \$22,6/kilo de alfalfa fresca), costos operacionales de la planta para obtener extracto (\$207 /kilo de alfalfa fresca), además de los costos por la externalización de los servicios de secado del extracto (\$5.000 / kilo de polvo) y externalización del packaging (\$1.000/ unidad).
- Costos Indirectos: considera costos de (1) Administrador de empresas para administración financiera y comercial, (2) Ingeniero en alimentos como jefe de operaciones y (3) costo de servicios de análisis de laboratorio
- Capacidad de producción: se considera el primer año la planta funcionando a un 75%; posterior a esto se considera una operación al 100% de su capacidad. Se asume que La Empresa es capaz de procesar 120 Kg/materia fresca por día.
- Horizonte de evaluación: 10 años.

- a. **Inversiones:** (1) Se considera un 10% para imprevistos sobre el total de lo desembolsado en los equipos; (2) se espera reemplazar al quinto año los equipos que se indican en la tabla “inversión reemplazo equipos”; (3) precios no consideran IVA.

INVERSIÓN INICIAL					
ITEM	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO (\$)	MONTO TOTAL (\$)	
EQUIPO DE TRITURACIÓN Y PRENSADO	UNIDAD	1	14.280.000	14.280.000	
MARMITA	UNIDAD	1	6.545.000	6.545.000	
EQUIPO PARA LAVADO DE VERDURAS (ALFALFA)	UNIDAD	1	4.998.000	4.998.000	
TANQUES DE ACERO INOXIDABLE PARA TRASLADO DE LÍQUIDOS	UNIDAD	4	1.000.000	4.000.000	
FILTROS	UNIDAD	1	4.522.000	4.522.000	
TRANSPALETA	UNIDAD	1	357.000	357.000	
VARIOS MENORES DE USO COMÚN	UNIDAD	1	1.785.000	1.785.000	
<b>TOTAL</b>				<b>36.487.000</b>	
				<b>IMPREVISTOS (10%)</b>	
				<b>3.648.700</b>	

INVERSIÓN REEMPLAZO EQUIPOS*					
ITEM	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO (\$)	MONTO TOTAL (\$)	
FILTROS	UNIDAD	1	4.522.000	4.522.000	
VARIOS MENORES DE USO COMÚN	UNIDAD	1	1.785.000	1.785.000	
<b>TOTAL</b>				<b>6.307.000</b>	
				<b>IMPREVISTOS (10%)</b>	
				<b>630.700</b>	

- b. **Depreciaciones:** (1) Se usa el método de depreciación lineal; (2) Respecto al valor residual se supone que se deprecia todo el activo en proporción similar cada año y que no hay valor residual (Sapag, 2008). Los años de vida útil fueron obtenidos desde la página del Servicio de Impuestos Internos

ITEM	VALOR INICIAL	VALOR RESIDUAL	VIDA UTIL	DEPRECIACIÓN ANUAL	AÑO_1	AÑO_2	AÑO_3	AÑO_4	AÑO_5	AÑO_6	AÑO_7	AÑO_8	AÑO_9	AÑO_10
EQUIPO DE TRITURACIÓN Y PRENSADO	14.280.000	-	15	952.000	1.428.000	1.428.000	1.428.000	1.428.000	1.428.000	1.428.000	1.428.000	1.428.000	1.428.000	1.428.000
MARMITA	6.545.000	-	15	436.333	654.500	654.500	654.500	654.500	654.500	654.500	654.500	654.500	654.500	654.500
EQUIPO PARA LAVADO DE VERDURAS (ALFALFA)	4.998.000	-	15	333.200	499.800	499.800	499.800	499.800	499.800	499.800	499.800	499.800	499.800	499.800
TANQUES DE ACERO INOXIDABLE PARA TRASLADO DE LÍQUIDOS	3.082.100	-	15	205.473	308.210	308.210	308.210	308.210	308.210	308.210	308.210	308.210	308.210	308.210
FILTROS*	4.522.000	-	5	904.400	904.400	904.400	904.400	904.400	904.400	904.400	904.400	904.400	904.400	904.400
TRANSPALETA	357.000	-	10	35.700	35.700	35.700	35.700	35.700	35.700	35.700	35.700	35.700	35.700	35.700
VARIOS MENORES DE USO COMÚN *	1.785.000	-	5	357.000	357.000	357.000	357.000	357.000	357.000	357.000	357.000	357.000	357.000	357.000
<b>TOTAL DEPRECIACIÓN</b>					<b>4.187.610</b>									

- c. **Ingresos:** (1) se considera una producción del 75% (por puesta en marcha) para el primer año y de 100% para los demás años de evaluación; (2) los precios de venta de los sachet (en formato de 200 gr), se consideran constantes e iguales a \$4.000/sachet, precio que por cierto es aproximadamente un 10% menor al mercado.

Luego, un resumen para lo anterior es el siguiente:

INGRESOS - AÑO 1	
PRECIO VENTA (SIN IVA)	4.000
CANTIDAD	22.410
<b>INGRESOS POR VENTA</b>	<b>89.640.000</b>

INGRESOS - MAXIMA PRODUCCIÓN	
PRECIO VENTA (SIN IVA)	4.000
CANTIDAD	29.880
<b>INGRESOS POR VENTA</b>	<b>119.520.000</b>

d. **Costos:** Para analizar los costos, en primer lugar, se dividió (para simplificar) el proceso en 4 fases:

- Fase 1: Obtención de materia prima del productor
- Fase 2: Transformación de la materia prima por parte de La Empresa, en extracto.
- Fase 3: Transformación por parte de empresa externa del extracto en polvo
- Fase 4: Packaging final por parte de empresa externa, del polvo a envase sachet de 200 gr.

Además, se diferenció según el tipo de costo en cada fase, entre costos directos y costos indirectos. El detalle es el que se presenta a continuación:

### Detalle costos por unidad de producción

COSTOS DE PRODUCCIÓN					
FASE PROCESO PRODUCTIVO	DETALLE	ITEM	TIPO COSTO	COSTO	UNIDAD
FASE_1	COMPRA MATERIA PRIMA PRODUCTOR	COSTO MATERIA PRIMA	DIRECTO	22,6	\$/Kilo PF
FASE_2	PROCESAMIENTO LA CASONA	COSTOS OPERACIONALES PLANTA PRODUCCIÓN CLOROFILAS	DIRECTO	207	\$/Kilo PF
FASE_2	ADMINISTRACIÓN	ING. ADMINISTRADOR(A) DE EMPRESAS	INDIRECTO	4.444	\$/HH
FASE_2	PRODUCCIÓN	ING EN ALIMENTOS	INDIRECTO	6.667	\$/HH
FASE_2	SERVICIO EXTERNO - LABORATORIO	ANALISIS DE LABORATORIO	INDIRECTO	1.000.000	\$/Análisis/mes
FASE_3	SERVICIO EMPRESA EXTERNA - SECADO	COSTOS DE SECADO	DIRECTO	5.000	\$/Kg polvo final
FASE_4	SERVICIO EMPRESA EXTERNA - PACKAGING	PACKAGING	DIRECTO	1.000	\$/unidad

## Desagregación de costos productivos año 1 (75% capacidad).

<b>PRODUCCIÓN 75% (AÑO 1)</b>	
<b>COSTOS FASE_1</b>	
<b>MATERIA PRIMA - DIRECTO</b>	
PRECIO	22,6
CANTIDAD	21.600
<b>COSTO TOTAL MATERIA PRIMA (ANUAL)</b>	<b>488.160</b>
<b>COSTOS FASE_2</b>	
<b>PROCESAMIENTO LA CASONA (COSTOS OPERACIONALES) - DIRECTO</b>	
PRECIO	207
CANTIDAD	21.600
<b>COSTO OPERACIONAL</b>	<b>4.471.200</b>
<b>COSTOS FASE_2</b>	
<b>RRHH - ADMINISTRADOR EMPRESAS - INDIRECTO</b>	
PRECIO	4.444
CANTIDAD	2.112
<b>SUB_TOTAL</b>	<b>9.385.728</b>
<b>RRHH - ING EN ALIMENTOS - INDIRECTO</b>	
PRECIO	6.667
CANTIDAD	2.160
<b>SUB_TOTAL</b>	<b>14.400.000</b>
<b>COSTO TOTAL RRHH (ANUAL)</b>	<b>23.785.728</b>
<b>COSTOS FASE_2</b>	
<b>SS ANALISIS LABORATORIO - INDIRECTO</b>	
PRECIO (POR VEZ)	1.000.000
CANTIDAD (VECES POR AÑO)	12
<b>SUB_TOTAL</b>	<b>12.000.000</b>
<b>COSTOS FASE_3</b>	
<b>SS SECADO - DIRECTO</b>	
RENDIMIENTO LA CASONA(KG EXTRACTO/KG PF)	0,83
CANTIDAD	21.600
CANTIDAD PARA SECADO	17.928
RENDIMIENTO SS SECADO (KG POLVO FINAL/KG EXTRACTO)	0,25
CANTIDAD POLVO FINAL (KG)	4.482
PRECIO SS SECADO (\$/POLVO FINAL)	5.000
<b>COSTO TOTAL SECADO</b>	<b>22.410.000</b>
<b>COSTOS FASE_4</b>	
<b>PACKAGING - DIRECTO</b>	
PRECIO	1.000
CANTIDAD (BOLSAS 200 GR)	22.410
<b>COSTO TOTAL</b>	<b>22.410.000</b>
<b>TOTALES</b>	
COSTOS DIRECTOS	49.779.360
COSTOS INDIRECTOS	35.785.728
<b>TOTAL COSTOS</b>	<b>85.565.088</b>

## Desagregación de costos productivos año 2 en adelante (100% capacidad).

<b>MAXIMA PRODUCCIÓN - AÑO 2 EN ADELANTE</b>	
<b>COSTOS FASE_1</b>	
<b>MATERIA PRIMA - DIRECTO</b>	
PRECIO	22,6
CANTIDAD	28.800
<b>COSTO TOTAL MATERIA PRIMA (ANUAL)</b>	<b>650.880</b>
<b>COSTOS FASE_2</b>	
<b>PROCESAMIENTO LA CASONA (COSTOS OPERACIONALES) - DIRECTO</b>	
PRECIO	207
CANTIDAD	28.800
<b>COSTO OPERACIONAL</b>	<b>5.961.600</b>
<b>COSTOS FASE_2</b>	
<b>RRHH - ADMINISTRADOR EMPRESAS - INDIRECTO</b>	
PRECIO	4.444
CANTIDAD	2.112
<b>SUB_TOTAL</b>	<b>9.385.728</b>
<b>RRHH - ING EN ALIMENTOS - INDIRECTO</b>	
PRECIO	6.667
CANTIDAD	2.160
<b>SUB_TOTAL</b>	<b>14.400.000</b>
<b>COSTO TOTAL RRHH (ANUAL)</b>	<b>23.785.728</b>
<b>COSTOS FASE_2</b>	
<b>SS ANALISIS LABORATORIO - INDIRECTO</b>	
PRECIO (POR VEZ)	1.000.000
CANTIDAD (VECES POR AÑO)	12
<b>SUB_TOTAL</b>	<b>12.000.000</b>
<b>COSTOS FASE_3</b>	
<b>SS SECADO - DIRECTO</b>	
RENDIMIENTO LA CASONA(KG EXTRACTO/KG PF)	0,83
CANTIDAD	28.800
CANTIDAD PARA SECADO	23.904
RENDIMIENTO SS SECADO (KG POLVO FINAL/KG EXTRACTO)	0,25
CANTIDAD POLVO FINAL (KG)	5.976
PRECIO SS SECADO (\$/POLVO FINAL)	5.000
<b>COSTO TOTAL SECADO</b>	<b>29.880.000</b>
<b>COSTOS FASE_4</b>	
<b>PACKAGING - DIRECTO</b>	
PRECIO	1.000
CANTIDAD (BOLSAS 200 GR)	29.880
<b>COSTO TOTAL</b>	<b>29.880.000</b>
<b>TOTALES</b>	
COSTOS DIRECTOS	66.372.480
COSTOS INDIRECTOS	35.785.728
<b>TOTAL COSTOS</b>	<b>102.158.208</b>

Luego, consolidando los costos por año, tenemos:

ITEM	TIPO_COSTO	AÑO_0	AÑO_1	AÑO_2	AÑO_3	AÑO_4	AÑO_5	AÑO_6	AÑO_7	AÑO_8	AÑO_9	AÑO_10
MATERIA PRIMA	DIRECTO		488.160	650.880	650.880	650.880	650.880	650.880	650.880	650.880	650.880	650.880
SERVICIO SECADO	DIRECTO		22.410.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000
PACKAGING	DIRECTO		22.410.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000	29.880.000
PROCESAMIENTO LA CASONA	DIRECTO		4.471.200	5.961.600	5.961.600	5.961.600	5.961.600	5.961.600	5.961.600	5.961.600	5.961.600	5.961.600
RRHH - ADM. EMPRESAS	INDIRECTO		9.385.728	9.385.728	9.385.728	9.385.728	9.385.728	9.385.728	9.385.728	9.385.728	9.385.728	9.385.728
RRHH - ING ALIMENTOS	INDIRECTO		14.400.000	14.400.000	14.400.000	14.400.000	14.400.000	14.400.000	14.400.000	14.400.000	14.400.000	14.400.000
ANALISIS DE LABORATORIOS	INDIRECTO		12.000.000	12.000.000	12.000.000	12.000.000	12.000.000	12.000.000	12.000.000	12.000.000	12.000.000	12.000.000
<b>SUMA COSTOS DIRECTOS</b>			<b>49.779.360</b>	<b>66.372.480</b>								
<b>SUMA COSTOS INDIRECTOS</b>			<b>35.785.728</b>	<b>35.785.728</b>	<b>35.785.728</b>	<b>35.785.728</b>	<b>35.785.728</b>	<b>35.785.728</b>	<b>35.785.728</b>	<b>35.785.728</b>	<b>35.785.728</b>	<b>35.785.728</b>
<b>TOTAL COSTOS</b>			<b>85.565.088</b>	<b>102.158.208</b>								

### e. Flujo de caja e indicadores

	AÑO_0	AÑO_1	AÑO_2	AÑO_3	AÑO_4	AÑO_5	AÑO_6	AÑO_7	AÑO_8	AÑO_9	AÑO_10
INGRESOS		89.640.000	119.520.000	119.520.000	119.520.000	119.520.000	119.520.000	119.520.000	119.520.000	119.520.000	119.520.000
COSTOS DIRECTOS		49.779.360	66.372.480	66.372.480	66.372.480	66.372.480	66.372.480	66.372.480	66.372.480	66.372.480	66.372.480
<b>MARGEN BRUTO</b>		<b>-39.860.640</b>	<b>53.147.520</b>	<b>53.147.520</b>	<b>53.147.520</b>	<b>53.147.520</b>	<b>53.147.520</b>	<b>53.147.520</b>	<b>53.147.520</b>	<b>53.147.520</b>	<b>53.147.520</b>
COSTOS INDIRECTOS		35.785.728	35.785.728	35.785.728	35.785.728	35.785.728	35.785.728	35.785.728	35.785.728	35.785.728	35.785.728
<b>MARGEN NETO</b>		<b>-4.074.912</b>	<b>17.361.792</b>	<b>17.361.792</b>	<b>17.361.792</b>	<b>17.361.792</b>	<b>17.361.792</b>	<b>17.361.792</b>	<b>17.361.792</b>	<b>17.361.792</b>	<b>17.361.792</b>
DEPRECIACIÓN		4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610
<b>UTILIDAD ANTES DE IMPUESTO</b>		<b>-112.698</b>	<b>13.174.182</b>	<b>13.174.182</b>	<b>13.174.182</b>	<b>13.174.182</b>	<b>13.174.182</b>	<b>13.174.182</b>	<b>13.174.182</b>	<b>13.174.182</b>	<b>13.174.182</b>
IMPUESTO (27%)			3.557.029	3.557.029	3.557.029	3.557.029	3.557.029	3.557.029	3.557.029	3.557.029	3.557.029
<b>UTILIDAD NETA</b>		<b>-112.698</b>	<b>9.617.153</b>	<b>9.617.153</b>	<b>9.617.153</b>	<b>9.617.153</b>	<b>9.617.153</b>	<b>9.617.153</b>	<b>9.617.153</b>	<b>9.617.153</b>	<b>9.617.153</b>
DEPRECIACIÓN		4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610	4.187.610
INVERSION	-36.487.000					-6.307.000					
IMPREVISTOS (10%)	-3.648.700					-630.700					
<b>FLUJO DE CAJA</b>	<b>-40.135.700</b>	<b>4.074.912</b>	<b>13.804.763</b>	<b>13.804.763</b>	<b>13.804.763</b>	<b>6.867.063</b>	<b>13.804.763</b>	<b>13.804.763</b>	<b>13.804.763</b>	<b>13.804.763</b>	<b>13.804.763</b>
<b>FLUJO ACUMULADO</b>	<b>-40.135.700</b>	<b>-36.060.788</b>	<b>-22.256.025</b>	<b>-8.451.262</b>	<b>5.353.501</b>	<b>12.220.563</b>	<b>26.025.326</b>	<b>39.830.089</b>	<b>53.634.852</b>	<b>67.439.615</b>	<b>81.244.378</b>

<b>TASA</b>	<b>12%</b>
<b>VAN</b>	<b>\$25.240.285</b>
<b>TIR</b>	<b>24%</b>
<b>PERIODO RECUPERACIÓN</b>	<b>4,61</b>

Así, el análisis para La Empresa, indica que el establecimiento de una unidad productiva de este tipo, es rentable para un horizonte de 10 años de evaluación, ya que el VAN de los flujos descontados a una tasa del 12% es positivo (\$25.240.285); por su parte la TIR es positiva y superior a la tasa de descuento, por lo tanto, la rentabilidad del proyecto es superior a la que se exige para fines de esta evaluación. El período de recuperación de la inversión es de 4 años y siete meses aproximadamente.

Por último, al sensibilizar el proyecto para diferentes precios de venta, se establece que lo mínimo que podría cobrar la empresa por el sachet de 200 gr, es \$3.800 por unidad:

SENSIBILIDAD PRECIO VENTA				
PRECIO	VARIACIÓN PRECIO (0%)	VAN (12%)	TIR	
3.800	-5%	484.586	12,3%	
4.000	0%	25.240.285	24,3%	
4.200	5%	49.995.984	35,5%	
4.400	10%	74.751.683	46,2%	

## **VII. CONCLUSIONES**

La situación del productor mejora considerablemente al incorporar tecnología a su cultivo, así de acuerdo a los resultados del estudio realizado se concluye que factible económicamente producir alfalfa condiciones de secano. En este sentido, el productor puede obtener mayores rendimientos por hectárea, manteniendo estructura de costo constante. Es así como en la evaluación se evidencia que la situación con proyecto entrega mejores indicadores: en VAN, TIR, Relación Beneficio Costo y período de recuperación de la inversión.

Por su parte, la evaluación para la inversión en una planta productiva para La Empresa, parece atractiva considerando un horizonte de evaluación de 10 años. Sin embargo, al externalizar dos de sus procesos críticos (secado de Clorofila y Packaging), sus costos Fijos se elevan considerablemente, lo cual afecta el VAN y la TIR obtenidas por el proyecto que, si bien ambas son positivas considerando una tasa de descuento del 12%, podrían ser mayores si se intenta internalizar algunos de estos procesos.

El estudio antes expuesto es referencial y permite determinar, de manera aproximada, cómo fluctúan las variables principales (ingresos, costos e inversiones), de acuerdo a los datos obtenidos mediante la iniciativa PYT-2018-0289, gracias al trabajo en campo en predios de agricultores y a los datos obtenidos en el proceso de pilotaje industrial en la empresa asociada Casona El Monte.

## **VIII. REFERENCIAS**

**Arias, F. (2006). El Proyecto de Investigación. 5ª ed. Caracas: Episteme.**

**Sapag, N. 2008. Preparación y Evaluación de proyectos. Quinta edición. McGraw-Hill Interamericana, Bogotá, Colombia. Capítulos 14-16.**

## ANEXO 10. ACTIVIDADES DE DIFUSION

### ANEXO 10.1. PARTICIPACION Y DIFUSION DE PROYECTO EN FERIA ESPACIO FOOD & SERVICES

Durante los días 25 al 27 de septiembre, se realizó en Santiago la feria Espacio Food & Services. El INIA participó con un stand donde se presentaron algunos proyectos como el nuestro, que aportó con la temática colorantes naturales a base de clorofila. En el stand se presentaron muestras de colorantes y materia prima liofilizada de este proyecto.

#### 10.1. REGISTRO FOTOGRAFICO FERIA ESPACIO FOOD & SERVICES



Figura 1: Stand INIA con investigadoras del proyecto.



Figura 2: Extractos de clorofila y alfalfa liofilizada.



Figura 3: Visita del Ministro de Agricultura.



Figura 4: Muestras de los proyectos INIA.

## ANEXO 10.2. SEMINARIO DE LANZAMIENTO PROYECTO CLOROFILA

Durante el día 07 de marzo, se realizó en Chillan el seminario de lanzamiento del proyecto “Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especies forrajeras”. El seminario tuvo participación de todos los equipos técnicos de los centros de investigación encargados de este proyecto (registro fotográfico 8.2). El asociado (ECOCREA) participó con un stand y diversos productos, que aportó con la temática colorantes naturales.

### 10.2.1. REGISTRO FOTOGRAFICO SEMINARIO DE LANZAMIENTO



**Figura 5: “Palabras de bienvenida del seminario” Rodrigo Aviles Director Regional INIA Quilamapu.**



**Figura 6: Rodolfo Campos Subdirector FIA.**



**Figura 7: “Descripcion Proyecto FIA” Luis Inostroza investigador INIA Quilamapu.**



**Figura 8: Stand ECOCREA.**



**Figura 9: Asistentes del seminario café.**



**Figura 10: “Producción de extractos de clorofila” Cristina Vergara investigadora INIA La Platina.**



**Figura 11: “Colorantes naturales en la industria alimentaria” Maria Teresa Pino investigadora INIA La Platina.**



**Figura 12: “Diversificación productiva de la Alfalfa” Carlos Ovalle investigador INIA La Cruz.**

FIGURA 10.2.3 PENDÓN CON FORMATO FIA E INIA



**"Producción de colorantes naturales a partir de clorofila extraída de especies forrajeras"**



Apoiado por:



[www.fia.cl](http://www.fia.cl)



**PRODUCCION DE COLORANTES NATURALES**  
A partir de clorofila extraída de especies forrajeras



Apoiado por:



FIGURA 10.2.4. TRÍPTICO DE DIFUSIÓN PROYECTO

**Proyecto**

“Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especíes forrajeras”

Es una iniciativa ejecutada por INIA Quilimapu con el apoyo de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA) y Ecocrea Ltda. El proyecto busca:

- Evaluar la producción de biomasa y clorofila por unidad de superficie (hectárea) de especíes (Alfalfa, Trébol Rosado, Lotera, Ballica perenne y Festuca) y cultivares (líneas genéticas y comerciales) de forrajeras.

- Evaluar estrategias de manejo agronómico para optimizar la producción de clorofila por unidad de superficie, mediante fertilización, manejo del corte (época y frecuencias) y transporte a la industria.
- Desarrollar/validar un protocolo para la elaboración de extractos de clorofila con alto valor funcional, evaluando rendimiento de extracción, calidad y técnicas de concentración.
- Implementar un protocolo piloto para la extracción y formulación de clorofilas a nivel industrial.
- Desarrollar un modelo de negocios de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando como materias primas biomasa producida a partir de praderas.

**"Producción de colorantes naturales de clorofila extraída de especíes forrajeras"**

INIA

Apoyado por:

**Colorantes naturales**

efectos negativos en la salud humana. Colorantes sintéticos inducen problemas de hiperactividad en niños y alergias en parte de la población.

A nivel mundial, existe una demanda creciente por extractos de clorofilas. Se utilizan como agente colorante natural (color verde) y para la formulación de alimentos nutraceuticos. En el último caso, se utiliza su capacidad antioxidante y antimutagénica.

Además, dada su similitud química y estructural con la molécula de hemoglobina, clorofilas han sido utilizadas para corregir efectos de la anemia en seres humanos. Actualmente se utilizan las clorofilas para el control o suspensión de olores y cicatrización de heridas.

El Colorante natural: Es una sustancia de origen natural que imparte color a un alimento, droga, cosmético e incluso al cuerpo humano.

Los extractos de clorofilas se obtienen principalmente de especíes forrajeras. Chile, por su diversidad climática y de suelos, ofrece un gran potencial para producir biomasa forrajera de alta calidad.

Las clorofilas son usadas para formular nutraceuticos para el tratamiento de prevención de cáncer y como agente antioxidante, tratamiento de enfermedades o desórdenes fisiológicos.

Mutraceuticos: Son sustancias a las cuales se les atribuye efectos terapéuticos sobre la salud, se les considera un producto intermedio entre los alimentos medicinales. Son administrados en forma oral, ya sea a través de una capsula, comprimido o en formato liquido concentrado, entre otros.

Extracto de Clorofila

FIGURA 10.2.5. PRESENTACIÓN N° 1 SEMINARIO FIA CLOROFILA.



**PRODUCCIÓN DE COLORANTES NATURALES**  
A partir de clorofila extraída de especies forrajeras




Dr. Luis Inestrosa  
Investigador  
SER-Quilmanes



**PROYECTO PYT-2018-0289**  
Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especies forrajeras

Ejecutado por INIA  
Apoyado por FIA y Ecocrea  
36 meses (Junio 2018-2021)  
\$M216.000 (50% FIA, 50% INIA)

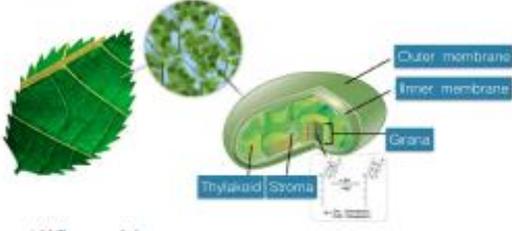


**Colorantes Naturales**

- ✓ Estrategia de desarrollo "Chile Potencia Alimentaria" => alimentos funcionales
- ✓ Alta demanda por alimentos libres de compuesto artificiales (Consumidores de USA, Europa, Asia)
- ✓ Colorantes artificiales o sintéticos tienen efectos negativos en la salud humana (hipersensibilidad en niños y alergias).
- ✓ Colorantes naturales poseen atributos beneficiosos para la salud y son percibidos como productos amigables con el medio ambiente.
- ✓ Las clorofilas son colorante natural. Además, tienen función antioxidante y antimutagénica.
- ✓ Los extractos de clorofilas se obtienen principalmente de especies forrajeras.




**Clorofilas**



1.2 billones toneladas



**OBJETIVO**

Desarrollar un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando como materias primas biomasa producida a partir de cultivares de especies forrajeras de origen nacional.



**OE1:** Evaluar la producción de biomasa y clorofila por unidad de superficie (hectárea) de especies (Alfalfa, Trébol rosado, Lotera, Ballica perenne y Festuca) y cultivares (líneas genéticas y comerciales) de forrajeras.

PMG forrajera-INIA



**INIA**

## Selección de especie

Temuco, INIA-Carilanca      Chilán, INIA-Qulampú

**INIA**

## Producción de clorofila

**INIA**

**OE2:** Evaluar estrategias de manejo agronómico para optimizar la producción de clorofila por unidad de superficie, mediante fertilización, manejo del corte (época y frecuencias) y transporte a la industria.

- Predios de agricultores
- Tratamientos de S y Mg
- Corte según estado de desarrollo

**INIA**

**OE3:** Desarrollar y validar un protocolo para la elaboración de extractos de clorofila con alto valor funcional, evaluando rendimiento de extracción, calidad y técnicas de concentración.

**INIA**

**OE4:** Implementar un protocolo piloto para la extracción y formulación de clorofilas a nivel industrial.

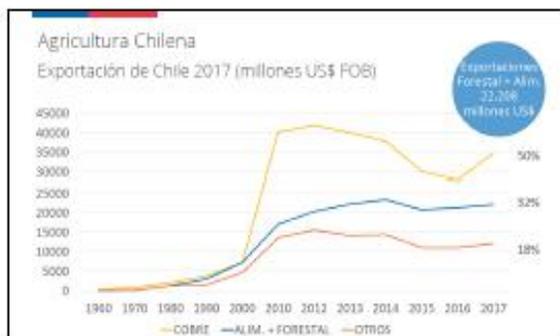
**INIA**

**OE5:** Desarrollar un modelo de negocios de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando como materias primas biomasa producida a partir de praderas.

```

    graph LR
      INIA[INIA] --> Produccion[Producción]
      Produccion --> Instituto[Instituto (comercial)]
      Instituto --> ConsumoFinal[Consumo Final]
      Apoyo[Apoyo científico y aplicación] --- Produccion
      Logistica[Gestión logística y comercial] --- Instituto
      Calidad[Gestión de calidad] --- Instituto
      CalidadIndustrial[Gestión de calidad industrial] --- ConsumoFinal
  
```

FIGURA 10.2.6. PRESENTACIÓN N° 2 SEMINARIO FIA CLOROFILA.



### BONDAD JUGOSA

Percepción de la industria

La combinación perfecta de sabores para crear productos jugosos y saludables. Con la bondad jugosa de los alimentos, los consumidores disfrutamos de una experiencia única.



Nuestra predicción de color en alimentos: Las tendencias en color en alimentos que incluyen un aumento de los ingredientes y colores vivos de alimentos naturales para una experiencia natural y sana.

SENSORY 2024

### EFFECTOS ESPECIALES

Percepción de la industria

La industria está enfocando a las marcas para crear productos visualmente y aportar los "efectos especiales" a los productos.

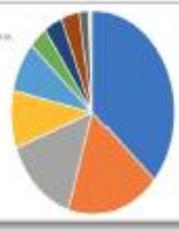


Nuestra predicción de color en alimentos: Las tendencias en color en alimentos que incluyen un aumento de ingredientes y colores vivos de alimentos naturales para una experiencia natural y sana.

SENSORY 2024

### Participación de Ingredientes y aditivos en el mercado de alimentos

Este mercado podría superar los USD90 mil millones en 2020, a un CAGR del 5.5% desde 2015. El mercado de ingredientes ha sido muy influenciado por el mercado de alimentos procesados y bebidas, así como también por las preferencias de los consumidores.

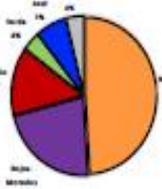


- Ingredientes base
- Aditivos
- Ingredientes especiales
- Aditivos especiales
- Aditivos
- Aditivos
- Aditivos
- Aditivos
- Aditivos
- Aditivos

SENSORY 2024

### Mercado Global Actual de Colorantes Para Alimentos

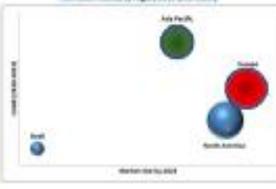
The food colors market was valued at USD 2.71 billion in 2017, it is projected to grow at a CAGR of 5.7%, to reach USD 3.12 billion by 2023.



Las tendencias de los alimentos naturales están generando la atracción del mercado debido a un mayor interés del consumidor por los ingredientes naturales que los ingredientes sintéticos "seguros de usar".

SENSORY 2024

### Europa representó el mayor mercado de colorantes alimentarios en 2016, lo cual se explica por una mayor conciencia sobre alimentos seguros y la inclinación hacia los beneficios de salud proporcionados por los colores naturales.



En el Asia Pacific el mercado creció más rápido entre 2018 y 2023. Las economías emergentes, como China y la India, desempeñan un papel importante en el suministro de colorantes alimentarios, ya sea como materia prima o en formas procesadas, al mercado europeo.

<https://www.sensory.com/insights/food-colorants>

SENSORY 2024

### PRINCIPALES ACTORES

ADM (EE), Sensory Technologies (US), Nature (US), DOW (US), Ciba (Switzerland), DSM (Netherlands), Naturo (France), DSM Group (Germany), Fluka Color (Italy), Graftal (Japan), and Proferon (Japan).



SENSORY 2024

### CRECE LA DEMANDA DE COLORES NATURALES

La demanda de colores naturales sobre sintéticos en la elaboración de alimentos está aumentando, porque los consumidores buscan la **Etiqueta Limpia**. Los peligros alimentarios asociados con los colores sintéticos hoy son una preocupación para consumidores informados.

Los colores sintéticos pueden causar **desórdenes alérgicos** entre los consumidores. El uso de metales pesados como el plomo o el arsénico para fabricar colores alimentarios sintéticos puede causar **enfermedades potencialmente mortales**.

#### Historia del color de los alimentos. Los colorantes sintéticos

A inicios de 1800, los colorantes azoos derivados de la anilina, un compuesto obtenido del petróleo, tinte. Los colorantes sintéticos son fáciles de producir y menos costosos. Se necesitan cantidades muy pequeñas, se mezclan fácilmente, no requieren colores intermediarios. Muchos países que preocupan a la salud los países europeos sobre la seguridad y uso de los colorantes, actualmente hay investigaciones para su uso en productos alimenticios.



Quemada, D. (2008)

### Las regulaciones de varios países han restringido el uso de colorantes sintéticos

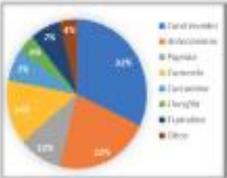
Por ejemplo, en 2008, en el Reino Unido se prohibieron seis colores en cualquier matriz de alimentos: E129, E130, E122, E110, E102 y E124. Esto ha afectado especialmente el consumo de colorantes alimentarios en la industria alimentaria del Reino Unido y sus países vecinos.

Color	EU	US	Prohibido
E129 (tartrazina)	110	1A	1100
Quinizarina (E130)	100	2A	1100
Carmesín (E122)	100	2A	1100
Rojo (E110)	100	2A	1100
Rojo (E102)	100	2A	1100



### CRECE LA DEMANDA DE COLORES NATURALES

Los colores de los alimentos naturales están ganando la atención del consumidor debido a su origen natural atractivo para los consumidores que les ven como un producto "seguro de usar". Los colores naturales reducen el riesgo de alergias e intolerancias entre los consumidores. También favorecen la demanda de colores naturales en aplicaciones de alimentos y bebidas. Se asocia a beneficios para la salud.

### APLICACIÓN DE COLORANTES NATURALES

#### ALIMENTOS

- ✓ Alimentos procesados
- ✓ Productos de panadería y confitería
- ✓ Carnes, aves de corral y mariscos
- ✓ Aceites y grasas
- ✓ Productos lácteos
- ✓ Otros (comunes para el desayuno, extracto de frutas y verduras, sopas, condimentos y especias, aderezos y salazas)

#### BEBIDAS

- ✓ Zumos y jugos concentrados
- ✓ Bebidas funcionales
- ✓ Bebidas gaseosas
- ✓ Bebidas alcohólicas



### Tendencias en colorantes naturales: ALIMENTOS QUE COLOREAN

- ✓ Ingredientes alimentarios con propiedades colorantes a partir de **concentrados de frutas y hortalizas**. Se consideran **ingredientes alimentarios**, no aditivos. Declaración de etiqueta limpia en códigos E.
- ✓ Colorantes naturales para bebidas instantáneas a base de **polvos** en sabor de amarillo, naranja, rojo y morado.
- ✓ Colorantes con tecnología de **encapsulación** que garantiza colorantes naturales estandarizados y estables.



### Alimentos que Colorean

Aplicaciones	Beneficios
Ingredientes para la nutrición y salud	Elige el color según el producto
Colorantes	Alimentos ricos en fibra
Colorantes	Sin aditivos o otros ingredientes
Colorantes	Alimentos ricos en ácidos grasos
Colorantes	El sabor de los productos de la UE
Colorantes	Productos saludables
Colorantes	Libres de GMO
Colorantes	Libres de Alérgenos



<https://www.trendline.com/br/ta/soluciones-de-color/ingredientes-que-colorean/>

**LOS DUEÑOS DE PERROS QUE SON JÓVENES, ESTÁN ESPECIALMENTE INTERESADOS EN LO NATURAL Y EN LO ORGÁNICO**

Si bien los dueños de mascotas con una edad entre los 18 y 34 años tienden a fijarse en el precio cuando compran alimento para sus mascotas, también tienden, más edad, a interesarse en alimentos naturales y orgánicos.

**37%** Aumentó para perros colostrales

**7%** Aumentó para perros geriátricos

Estadísticas basadas en 107.26 años de edad de mascotas y alimentos para perros. Fuente: Minox

**UN-ROJO ESTABLE AL CALOR**  
Para Usos Industriales

**Carmín de cochinilla**

**Carmín de cochinilla - detractores-percepción pública**

Actualmente, el Perú es el mayor productor y exportador de carmín de cochinilla, con una participación global de 80% y con un gran potencial de crecimiento, dada la tendencia de los países desarrollados de consumir productos naturales. El carmín de cochinilla como colorante natural es utilizado en diferentes industrias: la alimentaria, cosmética, farmacéutica e incluso en bebidas alcohólicas. Es preferido frente a los sintéticos, por no ser tóxico y por formar parte de la mayor demanda mundial de los productos orgánicos.

**Es el momento de sustituir al carmín**

**Usar desde la perspectiva del consumidor**

El carmín es un colorante de origen natural, que proviene del cuerpo seco de un pequeño insecto que vive en los cactus y se produce naturalmente en una zona de alta altitud, que se encuentra en la zona centro sur de Chile. El carmín de cochinilla es un producto natural que, cuando el consumidor consume este producto, no afecta su salud, porque es absorbido por sus organismos y se elimina por la orina.

**Desafíos y Oportunidades**

El principal factor de restricción para el mercado de colorantes de alimentos es el problema de salud causado por el consumo de algunos colorantes sintéticos.

- ✓ Los colorantes naturales un desafío es la estabilidad de los colorantes naturales, que cambia con el pH, la temperatura y la luz. Algunos colorantes naturales comienzan a decolorarse después de algún tiempo de procesamiento.
- ✓ Oportunidades de crecimiento en las regiones de Asia Pacífico y América del Sur. Los gobiernos de China y la India están ofreciendo incentivos para que las multinacionales establezcan empresas de Greenfield. India, China y Brasil se están enfocando más en el desarrollo biotecnológico y su aplicación en la fabricación de ingredientes colorantes naturales.
- ✓ La industria de alimentos está constantemente buscando maneras innovadoras de suministrar colorantes de fuentes naturales alternativas y están buscando nuevas materias primas para color.

**Polo territorial para el desarrollo de colorantes y antioxidantes de alto valor para la industria de alimentos a partir de materias primas altamente dedicadas de la zona centro sur de Chile**

Logos: Chile lo Hacemos Región, INIA, Fondo de Inversión Estratégica

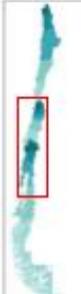
**El Desarrollo de una Industria en Chile de Colorantes y Antioxidantes**

ESTE POLO TERRITORIAL, busca a través de un modelo de gobernanza participativa y ejecutiva, el desarrollo de sectores reales bajo el concepto del comercio justo involucrando toda la cadena de valor desde los agricultores hasta las empresas transformadoras y compañías comercializadoras.

**CADENA DE VALOR**

Producción      Transformación      Comercialización

**PRECIO JUSTO**



**TIEMPO DEL PORTAFOLIO DE PRODUCTOS**





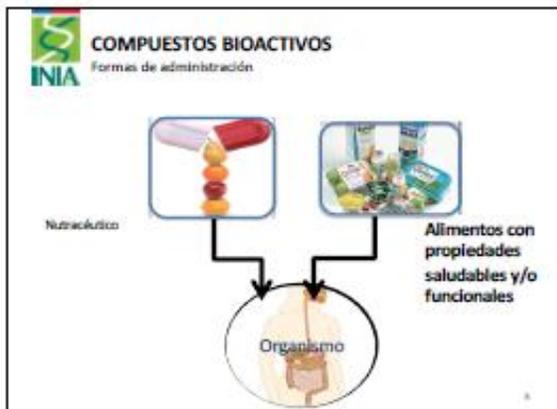
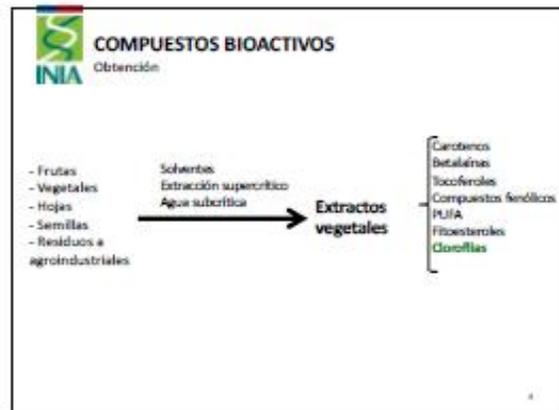
FIGURA 10.2.7. PRESENTACIÓN N° 3 SEMINARIO FIA CLOROFILA



**COMPUESTOS BIOACTIVOS**  
 Definición

- Los Compuestos Bioactivos son sustancias que se encuentran en los alimentos de origen vegetal y/o animal, biológicamente activas, que no son nutrientes esenciales para la vida, pero tienen efectos positivos en la salud.
- Se encuentran naturalmente en las plantas (frutas, vegetales, legumbres, granos enteros, nueces semillas, hongos, hierbas y especias).

**LOS FITOQUÍMICOS**



**CLOROFILA**  
Fuentes naturales

**Clorofilas**

**Clorofila a** **Clorofila b**

**Clorofilas**

**Clorofila y polifenoles**

**Colorante Antioxidante**

**Colorantes Naturales con propiedades saludables y/o funcionales**

Inestables frente a: Temperatura, O<sub>2</sub>, luz y pH.

**CLOROFILA**  
Fuentes naturales

**ARTICULO 145** - Se permite usar como sustancias colorantes sólo las que se señalan en el presente artículo.

Para los efectos de rotulación se deberá emplear el nombre, según el Código Alimentario, señalado en las siguientes listas: <sup>10</sup>

Nº SIN	NOMBRE CODEX	SINONIMOS	LIMITE MAXIMO
140	Clorofilas		5PP
141	Clorofilas de cobre		
141 (i)	Complejo cúprico de clorofila		5PP
141 (j)	Complejo cúprico de clorofila, sales de sodio y potasio		5PP

**CLOROFILA**  
Formas de consumo

**CLOROFILA**  
Fuentes naturales

**Extracto de clorofila**

**Inestables frente a: T°, pH, a<sub>w</sub>, O<sub>2</sub> y luz**

**Extracción**

**Estabilización Encapsulación (Formato líquido o polvo)**

**TECNOLOGIAS DE HABILITANTES**  
Extracción + estabilización

**Tecnologías habilitantes de extracción:**

- Extracción convencional líquido-líquido o sólido-líquido
- Extracción líquida presurizada
- Extracción sub- y super-crítica
- Extracción asistida por microondas o ultrasonidos

Estas tecnologías podrán aprovechar en los próximos años un abanico innovador para aumentar la producción de ingredientes bioactivos.

**Formulación de Ingredientes**

Se requieren nuevas tecnologías de formulación para desarrollar productos que puedan llevar a cabo una función específica y tener un efecto deseado. Las tecnologías de encapsulación y estabilización a escala micro- y nano-métrica mejoran los aspectos de liberación y mejoran el efecto que tienen los ingredientes bioactivos.

**FORMULACION DE INGREDIENTES**  
Procesos y validaciones

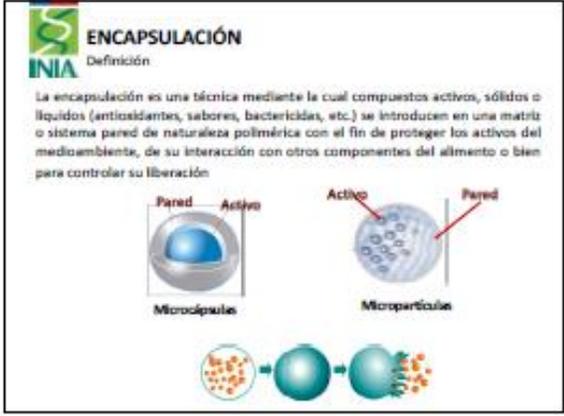
**Desafíos actuales:**

- Menor uso de solventes
- Reducción de operaciones unitarias
- Reducción del uso de energía
- Uso renovable de los recursos
- Proceso seguro
- Impacto ambiental
- Rápido retorno de la inversión

**Proceso:** Muestra Pura → Pre-tratamiento → Extracción → Purificación → Protección → Producto (Ingredientes)

**Nivel de evidencia:** Estudios moleculares y celulares (R1) → Estudios en animales (R2) → Estudios en humanos (R3)

Relaciones validadas (R1) → Relaciones robustas (R3)



**ENCAPSULACION**  
Secado por atomización

**Atomization**

1 Ingreso del Aire  
2 Contacto  
3 Cámara de Evaporación  
4 Salida  
5 Recipiente  
6 Cámara de Temperatura del Aire de Entrada  
7 Salida de Temperatura del Aire de Salida  
8 Vaso Receptor del producto final

**VENTAJAS**

- Simple y de bajo costo
- Apropiado para edulcorantes sensibles a la temperatura
- Estabilidad microbiológica  $\rightarrow$  baja  $a_w$
- Reduce costo de almacenamiento y transporte

Humid. air ( $T > T_{amb}$ )

**ENCAPSULACION**  
Secado por atomización

**Secador, escala piloto (Laboratorio)**

**Secador industrial**

**ENCAPSULACION**  
Otras métodos

**Gelificación**  
**Coacervación**  
**Liposomas**  
**Evaporación por solventes**  
**Complejación con ciclodextrinas**

**Gelificación iónica**

**Liposomas**

**Coacervación**

**Ejemplos: Aplicaciones**

**EJEMPLOS DE APLICACION**  
Extractos de clorofila

Clorofila  
Microalgas  
Extracción con  $CO_2$  supercrítico

Jugos de Lechuga

**EJEMPLOS DE APLICACION**  
Actividades futuras

Extractos de clorofila

Extracto de Clorofila

"PRODUCCIÓN DE colorantes naturales a partir de clorofila extraída de especies transgénicas"

FIGURA 10.2.8. PRESENTACIÓN N° 4 SEMINARIO FIA CLOROFILA

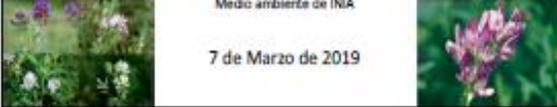


**Nuevos horizontes para el cultivo de la alfalfa en Chile.**

Carlos Ovalle

Coordinador Programa Nacional Agricultura Sustentable y Medio ambiente de INIA

7 de Marzo de 2019




**Antecedentes**

La alfalfa ha sido tradicionalmente en Chile una alternativa para sistemas ganaderos intensivos principalmente en zonas de riego, para lo cual se han utilizado materiales de alto rendimiento seleccionados y mejorados en USA, pero no bien adaptados al pastoreo y a ambientes con fuertes limitantes de clima, suelo y de manejo más extensivo.

¿Podemos expandir el cultivo a zonas marginales, en particular con limitantes de sequía estival, frío invernal, acidez edáfica, para uso en pastoreo y para la industria??

¿Se necesitaría disponer de germoplasma capaz de producir y persistir adecuadamente en esos ambientes??




**Características de la especie para su adaptación a zonas marginales en Chile**

- Persistencia y Rendimiento
- Diversidad en grados de latencia invernal
- Tolerancia a la sequía
- Acidez del suelo
- Tolerancia al pastoreo
- Áfidos y enfermedades
- Nutrición animal – Meteorismo.



**Hipótesis**

Especies perennes de raíces profundizadoras, como la alfalfa con alta capacidad de fijación de Nitrógeno, podrían contribuir a:

- Persistir en estos ambiente
- > productividad de MS y proteína Prolongar la curva de producción: 1 mes en otoño y 1,5 a 2 meses en primavera
- Contribuir a mejorar la calidad (física y química de los suelos)
- Convertirse en una nueva alternativa productiva como zonas productoras de heno para el mercado interno y/o para la exportación
- Generar materia prima para la industria alimentaria (colorantes)



**El programa de investigación en Alfalfa**

- ¿Qué estamos haciendo?: Explorar la diversidad genética existente en alfalfa, para identificar materiales capaces de adaptarse y producir económicamente en estos ambientes
- Introducción y colecta de germoplasma
- Introducción y colecta de Rhizobios
- Fenotipado y genotipado de los materiales introducidos
- Ensayos de comportamiento en diferentes zonas agroecológicas
- Extensión



**Origen de la Alfalfa**



La alfalfa tiene su origen en Asia Menor y sur del Cáucaso, Turquía, Irán, Irak, Siria, Argelia, Kasablanco y Pakistán. Los árabes introdujeron la alfalfa en Grecia y de allí pasó a Italia en el siglo IV a. c. Los árabes a través del norte de África, Argelia y España donde se extendió a toda Europa y luego fue traída a América. Gran diversidad genética

**Germplasm acquisition**

- SMOZ Plant collection in Acre/Sajon, Kazakhstan (2007)
- Crop Trust KRM collection in Italy (2011)
- Australian Pasture Genetics - 10 acc. Dried to drought (2002 available)
- Russian Valerio Institute Research (VIR) - 21 drought tolerant ecotypes targeted from old Russian herds
- Chile: Atacama Desert, INIA

**Tolerancia a la sequía:**  
Selección de materiales ancestrales

- Alfalfa posee raíces profundas que pueden alcanzar el agua hasta 7 m en el suelo
- Muchas de las zonas de secano en Chile están sometidas actualmente a fuertes sequías
- Alfalfa tiene la capacidad de sobrevivir en extremas condiciones de sequía y pastoreo

**Tolerancia a frío Magallanes alfalfa, Patagonia Chile**  
Jorge Ivelliz-Saez and Luis Inostroza - INIA

60 cm, 70 years old

**Alfalfa Alta Sierra Valle Ilapata**

Alfalfa Alta Sierra en Ilapata, Valle de Comanones

**Alta Sierra, North Andes Chile (Putre)**  
- Andean Mountains, 3500m elevation

**Encuentros con productores de Semillas de Ilapata**

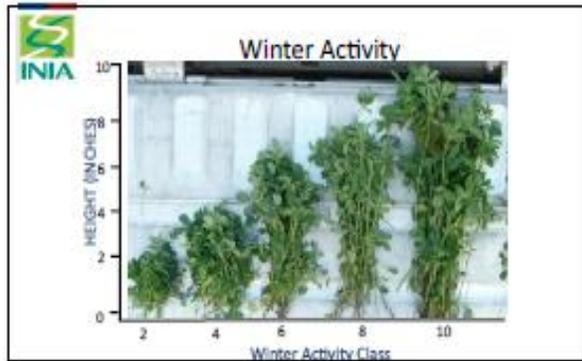
El sector de Ilapata posee un prestigio como productores de semillas de Alfalfa, teniendo una demanda estable cada temporada, una venta informal y en ferreo, cuentan con apoyo técnico del equipo PROCESAR de la zona.



**Species examples**

CWR of alfalfa that have extreme levels of drought tolerance are being used to develop hybrids that plant breeders can more easily integrate into their programs

Medicago sativa subsp. sativa (2n = 16, R2)  
 Medicago truncatula (doubled 2n = 42), annual  
 Medicago sativa (2n = 16)  
 Medicago crassifolia (2n = 42)



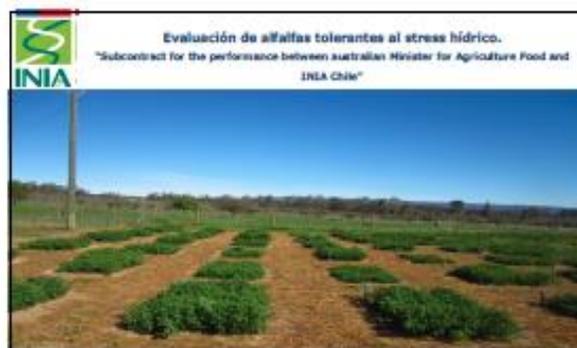
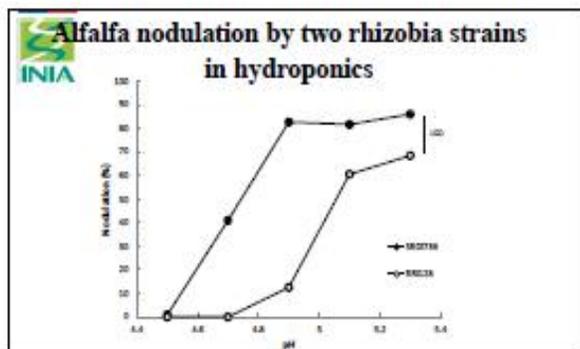
**Tolerancia a acidez edáfica**

SARDI? Average +2% nodulation  
 TAM? 2 cycles selection for nodulation +100% nodulation



**Multiples criterios de selección**

Plantas noduladas con raíces largas y alta tasa de crecimiento



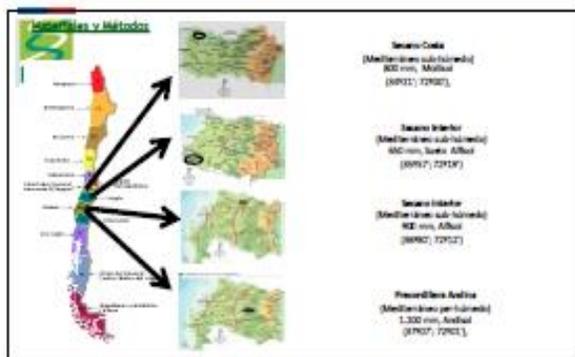


## Evaluaciones de tolerancia a sequía

- Evaluación tolerancia a frío (winter hardiness) in Kazakhstan Chile and Inner Mongolia
- Ensayos de rendimiento en cada país : sobrevivencia y producción en ambientes de alta y baja condición de sequía
- Capacidad de retener las hojas durante le período de sequía en ambientes Mediterráneos (Chile y Australia)
- Fisiología de la tolerancia al estrés hídrico

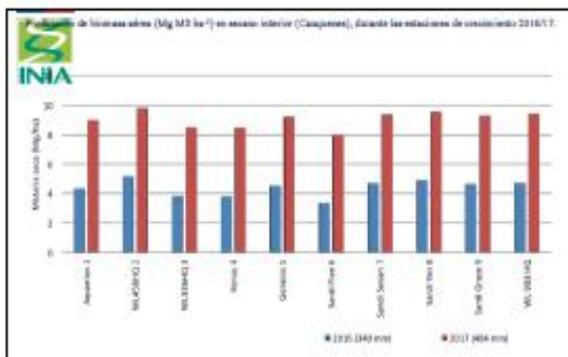


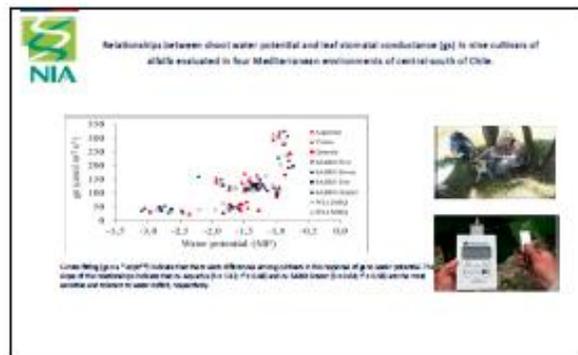
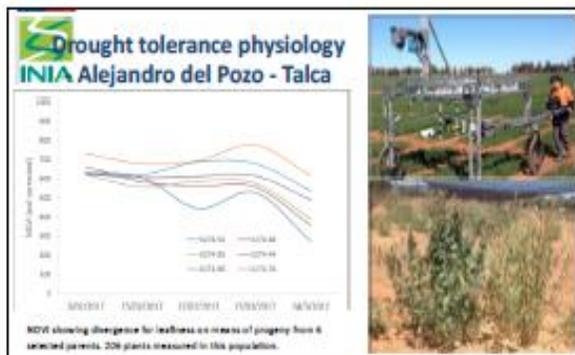
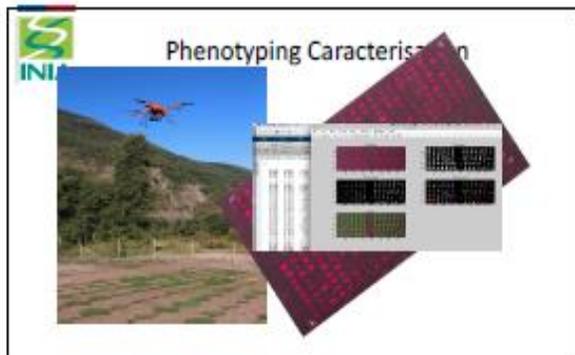
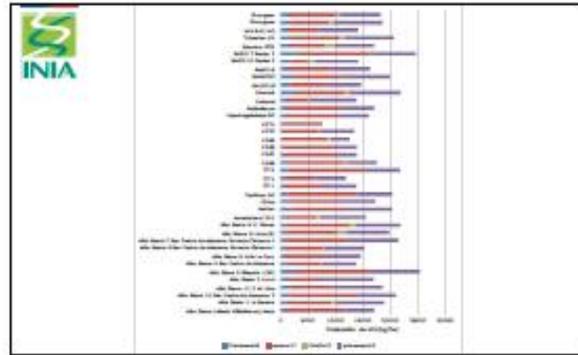
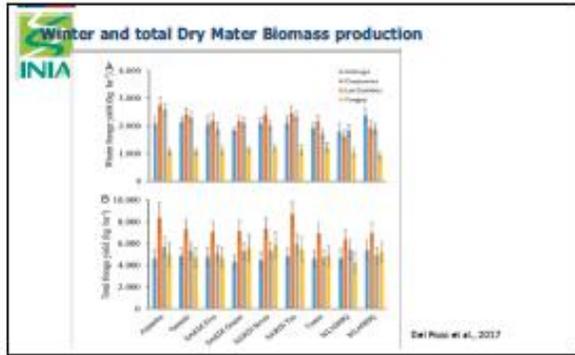
Huhhot, Inner Mongolia, China

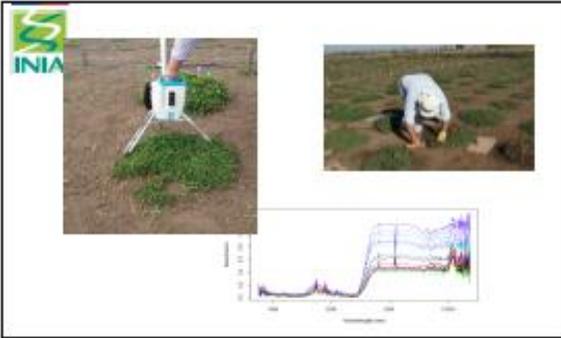


**Tabla 2. Supervivencia de plantas (%) de 9 cultivares de alfalfa en cuatro ambientes de la zona Mediterránea a los del INIA (Agosto 2014). N = 80. LSD = 10,8**

Especie	Varietal	Hidango	Carapumas	Los Grillos	Yungay
Medicago sativa	Aquarius	87	84	95	90
	WL 454 HQ	89	83	91	93
	WL 324 HQ	80	80	91	88
	Genesis	82	90	85	92
	Sardi Five	99	81	97	93
	Sardi Five	86	83	94	91
	Sardi Seven	77	85	94	92
	Sardi Ten	94	90	94	92
	Sardi Grace	91	88	97	90
LSD		15	11	11	11







### Capture-seq for alfalfa genotyping

The diagram illustrates the capture-seq process for alfalfa genotyping. It includes the following steps:

- Custom probe design and synthesis:** Probe sets highly suitable for alfalfa species. Custom probe design for maximal performance.
- Library preparation:** Accurate and consistent process for high stability.
- Capture enrichment:** Accurate and consistent process for high stability.
- Sequencing:** Various sequencing methods available to study the project's demand.
- Data analysis:** Identification of SNPs and insertion-deletion events.

Logos for INIA and RAPID GENOMICS are present.

### Adaptaciones en el manejo agronómico

- Época de siembra
- Dosis de semilla
- Control de malezas
- Manejo de cortes y pastoreo

Producción de biomasa aérea (Mg MS ha<sup>-1</sup>) y número de plantas por m<sup>2</sup> en las diferentes épocas de siembra de alfalfa (SARDI 10) en campo interior (Cauquenes), durante las estaciones de crecimiento 2018/19.

Epoca de siembra	Fecha Siembra	2018 (2018/19)		2019 (2019/20)	
		Mg MS ha <sup>-1</sup>	# Plantas m <sup>-2</sup>	Mg MS ha <sup>-1</sup>	# Plantas m <sup>-2</sup>
De julio	20/07/18	1,07 a	40 a	11,90	376
1 <sup>o</sup> Corte (20/08)	08/08/18	1,50 ab	50 ab	9,90	333
12 die después 1 <sup>o</sup> Corte	29/08/18	1,14 ab	31 bc	9,90	333
12 die después 2 <sup>o</sup> Corte	29/09/18	1,03 a	30 a	9,90	40 a
Inicio Pastoreo	01/08/19	3,00 c	31 bc	1,10	220

Epoca de siembra	Fecha Siembra	2019 (2019/20)		2020 (2020/21)	
		Mg MS ha <sup>-1</sup>	# Plantas m <sup>-2</sup>	Mg MS ha <sup>-1</sup>	# Plantas m <sup>-2</sup>
De julio	20/07/19	4,15 a	101	6,00	9
1 <sup>o</sup> Corte (20/08)	08/08/19	4,90 a	101	6,07	9
12 die después 1 <sup>o</sup> Corte	29/08/19	4,07 a	101	6,09	9
12 die después 2 <sup>o</sup> Corte	29/09/19	4,07 a	101	6,03	17
Inicio Pastoreo	01/08/20	6,75 c	101	6,07	9

\* Mismo uso igual (usa) en columnas adyacentes o filas adyacentes con el P y el D según prueba de Duncan.  
 \*\* Coeficiente de variación.

Producción de biomasa aérea (Mg MS ha<sup>-1</sup>), número de plantas por m<sup>2</sup>, altura de plantas (cm) y raíces en diferentes dosis de siembra de alfalfa en WL 909 (R) en campo interior de Cauquenes, durante las estaciones de crecimiento 2018/19.

Dosis de siembra (kg ha <sup>-1</sup> )	Mg MS ha <sup>-1</sup>		# Plantas m <sup>-2</sup>		Altura (cm)		Raíces	
	2019 (2019/20)	2019 (2019/20)	2019	2019	2019	2019	2019	2019
5	3,81	3,83	47	28	54 a f	86	3,6	6,9
10	3,23	3,89	45	27	48 b	86	3,3	6,6
15	3,59	3,75	45	26	49 b	83	3,5	6,8
20	3,75	3,95	44	30	51 b	81	3,5	6,6
sd (%) <sup>a</sup>	14,17	11,74	1,44	10,82	6,30	6,52	12,81	6,67

\* Mismo uso igual (usa) en columnas adyacentes o filas adyacentes con el P y el D según prueba de Duncan.  
 \*\* Coeficiente de variación.

### Productos

- Nuevas variedades disponibles :
  - SARDI 7
  - SARDI 10
  - SARDI GRAZER
- Recursos para iniciar UN PMG
- Selección asistida por marcadores moleculares (MAS).
- Identificación de progenitores para iniciar un programa de cruce



**SARDI-Grazer**

**Invierno activa alfalfa**

- Actividad de invierno 0
- Persistencia 10 años más
- Excelente tolerancia al pastoreo y persistencia
- Permite un período de almacenamiento de hasta 7 meses en su máxima estabilidad
- Requiere un tipo de pastoreo rotacional mínimo
- Persistencia excepcional en una variedad de entornos, desde baja a alta precipitación, tierras secas e irrigadas
- Altamente adaptada a una variedad de sistemas de cultivo
- Se adapta bien a los sistemas mixtos con graníferos perennes, como la festuca alta en los sistemas de rotación de pastoreo



**TT Alfalfas para el Secano**



**SEMINARIOS DE SENSIBILIZACIÓN 2017**

De un Campesino en Chiriquí, departamento de Cuzco

De un Campesino en Abtao, departamento de Cuzco

De un Campesino en Chiriquí, departamento de Cuzco

De un Campesino en Chiriquí, departamento de Cuzco



**SELECCIÓN ALFALFA DE INVIERNO**



**Conclusiones**

Es posible cultivar alfalfa en Ambientes predominantemente de secano sometidos a condiciones de sequía estival pronunciada.

- Valle central con riego 10 Ton MS/ha
- Valle central sin riego/eventual: 8 a 12 Ton/ha
- Precordillera andina Rúbica, Biobío, : 10 - 12 Ton MS/ha
- El mayor potencial está en precordillera
- Secano Interior y de la costa con >500 mm
- 6 a 10 ton /MS/ha




**Costos**

ITEM	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO	COSTO
<b>LABORES</b>				
Sema directa	ha	1	\$0.000	\$0.000
Riego 10 veces, irrigación, fertiliz.	ha	1	\$0.000	\$0.000
Actividad forrajera año	ha	1	\$0.000	\$0.000
Manejo de fertilizantes, agua	ha	1	\$1.000	\$1.000
Actividad de riego año	ha	1	\$0.000	\$0.000
Alfalfa, 10/10	ha	1	\$1.000	\$1.000
Defensa contra plagas de invierno, 20/10/10	ha	1	\$1.000	\$1.000
Alfalfa natural, pasto	ha	1	\$0.000	\$0.000
Sema 1, 12 de invierno 20/10	ha	1	\$0.000	\$0.000
Sema 2 de la misma zona	ha	1	\$0.000	\$0.000
Alfalfa (sema 1)	ha	1	\$0.000	\$0.000
<b>RECURSOS</b>				
Alfalfa	ha	1	\$0.000	\$0.000
Sema 1/2/3/4	ha	1	\$0.000	\$0.000
Sema 5	ha	1	\$0.000	\$0.000
Tronco alfalfa	ha	1	\$0.000	\$0.000
Manejo de fertilizantes año	ha	1	\$0.000	\$0.000
Manejo 10/10/10	ha	1	\$0.000	\$0.000
Manejo 20/10/10	ha	1	\$0.000	\$0.000
Manejo 30/10/10	ha	1	\$0.000	\$0.000
Manejo 40/10/10	ha	1	\$0.000	\$0.000
Manejo 50/10/10	ha	1	\$0.000	\$0.000
Manejo 60/10/10	ha	1	\$0.000	\$0.000
Manejo 70/10/10	ha	1	\$0.000	\$0.000
Manejo 80/10/10	ha	1	\$0.000	\$0.000
Manejo 90/10/10	ha	1	\$0.000	\$0.000
Manejo 100/10/10	ha	1	\$0.000	\$0.000
<b>TOTAL LABORES + RECURSOS</b>				<b>\$0.000</b>

Fuente: C. Ruiz, 2008



## Equipo de trabajo

- INIA
  - Carlos Ovalle
  - Soledad Espinoza
  - Luis Inostroza
  - Teresita Az
  - Yema
  - José Cares
- Universidad de Talca
  - Alejandro del Pozo
- Universidad de Concepción
  - Macarena Gerdig



## Agradecimientos: Cuatro proyectos

Funderyt 1: Evaluation of new herbaceous perennial legumes in dryland Mediterranean agroecosystems: pasture persistence, productivity, nitrogen fixation and water use efficiency (2012-2016)

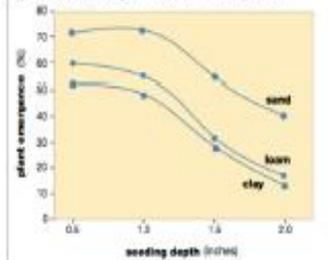
Funderyt 2: Landraces of alfalfa as a source of germplasm tolerant to abiotic stresses: selecting plant-rhizobia genotypes for a harsh future environment (2016-2021)

Crop trust 1: The potential of wild crop germplasm to improve drought tolerance in alfalfa to increase food production for a growing population with less water (2016-2018)

Crop trust 2: The use of crop wild relatives to develop drought tolerant alfalfa and its extension to subsistence farmers in Kazakhstan, China and Chile



Figure 11. Alfalfa emergence from various seeding depths.



## Seminarios Demostrativos con los agricultores del Sectoro Medteráneo del centro sur de Chile

Producción de granos verdes (kg/ha) (promedio de 3 años)

Región	Parcela	Producción promedio (kg/ha)
Magallanes	seminario de San Andrés	4.20
Magallanes	Chapadón	4.40
Magallanes	Pudón	3.7
Magallanes	Chalchicoma	3.8
Magallanes	Chapadón	3.8
Magallanes	San Andrés	3.8
Magallanes	Chalchicoma	3.8
Magallanes	Chapadón	3.8



### 10.3. INFORMATIVO INIA FIA CLOROFILA

Se realizó un artículo presentando el proyecto “Producción de colorantes verdes generados a partir de la clorofila extraída de praderas forrajeras”.

Se dieron a conocer los objetivos del proyecto, sus avances en el tema, y la importancia de esta iniciativa: “La iniciativa apoyada por la Fundación para la Innovación Agraria (FIA) busca contribuir a la alimentación saludable de las personas y ser una alternativa agronómica, con alto valor agregado, para cientos de productores que cultivan especies forrajeras en la zona centro sur del país”.



24 Jul 2019 INIA La Platina, Noticias

0

**En Latinoamérica: Investigadores de INIA son pioneros en extraer clorofila de especies utilizadas para alimentación animal y usarla para nutrición de las personas**

**Santiago, julio de 2019.-** A nivel mundial la demanda por colorantes naturales, específicamente por extractos como la clorofila, que proporcionan el "color verde" de manera saludable a lácteos, jugos, jaleas, aguas saborizadas e incluso golosinas, ha crecido inmensamente y Chile no es la excepción. A nivel mundial, la tendencia que busca alimentos más naturales sin efectos nocivos en la salud humana está en aumento.

Alertados por esta situación, un grupo de profesionales del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), entidad vinculada al Ministerio de Agricultura, junto a la empresa privada, comenzó a buscar alternativas que permitieran extraer este pigmento, pero a un menor costo que al incurrido en la actualidad. Fue así como, se identificaron dos especies forrajeras (trébol rosado y alfalfa), para el uso alimentario, que actualmente se evalúan para poder optimizar la producción y extracción del pigmento.



Así lo explicó la coordinadora nacional del Programa Nacional de Alimentos del INIA, María Teresa Pino, quien agregó que "es muy relevante valorizar nuestras materias primas y ofrecer nuevas alternativas al productor y a los terrenos agrícolas no usados por la fruticultura u otros cultivos más rentables. Pero además, es importante destacar que producción de clorofilas, tanto como colorante como ingredientes con propiedades funcionales, tienen un nicho en el denominado Mercado de Salud y Bienestar que crece a una tasa cercana al 6%. La población en general hoy está más consciente de la importancia de consumir alimentos saludables y que aporten más allá del sabor", explicó Pino.

En ese sentido, la investigadora del Programa de Alimentos, Cristina Vergara, especificó que la clorofila no sólo se usa en la industria alimentaria sino también en otras industrias como la nutracéutica, debido a sus cualidades, entre las que se encuentra aumentar el metabolismo, mejorar la digestión y, por lo tanto, los efectos detox. "Por estas razones se utiliza como un compuesto de propiedades saludables en la dieta diaria de las personas", enfatizó la doctora en Nutrición y Alimentos.

Actualmente, el proyecto se encuentra en una etapa intermedia y se espera que a principio del 2020 se obtengan los prototipos de extractos creados. "Ya se evaluaron en terreno especies forrajeras de las que potencialmente se podría extraer esta clorofila y ahora estamos trabajando en el laboratorio de alimentos de INIA La Platina para elaborar extractos de clorofila que sean saludable en la medida que podamos usarlos. Sin embargo, lo más importante es que la clorofila -molécula versátil, con propiedades saludables- es inestable frente a condiciones ambientales. Pierde su actividad frente a la luz, temperatura y otras condiciones del ambiente, por lo tanto, el desafío es lograr hacer un extracto a partir de estas especies forrajeras, con alto contenido de clorofila, que sean verdes, pero que además se mantengan estables en el tiempo, es decir, no se degraden, no pierdan su color", aclaró Cristina.

### En busca de la mejor especie

El Programa de Especies Forrajeras de INIA trabaja evaluando materiales introducidos y generando variedades propias a objeto de poner a disposición de los productores cultivares adaptados, con buena producción de forraje y persistentes en los ambientes de la zona ganadera del país. "Hasta el momento, se dispone de líneas genéticas avanzadas y cultivares de especies leguminosas perennes (Alfalfa, Trébol Rosado y Lotera de Hoja Ancha), altamente adaptados a las condiciones de suelo y clima nacional. Este germoplasma, por sus atributos genéticos y fisiológicos, posee un alto potencial de producción de forraje y al mismo tiempo de clorofilas", dijo el Subdirector Regional de Investigación y Desarrollo de INIA Quilamapu, Luis Inostroza, quien agregó que, dentro del grupo de especies forrajeras, la alfalfa se considera la matriz con mayor potencial de producción de clorofilas.



En tanto, otra especie que están evaluando es el trébol rosado "una importante especie leguminosa pratenosa a nivel mundial y en Chile, que entre sus atributos destaca su amplia adaptabilidad a distintas condiciones ambientales, suelos de profundidad y fertilidad medias, su elevado potencial productivo y su rápida entrada en producción una vez establecido, mostrando una buena capacidad competitiva con malezas al establecimiento", detalló el coordinador nacional del Programas Recursos Genéticos y Cultivos, Fernando Ortega.

A estos atributos se debe sumar que trébol rosado es la única especie leguminosa forrajera en la cual INIA ha estado trabajando en su mejoramiento genético por más de cinco décadas, lo que determina que tengamos disponibles variedades de excelente adaptación a las condiciones nacionales.

Ambos investigadores detallaron que se busca seleccionar la mejor especie forrajera y al mismo tiempo los cultivares y/o líneas genéticas con mayor potencial de producción de clorofila por unidad de superficie. Al mismo tiempo, se definirán las prácticas de manejo agronómico que maximizan la producción de clorofilas y mantención de su estado químico para el procesamiento industrial. Finalmente, en conjunto con la industria, se validarán metodologías industriales a nivel piloto para la extracción y formulación de la clorofila, y con los resultados en mano, se diseñará e implementará un modelo de negocio para la comercialización de clorofila. El modelo de negocio se sustentará en la producción de biomasa por agricultores de la zona ganadera de Chile (pequeños y medianos), quienes tienen amplia experiencia en el cultivo de especies forrajeras. "He aquí un ejemplo claro en donde la sinergia entre la ciencia y la industria, traen un beneficio directo a la comunidad", acotó la coordinadora nacional del Programa Nacional de Alimentos del INIA, María Teresa Pino.

Esta noticia tuvo difusión en otros medios como portal del agro Chile:

<https://www.portalagrochile.cl/2019/07/30/investigadores-de-inia-son-pioneros-en-extraer-clorofila-de-especies-utilizadas-para-alimentacion-animal-y-usarla-para-nutricion-de-las-personas/>

#### 10.4. PARTICIPACION Y DIFUSION DE PROYECTO EN EXPO CHILE AGRICOLA 2019.

En esta feria se presentó el tema “Producción de colorantes verdes generados a partir de la clorofila extraída de praderas forrajeras” (junto con el tema de “Colorantes naturales”). El equipo de trabajo presentó muestras de plantas de alfalfa, especies forrajeras liofilizadas, extractos y encapsulados de clorofila, a continuación, algunas fotografías de la actividad.



**Figura 13: Stand INIA “Colorantes naturales”.**



**Figura 14: muestras de Praderas, colorantes verdes.**



**Figura 15: Expo Chile Agrícola 2019, Stand INIA.**

# Investigadores de INIA destacan en primer día de Expo Chile Agrícola 2019

Por

Portal Agro chile

-

agosto 26, 2019



Expo Chile Agrícola 2019

*Colorantes naturales y tecnologías digitales para apoyar los sistemas de riego de los agricultores captaron la atención de los cientos de asistentes al primer día del gran encuentro del Agro.*

**Santiago, 26 de agosto de 2019.-** Capacitaciones de alto nivel prepararon los especialistas del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), las que fueron presentadas en el marco de la Expo Chile Agrícola 2019, evento que se realiza hasta el miércoles 28 de agosto en el Mercado Mayorista Lo Valledor. Se trató de los temas “Factores de éxito de la producción con base agroecológica” y “Alternativas a la quema de rastrojos” que expusieron los investigadores de INIA Quilamapu, Cecilia Céspedes y Carlos Ruiz, respectivamente.



Expo Chile Agrícola 2019

El primer tema se enfocó en adoptar una agricultura más sostenible, teniendo en cuenta el resguardo de los suelos, a través del fortalecimiento de su actividad microbiana, permitiendo así una producción más sana y saludable. En tanto, la alternativa a los rastrojos se orientó a la importancia de incorporar los residuos agrícolas en los procesos productivos, lo que permite aumentar la calidad del suelo gracias al incremento de la materia orgánica.

Además, en el espacio destinado a los diferentes servicios del agro, INIA presentó un stand con innovadoras muestras de proyectos, como los colorantes naturales generados de la clorofila extraída de praderas forrajeras y pigmentos desarrollados a partir de papas de colores y zanahorias moradas. El proyecto es liderado por la coordinadora nacional del

Programa de Alimentos de INIA, María Teresa Pino, y fue presentado por la investigadora Cristina Vergara y parte del equipo del laboratorio de materias primas de INIA La Platina.



Expo Chile Agrícola 2019

En tanto, tecnologías digitales que apoyan los sistemas de riego de los agricultores fue otro tema destacado que el investigador de INIA Intihuasi, Claudio Balbontín, presentó durante la jornada. Más detalles sobre esto en <http://maps.spiderwebgis.org/login/?custom=plas>

La Expo Chile Agrícola 2019 es el encuentro oficial del agro organizado por el Ministerio de Agricultura y todos sus servicios, y se llevará a cabo hasta el miércoles 28 de agosto, entre 8 y 19 horas.

Para mañana miércoles el equipo de INIA presentará una muestra de plantas de ajos libres de virus y la producción de alimentos más sanos, a través de protocolos conducentes a bajar la carga de plaguicidas. También, desde a las 08:30 horas, se realizará el seminario y degustación de quesos denominado “Agregación de valor y elaboración de lácteos saludables”, impartido por los investigadores de INIA Remehue, Rodrigo Morales e Ignacio Subiabre.

En tanto, a las 10:00 horas, la encargada del Laboratorio de Entomología de INIA La Platina, Nancy Vitta, se referirá a la “*Bagrada hilaris*: manejo integrado de la plaga como una alternativa sustentable para los agricultores”.

### **Acerca de INIA**

El Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) es la principal institución de investigación agropecuaria de Chile, vinculada al Ministerio de Agricultura, con presencia nacional de Arica a Magallanes, a través de sus 10 Centros Regionales, además de oficinas técnicas y centros experimentales en cada una de las regiones del país. Su misión es generar y transferir conocimientos y tecnologías estratégicas a escala global, para producir innovación y mejorar la competitividad del sector agroalimentario.

**Contacto de prensa:** Felipe de Larraechea, Jefe Nacional de Comunicaciones.

+56991999101 / [felipe.delarraechea@inia.cl](mailto:felipe.delarraechea@inia.cl)

## 10.5. PARTICIPACION ESPACIO FOOD & SERVICE 2019.

Durante la feria en Stand INIA se presentó el tema “Producción de colorantes verdes generados a partir de la clorofila extraída de praderas forrajeras” (junto con el tema de “Colorantes naturales”). Se enseñaron muestras de especies forrajeras liofilizadas, extractos y encapsulados de clorofila, a continuación, fotografías de la muestra realizada.



**Figura 16: Stand INIA muestras de “Colorantes naturales”.**



**Figura 17: Extractos de clorofila.**



**Figura 18: Espacio Food & Service 2019, Stand INIA.**

## **ANEXO 10.6. VISITA GTT-PRADERAS ENSAYO PUEBLO SECO.**

Durante el día 29 de agosto, se realizó una visita junto al grupo GTT-praderas a cargo de Don Carlos Ruiz (representante de INIA), al ensayo establecido en el predio del Sr. Fernando Muñoz quien es un pequeño agricultor incluido en el grupo GTT-Praderas de INIA., ubicado en el sector Pueblo Seco de la comuna de San Ignacio, provincia del Diguillín, Región de Ñuble. En el cual se establecieron las dos especies más productivas en términos de su producción de biomasa y clorofilas (Anexo 3), donde se expusieron sobre los cultivares (9 cultivares de alfalfa y 4 de trébol rosado) establecidos en el ensayo.

### **10.6.1. REGISTRO FOTOGRAFICO VISITA GTT-PRADERAS**



**Figura 19: Visita grupo GTT Praderas a cargo de Carlos Ruiz.**



**Figura 20: cultivares de Alfalfa establecidas.**



**Figura 21: Asistentes.**



**Figura 22: Cultivares de Trébol Rosado establecidas.**

## 10.7. DIA DE CAMPO “PRODUCCION DE COLORANTES NATURALES A PARTIR DE CLOROFILA EXTRAIDA DE ESPECIES FORRAJERAS”.

El día 28 de noviembre, se realizó el Día de Campo “producción de colorantes naturales a partir de clorofila extraída de especies forrajeras”. El día de campo se realizó en el ensayo establecido en el sector de Pueblo Seco de la comuna de San Ignacio, provincia del Diguillín, Región de Ñuble. En el cual se establecieron las dos especies más productivas en términos de su producción de biomasa y clorofilas. Tuvo participación del Coordinador del Proyecto Don Luis Inostroza, de Don Carlos Ruiz (Extensionista GTT de INIA) y del equipo técnico del centro regional INIA Quilamapu. Se expusieron resultados preliminares del proyecto (determinación de la especie más productiva; OE1) y se dio a conocer una vez más los objetivos y alcances del proyecto. Se explicó y revisó los experimentos establecidos (9 cultivares de alfalfa y 4 de trébol rosado). Se invitó al Dr. Pablo Undurraga, experto en fertilidad de Suelos, para comentar respecto a la fertilización de praderas en la pre-cordillera de Ñuble. También se contó con la visita del Representante macro zonal de FIA de las regiones del Biobío y Ñuble, Gonzalo Rueda Lama. Además de más de 50 agricultores de las comunas de San Ignacio, El Carmen, Yungay, Huepil, Tucapel, Yumbel, Chillán, Bulnes, entre otras (se adjunta programa de la actividad).

### 10.7.1. REGISTRO FOTOGRAFICO DIA DE CAMPO



**Figura 23: Día de Campo ensayo de Cultivares de Alfalfa.**



**Figura 24: Día de Campo ensayo de Cultivares de Trébol Rosado.**



**Figura 25: Día de Campo ensayos Alfalfa y Trébol Rosado.**



**Figura 26: charla de suelos y fertilización de la región a cargo del investigador Pablo undurraga.**

## 10.7.2. INVITACION Y PROGRAMA DIA DE CAMPO



CHILE LO  
HACEMOS  
TODOS



### Invitación

**Gonzalo Rueda Lama**, representante macrozonal de FIA en las regiones del Biobío y Ñuble, y **Rodrigo Avilés Rodríguez**, Director Regional de INIA Quilamapu, tienen el agrado de invitar a usted a participar en el **Día de Campo “Producción de colorantes naturales a partir de clorofila extraída de especies forrajeras”**, previsto para el **jueves 28 de noviembre**, a partir de las 9:30 horas, en el predio del Sr. José Fernando Muñoz, ubicado a 2,5 kilómetros al este de Pueblo Seco por el camino a Las Quilas, en la comuna de San Ignacio, provincia de Diguillín, Región de Ñuble.

Cabe señalar que esta actividad se desarrolla en el marco del proyecto “Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de Clorofila de alto valor funcional, usando biomasa de especies forrajeras” que ejecuta INIA gracias al financiamiento de la Fundación para la Innovación Agraria, FIA.

Rueda Lama y Avilés Rodríguez agradecen desde ya vuestra asistencia en esta interesante jornada de transferencia tecnológica que contribuye a la diversificación de la agricultura de la región.

Chillán, octubre de 2019.

<b>Programa</b>		
<b>9:00 - 9:15</b>	Inscripciones	
<b>9:30 - 9:45</b>	Palabras de bienvenida y presentación del día de campo	<b>Carlos Ruiz</b> Extensionista INIA Quilamapu
<b>9:45 - 10:15</b>	Fertilización de praderas del secano de la precordillera de Ñuble	<b>Pablo Undurraga</b> Investigador INIA Quilamapu
<b>10:15 – 11:00</b>	Charla “Descripción y Resultados Proyecto FIA: Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de Clorofila de alto valor funcional, usando biomasa de especies forrajeras”.	<b>Luis Inostroza</b> Investigador INIA Quilamapu

## 10.8. GIRA TECNICA ALFALFA GTT PRADERAS.

El 3 de Marzo del 2020, se realizó una gira técnica junto al grupo GTT de Praderas a los ensayos establecidos en Pueblo Seco en los predios de los agricultores Fernando Muñoz y Alex Rivas. En la visita participó el Dr. Carlos Ovalle, especialista de praderas de INIA y el Dr. Paolo Annicchiarico, del Council for Agricultural Research and Economics (CREA), Italia. El Dr. Annicchiarico es un destacado investigador a nivel mundial en el mejoramiento genético de alfalfa y además es el presidente de la Sociedad Mundial de Leguminosas. Su visita a Chile y a INIA fue financiada por un proyecto FONDECYT pero se aprovechó la instancia para explicar los alcances del proyecto y posible intercambio de germoplasma con potencial de adaptación a la pre-cordillera de Ñuble.

### 10.8.1. REGISTRO FOTOGRAFICO GIRA TECNICA GTT-PRADERAS



**Figura 27: Visita Predio Alfalfa asociado GTT.**



**Figura 28: Visita grupo GTT Alfalfa Secano.**



**Figura 29: Visita ensayo Praderas Alfalfa.**

## 10.9. INFORMATIVO REPORTE MINERO.

12/3/2020

Investigan el uso de plantas forrajeras para la generación de colorantes naturales y nutraceuticos

# Investigan el uso de plantas forrajeras para la generación de colorantes naturales y nutraceuticos

Autor: Responsabilidad Social , 3 de enero de 2020



### ***Este negocio podría ser hasta cinco veces más rentable que la producción normal de fardos***

Las especies forrajeras para alimentación de animales, que comúnmente contemplan variedades de **alfalfa y trébol rosado**, **podrán sumar un nuevo valor dentro de la Industria de los alimentos**, ya que, según la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), estas especies tienen la capacidad de generar la clorofila necesaria para realizar colorantes naturales y nutraceuticos.

En el marco del día del campo se realizó la actividad "Producción de colorantes naturales a partir de clorofila extraída de especies forrajeras", en la comuna de San Ignacio; donde **se presentaron a 50 productores variedades de especies forrajeras**.

La iniciativa, parte del proyecto "Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional, usando biomasa de especies forrajeras", es **ejecutado por el Instituto de Innovación Agropecuaria en apoyo con la Fundación para la Innovación Agraria (FIA)**.

Luis Inostroza, ingeniero agrónomo e investigador de INIA Quilamapu, destacó que **"ahora acabamos de identificar nueve variedades de alfalfa y cuatro variedades de trébol rosado**, y lo que queda es definir cuál de ellas es la mejor variedad para producir clorofila, lo que se sabrá con los análisis al final de la actual

<https://www.reporteminero.cl/noticia/noticias/2020/01/investigan-el-uso-de-plantas-forrajeras-para-la-generacion-de-colorantes-naturales-y-nutraceuticos> 1/2

temporada". Además agregó que "se trata de un **negocio que puede ser cinco veces más rentable que la producción de fardos**".

La importancia de la **clorofila en la Industria alimentaria radica en que los colorantes artificiales son utilizados generalmente en repostería, productos lácteos y confites**; los que pueden generar, en algunos casos, enfermedades como: alergias, asma, migrañas, alteraciones visuales, entre otros.

"La innovación es clave para las necesidades y requerimientos de la agricultura de hoy. Es por eso que iniciativas como éstas son tan relevantes, para valorizar nuestras materias primas y entregarles nuevas opciones a los agricultores respecto al **valor agregado que tienen las especies forrajeras, para obtener un colorante natural a través de la clorofila y que finalmente impacta en la salud humana**", explicó el representante macrozonal FIA del Ñuble y Biobío, Gonzalo Rueda.

Finalmente, según Inostroza, el proyecto contempla el **desarrollo de una técnica de extracción de clorofila a nivel Industrial**, la que se realizará en el laboratorio de alimentos de INIA en Santiago; metodología que quedará disponible para toda la industria.

**TAGS:** agricultura Especies forrajeras Industria de alimentos responsabilidad social

# Seleccionan plantas forrajeras para producción de colorantes naturales y nutracéuticos

Noticias, Ñuble

- 0



**Chillán, 30 de diciembre 2019.-** Una insospechada posibilidad se abre para los productores forrajeros de la comuna de San Ignacio en la precordillera de Ñuble, ya que en lugar de destinar las praderas a la alimentación ganadera, ahora podrán hacerlo para generar clorofila orientada a la industria de los colorantes naturales y a nutracéuticos.

Las especies forrajeras (variedades seleccionadas de alfalfa y trébol rosado) fueron presentadas ante 50 productores en el día de campo “producción de colorantes naturales a partir de clorofila extraída de especies forrajeras” realizado en la comuna de San Ignacio.

La actividad se llevó a cabo en el marco del proyecto “Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional, usando biomasa de especies forrajeras” que ejecuta INIA, y que es impulsada por la Fundación para la Innovación Agraria (FIA).

Para el representante macrozonal FIA de las regiones de Ñuble y Biobío, Gonzalo Rueda, “la innovación es clave para las necesidades y requerimientos de la agricultura de hoy. Es por eso que iniciativas como éstas son tan relevantes, para valorizar nuestras materias primas y entregarles nuevas opciones a los agricultores respecto al valor agregado que tienen las especies forrajeras, para obtener un colorante natural a través de la clorofila y que finalmente impacta en la salud humana”.

## Forrajes para clorofila

El ingeniero agrónomo Luis Inostroza, investigador de INIA Quilamapu a cargo del proyecto, indicó que tradicionalmente se ha enseñado y entrenado a los agricultores en la producción de forraje para la alimentación animal. “Ahora hemos agregado un componente de innovación que se traduce en destinar estos forrajes para la producción de clorofila”. El especialista destacó que se busca obtener la clorofila, ingrediente base para la producción de un colorante natural (el verde) destinado a la industria de los alimentos.

Según indicó, los colorantes artificiales utilizados habitualmente en repostería, productos lácteos y confites pueden llegar a generar problemas tan severos como alergias, asma, migrañas, alteraciones visuales, entre otros, por lo que resulta muy necesario generar colorantes naturales, como, en este caso, el color verde.

Inostroza, quien además es el subdirector regional de I+D de INIA, agregó que el proyecto se encuentra en su segundo año de ejecución (concluye en 2021), y contempla el desarrollo de un modelo de negocios de las clorofilas y un prototipo de producción de forraje que permita obtener la mayor cantidad de clorofila por hectárea. Agregó que al cabo del primer año del proyecto, se definió que las especies forrajeras que producen mayor cantidad de clorofila son la alfalfa y el trébol rosado. “Ahora acabamos de identificar nueve variedades de alfalfa y cuatro variedades de trébol rosado, y lo que queda es definir cuál de ellas es la mejor variedad para producir clorofila, lo que se sabrá con los análisis al final de la actual temporada”.

El investigador agregó que “nuestra apuesta es que los productores que históricamente han producido forrajes para la alimentación animal, también puedan producirlo para la obtención de clorofila, aprovechando el alto potencial existente en la precordillera de Ñuble”. En cuanto a los ingresos, recaló que “se trata de un negocio que puede ser cinco veces más rentable que la producción de fardos”.

La ejecución del proyecto, indicó Inostroza, contempla el desarrollo en el laboratorio de alimentos de INIA en Santiago, de una técnica de extracción de clorofila a nivel industrial que quedará disponible para la industria.

Desde el punto de vista de las ventajas que implica la clorofila, el especialista de resaltó, además, los usos en el desarrollo de productos nutraceuticos. “La clorofila genera variados beneficios como su capacidad antioxidante, su uso como anticancerígeno, en sanación de heridas, e incluso para contrarrestar la alitosis o mal aliento. Son propiedades beneficiosas para la salud humana comprobadas clínica y científicamente”, expresó.

## 10.11. INFORMATIVO INIA FIA CLOROFILA

### INIA selecciona variedades forrajeras para elaboración de colorantes naturales y productos nutracéuticos

Variedades de alfalfa y trébol rosado fueron mostradas en día de campo organizado por el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) y la Fundación para la Innovación Agraria (FIA). Iniciativa permitirá a agricultores generar clorofila a partir de variedades que les significará quintuplicar sus ingresos.



Una insospechada posibilidad se abre para los productores forrajeros de la comuna de San Ignacio en la precordillera de Ñuble, ya que en lugar de destinar las praderas a la alimentación ganadera, ahora podrán hacerlo para generar clorofila orientada a la industria de los colorantes naturales y a nutracéuticos.

Las especies forrajeras (variedades seleccionadas de alfalfa y trébol rosado) fueron presentadas ante 50 productores en el día de campo “producción de colorantes naturales a partir de clorofila extraída de especies forrajeras” realizado en la comuna de San Ignacio.



La actividad se llevó a cabo en el marco del proyecto “Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional, usando biomasa de especies forrajeras” que ejecuta INIA gracias al financiamiento de la Fundación para la Innovación Agraria, FIA.

Sobre el particular, el representante macrozonal FIA de las regiones de Ñuble y Biobío, Gonzalo Rueda, indicó que “la innovación es clave para las necesidades y requerimientos de la agricultura de hoy. Es por eso que iniciativas como éstas son tan relevantes, para valorizar nuestras materias primas y entregarles nuevas opciones a los agricultores respecto al valor agregado que tienen las especies forrajeras, para obtener un colorante natural a través de la clorofila y que finalmente beneficia la salud humana”.

## Forrajes para clorofila



El ingeniero agrónomo Luis Inostroza, investigador de INIA Quilamapu a cargo del proyecto, indicó que tradicionalmente se ha enseñado y entrenado a los agricultores en la producción de forraje para la alimentación animal. “Ahora hemos agregado un componente de innovación que se traduce en destinar estos forrajes para la producción de clorofila”. El especialista destacó que se busca obtener la clorofila, ingrediente base para la producción de un colorante natural (el verde) destinado a la industria de los alimentos.

Según indicó, los colorantes artificiales utilizados habitualmente en repostería, productos lácteos y confites, pueden llegar a generar problemas tan severos como alergias, asma, migrañas, alteraciones visuales, entre otros, por lo que resulta muy necesario generar colorantes naturales, como, en este caso, el color verde.



Inostroza, quien además es el subdirector regional de I+D de INIA, agregó que el proyecto se encuentra en su segundo año de ejecución (concluye en 2021), y contempla el desarrollo de un modelo de negocios de las clorofilas y un prototipo de producción de forraje que permita obtener la mayor cantidad de clorofila por hectárea. Agregó que al cabo del primer año del proyecto, se definió que las especies forrajeras que producen mayor cantidad de clorofila son la alfalfa y el trébol rosado. “Ahora acabamos de identificar nueve variedades de alfalfa y cuatro variedades de trébol rosado, y lo que queda es definir cuál de ellas es la mejor variedad para producir clorofila, lo que se sabrá con los análisis al final de la actual temporada”.

El investigador agregó que “nuestra apuesta es que los productores que históricamente han producido forrajes para la alimentación animal, también puedan producirlo para la obtención de clorofila, aprovechando el alto potencial existente en la precordillera de Ñuble”. En cuanto a los ingresos, recalzó que “se trata de un negocio que puede ser cinco veces más rentable que la producción de fardos”.

La ejecución del proyecto, indicó Inostroza, contempla el desarrollo en el laboratorio de alimentos de INIA en Santiago, de una técnica de extracción de clorofila a nivel industrial que quedará disponible para la industria.



Desde el punto de vista de las ventajas que implica la clorofila, el especialista de INIA resaltó, además, los usos en el desarrollo de productos nutracéuticos. “La clorofila genera variados beneficios como su capacidad antioxidante, su uso como anticancerígeno, en sanación de heridas, e incluso para contrarrestar la alitosis o mal aliento. Son propiedades beneficiosas para la salud humana comprobadas clínica y científicamente”, expresó.

El día de campo fue coordinado por el extensionista de INIA Quilamapu, Carlos Ruiz, y contó también con la exposición del investigador Pablo Undurraga quien se refirió a la fertilización de las praderas del secano de la precordillera de Ñuble.

#### **Acerca de INIA**

El Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) es la principal institución de investigación agropecuaria de Chile, vinculada al Ministerio de Agricultura, con presencia nacional de Arica a Magallanes, a través de sus 10 Centros Regionales, además de oficinas técnicas y centros experimentales en cada una de las regiones del país. Su misión es generar y transferir conocimientos y tecnologías estratégicas a escala global, para producir innovación y mejorar la competitividad del sector agroalimentario. [www.inia.cl](http://www.inia.cl)

## **INIA selecciona variedades forrajeras para elaboración de colorantes naturales y productos nutracéuticos**



Variedades de alfalfa y trébol rosado fueron mostradas en día de campo organizado por el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) y la Fundación para la Innovación Agraria (FIA). Iniciativa permitirá a agricultores generar clorofila a partir de variedades que les significará quintuplicar sus ingresos.

Una insospechada posibilidad se abre para los productores forrajeros de la comuna de San Ignacio en la precordillera de Ñuble, ya que en lugar de destinar las praderas a la alimentación ganadera, ahora podrán hacerlo para generar clorofila orientada a la industria de los colorantes naturales y a nutracéuticos.

Las especies forrajeras (variedades seleccionadas de alfalfa y trébol rosado) fueron presentadas ante 50 productores en el día de campo “producción de colorantes naturales a partir de clorofila extraída de especies forrajeras” realizado en la comuna de San Ignacio.

La actividad se llevó a cabo en el marco del proyecto “Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional, usando biomasa de especies

forrajeras” que ejecuta INIA gracias al financiamiento de la Fundación para la Innovación Agraria, FIA.

Sobre el particular, el representante macrozonal FIA de las regiones de Ñuble y Biobío, Gonzalo Rueda, indicó que “la innovación es clave para las necesidades y requerimientos de la agricultura de hoy. Es por eso que iniciativas como éstas son tan relevantes, para valorizar nuestras materias primas y entregarles nuevas opciones a los agricultores respecto al valor agregado que tienen las especies forrajeras, para obtener un colorante natural a través de la clorofila y que finalmente beneficia la salud humana”.

#### Forrajes para clorofila

El ingeniero agrónomo Luis Inostroza, investigador de INIA Quilamapu a cargo del proyecto, indicó que tradicionalmente se ha enseñado y entrenado a los agricultores en la producción de forraje para la alimentación animal. “Ahora hemos agregado un componente de innovación que se traduce en destinar estos forrajes para la producción de clorofila”. El especialista destacó que se busca obtener la clorofila, ingrediente base para la producción de un colorante natural (el verde) destinado a la industria de los alimentos.

Según indicó, los colorantes artificiales utilizados habitualmente en repostería, productos lácteos y confites, pueden llegar a generar problemas tan severos como alergias, asma, migrañas, alteraciones visuales, entre otros, por lo que resulta muy necesario generar colorantes naturales, como, en este caso, el color verde.

Inostroza, quien además es el subdirector regional de I+D de INIA, agregó que el proyecto se encuentra en su segundo año de ejecución (concluye en 2021), y contempla el desarrollo de un modelo de negocios de las clorofilas y un prototipo de producción de forraje que permita obtener la mayor cantidad de clorofila por hectárea. Agregó que al cabo del primer año del proyecto, se definió que las especies forrajeras que producen mayor cantidad de clorofila son la alfalfa y el trébol rosado. “Ahora acabamos de identificar nueve variedades de alfalfa y cuatro variedades de trébol rosado, y lo que queda es definir cuál de ellas es la mejor variedad para producir clorofila, lo que se sabrá con los análisis al final de la actual temporada”.

El investigador agregó que “nuestra apuesta es que los productores que históricamente han producido forrajes para la alimentación animal, también puedan producirlo para la obtención de clorofila, aprovechando el alto potencial existente en la precordillera de Ñuble”. En cuanto a los ingresos, recaló que “se trata de un negocio que puede ser cinco veces más rentable que la producción de fardos”.

La ejecución del proyecto, indicó Inostroza, contempla el desarrollo en el laboratorio de alimentos de INIA en Santiago, de una técnica de extracción de clorofila a nivel industrial que quedará disponible para la industria.

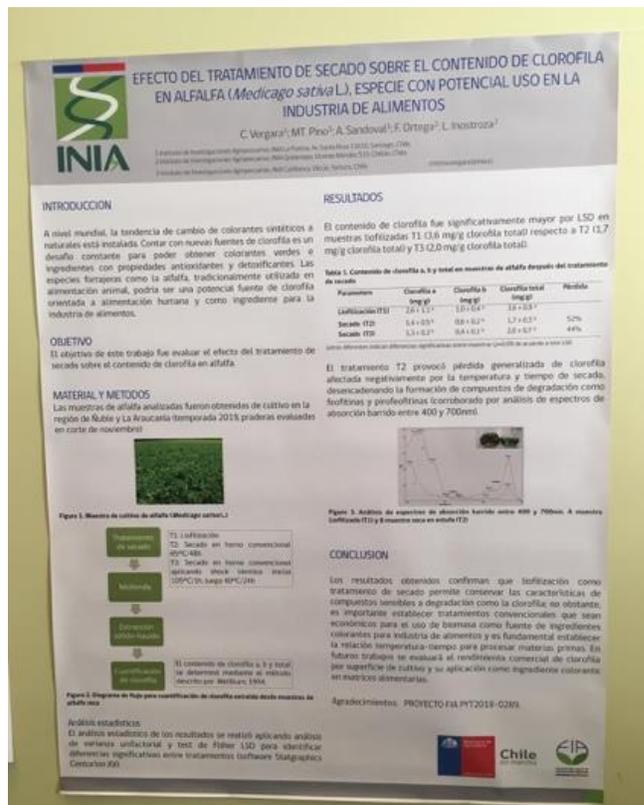
Desde el punto de vista de las ventajas que implica la clorofila, el especialista de INIA

resaltó, además, los usos en el desarrollo de productos nutracéuticos. “La clorofila genera variados beneficios como su capacidad antioxidante, su uso como anticancerígeno, en sanación de heridas, e incluso para contrarrestar la alitosis o mal aliento. Son propiedades beneficiosas para la salud humana comprobadas clínica y científicamente”, expresó.

El día de campo fue coordinado por el extensionista de INIA Quilamapu, Carlos Ruiz, y contó también con la exposición del investigador Pablo Undurraga quien se refirió a la fertilización de las praderas del secano de la precordillera de Ñuble.

#### Acerca de INIA

El Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) es la principal institución de investigación agropecuaria de Chile, vinculada al Ministerio de Agricultura, con presencia nacional de Arica a Magallanes, a través de sus 10 Centros Regionales, además de oficinas técnicas y centros experimentales en cada una de las regiones del país. Su misión es generar y transferir conocimientos y tecnologías estratégicas a escala global, para producir innovación y mejorar la competitividad del sector agroalimentario. [www.inia.cl](http://www.inia.cl)



**LIBRO DE RESUMENES Y ABSTRACT:**



Depto. de Acuicultura y Recursos Agroalimentarios

Universidad de Los Lagos

**LIBRO DE RESUMENES**

## Efecto del tratamiento de secado sobre el contenido de clorofila en alfalfa (*Medicago sativa* L.), especie con potencial uso en la industria de alimentos

C. Vergara<sup>1</sup>; MT. Pino<sup>1</sup>; A. Sandoval<sup>1</sup>; F. Ortega<sup>2</sup>; L. Inostroza<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA La Platina, Av. Santa Rosa 11610, Santiago, Chile.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIAQuillamapu, Vicente Méndez 515, Chillán, Chile.

<sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIACarillanca, Vilcún, Temuco, Chile.  
[cristina.vergara@inia.cl](mailto:cristina.vergara@inia.cl)

A nivel mundial, la tendencia de cambio de colorantes sintéticos a naturales está instalada. Contar con nuevas fuentes de clorofila es un desafío constante para poder obtener colorantes verdes e ingredientes con propiedades antioxidantes y detoxificantes. Las especies forrajeras como la alfalfa, tradicionalmente utilizada en alimentación animal, podría ser una potencial fuente de clorofila orientada a alimentación humana y como ingrediente para la industria de alimentos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tratamiento de secado sobre el contenido de clorofila en alfalfa. Las muestras de alfalfa analizadas fueron obtenidas de cultivo en la región de Ñuble y La Araucanía (temporada 2019, praderas evaluadas en corte de noviembre). Una vez realizados los cortes se aplicó el tratamiento de secado utilizando: Liofilización (T1), secado en horno convencional 65°C/48h (T2) y secado en horno convencional aplicando shock térmico inicial 105°C/1h, luego 40°C/24h (T3). Las muestras de alfalfa secas se caracterizaron en base a su humedad (método AOAC, 1996). Posteriormente, las muestras secas fueron sometidas a extracción sólido-líquido para obtener extractos de clorofila y el contenido de clorofila se determinó mediante espectrofotometría (método Wellburn, 1994). El análisis estadístico de los resultados se realizó aplicando análisis de varianza unifactorial y test de Fisher LSD para identificar diferencias significativas entre tratamientos (software Statgraphics Centurion XV). El contenido de clorofila fue significativamente mayor por LSD en muestras liofilizadas T1 (3,6mg/g clorofila total) respecto a T2 (1,7 mg/g clorofila total) y T3 (2,0 mg/g clorofila total). La pérdida de clorofila de los tratamientos en horno convencional respecto a liofilización fue de 52% (T2 vs T1) y 44 % (T3 vsT1). El tratamiento T2 provocó pérdida generalizada de clorofila afectada negativamente por la temperatura y tiempo de secado, desencadenando la formación de compuestos de degradación como feofitinas y pirofeofitinas (corroborado por análisis de espectros de absorción barrido entre 400 y 700nm). Los resultados obtenidos confirman que liofilización como tratamiento de secado permite conservar las características de compuestos sensibles a degradación como la clorofila; no obstante, es importante establecer tratamientos convencionales que sean económicos para el uso de biomasa como fuente de ingredientes colorantes para industria de alimentos y es fundamental establecer la relación temperatura-tiempo para procesar materias primas. En futuros trabajos se evaluará el rendimiento comercial de clorofila por superficie de cultivo y su aplicación como ingrediente colorante en matrices alimentarias.

Palabras clave: Clorofila, alfalfa, colorantes naturales, ingredientes

Agradecimientos: Proyecto FIA PYT 2018-0289

## ANEXO 10.14. PARTICIPACION CONGRESO DE LA SOCIEDAD CHILENA DE PRODUCCION ANIMAL SOCHIPA 2019.

### PREDICCIÓN DEL CONTENIDO DE CLOROFILA DE ESPECIES FORRAJERAS PERENNES MEDIANTE REFLECTANCIA DEL DOSEL Y MODELOS ESTADÍSTICOS NO-LINEALES

#### Chlorophyll content prediction in perennial forage species through canopy reflectance and nonlinear statistical models

Luis Inostroza<sup>1</sup>, Fernando Ortega<sup>1</sup>, Ma. Teresa Pino<sup>1</sup>, Cristina Vergara<sup>1</sup>, Marta Alfaro<sup>1</sup>, Gerson Monzón<sup>1</sup> y Cristóbal Campos<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA-Chile [linostroza@inia.cl](mailto:linostroza@inia.cl)

## INTRODUCCIÓN

El mercado mundial demanda alimentos libres de aditivos sintéticos (clean label). Así, el mercado global de colorantes ‘naturales’ para alimentos ha crecido intensamente en los últimos años y se espera alcance un tamaño de US\$3.75 Billones durante el año 2022. A nivel mundial existe una demanda creciente por extractos de clorofilas, debido a sus propiedades como agente colorante natural y función antioxidante y antimutagénica (Humphrey 2004). Los extractos de clorofilas se obtienen de vegetales como espinaca, algas marinas, el gusano de seda y biomasa de especies forrajeras. Este trabajo tuvo como objetivo desarrollar un método de predicción del contenido de clorofila de praderas perennes cultivadas en la zona centro-sur de Chile, con foco en la producción de colorantes naturales (clorofila) para la industria de alimentos.

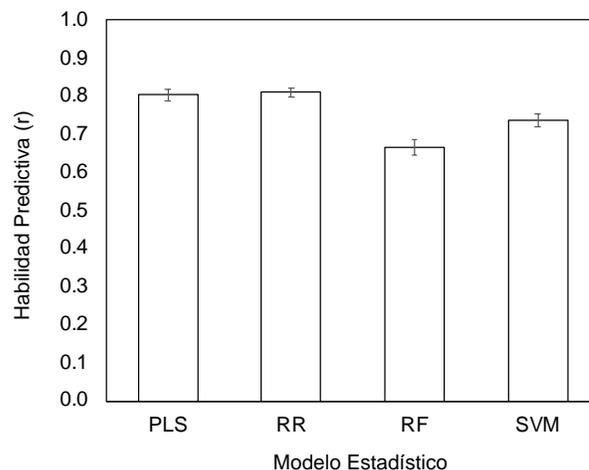
## MATERIALES Y MÉTODOS

Se establecieron dos experimentos en las comunas de Chillán (INIA-Quilamapu) y Temuco (INIA-Carillanca). En ambas localidades, se preparó el suelo mediante barbecho químico con aplicación de glifosato (5L/ha), aradura con discos y rastraje y mullido con rubín. La fertilización se realizó según análisis químico de suelo. Las praderas se manejaron bajo condiciones de riego. En Chillán y Temuco, la siembra se efectuó el 12/04 y 10/09 del 2018, respectivamente. Se sembraron nueve accesiones de siete especies forrajeras perennes: *Medicago sativa* (cvs Sardi7 y ACB350), *Trifolium pratense* (cv Superqueli), *Lotus corniculatus* (cv Quimey), *L. tenuis* (accesión Lt14), *Lolium perenne* (cvs ExpoAR1 y BaseAR1), *Bromus valdivianus* (cv bronco) y *Festuca arundinacia* (cv Excella2). Los experimentos se organizaron en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. La producción de materia seca (MS) se evaluó mediante corte con barra segadora. Las leguminosas se cortaron a 5 cm sobre el nivel del suelo cuando alcanzaron un estado de desarrollo de 10% de floración. Las gramíneas se cortaron a 5 cm sobre el nivel del suelo cuando alcanzaron al menos 3 hojas plenamente expandidas. Se efectuaron siete y tres cortes durante la temporada 2018/19 en Chillán y Temuco, respectivamente.

Después de cada corte se determinó el contenido de MS mediante secado de muestra de forraje en horno con ventilación forzada a 105°C por una hora y luego a 40°C, hasta alcanzar peso constante. En cada muestra seca se determinó el contenido de clorofila total (Chl a+b) mediante cuantificación espectrofométrica de acuerdo a Wellburn (1994). Previo a cada corte de evaluación de la producción de MS, se determinó la reflectancia del dosel en la sección VIS-NIR del espectro electromagnético (350-1100 nm), con un espectro-radiómetro FieldSpect, Handheld 2 (ASD Inc.). Se colectó el promedio de cinco espectros por parcelas. Cada espectro consiste en 725 bandas con intervalo de un nanómetro. El contenido de clorofila (variable dependiente) y la información espectral (variables independientes) fueron utilizados para ajustar modelos predictivos basados en estadística no-lineal. Se evaluó la habilidad predictiva (coeficiente de correlación entre valor observado y predicho) de cuatro modelos estadísticos: Partial least squares (PLS), Random Forest (RF), Support Vector Machines (SVM) y Ridge Regression (RR). La habilidad predictiva de cada modelo se evaluó mediante validación cruzada con el método K-fold (k=5, rep=10). Todos los análisis se realizaron en el software R usando el paquete caret (<https://www.r-project.org/>).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el entrenamiento y validación de los modelos predictivos se utilizó 148 observaciones (n) y 725 variables predictivas (p, espectro) colectadas en la localidad Chillán. El entrenamiento se realizó con el 70% de las observaciones, el 30% restante se usó para validar el modelo con muestras que no participaron en el entrenamiento. En la etapa de entrenamiento, los modelos que mostraron la mayor habilidad predictiva fueron PLS y RR con valores de  $r=0.80$ . El modelo con la menor habilidad predictiva fue RF (Figura 1). En la etapa de validación, los valores de  $r$  fueron 0.82, 0.75, 0.73 y 0.70 para SVM, RR, PLS y RF, respectivamente. Los resultados coinciden con los reportados por Xing et al. (2018), quienes usaron modelos no-lineales para predecir la producción de MS y calidad de forraje de praderas permanentes. Los resultados presentados son de tipo preliminar, se espera que los modelos mejoren su habilidad predictiva al incluir otras localidades y temporadas de crecimiento. En el escenario actual, estos modelos son útiles como herramienta para la toma de decisiones en el proceso de producción de biomasa para la extracción de colorantes naturales (clorofila).



**Figura 1.** Habilidad predictiva (coeficiente de correlación entre valores observados y predichos) de cuatro modelos no-lineales utilizados para predecir el contenido de clorofilas de especies forrajeras perennes cultivadas en Chillán. Barras indican error estándar.

## CONCLUSIONES

Modelos predictivos basados en información espectral y estadística no-lineal permiten predecir el contenido de clorofila de praderas permanentes cultivadas bajo condiciones de campo. La metodología es rápida y de bajo costo en comparación a la técnica tradicional (química analítica).

## REFERENCIAS

- Humphrey AM (2004) Chlorophyll as a Color and Functional Ingredient. *J Food Sci* 69:422–425
- Wellburn AR (1994) The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. *J Plant Physiol* 144:307–313. doi: [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)
- Xing L, Pittman JJ, Inostroza L, et al (2018) Improving Predictability of Multisensor Data with Nonlinear Statistical Methodologies. *Crop Sci* 58:972. doi: 10.2135/cropsci2017.09.0537

**Investigación financiada por proyecto FIA PYT-2018-0289**

## ANEXO 10.14.1. PRESENTACION CONGRESO DE LA SOCIEDAD CHILENA DE PRODUCCION ANIMAL SOCHIPA 2019.

 **PREDICCIÓN DEL CONTENIDO DE CLOROFILA DE ESPECIES FORRAJERAS PERENNES MEDIANTE REFLECTANCIA DEL DOSEL Y MODELOS ESTADÍSTICOS NO-LINEALES**



 **Dr. Luis Inostroza**  
Investigador  
INIA-Quilmapu

 **PROYECTO PYT-2018-0289**

Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especies forrajeras

 **Colorantes Naturales**

- ✓ Estrategia de desarrollo "Chile Potencia Alimentaria" => alimentos funcionales
- ✓ Alta demanda por alimentos libres de compuestos artificiales (Consumidores de USA, Europa, Asia)
- ✓ Colorantes artificiales o sintéticos tienen efectos negativos en la salud humana (hiperactividad en niños y alergias).
- ✓ Colorantes naturales poseen atributos benéficos: la salud y son percibidos como productos amigables con el medio ambiente.
- ✓ Las clorofilas son colorantes naturales. Además tienen función antioxidante y antimutagénica.
- ✓ Los extractos de clorofilas se obtienen principalmente de especies forrajeras.



 **OBJETIVO**

**Desarrollar un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando como materias primas biomasa producida a partir de cultivos de especies forrajeras de origen nacional.**



**OE1:** Evaluar la producción de biomasa y clorofila por unidad de superficie (hectárea) de especies (Alfalfa, Trébol rosado, Lotera, Ballica perenne y Festuca) y cultivares (líneas genéticas y comerciales) de forrajeras.

PMG forrajera-INIA



## Selección de especie



Temuco, INIA-Carillanca



Chillán, INIA-Quilamapu



**OE3:** Desarrollar y validar un protocolo para la elaboración de extractos de clorofila con alto valor funcional, evaluando rendimiento de extracción, calidad y técnicas de concentración.



**OE4:** Implementar un protocolo piloto para la extracción y formulación de clorofilas a nivel industrial.





## Predicción del contenido de Clorofila

- Siete especies forrajeras perennes:
  - *Medicago sativa* (cvs Sardi7 y ACB350),
  - *Trifolium pratense* (cv Superqueli),
  - *Lotus corniculatus* (cv Quimey),
  - *L. tenuis* (accesión Lt14),
  - *Lolium perenne* (cvs ExpoAR1 y BaseAR1),
  - *Bromus valdivianus* (cv bronco) y
  - *Festuca arundinacia* (cv Excella2).
- 2 localidades (Chillán y Temuco)
- RCBD, 4 repeticiones



## Mediciones

- Producción de MS
- Contenido de Clorofila
- Firma espectral  
spectroradiometer (FieldSpec®, HandHeld 2™).
- 5 spectra per plant were taken and averaged.
  - A full spectrum consist of 725 WL from 350 and 1075 nm.
  - Measurements were made on clear days from 11.00 to 16.00 h.



## Producción de clorofila



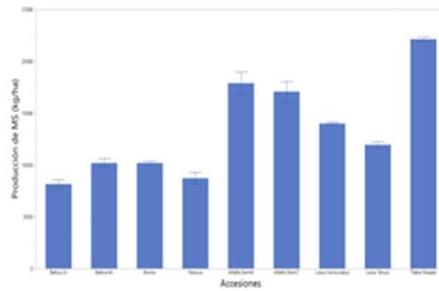
## Análisis Estadístico

- El contenido de clorofila (variable dependiente) y la información espectral (variables independientes) fueron utilizados para ajustar modelos predictivos basados en estadística no-lineal.
- Se evaluó la habilidad predictiva (coeficiente de correlación entre valor observado y predicho) de cuatro modelos estadísticos:
  - Partial least squares (PLS),
  - Random Forest (RF),
  - Support Vector Machines (SVM) y
  - Ridge Regression (RR).
- La habilidad predictiva de cada modelo se evaluó durante el entrenamiento mediante validación cruzada con el método K-fold con 5 iteraciones y 10 repeticiones.
- Todos los análisis se realizaron en el software R usando el paquete caret (<https://www.r-project.org/>).

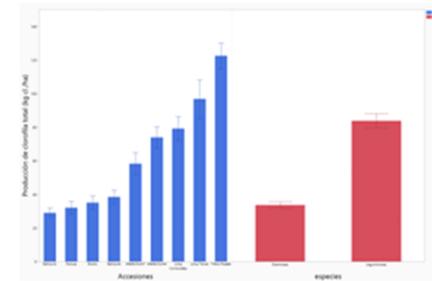


## Resultados

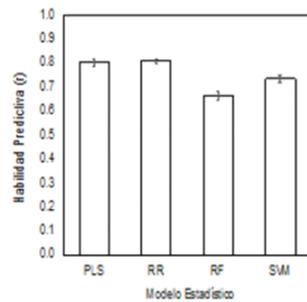
Producción de materia seca (MS) total de nueve accesiones de especies forrajeras perennes establecidas en Quilamapu.



## Contenido de clorofila

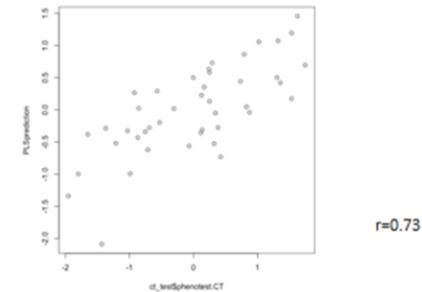


## Habilidad predictiva



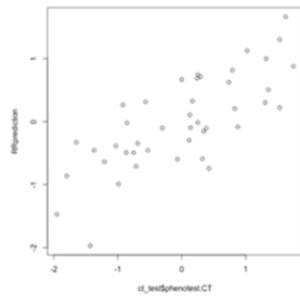
## Predicción del contenido de clorofila

### PLS





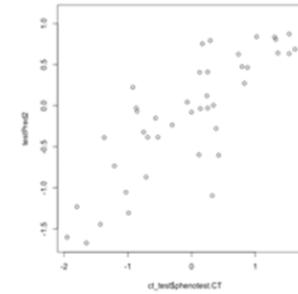
## Random Forest



$r=0.76$



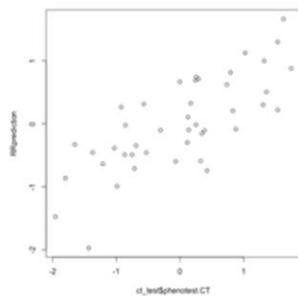
## SVM



$r=0.82$



## RR



$r=0.75$



## Conclusiones

- Modelos predictivos basados en información espectral y estadística no-lineal permiten predecir el contenido de clorofila de praderas permanentes cultivadas bajo condiciones de campo.
- La metodología es rápida y de bajo costo en comparación a la técnica tradicional (química analítica).



---

## ANEXO 10.15. ACTIVIDADES DE DIFUSION

Publicación realizada en la revista digital para la industria de alimentos INDUALIMENTOS “producción de Clorofila”.

Online: [http://indualimentos.cl/revista\\_digital/124/#page/100](http://indualimentos.cl/revista_digital/124/#page/100)





# Producción de Clorofila

Con Propiedades Funcionales para Alimentación Humana  
a Partir de Biomasa de Especies Forrajeras



**E**n la última década, el mercado global de colorantes naturales para alimentación humana se ha incrementado sostenidamente (3,4% año) y se espera que alcance un tamaño de US\$3,75 billones el año 2022. Esta alta tasa de crecimiento es producto de la demanda creciente por alimentos libres de compuestos artificiales (*clean label*). Pese

a que la mayoría de los compuestos artificiales son sometidos a rigurosos controles de seguridad y los regulan normas muy estrictas, algunos de ellos, como los colorantes artificiales o sintéticos, han sido asociados a problemas de hiperactividad en niños y alergias en parte de la población.

La clorofila es un pigmento de color verde que se sintetiza de forma natural en los tejidos de especies vegetales. Desde un



Figura 1. Evaluación de cultivos en predio de agricultura GTT Praderas de precordillera, Sector Puente Seco, Comuna de San Ignacio, Provincia de Ñuble.

punto de vista bioquímico, las clorofilas han sido ampliamente estudiadas debido a su rol fundamental en el proceso de fotosíntesis de las plantas. Es el pigmento más abundante en la naturaleza. Se estima que anualmente el planeta produce cerca de 1,2 billones de toneladas de clorofilas, de las cuales sólo el 23% es de origen terrestre y la restante de origen marino.

A nivel global, las clorofilas son un producto altamente demandado dentro

del mercado de los colorantes naturales, debido a su color verde y a sus atributos funcionales. Dada su similitud química y estructural con la molécula de hemoglobina, las clorofilas han sido utilizadas para corregir efectos de la anemia en seres humanos. Producido a base de clorofilas se utilizan para el control o supresión de olores y cicatrización de heridas. También se ha demostrado su propiedad antioxidante asociadas con actividad antimutagénica o anticancerígena.

En Chile, la industria de los colorantes naturales es incipiente, pero con un alto potencial de desarrollo. Por ello, el Ministerio de Agricultura de Chile diseñó el instrumento de innovación "Polos Territoriales de Desarrollo Estratégico", los que se encuentran bajo el alero de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA) en el marco del convenio del Fondo de Inversión Estratégica (FIE) del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo. Desde el año 2017 se ejecutan cuatro polos Territoriales. Uno de ellos, "Polo Colorantes y Antioxidantes", se focaliza en el establecimiento de las bases para el desarrollo de la Industria de los Colorantes Naturales y Antioxidantes en Chile. En este contexto, se ejecuta el proyecto de innovación tecnológica denominado "Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especies forrajeras" financiado por FIA y ejecutado por el Instituto de Investigaciones Agrícolas (INIA).

### Producción de clorofila en Chile

El proyecto busca implementar un modelo de negocio donde pequeños agricultores de la Región de Ñuble, organizados en un grupo de transferencia tecnológica (GTT-Praderas de Precordillera) coordinado por INIA, produzcan biomasa de especies forrajeras con alta concentración de clorofila. Para ello, tanto en predios INIA como de agricultores, se trabaja en la determinación de las técnicas de manejo agronómico que

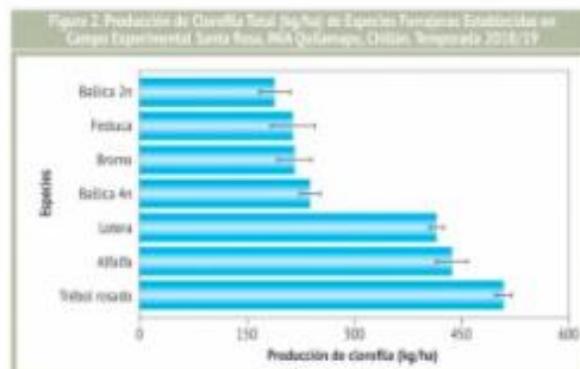
INVESTIGACIÓN

maximizan la producción de clorofila por unidad de superficie. En una primera etapa se determinó la especie forrajera y el cultivar más productivo (Figura 1). Los resultados muestran que alfalfa y trébol rosado son las especies que logran la mayor productividad de clorofila por unidad de superficie. Estas son especies perennes con una vida productiva de 3 o 4 años. La biomasa se colecta mediante cortes con barra segadora y durante una temporada de crecimiento es posible realizar desde 3 hasta 5 cortes. El contenido de clorofila varía durante la temporada de crecimiento, pero en promedio, en las condiciones de la precordillera de Ñuble, alcanza el 3,0% de la biomasa seca. Con información de una primera temporada de crecimiento, se determinó que la producción de clorofila puede alcanzar los 500 kg/ha/año (Figura 2). También se determinó, que la productividad de clorofilas es fuertemente determinada por la producción de biomasa. En este sentido, la productividad anual de clorofilas incrementa entre un 20 a 30% desde el segundo año de producción.

Actualmente, se trabaja en la determinación de técnicas de fertilización, corte y transporte de la biomasa que maximicen la productividad de clorofila por unidad de superficie.

**Producción industrial de extractos de clorofila**

El proyecto FIA-Clorofilas busca innovar en el desarrollo de un protocolo de extracción y estabilización de clorofilas



a partir de biomasa de alfalfa y trébol rosado, el cual está siendo elaborado por el Laboratorio de Alimentos de INIA. En general, la extracción industrial de clorofilas a partir biomasa vegetal considera tres procesos (Figura 3).

Primero, el material vegetal es sometido a un proceso de extracción del pigmento mediante el uso de solventes orgánicos. Luego, el solvente es evaporado y los pigmentos son finalmente concentrados a través de filtrado. La extracción ge-



La clorofila se usa para colorear dulces, helados, preparaciones de frutas, productos lácteos, bebidas, panadería y alimentos preparados. Provee el color para los sabores de kiwi, lima y menta.

nera 4 categorías de clorofilas, las que son reconocidas por la legislación europea, norteamericana (USA) y asiática (China y Japón).

La forma más simple es la clorofila derivada inmediatamente del proceso de extracción por solvente orgánico (E140i). Su aspecto es una pasta aceitosa, debido a que contiene restos de lípidos y cera. La clorofila E140i es liposoluble. Mediante un proceso de saponificación, se logra eliminar los restos de lípidos y se logra obtener la clorofilina (E140b), la que es hidrosoluble. Ambas formas (E140i y E140b), se caracterizan por ser altamente inestable y su color puede cambiar drásticamente desde verde a café. Para contrarrestar la inestabilidad, se adiciona sales de cobre a las soluciones lípo e hidrosoluble dando origen a los colorantes E141i y 141ii, respectivamente (Figura 3). En general, las formas E141 (clorofila cúprica) son las más demandadas por la industria de alimentos.

Utilizando como base lo anterior, el laboratorio de Alimentos de INIA implementó un nuevo protocolo de extracción y estabilización de clorofila, que ha permitido llegar hasta un 80% de rendimiento. El método desarrollado será evaluado en una próxima etapa a

escala piloto en la planta de proceso de la industria de alimentos Ecoceca que forma parte del proyecto en calidad de empresa asociada.

#### Uso de la clorofila y antecedentes de mercado

La clorofila se usa para colorear dulces, helados, preparaciones de frutas, productos lácteos, bebidas, panadería, y alimentos preparados. Provee el color para los sabores de kiwi, lima y menta. Se comercializa también como un alimento con propiedades funcionales y nutracéutico. El consumo de extracto de clorofila neutraliza los radicales libres y conduce a la desintoxicación del cuerpo, mejora la digestión, protege la piel y también ayuda a combatir el cáncer, según lo demostrado en múltiples estudios.

Las hojas verdes representan la fuente ideal para la extracción de clorofila, aunque se han desarrollado técnicas emergentes y nuevos métodos que se basan en cianobacterias o en algas. Estas también tienen un lugar en el mercado, pero en segmentos diferentes, desde suplementos alimenticios hasta el biodiesel.

El mercado global de extractos de clorofila se calcula en US\$ 279,5 millones

y se anticipa que alcanzará los US\$ 463,7 millones para 2025 con una tasa de crecimiento anual de 7,5%. En los últimos años, la formulación líquida es la más demandada, dada sus ventajas de facilidad al consumir, permitiendo una absorción óptima, una mejor vida útil y una mayor concentración de componentes activos.

En cuanto a su aplicación, el uso de clorofila como colorante natural y/o ingrediente con propiedades funcionales, ha liderado históricamente la demanda. Además, la creciente preferencia por los ingredientes de origen natural, debido a los efectos secundarios saludables, está impulsando aún más el crecimiento en este segmento.

Cabe señalar que el mercado de colorantes naturales para alimentos representa hoy un 30% (US\$ 1.500 millones) del mercado global actual de colorantes para alimentos, tanto sintéticos como naturales e idénticos al natural para diferentes aplicaciones, donde la clorofila tiene una participación en torno al 5%.

El trabajo de INIA busca contribuir a la industria nacional y global de colorantes naturales, a la vez que agregar valor a la producción ganadera tradicional de las zonas centro-sur y sur del país. 

Luis Inestrosa, M. Teresa Pizar, Cristóbal Vergara, Fanny Ortiz, María Alfaro, Gerson Monzón y Ana María González, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA Chile, [linestrosa@inia.cl](mailto:linestrosa@inia.cl)

---

## **ANEXO 10.16. SEMINARIO DE CIERRE CICLO RADIAL PROYECTO FIA CLOROFILAS**

### **Ciclo radial:**

#### **Producción de Forraje y Clorofila: una estrategia de innovación y diversificación productiva para las praderas de la Región de Ñuble**

#### **Radio el sembrador de Chillán FM**

**Programa:** Al servicio del Mundo Rural

**Transmisión:** sábados 7, 14, y 21 de agosto

**Horarios:** 8:00 y 19:00 h

**Público objetivo:** agricultores de Ñuble

El programa además es transmitido vía online a través [www.radioelsembrador.cl](http://www.radioelsembrador.cl) y re-transmitido por radio Raíces de Portezuelo, Perla de Ranquil y Magistral de Cato.

#### **Objetivo:**

Difundir resultados del proyecto FIA-Clorofilas (códigos) a agricultores de la región de Ñuble mediante tres programas radiales.

#### **Programas**

Cada programa tiene una duración de 60 minutos (45 minutos efectivos + 15 minutos de publicidad)

#### **Sábado 7 de agosto:**

Descripción de objetivos del proyecto FIA-Clorofilas y alcances del modelo de negocio propuesto para mejorar los ingresos de pequeños agricultores de la precordillera de Ñuble especializados en la producción de forraje (alfalfa y trébol rosado).

**Conduce:** Edgardo Mundaca

**Invitados:** Luis Inostroza, Carlos Ruiz, Sergio Brevis (Asociación de Agricultores Precordillera Ñuble).

#### **Sábado 14 de agosto:**

Difusión de resultados de producción de forraje y clorofila en la Precordillera de Ñuble y experiencia del pilotaje industrial del proceso de extracción de clorofilas.

**Conduce:** Edgardo Mundaca

---

**Invitados:** Luis Inostroza, Cristina Vergara, Yanett Omega, Fernando Muñoz (agricultor pueblo seco).

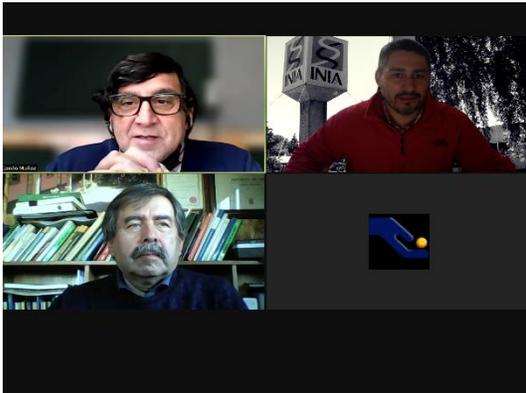
**Sábado 21 de agosto:**

Agradecimientos a FIA y rol de INIA y FIA en los procesos de innovación agrícola en la región de Ñuble

**Conduce:** Edgardo Mundaca

**Invitados:** Rodrigo Avilés (Director Regional-INIA), Andrés Gálmes (Ejecutivo-FIA), Gonzalo Rueda (FIA-Región Ñuble).

### 10.16.1. REGISTRO CICLO RADIAL



**Figura 30: 1er ciclo Radio el Sembrador, objetivos del Proyecto FIA Clorofila.**



**Figura 31: 2do ciclo Radio el Sembrador, difusión de los resultados del Proyecto FIA Clorofila.**



**Figura 32: 3er ciclo Radio el Sembrador, papel de FIA e INIA en la innovación agrícola.**

---

## ANEXO 10.17. DIFUSIÓN CICLO RADIAL TWITTER INIA QUILAMAPU PROYECTO FIA CLOROFILAS

Se hace el llamado el día 6 de agosto vía twitter de INIA Quilamapu al programa radial “Al servicio del mundo rural”. Invitando a escuchar a sus oyentes sobre el proyecto FIA Clorofilas y sus resultados “Colorantes naturales a partir de plantas forrajeras de precordillera”. El programa se transmitió vía online (7, 14 y 21 de agosto) a través [www.radioelsembrador.cl](http://www.radioelsembrador.cl) y re-transmitido por radio Raíces de Portezuelo, Perla de Ranquil y Magistral de Cato ([https://twitter.com/INIAQuilamapu?ref\\_src=twsrc%5Egoogle%7Ctwcamp%5Eserp%7Ctwgr%5Eauthor](https://twitter.com/INIAQuilamapu?ref_src=twsrc%5Egoogle%7Ctwcamp%5Eserp%7Ctwgr%5Eauthor)).

### 10.17.1. REGISTRO DIFUSION CICLO RADIAL



Figura 33: Invitación 1er ciclo Radio el Sembrador, descripción del proyecto FIA Clorofila.



Figura 34: Invitación 2do ciclo Radio el Sembrador, descripción del proceso industrial del proceso de extracción de clorofilas.



Figura 35: Invitación 3er ciclo Radio el Sembrador, resultados e innovación del proyecto Clorofila y su oportunidad en Ñuble.

---

## **ANEXO 10.18. DIFUSIÓN DIARIO LA DISCUSION, SECCION REVISTA AGRO INIA QUILAMAPU PROYECTO FIA CLOROFILAS**

### **Producción de forraje y clorofila: una estrategia de innovación y diversificación productiva para las praderas sembradas de Chile**

Luis Inostroza, Cristina Vergara, María Teresa Pino, Fernando Ortega, Marta Alfaro, Gerson  
Monzón

Instituto de Investigaciones Agropecuarias-INIA

#### **Praderas en Chile**

En Chile existen cerca de 10 millones de hectáreas ocupadas con praderas. Las praderas son el soporte para la producción animal (leche, carne y lana) y contribuyen al ciclaje de nutrientes y a la conservación y recuperación de suelos. Además, las praderas contribuyen al bienestar de la especie humana mediante servicios al ecosistema que generalmente son escasamente valorados. Entre estos, las praderas proveen alimento a la fauna silvestre y permiten la conservación de recursos genéticos vegetales y animales. También dan soporte a especies polinizadoras y contribuyen a la regulación del clima y a mantener la calidad de agua, así como al control de plagas y enfermedades. Además, ofrecen servicios culturales para la recreación, educación, turismo y estética del paisaje.

En Chile, el 95% de la superficie ocupada por praderas corresponde a praderas naturales. El 5% restante lo ocupan las praderas sembradas (cerca de 500.000 ha). Dada la condición climática, en Chile continental se cultivan especies leguminosas y gramíneas originarias de climas templados. En condiciones de riego y secano-húmedo (>800 mm de precipitación), se cultivan principalmente especies perennes. Entre estas destacan la alfalfa, trébol rosado, lotera, ballica perenne, bromo, festuca y pasto ovillo.

#### **Uso de clorofila y antecedentes de mercado**

La clorofila es un pigmento de color verde que se sintetiza de forma natural en los tejidos de especies vegetales. Desde un punto de vista bioquímico, la clorofila ha sido ampliamente estudiada debido a su rol fundamental en el proceso de fotosíntesis de las plantas. Es el pigmento más abundante en la naturaleza. Se estima que anualmente el planeta produce cerca de 1.2 billones de toneladas de clorofilas, de las cuales solo el 25% es de origen terrestre y la restante de origen marino.

En la industria de alimentos, la clorofila se usa para colorear dulces, helados, preparaciones de frutas, productos lácteos, bebidas, panadería, y otros alimentos preparados. Provee el color para los sabores de kiwi, lima, menta, entre otros. La clorofila se comercializa también como

---

un alimento con propiedades saludables, funcionales y/o como un producto nutracéutico. El consumo de extracto de clorofila neutraliza los radicales libres y conduce a la desintoxicación del cuerpo, mejora la digestión, protege la piel y también ayuda a combatir el cáncer, según múltiples estudios.

El mercado global de extractos de clorofila se calcula en US\$ 279,5 millones y se anticipa que alcanzará los US\$ 463,7 millones para 2025 con una tasa de crecimiento anual de 7,5%. En los últimos años, la formulación líquida es la más demandada, debido a que es fácil de consumir, permitiendo una absorción óptima, una mejor vida útil y una mayor concentración de componentes activos.

### **Producción de clorofila con biomasa de especies forrajeras**

En Chile, la industria de los colorantes naturales es incipiente, pero con un alto potencial de desarrollo. Al respecto, el Ministerio de Agricultura de Chile diseñó el instrumento de innovación “Polos Territoriales de Desarrollo Estratégicos”, los que se encuentran bajo el alero de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA) en el marco del convenio del Fondo de Inversión Estratégica (FIE) del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo. Desde el año 2017, se ejecutan cuatro Polos Territoriales. Uno de ellos, “Polo Colorantes”, se focaliza en el establecimiento de las bases para el desarrollo de la industria de los colorantes naturales en Chile. En este contexto, se ejecutó el proyecto de innovación tecnológica denominado **“Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especies forrajeras”**, apoyado por FIA y ejecutado por el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA).

Entre sus objetivos, el proyecto buscó sentar las bases agronómicas para optimizar la producción de biomasa y clorofila por unidad de superficie. Entre los años 2018 y 2021, se determinó la especie y cultivares más aptos para la producción de clorofila. También se probaron estrategias de manejo agronómico (corte y fertilización) para maximizar la producción de clorofila por unidad de superficie. Este artículo busca dar a conocer algunas prácticas de manejo agronómico que optimizan la producción de clorofila en condiciones de campo y los productos derivados del proceso industrial de extracción y estabilización de clorofilas.

### **Manejo agronómico**

En experimentos desarrollados en predios de INIA y de agricultores de la precordillera de Ñuble, se determinó que el contenido de clorofilas varía a lo largo de la temporada de crecimiento. El contenido promedio de clorofilas varió entre 2,4 (bromo) y 3,0 (lotera) mg/g de peso fresco de forraje. Por otro lado, la producción de biomasa fresca, promedio de dos temporadas de crecimiento, varió entre 98 mil (alfalfa) y 41 mil (festuca) kg/ha/año. Con esto se logró un rango de producción potencial de clorofila que fluctuó entre 235 (alfalfa) y 99 (ballica 2n) kg/ha/año (Figuras 1 y 2). Los resultados confirman que las especies con mayor producción de clorofila son aquellas que producen más biomasa (alfalfa y trébol rosado). En tanto, la concentración de clorofilas en los tejidos tiene un rol marginal en la productividad potencial de clorofila por unidad de superficie.

---

La estrategia de corte modificó la producción de biomasa y el contenido de clorofilas. Cuando las plantas fueron cortadas en pre-botón, se redujo en un 15% la producción de biomasa, pero se incrementó el contenido de clorofilas en cerca de un 10% relativo al criterio de corte convencional (10% flor). Pero en términos de producción de clorofila por unidad de superficie, el incremento en el contenido de clorofilas en los tejidos no logra compensar la reducción en la producción de biomasa.

También se evaluó en condiciones controladas en cámaras de crecimiento, el efecto de la fertilización con magnesio y azufre sobre la producción de biomasa y contenido de clorofila. Se observó que en suelos sin deficiencia de Mg y S y en estados juveniles, la fertilización con Mg-S no tuvo efecto sobre la producción de biomasa y clorofila.

### **Extracción de clorofila a escala industrial**

El proyecto desarrolló y validó un protocolo a escala de laboratorio para la extracción y estabilización de clorofila a partir de biomasa fresca de alfalfa y trébol rosado, con presentación en formato líquido y polvo, el cual es soluble en agua (Figura 3).

Dicho protocolo se escaló para la obtención de un prototipo a escala real, lo cual fue realizado en la planta de procesos industriales de la empresa Casona El Monte en la Región Metropolitana (<https://lacasonaelmonte.cl>). Se obtuvo dos productos, uno corresponde a un extracto líquido de clorofila para consumo directo (Figura 4) y otro es una formulación en polvo soluble en agua para utilizar como ingrediente.

Ambas formulaciones (líquido y polvo) otorgan una amplia versatilidad para la industria de alimentos. El formato líquido, se puede consumir en la dieta diaria o bien usar como base para mezclas de jugos, smoothies u otras preparaciones para consumir clorofila como alimento con propiedades saludables. Por otro lado, el producto en polvo, tiene la característica de ser soluble en agua, por lo cual se puede usar como ingrediente para reforzar el color en productos instantáneos tales como jugos, sopas de verduras, mezclas para batidos, entre otros. Ambos productos se presentan como una alternativa para incluir clorofila en la dieta diaria y poder contar con un ingrediente natural.

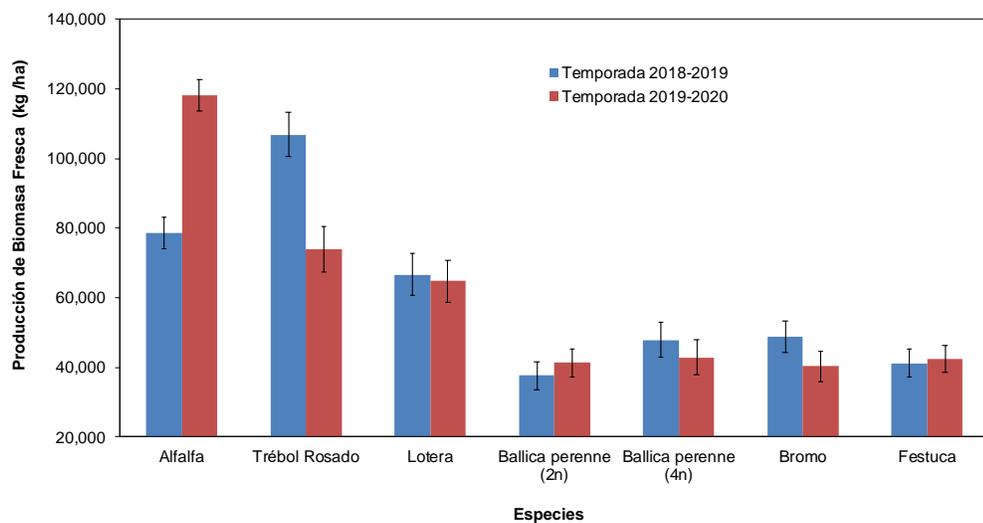


Figura 1. Producción de biomasa fresca de especies forrajeras perennes evaluada durante dos temporadas de crecimiento en la Región de Ñuble.

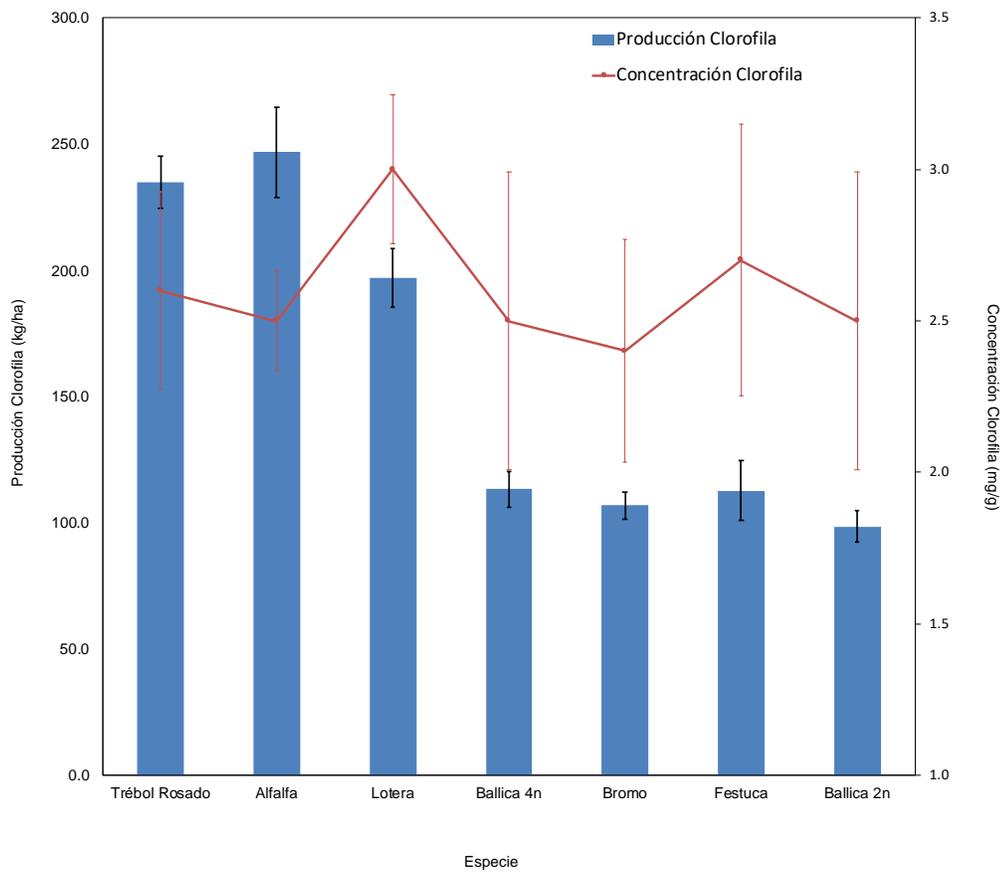


Figura 2. Concentración y producción de clorofila de especies forrajeras perennes evaluada en la Región de Ñuble.

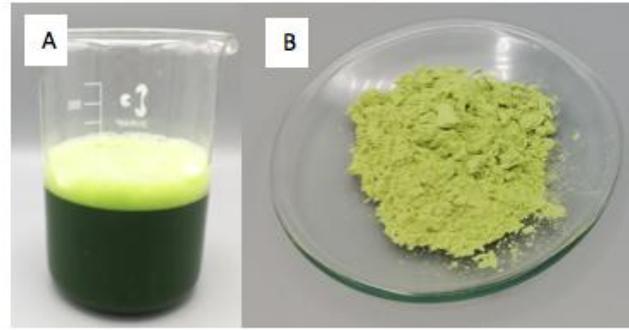


Figura 3. Fotografías del prototipo extracto de clorofila formato líquido (A) y extracto de clorofila en polvo soluble en agua (B).



Figura 4. Prototipo obtenido en ambiente real de extracto clorofila listo para consumo en formato líquido y polvo

## ANEXO 10.18.1. REGISTRO DIARIO LA DISCUSION

LA DISCUSIÓN  
AGOSTO 2021

Agroindustria  
revista  
**agro**

LA DISCUSIÓN  
AGOSTO 2021

Agroindustria  
revista  
**agro**

### Proyecto de innovación tecnológica del INIA con apoyo de FIA

## Producen clorofila con biomasa de especies forrajerasa

Equipo de investigadores desarrolló y validó un protocolo a escala de laboratorio para la extracción y estabilización de clorofila a partir de biomasa fresca de alfalfa y trébol rosado, con presentación en formato líquido y polvo.

Artículo de Luis Inostroza, Cristina Vergara, María Teresa Pino, Fernando Ortega, Marta Alfaro y Gerson Monzón, presenta prácticas de manejo agronómico que optimizan la producción de clorofila y los derivados del proceso industrial de extracción.

Por Roberto Fernández Ruiz Fotos Cedidas

**U**n equipo de investigadores del INIA, con apoyo de la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), ejecutó el proyecto de innovación tecnológica "Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especies forrajerasa", que tenía entre sus objetivos sentar las bases agronómicas para optimizar la producción de biomasa y clorofila por unidad de superficie.

Asimismo, el proyecto desarrolló y validó un protocolo a escala de laboratorio para la extracción y estabilización de clorofila a partir de biomasa fresca de alfalfa y trébol rosado, con presentación en formato líquido y polvo, el cual es soluble en agua.

**POLO TERRITORIAL**  
El proyecto es parte del "Polo territorial para el desarrollo de colorantes y antioxidantes de alto valor para la industria de alimentos a partir de materias primas altamente dedicadas y producidas en la zona centro sur de Chile".

Este proyecto es parte del "Polo territorial para el desarrollo de colorantes y antioxidantes de alto valor para la industria de alimentos a partir de materias primas altamente dedicadas y producidas en la zona centro sur de Chile", iniciativa desarrollada por INIA desde 2018 en el marco del instrumento "Polos Territoriales de Desarrollo Estratégico", creado por FIA con recursos aportados por el Fondo de Inversión Estratégica (FIE).

Se trata de un sector con un gran potencial de crecimiento en el país, donde aún la industria de los colorantes naturales es incipiente, a pesar del rápido crecimiento a nivel mundial.

En ese contexto, el uso de biomasa de especies forrajeras como materia prima representa una gran oportunidad no solo para los agricultores de la región de Ñuble, sino de gran parte del país, sin embargo, para optimizar la producción de clorofila con estas especies es fundamental llevar a cabo ciertas prácticas agronómicas.

Por lo anterior, los investigadores Luis Inostroza, Cristina Vergara, María Teresa Pino, Fernando Ortega, Marta Alfaro y Gerson Monzón, todos del INIA, elaboraron el artículo "Producción de forraje y clorofila: una estrategia de innovación y diversificación productiva para las praderas sembradas de Chile", que tiene como objetivo dar a conocer algunas prácticas de manejo agronómico que optimizan la producción de clorofila en condiciones de campo y los productos derivados del proceso industrial de extracción y estabilización de clorofilas.

**7,5%**  
Es la tasa de crecimiento anual del mercado global de extractos de clorofila, que hoy se calcula en US\$ 279,5 millones y para 2025, en 463,7.

**10**  
millones de hectáreas ocupadas con praderas existen en Chile.

Descargar artículo



Figura 36: Informativo publicado en Diario La Discusión, sección Revista Agro.

ANEXO 11. ESTUDIO DE MERCADO.



## **INFORME FINAL**

**Asesoría "Estudio de Mercado a Nivel Internacional y  
Modelo de Negocios para Producción en Chile de  
Extractos de Clorofila"**

**En el marco del PROYECTO FIA PYT-2018-0289**

# **"DESARROLLO DE UN MODELO PILOTO DE PRODUCCIÓN DE EXTRACTOS DE CLOROFILA DE ALTO VALOR FUNCIONAL USANDO BIOMASA DE ESPECIES FORRAJERAS"**

**Presentada a:** Dr. Luis Inostroza  
Subdirector Regional de Investigación y Desarrollo  
Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA)  
INIA - Quilamapu  
Avenida Vicente Méndez, 515. Chillán, Chile

**Preparada por:** AL Prospecta Consultores Ltda., Chile

**Santiago, 10 de Junio de 2019**

---

## CONTENIDOS

<b>1. RESUMEN EJECUTIVO</b>	<b>275</b>
<b>2. ANALISIS DE MERCADO</b>	<b>278</b>
<b>2.1 Tendencias del mercado internacional</b>	<b>278</b>
<b>2.1.1 Origen de la clorofila y sus compuestos</b>	<b>278</b>
<b>2.1.2 Usos y Aplicaciones</b>	<b>279</b>
<b>2.1.3 Aspectos Productivos</b>	<b>281</b>
<b>2.1.4 Competencia emergente</b>	<b>283</b>
<b>2.2 Tamaño de Mercado y Principales Regiones Consumidoras</b>	<b>285</b>
<b>2.2.1 Tamaño de mercado actual y potencial (2025) del mercado global</b>	<b>285</b>
<b>2.2.2 Tendencias de Consumo</b>	<b>287</b>
<b>2.2.3 Aspectos Regulatorios</b>	<b>289</b>
<b>2.2.3.1 Características físico-químicas de los extractos</b>	<b>290</b>
<b>2.2.3.2 Certificaciones</b>	<b>292</b>
<b>2.3 Identificación y caracterización de productores y comercializadores a nivel internacional</b>	<b>295</b>
<b>2.3.1 Origen</b>	<b>295</b>
<b>2.3.2 Materias primas</b>	<b>296</b>
<b>2.3.3 Extractos de clorofila producidos</b>	<b>297</b>
<b>2.3.4 Análisis Principales Empresas Internacionales</b>	<b>297</b>
<b>2.3.4.1 Arjuna Natural Ltd., India</b>	<b>297</b>
<b>2.3.4.2 British Chlorophyll Co. Limited, Reino Unido</b>	<b>298</b>
<b>2.3.4.3 CHR Hansen, Dinamarca</b>	<b>298</b>
<b>2.3.4.4 CNJ Nature Co. Ltd (Jiangxi Guoyi Bio-tech Co.), China</b>	<b>299</b>
<b>2.3.4.5 D.D. Williamson, Estados Unidos</b>	<b>300</b>
<b>2.3.4.6 Döhler, Alemania</b>	<b>301</b>
<b>2.3.4.7 Dupont, EEUU</b>	<b>301</b>
<b>2.3.4.8 EPC Natural Products Co., China</b>	<b>302</b>
<b>2.3.4.9 Fiorio Colori, Italia</b>	<b>303</b>
<b>2.3.4.10 Food Ingredients Solutions, Estados Unidos</b>	<b>303</b>
<b>2.3.4.11 Imbarex, Perú</b>	<b>303</b>
<b>2.3.4.12 Ingredientes Vinayak Pvt. Ltd, India</b>	<b>304</b>
<b>2.3.4.13 Kancor Ingredients Limited, India</b>	<b>305</b>
<b>2.3.4.14 Merck Group, Alemania</b>	<b>306</b>
<b>2.3.4.15 Naturex, Francia</b>	<b>306</b>
<b>2.3.4.16 Roha, India</b>	<b>307</b>
<b>2.3.4.17 Sensient, Estados Unidos</b>	<b>307</b>
<b>2.3.4.18 Shandong Guangtongbao Pharmaceuticals Co., China</b>	<b>308</b>
<b>2.3.4.19 Shandong S-Sun Biotech, China</b>	<b>308</b>

Versión al 10 de Junio de 2019

---

<u>2.3.4.20 Sun Food Tech, India</u> .....	310
<u>2.3.4.21 Watson Inc. Estados Unidos</u> .....	310
<u>2.3.4.22 Zhejiang HaiNing FengMing Chlorophyll, China</u> .....	311
<u>2.4 Análisis del comercio nacional – producción local e importaciones</u> .....	313
<u>2.4.1 Importaciones</u> .....	313
<u>2.4.2 Oferta local de productos con propiedades nutricionales</u> .....	313
<u>2.5 Conclusiones Estudio de Mercado y Propuesta de Recomendaciones</u> ..	316
<u>2.5.1 Un mercado mundial en crecimiento</u> .....	316
<u>2.5.2 Un mercado poco transparente</u> .....	316
<u>2.5.3 El carácter natural o sintético de la clorofila y las clorofilinas</u> .....	317
<u>2.5.4 El tema del gusano de seda y la producción asiática</u> .....	318
<u>2.5.5 La competencia</u> .....	319
<u>2.5.6 Incipiente mercado nacional</u> .....	320
<u>2.5.7 Buscando el espacio en la cadena de valor para la futura producción nacional</u> .....	321
<u>2.5.8 Factores de Productividad de Clorofila a partir del Cultivo de Alfalfa</u> .....	322
<u>3. PROPUESTA DE MODELO DE NEGOCIOS</u> .....	324
<u>3.1 Análisis FODA</u> .....	324
<u>3.1.1 Fortalezas</u> .....	324
<u>3.1.2 Oportunidades</u> .....	324
<u>3.1.3 Debilidades</u> .....	325
<u>3.1.4 Amenazas</u> .....	325
<u>3.2 Identificación de aspectos diferenciadores del producto</u> .....	326
<u>3.2.1 Características físico-químicas de los extractos</u> .....	326
<u>3.2.2 Manejo productivo y trazabilidad</u> .....	326
<u>3.2.3 Certificaciones</u> .....	327
<u>3.2.4 Competencia</u> .....	327
<u>3.2.5 Aspectos comerciales y de marketing</u> .....	328
<u>3.3 Propuesta Modelo de Negocios</u> .....	330
<u>ANEXOS</u> .....	332
<u>Anexo I. Ejemplo de productos comerciales para uso final conteniendo Clorofila</u>	
333	
<u>Anexo II. Empresas productoras y comercializadoras de extractos de clorofila</u> .	338
<u>Anexo III. Caracterización productos de clorofila - Shandong Hanxing Biotech Co. China</u> .....	339

---

## 1. RESUMEN EJECUTIVO

El presente documento corresponde al informe final del contrato de asesoría firmado entre esta consultora e INIA Quilamapu respecto a la consultoría "ESTUDIO DE MERCADO INTERNACIONAL Y MODELO DE NEGOCIOS PARA PRODUCCIÓN EN CHILE DE EXTRACTOS DE CLOROFILA" a desarrollarse en el marco de la ejecución de un proyecto financiado por la Fundación para la Innovación Agraria (FIA), denominado "Desarrollo de un modelo piloto de producción de extractos de clorofila de alto valor funcional usando biomasa de especies forrajeras - código PYT-2018-0289", cuyo coordinador es el Investigador Dr. Luis Inostroza, quien actuó como contraparte técnica de INIA con AL Prospecta Consultores.

El estudio de mercado internacional tenía los siguientes productos entregables:

- a) Análisis de las principales tendencias del mercado internacional respecto al consumo de extractos de clorofila, con énfasis en sus principales usos y aplicaciones, e identificación de los principales mercados y sectores consumidores de extractos de clorofila con sus aspectos regulatorios específicos.
- b) Estimación del tamaño de mercado actual y potencial (al 2023 en US\$) para los extractos de clorofila.
- c) Identificación y caracterización de las principales empresas internacionales que producen y comercializan extractos de clorofila, identificando sus productos, formatos y especificaciones técnicas, con precios de referencia asociados. También las materias primas que utilizan.
- d) Análisis del comercio nacional (producción local e importaciones) de extractos de clorofila, con precios de referencia para los diferentes productos comercializados y estrategia de ventas.
- e) Propuesta de conclusiones y recomendaciones como insumo para la propuesta de modelo de negocios a desarrollar en la siguiente etapa.

En una primera sección se entrega información respecto al origen de la clorofila y sus principales derivados a partir de vegetales, sus principales usos y aplicaciones en la industria de alimentos y bebidas como colorante natural, usos en cosmética y farmacéutica. Se añaden ejemplos de productos disponibles en el mercado, así como aspectos productivos, desafíos para la extracción de la clorofila y obtención de compuestos de clorofilina de cobre con sus especificaciones técnicas en los mercados de consumo; además de un breve análisis de la competencia que ha emergido en los últimos años, principalmente de la producción de espirulina, como alternativa al color verde.

Más adelante, la segunda sección se enfoca en la identificación y análisis de los principales mercados, como son Estados Unidos y la Unión Europea, y sectores consumidores de extractos de clorofila con sus aspectos regulatorios, especificaciones técnicas e instituciones claves. También se entrega información del tamaño del mercado global actual y potencial (al año 2025 en US\$) de los extractos de clorofila.

En la tercera sección se caracterizan las principales empresas internacionales, más de 30, que producen y comercializan extractos de clorofila en diferentes formatos, con datos sobre país de origen, ubicación de la producción, tipo de productos y materias primas utilizadas, entre otros datos de interés. Cabe señalar que China, India y Estados Unidos lideran la oferta de empresas.

Un cuarto capítulo se enfoca al análisis del mercado nacional - producción local e importaciones - cuyo comercio ha sido escaso en los últimos años, con escasas importaciones de extractos de clorofila, aunque se ha generado un auge por la comercialización de productos en base a clorofila, líquida o en capsulas, ofrecida como alimento que posee propiedades nutricionales beneficiosas para la salud. Se hace una caracterización de empresas locales trabajando en este nicho de mercado y que podrían ser potenciales clientes de este emprendimiento.

Posteriormente se entrega una propuesta de conclusiones y recomendaciones como insumo para la propuesta de modelo de negocios, destacando un mercado mundial en crecimiento, principalmente de colorantes naturales y productos con propiedades nutricionales en base a clorofila, que es poco transparente y donde todavía los colorantes sintéticos mantienen el liderazgo. También algunas aprensiones de las autoridades regulatorias sobre el carácter poco natural o sintético de la clorofila y las clorofilinas cúpricas; el dominio productivo desde China que usa como materia prima al gusano de seda; la competencia emergente de la espirulina como alternativa al color verde en la industria de alimentos y bebidas, principal mercado para los extractos de clorofila; el incipiente mercado nacional y el lugar en la cadena de valor que debiera tener la futura producción nacional.

A continuación se preparó un análisis FODA (Fortalezas, Oportunidades, Debilidades y Amenazas) para la producción de extractos de clorofila en Chile a nivel piloto y se identificaron aspectos diferenciadores del producto, para finalmente proponer un modelo de negocios en base al método Canvas, que

Informe Final

Asesoría "Estudio de Mercado a Nivel Internacional y Modelo de Negocios para Producción en Chile de Extractos de Clorofila"

En el marco del Proyecto FIA PYT-2018-0289: "Desarrollo de un Modelo Piloto de Producción de Extractos de Clorofila de Alto Valor Funcional usando Biomasa de Especies Forrajeras"

Versión al 10 de Junio de 2019

---

incluye propuesta de valor; aspectos sobre socios, actividades y recursos claves, relaciones, canales y segmentos de clientes, así como estructura de costos y fuente de ingresos, acorde a los requerimientos y necesidades de este proyecto.

---

## **2. ANALISIS DE MERCADO**

### **2.1 Tendencias del mercado internacional**

En esta sección se analizan las principales tendencias del mercado internacional respecto al origen, usos y aplicaciones de la clorofila y aspectos productivos y de la competencia emergente, entre otros temas de interés.

#### **2.1.1 Origen de la clorofila y sus compuestos**

La clorofila es un pigmento de color verde oscuro que se encuentra en la hoja de las plantas y que se encarga de las reacciones fotoquímicas durante la fotosíntesis.

Existen fundamentalmente dos tipos de clorofila dependiendo de su grado de absorción de la luz solar. La Clorofila A es la más habitual dado que corresponde a dos tercios del total de clorofilas en el mundo vegetal. La clorofila B, menos frecuente, aparece también en plantas, pero sobre todo en algas verdes y otros organismos como algunas cianobacterias, entre ellas la espirulina.

La clorofila es abundante, siendo la alfalfa y la espinaca los vegetales que muestran una gran concentración de ella. También se encuentra presente en las células vegetales del brócoli, espárragos, col verde y de algas, entre otros, como se muestra en la Tabla 1.

Para regular el consumo del colorante basado en clorofila la Comunidad Económica Europea ha establecido los siguientes criterios que definen los diversos tipos de clorofila agrupados bajo el código E140.

La clorofila primaria se obtiene mediante la extracción por solvente del vegetal y se presenta como un pigmento soluble en aceite que proporciona un tono verde oliva (clorofila E140i). El derivado de la clorofila llamado clorofilina se obtiene mediante la saponificación de la clorofila que entrega un producto soluble en agua (clorofilina E140ii). Cuando a la clorofila E140i se le añade sales de cobre se logra su estabilidad y se transforma en clorofilina cúprica (E141i). A su vez, cuando a la clorofilina E140ii se le añade sales de cobre se convierte en el compuesto más popular de las clorofilas puesto que ha sido estabilizada por el cobre y es soluble

---

en agua, ya que proviene de una fuente saponificada. Esta es la clorofilina cúprica (E141ii).

**Tabla 1. Contenido de Clorofila en Algunos Vegetales.**

Alimento	Dosis (cucharada)	Clorofila (mg)
Spinach – espinaca	1	23,7
Parsley – perejil	½	19,0
Cress, garden – berro	1	15,6
Green beans – porotos verdes	1	8,3
Arugula – rúcula	1	8,2
Leeks – puerros	1	7,7
Endive – endivia	1	5,2
Sugar peas – arvejas dulces	1	4,8
Chinese cabbage – repollo chino	1	4,1

Fuente: "Chlorophyll and Chlorophyllin", Jane Higdon, Ph.D., Linus Pauling Institute, Oregon State University, Copyright 2004-2019, Linus Pauling Institute, <https://pi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/chlorophyll-chlorophyllin>

### 2.1.2 Usos y Aplicaciones

La clorofila se usa para colorear dulces, helados, preparaciones de frutas, panadería, alimentos preparados y suplementos alimenticios pero sobre todo en productos lácteos y bebidas donde también se usa para otorgar sabores de kiwi, lima y menta. Además, la clorofila es un excelente reemplazo para los colorantes amarillos y azules artificiales.

Por lo general las empresas productoras cuentan con una gama de clorofila que incluye líquidos hidrosolubles y oleo-solubles, además de polvos<sup>1</sup>. También tienen

---

<sup>1</sup> Fuente: <https://www.chr-hansen.com/es/natural-colors/a-rainbow-of-colors/blue-green/chlorophyll>

productos destinados a medios con pH bajo, como ciertas bebidas y productos encapsulados. Ofrecen una gama completa de diferentes tonos, desde el verde amarillento hasta el azulado. Para conseguir una variedad aún mayor de tonos verdes, disponen de mezclas de clorofila y de diferentes pigmentos amarillos.

De acuerdo a la empresa alemana Döhler, importante actor en el mercado de colorantes naturales, el mercado inició a principios de esta década un fuerte aumento en el lanzamiento de colorantes naturales y sintéticos para la industria de alimentos y bebidas, como se muestran en la Tabla 2.

**Tabla 2. Lanzamiento de nuevos productos entre 2009 y 2014 por tonalidades de colores (naturales y sintéticos)**

	Amarillos y naranjas	Colores rojos	Cafés y negros	Azules y violetas	Colores verdes
<b>Nuevos productos en 2009</b>	17.139	6.522	6.434	2.771	481
<b>Nuevos productos en 2014</b>	39.187	14.083	13.951	4.769	1.424
<b>Crecimiento anual 2009 – 2014</b>	+18%	+17%	+17%	+12%	+24%

Fuente: Presentación "Global Beverage Trends & The Supply Chain Challenges", por Shashank Vengsarkar, en la Arabic Beverages Conference & Exhibition, 08.09.2015, Döhler Market Intelligence

Si bien los colores verdes, tienen el mayor crecimiento anual durante el período de análisis respecto de otros colores, están muy rezagados respecto al número de lanzamientos de nuevos productos con otras totalidades.

La demanda por las verduras de hoja verde continúa aumentando por parte de los consumidores cada día más conscientes de su salud y de las bondades de una vida sana. Esto es porque según lo aseverado en múltiples estudios -y cuestionado en muchos otros-, el consumo de extracto de clorofila neutraliza los radicales libres y conduce a la desintoxicación del cuerpo, mejora la digestión, protege la piel y también ayuda a combatir el cáncer.

En este mercado, las clorofilinas E140ii y E141ii tienen puntos a favor ya que, además de ser más estables que las otras clorofilas, el complejo de cobre que se les añadió no es absorbido por el cuerpo y se elimina en su totalidad como un producto de excreción. Es así entonces que en la mayoría de los países las clorofilinas se consideran inocuas y se permite su uso como aditivo alimentario.

---

No obstante, la concentración de cobre ionizable libre en la coloración debe mantenerse por debajo de 200 ppm según las regulaciones actuales.

Es importante entender que, además de su uso como colorante natural, el consumo de clorofila está tomando fuerza en el cuidado personal, la cosmética y farmacéutica, y se ofrece en forma líquida y capsula, como un alimento que posee propiedades nutricionales beneficiosas para la salud, haciendo la salvedad que no es medicamento y no reemplaza el diagnóstico de un médico. La Tabla 3 resume sus propiedades y algunas contraindicaciones:

**Tabla 3. Propiedad de la Clorofila para la Salud**

<b>Propiedades de la clorofila</b>	<b>Algunas contraindicaciones</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Desintoxicante natural del organismo (ayuda a eliminar el mal aliento, olores provocados por la transpiración, toxinas, olor urinario y fecal).</li><li>• Prevenir la hiperacidez, balanceando el nivel de los álcalis del estómago</li><li>• apoyo en la regeneración de tejidos en general, por sus características antioxidantes.</li><li>• Tratamiento del acné: limpieza poros de la piel</li><li>• Ayuda a reforzar el sistema inmunológico.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• No está recomendado para niños, embarazadas y nodrizas</li></ul>

Fuente: Elaboración propia en base a datos de la empresa Armonisencia, y conversación con su propietario, <http://www.armonisencia.cl/site/producto/clorofila-liquida/>

### 2.1.3 Aspectos Productivos

---

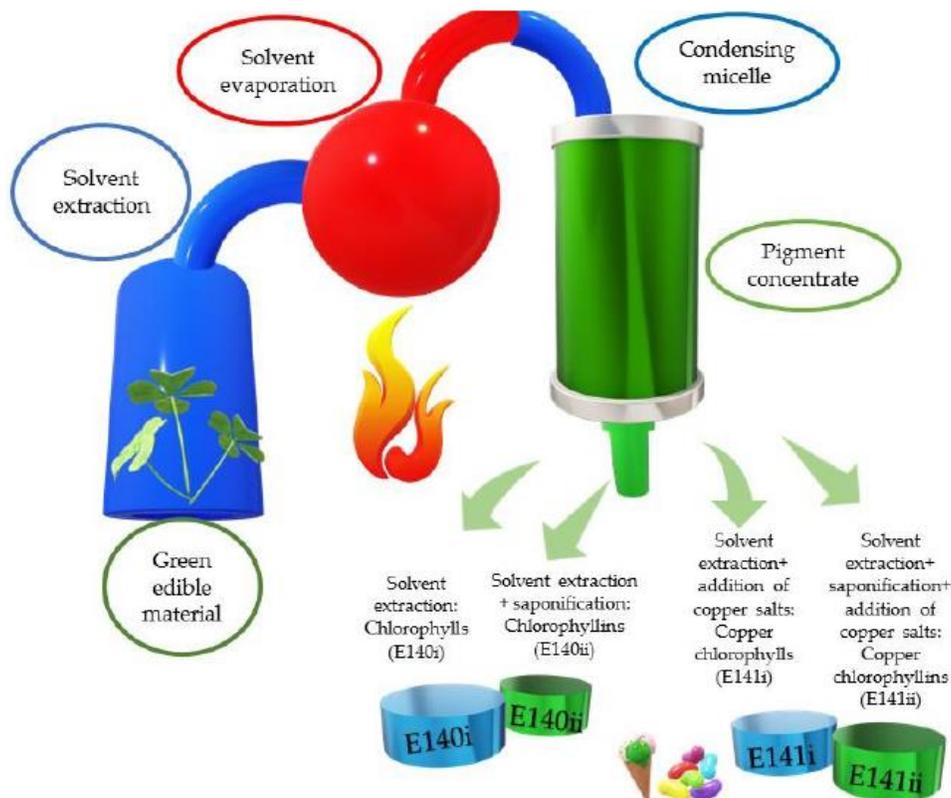
La obtención de clorofila pura a partir de recursos naturales es difícil debido a las dificultades para lidiar con el calor y la luz durante el proceso de purificación<sup>2</sup>

La Figura 1 muestra el proceso esquemático para la producción de clorofila y clorofilinas.

Existen otras dificultades asociadas a la clorofila. El contenido de su pigmento no se conoce con precisión y es inestable en las diferentes condiciones de pH de los alimentos a los que se agrega. Además, es más cara que los colorantes artificiales. Pero el principal inconveniente del pigmento es que, como se indica más arriba, para ser producido a una escala industrial óptima desde un punto de vista de su estabilidad y solubilidad, debe someterse a una modificación química que le hace sufrir pérdidas en su carácter de producto plenamente natural que es lo que el mercado busca.

---

<sup>2</sup> Fuente: Enhancement of Chlorophyll a Production from Marine Spirulina maxima by an Optimized Ultrasonic Extraction Process, Woon Yong Choi and Hyeon Yong Lee, Department of Medical Biomaterials Engineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea, en Appl. Sci. 2018, 8(1), 26; <https://doi.org/10.3390/app8010026>



**Figura 1. Proceso esquemático para la producción de extractos de clorofila, según la Unión Europea**

Fuente: Green Natural Colorants, en *Molecules Journal*, autores Isabel Viera, Antonio Pérez Gálvez y María Roca, Food Phytochemistry Department, Instituto de la Grasa (CSIC), 02 de Enero de 2019. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/1/154/pdf>

#### 2.1.4 Competencia emergente

En conjunto, para aplicaciones industriales, las hojas verdes representan la fuente ideal para la extracción de clorofila, aunque se han desarrollado técnicas emergentes y nuevos métodos que se basan en cianobacterias o en algas verdes como la *Chlorella*, por ejemplo. Estas también tienen un lugar en el mercado pero en la actualidad con una focalización en segmentos diferentes al de la clorofila producida a partir de vegetales. Las técnicas emergentes han desarrollado otras alternativas de valor que se extienden desde la producción de suplementos alimenticios hasta el biodiesel pasando por la elaboración de alimentos para animales.

En los que respecta a sus aplicaciones alimentarias la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) anunció en 2018 la modificación de las regulaciones de aditivos de color para garantizar el uso del extracto de espirulina producido a partir de la biomasa seca de la *cianobacteria Arthrospira platensis*, como aditivo de color en caramelos y goma de mascar. Esta acción es en respuesta a una petición presentada por la empresa de confites y alimentos de animales Mars Inc. en enero de 2012<sup>3</sup>.

Si bien los pastos y sobre todo las plantas de alfalfa seca representan la fuente principal para la elaboración de este colorante en la actualidad, la competencia de las algas puede ser determinante para definir la viabilidad del negocio de la producción de clorofila por medio de pastos en el futuro.

Desde ya la clorofila utilizada como colorante verde natural en Brasil, por ejemplo, se obtiene de las espinacas, que contienen aproximadamente 60 ppm, mientras que la biomasa de *Spirulina sp* contiene 67 ppm de este pigmento<sup>4</sup>.

La cifra a continuación es también relevante. Según un estudio de 2017 "Estado actual de las empresas productoras de microalgas destinadas a alimentos y suplementos alimenticios en América Latina", el cultivo basado en algas constituye el tercero más grande en acuicultura, produciendo 19.000 toneladas métricas de biomasa seca con un valor anual de US\$ 5.700 millones, que incluye toda la gama para productos derivados, incluyendo los colorantes<sup>5</sup>.

En Chile, la empresa Solarium Biotechnology S.A, <https://www.spirulina.cl>, lleva casi 20 años dedicada a la producción de suplementos nutricionales a partir del procesamiento de algas en unidades productivas localizadas en el norte del país.

---

<sup>3</sup> Fuente: <https://www.bestphycocyanin.com/news/nutritive-value-of-chlorella-vulgaris-16365613.html>

<sup>4</sup> Fuente: "Effect of different conditions on the production of chlorophyll by *Spirulina platensis*", por U.K. Chauhan y Neeraj Pathak, Department of Biotechnology, Awadesh Pratap Sigh University Rewa, M.P. India, en *Journal of Algal Biomass Utilization*, 2010, 1 (4): 89 – 99. Disponible en: <http://jalgalbiomass.com/paper4vol1no5.pdf>

<sup>5</sup> Fuente: [http://www.academia.edu/35822946/Estado\\_actual\\_de\\_las\\_empresas\\_productoras\\_de\\_microalgas\\_destinadas\\_a\\_alimentos\\_y\\_suplementos\\_alimenticios\\_en\\_Am%C3%A9rica\\_Latina](http://www.academia.edu/35822946/Estado_actual_de_las_empresas_productoras_de_microalgas_destinadas_a_alimentos_y_suplementos_alimenticios_en_Am%C3%A9rica_Latina)

---

Su producto principal es la *Spirulina Mater*, que según la empresa contiene proteínas (todos los aminoácidos esenciales y los no esenciales); Vitaminas (A por medio de betacaroteno, E, B1 a B12, especialmente B12 y ácido fólico); Minerales (hierro, calcio, potasio, magnesio, fósforo, zinc); Ácidos grasos esenciales (Omegas 3, 6, Gamalinolénico); Pigmentos antioxidantes (Clorofila, Betacaroteno, Xantofilas, Ficocianina); oligoelementos, entre otros.

Por su parte, E-CL, Copec, la Pontificia Universidad Católica de Chile, Rentapack y Bioscan crearon el año 2011 el consorcio *Algae Fuels*, para estudiar a nivel piloto la producción de biodiesel de segunda generación a través de microalgas en Mejillones y también un tipo de harina de biomasa algal, que tiene usos en la producción de fertilizantes, cosméticos, las industrias nutracéutica y farmacéutica<sup>6</sup>.

A nivel de colorantes, las empresas están ofreciendo tonos verdes naturales usando concentrados azules a partir de espirulina. Por ejemplo, el grupo GNT de Holanda, [www.gnt-group.com](http://www.gnt-group.com), a través de su marca EXBERRY®, <https://exberry.com/faq>, señala que al mezclar concentrados de azul, obtenidos de la espirulina, con amarillo, pueden proporcionar un "maravilloso espectro de verdes" según las necesidades del cliente. Más detalles sobre esta oferta en la sección de caracterización de empresas.

## 2.2 Tamaño de Mercado y Principales Regiones Consumidoras

En esta sección se identifican los principales mercados y sectores consumidores de extractos de clorofila con sus aspectos regulatorios específicos e instituciones claves, así como el tamaño del mercado global actual y potencial (al año 2025 en US\$) de los extractos de clorofila.

### 2.2.1 Tamaño de mercado actual y potencial (2025) del mercado global

Un estudio de *Value Market Research*<sup>7</sup>, calcula el mercado global de extractos de clorofila en US\$ 279,5 millones en 2018 y anticipa que alcanzará los US\$ 463,7 millones para 2025 con una tasa de crecimiento anual de 7,5%.

---

<sup>6</sup> Fuente: <http://www.empresascopec.cl/wp-content/themes/copec-corp/imprimible.php?id=254>

<sup>7</sup> Fuente: <https://www.valuemarketresearch.com/report/chlorophyll-extract-market>

El mismo informe indica que el producto líquido lideró el segmento en 2018, dada las ventajas para su consumo, permitiendo una absorción óptima, una mejor vida útil y una mayor concentración de componentes activos.

Por aplicación, los aditivos para alimentos lideraron el segmento en el año 2018, impulsados por una creciente demanda de extracto de clorofila en alimentos procesados, helados, bebidas, salsas, pastas y quesos como colorantes e ingrediente funcionales. La creciente preferencia por los ingredientes herbales, debido a sus nulos efectos secundarios negativos, también está impulsando aún más el crecimiento en este segmento.

De acuerdo al informe "*Copper Chlorophyll Industry*" de la consultora Absolute Reports, [www.absolutereports.com](http://www.absolutereports.com), la producción de extractos de clorofila de cobre a nivel mundial aumentó de 74 toneladas en 2012 a 85 toneladas en 2016, con una tasa de crecimiento promedio anual de más del 3,5%, siendo China el líder en la industria con una participación de mercado del 49% en 2016, seguida de India y Europa con un cerca del 20% y 10%, respectivamente. Es decir, una industria muy concentrada, donde los cinco principales productores representan aproximadamente el 72% del mercado de ingresos.

De acuerdo al portal online *Food Navigator*, en el 2014, un 80% de la clorofilina usada en el mercado norteamericano proviene principalmente de China en donde se produce a partir del excremento del gusano de seda que vive en la hoja verde de la morera (*mulberry*) y solo un 20% de espinaca y alfalfa<sup>8</sup>.

Matthew Attokaran en su libro *Natural Food Flavor and Colorants* (John Wiley, 2017) añade que el uso de las hojas de morera hizo bajar los costos para producir clorofilina, reemplazando a la alfalfa como insumo esencial. Si bien la morera es una planta de características óptimas para la producción de clorofilina tiene dos vertientes productivas, la primera es el solo uso de la hoja y la segunda es la clorofila alojada en el excremento del gusano de seda alimentado con morera (*silk worm excrement of mulberry leaves*). El gusano metaboliza proteínas, carbohidratos y grasas pero excreta residuos con un alto contenido de clorofila. Estas fecas son procesadas por el sistema tradicional de extracción por solvente,

---

<sup>8</sup> Fuente: <https://www.foodnavigator-usa.com/Article/2014/09/02/There-s-a-general-lack-of-consumer-education-on-natural-colors-FMC>

---

saponificación y reemplazo del núcleo por cobre el mismo que se ocupa para los vegetales. El complejo de clorofilina de cobre resultante se vende en los mercados internacionales, generalmente asociando su nombre a lo natural.

### 2.2.2 Tendencias de Consumo

A nivel del consumo de extractos de clorofila de cobre en el mundo, Europa fue el mayor mercado con un 27% del volumen de consumo mundial en 2016, seguido de China con un 25% del total mundial, y luego EE.UU. con menos del 20%, según el informe "Copper Chlorophyll Industry" de la consultora Absolute Reports, [www.absolutereports.com](http://www.absolutereports.com)

Debemos hacer notar como contrapartida, que la autoridad europea a través de la European Food Safety Authority (EFSA) ha estado solicitando desde el 2015 mayor información sobre la inocuidad de la clorofilina cúprica (E141ii) como aditivo alimentario puesto que el producto tiene un mínimo porcentaje de clorofila. El estudio es de 2015 y puede haber nuevos trabajos que lo desautoricen pero con la información disponible es necesario considerar la precariedad de la aceptación en la Comisión Europea de esta variedad de extracto de clorofila<sup>9</sup>.

En China, la clorofila derivada del perejil es popular, así como también en India, donde tradicionalmente se ha utilizado como un remedio para el mal aliento. Se espera que la tendencia en el uso del extracto de clorofila como medicina tradicional continúe creciendo debido a la creencia de una amplia población en la medicina tradicional / alternativa.

En Estados Unidos, la clorofila ha comenzado a ganar popularidad últimamente como una bebida saludable. La bebida *Shine Potions Bottled* que contiene clorofila líquida creada por el Restaurante Shine está atrayendo la atención de los consumidores. Situación similar para Grateful Juice Co. (US) en su línea de jugos saludables<sup>10</sup>.

Es interesante considerar además que diferentes formuladores de colores como FMC (hoy Dupont) están trabajando con la autoridad sanitaria de EE.UU. para que

---

<sup>9</sup> Fuente: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/4151>

<sup>10</sup> Más información: <https://www.shineboulder.com/#potions-section> y <http://www.gratefuljuiceco.com/about-us.html>

---

apruebe el uso de clorofila y sus derivados en forma más amplia, ya que hoy solo puede usarse la clorofilina de cobre para colorear bebidas a base de cítricos, como se muestra más adelante.

El crecimiento del mercado de clorofilas y clorofilinas en América Latina es sólido, debido al aumento de la demanda por colorantes naturales para alimentos en la región, principalmente en Brasil, México, Argentina y Colombia.

La adopción global de clorofila y de colorantes alimentarios derivados en Medio Oriente y África es relativamente bajo comparado con otras regiones del mundo debido a la escasa disponibilidad de materias primas para su producción<sup>11</sup>.

A nivel de colorantes y potencial ganancia de consumo y mercado para la clorofila, hay dos ejemplos de interés:

- Reemplazo del colorante E143, FD&C Green No. 3, un colorante alimentario sintético de color verde azulado que proporciona un tono verde oscuro en las aplicaciones y utilizado en EE.UU. desde 1927. El color es principalmente la sal disódica de N-etil-N- [4- [[4- [etil [(3-sulfofenil) metil] amino] fenil] (4-hidroxi-2-sulfofenil) metileno] -2,5 -ciclohexadien-1-ilideno] -3-sulfobenceno -metanaminio hidróxido. Es soluble en agua, poco soluble en etanol e insoluble en aceites vegetales<sup>12</sup>.
- Reemplazo del color sintético E142, conocido como Green S, que consiste esencialmente en sodio N- [4 - [[4- (dimetilamino) fenil] (2- hidroxí-3,6-disulfo-1-naftalenil)-metileno]-2,5-ciclohexadien-1-ilideno]-N-metilmetanaminio y colorantes secundarios junto con cloruro de sodio y / o sulfato de sodio como los principales compuestos incoloros. El colorante, que proporciona un tono verde rojizo en aplicaciones, es soluble en agua y ligeramente soluble en etanol. Tiene aplicaciones similares al E143.

El uso de extracto de clorofila no solo se limita a sus beneficios para la salud, también se usa en preparaciones cosméticas. La pomada o crema que contiene clorofila ya está disponible en el mercado, puesto que se considera un tratamiento natural para el herpes al ayudar a reducir el número de llagas y además ayuda a disminuir el tiempo necesario para el proceso de curación. Algunas marcas

---

<sup>11</sup> Fuente: Transparency Market Research, Chlorophylls and Chlorophyllins Market - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends, and Forecast 2017 – 2027)

<sup>12</sup> Fuente: Safety of Colors, <https://www.iacmcolor.org/safety-of-color/>

disponibles son Acure, Cocokind, and Tata Harper y en otros productos de cosmética natural y bebidas en base a extracto de clorofila<sup>13</sup>. Algunos ejemplos se muestran en el Anexo I.

En resumen, las tendencias de investigación actuales muestran una clara indicación de que los productos naturales prosperarán como una fuente importante de nuevos medicamentos y materias primas para el desarrollo de medicamentos y cosméticos en el futuro.

### 2.2.3 Aspectos Regulatorios

La Tabla 4 muestra la clasificación de colorantes verdes naturales autorizados en diferentes países<sup>14</sup>.

**Tabla 4. Clasificación de extractos de clorofila autorizados para diferentes regulaciones**

Country	Chlorophyll	Chlorophyllin	Cu-Chlorophyll	Cu-Chlorophyllin	Na-Fe-Chlorophyllin
EU	E140i	E140ii	E141i	E141ii	
USA				73.125	
Japan	177	116	266	265	257
India	6				
China			08.153	08.009	
CA <sup>1</sup>	INS 140	INS 140	INS 141i	INS 141ii	

<sup>1</sup> CA: Codex Alimentarius.

Fuente: Green Natural Colorants, en *Molecules Journal*, autores Isabel Viera, Antonio Pérez Gálvez y María Roca, Food Phytochemistry Department, Instituto de la Grasa (CSIC), 02 de Enero de 2019. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/1/154/pdf>

Se puede apreciar que la Unión Europea acepta la comercialización de extractos de clorofila, tanto de Mg (E140 i y ii) y Cu (E141 i y ii) y que podría explicar que sea el mercado de mayor consumo.

Por su parte, en Estados Unidos, su uso es limitado aceptando solo la clorofilina de Cu, situación que podría crecer si la autoridad sanitaria acepta las peticiones

<sup>13</sup> Más información en <https://uk.lush.com/ingredients/chlorophyllin-0>

<sup>14</sup> Más información en el siguiente link: <https://www.iacmcolor.org/safety-of-color/natural-colors/chlorophylls-and-chlorophyllins/>

de empresas del sector de alimentos y bebidas, para ampliar su rango de uso.

### 2.2.3.1 Características físico-químicas de los extractos

A continuación se muestran las especificaciones físico – químicas que es necesario cumplir en la Unión Europea (UE) para la clorofila de cobre y de la clorofilina de cobre en la UE y EE.UU., que son los productos más comercializados y ofrecidos por las empresas como materias primas para la industria de colorantes, farmacéutica y cosmética.

**Tabla 5. Características físico-químicas de la clorofila de cobre en la Unión Europea**

Clorofila de Cu	Unión Europea Regulación: N° 231/2012
<b>Identificación</b>	Espectrometría: Máximo en cloroformo a ca. 422 nm y a ca. 652 nm
<b>Residuos de solventes</b>	No más de 50 mg/kg en forma individual o en combinación: acetona, metil etil cetona, dióxido de carbono, metanol, etanol, propan-2-ol y hexano. Diclorometano: no más de 10 mg/kg
<b>Iones de cobre</b>	No más de 200 mg/kg
<b>Cobre total</b>	No más del 8% de las teofilinas de cobre totales
<b>Plomo</b>	No más de 2 mg/kg
<b>Arsénico</b>	No más de 3 mg/kg
<b>Mercurio</b>	No más de 1 mg/kg
<b>Cadmio</b>	No más de 1 mg/kg
<b>Clorofilas de cobre totales</b>	No menos de 10% E <sub>1cm 1%</sub> 540 a ca. 422 nm en cloroformo E <sub>1cm 1%</sub> 300 a ca. 652 nm en cloroformo
<b>Definición</b>	Las clorofilas de cobre se obtienen mediante la adición de una sal de cobre a la sustancia obtenida mediante la extracción con solvente de cepas de material vegetal comestible, pasto, alfalfa y ortiga. El producto, del cual se eliminó el solvente, contiene otros pigmentos como carotenoides, así como grasas y ceras derivadas del material de origen. Los principales colorantes son las teofilinas de cobre. Para la extracción solo se pueden usar los siguientes solventes: acetona, metil etil cetona, diclorometano, dióxido de carbono, metanol, etanol, propan-2-ol y hexano.
<b>Descripción</b>	Sólido ceroso que varía en color de verde azul a verde oscuro dependiendo del material de origen

Fuente: Elaboración propia en base a información de "Copper Complexes of Chlorophylls and Chlorophyllins", International Association of Color Manufacturers, 2017, [www.iaacolor.org](http://www.iaacolor.org)

Respecto a la clorofilina de cobre, en Estados Unidos se define como "un polvo verde a negro preparado desde clorofila por saponización y reemplazo del ion Mg

por Cu. Clorofila es extraída desde alfalfa (*Medicago sativa*) usando uno o una combinación de los solventes acetona, etanol o hexano"; mientras en la Unión Europea se define como "las sales alcalinas obtenidas mediante la adición de cobre al producto obtenido mediante la saponificación de una extracción con solventes de cepas de material vegetal comestible, hierba, alfalfa y ortiga; La saponificación elimina los grupos éster metilo y fitol y puede romper parcialmente el anillo de ciclopentenilo. Después de la adición de cobre a las clorofilinas purificadas, los grupos ácidos se neutralizan para formar las sales de potasio y / o sodio. Para la extracción solo se pueden usar los siguientes solventes: acetona, metil etil cetona, diclorometano, dióxido de carbono, metanol, etanol, propan-2-ol y hexano".

**Tabla 6. Características físico-químicas de la clorofilina de cobre en EE.UU. y la Unión Europea**

<b>Clorofilina de Cu sódica</b>	<b>FDA (EE.UU.)</b>	<b>Unión Europea Regulación: N° 231/2012</b>
<b>Humedad</b>	No más que 5%	No informa
<b>Residuos de solventes</b>	No más que 50 ppm, individualmente o en combinación	No más de 50 mg/kg en forma individual o en combinación: acetona, metil etil cetona, dióxido de carbono, metanol, etanol, propan-2- ol y hexano. Diclorometano: no más de 10 mg/kg
<b>Cobre total</b>	No menos de 4% y más de 6%	No más del 8% de las clorofilinas de cobre totales
<b>Cobre libre</b>	No más de 200 ppm	No más de 200 mg/kg
<b>Plomo (como Pb)</b>	No más de 10 ppm	No más de 5 mg/kg
<b>Arsénico (como As)</b>	No más de 3 ppm	No más de 3 mg/kg
<b>Mercurio (como Hg)</b>	No más de 0,5 ppm	No más de 1 mg/kg
<b>Cadmio</b>		No más de 1 mg/kg
<b>Clorofilinas de cobre totales</b>	No menos de 95% de la muestra seca a 100°C por 1 hora.  Radio de absorbancia a 405 nanómetros (nm) a absorbancia a 630 nm: No menos de 3,4 y no más de 3,9	No menos de 95% de la muestra seca a 100°C por 1 hora. Ensayo espectrometría E <sub>1cm 1%</sub> 565 a ca. 405 nm en tampón fosfato acuoso a pH 7,5 E <sub>1cm 1%</sub> 145 at ca. 630 nm en tampón fosfato acuoso a pH 7,5
<b>Usos y restricciones</b>	Se puede usar de manera segura para colorear mezclas de bebidas secas a base de cítricos en una cantidad que	No informa

	no exceda el 0,2 por ciento en la mezcla seca	
--	---	--

Fuente: Elaboración propia en base a información de "Copper Complexes of Chlorophylls and Chlorophyllins", International Association of Color Manufacturers, 2017, [www.iacmcolor.org](http://www.iacmcolor.org)

Respecto a Chile, el Reglamento Sanitario de los Alimentos del Ministerio de Salud, entrega el marco general normativo a los alimentos destinados para consumo humano que se producen, importan, elaboran, envasan, almacenan, distribuyen y venden en el mercado interno<sup>15</sup>.

Respecto a la adición de aditivos, señala en el Reglamento en su artículo 137 que *"Los aditivos sólo pueden ser agregados dentro de los límites establecidos en el Párrafo II de este Título "Del Uso de los Aditivos" y de los límites específicos que para cada alimento se establecen expresamente en este reglamento o de acuerdo a las Buenas Prácticas de Fabricación (B.P.F.), que en dicho párrafo se señalan"*.

Respecto al uso de extractos de clorofila, el artículo 145 permite su uso y para efectos de rotulación se deberá emplear el nombre, según el Códex Alimentarius, como sigue:

Nº SIN	NOMBRE CODEX	LIMITE MAXIMO
140	Clorofila	B.P.F.
141 i	Complejo cúprico de clorofilina	B.P.F.
141 i	Complejo cúprico de clorofilina, sales de sodio y potasio	B.P.F.

### 2.2.3.2 Certificaciones

Entre las principales certificaciones que muestran las empresas que producen y comercializan extractos de clorofila y que deberían ser consideradas en el emprendimiento local como Buenas Prácticas de Fabricación se tienen:

Certificación - estándar	Breve descripción
APPCC o HAACP	• El Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) o HACCP, por sus siglas en inglés, proceso sistemático preventivo para garantizar la inocuidad alimentaria, de forma lógica y objetiva.

<sup>15</sup> Más detalles en: <http://www.minsal.cl/reglamento-sanitario-de-los-alimentos/>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Más detalles en la guía preparada por la Agencia Chilena para Inocuidad Calidad Alimentaria (ACHIPIA):</li> <li>• <a href="https://www.achipia.gob.cl/wp-content/uploads/2018/08/Manual-HACCP.pdf">https://www.achipia.gob.cl/wp-content/uploads/2018/08/Manual-HACCP.pdf</a></li> </ul>
<b>ISO 22000 (2005)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estándar perteneciente a ISO (International Organization for Standardization), que puede aplicarse a cualquier organización en la cadena alimentaria, desde la granja a la productora de envases de alimentos, y consiste en la implementación de un sistema HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control). Si la empresa ya cuenta con sistema HACCP, el siguiente paso debiera ser ISO 22000.</li> <li>• En Chile SGS ofrece apoyo para obtener este estándar: <a href="https://www.sgs.cl/es-es/agriculture-food/food/food-certification/iso-22000-2018-certification">https://www.sgs.cl/es-es/agriculture-food/food/food-certification/iso-22000-2018-certification</a></li> </ul>
<b>FSSC 22000 (2009 y 2017)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Redactado por la Fundación Food Safety System Certification, y debiera ser el siguiente paso luego de ISO 22000, ya que requiere sólo una revisión de ISO/TS 22002-1 y un organismo certificador debidamente acreditado.</li> <li>• Aplica a las organizaciones que procesan o fabrican productos de origen animal, vegetales perecederos, productos con una larga vida útil e ingredientes alimenticios como aditivos, vitaminas y cultivos biológicos, así como materiales para el empaqueo de alimentos.</li> <li>• FSSC 22000 es reconocido por la Global Food Safety Initiative (GFSI) que reúne a los principales actores mundiales que fabrican alimentos, por lo tanto será un requisito al momento de comercializar con ellos. Más detalles en <a href="https://www.mygfsi.com">https://www.mygfsi.com</a></li> </ul>
<b>SQF</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Safe Quality Food (SQF) es gestionado por la SQFI (Instituto de Alimentos Seguros de Calidad).</li> <li>• Sistema de seguridad de la calidad alimentaria, que asegura a compradores y consumidores que los alimentos han sido producidos, procesados y manipulados de acuerdo a los más altos estándares en inocuidad alimentaria.</li> <li>• Es reconocida por la GFSI para darle acceso a clientes líderes en alimentos, empresas detallistas y proveedores de servicios de alimentos a nivel mundial.</li> <li>• Más detalles en: <a href="https://www.sqfi.com/why-get-certified/about-sqf-program/">https://www.sqfi.com/why-get-certified/about-sqf-program/</a></li> </ul>
<b>GMP</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Un programa de certificación de buenas prácticas de fabricación (GMP) ofrece la verificación y certificación independientes de que siguen las prácticas de fabricación básicas y se cumplen los requisitos previos necesarios para la aplicación de un programa eficaz de seguridad alimentaria según el análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC).</li> </ul>
<b>Halal</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El término halal hace referencia al conjunto de prácticas permitidas por la religión musulmana. Los musulmanes deben garantizar que todos los alimentos – no solo carne -, en particular los alimentos procesados, productos farmacéuticos y artículos no alimentarios, como los cosméticos, también son Halal.</li> <li>• La institución Chile Halal ofrece certificación para este importante mercado: <a href="http://www.chilehalal.com/index.php/como-certificar/">http://www.chilehalal.com/index.php/como-certificar/</a></li> </ul>
<b>Kosher</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Es la trazabilidad del proceso productivo, libre de la mínima contaminación cruzada con ingredientes de origen no Kosher.</li> <li>• En el proceso de certificación un coordinador Rabínico llevará a cabo una inspección de las instalaciones con el fin de entender a profundidad la naturaleza única de la producción y poder recomendar la certificación.</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Este rabino ofrece alternativas convencionales de sanitización y trazabilidad, con el objetivo que siempre que la empresa desee elaborar Kosher se logre realizar con una metodología estándar y habitual de la empresa.</li> <li>• En Chile la empresa KV KOSHER CERTIFICACION ofrece el servicio:</li> <li>• <a href="http://kosherkv.cl/kosher/normas-a-implementar/">http://kosherkv.cl/kosher/normas-a-implementar/</a></li> </ul>
<b>No OGM</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se refiere a productos que no se han modificado genéticamente.</li> <li>• El ámbito de certificación puede ampliarse desde un único actor en la cadena de suministro, unos pocos o incluso todo el proceso de producción.</li> <li>• En Chile SGS ofrece este tipo de certificación: <a href="http://www.sgs.cl">www.sgs.cl</a></li> </ul>
<b>Otras normas para mercados específicos</b>	<p>U.S. FDA (Federal Food Drug and Cosmetic Act), <a href="https://www.fda.gov/regulatory-information/federal-food-drug-and-cosmetic-act-fdc-act/fdc-act-chapter-iv-food">https://www.fda.gov/regulatory-information/federal-food-drug-and-cosmetic-act-fdc-act/fdc-act-chapter-iv-food</a></p> <p>British Retail Consortium (BRC), son estándares que especifican qué es requerido por las organizaciones y ayudan a asegurarle a los consumidores que los productos son seguros, legales y de alta calidad. Existe para seguridad alimentaria, almacenamiento y distribución, envases y materiales de envasado, entre otras. Todas reconocidas por la GFSI</p>

Fuente: Elaboración propia en base a información recopilada desde las fuentes que se señalan en cada certificación.

---

## **2.3 Identificación y caracterización de productores y comercializadores a nivel internacional**

Para el desarrollo de esta etapa se recopiló y analizó información secundaria generada con anterioridad al proyecto, informes de mercado de consultoras internacionales como Transparency Market Research, Future Market Insights, Zion Market Research, entre otros – los cuales difieren en cuanto a la identificación de las empresas líderes del sector – y se revisaron sitios web de empresas productoras y comercializadoras a nivel mundial de colorantes o productos similares para identificar si producen y/o ofrecen extractos de clorofila.

Lo anterior permitió identificar 33 empresas, las cuales fueron caracterizadas con datos sobre país de origen, ubicación de la producción, tipo de productos y materias primas utilizadas, cuyo detalle se muestra en el Anexo II.

### **2.3.1 Origen**

Como se aprecia en la Tabla 7, China lidera la oferta de empresas produciendo extractos de clorofila con 8 operaciones (24% del total), seguido de cerca por India y Estados Unidos (21% del total en cada país). Seis países de la Unión Europea participan de esta oferta y que en total también representan un 24% del total de empresas identificadas.

#### **Tabla 7. Distribución origen empresas ofreciendo extractos de clorofila**

---

Origen empresa	N°	%
China	8	24%
India	7	21%
Estados Unidos	7	21%
Reino Unido	3	9%
Alemania	2	6%
Dinamarca	1	3%
Perú	1	3%
Canadá	1	3%
Italia	1	3%
Chile	1	3%
Francia	1	3%
<b>Total</b>	<b>33</b>	<b>100%</b>

### 2.3.2 Materias primas

En general, las empresas informan que utilizan varias materias primas para la producción de clorofila y sus derivados.

Un total de 16 empresas (casi el 50%) informan que utilizan alfalfa para la producción de extractos de clorofila, mientras 10 empresas informan que utilizan hojas de espinaca.

En China, las materias primas más utilizadas son la hoja de morera y el pellet fecal del gusano de seda que consume esta hoja.

Otras materias primas menos comunes son la hoja de ortiga, pasto, incluyendo la empresa chilena VerdeVivo que ofrece jugo con contenido de clorofila, como un emprendimiento local en Santiago.

Además varias empresas utilizan otras materias primas alternativas para la producción de derivados de clorofila, como la empresa Diana Food que procesa una mezcla de espirulina con la planta herbácea cártamo. Estas se detallan más adelante.

---

### 2.3.3 Extractos de clorofila producidos

La mayoría de las empresas producen clorofila líquida y clorofilina de cobre (E141ii) en polvo y líquida, dependiendo de su origen y del mercado que aborden, según las autorizaciones regulatorias que se mostraron en la Tabla 4.

Cabe destacar tres productos diferentes en base a clorofila, la goma de color verde conteniendo clorofila insoluble usada en confitería y horneados de la empresa americana Watson Inc., la alfalfa en polvo (en varios tamaños: 80, 120, 200 y 300 Mesh) conteniendo clorofila de la empresa china Sunrise Nutrachem Group., y los standard" para realizar pruebas, ensayos de referencia o fabricar productos en laboratorio de la empresa Merck.

A continuación se entrega información de 22 empresas que, a juicio de esta consultora, son relevantes en términos de participación en la producción y oferta de productos para los mercados de colorantes naturales, farmacéuticos y cosméticos. Se realiza una breve descripción de la empresa y en algunos casos se detallan los formatos y especificaciones técnicas de sus productos disponibles en el sitio web y catálogos recopilados por la consultora. Cabe señalar además que una empresa china entregó precios de referencia y fichas técnicas de los productos que comercializa.

### 2.3.4 Análisis Principales Empresas Internacionales

#### 2.3.4.1 Arjuna Natural Ltd., India

Arjuna Natural Ltd, [www.arjunanatural.com](http://www.arjunanatural.com), es un fabricante y exportador líder en la India de extractos botánicos estandarizados para las industrias farmacéuticas y nutracéuticas con más de décadas experiencia.

Si bien su foco son los extractos a partir de cúrcuma y la producción de ácidos de Omega3, también produce colorantes para la industria de alimentos, incluyendo la clorofila, con las siguientes características (Tabla 8).

**Tabla 8. Características clorofila ofrecida por Arjuna Natural, India**

Tipo	Característica	Aplicaciones	pH	T°	Dosis
------	----------------	--------------	----	----	-------

---

Verde natural	Basado sobre extracto de clorofila	Helado de crema, bebidas, dulces y lácteos	Estable hasta pH 8	Hasta 100 °C	0,02% - 0,5%
---------------	------------------------------------	--	--------------------	--------------	--------------

Fuente: Elaboración propia en base a información de la empresa

### 2.3.4.2 British Chlorophyll Co. Limited, Reino Unido

Esta empresa inglesa, [www.britishchlorophyll.co.uk](http://www.britishchlorophyll.co.uk), es muchas veces señalada como un gran productor global y el más grande de Europa que obtiene su producto mediante el procesamiento de pastos en Lincolnshire, Reino Unido, esencialmente alfalfa, alimentada por las lluvias de la región.

La empresa procesa 24 ton/día de pellets de pastos y realiza el secado en una nueva planta que entró en producción en 2016 para concentrar clorofila por extracción por solventes. A una velocidad de producción de 365 días anuales sería un procesamiento de 8.760 toneladas de pastos anuales<sup>16</sup>.

Además de la clorofila naturalmente soluble en aceite, también producen clorofilina soluble en agua a través del proceso de hidrólisis alcalina (saponificación).

En su sitio web señalan que son un proveedor de alimentos certificado por BRC y son miembros activos de Natcol (Natural Food Colours Association, [www.natcol.org](http://www.natcol.org)) y la FAIA del Reino Unido (Food Additives and Ingredients Association, [www.faiia.org.uk](http://www.faiia.org.uk)). Indican además que sus productos están certificados Kosher por KLBD, una autoridad kosher reconocida mundialmente. [www.klbdkosher.org](http://www.klbdkosher.org)).

### 2.3.4.3 CHR Hansen, Dinamarca

Esta compañía ([www.chr-hansen.com](http://www.chr-hansen.com)) con una historia de 140 años, tiene oficinas centrales en Dinamarca y está listada en Nasdaq Copenhagen. Desarrolla soluciones de ingredientes naturales (cultivos, enzimas, probióticos y colores naturales) para las industrias de alimentos, nutricional, farmacéutica y agrícola.

Emplea a más de 3.000 personas a nivel global y cuenta con ingresos por más de

---

<sup>16</sup> Fuente: <http://www.scottprotec.com/case-history/british-chlorophyll-company/>

---

mil millones de euros anuales, donde sobre un 20% es aportado por la división de colores naturales, convirtiéndola en uno de los principales actores de este mercado en el mundo.

Ofrece una amplia gama de colores naturales con su marca FruitMax®, que se basa en tres conceptos básico de "Clean Label": limpio, simple y natural.

CHR Hansen cuenta con una gama de clorofila que incluye líquidos hidrosolubles y oleosolubles, además de polvos, así como productos estables al ácido para medios con pH bajo, como ciertas bebidas, y productos encapsulados para aplicaciones como las golosinas recubiertas de azúcar. Ofrecen una gama completa de diferentes tonos, desde el verde amarillento hasta el azulado. Para conseguir una variedad aún mayor de tonos verdes, disponen de mezclas de clorofila y de diferentes pigmentos amarillos, utilizadas en lácteos y bebidas, por ejemplo, para los sabores a kiwi, lima y menta. También es una buena elección al preparar ciertos platos con pimienta verde, guacamole o pepino.

En resumen, señalan que la clorofila es excelente para sustituir los amarillos y azules artificiales<sup>17</sup>.

Sin embargo, con la aprobación del uso de espirulina en Europa y América del Norte, la empresa señala que se abren nuevas posibilidades de aplicación, no solo como color azul natural o colorante de alimentos, sino también como helados verdes y morados naturales y paletas de hielo, compitiéndole a la clorofila en este segmento.

#### **2.3.4.4 CNJ Nature Co. Ltd (Jiangxi Guoyi Bio-tech Co.), China**

Esta empresa de origen chino fundada en 1985, con fábrica en la provincia de JiangXi se especializa en la producción de colores naturales.

Ofrece un portafolio de más de una decena de colores incluyendo morado camote, cacao, rojo fungí, clorofila, col roja, amarillo cártamo, amarillo gardenia, etc. Sus mercados principales son China, Corea del Sur, Japón, Estados Unidos y Europa.

Su clorofilina cúprica de sodio es extraída desde el pellet fecal del gusano de seda

---

<sup>17</sup> Fuente: <https://www.chr-hansen.com/es/natural-colors/a-rainbow-of-colors/blue-green/chlorophyll>

y tiene como componente principal a la clorofila A ( $R = CH_3$ ). Es un producto en polvo de color verde oscuro, fácilmente soluble en agua, levemente soluble en alcohol y cloroformo, mientras la solución líquida tiene un color verde jade transparente, sin sedimentos.

La empresa recomienda su uso en tortas, bebidas, dulces, helados, pasta de dientes y cosméticos, etc., y presenta la siguiente composición química para su clorofila (Tabla 9)

**Tabla 9. Características clorofila ofrecida por CNJ Nature Co. Ltd, China**

Parámetro	Valor
pH	9,0 – 10,7
E1%, 1cm, 405nm	$\geq 568$
Extinction ratio <sup>3</sup> (E405nm/E630nm)	3.20-4.0
Cobre total (Cu),	4,0 – 6,0 %
Cobre libre	$\leq 0,025$ %
Arsénico (As)	$\leq 2$ mg/kg
Plomo (Pb)	$\leq 5$ mg/kg
Pérdidas en el secado	$\leq 4$ %
Residuo en ignición	$\leq 36$ %

Fuente: [http://www.hkcolors.com/product/home\\_en.asp](http://www.hkcolors.com/product/home_en.asp)

#### 2.3.4.5 D.D. Williamson, Estados Unidos

DDW, fundada en 1865 en EE.UU., [www.ddwcolor.com/](http://www.ddwcolor.com/), desde sus inicios se ha especializado principalmente en el color caramelo para la industria de las bebidas colas, mientras otra división se encarga de colores naturales en base a maíz morado, espirulina, achiote, paprika, betarragas, clorofila, cúrcuma, betarraga, zanahoria morada, repollo morado y camote, entre otros.

Opera once fábricas de colores en los cinco continentes, incluyendo planta en Cork, Irlanda para expandir su negocio de colores naturales en Europa y oficina global de abastecimiento. Dimerco Comercial Ltda. distribuye sus productos en Chile.

Para opciones de verde no basadas en clorofila, DDW ofrece mezclas tales como verde palta o verde menta. Estos colores funcionan bien en aplicaciones como

---

heladas de crema, mezcla seca de bebidas, dulces, yogurt y glaseadas.

Para el mercado americano, donde la clorofila es solo permitida en mezclas de bebidas secas con sabor a cítricos, la empresa ofrece espinaca en formato oleorresina. Este es un ingrediente saborizante natural que secundariamente imparte un color verde a los alimentos. Está disponible en formato líquido y debiera ser etiquetado como "sabor espinaca".

#### **2.3.4.6 Döhler, Alemania**

Empresa de origen alemán, [www.doehler.com](http://www.doehler.com), enfocada en la producción de ingredientes naturales, mezclas o *premixes* y soluciones integrales, con ventas anuales por US\$ 1.500 millones.

Dohler tiene presencia en más de 130 países y posee 23 centros de producción integrados desde la producción agrícola a la distribución de sus productos con oficinas de venta en más de 50 países. La oficina de Brasil se encarga de Chile, y además tienen como representante a IANSA Ingredientes S.A.

Ofrece una amplia gama de soluciones en base a las necesidades de sus clientes: concentrados que aportan color, emulsiones de colores, colores naturales incluyendo clorofila, aunque no entrega mayores especificaciones del producto<sup>18</sup>.

#### **2.3.4.7 Dupont, EEUU**

DuPont Nutrition & Health, [www.dupontnutritionandhealth.com](http://www.dupontnutritionandhealth.com), es parte de la transnacional de EE.UU. Dupont y se encarga de la formulación y venta de colores con soluciones a pedido con ingresos anuales por US\$ 4.400 millones en 2017.

Dupont se declara el mayor productor mundial de clorofila pero no quiere relevar detalles de su supremacía.<sup>19</sup> La empresa ofrece clorofila (E140) y clorofilina cúprica (E141), producida a partir de pasto y alfalfa, la cual es obtenida en el Reino Unido y procesada en su planta en Dinamarca.

---

<sup>18</sup> Más detalles en: <https://www.doehler.com/en/our-portfolio/natural-ingredients/natural-colours.html>

<sup>19</sup> Conversación telefónica con Gonzalo Viollier, representante de Dupont en Chile, 22 de marzo de 2019. El ejecutivo se excusó de profundizar el tema, señalando que está sujeto a un compromiso de confidencialidad con su empresa.

### 2.3.4.8 EPC Natural Products Co., China

EPC Natural Products Co. es una empresa china con sede en Beijing y sucursal I+D en Europa para atender este mercado.

Señala que las variedades de tonos verdes desde solo alfalfa son más bien limitadas y que es casi imposible extraer clorofilina cúprica de sodio de alta pureza desde hojas de alfalfa. La clorofilina cúprica de sodio extraída de los excrementos del gusano de seda, que se usa en la industria alimentaria, es un secreto conocido desde hace muchos años. Además, este producto es inestable a pH bajos (menos de 4), encontrados típicamente en bebidas carbonatadas y jugos de frutas. La Tabla 10 muestra detalles de los productos que ofrecen.

**Tabla 10. Características clorofila ofrecida por EPC Natural Products, China**

Producto	Características	Aplicaciones
Verde brillante CD Sodium Copper Chlorophyllin F	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Forma de polvo</li> <li>• Soluble en aceite</li> <li>• pH recomendado entre 2,5 – 8</li> <li>• Alta estabilidad térmica sobre 200° en horneado</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Horneado, bebidas instantáneas, comida preparada, confitería, helados, lácteos, carne procesada, revestimientos</li> </ul>
Verde brillante Sodium Copper Chlorophyllin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Forma líquida, polvo y cristal</li> <li>• Soluble en agua</li> <li>• pH recomendado entre 5,5 – 8</li> <li>• Residuos solventes totales &lt; 50 ppm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bebidas, confitería, helados, lácteos, etc.</li> </ul>

Fuente: <http://www.epcolor.com/Item/list.asp?id=1479>

La experiencia de la empresa señala que sus científicos de alimentos intentaron usar una solución de emulsión para preparar un color verde ácido estable por la clorofilina sódica de cobre, pero su estabilidad les pareció dudosa y no les satisfizo la turbiedad de la solución. Un verde brillante ácido estable es altamente demandado por la industria de bebidas.

El mercado está sediento por un verde nutricional alternativo con más tonos brillantes y a menor costo. Los gránulos de espinaca y té verde son alternativas posibles, pero ambos son débiles en la estabilidad al calor y crean manchas

durante el horneado.

Una alternativa que han desarrollado es el polvo superfino verde de espirulina, rico en proteínas, excelentes propiedades dispersantes y a un costo abordable.

#### **2.3.4.9 Fiorio Colori, Italia**

Empresa italiana, miembro del grupo Aromata, [www.fioriocolori.com](http://www.fioriocolori.com), enfocada en la fabricación de colores naturales para la industria de alimentos y sintéticos para uso industrial.

En el caso de la clorofila, obtenida a partir de espinaca y ortiga, ofrecen: Clorofila Mg E140 (i) y Clorofilina Mg E140(ii), Clorofila cúprica E141(i) y Clorofilina cúprica E141(ii).

#### **2.3.4.10 Food Ingredients Solutions, Estados Unidos**

Empresa de EE.UU., [www.foodcolor.com](http://www.foodcolor.com), con una administración familiar con ventas anuales en torno a los US\$ 20 millones y más de 40 años en el mercado, ofreciendo una amplia gama de colores y preparaciones de color natural, así como productos sintéticos para las industrias de alimentos, medicamentos y cosméticos. En general compran las materias primas para formular sus colores. Es decir, concentrados y extractos, por ejemplo, de zanahoria morada o clorofila.

Ofrecen clorofila y clorofilina obtenida desde pasto y alfalfa, en forma líquida, en polvo o pasta, soluble en aceite y dispersable en agua.

#### **2.3.4.11 Imbarex, Perú**

Empresa líder en la producción de colorantes naturales en Perú, con operaciones desde el 2000. En su sitio web indican que exportan sus productos a más de 50 países para las industrias de alimentos, cosméticos, farmacéuticos, etc. Para sus procesos cuenta con certificación HACCP y certificación Halal.

Imbarex indica en su sitio web que la clorofila es extraída desde alfalfa, pasto o espinaca, en forma líquida, polvo y suspensión en aceite, con las siguientes especificaciones que se muestran en la Tabla 11.

**Tabla 11. Características clorofila ofrecida por Imbarex, Perú**

Producto	Característica	Estabilidad	Solubilidad	Aplicaciones	Almacenaje
En polvo	<ul style="list-style-type: none"> <li>Polvo verde oscuro.</li> <li>Proporciona un color verde.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Contenido de clorofila: <math>\leq 90\%</math></li> <li>estabilidad a la luz y T°: Buena</li> <li>pH: 3,5 - 8</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Soluble en agua</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bebidas</li> <li>Dulces</li> <li>Sazonadores</li> <li>Dulces</li> <li>Lácteos</li> <li>Panificación</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vida Útil: 6 meses</li> <li>Almacenar en zona fresca (15°C - 25°C), seca y ventilada, en un contenedor apropiado, sellado o cerrado.</li> </ul>
Líquida	<ul style="list-style-type: none"> <li>Líquido verde oscuro producido de clorofila, emulsificantes y agua.</li> <li>Proporciona un color verde.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Contenido de clorofila: <math>\leq 10\%</math></li> <li>estabilidad a la luz y T°: Buena</li> <li>pH: 3,5 - 8</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Soluble en agua</li> </ul>		
Suspensión en aceite	<ul style="list-style-type: none"> <li>Líquido viscoso verde oscuro obtenido de la Clorofila y suspendido en aceite vegetal y emulsificantes. Proporciona un color verde.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Contenido de clorofila: <math>\leq 15\%</math></li> <li>estabilidad a la luz y temperatura: Buena</li> <li>pH: 3,5 - 8</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dispersable en aceite</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dulces</li> <li>Sazonadores</li> <li>Dulces</li> <li>Lácteos</li> <li>Panificación</li> </ul>	

Fuente: <https://www.imbarex.com/es/colores-naturales/#clorofila>**2.3.4.12 Ingredientes Vinayak Pvt. Ltd, India**

Ingredientes Vinayak Pvt. Ltd., [www.vinayakcorporation.com](http://www.vinayakcorporation.com), se estableció en 1977 como uno de los primeros productores de mentol en la India, y más tarde ingresó al mercado de colorantes y agentes aromatizantes, y finalmente a los alimentos para la industria animal.

Bajo la marca EcoCol ofrece los siguientes productos en base a clorofila:

- Clorofila E 141 (i), complejo cúprico de clorofila la cual es obtenida desde pasto, alfalfa y ortiga y es soluble en aceite.
- Clorofila E 141 (ii), complejo cúprico de clorofilina, obtenidas por hidrólisis alcalina de E 140 (i) la cual es soluble en agua.

### 2.3.4.13 Kancor Ingredients Limited, India

Empresa de origen indio, que produce extractos de especias desde 1857. Tiene un JC con V Mane Fils de Francia, una de las principales compañías del mundo en sabores y fragancias, y completamente integrada desde el abastecimiento de materias primas, extracción, investigación, formulación, testeo y despacho final.

Produce extractos de clorofila a partir de Alfalfa (*Medicago sativa*) y destaca que se diferencia completamente de muchos otros fabricantes que extraen el producto de las hojas de morera, asociado con procesos de fabricación antihigiénicos por el uso de la materia fecal proveniente del gusano de seda.

Ofrecen la serie Esmeralda que contiene solo clorofila y la serie Citrina que es una mezcla de clorofila, espirulina y cúrcuma, con las especificaciones que se muestran en la Tabla 12.

**Tabla 12. Características clorofila ofrecida por Kancor Ingredients, India**

Código producto	Formato	Solubilidad	Estabilidad			Dosis
			pH	Calor	Luz	
<b>Series Esmeralda (contiene clorofila)</b>						
MC101	L	SO / DA	7 a 8,5	Normal	Normal	0,01 a 0,2%
CE102	L	SO / DA	2 a 8,5	Buena	Buena	0,01 a 0,2%
CC103	L	SO / DA	2 a 8,5	Buena	Buena	0,01 a 0,2%
CS104	L / P	SA	4 a 8,5	Buena	Buena	0,001 a 0,01%
<b>Series Citrina (contiene una mezcla de clorofila, Espirulina / Curcumina)</b>						
CT102	L	SA	2 a 8	Buena	Buena	0,01 a 0,2%
ST104	L	SA	2,5 a 8	Buena	Buena	0,01 a 0,2%
ST105	P	SA	4 a 8	Buena	Buena	0,01 a 0,3%
ST108	L	SA	2,5 a 8	Buena	Normal	0,01 a 0,2%

Notas:

- SA: soluble en agua; SO: soluble en aceite; DA: dispersable en agua
- L: líquido; P: polvo

Fuente: folleto Kancor – Mane, C-Capture "Colours True to Nature", [www.kancor.com](http://www.kancor.com)

Cabe señalar que la empresa indica que todos los productos pueden aplicarse en bebidas, cereales, quesos, lácteos, sazónadores, salsas, sopas, confiterías, horneados y revestimientos, excepto las series Esmeralda MC101, CE102 y CC103, más la serie Citrina ST105, que no pueden aplicarse en bebidas.

### 2.3.4.14 Merck Group, Alemania

Merck, [www.merckgroup.com](http://www.merckgroup.com), es una compañía alemana dedicada a la ciencia y tecnología enfocada a 3 áreas de negocios: salud, ciencias de la vida y materiales de rendimiento. Con una larga trayectoria y 52 mil empleados en 66 países, tiene ventas por 15,3 billones de euros en 2017.

La empresa fabrica diferentes productos de laboratorio para análisis de referencia o manufactura de otras sustancias bajo la marca estadounidense Sigma-Aldrich, adquirida en 2015 por Merck, como se muestran en la Tabla 13.

**Tabla 13. Características productos a base de clorofila ofrecidos por Merck, Alemania**

Tipo	Tamaño envase	Precio, \$
<b>Clorofila a: C<sub>55</sub>H<sub>72</sub>MgN<sub>4</sub>O<sub>5</sub></b>		
desde espinaca	1 mg	244.000
Desde <i>Anacystis nidulans algae</i>	1 mg	283.000
Estándar analítico	1mg	268.000
<b>Clorofila b: C<sub>55</sub>H<sub>70</sub>MgN<sub>4</sub>O<sub>6</sub></b>		
Estándar analítico	1 mg	218.000
Desde espinaca, ≥ 90% (HPLC), ≤0.5% Clorofila a	1 mg	241.000
Desde espinaca, ~95% (HPLC)		
<b>Clorofilina cúprica de sodio: C<sub>34</sub>H<sub>31</sub>CuN<sub>4</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>6</sub></b>		
Grado comercial	5 g	42.000
Norma secundaria farmacéutica; Material de referencia certificado	1 g	94.000
<b>Clorofila en agua – soluble en agua</b>		
Material de prueba de aptitud	1,2 ML	127.000

Fuente: [www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)

### 2.3.4.15 Naturex, Francia

Esta empresa, con oficinas centrales en Francia y más de 25 años de experiencia en el mercado de colores y antioxidantes naturales, tiene ventas anuales en torno a 500 millones de euros. Cuenta con 1.700 empleados en tres unidades: alimentos y bebidas, que incluye colores (53% de las ventas); nutrición y salud, y cuidado personal, y presencia en 80 países con 15 sitios industriales donde procesa más

---

de 500 plantas naturales (en Chile procesan quillay en una planta en Linares).

Ofrecen una amplia gama de colores bajo la marca NAT Color™, a partir de achiote, betacaroteno, betarraga, camote, carmín de cochinilla, clorofila, cúrcuma, espirulina, naranja, paprika, rábano, tomate, zanahoria morada, uva, entre otros<sup>20</sup>.

En el caso de la clorofila, ofrecen un producto (estabilidad a la luz y al calor media, pH 3,5 – 8) para aplicaciones en horneados, confitería, lácteos y snacks, así como clorofilina de cobre (estabilidad a la luz y al calor alta, pH 3,2 – 8) para las mismas aplicaciones anteriores y adicionalmente bebidas.

Sin embargo, también ofrecen extracto de espirulina azul (alga conteniendo phycocyanin) como una alternativa a la clorofilina de cobre, que en opinión de la empresa no es considerada completamente natural.

#### **2.3.4.16 Roha, India**

La empresa Roha, [www.roha.com](http://www.roha.com), con fábrica en el distrito de Maharashtra, India y sedes en otros 15 países, ofrece toda la gama de clorofilas existentes bajo el genérico E140.

Favorece el pigmento de clorofilina cúprica porque da un color verde brillante muy estable frente a la luz y el calor y minimiza las virtudes de las otras clorofilinas por su color verde oliva y su escasa estabilidad en ambas condiciones.

#### **2.3.4.17 Sensient, Estados Unidos**

Empresa de origen americano, <https://sensientfoodcolors.com>, fundada en 1882. Desarrolla y comercializa colores, sabores y fragancias sintéticas y naturales a nivel global en más de 150 naciones. Sus ingresos anuales superan los US\$ 1.400 millones.

Si bien la empresa ofrece clorofila para los tonos verdes, señala en sus catálogos lo que ya es evidente: que el compuesto no es muy estable sin la adición del ion metálico. De este modo se dejan ver las aprehensiones de Sensient respecto de

---

<sup>20</sup> Más detalles en <http://www.naturex.com/BUSINESS-UNITS/Food-Beverage#Natural-colors>

---

este compuesto que si bien se autoriza en la UE, su uso en Estados Unidos es muy limitado. También se hace eco de los cuestionamientos de las clorofilinas por su origen parcialmente artificial.

Como una alternativa, Sensient ofrece la combinación de cúrcuma y su propia fórmula de azul natural que produce un verde brillante y muy limpio para un producto con sabor a lima clave. Alternativamente, achiote y beta se pueden combinar con azul para producir un verde más profundo. Este azul puede sobrevivir a procesos de alto calor como el procesamiento UHT o HTST y es bastante estable en aplicaciones de alta actividad de agua<sup>21</sup>.

#### **2.3.4.18 Shandong Guangtongbao Pharmaceuticals Co., China**

Shandong Guangtongbao Pharmaceuticals Co., [www.gtb-pharm.cn](http://www.gtb-pharm.cn), informa que comenzó a investigar sobre los productos de la serie de clorofila de los años 70 a partir de extractos de hojas de morera. Después de casi cuarenta años de esfuerzos, han desarrollado varias series, entre ellas pasta de clorofila (C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>), clorofila soluble en aceite, clorofilina sódica de cobre, clorofilina sódica de magnesio, clorofilina ferrosa sódica, clorofilina sódica de zinc.

#### **2.3.4.19 Shandong S-Sun Biotech, China**

Shandong S-Sun Biotech o Shandong Hanxing Biotech Co. es una empresa china fue fundada por Weifang Hengyuan Silk Limited en 2010 con una inversión de 80 millones de yuanes (US\$ 12 millones aproximadamente) y su foco es la producción de diversos extractos de plantas naturales, pigmentos naturales y polvos elaborados a partir de frutas y verduras. Informa producción para la serie de productos de clorofila: clorofilina cúprica de sodio, clorofilina magnesio sodio, clorofilina ferrosa de sodio y clorofila de cobre en pasta. Más detalles en [http://www.s-sunbio.com/products\\_list.html](http://www.s-sunbio.com/products_list.html).

En conversación por correo electrónico con el Sr. Harvey Cui, Gerente de Ventas

---

<sup>21</sup> Fuente: <https://sensientfoodcolors.com/en-la/dairy/natural-blue-and-green-color-strategies-for-dairy/>

Regionales informó lo siguiente para sus productos principales (Tabla 14)<sup>22</sup>:

**Tabla 14. Características clorofila ofrecida por Shandong S-Sun, China**

Producto	Número E	Fórmula	Composición	Precio FOB Qingdao (China)
clorofilina cúprica de sodio	E141(ii)	Disodium copper chlorophyllin $C_{34}H_{30}O_5N_4CuNa_2$ Trisodium copper chlorophyllin $C_{34}H_{30}O_5N_4CuNa_3$	97% clorofilina; 3% agua	US\$ 108/kg
Clorofila soluble en aceite	E141 (i)	Copper chlorophyll a $C_{55}H_{72}O_5N_4Cu$ Copper chlorophyll b $C_{55}H_{72}O_6N_4Cu$	95% clorofila; 5% agua	US\$ 41,8/kg

En ambos casos, la cantidad mínima a solicitar es de 5 kg. Más detalles de los productos en las fichas técnicas que se adjunta en el Anexo III.

<sup>22</sup> Harvey Cui (Mr.), Regional Sales Manager, Mob: +86 18363622060; Tell: 86-536 8832209, Email: [harvey@s-sunbio.com](mailto:harvey@s-sunbio.com), Shandong Hanxing Biotech Co.,Ltd - Shandong S-SUN Biotechnology Co.,Ltd, Web: [www.chinachlorophyll.com](http://www.chinachlorophyll.com), NO.46 Shunhe Road ,Honghe, Changle, Weifang , Shandong, China P. C. 262400

### 2.3.4.20 Sun Food Tech, India

Sun Food Tech, [www.sunfoodcolor.com](http://www.sunfoodcolor.com), se declara como una de las compañías indias líderes en la producción y exportación de colores para aplicaciones farmacéuticas, alimentos y cosméticos con una trayectoria de más de 40 años, que ofrece clorofila líquida con las siguientes especificaciones (Tabla 15):

**Tabla 15. Características clorofila ofrecida por Sun Food Tech, India**

<b>Chlorophlly Green Colour Oil Soluble</b>	
E No.	E-141
Form	Liquid
Appearance	Light to Dark Green depending on food products & Quantity Used
Consistency	Free flowing Liq
Specific Gravity	0.91 to 0.92
Colour Value	OD 630 nm 0.24
Dilution	1: 1000 in Amyl Acetate
Copper	10 ppm
Heavy Metal	1 ppm
Arsenic	1 ppm
Lead	1 ppm
Methyl – Imidazole	Nil
Storage	Protect from exposure to air, light & heat. Don't freeze.
Packing	1 / 5 /25 Kgs in natural/blue jerry canes
Shelf Life	6 months from date of manufacturing
Application	Soaps & Cosmetics, Confectionery, Ice cream, Jellies, Instant food etc.

Fuente: <https://www.sunfoodcolor.com/product/natural-food-colors>

### 2.3.4.21 Watson Inc. Estados Unidos

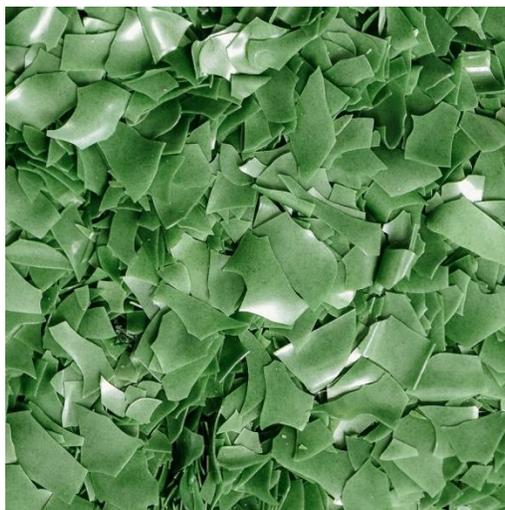
Watson Inc, [www.watson-inc.com](http://www.watson-inc.com), fundada en 1939 en EE.UU., es hoy unos de los principales proveedores de productos y servicios orientados a mejorar la salud humana y la nutrición en todo el mundo, según indican en su sitio web y catálogos.

La empresa se declara líder en el desarrollo de productos de calidad y sistemas de ingredientes para las industrias de alimentos y suplementos, con una amplia

---

experiencia en micro-encapsulación, aglomeración, micronización, secado por aspersión y tecnología de película nos permite desarrollar formulaciones y productos únicos utilizando ingredientes de valor agregado fabricados por Watson.

A diferencia del resto de empresas, Watson fabrica un brillo comestible de clorofila insoluble (ver Figura 2), en forma de escamas, tamaño 8 mallas bajo el código F290342, el cual se utiliza para decorar alimentos en los colores ricos y brillantes.



**Figura 2. Brillo comestible de clorofila insoluble producido por Watson Inc.**

#### **2.3.4.22 Zhejiang HaiNing FengMing Chlorophyll, China**

Zhejiang HaiNing, <http://www.chlorophyll-cn.com>, es una empresa privada china establecida en 1976 en la ciudad de Haining, provincia de Zhejiang, cerca de Shanghai.

La empresa informa venta por más US\$ 2,5 millones anuales, con un 80% destinado a exportaciones, donde destacan los siguientes productos a base de clorofila: clorofilina cúprica de sodio (en polvo), clorofilina Mg o Fe de sodio (polvo o cristal) y clorofila (pasta y soluble en aceite) con las siguientes especificaciones (Tablas 16 y 17).

#### **Tabla 16. Características clorofila ofrecida por Zhejiang HaiNing, China**

Tipo de clorofila	En pasta	Soluble en aceite
Contenido, %	≥ 10	$E_{1cm}^{1\%} 405nm$ ≥ 60 (o de acuerdo a los requerimientos del cliente)
tasa de extinción específica (E405nm / E630nm)	≤ 3,7	≤ 4,0
Pérdida en secado, %	≤ 30	≤ 5,0
Arsénico, %		≤ 0,0002
Plomo, %		≤ 0,0005
Formato	Pasta de color verde y negro.	Verde oscuro
Especificaciones	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Insoluble en agua</li> <li>• Fácilmente soluble en éter etílico, benceno, aceite blanco y otros disolventes orgánicos; sin sedimento</li> </ul>	

Fuente: <http://www.chlorophyll-cn.com/products-e/Oil-Soluble-Chlorophyll.htm>

Tabla 17. Características clorofilina ofrecida por Zhejiang HaiNing, China

Parámetro	Valor		
	Clorofilina cúprica de sodio	Clorofilina Fe sodio	Clorofilina Mg sodio
$E_{1cm}^{1\%} 405nm$	≥ 568	≥ 400	≥ 565
Extinction ratio	3.2-4.0	6.50-9.50	4.0-6.0
pH	9.0-10.7	9.50-11.00	9.0-10.7
Plomo	≤ 0.0005%	≤ 0.0010	≤ 0.0005
Arsénico	≤ 0.0002%	≤ 0.0002	≤ 0.0002
Residuo en ignición	≤ 36.0%		
Pérdidas en secado	≤ 4.0%	≤ 5.0 %	≤ 4.0 %
Cobre total	4.0-6.0%		
Cobre libre	≤ 0.025%		
Total Mg, %			3.0-5.0
Hierro total		≥ 2.0	
Cenizas sulfato, %		≤ 33.0	≤ 36.0
Estándar de calidad	GB3262 – 82 (Or according to USP standard)	Enterprise Standard	
Especificaciones	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Polvo verde oscuro</li> <li>• Fácilmente soluble en agua, ligeramente soluble en alcohol y cloroformo</li> <li>• Solución de agua: verde jade transparente, sin sedimentos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Polvo o cristal verde oscuro</li> <li>• Fácilmente soluble en agua, ligeramente soluble en alcohol y cloroformo</li> <li>• Insoluble en éter etílico.</li> <li>• Solución acuosa: transparente, sin sedimentos.</li> </ul>	

Fuente: <http://www.chlorophyll-cn.com/products-e/Oil-Soluble-Chlorophyll.htm>

## 2.4 Análisis del comercio nacional – producción local e importaciones

A nivel local, luego de una revisión de sitios web para buscar empresas productoras y comercializadoras de extractos de clorofila, solo se logró identificar la siguiente información:

### 2.4.1 Importaciones

A nivel de importaciones, la glosa 32030090 agrupa a todos los colorantes naturales, incluyendo a la clorofila, cuyo comercio ha sido escaso en los últimos años, como se aprecia en la Tabla 18, considerando que en el año 2017 las importaciones de colorantes naturales alcanzaron un valor de US\$ 23.114.656 con un volumen de 371.347 kilogramos, mientras que se registró solo una importación de clorofila desde China por 7 kg a un valor FOB de 43 US\$/kg, el cual está casi en el mismo rango del valor cotizado por la misma empresa a esta consultora en marzo 2019.

**Tabla 18. Embarques de clorofila en el período 2017 - 2018**

					Precios				
					Volumen	Total, US\$		Unitario, US\$/kg	
Nombre importador	Tipo de Clorofila	Año	Origen	Proveedor	kg	CIF	FOB	CIF	FOB
ALIMENTOS KNOP	DE COBRE - aditivo	2018	China	SHANDONG-F	7	341	301	48,7	43,0
sin información	COLOROFILA	2017	Dinamarca	CHR HANSEN	5	259	230	51,8	46,0
EUROFARMA CHILE	AL 15% GRADO TECNICO FARMA	2017	Alemania	REPCA	15	4.470	4.170	298	278

Fuente: elaboración propia usando datos aduanas desde el portal [www.idsnegocios.cl](http://www.idsnegocios.cl)

### 2.4.2 Oferta local de productos con propiedades nutricionales

La Tabla 19 entre un listado de 4 empresas ofreciendo clorofila con fines nutricionales y que podrían ser potenciales clientes de este emprendimiento.

Es importante señalar dos aspectos a tener en consideración para el trabajo futuro de este emprendimiento local:

- El Sr. Pablo Reyes, quien se identificó como dueño de Armonisencia, señaló en una conversación telefónica que el usaba hoja de morera en polvo importada desde China, a un valor de \$ 12.000 por kilo (US\$ 17 por kilo aprox.), con lo cual sería muy difícil desarrollar un emprendimiento en Chile.

- La prohibición del Instituto de Salud Pública (ISP) en Chile para comercializar cúrcuma en polvo, envasada en cápsulas de gelatina, ya que bajo este formato es considerado un fármaco, y debe cumplir las normas legales asociadas<sup>23</sup>. En la misma nota, Carolina Lobos, jefa de fiscalización del ISP señala que "la cúrcuma como ingrediente vegetal si se puede vender y utilizar como condimento para alimentos y bebidas, pero, si se presenta en un formato farmacéutico y con una finalidad farmacéutica, no se puede distribuir en Chile, a no ser de que se acrediten las propiedades terapéuticas que se le atribuyen".

**Tabla 19. Oferta local de productos conteniendo clorofila**

<b>Empresa</b>	<b>Observaciones</b>
<b>Verde Vivo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Emprendimiento ubicado en Santiago, que vende bebidas producidas en base a pasto de trigo conteniendo clorofila.</li> <li>• Los 30 <i>shots</i>, con despachos a domicilio en Santiago, tienen un costo de \$ 25.000 pesos chilenos.</li> <li>• Ofreciendo a través de sitioweb <a href="http://www.verdevivo.cl">www.verdevivo.cl</a> y <a href="http://broteschile.cl/">http://broteschile.cl/</a></li> </ul>
<b>Armonisencia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Emprendimiento local que ofrece clorofila líquida en formato 250 ml (\$ 7 mil y 12.900 pesos) y con puntos de ventas en casi todo el país</li> <li>• Recomienda consumir 10 ml al día (1 cucharada al día) diluida en 1 vaso de agua de 200 ml aprox.</li> <li>• Indican que la clorofila líquida es 100% natural y orgánica no contiene excipientes, colorantes, sal, azúcar, preservantes, ni aditivos.</li> <li>• Sitio web: <a href="http://www.armonisencia.cl">www.armonisencia.cl</a></li> </ul>
<b>Laboratorio Ravepharma</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Compañía que inició sus actividades el 2006, especializándose en la investigación, desarrollo y producción de su línea ANC (American Nutrition Company).</li> <li>• Ofrecen clorofila en capsulas blandas en formato de 30 y 60 unidades (Complejo de clorofila cúprica sódica, excipientes c.s.p): 30 unidades por \$ 6.250 en Pronamed, <a href="http://www.pronamed.cl">www.pronamed.cl</a>: 1 Porción: 2 cápsulas (0.818 g., dosis al día)</li> <li>• Puntos de venta a lo largo del país. <a href="https://www.ancnatural.cl">https://www.ancnatural.cl</a></li> </ul>
<b>Garden Life</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Indican que sus productos se elaboran en el sur de Chile.</li> <li>• Clorofila 90 Cápsulas 550 Mg (\$ 8.000 pesos)</li> </ul>

<sup>23</sup> Fuente: Emol.com - <https://www.emol.com/noticias/Tendencias/2019/05/25/949074/Gremio-de-comercializadores-de-suplementos-alimenticios-ALIMSA-insiste-en-que-la-curcuma-no-es-un-farmaco.html>

Informe Final

Asesoría "Estudio de Mercado a Nivel Internacional y Modelo de Negocios para Producción en Chile de Extractos de Clorofila"

En el marco del Proyecto FIA PYT-2018-0289: "Desarrollo de un Modelo Piloto de Producción de Extractos de Clorofila de Alto Valor Funcional usando Biomasa de Especies Forrajeras"

Versión al 10 de Junio de 2019

---

	<ul style="list-style-type: none"><li>• Clorofila Liquida 500 ML Premium (entre \$ 11 y 14 mil pesos)</li><li>• Productos disponibles en <a href="https://www.karunlife.cl">https://www.karunlife.cl</a></li></ul>
--	--

Fuente: Elaboración propia en base a información de cada empresa

---

## **2.5 Conclusiones Estudio de Mercado y Propuesta de Recomendaciones**

### **2.5.1 Un mercado mundial en crecimiento**

La creciente percepción del color natural como preludeo al sabor y la nutrición continuará impulsando el tamaño del mercado de los colorantes para alimentos en la próxima década. Se espera que el aumento de la demanda de colorantes naturales sobre los colores de base sintética sea motor del crecimiento de la industria en su totalidad.

Las buenas perspectivas para la aplicación de colores naturales en productos comestibles ofrecen un potencial de negocios nuevos para los fabricantes. El gran gancho es que los aditivos naturales permiten a los fabricantes certificar sus productos con una etiqueta limpia como es por lo general el caso de la clorofila. Así las empresas pueden enfrentar con mejores armas la demanda de los consumidores que cada día están tomando más decisiones informadas que en el pasado. Por ejemplo, según el grupo GNT, el 66% de los consumidores en todo el mundo comprueba la etiqueta y el contenido de los artículos comestibles antes de la compra.

Además de su uso como colorante natural, el consumo de clorofila está tomando fuerza en el cuidado personal, la cosmética y farmacéutica, lo cual es un buen escenario para el desarrollo de la producción de clorofila en Chile.

### **2.5.2 Un mercado poco transparente**

No es difícil darse cuenta que el mercado de las clorofilas es un mercado poco transparente. Son casi nulos los informes que entregan datos sólidos sobre las empresas, su producción o los totales mundiales. Acaso se deba a que es un mercado de nicho dando cuenta de solo un 4% del mercado mundial. Esta reducida participación de las clorofilas en la cartera de las empresas refleja un mercado más estrecho, cuyos espacios ganados es necesario proteger restringiendo la información a la competencia. Por otra parte, hace más fácil evitar la entrega de datos en informes, balances o entrevistas con la prensa y los reguladores, puesto que todos los ojos se concentran fundamentalmente en la parte principal de la torta.

---

Fuentes de la industria que en estudios anteriores habían intercambiado información sin dificultad con esta consultora se mostraron completamente cerrados para hablar del mercado de la clorofila arguyendo acuerdos de confidencialidad.

Por otra parte, los análisis de expertos aparecidos en publicaciones académicas como *Research Gate*<sup>24</sup>, no trepidan en afirmar que: "La actual producción anual de clorofilina es difícil de evaluar. Si bien se estima que son varios miles de toneladas en todo el mundo, se extiende a muchos países y en su mayoría incluye instalaciones de producción más pequeñas. La mayoría de los principales distribuidores en Internet indican una producción mensual individual de una a cinco toneladas..."

Las dificultades para traspasar el velo información sobre este mercado se extienden incluso a la importancia relativa que el mercado otorga a las empresas productoras. Así, los informes consultados no coinciden en el nombre de las principales empresas. Ver por ejemplo los rankings de Transparency Market Research y comparar con Supply and Demand Market Research cuyos links están en la sección de caracterización de empresas.

A pesar de lo anterior, se ha logrado que un proveedor chino entregue precios de referencia para Clorofila y Clorofilina de Cu, que bordean los 40 y 100 US\$/kg. aprox., y que son utilizados como materias primas para la industria de colorantes, farmacéutica y colorantes. Estos precios son consistentes con los valores de importaciones 2017 que se entregan en la sección de análisis del comercio nacional.

La nula transparencia juega en contra de las empresas nuevas que deberán invertir en marketing y equipo comercial para lograr entrar a este mercado de nicho y sostener su viabilidad con contactos, *know how* y experiencia comercial. En caso de prosperar el emprendimiento chileno debiera sustentarse en una dirección de ejecutivos con una experiencia probada en el sector, especialmente en el marketing del producto.

### **2.5.3 El carácter natural o sintético de la clorofila y las clorofilinas**

---

<sup>24</sup> [https://www.researchgate.net/publication/272413002\\_How\\_green\\_is\\_green\\_chemistry](https://www.researchgate.net/publication/272413002_How_green_is_green_chemistry)

---

En este informe se ha hablado largamente sobre las dificultades que debido a su escasa estabilidad y solubilidad enfrenta la clorofila para su producción. Todos los procesos de intervención para obtener los diferentes extractos de clorofila y que culminan con la modificación química en su núcleo le hace sufrir pérdidas en su carácter de producto plenamente natural que, en definitiva, es lo que el mercado consumidor está y seguirá buscando.

Por lo anterior la libertad entregada a la comercialización de las clorofilas en el mercado de la Unión Europea por la autoridad regulatoria está sujeta a dudas puesto que seguirán los intentos para revisar y seguramente modificar la reglamentación que hace posible la venta sin dificultades de este aditivo. De ser así, las restricciones se podrían ampliar a otros mercados en el mundo.

El tema de las clorofilinas es tan urgente en empresas como Sensient que en sus catálogos donde ofrecen clorofilina señalan lo que ya es evidente: que el compuesto no es muy estable sin la adición del ion metálico, justificándose así por la adición de cobre. De este modo dejan ver sus aprehensiones respecto de este compuesto.

Por estas razones los esfuerzos de un grupo de empresas encabezadas por Dupont que están trabajando con la autoridad sanitaria de EE.UU. para que apruebe el uso de clorofila y sus derivados en forma más amplia, pareciera no tener una respuesta favorable en el corto o mediano plazo.

Este es otro de los factores que incidirán en el destino del nuevo emprendimiento en tanto y cuanto los consumidores podrían ejercer presiones de modo tal que la legislación internacional termine reflejando el rechazo a las clorofilinas de cobre que son los productos clorofílicos de mayor demanda.

#### **2.5.4 El tema del gusano de seda y la producción asiática**

El artículo de *Food Navigator* citado anteriormente donde se revela que un 80% de las clorofilas consumidas por la industria de alimentos en EE.UU. proviene de las excretas del gusano de seda, sorprendiéndose del desconocimiento general que los estadounidenses tienen de este origen, hace que la pregunta surja en forma inmediata: ¿qué pasará cuando su proveniencia sea puesta en relevancia por otros medios de comunicación?

---

Desde ya, algunas empresas se están adelantando a esta situación, incluso empresas de la India como Kancor Ingredients en cuyos folletos se vanaglorian de producir clorofila solo con alfalfa:

*"Kancor es diferente de otros fabricantes de clorofila, porque no utilizamos hojas de morera. Estas hojas están asociadas con mala calidad y procesos de fabricación antihigiénicos. La fuente de clorofila de Kancor es una planta verde llamada alfalfa (Medicago sativa)".*

Fuente: <https://www.kancor.com/category/products/specialty-ingredients/c-capture/chlorophyll/>

El rechazo que expresa la industria -por los motivos que sean: ganarle a la competencia o por genuina preocupación por la higiene, por ejemplo-, tienen un precedente en la oposición de muchas empresas y usuarios finales al uso de la cochinilla, materia prima del color carmín (E120), que se obtiene moliendo un insecto de prevalencia extendida, sobre todo en Perú y de uso preferente por las empresas de colorantes a nivel mundial debido a sus excelentes resultados<sup>25</sup>.

Si fuera así y se avanzara paulatinamente a la restricción del uso del gusano de seda por presiones de las comunidades o de las investigaciones científicas, es indudable que se abriría un mercado enorme para los productores de clorofilas y por supuesto para la viabilidad del emprendimiento chileno sobre la base de pastos y otros similares.

Por cierto este escenario no es del agrado de los productores asiáticos y sobre todo de los chinos por su prevalencia en el mundo de las clorofilas a nivel mundial basados en el gusano de la morera...pero podría ocurrir para beneficio de la alfalfa y de otros pastos.

### **2.5.5 La competencia**

En comparación con las plantas tradicionalmente utilizadas para la producción de clorofila, las microalgas tienen varias ventajas debido a sus características de crecimiento. Las microalgas no requieren suelo fértil porque pueden usar nutrientes muy eficientemente en un medio de solo nutrientes esenciales, evitando de pasada la contaminación del agua debido a la limitada necesidad en el uso de

---

<sup>25</sup> Ver más detalles en [https://www.playgroundmag.net/food/E-120-colorante-natural-martiriza-vegetarianos\\_22656066.html](https://www.playgroundmag.net/food/E-120-colorante-natural-martiriza-vegetarianos_22656066.html)

---

fertilizantes. Además, algunas microalgas pueden crecer en agua salobre, agua salina o agua de mar, lo que puede ayudar a conservar los recursos limitados de agua dulce. Es de gran importancia también su concentración clorofílica superando de lejos lo encontrado en el mundo de las plantas tradicionales.

Sin embargo, el punto crítico de las algas no es su cultivo sino su concentración y posterior extracción de los componentes valiosos debido a la alta inversión y largos tiempos operacionales.

En este contexto, el cultivo in vitro o hidropónico de espirulina u otras algas es una opción viable en la que ya hay experiencias en Chile, aunque para la extracción de otros metabolitos.

Si bien los productores de espirulina hoy día no apuntan de preferencia al mercado de los colorantes, si no al de otras aplicaciones como la producción de biodiesel, ya se han inventado varios colores naturales usando esta alga verde-azul, y muchos más están por venir. La espirulina azul, un color natural producido a partir de la espirulina, recibió en EE.UU. la aprobación de la FDA en 2013, lo que abrió un segmento completamente nuevo para los productos de espirulina. El color azul natural y verde producido a partir de la espirulina tiene una gran demanda y ha sido testigo de un fuerte crecimiento del mercado en los últimos dos años. Muchas compañías importantes como GNT, DDW Inc., CHR Hansen y Sensient Technologies Corp. están produciendo Spirulina Blue, que aún busca más abastecimiento debido a la creciente demanda. DDW Inc. ha lanzado un innovador color azul hecho de espirulina con una estabilidad a la luz mejorada hasta en un 40%. Estas empresas ofrecen una alternativa de color verde para la industria de alimentos y bebidas, en base a una mezcla de espirulina y colores amarillos.

El emprendimiento chileno debiera mantenerse alerta sobre el desarrollo de las microalgas para ver como su desarrollo afecta el mercado y así tomar decisiones comerciales sensatas, así como de la oferta de colorantes verdes en base a espirulina.

### **2.5.6 Incipiente mercado nacional**

El mercado interno es extremadamente reducido, con un escaso nivel de importaciones de extractos en base a clorofila. Acaso la producción de clorofilas en casa podría aumentar en alguna medida su demanda pero de ningún modo

---

para justificar un emprendimiento industrial a no ser que sea parte de un proyecto que incluya la manufactura de otros extractos.

La otra condición es que los productos sean exportados como se está haciendo con éxito desde Perú, que ha desarrollado una industria local con una amplia oferta de colorantes y antioxidantes a partir del maíz morado, carmín de cochinilla (principal proveedor mundial), clorofila, cúrcuma, achiote (tercero en el mundo), entre otras materias primas e exportaciones anuales en torno a US\$ 100 millones. De hecho llamando la atención de los grandes conglomerados, como Sensient (EE.UU.), que hace unos años compró la división de colores de la peruana Globe Natural por una suma no revelada.

Sensient justificó la compra –que incluye la producción de clorofila-, diciendo que el 80% de los lanzamientos de alimentos a nivel mundial utilizan colores naturales o ingredientes alimentarios que se agregan para el color. GlobeNatural produce clorofila, además de cochinilla, achiote, cúrcuma y antocianinas de maíz morado.

Por lo mismo, se destaca que la empresa peruana Imbarex mencionada en la sección anterior también produce y exporta clorofila como parte de un amplio portafolio de colorantes.

En este sentido, el emprendimiento local deberá evaluar si se dedica exclusivamente a la producción de extractos de clorofila o amplía su portafolio de productos, como lo está haciendo el polo territorial de colorantes y antioxidantes en base a materias primas como la zanahoria morada, camote, papa morada y calafate.

### **2.5.7 Buscando el espacio en la cadena de valor para la futura producción nacional**

Como se ha mostrado anteriormente, los principales extractos de clorofila son la Clorofila de Mg (E140i) y Clorofilina de Mg (E140ii), de los cuales se obtienen Clorofila y Clorofilina de Cu, E141(i) y E141(ii) respectivamente. Siendo estos dos últimos, los productos más comercializados y ofrecidos por las empresas como materias primas para la industria de colorantes, farmacéutica y cosmética.

La multinacional Merck ofrece "standards" para realizar pruebas, ensayos de referencia o fabricar productos en laboratorio.

En este sentido, el emprendimiento local debiera enfocarse en producir extractos siguiendo las directrices de composición físico química de los dos mercados principales, la Unión Europea y EE.UU. para la industria de colorantes, farmacéutica y cosmética.

En el mercado de colorantes para alimentos y bebidas, segmento que lidera la demanda por extractos de clorofila, deberá competir con un grupo de grandes actores multinacionales como Sensient o CHR Hansen y ser proveedor de actores medianos como Food Ingredients Solutions, y agentes distribuidores en Chile o el extranjero, como la alemana Roeper GmbH.

Más adelante, la empresa podría generar extractos o formulaciones con mayor valor agregado para la industria farmacéutica o la cosmética, o ser un proveedor estratégico de Merck para sus productos de referencia a base de clorofila, considerando que hoy el país no cuenta con las inversiones, tecnologías, experiencia y red de distribución para fabricar fármacos o los productos de referencia que ofrece Merck

### **2.5.8 Factores de Productividad de Clorofila a partir del Cultivo de Alfalfa**

Respecto de factores de suelo se recomienda suelos francos y profundos, con buen drenaje, evitando suelos arcillosos o compactados. Manejo de riego evitando aniegos para limitar la aparición de patologías asociadas a exceso de humedad como las producidas por Phytophthora y otras.

Desde un punto de vista nutricional existen correlaciones positivas entre el contenido de clorofila y el de proteínas, y desde luego un adecuado nivel de nitrógeno es importante en el manejo. Se recomienda 300 unidades de nitrógeno por hectárea/año, en dosis parcializadas a partir del segundo corte. Aplicaciones después de cada corte.

Monitorear, además, mediante análisis de tejidos, especialmente los niveles de fósforo, potasio, zinc, manganeso, y magnesio. Estos elementos son fundamentales en procesos fisiológicos relacionados con la biosíntesis de clorofila.

Versión al 10 de Junio de 2019

---

Respecto del manejo productivo, se recomienda el empleo de plantas relativamente jóvenes, prefiriendo material genético que posea una amplia presencia de hojas multifoliadas y con entrenudos cortos.

Desde un punto de vista fitosanitario especial preocupación por control de áfidos y nematodos.

Se recomienda cosechar materia prima para abastecer el proceso de extracción de clorofila a partir del segundo corte para limitar la presencia de malezas contaminantes. En este último contexto es importante un adecuado plan de control de malezas, especialmente de gramíneas.

El proceso de cosecha debe ser coordinado con el laboratorio de extracción, respecto de cantidades, forma y condiciones de acopio y embalaje, en cuanto a manejo de temperatura, humedad y período o cantidad de tiempo de almacenaje para evitar alteraciones de post cosecha, considerando que habría una mayor eficiencia de extracción de clorofila a partir de material fresco por menor degradación fisiológica de ese material.

---

### **3. PROPUESTA DE MODELO DE NEGOCIOS**

#### **3.1 Análisis FODA**

El análisis FODA (Fortalezas, Oportunidades, Debilidades y Amenazas) para la producción y productos de extractos de clorofila en Chile se realizó usando como base las conclusiones y recomendaciones generadas en el estudio de mercado de esta asesoría y que se resumieron en la sección anterior.

##### **3.1.1 Fortalezas**

Las principales fortalezas serían:

- Imagen de Chile como potencia agroalimentaria, así como el posicionamiento del país a nivel internacional en la forma de hacer negocios, la perdurable estabilidad institucional del país y sus exitosas políticas micro y macroeconómicas.
- Chile cuenta con materia prima (alfalfa) de buena calidad para lograr una producción sustentable en el tiempo. Se estima que en Chile existen 60.000 ha de alfalfa, concentrándose el 70% de la superficie entre la Región de Valparaíso y la del Biobío.
- El país también cuenta con otras alternativas de materias primas como es la espinaca, con sobre 600 hectáreas, ubicadas principalmente en la Región Metropolitana (80%), regiones de Valparaíso y Coquimbo con un 10% y 7%, respectivamente.
- Las tendencias actuales de consumo coinciden con la producción de los extractos de clorofila, ya que son una fuente natural de propiedades saludables.
- El país cuenta con factores positivos para trazabilidad de materias primas, procesos productivos de seguridad de alimentos (22000: ISO / FSSC) y certificación de productos en segmentos específicos de mercado, como Halal y Kosher.

##### **3.1.2 Oportunidades**

Las principales oportunidades serían:

- Mercado en crecimiento a nivel mundial en los principales segmentos de consumo: colorantes naturales, farmacéutica y cosmética

Versión al 10 de Junio de 2019

---

- Creciente interés en reemplazar colorante verde sintético por colorante natural que ofrece la clorofila en ciertos productos del sector alimentos y bebidas.
- Mercado Kosher y Halal, que no consume productos con base animal (clorofila china a partir de excremento de gusano de seda)

### **3.1.3 Debilidades**

Las principales debilidades serían:

- Escasa experiencia productiva y comercial en Chile
- Mercado de consumo local todavía pequeño
- Producción no diversificada de colorantes (a diferencia de empresas peruanas como Imbarex y Sensient Perú – ex Globe Natural)

### **3.1.4 Amenazas**

Las principales amenazas serían:

- China, como principal mercado productor y consumidor
- Mercado poco transparente y con actores con gran poder de negociación e integrados en toda la cadena de valor (como las principales empresas productoras y comercializadoras de colorantes e ingredientes funcionales)
- Dudas desde la Comisión Europea sobre el carácter natural de la clorofilina de cobre, que podría restringir el acceso futuro al mercado europeo.
- Reducido uso aprobado en EE.UU. (solo clorofilina de cobre para mezclas de bebidas cítricas en base seca)
- La espirulina como alternativa para fabricar colorantes de tonos verdes en mezcla con tonos amarillos

---

## **3.2 Identificación de aspectos diferenciadores del producto**

A continuación se identifican aspectos diferenciadores del producto en base al análisis FODA que permitan conceptualizar el proyecto en esta etapa piloto:

### **3.2.1 Características físico-químicas de los extractos**

Como se ha mostrado anteriormente, los principales extractos de clorofila son la Clorofila de Mg (E140i) y Clorofilina de Mg (E140ii), de los cuales se obtienen Clorofila y Clorofilina de Cu, E141(i) y E141(ii) respectivamente. Siendo estos dos últimos, los productos más comercializados y ofrecidos por las empresas como materias primas para la industria de colorantes, farmacéutica y cosmética, principalmente en los mercados de la Unión Europea y EE.UU., por ende es necesario cumplir estas especificaciones físico – químicas para poder ofrecer a potenciales clientes.

Un tema central será el nivel de cobre libre en la clorofila y clorofilina de cobre, a no más de 200 ppm, así como los niveles de plomo, arsénico, mercurio, cadmio, según cada mercado a abordar.

Respecto a los solventes a utilizar en la etapa de saponización de la clorofilina de cobre, EE.UU. autoriza la acetona, etanol o hexano, mientras la UE adicionalmente autoriza la metil etil cetona, diclorometano, dióxido de carbono, metanol, y propan-2-ol.

### **3.2.2 Manejo productivo y trazabilidad**

Respecto al manejo productivo y la trazabilidad de buenas prácticas agrícolas se recomienda hacer énfasis en los siguientes aspectos:

- Empleo de plantas relativamente jóvenes, prefiriendo material genético que posea una amplia presencia de hojas multifoliadas y con entrenudos cortos.
- Manejo de riego evitando aniegos para limitar la aparición de patologías asociadas a exceso de humedad como las producidas por Phytophthora y otras.
- Especial preocupación por control de áfidos y nematodos, que permita un buen manejo fitosanitario
- Adecuado nivel de nitrógeno en el manejo nutricional. Se recomienda una dosis parcializada de 300 unidades de nitrógeno por hectárea/año, a partir del segundo corte.

- 
- Monitoreo de elementos fundamentales en procesos fisiológicos relacionados con la biosíntesis de la clorofila: fósforo, potasio, zinc, manganeso, magnesio, etc.
  - Cosecha de materia prima para abastecer el proceso de extracción de clorofila a partir del segundo corte, lo cual limitaría la presencia de malezas contaminantes, especialmente de gramíneas.
  - La cosecha debe ser coordinada con la etapa de extracción, respecto de cantidades, forma y condiciones de acopio y embalaje, en cuanto a manejo de temperatura, humedad y período o cantidad de tiempo de almacenaje para evitar alteraciones de post cosecha, considerando que habría una mayor eficiencia de extracción de clorofila a partir de material fresco por menor degradación fisiológica.

### **3.2.3 Certificaciones**

Entre las principales certificaciones que muestran las empresas que producen y comercializan extractos de clorofila y que deberían ser consideradas en el emprendimiento local a la hora de contratar una empresa que ofrezca el servicio de maquila de producción de extractos de clorofila serían:

- El Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) o HACCP
- ISO 22000
- Fundación Food Safety System Certification: FFSSC 22000
- Safe Quality Food (SQF) es gestionado por la SQFI (Instituto de Alimentos Seguros de Calidad).
- Sistema de seguridad de la calidad alimentaria (SQF)
- programa de certificación de buenas prácticas de fabricación (GMP)
- Certificación Hala
- Certificación Kosher
- Certificación de productos que no se han modificado genéticamente.

### **3.2.4 Competencia**

Siendo China el principal mercado productor de extractos de clorofila es importante estar alerta a esta oferta productiva, en términos de costos y materia prima.

Si bien en términos de costos podría no llegar a competirse con la oferta China (precios FOB de referencia para Clorofila y Clorofilina de Cu, que bordean los 40 y 100 US\$/kg. aprox., extractos utilizados como materias primas para la industria

---

de colorantes, farmacéutica y colorantes) se podría hacer diferencia en la materia prima utilizada como lo hace la empresa de India Kancor Ingredients, que indica en sus folletos que producen clorofila solo con alfalfa y no utilizan hojas de morera, que se asociarían con mala calidad y procesos de fabricación antihigiénicos. Una clara referencia a la oferta de China, aunque sin mencionarla.

También es importante que el emprendimiento chileno se mantuviera en alerta sobre el desarrollo del mercado de la espirulina y la oferta de colores verdes a partir de este compuesto natural en mezcla con colores amarillos.

### **3.2.5 Aspectos comerciales y de marketing**

Chile se ha posicionado en el concierto internacional como un país serio en la forma de hacer negocios, su estabilidad institucional y sus exitosas políticas micro y macroeconómicas, que se suman en aspectos fitosanitarios, seguridad alimentaria, un clima y tierras agrícolas favorables para el cultivo y producción de insumos para abastecer a la industria mundial de alimentos y bebidas.

La marca Chile debe estar presente en esta oferta, así como lo hace la productora europea "*British Chlorophyll Company Limited*", y que incluye el slogan "*naturally green*".

Estamos ante un mercado poco transparente y con actores con gran poder de negociación e integrados en toda la cadena de valor (como las principales empresas productoras y comercializadoras de colorantes e ingredientes funcionales) por lo tanto sino se desarrolla un equipo comercial que se despliegue por los principales mercados de consumo para presentar las bondades de los futuros extractos de clorofila chilena, y tener información científica que despeje las dudas de la Comisión Europea sobre el carácter natural de la clorofilina de cobre, y así evitar restringir el acceso futuro al mercado europeo, se debieran identificar agentes con los cuales desarrollar potentes alianzas comerciales para ofertar el producto del emprendimiento.

Respecto a la oferta de productos considerando los mercados internacionales, es importante tomar en consideración la experiencia peruana donde se ha desarrollado una industria local con una amplia oferta de colorantes y antioxidantes, con emprendimientos como Globe Natural (comprada hace unos años por la multinacional Sensient (EE.UU.), Imbarex o Promex.

En este sentido, el emprendimiento local deberá evaluar si se dedica exclusivamente a la producción de extractos de clorofila o amplía su portafolio de productos, como lo está haciendo el polo territorial de colorantes y antioxidantes en base a materias primas como la zanahoria morada, camote, papa morada y calafate. Un *Joint Venture* entre ambos emprendimientos podría ser un buen punto de partida para potenciar la marca chilena de "*colorantes y antioxidantes naturales*".

### 3.3 Propuesta Modelo de Negocios

En base a la información anterior, se propone un modelo de negocios utilizando el método Canvas para producción en Chile de extractos de clorofila a nivel piloto.

<b>Socios claves</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Productores de alfalfa</li> <li>• Empresa extractora, contratada para el servicio de maquila y que cuente con todas las certificaciones necesarias</li> <li>• Agentes nacionales e internacionales a cargo de marketing y comercialización de los productos</li> </ul>	<b>Actividades claves</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cultivo y cosecha de alfalfa (supervisión)</li> <li>• Producción de extractos de clorofila según especificaciones técnicas en los mercados de destino (servicio maquila)</li> <li>• Considerar que British Chlorophyll Co procesa 8.760 ton/año de alfalfa seca, entonces inicialmente se podría partir con un 5 o 10% de este valor: 400 a 800 ton/año, o menos. Crecimiento de 3% anual</li> </ul>	<b>Propuesta de valor</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Extractos de clorofila como materia prima en industria de alimentos y bebidas, farmacéutica y cosmética</li> <li>• Reemplazo de colorantes sintéticos por naturales.</li> <li>• Reemplazo de oferta china generada a partir de excremento de gusano de seda, principalmente en mercados Halal y Kosher.</li> <li>• Oferta confiable de un socio comercial líder en agroindustria como Chile</li> </ul>	<b>Relaciones con clientes</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• A través de las alianzas encargadas de comercializar los extractos de clorofila</li> <li>• Apoyo en el servicio post-venta para atender demandas de los clientes con alianzas comerciales</li> </ul>	<b>Segmentos de clientes</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Empresas que necesitan extractos de clorofila para la industria de alimentos, farmacéutica y cosmética.</li> <li>• Empresas locales (i.e. laboratorios) produciendo productos nutricionales</li> <li>• Grandes y medianas empresas de los principales mercados consumidores de la Unión Europea y EE.UU. y busquen materias primas.</li> </ul>
<b>Estructura de costos</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alfalfa(materia prima) y procesos de extracción (maquila)</li> </ul>		<b>Fuentes de ingresos</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ventas de extractos de Clorofila y Clorofilina de Cu</li> </ul>		

Informe Final

Asesoría "Estudio de Mercado a Nivel Internacional y Modelo de Negocios para Producción en Chile de Extractos de Clorofila"

En el marco del Proyecto FIA PYT-2018-0289: "Desarrollo de un Modelo Piloto de Producción de Extractos de Clorofila de Alto Valor Funcional usando Biomasa de Especies Forrajeras"

Versión al 10 de Junio de 2019

---

<ul style="list-style-type: none"><li>• Comercialización: campañas de marketing, comunicación, promoción</li><li>• Equipo técnico y comercial de apoyo para los ítems anteriores</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Considerar que mercado mundial está en torno a 80 ton/año, con precios de referencia en China de 40 y 100 US\$/kg. aprox., respectivamente.</li><li>• Se podría capturar inicialmente un 2% del mercado: 1,6 ton/año</li></ul>
--	--

Informe Final

Asesoría "Estudio de Mercado a Nivel Internacional y Modelo de Negocios para Producción en Chile de Extractos de Clorofila"

En el marco del Proyecto FIA PYT-2018-0289: "Desarrollo de un Modelo Piloto de Producción de Extractos de Clorofila de Alto Valor Funcional usando Biomasa de Especies Forrajeras"

Versión al 10 de Junio de 2019

---

## **ANEXOS**

### Anexo I. Ejemplo de productos comerciales para uso final conteniendo Clorofila

Producto / empresa	Descripción	Precio	Ingredientes	Formato
<b>Liquid Chlorophyll concentrate</b> <b>Grants of Australia</b> <a href="https://www.grantsofaustralia.com.au">https://www.grantsofaustralia.com.au</a>	Ayuda a aumentar la energía y mejorar el bienestar. La clorofila también proporciona oxígeno para las bacterias acidófilas en el intestino, fomentando la eliminación eficiente y ayuda a limpiar los tejidos del cuerpo de impurezas y toxinas. La clorofila, naturalmente, elimina el mal aliento y el olor corporal.	14,15 dólares australianos (500 ml)	Water, Copper Chlorophyllin Concentrate, Alfalfa Extract, Flavouring (Natural Spearmint Oil), Lactic Acid. Contains Sodium Ascorbate 3.3mg/mL and Ethanol 59µL/mL.  Not tested on animals. Gluten Free. Dairy Free. Vegan. Contains no genetically modified ingredients. Manufactured under GMP (Good Manufacturing Practices).	

<p><b>Chlorofresh</b> <b>Nautre's Way</b> www.naturesway.com/</p>	<p>Complejo de clorofila líquida utilizado como desodorante interno.</p> <p>Clorofila obtenida desde hojas de Mulberry blancas.</p> <p>También en formato "soft gels", Complejo concentrado de clorofila que reduce los olores del tracto digestivo.</p>	<p>12 US\$ americanos 473ML Líquido</p> <p>15 US\$ americanos (90 cápsulas)</p>	<p>Recommendation: Adults &amp; children age 12 and over: Take 2 Tablespoons 2 times daily. If odor is not controlled an additional dose may be taken, but exceed 6 Tablespoons per day. Children under age 12: Consult a healthcare professional before use. <b>Keep out of reach of children.</b></p> <p>Caution: Reduce the dosage if cramps or diarrhea occur. If symptoms persist stop use and consult a healthcare professional. If pregnant, nursing, or taking medications, consult a healthcare professional before use.</p> <p><b>Supplement Facts</b> Serving Size 2 Tablespoons Servings per Container 16</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Amount per Serving</th> <th>% DV</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Calories</td> <td>70</td> </tr> <tr> <td>Total Carbohydrate</td> <td>16 g 6%†</td> </tr> <tr> <td>Copper (from chlorophyllin)</td> <td>5 mg 556%</td> </tr> <tr> <td>Sodium</td> <td>10 mg &lt;1%</td> </tr> <tr> <td>Chlorophyll (chlorophyllin copper complex)</td> <td>132 mg **</td> </tr> </tbody> </table> <p>†Percent Daily Values (DV) are based on a 2,000 calorie diet. **Daily Value not established.</p> <p>Other ingredients: water, glycerin</p>	Amount per Serving	% DV	Calories	70	Total Carbohydrate	16 g 6%†	Copper (from chlorophyllin)	5 mg 556%	Sodium	10 mg <1%	Chlorophyll (chlorophyllin copper complex)	132 mg **	
Amount per Serving	% DV															
Calories	70															
Total Carbohydrate	16 g 6%†															
Copper (from chlorophyllin)	5 mg 556%															
Sodium	10 mg <1%															
Chlorophyll (chlorophyllin copper complex)	132 mg **															
<p><b>Producto / empresa</b></p>	<p><b>Descripción</b></p>	<p><b>Precio</b></p>	<p><b>Ingredientes</b></p>	<p><b>Formato</b></p>												

<p><b>Chlorophyll mask Cocokind</b>  <a href="http://www.cocokind.com">www.cocokind.com</a></p>	<p>Mascarilla de clorofila, que desintoxica, aumenta la tez y reduce la inflamación, densamente empacados con clorofila, espirulina orgánica, wheatgrass y chlorella proporcionan un ponche antioxidante que ayuda a aclarar, calmar y aclarar la piel.</p>	<p>US\$ 19 americanos          (2 oz, 60 g)</p>	<p>Organic spirulina powder, organic wheatgrass powder, organic chlorella powder, organic ylang ylang oil</p>	
<p><b>SWISSE CHLOROPHYLL SPEARMINT FLAVOUR SUPERFOOD LIQUID</b>  <a href="http://www.swisse.com">www.swisse.com</a></p>	<p>Swisse Chlorophyll es un súper alimento verde de sabor natural y sabor delicioso. Una fuente natural de antioxidantes, se puede disfrutar diariamente o como parte de un programa de desintoxicación saludable.</p> <p>1-3 cucharaditas (5-15 ml) por la mañana, preferiblemente antes de la comida.          Se puede diluir en agua o jugo. Agite bien antes de usar.</p>	<p>28,99 dólares australianos          (500 ml)</p>	<p>Purified Water, Glycerin, Chlorophyll Dry Extract (2%), Citric Acid Anhydrous, Malic Acid, Preservatives (Sodium Benzoate, Potassium Sorbate), Natural Flavour (Spearmint Oil), Sucralose.</p> <p>Suitable for vegetarians. Contains wheat and gluten.</p>	

Producto / empresa	Descripción	Precio	Ingredientes	Formato																																																																											
<b>Wheatgrass VerdeVivo</b> <a href="http://www.verdevivo.cl">www.verdevivo.cl</a> Extracto puro Congelado	100% Wheatgrass  Wheatgrass con Aloe vera	\$ 25.000 pesos chilenos (30 shots)  \$ 27.000 Pesos chilenos (30 shots)	Es un súper alimento, libre de gluten. El jugo de wheatgrass VerdeVivo es fuente de 90 minerales diferentes (como magnesio, calcio, potasio, azufre, flúor, silicio, zinc, manganeso), aminoácidos y es rico en vitaminas B, C, E y betacaroteno. Puede aportar una gran cantidad de enzimas, antioxidantes y hasta un 70% de clorofila.																																																																												
<b>Chlorella Active 100% Organico Aquasolar</b> <a href="http://www.ecotiendanatural.cl">www.ecotiendanatural.cl</a>  	La chlorella es una diminuta microalga unicelular de agua dulce. Su nombre en latín significa "pequeña verde" refiriéndose al contenido de Clorofila, que gracias a su excelente aporte de vitaminas y minerales, es considerada un superalimento para personas que quieren mantener su cuerpo limpio de toxinas e impurezas presentes en el día a día.	\$ 10.490 (180 tabletas, 500 mg)	<div style="background-color: #2e7d32; color: white; padding: 5px;"> <b>Información Nutricional</b> </div> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; font-size: 0.8em;"> <thead> <tr> <th></th> <th>100g</th> <th>1 Porción</th> <th>100g</th> <th>*</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Energía (Kcal)</td> <td>393</td> <td>11,8</td> <td>Vitamina A (mcg ER)</td> <td>27.500 103%</td> </tr> <tr> <td>Proteína (g)</td> <td>53,0</td> <td>1,6</td> <td>Vitamina B1 (mg)</td> <td>2,2 5%</td> </tr> <tr> <td>Grasa total (g)</td> <td>13,3</td> <td>0,4</td> <td>Vitamina B2 (mg)</td> <td>5,4 10%</td> </tr> <tr> <td>Saturadas (g)</td> <td>3,4</td> <td>0,1</td> <td>Vitamina B12 (mcg)</td> <td>35,0 105%</td> </tr> <tr> <td>Moninsaturadas (g)</td> <td>3,7</td> <td>0,1</td> <td>Hierro (mg)</td> <td>153 33%</td> </tr> <tr> <td>Polinsaturadas (g)</td> <td>5,1</td> <td>0,2</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Ácidos grasos Trans (g)</td> <td>0,0</td> <td>0,0</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Colesterol (mg)</td> <td>0,0</td> <td>0,0</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>H. de carbono disponibles (g)</td> <td>21,0</td> <td>0,6</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Azúcares totales (g)</td> <td>0,0</td> <td>0,0</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Sodio (mg)</td> <td>26</td> <td>0,8</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Potasio (mg)</td> <td>1.539</td> <td>46,2</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Betacaroteno (mg)</td> <td>165</td> <td>5,0</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Clorofila (mg)</td> <td>2.817</td> <td>84,5</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p style="font-size: 0.7em; margin-top: 5px;">* En relación a la dosis diaria recomendada (DDR)</p>		100g	1 Porción	100g	*	Energía (Kcal)	393	11,8	Vitamina A (mcg ER)	27.500 103%	Proteína (g)	53,0	1,6	Vitamina B1 (mg)	2,2 5%	Grasa total (g)	13,3	0,4	Vitamina B2 (mg)	5,4 10%	Saturadas (g)	3,4	0,1	Vitamina B12 (mcg)	35,0 105%	Moninsaturadas (g)	3,7	0,1	Hierro (mg)	153 33%	Polinsaturadas (g)	5,1	0,2			Ácidos grasos Trans (g)	0,0	0,0			Colesterol (mg)	0,0	0,0			H. de carbono disponibles (g)	21,0	0,6			Azúcares totales (g)	0,0	0,0			Sodio (mg)	26	0,8			Potasio (mg)	1.539	46,2			Betacaroteno (mg)	165	5,0			Clorofila (mg)	2.817	84,5			Porción: 6 tabletas (6g) Porciones por envase: 30  <b>Ingredientes:</b> Chlorella vulgaris Orgánica (100%)
	100g	1 Porción	100g	*																																																																											
Energía (Kcal)	393	11,8	Vitamina A (mcg ER)	27.500 103%																																																																											
Proteína (g)	53,0	1,6	Vitamina B1 (mg)	2,2 5%																																																																											
Grasa total (g)	13,3	0,4	Vitamina B2 (mg)	5,4 10%																																																																											
Saturadas (g)	3,4	0,1	Vitamina B12 (mcg)	35,0 105%																																																																											
Moninsaturadas (g)	3,7	0,1	Hierro (mg)	153 33%																																																																											
Polinsaturadas (g)	5,1	0,2																																																																													
Ácidos grasos Trans (g)	0,0	0,0																																																																													
Colesterol (mg)	0,0	0,0																																																																													
H. de carbono disponibles (g)	21,0	0,6																																																																													
Azúcares totales (g)	0,0	0,0																																																																													
Sodio (mg)	26	0,8																																																																													
Potasio (mg)	1.539	46,2																																																																													
Betacaroteno (mg)	165	5,0																																																																													
Clorofila (mg)	2.817	84,5																																																																													
<b>GNC SUPERFOODS TRIPLE CHLOROPHYLL</b> <a href="http://www.gnc.com">www.gnc.com</a>		US\$ 11,9 (90 softgels)	Chlorophyll Complex 60 mg per softgel Other Ingredients Soybean Oil, Gelatin, Glycerin, Titanium Dioxide (Natural Mineral Whitener)																																																																												

Informe Final

Asesoría "Estudio de Mercado a Nivel Internacional y Modelo de Negocios para Producción en Chile de Extractos de Clorofila"

En el marco del Proyecto FIA PYT-2018-0289: "Desarrollo de un Modelo Piloto de Producción de Extractos de Clorofila de Alto Valor Funcional usando Biomasa de Especies Forrajeras"

Versión al 10 de Junio de 2019

---

			
---	--	--	--

## Anexo II. Empresas productoras y comercializadoras de extractos de clorofila

N°	Empresa	País de Origen		Materia prima	Productos
		Empresa	Producción		
1	Aarkay Food Products Ltd	India	India	Pasto y alfalfa	Colorante clorofila
2	Arjuna	India	India	Pasto y alfalfa	Colorante clorofila
3	British Chlorophyll Co (BCC)	Reino Unido	Reino Unido	Pasto y alfalfa	Clorofila para uso alimenticio y farmacéutico
4	Calico	Canadá	Trader	Pasto y espinaca	Clorofila (solo sabor)
5	CHR Hansen	Dinamarca	EE.UU. y China	hierba, espinaca y ortiga	Clorofila líquida hidrosoluble y oleosoluble
6	CNJ Nature Co Ltd	China	China	pellet fecal de gusano de seda	Clorofilina cúprica de sodio
7	Colorcon / color Maker	Estados Unidos	Trader	no disponible	Clorofilina cúprica de sodio (E141ii)
8	DaXingAnLing Lingonberry Boreal Biotech	China	China	Espinaca	Extracto de clorofila en polvo (100 mallas)
9	DD Williamson	Estados Unidos	Estados Unidos	Espinaca	Clorofila y Clorofilina cúprica de sodio
10	Diana Food	Reino Unido	Francia	Mezcla de espirulina y cártamo	Clorofila y Clorofilina cúprica
11	Döhler	Alemania	Alemania	Espinaca y alfalfa	Clorofila líquida
12	Dupont (ex FMC - FMC Biopolymer)	Estados Unidos	Dinamarca	pasto y lucerne (alfalfa)	Clorofila (E140) y clorofilina cúprica (E141)
13	EPC Natural Products Co.	China	China	pellet fecal de gusano de seda	Clorofila cúprica de sodio
14	Fiorio Colori	Italia	Italia	Espinaca y ortiga	Clorofila Mg E140 (i) y Clorofilina Mg E140(ii)
15	Food Ingredient Solutions	Estados Unidos	Estados Unidos	Pasto y alfalfa	Clorofila y Clorofilina
16	Imbarex	Perú	Perú	Alfalfa, pasto y espinaca	Clorofila líquida, en polvo, dispersión en aceite
17	Kancor/MANE Inc.	Estados Unidos	Estados Unidos	Alfalfa (Medicago sativa)	Clorofila y clorofila en mezcla con Espirulina
18	Kanegrade	Reino Unido	Reino Unido, India y China	pasto, alfalfa y ortiga	Clorofila/Clorofilina y Clorofila Cu / Clorofilina Cu (97%)
19	Merck Group	Alemania	Alemania, China	Espinaca	Clorofina a, clorofilina cúprica
20	Naturex	Francia	Francia	Espinaca	Clorofila y clorofilina cúprica
21	Plant Lipids	India	India / Reino Unido	Espinaca	Clorofilina de cobre (E141ii): polvo y líquido
22	Roha	India	India / España	Alfalfa, pasto y espinaca	Clorofila y complejos de cobre (E140 - E141)
23	Sensient	Estados Unidos	EE.UU. y Europa	Alfalfa y espinaca	Clorofilina Cu líquida y soluble al agua (E141i)
24	Shandong Guangtongbao Pharma	China	China	hoja Morera	Extracto (Polvo & Pasta)
25	Shandong S-Sun Biotech	China	China	hoja Morera	Clorofilina Cúprica de Sodio (polvo), pasta
26	Shanghai Brightol International Ltd	China	China	hoja Morera	Clorofilina Cúprica de Sodio (polvo)
27	Sunrise Nutrachem Group	China	China	Alfalfa	Alfalfa en polvo (80, 120, 200 y 300 mallas)
28	Sun Food Tech	India	India	Espinaca	Clorofila (E140)
29	Synthite Industries Ltd.	India	India / EE.UU.	Alfalfa	Clorofila líquida y en polvo
30	Verde Vivo	Chile	Chile	pasto	jugo con contenido de clorofila
31	Vinayak Ingredients	India	India	pasto, alfalfa y ortiga	Colores E140 y E141 (líquido y polvo)
32	Watson	Estados Unidos	Estados Unidos	Alfalfa	goma verde billante de clorofila insoluble
33	Zhejiang HaiNing FengMing Chlorophyll	China	China	hoja Morera	Clorofilina cúprica sódica (polvo), Fe y Mg sódica (polvo o cristal), clorofila (pasta y soluble en aceite)

---

## Anexo III. Caracterización productos de clorofila - Shandong Hanxing Biotech Co. China

### Product 1: Sodium Copper chlorophyllin powder



#### General Information

Sodium Copper Chlorophyllin is a natural chlorophyll derivative which extracted from natural plants rich in chlorophyll.

**[Specification]:** above 98%

**[Color Index]:** E141(ii)

**[CAS No.]:** 11006-34-1

**[Characteristics]:** Dark green powder, easily soluble in water, slightly soluble in alcohol and chloroform, water solution is transparent without sediment.

**[Molecular formula]:**

Disodium copper chlorophyllin  $C_{34}H_{30}O_5N_4CuNa_2$

Trisodium copper chlorophyllin  $C_{34}H_{30}O_5N_4CuNa_3$

**[Molecular weight]:**

Disodium copper chlorophyllin 683.5

Trisodium copper chlorophyllin 735.5

**[Structure formula]:**

**[Reference standard]:** National food additive standard GB 26406-2011 or USP39

**[Usage & Dosage]:** It's mainly used as the raw material of pharmaceuticals, health care, supplements, daily-used chemicals, and deodorization industry. Normally, the dosage is controlled from 0.05% -- 0.1%.

**[Storage]** Store in cool and dry place, light resistance, in closed.

## Product 2: Sodium Magnesium Chlorophyllin



### General Information

Sodium Magnesium Chlorophyllin is a natural chlorophyll derivative which extracted from natural plants rich in chlorophyll.

**[Specification]:** above 98%

**[Color Index]:** E140

**[CAS No.]:** 11006-34-1

**[Characteristics]:** Dark yellow green powder, easily soluble in water, slightly soluble in alcohol and chloroform, water solution is transparent without sediment.

**[Molecular formula]:**

Disodium magnesium chlorophyllin  $C_{34}H_{30}O_5N_4MgNa_2$

Trisodium magnesium chlorophyllin  $C_{34}H_{30}O_5N_4MgNa_3$

**[Molecular weight]:**

Disodium magnesium chlorophyllin 644.3

Trisodium magnesium chlorophyllin 696.3

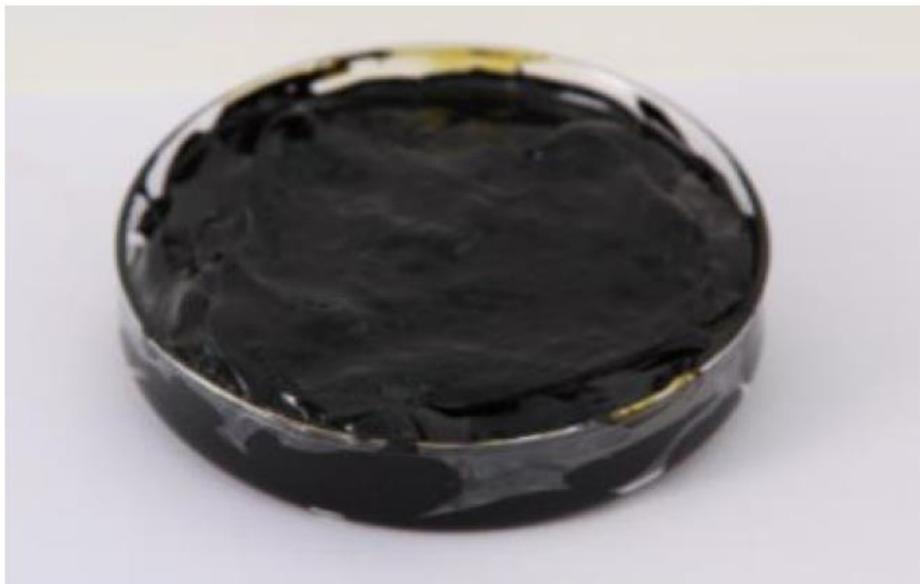
**[Reference standard]:** National food additive standard GB 26406-2011 or USP39

**[Usage & Dosage]:** It's mainly used as the raw material of pharmaceuticals, health care, supplements, daily-used chemicals, and deodorization industry. Normally, the dosage is controlled from 0.05% -- 0.1%.

**[Storage]:** Store in cool and dry place, light resistance, in closed.

---

### Product 3: Oil soluble chlorophyll



#### Oil soluble chlorophyll 14%-15%

##### General Information

Sodium Magnesium Chlorophyllin is a natural chlorophyll derivative which extracted from natural plants rich in chlorophyll.

**[Specification]:** 14%-15%

**[Color Index]:** E140

**[CAS No.]:** 24111-17-9

**[Characteristics]:** Dark green paste, easily soluble in ether, benzene and other organic solvents slightly soluble in alcohol, in soluble in water.

**[Molecular formula]:**

Copper chlorophyll a  $C_{55}H_{72}O_5N_4Cu$

Copper chlorophyll b  $C_{55}H_{72}O_6N_4Cu$

**[Molecular weight]:**

Copper chlorophyll a 932.75

Copper chlorophyll b 946.73

**[Reference standard]:** Enterprise standard

**[Usage & Dosage]:** It's mainly used as the raw material of pharmaceuticals, daily-used chemicals, and deodorization industry. Normally, the dosage is controlled from 0.01% -- 0.1%.

**[Storage]:** Store in cool and dry place, light resistance, in close.