UNIVERSIDAD NACIONAL
Campus Omar Dengo

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE QUÍMICA

PROPUESTA DE LAS CONDICIONES FAVORABLES DE LA RADIACIÓN INCIDENTE Y LA CALIDAD DEL AGUA DE LA QUEBRADA AZUFRE PARA EL CULTIVO DE FRESAS POR HIDROPONÍA EN EL SECTOR DE VARA BLANCA DE HEREDIA

Trabajo sometido a consideración del Tribunal Examinador de la Escuela de Química, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Química Industrial

Bach. Christopher Afú Méndez

Tutor:
M.Sc. José Pablo Sibaja Brenes

Asesores:
Lic. Mariela Martínez Arroyo
M.Sc. Víctor Álvarez Valverde

Heredia, Costa Rica

Agosto 2024

“Este trabajo de graduación fue _____ por el Tribunal Examinador de la Escuela de Química de la Universidad Nacional, como requisito para optar por el grado de Licenciatura en Química Industrial”.

Miembros del Tribunal del trabajo final de graduación:

	NOMBRE	FIRMA
Decano	_____	_____
Director de la Escuela	_____	_____
Tutor	_____	_____
Asesor	_____	_____
Asesora	_____	_____
Lector	_____	_____
Proponente	_____	_____

RESUMEN

Las fresas comerciales (*Fragaria x ananassa*) son un fruto muy reconocido y cosechado en Costa Rica, en donde la búsqueda de la mejora de la calidad es constante. Por eso, se está estudiando la importancia de la radiación artificial y la calidad del agua, debido a que se ha demostrado que estos son factores importantes que alteran las propiedades de estos frutos. Este proyecto de investigación tuvo como objetivo evaluar los factores de radiación incidente y calidad del agua de riego en el proceso productivo de fresas como insumos para la optimización de las propiedades fisicoquímicas y el tamaño de las fresas, por medio de hidroponía en el sector de Vara Blanca de Heredia. Para cumplir este objetivo se analizó inicialmente los parámetros del agua de la Quebrada Azufre, mediante el sistema holandés y NSF, además se determinó su calidad mediante el Reglamento Nº 33903 de Costa Rica, en donde estos parámetros confirmaron la presencia de contaminantes, obteniendo una clasificación de un agua "No utilizable" para las frutas de frutas que son ingeridas sin eliminación de la cáscara, según el reglamento costarricense. Posteriormente, se analizó el efecto que poseen los invernaderos y los diferentes tipos de radiación incidente en el crecimiento y las propiedades de las fresas, para luego realizar un análisis financiero que asegurara un costo-beneficio positivo al implementar luces LED industriales en la parcela. Estos los resultados confirmaron que los invernaderos permitieron la reducción de la radiación solar directa en más de un 50 % en la parcela. Sin embargo, los resultados no mostraron diferencias significativas en la radiación artificial entre las zonas evaluadas. Asimismo, el análisis financiero sugiere que la instalación de radiación artificial puede generar ganancias a pesar de la alta inversión inicial. Finalmente, se realizaron análisis fisicoquímicos en las fresas para evaluar si existen diferencias significativas en el tamaño y las propiedades de las fresas, al exponerse a distintos tipos de radiación incidente en donde se obtuvo un incremento de hasta 64 % en las concentraciones de antocianinas totales en fresas pero sin una diferencia significativa en la variación de las concentraciones de azúcares y polifenoles totales utilizando radiación artificial, en donde se sugiere el uso de bombillos LED para optimizar estas propiedades fisicoquímicas.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN III
ÍNDICE DE CONTENIDOS IV
ÍNDICE DE CUADROS VII
ÍNDICE DE ECUACIONES VIII
ÍNDICE DE FÍGURAS IX
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN 11
A. Antecedentes y justificación 11
B. MARCO TEÓRICO 12
1.1. Micropropagación de las fresas 12
1.2. Crecimiento de fresa por hidroponía en viveros 13
1.2.1. Sistema hidropónico en viveros 13
1.2.2. Sustrato hidropónico 14
1.3. Efecto de la radiación incidente en el crecimiento de fresas 14
1.4. Generalidades de la radiación para el crecimiento de plantas 15
1.5. Análisis de las propiedades de fresas 16
1.6. Análisis de la calidad del agua 18
CAPÍTULO II. OBJETIVOS 19
1. Objetivo General 19
2. Objetivos Específicos 19
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA 20
1. Efecto de utilizar diferentes tipos de radiación incidente en el crecimiento, las propiedades y el costo beneficio de las fresas, en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia 20
1.1. Características del Invernadero y lugar de medición 20
1.2. Mediciones externas e internas de la radiación incidente en el vivero de fresas 21
1.3. Crecimiento de fresas en vivero con secciones de distintos tipos de radiación incidente 23
1.3.1. Preparación de las zonas de distintos tipos de radiación incidente en el invernadero 23
1.3.2. Recopilación de datos para determinar variabilidad en los cultivos de fresa, utilizando distintos tipos de radiación incidente 24
1.4. Análisis financiero para asegurar un costo/beneficio positivo al utilizar radiación artificial para la producción de fresas 25
2. Clasificación la calidad del agua de la quebrada Azufre para ser utilizada para el cultivo de fresas por hidroponía en el sector de Vara Blanca de Heredia 28

2.1. Muestreos de agua y análisis fisicoquímicos *in-situ* 28
2.1. Análisis fisicoquímicos para determinar del grado de contaminación de la quebrada Azufre 29
2.1.1. Análisis de iones de las muestras de agua 29
2.1.2. Análisis de los índices de la calidad de agua y los parámetros complementario de las muestras de agua 29
2.2. Determinación del grado de contaminación de la quebrada Azufre según el Sistema Holandés de Valoración de la Calidad Físico-Química del Agua para cuerpos receptores 30
2.3. Determinación del grado de contaminación de la quebrada Azufre según el Índice de la Calidad del Agua de la Fundación Nacional de Saneamiento (NSF) de los Estados Unidos . 31
2.4. Clasificación de la calidad del agua de la quebrada Azufre a partir de los parámetros complementarios del Reglamento Nº 33903 de Costa Rica 32
3. Análisis del tamaño y las concentraciones de polifenoles, antocianinas y azúcares totales para determinar variaciones en las propiedades de las fresas en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia cuando se exponen a distintos tipos de radiación incidente 35
3.1. Comparación del tamaño de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente 35
3.2. Liofilización y segregación de las fresas de distintos tipos de radiación incidente 36
3.3. Determinación de parámetros para mejorar el proceso de extracción de analitos 37
3.3.1. Pruebas de disolventes 37
3.3.2. Análisis de cantidad de extracciones necesarias 38
3.4. Análisis de metabolitos secundarios de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente 39
3.4.1. Polifenoles totales por medio de Folin-Ciocalteu 39
3.4.2. Antocianinas totales por medio de pH diferencial 40
3.4.3. Azúcares totales por el método Fenol-Sulfúrico 43
3.5. Evaluación estadística para la validación de hipótesis en las mediciones de radiación incidente y la evaluación de las propiedades de las fresas al exponerse a distintos tipos de radiación incidente 44
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 47
1. Efecto de utilizar diferentes tipos de radiación incidente en el crecimiento de fresas, en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia 47
1.1. Diferencia en la radiación incidente al utilizar invernaderos para el crecimiento de fresas ... 47
1.2. Efecto de la radiación incidente en el crecimiento de fresas 50
1.2.1. Variabilidad en la cantidad de radiación incidente en distintos puntos de una misma zona de radiación incidente 50
1.2.2. Efecto de la radiación incidente en crecimiento de las plantas de fresas 52
1.3. Análisis financiero que asegura costo/beneficio positivo para producir fresas utilizando radiación artificial 56

2. Clasificación la calidad del agua de la quebrada Azufre para ser utilizada para el cultivo de fresas por hidroponía en el sector de Vara Blanca de Heredia 61
2.1. Grado de contaminación de la quebrada Azufre según el Sistema Holandés de Valoración de la Calidad Físico-Química del Agua para cuerpos receptores 61
2.2. Grado de contaminación de la quebrada Azufre según el Índice de la Calidad del Agua de la Fundación Nacional de Saneamiento (NSF) de los Estados Unidos 63
2.3. Calidad del agua de la quebrada Azufre a partir de los parámetros complementarios del Reglamento Nº 33903 de Costa Rica 65
3. Efecto en el tamaño y las concentraciones de polifenoles, antocianinas y azúcares totales de las fresas en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia cuando se exponen a distintos tipos de radiación incidente 69
3.1. Variabilidad en el tamaño de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente 69
3.2. Determinación de los parámetros que mejoran el proceso de extracción de los analitos 71
3.2.1. Pruebas de disolventes 71
3.2.2. Análisis de cantidad de extracciones necesarias 75
3.3. Variación de metabolitos de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente 77
3.3.1. Polifenoles totales 77
3.3.2. Antocianinas totales 80
3.3.3. Azúcares totales 85
3.4. Análisis de la calidad de las fresas al ser expuestas a distintos tipos de radiación incidente en Vara Blanca de Heredia 88
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 89
1. Efecto de utilizar radiación artificial para el crecimiento de fresas en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia 89
2. Calidad del agua de la quebrada Azufre para ser utilizada para el cultivo de fresas por hidroponía en el sector de Vara Blanca de Heredia 90
3. Variación en la calidad de las fresas en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia cuando se exponen a distintos tipos de radiación incidente 90
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 91
ANEXOS 101

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Datos financieros proveídos por el dueño de la parcela #9 del proyecto Gamaliel 26
Cuadro 2. Especificaciones de la lampara LED de TS600 Mars Hydro 26
Cuadro 3. Técnicas analíticas aplicadas para obtener los índices de calidad del agua y los parámetros complementarios del Reglamento Nº 33903 según el Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water 30
Cuadro 4. Cuadro de asignación de puntajes según el Sistema Holandés de Valoración de la Calidad Físico-Química del Agua para cuerpos receptores [40] 30
Cuadro 5. Determinación del grado de contaminación del agua según el Sistema Holandés de codificación por colores, basado en valores de PSO, DBO y nitrógeno amoniacal [40] 31
Cuadro 6. Peso de los parámetros del Índice de la Calidad del Agua de la NSF de los Estados Unidos [56] 32
Cuadro 7. Determinación del grado de contaminación del agua según el Índice de la Calidad del Agua de la Fundación Nacional de Saneamiento (NSF) de los Estados Unidos [42] 32
Cuadro 8. Parámetros complementarios para la determinación de la calidad de las aguas de cuerpos superficiales para las clases establecidas en el Reglamento Nº 33903-MINAE-S [40] 33
Cuadro 9. Clasificación de los Cuerpos de Agua para el riego de plantas que son ingeridas sin eliminación de la cáscara y el tratamiento que requiere según su clase [40] 35
Cuadro 10. Métodos utilizados para realizar la purificación de la cianidina-3-glucósido proveniente de la mora utilizando un HPLC Shimadzu LC-20 con detector de matriz de diodos y una longitud de onda de 515 nm como referencia 41
Cuadro 11. Resumen de estadísticos de las diferentes variables e hipótesis a analizar en las secciones de radiación incidente y la determinación de la calidad de las fresas al exponerse a diferentes tipos de radiación incidente 44
Cuadro 12. Pruebas estadísticas aplicadas al PPFD promedio obtenido en diferentes puntos de zonas externas e internas de un invernadero en Vara Blanca de Heredia a diferentes horas solares durante un día utilizando el software JMP-14 48
Cuadro 13. Pruebas estadísticas aplicadas a los tratamientos de cada una de las zonas con distintos tipos de radiación incidente utilizando el software JMP-14 50
Cuadro 14. Pruebas estadísticas aplicadas a las medidas del tallo y las hojas de las plantas de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14 54
Cuadro 15. DLI obtenido en las plantaciones de fresas del proyecto Gamaliel y teórico proveído por las especificaciones del equipo 57
Cuadro 16. Análisis del costo de la inversión y el pago mensual para el préstamo 58
Cuadro 17. Costos eléctricos teóricos asumidos en la parcela #9 al instalar un sistema de radiación LED 59
Cuadro 18. Cálculo aproximado del tiempo requerido para dar mantenimiento a equipos LED en la parcela #9 60
Cuadro 19. Determinación del costo del kilogramo de fresa de primer tipo y de segundo tipo para obtener un costo-beneficios positivo 60
Cuadro 20. Resumen del grado de contaminación de la quebrada Azufre utilizando el Sistema Holandés de Valoración de la Calidad Físico-Química del Agua para cuerpos receptores, en distintos puntos de medición y estaciones climáticas 62
Cuadro 21. Resumen del índice de la Calidad del Agua de la Fundación Nacional de Saneamiento

(NSF) de los Estados Unidos en distintos puntos de medición de la quebrada Azufre y en distintas estaciones climáticas 63
Cuadro 22. Resumen de las clases para cada uno de los parámetros complementarios del Reglamento Nº 33903 de Costa Rica, determinados en diferentes estaciones climáticas en la quebrada Azufre 65
Cuadro 23. Pruebas estadísticas aplicadas a las medidas de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14 70
Cuadro 24. Pruebas estadísticas aplicadas a las muestras de fresas extraídas con distintos tipos de disolventes utilizando el software JMP-14 73
Cuadro 25. Promedio de las concentraciones de muestras con diferentes cantidades de extracciones, realizado mediante la metodología Folin-Ciocalteu en un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT 75
Cuadro 26. Pruebas estadísticas aplicadas a las muestras de fresas con diferente cantidad de extracciones, utilizando el software JMP-14 76
Cuadro 27. Promedio de las concentraciones de polifenoles totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, realizado mediante la metodología Folin-Ciocalteu en un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT 78
Cuadro 28. Pruebas estadísticas aplicadas a las concentraciones de polifenoles totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14 79
Cuadro 29. Promedio de las concentraciones de antocianinas totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, realizado mediante la metodología de pH diferencial en un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT 82
Cuadro 30. Pruebas estadísticas aplicadas a las concentraciones de antocianinas totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14 83
Cuadro 31. Promedio de las concentraciones de azúcares totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, realizado por espectrofotometría en un espectrofotómetro Thermo Fisher modelo Evolution 350 UV-Vis 86
Cuadro 32. Pruebas estadísticas aplicadas a las concentraciones de azúcares totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14 87
Cuadro 33. Evaluación estadística de algunos de los parámetros de calidad de las fresas al exponerse a distintos tipos de radiación incidente 88
Cuadro 34. Cuadro 33. Datos obtenidos en los distintos puntos de medición y las diferentes épocas para determinar el índice NSF de la quebrada Azufre 102
Cuadro 35. Datos obtenidos en los distintos puntos de medición y las diferentes épocas de los parámetros complementarios de la quebrada Azufre 103

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Cálculo del DLI diario recibido por las plantas de fresas en un día o usando radiación LED 27
Ecuación 2. Fórmula para el pago del préstamo sin periodo de gracia 27
Ecuación 3. Fórmula de amortización de préstamos para pago posterior a periodo de gracia 27
Ecuación 4. Cálculo del consumo eléctrico mensual 27
Ecuación 5. Ecuación 5. Cálculo de la factura por energía demandada 27

Ecuación 6. Cálculo de la factura por potencia demandada 27
Ecuación 7. Cálculo de la factura eléctrica mensual 27
Ecuación 8. Cálculo de las ganancias futuras requeridas para poder asumir el costo de la inversión ... 28
Ecuación 9. Obtención de la concentración de polifenoles totales en las muestras de fresas de distintos tipos de radiación incidente reportadas como miligramos de ácido gálico equivalentes por miligramo de masa de muestra 39
Ecuación 10. Cálculo de la absorbancia final de las muestras leídas a 510 nm y 700 nm, utilizando soluciones tampón de 1,0 y 4,5 leído en un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT 43
Ecuación 11. Obtención de la concentración de azúcares totales en las muestras de fresas de distintos tipos de radiación incidente reportadas como miligramos de glucosa equivalentes por miligramo de muestra medida 43

ÍNDICE DE FÍGURAS

Figura 1. a) Vista área de la parcela #9 y el lugar aproximado de muestreo del proyecto, b) distribución de las diferentes zonas de radiación incidente ubicado en el Proyecto Gamaliel en Vara Blanca de Heredia 21
Figura 2. Puntos de referencia externos e internos de las 4 zonas de medición de radiación incidente en invernadero y horas de los 6 tiempos de día medidos 22
Figura 3. Separación de parcelas e instalación de bombillos de distintos colores en parcelas de fresas hidropónicas, para determinar la variabilidad en las plantas y propiedades de las fresas 24
Figura 4. Referencias de los puntos de medición de la radiación incidente en las cuatro zonas del vivero que se realizaron dos veces al mes a las 10:00 am 25
Figura 5. Segregación de las muestras de fresas de distintos tipos de radiación incidente posterior al proceso de liofilización y morterización 36
Figura 6. Ejemplos de curva obtenidas durante la primera (a) y segunda (b) purificación de la cianidina-3-glucósido a partir del aislamiento acuoso de las moras, utilizando el software LabSolutions y un HPLC Shimadzu LC-20 con detector de matriz de diodos y una longitud de onda de 515 nm como referencia 41
Figura 7. Distribución y volúmenes de adición de las curvas y muestras en la placa microtituladora para leer las absorbancias de los analitos a 510 nm y 700 nm, utilizando buffers de pH 1,0 y pH 4,5 para la cuantificación de antocianinas por el método de pH diferencial 42
Figura 8. Diagrama de flujo del análisis estadístico de comparación de muestras K para la validación de hipótesis en las mediciones de radiación incidente y la evaluación de las propiedades de las fresas al exponerse a distintos tipos de radiación incidente 46
Figura 9. PPFD promedio medido en diferentes puntos de zonas externas e internas de un invernadero en Vara Blanca de Heredia a diferentes horas solares durante un día, a partir de 12 mediciones por zona y hora 48
Figura 10. Análisis gráfico del PPFD obtenido al medir la radiación incidente en puntos externos e internos de un invernadero en el sector de Vara Blanca de Heredia, utilizando el software JMP-14 ... 49
Figura 11. Análisis gráfico del PPFD obtenido al medir la radiación incidente en los distintos tratamientos de la zona de radiación incidente control, utilizando el software JMP-14 51
Figura 12. Representación de los puntos de medición de PPFD, en donde los puntos 5 y 6 se

encontraban más adyacentes al plástico negro en comparación al tratamiento 4 52
Figura 13. Gráfico de los promedios en los tamaños de las hojas y tallos de las plantas de fresas expuestas a diferentes tipos de radiación incidente, durante un periodo completo de cosecha 53
Figura 14. Gráficos Q-Q del largo del tallo (a) y tamaño de las hojas (b) de las plantas de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente utilizando el software JMP-14. 54
Figura 15. Diferencias en el crecimiento de las plantas de fresas expuestas a diferentes tipos de radiación incidente 55
Figura 16. Imagen satelital del área de Vara Blanca, Heredia vista de norte a sur 69
Figura 17. Gráficos Q-Q del largo (a) y grosor (b) de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente utilizando el software JMP-14 70
Figura 19. Gráficos Q-Q de las concentraciones de antocianinas en las muestras de fresas, utilizando distintos tipos de disolventes para realizar las extracciones, utilizando el software JMP-14 73
Figura 20. Tukey Test de las concentraciones de antocianinas en las muestras de fresas, utilizando distintos tipos de disolventes para realizar las extracciones, utilizando el software JMP-14 74
Figura 21. Gráficos Q-Q de las concentraciones de antocianinas en las muestras de fresas variando la cantidad de extracciones, utilizando el software JMP-14 76
Figura 22. Gráficos Oneway Anova del número de extracciones requeridas para obtener la máxima concentración de analito, utilizando el software JMP-14 77
Figura 23. Curva de calibración de ácido gálico realizado por la metodología de Folin-Ciocalteu y medido en un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT 78
Figura 24. Gráficos Q-Q de las concentraciones de polifenoles totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14 79
Figura 26.Cromatograma obtenido del extracto de moras aislado y purificado para obtener la antocianina cianidina-3-glucósido, realizado en un UHPLC+ Thermo Scientific Ultimate 3000 80
Figura 27. Espectro de masas obtenido en un HPLC masas Waters Alliance 2695 a partir de la inyección de una muestra purificada y aislada de moras 81
Figura 28. Curva de calibración de la antocianina cianidina-3-glucósido medida por pH diferencial, utilizando un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT 82
Figura 29. Gráficos Q-Q de las concentraciones de antocianinas totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14 83
Figura 30. Tukey Test y gráfico Oneway Anova de las concentraciones de antocianinas totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14 . 84
Figura 31. Curva de calibración de glucosa, medido espectrofotométricamente por el método de Fenol-sulfúrico en un espectrofotómetro Thermo Fisher modelo Evolution 350 UV-Vis 86
Figura 32. Gráficos Q-Q de las concentraciones de azúcares totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14 87
Figura 34. Gráficos de variación de las curvas de los distintos parámetros utilizados en el Índice de la Calidad del Agua de la Fundación Nacional de Saneamiento (NSF) de los Estados Unidos [133] 101

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

A. Antecedentes y justificación

Las fresas comerciales (*Fragaria x ananassa*) son un fruto muy reconocido y cosechado a nivel mundial por su atractiva apariencia, interesante sabor y sus altos valores nutricionales. La fresa comercial actual surge en Versalles, Francia en 1700, al crear un híbrido de dos especies, una de Estados Unidos y otra de Chile, [1]. Este fruto está compuesto por 95 % agua y por distintos porcentajes de lípidos, azúcares, vitaminas y minerales [2]

El cultivo de fresas a nivel mundial ha tomado gran relevancia por su capacidad para regular los niveles de azúcar en la sangre al ralentizar la digestión, controlar la ingesta de calorías por su efecto saciante, jugar un papel crucial en la entrega de micronutrientes, como la Vitamina C y el ácido fólico, así como sus capacidades antiproliferativas celulares, control de lipoproteínas y protección cardiovascular[2,3]. A nivel comercial, las fresas frescas son muy consumidas, así como también se utilizan como un insumo muy importante para producir chocolates, jaleas, helados, tartas y batidos, sin embargo, se debe de recalcar que su sabor ha demostrado ser la variable principal para su consumo y compra [4,5]

Las fresas proveen nutrientes y beneficios para la salud humana debido a su composición química, donde se encuentran los antioxidantes, la vitamina B6, el ácido elágico y el ácido fólico [3] Asimismo, los principales compuestos que le dansu particular color, sabor y olor son los polifenoles, principalmente las proantocianidinas, flavonoides, antocianinas y varios otros compuestos fenólicos [6].

Para inducir la floración de las plantas de fresas se necesita bajas temperaturas (entre los 10 °C y los 20 °C) y zonas de producción ubicadas entre los 1300 m y los 2000 m sobre el nivel del mar [7]. Adicionalmente, para tener fresas con altacalidad se necesita controlar variables como la concentración de antocianina, el valor de pH del agua, la temperatura y la luz [8]. Por esta razón, en Costa Rica las fresas se cultivan en zonas como Vara Blanca de Heredia, San José de la Montaña y San Isidro de Coronado [7]

El cultivo de fresas en Costa Rica ha tomado un gran auge y cada vez son más los agricultores de zonas montañosas del país que deciden cultivar este fruto. Un ejemplo de este caso son la parcela #9 de la familia Villegas Molina ubicada en el proyecto de desarrollo rural Gamaliel en Vara Blanca de Heredia, el cual posee un invernadero donde realiza el crecimiento de fresas por hidroponía, obteniendo el agua de riego de la quebrada Azufre. El cultivo de las fresas se realiza con esquejes, las cuales son cultivadas por medio de micropropagación para disminuir el tiempo de crecimiento a tres meses y aumentar la producción.

Además, esta empresa desea diferenciar su técnica de cultivo de la competencia, es por esta razón que se desea investigar la posibilidad de mejorar las propiedades y el tamaño de las fresas al introducir sistemas de iluminación artificial, el cual incrementará el tiempo de iluminación de las plantas, cuando la nubosidad aumenta y la radiación solar es limitada. Esta tecnología ha sido exitosa en cultivos en invernaderos de zonas nórdicas y antárticas en donde la radiación solar es limitada y han visto en la luz artificial un medio para lograr la producción de variados frutos como lechugas y fresas [9].

Adicionalmente, se desea determinar la calidad del agua de la quebrada que suministra el riego de los cultivos por hidroponía para el periodo de producción comercial de las fresas, esto debido a que la empresa se encuentra interesada en determinar si cumple con las características necesarias para ser utilizada como agua de riego para las fresas. Por esta razón, el objetivo de este proyecto de graduación es determinar la factibilidad de utilizar el agua superficial disponible en la zona y la luz artificial, en los cultivos de fresa por sistemas hidropónicos en invernaderos en la zona de Vara Blanca de Heredia, con el propósito de implementar una nueva tecnología que mejore las propiedades y el tamaño de los frutos, al igual que produzca una reducción en el tiempo de producción de las fresas.

B. MARCO TEÓRICO

1.1. Micropropagación de las fresas

Las técnicas de micropropagación han permitido solventar la necesidad de buscar métodos *in-vitro* para reducir los costos de producción y aumentar la eficiencia de los cultivos, permitiendo en la actualidad que esta metodología sea una tarea rutinaria en muchos laboratorios comerciales [10]. Esta tecnología genera semillas en la parte externa del receptáculo de las flores de fresa, las cuales propician el crecimiento del receptáculo por medio de la fertilización exitosa de los óculos en un ambiente controlado [11].

La micropropagación en fresas surgió 1974, debido a que los hongos del suelo causaban mucho daño a los cultivos, por esta razón la ciencia demostró que las plantas criadas *in-vitro* produjeron más estolones por planta en poco tiempo, haciendo que muchos viveros europeos se interesaran en esta técnica y se expandiera la tecnología alrededor del mundo [4,11]. Esto generó que durante los siguientes 10 años se alcanzara los 7.5 millones de plantas micropropagadas solo en Alemania y se produjera una gran parte de los mil millones de plantas de fresa cultivadas anualmente en el mundo durante ese periodo [12] En la actualidad, esta tecnología ha venido a suplir las necesidades de un consumidor cada vez más exigente, permitiendo en los cultivos un aumento en la adaptación a diferentes condiciones climáticas

y nuevos sistemas de cultivo, en donde se incluyen campos abiertos e invernaderos, así como la introducción de propiedades para crear alimentos saludables de alta calidad. Esta tecnología en sus estudios ha demostrado un aumento del 10 % en la productividad en comparación con la propagacióntradicional, incluso en condiciones hidropónicas [12].

A nivel comercial, la micropropagación, a pesar de ser una técnica más cara que la propagación tradicional, muestra beneficios dada su capacidad de multiplicar la producción rápidamente sin generar la proliferación de virus y una capacidad mejorada de las plantas para producir estolones para la siembra en el campo [11]. Esta tecnología ha sido aplicada para cultivar fresas en invernaderos debido a que reducen el estado sanitario de las plantas al proteger los frutos de nuevas infecciones, acelerar la producción inicial de nuevos cultivos para satisfacer la demanda del mercado y la facilidad de utilizar plantas frescas con el objetivo de ser utilizadas en la producción programada fuera de temporada [12].

En el caso de la parcela Villegas Molina, se cultivan la variedad de fresas "San Andreas" por micropropagación. Esta variedad es muy firme, con color rojo medio brillante, aroma afrutado y un sabor dulce con una ligera acidez. Además, el laboratorio productor de los esquejes indica que necesita poca necesidad de frío en viveros y es muy resistente a enfermedades, permitiendo también adaptarse a distintos sistemas de cultivos, fechas de plantación y garantiza producir fruta durante todo el año en distintos países del mundo [13]. Investigaciones también han determinado que el ciclo completo del crecimiento de las fresas por micropropagación posterior a sembrar las plantas se completa entre 14 semanas a 15 semanas en invernaderos [11]. Así, se demuestra la importancia de crecer las plantas de fresas por el método micropropagación en la zona de Vara Blanca, Heredia.

1.2. Crecimiento de fresa por hidroponía en viveros

1.2.1. Sistema hidropónico en viveros

La tendencia en la actualidad a nivel agronómico es la de cultivar con sustratos en un sistema cerrado, con recirculación de nutrientes, debido a los problemas económicos y ambientales que conlleva el cultivo en suelos abiertos a la intemperie [14]. Por eso, se está popularizando el cultivo por hidroponía en viveros, el cual es una técnica de cultivo de plantas en donde las raíces se colocan en una disolución nutritiva con o sin soporte mecánico de raíces [15]. En este sistema de nutrición, la planta es alimentada mediante una disolución orgánica o inorgánica, que es agregada al medio de cultivo [16].

La razón de utilizar invernaderos se popularizó debido a que protege los frutos de las condiciones exteriores potencialmente dañinas, como la baja o la alta radiación solar, temperaturas extremas, fuertes lluvias además de presencia de plagas y enfermedades; además

que permite controlar fácilmente el vapor de agua requerido, la concentración de dióxido de carbono (CO_2) y las condiciones de flujo de aire, representando una extensión del período de cosecha y una mejora en la calidad de la fruta [17]. Adicionalmente, acoplar un sistema hidropónico en un vivero trae otros beneficios como la conservación sustancial del agua, la producción durante todo el año, un alto rendimiento y el uso mínimo de pesticidas, incluso en áreas con condiciones de crecimiento adversas [18].

Utilizar un sistema hidropónico en viveros para el crecimiento de fresas ha demostrado resultados positivos durante años, proporcionando productos comestibles de mayor calidad y seguridad alimentaria; demostrando que hasta las hojas de las plantas de fresas son seguras para el consumo humano debido a que son una fuente potencial de minerales esenciales y no esenciales [18].

1.2.2. Sustrato hidropónico

Un factor importante para el crecimiento de las plantas y asegurar su nutrición y eco-sustentabilidad es la selección del medio de cultivo o sustrato hidropónico, ya que este determinará el rendimiento de crecimiento del fruto [19]. En el sustrato hidropónico se le agrega la disolución nutritiva que contiene todos los elementos esenciales que necesita una planta para su normal crecimiento y desarrollo. Este es un medio inerte orgánico o inorgánico como: arena, arcilla expandida, grava, vermiculita, fibra de coco, turba de coco o aserrín [20].

Para el crecimiento de fresas en sistemas hidropónicos, uno de los sustratos más utilizados es la fibra de coco, debido a que por su carácter físico y químico posee una excelente porosidad, interacción nula con los nutrientes provenientes de la fertilización, larga durabilidad sin alteraciones en sus características físicas, posibilidad de esterilización y, además es una materia prima abundante, renovable y de bajo costo [14]. Adicionalmente, estudios han demostrado que cultivar las fresas en fibra de coco, aumenta el contenido de fructuosa, sacarosa y glucosa en la fresa, traduciéndose en un mayor dulzor y mejores propiedades de la fruta, así como también produce una mayor firmeza del fruto para su manipulación postcosecha [21]. También, se ha demostrado que, al utilizar la fibra de coco como sustrato hidropónico en invernaderos irradiados con luz artificial, el contenido de antocianinas es alto, obteniendo una buena calidad de frutos [17].

1.3. Efecto de la radiación incidente en el crecimiento de fresas

Las plantas necesitan de la luz solar para su crecimiento; sin embargo, se debería tener un balance debido a que una luz excesiva daña las estructuras fotosintéticas e inhibe la fotosíntesis debido a que la energía se acumula dentro del cloroplasto y puede conducir a la

generación de especies reactivas de oxígeno como superóxido ($O_2^{\bullet-}$) y Peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Por otra parte, si la radiación es baja, aparecen síntomas de etiolación y la fotosíntesis no puede funcionar de manera eficiente [10]. Específicamente, las plantas de fresas muestran una correlación negativa al existir una alta radiación solar y altas temperaturas, disminuyendo el desarrollo del pigmento rojo en la fruta, el rendimiento y la calidad de la fruta. Esto debido a que las plantas usan un sistema de fitocromos para detectar el nivel, la intensidad, la duración y el color de la luz ambiental para ajustar su fisiología [22,23].

La literatura ha demostrado que las plantas muestran cambios morfológicos y fisiológicos en las regiones visibles del espectro de luz entre el azul y el rojo, debido a las respuestas de los criptocromos y los fitocromos de las plantas, mostrando un crecimiento y una floración positiva en diferentes cultivares de fresas [22]. A partir de esto, la tecnología ha creado la iluminación artificial de luz por diodos (LED), los cuales permiten emitir en la máxima eficiencia de radiación fotosintéticamente activa (PAR, por sus siglas en el idioma inglés) de las plantas. Por esta razón, se han creado luces LED azul, verde, amarillo, naranja, rojo y rojo lejano, donde se pueden combinar para proporcionar una alta fluencia (energía total del haz de luz dividido por una unidad de área) [10]; sin embargo, la intensidad lumínica recomendada para estos focos es de 90 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ en la etapa de enraizamiento y 270 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ en la etapa de plántula de la planta de fresas [24].

Se debe de considerar que, al utilizar la electricidad para el crecimiento de cultivos, esto puede representar entre el 70 % y el 80 % del consumo eléctrico total, razón por la cual es necesario determinar la combinación óptima de intensidad de luz para obtener una producción eficiente [24]. Por esta razón, es importante controlar la densidad de flujo de fotones fotosintéticos debido a que esta genera un aumento en el contenido de clorofila y la tasa fotosintética neta, disminuyendo los costos de producción [10]. A partir de lo anterior, resulta imprescindible analizar la cantidad y tipo de radiación que reciben las fresas para mejorar sus propiedades, sin dejar de lado el control estricto del consumo eléctrico para obtener una producción eficiente.

1.4. Generalidades de la radiación para el crecimiento de plantas

Conocer el efecto de la radiación y la intensidad lumínica para los procesos fotosintéticos en las plantas resulta de vital importancia debido a que son factores que determinan el tiempo de producción y la calidad de los frutos obtenidos. Así las cosas, en el área de agricultura se han investigado la relación entre el espectro de radiación incidente y los pigmentos captadores de luz. Entre los principales pigmentos en las plantas están las clorofilas y los carotenoides [25].

Entre las principales clorofilas presentes en los organismos fotosintéticos oxigénicos, como las plantas de fresas, se encuentra la clorofila A, la cual está presente en el centro de reacción y en los complejos captadores de luz de las plantas, así como la clorofila B, que es considerada la segunda clorofila más abundante en estos tipos de organismos [25]. Es importante estudiar el espectro de absorción de luz de estas clorofilas en plantas, debido a que cada una reacciona de manera diferente al espectro de luz y esto podría afectar el proceso de fotosíntesis de las plantas y de absorción de luz para producir energía [26]. Sin embargo, como la mayoría de las clorofilas no absorben radiación en el PAR de las plantas (400 nm a 700 nm), Mcrees definió en 1972 el Espectro de Acción Mcrees, el cual mide la eficacia de la luz en la tasa fotosintética en función de la longitud de onda en el rango PAR de las plantas. Este espectro en la actualidad es comúnmente utilizado como un espectro de referencia para la fotosíntesis de las plantas [27,28].

Entre los distintos parámetros que permiten medir la intensidad de la luz además del PAR que, es la banda en la cual las plantas convierten la energía luminosa del sol en formas biológicamente útiles a través de la fotosíntesis, también se encuentra la densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD), el cual mide el flujo de fotones que cae dentro del espectro de 400 nm a 700 nm, en un metro cuadrado de un área objetivo por segundo ($\mu mol\ m^{-2} \cdot s^{-1}$). Siendo este último un parámetro relevante debido a que se ha descubierto que la cantidad de moléculas generadas por la fotosíntesis está relacionada con la cantidad de fotones absorbidos que pertenecen a este espectro de luz. Por esta razón, los sensores de PPFD son empleados para medir la intensidad de luz en las plantas en crecimiento [28,29].

Adicionalmente, se debe de considerar la integral de luz diaria óptima (DLI), que corresponde a la cantidad total de luz fotosintética recibida por una planta en un día, debido a que, si se controla adecuadamente utilizando radiación artificial, esto permitiría aumentar la eficiencia con la que las plantas interceptan y utilizan la luz para la fotosíntesis, lo cual tiene el potencial de reducir los costos por concepto de insumos y así incrementar los rendimientos y la rentabilidad en los cultivos [30]. Otro factor que se debe considerar es la proporción de radiación azul/roja puesto que se ha determinado que la luz roja tiene el rendimiento cuántico más alto para maximizar el proceso de conversión de energía luminosa en energía química, mientras que la luz azul está involucrada en la apertura de las estomas y el funcionamiento fotosintético de la hoja, por lo cual investigaciones han concluido que cuando se tiene una proporción azul/roja produce un impacto significativo que mejora las tasas fotosintéticas de las hojas [26,31].

1.5. Análisis de las propiedades de fresas

La fitoquímica de las fresas está representada por una gran variedad de compuestos fenólicos, los cuales su función esencial es proteger a la planta, pero a la vez estas sustancias

tienen un gran potencial biológico en los humanos al prevenir y controlar el desarrollo de enfermedades. Estos compuestos se generan en las plantas para adaptarse a los factores genéticos y climáticos del lugar. Entre los principales grupos fenólicos se encuentran los flavonoides, seguido por taninos hidrolizables y ácidos fenólicos, además de taninos condensados en menor proporción [5,32]. Los flavonoides representan el grupo fenólico más abundante en las fresas, por lo cual son las sustancias más estudiadas, en donde se ha determinado que los grupos de las antocianinas forman la subclase más abundante de los flavonoides y además proveen el color rojo a la fruta, un factor muy importante que determina de manera visual la calidad del fruto. Además, se han identificado más de 25 tipos de antocianinas, siendo la pelargonidina-3-glucósido (pel-3-glu) la más dominante en la fresa, seguido por la cianidina-3-glucósido (cy-3-glu) y la pelargonidina-3-rutinosido (pel-3-rut) [32].

Investigaciones han demostrado la correlación en el cambio de las propiedades fitoquímicas y físicas de las fresas cuando se exponen a distintos tipos de radiación, demostrando variaciones en carbohidratos solubles como la sacarosa, glucosa, fructuosa y azúcares reducidos, además se han visto cambios en las coloraciones de las fresas debido a diferencias en las concentraciones de las antocianinas totales en la fruta [33–35]. También, se han visto discrepancias en las cantidades de polifenoles totales conforme aumenta la irradiación en el fruto, debido a la degradación de compuestos fenólicos insolubles y compuestos fenólicos más grandes [36].

Debido a que las propiedades y la calidad de las fresas se encuentran influenciadas por características como el sabor y gusto, estas se pueden correlacionar con parámetros químicos como los compuestos fenólicos, específicamente las antocianinas, las cuales les proveen estas propiedades al fruto [2,32,37]. Es por esta razón que las investigaciones en la actualidad han aplicado distintos métodos para analizar estos parámetros químicos para determinar la calidad de las fresas. Entre estas técnicas se encuentra el análisis del contenido de polifenoles totales, utilizando el método de Folin-Ciocalteu, en donde al extracto de fruta se hace reaccionar con el reactivo Folin-Ciocalteu y carbonato de sodio (Na_2CO_3) para posteriormente analizar las muestras espectrofotométricamente, reportando el resultado en miligramos de Ácido gálico equivalente (GAE) por kilogramo de muestra de fresa seca ($mg*kg^{-1}$). Además, se ha analizado contenido de antocianinas totales, mediante el diferencial de pH, el cual es un método que se basa en los cambios reversibles significativos en la absorción de los pigmentos de antocianina cuando el pH cambia entre 1,0 (absorción más alta) y 4,5 (más bajo = hemicetal incoloro), analizando los resultados espectrofotométricamente [32,36].

Adicionalmente, los análisis del contenido total de azúcares es un método muy utilizado para conocer las propiedades de la fruta. Esta concentración se determina mediante la reacción de fenol-sulfúrico en donde ocurre una deshidratación de las hexosas de la muestra

en presencia de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. Esta es una reacción exotérmica, la cual ocasiona que el fenol se transforme en furfural, generando una solución amarillo-naranja, la cual se puede analizar por espectrofotometría, utilizando un estándar de glucosa para preparar la curva de calibración [38].

Todos estos cambios fisicoquímicos han conllevado que esta tecnología de sembrar en invernaderos con radiación artificial se haya popularizado en regiones nórdicas, haciendo que surjan compañías en Estados Unidos (Lumigrow) y Europa (Heliospectra) los cuales venden equipos de radiación artificial para invernaderos, mostrando varias historias de éxito en donde se han mejorado las propiedades de los frutos y aumentado la producción en cultivos como cannabis, lechuga y tomates en esas zonas [9].

1.6. Análisis de la calidad del agua

El agua resulta indispensable para el crecimiento de las plantas, por esta razón se utiliza en riegos de sistemas hidropónicos. A partir de lo anterior, es necesario utilizar un cuerpo de agua de alta calidad y fácil adquisición para realizar una producción comercial eficiente, la cual mantenga su calidad durante el tiempo, para asegurar un correcto crecimiento del fruto y un seguro consumo humano de la fresa. Entre las variables que son necesarias controlar se encuentra la temperatura del agua, debido a que esta debe de presentar un rango entre 10 °C a 20 °C, ya que se ha determinado que, al tener temperaturas debajo de esta condición la absorción de nutrientes en las plantas disminuye, mientras que a temperaturas sobre el rango la solubilidad del oxígeno disminuye [15]. Por otra parte, un déficit hídrico produce inhibición del crecimiento y la reducción de la productividad en las plantas de fresas, mientras que un riego excesivo lleva a enfermedades de las raíces y contribuye con la lixiviación de nutrientes [32]. Además, se debe de asegurar que el agua no posea altas concentraciones de microorganismos, ya que muchos de estos producen estrés a la planta, reduciendo el crecimiento vegetal y disminuyendo parámetros fotosintéticos [39].

Desde hace más de cinco décadas se han creado variados índices de calidad del agua (ICA), los cuales permiten sintetizar gran cantidad de indicadores, para convertirlos en una variablefácil de entender e interpretar. En el caso de Costa Rica, en el decreto No 33903-MINAE-S de 2007, se definió el Índice Holandés de Valoración de la Calidad para los cuerpos de aguasuperficiales, como el aplicable a nivel legal en el país. Este ICA se basa en la obtención de un puntaje de acuerdo con la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), o porcentaje de saturación de oxígeno (PSO) y el nitrógeno amoniacal ($N\text{-}NH_4^+$), teniendo como ventaja su simplicidad al solo analizar tres indicadores [40]. A partir de la sumatoria de puntaje obtenido, se define el estado de la calidad del agua desde no contaminada hasta totalmente contaminado, proveyéndole un código de color según el gradode contaminación, esto según el decreto No 33903-MINAE-S de 2007 [41].

Por otra parte, la simplicidad que provee el índice holandés deja por fuera otros indicadores importantes como lo son los relacionados con la salud y el medio ambiente del lugar [40]. Por esta razón un índice que incluye una mayorcantidad de parámetros es el adoptado por la Fundación Nacional de Saneamiento de EstadosUnidos (NSF), que data de 1974. En este índice se consideran 9 parámetros los cuales cada uno representa un peso definido en el índice y además cada variable posee una curva específica en donde se define los niveles de calidad del agua (valor Q) de 0 a 100, con respecto a la concentración obtenida en cada indicador. Por lo tanto, para determinar el índice de la calidad del agua se obtiene de la suma de todos los productos del valor Q con respecto al peso específico, obteniendo finalmente, un valor que permite determinar la calidad del agua a un rango numérico definido por el índice [42]. Por lo que es un método más completo para determinar la calidad del agua de la quebrada, a pesar de no ser un índice adoptado por la legislación nacional.

CAPÍTULO II. OBJETIVOS

1. Objetivo General

Evaluar los factores de radiación incidente y calidad del agua de riego en el proceso productivo de fresas como insumos para la optimización de las propiedades y el tamaño de las fresas, por medio de hidroponía en el sector de Vara Blanca de Heredia.

2. Objetivos Específicos

2.1. Determinar la calidad del agua en la quebrada Azufre para la evaluación de su uso como agua de riego en el cultivo de fresas por hidroponía en el sector de Vara Blanca de Heredia.

2.2. Analizar el efecto que poseen diferentes tipos de radiación incidente en el crecimiento, las propiedades y el costo beneficio de las fresas en viveros hidropónicos del sector de Vara Blanca de Heredia.

2.3. Analizar las concentraciones de polifenoles, antocianinas y azúcares totales para determinar variaciones en las propiedades de las fresas en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia cuando se exponen a distintos tipos de radiación incidente.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

1. Efecto de utilizar diferentes tipos de radiación incidente en el crecimiento, las propiedades y el costo beneficio de las fresas, en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia

1.1. Características del Invernadero y lugar de medición

El trabajo se realizó en el invernadero de la parcela #9 de la familia Villegas Molina ubicada en el proyecto de desarrollo rural Gamaliel, el cual posee 5 años de haberse instalado. Este proyecto se localiza en Vara Blanca de Heredia, en las coordenadas geográficas de latitud 10°10’29,7 norte y longitud 84°09’36,0 oeste. En este terreno tiene un tamaño 7000 m^2 y se dedica exclusivamente al cultivo fresas de la variedad San Andreas de manera hidropónica, utilizando para esto esquejes de plantas de fresas las cuales han tenido previamente un proceso de micropropagación.

El cultivo de este producto se realiza utilizando las condiciones medioambientales del lugar sin el control de algún parámetro fisicoquímico, con la única excepción que se cultiva dentro de invernadero para proteger a las plantas de la radiación solar directa. Como sustrato hidropónico para el método de cultivo se utiliza la fibra de coco, en donde además el agua para la siembra se obtiene de la Quebrada Azufre, el cual por medio de captación de tuberías llega al proyecto Gamaliel. La familia Villegas Molina le adiciona al agua de esta quebrada minerales como boro, EDTA-Mn, EDTA-Cu, sulfato de magnesio, sulfato de potasio, nitrato de potasio, entre otros, para favorecer el cultivo de las fresas mediante hidroponía.

A pesar del tamaño del terreno, el proyecto de graduación se realizó en un terreno de aproximadamente 4 m^2 dentro del invernadero, en donde las diferentes zonas de radiación incidente abarcaban un área de 1 m largo x 0,5 m de ancho. Este lugar fue seleccionado al azar por el dueño debido a que ya se había iniciado el crecimiento de los primeros esquejes de la producción, además que facilitaba realizar las conexiones eléctricas respectivas. En la Figura 1 se muestra, el área de la parcela #9 y la ubicación exacta en donde se realizaron las mediciones y el proyecto de graduación.

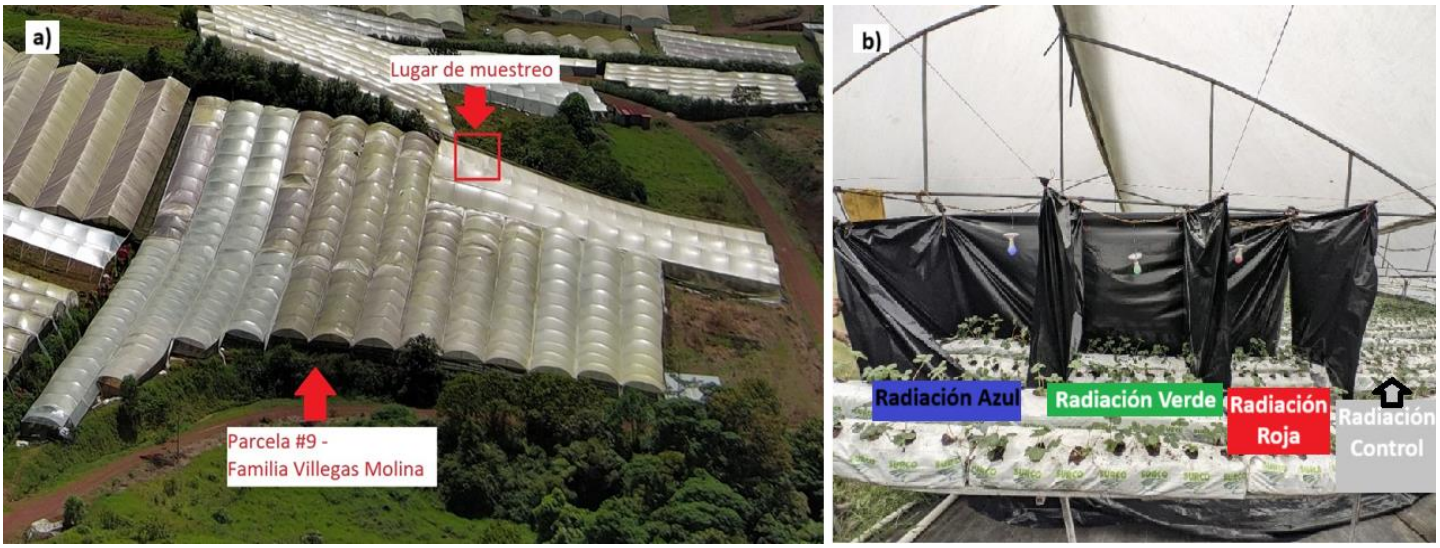

Figura 1. a) Vista área de la parcela #9 y el lugar aproximado de muestreo del proyecto, b) distribución de las diferentes zonas de radiación incidente ubicado en el Proyecto Gamaliel en Vara Blanca de Heredia

1.2. Mediciones externas e internas de la radiación incidente en el vivero de fresas

Para simular la variación en la distribución de energía espectral (Special Power Distribution, SPD) del sol a lo largo del día, se siguió la metodología aplicada por Mani & Godfy, 2018. Al inicio del proyecto el invernadero ya se encontraba construido, por lo que se procedió a realizar mediciones de la radiación incidente en 8 puntos (4 puntos externos y 4 puntos internos) (Figura 2). Así, todas las mediciones fueron secciones cercanas en donde se iba a realizar la plantación de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente. Las mediciones en los mismos puntos se realizaron por triplicado y 6 tiempos distintos del día, utilizando un espectrofotómetro Asensetek Lighting Passport adaptado con la aplicación móvil Spectrum Genius Agricultural Lighting. (Figura 2). El espectrofotómetro Asyntek Lighting Passport es un equipo profesional utilizado por expertos de la iluminación para obtener métricas precisas y comprender qué tan adecuada es la fuente de luz para el cultivo de distintos productos, usando todos los parámetros de iluminancia descritos [44].

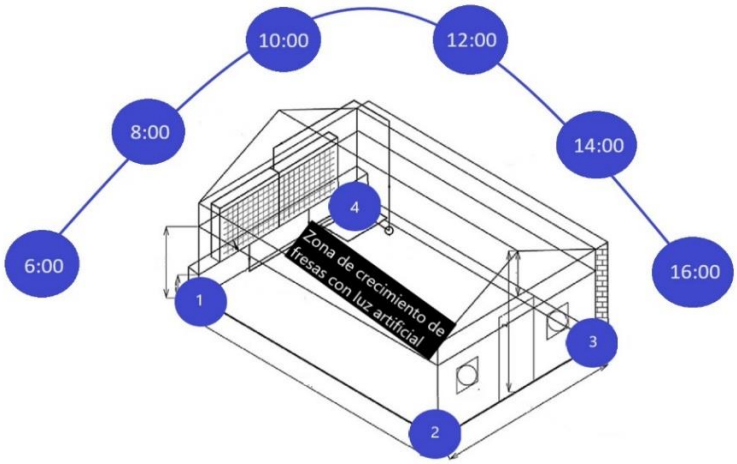

Figura 2. Puntos de referencia externos e internos de las 4 zonas de medición de radiación incidente en invernadero y horas de los 6 tiempos de día medidos

El proceso de medición se realizó al conectar el espectrofotómetro a la aplicación Spectrum Genius Agricultural Lighting del teléfono móvil, utilizando la modalidad "Single" para medir la fuente solar. Los datos se recolectaron en la aplicación móvil, al realizar la medición en cada del momento del día definido anteriormente. Además, en cada medición también se registró los datos geográficos y la hora de la medición realizada para su futuro análisis [43].

El equipo permitió obtener el cambio en los espectros de intensidad lumínica a lo largo del día para determinar la densidad de flujo de fotones fotosintéticos (Photosynthetic Photons Flux Density, PPFD) y de rendimiento densidad de flujo de fotones (Yield of Photons Flux Density, YPFD), así como la longitud de onda máxima. El PPFD y el YPFD para los rangos de luz roja (600 nm a 700 nm), verde (500 nm a 599 nm) y azul (400 nm a 499 nm), tanto de manera externa como interna en el vivero. Esto permitió conocer cuánto protege el vivero contra la radiación solar intensa y las condiciones ambientales del lugar. [44]

Posteriormente, estos datos se tabularon y se les realizó un análisis estadístico, siguiendo el procedimiento explicado en la sección 3.5, para evaluar si existe una diferencia significativa en la radiación incidente que reciben las plantas de fresas al estar protegidas de la radiación solar directa mediante el uso de un invernadero.

1.3. Crecimiento de fresas en vivero con secciones de distintos tipos de radiación incidente

1.3.1. Preparación de las zonas de distintos tipos de radiación incidente en el invernadero

Las plantas de fresas que se utilizaron para el experimento eran de la especie San Andreas, las cuales se cultivaron inicialmente por micropropagación y se enviaron los esquejes a la finca de Vara Blanca de Heredia para su cultivo. La plantación de los esquejes de plantas de fresas se realizó con una semana de anticipación al inicio del experimento dentro de un invernadero con crecimiento hidropónico, utilizando como sustrato la fibra de coco.

Para definir las fuentes de luz a utilizar y controlar las variables de radiación incidente y temperatura se siguió la metodología aplicada por Nguyen et al., 2022 con algunas modificaciones. Para lograr la separación de las fresas en distintas secciones que posean radiación artificial diferente, se instaló en el invernadero, plásticos negros entre 3 parcelas de fresas a una altura de aproximadamente de 2 m, lo cual permitió disminuir la absorción lumínica de los alrededores e impedir la transferencia de luz entre zonas de distintos tipos de radiación incidente. Adicionalmente, se adquirió 3 bombillos inteligentes de la marca Steren de 10 W y se configuró por medio de internet cada bombillo un color distinto (rojo, verde y azul), utilizando para esto la aplicación movil “SmartHome”.

En el invernadero se instaló una red eléctrica en serie para colocar en cada parcela de fresas separadas con el plástico negro un bombillo de distinto color. Cuando se terminó la instalación se dejaron los bombillos encendidos durante todo el periodo de crecimiento de las fresas para observar variabilidad en el crecimiento de las plantas y las fresas, asimismo, se controlaron las variables de radiación entre cada parcela para asegurar la homogeneidad entre cada planta, según las metodologías aplicadas por Zheng et al., 2019 (Figura 3). Aproximadamente, 2 meses después se obtuvieron los primeros frutos en cada una de las secciones, las cuales se cosecharon y se almacenaron en un congelador Mabe - CHM25BPL1 a aproximadamente -18 °C, para preservar las cualidades de las fresas por largos periodos hasta tener una muestra considerable para realizar los análisis respectivos. Los frutos que se almacenaron por mayor tiempo tuvieron un periodo de congelamiento de aproximadamente máximo un mes antes de realizar los análisis fisicoquímicos respectivos [46].

Adicionalmente, durante el periodo de cosecha se observó si existían diferencias físicas en el crecimiento de las plantas de fresas expuestas a diferentes tipos de radiación incidente. Se determinaron diferencias físicas en las plantas, por medio de una regla se midió el tamaño de los tallos desde el suelo hasta la parte superior de la planta y el diámetro de las

hojas de las 5 plantas que presentaban mayor tamaño, en cada de una de las visitas que se realizaron en el invernadero. Estos datos se tabularon y se documentó cualquier diferencia física apreciable que indicara alguna variación en el crecimiento de las plantas, producto del tipo de radiación recibida.

Posteriormente, los datos de altura y tamaño de hoja se tabularon y se analizó estadísticamente, siguiendo el procedimiento explicado en la sección 3.5, para evaluar si existe una diferencia significativa en la altura de los tallos y el tamaño de las hojas de las plantas de fresas al recibir diferente tipo de radiación incidente.

Figura 3. Separación de parcelas e instalación de bombillos de distintos colores en parcelas de fresas hidropónicas, para determinar la variabilidad en las plantas y propiedades de las fresas

1.3.2. Recopilación de datos para determinar variabilidad en los cultivos de fresa, utilizando distintos tipos de radiación incidente

Debido a que se ha demostrado que la variación en la intensidad de la luz que reciben todas las plantas en un cultivo debería ser menor al 20 % para evitar diferencias en el crecimiento de los frutos es que se confirmó que las condiciones de radiación incidente que reciben las plantas de una misma sección sean lo más similares posibles [47]. Para esto, se realizaron monitoreos de radiación incidente dos veces al mes hasta el último periodo de cosecha de las fresas (aproximadamente 3 meses) en cada una de las secciones del invernadero. Las mediciones se llevaron a cabo, en el pico máximo de la variación en la distribución de energía espectral determinado de las mediciones de la sección previa, siendo esta a las 10:00 am. El análisis se realizó en 6 posiciones distintas dentro de la sección, para descartar variación en condiciones entre plantas de una misma sección (Figura 4). Adicionalmente, se midió la radiación incidente en 6 posiciones distintas de una parcela de fresas, la cual no presentaba separación de plásticos negros ni radiación artificial, para obtener la radiación incidente que reciben las fresas del invernadero sin exponerse a ningún

tipo de radiación incidente a parte de la luz solar, fungiendo como una muestra control.

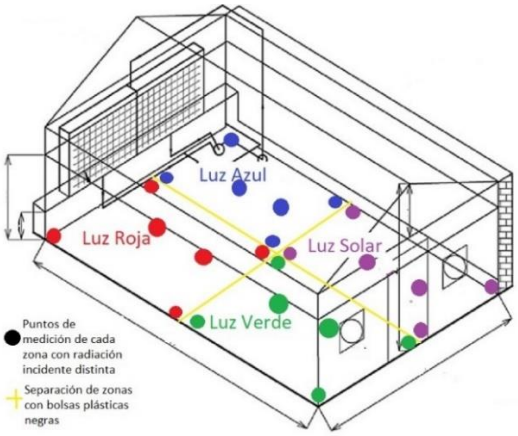

Figura 4. Referencias de los puntos de medición de la radiación incidente en las cuatro zonas del vivero que se realizaron dos veces al mes a las 10:00 am

Para realizar estas mediciones se utilizó el espectrofotómetro Asensetek Lighting Passport junto con la aplicación móvil Spectrum Genius Agricultural Lighting. Se seleccionó la modalidad “Single” para medir la radiación que provee el bombillo en el punto que se está determinando dentro de la parcela y se tabuló la información obtenida en cada una de las mediciones de distintos días y puntos, para descartar variabilidad en la radiación entre cada una de las plantas de fresas en un mismo tipo de radiación incidente.

Posteriormente, los datos de cada una de las secciones de radiación incidente se tabularon por separado y a cada tabla se le realizó un análisis estadístico siguiendo el procedimiento explicado en la sección 3.5, para evaluar si no existe una diferencia significativa en la radiación incidente que reciben las plantas de fresas dentro de una misma sección de radiación incidente.

1.4. Análisis financiero para asegurar un costo/beneficio positivo al utilizar radiación artificial para la producción de fresas

Para determinar el impacto de utilizar radiación LED con el objetivo de mejorar las propiedades y la producción de fresas en el proyecto Gamaliel, se realizó un análisis exploratorio mediante investigaciones bibliográficas y análisis financieros proveídos por el dueño de la finca, con el fin de conocer cuál es el nuevo precio que se debe de definir al kilogramo de fresas, para obtener un costo/beneficio positivo al momento de producir fresas y determinar la posible viabilidad del proyecto. Inicialmente, se recopiló información básica de las ventas que se realizan mensualmente en la finca junto con el precio en que se vende cada kilogramo de fresas. La fresa se vende en función de la categoría como de primera y de segunda, en donde el primer tipo representa la fresa grande y de buena calidad, mientras el

siguiente tipo corresponde a las fresas de pequeño tamaño o con posibles daños. La información experimental se recopila en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Datos financieros proveídos por el dueño de la parcela #9 del proyecto Gamaliel

Variable	Valor
Terreno	7000 m^2
Costo fresa kilogramo primera	₡ 2000
Costo fresa kilogramo segunda	₡ 1000
Ventas por mes primera	1000 kg
Ventas por mes segunda	300 kg
Ventas totales actuales mensuales	₡ 2 300 000,00
Ventas totales actuales anuales	₡ 27 600 000,00
Costo mensual aproximado de electricidad	₡ 20 000
Porcentaje de costo electricidad actual con respecto a las ganancias mensuales	0,9 %

Seguidamente, se realizó una indagación para determinar un tipo de equipo LED industrial acorde con los requerimientos de la plantación de fresas, en donde se determinó que el sistema mejor evaluado y que cumple con estos requerimientos es el modelo TS600 de la marca Mars Hydro [48]. Este equipo posee las especificaciones explicadas en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Especificaciones de la lampara LED de TS600 Mars Hydro

Especificaciones	Valor
PPFD	400 µmol m^{-2} s^{-1}
Lumen	12410 K
Potencia	120 watts
Dimensiones	Largo: 14,2 pulgadas
	Ancho: 13,2 pulgadas
	Altura: 1,4 pulgadas
Precio por unidad	$ 119,99

Posteriormente y debido a que se debe de conocer cuánta luz están recibiendo las plantas diariamente sin radiación, se calculó el DLI (Daily Light Integral) en la zona, debido a que esta variable indica la cantidad de luz que recibe una planta en un periodo de 24 horas (medido en moles por metro cuadrado por día), esta es una buena manera de garantizar que las plantas reciben la cantidad de luz recomendada para obtener una alta productividad y rendimiento. Además, sabiendo que para las fresas al menos se debe de tener un DLI de 12 µmol m^{-2} s^{-1} para un óptimo crecimiento, se obtuvo los valores actuales de radiación que reciben las fresas, usando los valores de PPFD medidos en la sección 1.2 durante todo un

día, así como la radiación que va a generar la lámpara LED escogida [49] y se introdujeron en la Ecuación 1.

$$\text{DLI Diario} = \text{PPFD } (\mu\text{mol/m}^2\text{s}) * \text{Duración del día (horas)} * \frac{3600}{1.000.000}$$

Ecuación 1. Cálculo del DLI diario recibido por las plantas de fresas en un día o usando radiación LED

Además, a partir del costo del equipo y el tamaño del terreno de la parcela #9 del proyecto Gamaliel, se determinó la cantidad de piezas requeridas en el terreno. A partir de esta información se determinó el costo del préstamo requerido y su respectivo pago mensual incluyendo intereses, utilizando las fórmulas de amortización de préstamos sin y con periodo de gracia (Ecuación 2 y 3 respectivamente). En donde "P" es el monto del préstamo, "r" es la tasa de interés trimestral, "n" es el número de pagos restantes después del período de gracia y R es el pago trimestral.

$$\text{R} = \text{Monto del préstamo} * \text{Tasa trimestral}$$

Ecuación 2. Fórmula para el pago del préstamo sin periodo de gracia

$$\text{R} = \frac{\text{P} * \text{r}}{1 - (1 + \text{r})^{-\text{n}}}$$

Ecuación 3. Fórmula de amortización de préstamos para pago posterior a periodo de gracia

Igualmente, a partir de las especificaciones dadas por el proveedor y el costo de la tarifa eléctrica industrial actual (del 01 de enero y hasta el 31 de diciembre 2024), se determinó el costo extra de la electricidad que se debe de asumir al adquirir estos equipos, mediante la Ecuación 4, 5, 6 y 7.

$$\text{Consumo mensual (kWh)} = \frac{\text{Potencia total (kW)} * \text{DLA (horas)} * 30 \text{ (días)}}{1000}$$

Ecuación 4. Cálculo del consumo eléctrico mensual

$$\text{Costo por energía} = \text{Consumo mensual (kWh)} * \text{Carga eléctrica nocturna (colones/kWh)}$$

Ecuación 5. Ecuación 5. Cálculo de la factura por energía demandada

$$\text{Costo por potencia} = \text{Potencia total (kW)} * \text{Carga potencia nocturna (colones/kW)}$$

Ecuación 6. Cálculo de la factura por potencia demandada

$$\text{Costo total mensual} = \text{Costo por energía} + \text{Costo por potencia}$$

Ecuación 7. Cálculo de la factura eléctrica mensual

Finalmente, se realizó una revisión bibliográfica para determinar el rendimiento que se obtiene al utilizar radiación incidente o no en una plantación de fresa en un sistema

tropical. Asimismo, se determinó cuál debería ser la futura ganancia mensual requerida para pagar el préstamo y el nuevo aumento de la electricidad, así como para asegurar un costo-beneficio positivo (Ecuación 8), para al final poder calcular el precio final al que se debe de vender el kilogramo de prima y segunda categoría.

$$\text{Ganancias netas futuras mensuales} = \text{Ganancias futuras} - \text{Pago Préstamo} - \text{Gastos Eléctricos}$$

Ecuación 8. Cálculo de las ganancias futuras requeridas para poder asumir el costo de la inversión

2. Clasificación la calidad del agua de la quebrada Azufre para ser utilizada para el cultivo de fresas por hidroponía en el sector de Vara Blanca de Heredia

2.1. Muestreos de agua y análisis fisicoquímicos *in-situ*

Para determinar la calidad del agua de la quebrada Azufre y conocer su impacto en el cultivo de fresas en el sector de Vara Blanca de Heredia, primeramente, se realizó el muestreo de parámetros fisicoquímicos de la calidad del agua *in-situ* y la obtención submuestras de agua de la quebrada en dos puntos distintos, durante la época seca y la época lluviosa. El primer muestreo se efectuó en la quebrada en las coordenadas de latitud 10°09’51,1 Norte y longitud 84°09’15,3 Oeste. Adicionalmente, se realizó una segunda medición de los mismos parámetros al agua que llega al invernadero por tuberías, con el objetivo de observar posibles variabilidades en los parámetros de la calidad del agua, debido a que la literatura ha demostrado que las tuberías de agua se consideran una de las fuentes responsables de la contaminación del agua, a pesar de que la única fuente para llevar agua dulce a lugares como invernaderos u hogares son las tuberías de aguas [50]. El segundo análisis se realizó, posterior a un proceso de filtración que se realiza en la finca con el objetivo de disminuir los sedimentos que pueden llegar a la plantación de fresas. Este segundo punto tuvo las coordenadas de latitud 10°10’29,7 Norte y longitud 84°09’36,0 Oeste.

Los parámetros fisicoquímicos *in-situ*, que se midieron fueron pH, conductividad (μS/cm), porcentaje de oxígeno disuelto y la temperatura (°C) del agua de la quebrada. Para realizar las mediciones se utilizó un Multiparameter Hanna, modelo HI 9829 con GPS integrado, debido a que este equipo permite monitorear los parámetros de la calidad del agua [51]. Estas mediciones se realizaron siguiendo los procedimientos 4500-H^+, 2510, 4500-O y 2250 respectivamente, indicados en el Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, edición N°24. La toma de datos se realizó, en una zona que tuviese un flujo continuo de agua, donde se introdujo el multímetro dentro de la quebrada a una profundidad que permitiera introducir todos los sensores en el agua. Se dejó unos segundos dentro del agua para la estabilización de los datos y se tabuló la información obtenida en tiempos distintos [52].

El proceso de preservación de las muestras de aguas para los análisis en laboratorios se realizó según el método de "Recolección y Preservación de Muestras 1060" del Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, edición N°24. En primera instancia, se tomó una muestra cada 30 minutos durante 2 horas hasta completar el galón, del agua de la quebrada y del agua del invernadero, para obtener una muestra compuesta para realizar análisis variados de la calidad del agua. Además, en un frasco estéril con tapa se tomó una muestra de cada locación y se llenó completamente, asegurándose que no almacenara aire en su interior, con el objetivo de realizar los análisis coliformes fecales [53].

Las mediciones *in-situ* y las tomas de muestras se realizaron una vez en cada época (seca y lluviosa) en los dos puntos de medición y siguiendo los pasos anteriormente descritos para finalmente determinar los índices de calidad del agua y los parámetros complementarios de los dos puntos de medición de la Quebrada Azufre en las épocas de medición.

2.1. Análisis fisicoquímicos para determinar del grado de contaminación de la quebrada Azufre

2.1.1. Análisis de iones de las muestras de agua

El análisis de la concentración de iones se realizó con un cromatógrafo de iones HPLC Dionex 5000, equipado con un Detector de Conductividad Eléctrica y una Columna IonPac AS23, de 4 mm de diámetro interno y 25 cm de largo. Para realizar la cuantificación de las muestras se prepararon curvas de calibración de cloruro, fluoruro, sulfatos y nitratos con una concentración entre 0,4 ppm a 12 ppm, siguiendo las metodologías del Standard Method of Water and Waste Water 4500-Cl, 4500-F, 4500-SO_4^{2-} y 4500-NO_3 respectivamente. Finalmente, se inyectaron las muestras en el equipo y se obtuvo la concentración de cada uno de estos iones al realizar la comparación con los datos de las curvas de calibración obtenidas [54].

2.1.2. Análisis de los índices de la calidad de agua y los parámetros complementario de las muestras de agua

Para la determinación de la concentración de los diferentes parámetros requeridos para obtener los índices de calidad del agua del Sistema Holandés y de la NSF de los Estados Unidos, así como los parámetros complementarios del Reglamento Nº 33903-MINAE-S de Costa Rica; las muestras de agua de la quebrada e invernadero se llevaron a los siguientes laboratorios privados: Laboratorios Analíticos Centroamericanos, S.A (LABCEN), AGQ Labs, y Laboratorio Bacteriológico Biotec S.A. En estos laboratorios, los análisis se realizaron basándose en las siguientes metodologías planteadas en el Standard Method of Water and Waste Water, las cuales se encuentran resumidas en el Cuadro 3 [53].

Cuadro 3. Técnicas analíticas aplicadas para obtener los índices de calidad del agua y los parámetros complementarios del Reglamento Nº 33903 según el Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water

Parámetro	Número de Método	Parámetro	Número de Método
Turbidez	2130B	Cadmio	3500-Cd
Nitratos	4500-NO_3	Cianuro	3500-Cn^-
DBO	5210B	Cobre	3500-Cu
DQO	5220	Cromo total	3500-Cr
Cloruro	4500-Cl	Magnesio	3500-Mg
Fluoruro	4500-F	Mercurio	3500-Hg
Color	2120C	Níquel	3500-Ni
Sólidos suspendidos totales	2540A	Plomo	3500-Pb
Sólidos disueltos	2140C	Selenio	3500-Se
Sólidos totales	2540	Sulfatos	4500-SO_4
Grasas y aceites	5520B	Coliformes Fecales	9221C
Arsénico	3500-As	Sustancias activas al azul de metileno	5540C
Boro	3500B	Color aparente	2120C
Amonio	4500-NH_3 C	Grasas y aceites	5520B
Fosfato total	4500-PD	Sumatoria de los Compuestos Organoclorados (mg/L)	6630
Nitratos	4500-NO_3	Sumatoria de los Compuestos Organofosforados (mg/L)	4500-P Phosphorus

2.2. Determinación del grado de contaminación de la quebrada Azufre según el Sistema Holandés de Valoración de la Calidad Físico-Química del Agua para cuerpos receptores

Para determinar el grado de contaminación de la quebrada Azufre, se usó el Sistema Holandés de Valoración de la Calidad Físico-Química, según lo informado por el Reglamento para la Evaluación y Clasificación de la Calidad de Cuerpos de Agua Superficiales de Costa Rica (Nº 33903), el cual indica la calidad del agua que debería tener para el consumo de frutas que son ingeridas sin eliminación de la cáscara, como en este caso [41].

Para obtener los parámetros según este sistema, se obtuvo los resultados de PSO, DBO y N-NH_4^+ y, se les asignó los puntajes respectivos del sistema según la Tabla 3 del Decreto Nº 33903-MINAE-S [41].

Cuadro 4. Cuadro de asignación de puntajes según el Sistema Holandés de Valoración de la

Calidad Físico-Química del Agua para cuerpos receptores [41]

PUNTOS	PSO (%)	DBO (mg/L)	$N\text{-}NH_4^+$ (mg/L)
1	91,0 – 100,0	< = 3,0	< 0,50
2	71,0 – 90,0 111,0 – 120,0	3,1 – 6,0	0,50 – 1,0
3	51,0 – 70,0 121,0 – 130,0	6,1 – 9,0	1,1 – 2,0
4	31,0 – 50,0	9,1 – 15,0	2,1 – 5,0
5	< = 30,0 y > 130,0	> 15,0	> 5,0

Seguidamente, a partir del puntaje obtenido en cada uno de estos parámetros se hizo la sumatoria de puntos totales y se determinó la clase, el código de color y la interpretación de la calidad del agua de la quebrada Azufre mediante el Sistema Holandés, utilizando para esto la Tabla 4 del Decreto Nº 33903-MINAE-S [41].

Cuadro 5. Determinación del grado de contaminación del agua según el Sistema Holandés de codificación por colores, basado en valores de PSO, DBO y nitrógeno amoniacal [41]

Clase	Sumatoria de puntos	Código de Color	Interpretación de Calidad
1	3	Azul	Sin contaminación
2	4 - 6	Verde	Contaminación incipiente
3	7 - 9	Amarillo	Contaminación moderada
4	10 - 12	Anaranjado	Contaminación severa
5	13 - 15	Rojo	Contaminación muy severa

2.3. Determinación del grado de contaminación de la quebrada Azufre según el Índice de la Calidad del Agua de la Fundación Nacional de Saneamiento (NSF) de los Estados Unidos

Con el objetivo de tener un panorama más amplio del grado de contaminación y la composición del agua de la quebrada Azufre, se analizó igualmente mediante el NSF de los Estados Unidos. Para obtener la calidad del agua mediante este método, se ingresaron los resultados de cada uno de los parámetros requeridos por este sistema en la calculadora del Índice de la Calidad del Agua para Aguas Superficiales del Centro de Investigación del Agua "Known Your H_2O", y se generaron los reportes para obtener los Q-Value de cada una de las muestras analizadas [55].

Los Q-Value del método se tabularon y se multiplicaron por el peso asignado a su

correspondiente parámetro según lo índica el índice (Cuadro 6) [56]. Finalmente, los subtotales de todos los datos del sistema se sumaron para compararlo con el rango indicado en la metodología de la NSF de USA para determinar la calidad del agua de la Quebrada Azufre por esta metodología [42]. Sin embargo, es necesario recalcar que para el factor de temperatura se tomó el dato de medición de la quebrada como punto de referencia, esto con el objetivo de: 1. Observar el cambio de temperatura de acuerdo con el cambio de altitud y 2. Debido a que es conocido que conforme disminuye la altitud, la temperatura del agua aumenta, lo cual es un parámetro importante que considerar al momento de determinar la calidad del agua.

Cuadro 6. Peso de los parámetros del Índice de la Calidad del Agua de la NSF de los Estados Unidos [56]

Factor	Peso
Oxígeno Disuelto	0,17
Coliformes Fecales	0,16
pH	0,11
DBO	0,11
Temperatura	0,10
Fosfato Total	0,10
Nitratos	0,10
Turbidez	0,08
Solidos Totales	0,07

Cuadro 7. Determinación del grado de contaminación del agua según el Índice de la Calidad del Agua de la Fundación Nacional de Saneamiento (NSF) de los Estados Unidos [42]

Rango	Calidad
91-100	Excelente
71-90	Bueno
51-70	Medio
26-50	Malo
0-25	Muy malo

2.4. Clasificación de la calidad del agua de la quebrada Azufre a partir de los parámetros complementarios del Reglamento Nº 33903 de Costa Rica

A partir de los análisis realizados en la sección 2.2.2 se obtuvieron los parámetros complementarios dictaminados en el Decreto Nº 33903-MINAE-S en la Tabla 1 del reglamento [41]. Estos resultados se compararon con la tabla para determinar la clase que le corresponde al agua de la quebrada según cada uno de los parámetros.

Cuadro 8. Parámetros complementarios para la determinación de la calidad de las aguas de cuerpos superficiales para las clases establecidas en el Reglamento Nº 33903-MINAE-S [41]

Parámetros Complementarios (Unidades)	**Clase 1**	**Clase 2**	**Clase 3**	**Clase 4**	**Clase 5**
Turbiedad (UNT)	< 25	25 a < 100	100 a 300	(1)	(1)
Temperatura (°C) *	(1)	(1)	(1)	(1)	(1)
Potencial de hidrógeno (pH)	6,5 a 8,5	6,5 a 8,5	6,0 a 9,0	5,5 a 9,5	5,5 a 9,5
Nitratos, NO_3^- (mgN/L)	< 5	5 a < 10	10 a < 15	15 a < 20	> 20
Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	< 20	20 a < 25	25 a < 50	50 a <100	100 a 300
Cloruros (como Cl) (mg/L)	< 100	100 a 200	NA	NA	NA
Fluoruros (como F) (mg/L)	< 1,0	1 a 1,5	NA	NA	NA
Color (Pt-Co)	2,5 a 10	10 a 100	(1)	(1)	(1)
Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)	10	10 a 25	25 a 100	100 a 300	> 300
Sólidos Disueltos (mg/L)	< 250	250 a < 500	500 a 1000	> 1 000	> 1 000
Grasas y Aceites (mg/L)	ND	ND	ND	ND	15 a 25
Sustancias activas al azul de metileno (mg/L)	ND	ND	ND a 1	1 a 2	2 a 5
Arsénico (mg/L)	< 0,01	< 0,01	0,01 a 0,05	> 0.05	> 0,05
Boro (mg/L)	0,1	0,2	0,5	1	1
Cadmio (mg/L)	< 0,005	0,005	0,01	0,02	0,02
Cianuro (mg CN^- /L)	< 0,1	0,1 a < 0,2	0,2	> 0,2	> 0,2
Cobre (mg/L)	< 0,5	0,5 a < 1	1,0 a 1,5	1,5 a 2,0	2,0 a 2,5

Parámetros Complementarios (Unidades)	**Clase 1**	**Clase 2**	**Clase 3**	**Clase 4**	**Clase 5**
Cromo Total (mg/L)	< 0,05	0,05	0,20	0,50	> 0,5
Magnesio mg $MgCO_3$ /L	< 30	30 a 50	> 50	> 50	> 50
Mercurio (mg/L)	< 0,001	0,001	0,002	0,004	0,005
Níquel (mg/L)	< 0,05	0,05	0,1	0,2	0,3
Plomo (mg/L)	< 0,03	0,03 a < 0,05	0,05 a < 0,10	0,10 a < 0,20	0,20
Selenio (mg/L)	< 0,005	0,005 a < 0,010	0,010 a < 0,020	0,020 a < 0,050	0,050
Sulfatos (SO_4^{-2} mg/L)	< 150	150 a 250	> 250	> 250	> 250
Parámetros orgánicos					
Sumatoria de los Compuestos Organoclorados (mg/L)	ND	ND	ND	0,01	0,01
Sumatoria de los Compuestos	ND	ND	ND	0,01	0,01
Organofosforados (mg/L)	ND	ND	ND	0,01	0,01
Biológicos					
Coliformes Fecales (NMP/100 mL)	< 20	20 a 1000	1000 a 2000	2000 a 5000	> 5000

* Datos de temperatura (1) proveídos por el índice

Finalmente, se escogió la peor clase obtenida en cada una de estas variables, basándose en el principio precautorio para proveer las recomendaciones respectivas al dueño del vivero sobre cómo debe de tratar el agua si desea utilizarla en un futuro para el riego de plantas que son ingeridas sin eliminación de la cáscara, según lo dictaminado en la Tabla 2 del mismo reglamento [41].

Cuadro 9. Clasificación de los Cuerpos de Agua para el riego de plantas que son ingeridas sin eliminación de la cáscara y el tratamiento que requiere según su clase [41]

Uso	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4	Clase 5
Riego de plantas sin limitación, irrigación de hortalizas que se consumen crudas o de frutas que son ingeridas sin eliminación de la cascara	Sin tratamiento previo o con tratamiento simple de desinfección	Con tratamiento convencional	Con tratamiento avanzado	No utilizable	No utilizable

3. Análisis del tamaño y las concentraciones de polifenoles, antocianinas y azúcares totales para determinar variaciones en las propiedades de las fresas en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia cuando se exponen a distintos tipos de radiación incidente

3.1. Comparación del tamaño de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente

Como se ha demostrado que la evaluación de la calidad de las fresas en el mercado se centra en características visuales como el tamaño, la forma y la textura y, además, que la aceptación por parte del consumidor disminuye conforme disminuye el índice de atributos deseables. Las muestras de fresas cosechadas en cada una de las zonas de distintos tipos de radiación incidente se congelaron, siguiendo las condiciones explicadas en la sección 1.3.1 de la metodología; con el objetivo de preservar sus propiedades y mantener su forma con el objetivo de facilitar las mediciones del tamaño de cada fruta [3,57].

Luego, cuando se cosecharon las fresas de cada tipo de radiación incidente (tratamiento), se realizó un diseño completamente al azar con 3 subgrupos para cada tipo de radiación incidente, donde las muestras de fresas de cada subgrupo se separaron en bolsas diferentes, asegurándose de segregar completamente la muestra total de cada tipo de tratamiento en bolsas individuales [58].

Posterior al proceso de segregación y con el objetivo de evaluar las características visuales de cada fresa, se midió la altura y el ancho de cada fruta segregada en la respectiva bolsa. Este proceso se realizó con un vernier digital marca Truper, en donde se midió la altura de cada fresa colocándola de manera vertical dentro de los extremos del calibrador vernier, posteriormente se midió el grosor de la fruta, colocando la sección más ancha de la fresa dentro de los extremos del equipo de medición.

Finalmente, estos datos se tabularon y se les realizó un análisis estadístico siguiendo el procedimiento explicado en la sección 4.5, para evaluar si existe una diferencia significativa en la altura y el ancho de las fresas cuando se exponen a diferentes tipos de radiación incidente.

3.2. Liofilización y segregación de las fresas de distintos tipos de radiación incidente

Posterior a obtener aproximadamente 500 g de fresas de cada una de las parcelas de distintos tipos de radiación incidente durante el proceso de congelación y preservación indicado en la sección 1.3.1, se procedió a realizar la liofilización por 48 horas en un liofilizador Labconco Freezone 12 Plus, esto debido a que la literatura ha demostrado que este método es ideal para la conservación y la preservación de las muestras antes de los análisis [57]. Posterior a la liofilización de las fresas, se morterizaron las muestras hasta que pasaran por un tamiz de 1 mm.

Luego, se realizó un proceso de segregación de muestras, mediante un diseño al azar con 3 subgrupos para cada tipo de radiación incidente (tratamiento), por lo cual cada subgrupo contuvo el 30 % del tratamiento (90 % total de las muestras de fresas de un tipo de radiación de fresas) y el restante 10 % de cada una de las muestras de distintos tipos de radiación incidente se mezclaron para obtener una muestra compuesta (Figura 5) [58].

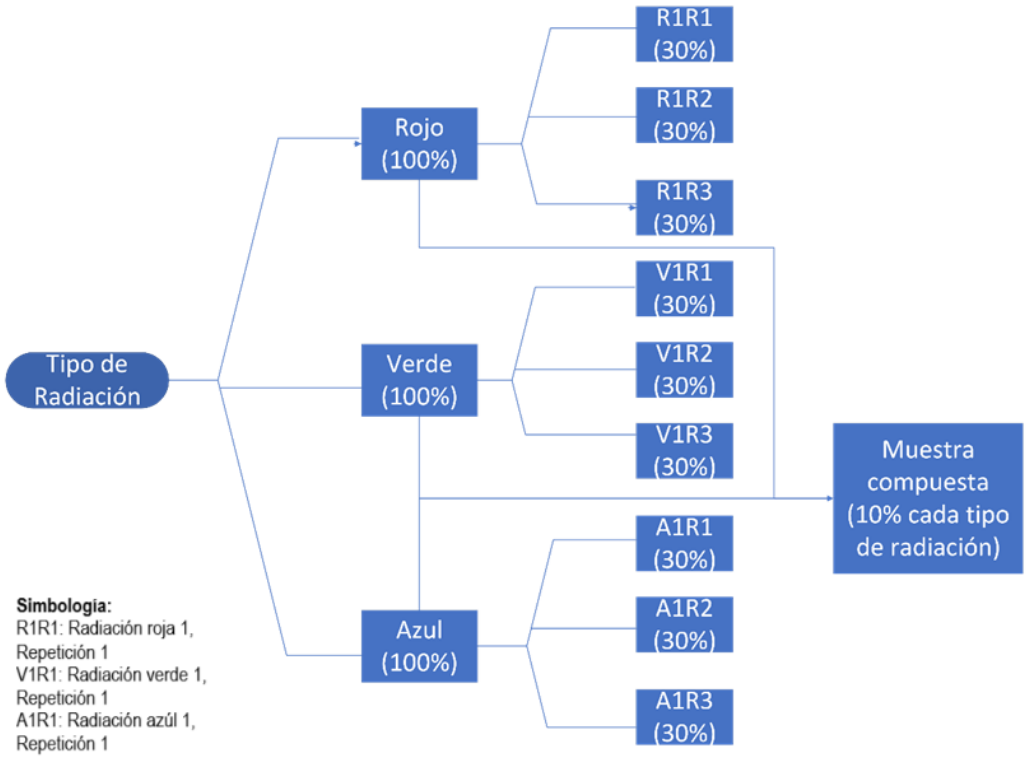

Figura 5. Segregación de las muestras de fresas de distintos tipos de radiación incidente posterior al proceso de liofilización y morterización

3.3. Determinación de parámetros para mejorar el proceso de extracción de analitos

Con el objetivo de mejorar y conocer algunos parámetros que aumenten el porcentaje de extracción de los analitos de las fresas se plantearon pruebas con distintos disolventes y se determinó la cantidad extracciones para obtener un mejor rendimiento de extracción.

3.3.1. Pruebas de disolventes

Para determinar el disolvente que extrae un mayor porcentaje de metabolitos secundarios, se preparó disolventes de agua grado Milli Q, metanol concentrado grado ACS, metanol al 80 % con grado ACS y Acetona:Metanol:Agua relación 4:4:2, debido a que son extractos reportados por la literatura utilizados para extraer estos tipos de metabolitos [33,36,57]. Además, se midió aproximadamente 75 mg de la muestra compuesta por triplicado para cada uno de los tipos de disolventes.

El proceso de extracción se realizó al agregar 3 mL de cada disolvente a la muestra medida. Seguidamente, se llevó a baño ultrasónico por 5 minutos y luego se colocó en una centrífuga Thermo Scientific Sorvall ST 8R a 2500 rpm por 7 minutos a temperatura ambiente. El sobrenadante se trasvasó a balones aforados de 10 mL y al residuo se le repitió el proceso de extracción por triplicado para asegurar una eficiencia de extracción alta. Finalmente, se agregó HCl 0,1 % v/v a cada muestra para preservar los analitos y se añadió disolvente hasta la marca de aforo [32].

El análisis para determinar el mejor disolvente de extracción se realizó espectrofotométricamente, con un equipo marca Thermo Fisher modelo Evolution 350 UV-Vis, determinando la absorbancia de cada muestra a (550, 350, 280, 260 y 230) nm. Seguidamente, se obtuvo la relación $\frac{absorbancia/}{masa\ de\ muestra}$ de cada analito, utilizando la absorbancia de 280 nm, esto debido a que se ha demostrado que los compuestos fenólicos, al ser sustancias aromáticas, se puede determinar su absorción mediante espectroscopía UV a esta longitud de onda, disminuyendo la probabilidad de absorción de otros compuestos presentes en la fresa con esta longitud de onda [59–61].

Finalmente, los resultados de la relación absorbancia/masa de cada uno de los analitos se tabularon y se les aplicó un análisis estadístico siguiendo la sección 3.5, con el objetivo de determinar si algún disolvente reportado por la literatura mejora el proceso de extracción de los metabolitos secundarios de las fresas.

3.3.2. Análisis de cantidad de extracciones necesarias

Para determinar el número de extracciones necesarias para asegurar la mayor eficiencia de extractos, se procedió a plantear una cuantificación de extracciones múltiples, utilizando metanol al 80 % v/v como disolvente, debido a que fue el disolvente que mejor relación $\frac{absorbancia/}{masa\ de\ muestra}$ se obtuvo, acorde a lo descrito en el punto anterior. Seguidamente, se ejecutó el estudio de la cantidad de extracciones, tomando como base 1, 2, 3 o 4 extracciones para cada muestra, en donde para esto se midió aproximadamente 75 mg de la muestra compuesta de fresa por triplicado para cada prueba con cantidad de extracciones distintas. Esta metodología permitió confirmar si las extracciones múltiples para aislar los analitos de las fresas son más eficientes que la extracción única [62].

El proceso de extracción se realizó, agregando 3 mL de metanol al 80 % v/v a cada muestra. Seguidamente, se llevó el extracto a baño ultrasónico por 5 minutos y luego se pasó a una centrífuga Thermo Scientific Sorvall ST 8R a 2500 rpm por 7 minutos. El extracto líquido se trasvasó a balones aforados de 10 mL. El proceso de extracción se repitió según la cantidad de extracciones necesarias para cada tipo de repetición (1, 2, 3 o 4 extracciones). Finalmente, se agregó HCl 0,1 % v/v a cada muestra para preservar los metabolitos secundarios y se aforó los balones aforados con el disolvente de extracción [32].

Para cuantificar la cantidad necesaria de extracciones para asegurar la mayor eficiencia de extractos, se utilizó la metodología Folin-Ciocalteu, en donde se preparó una disolución madre de 0,1 mg/mL de Ácido gálico para generar una curva de calibración de 20 % a 100 % mg/mL de ácido gálico. Posteriormente, en una placa de poliestireno con 96 cantidad de pocillos, que elimina las interferencias de radiación UV se agregó 30 µL por triplicado de cada patrón de la curva de calibración y 30 µL por triplicado relación 1:1 de cada muestra. Adicionalmente, en cada pocillo se adicionó 200 µL de agua grado Milli Q, 15 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu (1,2-naftoquinona-4-sulfonato de sodio) y 50 µL de Na_2CO_3. Finalmente, la placa de microtitulación se llevó a un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT, en donde se precalentaron las muestras a 40 °C para posteriormente determinar la concentración espectrofotométricamente a 755 nm, reportando la concentración en miligramos de Ácido gálico equivalentes por miligramo de masa de muestra [59].

Finalmente, las concentraciones por medio de la metodología Folin-Ciocalteu se tabularon y se les aplicó un análisis estadístico siguiendo la sección 3.5, con el objetivo de determinar si existe diferencia significativa en la concentración de metabolitos secundarios con respecto a cantidad de extracciones realizadas a las muestras de fresas.

3.4. Análisis de metabolitos secundarios de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente

3.4.1. Polifenoles totales por medio de Folin-Ciocalteu

Para realizar los análisis de metabolitos expuestos a distintos tipos de radiación incidente se midió aproximadamente 75 mg de muestra por triplicado de cada una de las fresas segregadas en la sección 4.2. Luego, a cada muestra se le realizó un proceso de extracción, agregando 3 mL de metanol al 80 % v/v. Seguidamente, se llevó el extracto a baño ultrasónico por 5 minutos y se terminó centrifugando la muestra a 2500 rpm por 7 minutos. El extracto líquido se trasvasó a balones aforados de 10 mL. El proceso de extracción se repitió por triplicado, según los resultados en la sección 4.3 y se procedió a refrigerar los extractos para los restantes análisis de metabolitos [32].

Luego se procedió a cuantificar la cantidad de polifenoles totales de los extractos de muestras por medio de la metodología Folin-Ciocalteu, basándose en la metodología planteada por Weber y colaboradores, 2017 con algunas variaciones, donde se preparó una disolución madre de 0,1 mg/mL de ácido gálico para generar una curva de calibración de 20 % a 100 % mg/mL de la disolución madre de ácido gálico. Posteriormente, en una placa, se agregó 30 µL por triplicado de cada patrón de la curva de calibración y 30 µL por triplicado relación 1:1 de cada muestra. Adicionalmente, en cada pocillo se adicionó 200 µL de agua grado Milli Q, 15 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu (1,2-naftoquinona-4-sulfonato de sodio) y 50 µL de Na_2CO_3 al 10 %. Finalmente, el equipo de microplacas se llevó a un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT, en donde se precalentaron las muestras a 40 °C para posteriormente determinar la concentración espectrofotométricamente a 755 nm.

A partir de los resultados se obtuvo una curva de calibración de ácido gálico, donde se obtuvo la concentración de las muestras. Seguidamente, se utilizó la ecuación 9 para reportar la concentración de polifenoles totales en cada una de las muestras en miligramos de ácido gálico equivalentes por miligramo de masa de muestra.

$$Conc\ (mg\ EAG/gMS) = \frac{Conc\left(\frac{mg\ Ácid\ Galico\ Equiv}{mL}\right) * Fact\ Diluc\ \left(\frac{mL}{mL}\right) * Balon\ (mL)}{Masa\ Seca\ Lioflizada\ (g)}$$

Ecuación 9. Obtención de la concentración de polifenoles totales en las muestras de fresas de distintos tipos de radiación incidente reportadas como miligramos de ácido gálico equivalentes por miligramo de masa de muestra

Finalmente, y de acuerdo con los resultados, se realizó un análisis estadístico de los resultados siguiendo el procedimiento de la sección 3.5, para determinar si existe diferencia significativa en la cantidad de polifenoles totales de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente.

3.4.2. Antocianinas totales por medio de pH diferencial

a) Aislamiento y purificación de la cianidina-3-glucósido de las moras

Para obtener la concentración de antocianinas totales de las muestras de fresas por el método de pH diferencial se requirió preparar una curva de calibración a partir de una de las antocianinas mayoritarias de las fresas, la cual la literatura indica que uno de estos compuestos es la cianidina-3-glucósido [32,57]. Para obtener este compuesto se aisló y se purificó a partir de las moras, debido a que en este fruto se encuentra como antocianina principal y la obtención se ve facilitada [63,64].

El aislamiento de la antocianina se realizó al morterizar 250 g de moras, para luego colar la muestra y trasvasar el líquido a un beaker. Por otra parte, el sólido remanente se colocó en otro recipiente con agua destilada y luego en baño ultrasónico por 30 minutos para asegurar la máxima extracción de los analitos. Seguidamente el líquido acuoso se filtró al vacío y se procedió a colocar en embudo separador para separar las fases orgánicas y acuosas agregando 25 mL de diclorometano, repitiendo la separación por triplicado y manteniendo al final la disolución acuosa. Finalmente, la muestra se concentró al colocarla en un rotavapor.

Luego, el proceso de purificación se realizó al inyectar 200 µL de la muestra en un Cromatógrafo Líquido de Alto Desempeño (HPLC, por sus siglas en el idioma inglés) marca Shimadzu LC-20 con detector de matriz de diodos, utilizando para esto una columna C18 250 x 100 mm, sin horno de precalentamiento. Para realizar el método planteado, se utilizaron disoluciones de metanol y agua con ácido fórmico al 0,01 % v/v, durante una corrida de 20 minutos, utilizando los flujos y las concentraciones explicados en el Cuadro 10. La muestra purificada (Muestra #1) se recolectó en un tiempo de retención aproximada de 7:40 minutos, utilizando una longitud de onda de 515 nm, repitiendo el mismo proceso en cada inyección de 200 µL de la muestra hasta consumir el vial. Posteriormente al inyectar 25 µL de la Muestra #1 en un UHPLC+ con detector de arreglo de diodos, Thermo Scientific Ultimate 3000 se verificó que el extracto aún estaba contaminado por otros compuestos, por esto se realizó un segundo proceso de purificación. Este método se realizó inyectando 100 µL de la Muestra #1 en una columna C18 (1,6 x 250) mm, con los mismos disolventes a diferentes concentraciones y flujos (Cuadro 10) en corridas de 20 minutos, recolectando la muestra doblemente purificada (Muestra #2) en un tiempo de retención aproximada de 7:40 minutos, utilizando una longitud de onda de 515 nm, repitiendo el mismo proceso en cada inyección de 100 µL de la Muestra #1 hasta consumir el vial. Al finalizar la purificación de la Muestra #2, el disolvente se evaporó en rotavapor obteniendo la muestra en estado sólido para ser utilizada como disolución patrón para la respectiva curva de calibración.

El punto de recolección de la muestra purificada de cianidina-3-glucósido según los cromatogramas obtenidos en ambos procesos de purificación (Muestra #1 y Muestra #2) se muestran en la Figura 6.

Cuadro 10. Métodos utilizados para realizar la purificación de la cianidina-3-glucósido proveniente de la mora utilizando un HPLC Shimadzu LC-20 con detector de matriz de diodos y una longitud de onda de 515 nm como referencia

Purificación con columna C18 (250 x 100) mm			**Purificación con columna C18 (1,6 x 250) mm**		
Tiempo	**Acción**	**Valor**	**Tiempo**	**Acción**	**Valor**
0,00	Concentración	30 % MeOH	0,01	Concentración	30 % MeOH
6,00	Concentración	35 % MeOH	6,00	Concentración	35 % MeOH
8,00	Flujo	2,5 mL/min	8,00	Flujo	1,5 mL/min
14,00	Concentración	60 % MeOH	14,00	Concentración	60 % MeOH
14,50	Concentración	90 % MeOH	14,50	Concentración	90 % MeOH
16,00	Flujo	2,5 mL/min	16,00	Flujo	1,5 mL/min
17,00	Concentración	25 % MeOH	17,00	Concentración	25 % MeOH
17,00	Flujo	1 mL/min	17,00	Flujo	1 mL/min
17,00	Fin	N/A	18,00	Fin	N/A

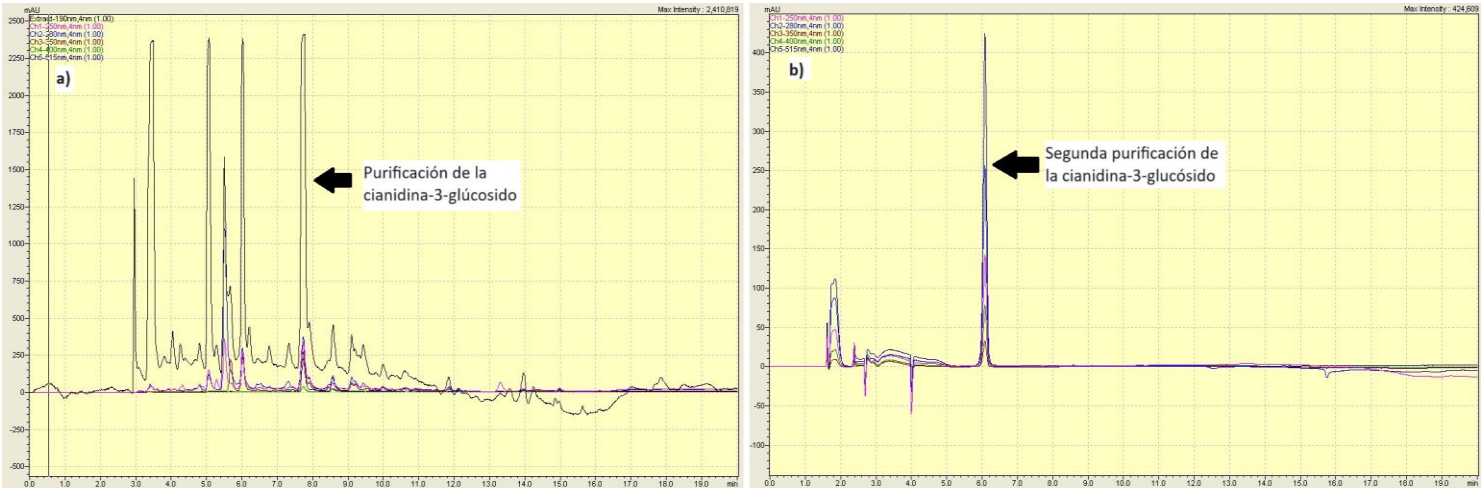

Figura 6. Ejemplos de curva obtenidas durante la primera (a) y segunda (b) purificación de la cianidina-3-glucósido a partir del aislamiento acuoso de las moras, utilizando el software LabSolutions y un HPLC Shimadzu LC-20 con detector de matriz de diodos y una longitud de onda de 515 nm como referencia

Finalmente, cuando se obtuvo la muestra purificada, se inyectó 25 µL en un UHPLC+ con detector de arreglo de diodos, Thermo Scientific Ultimate 3000 para verificar que el extracto no estuviera contaminado por otros compuestos. Adicionalmente, otro porcentaje de la muestra se inyectó en un HPLC masas Waters Alliance 2695, para obtener el espectro de masas con el cual se podría confirmar el compuesto que fue aislado y purificado, tal y como se muestra en los espectros mostrados en la sección de resultados.

b) Determinación de la concentración de antocianina totales en las fresas

Con la antocianina cianidina-3-glucósido extraída previamente de la mora se generó una disolución madre de 0,48 mg/mL, de la cual se preparó una curva de calibración, utilizando patrones de 0,048-0,240 mg/mL. Adicionalmente se preparó un buffer de pH 1,0, acidificando con HCl y un buffer de pH 4,5 y 0,4 mol/L, y utilizando ácido acético y acetato de sodio para generar la disolución reguladora. Luego, en una microplaca se adicionaron 75 µL de patrón y 125 µL de buffer de pH 1,0 en cada pocillo por triplicado. Con los mismos patrones en otros pocillos, se agregó 75 µL de patrón y 125 µL de buffer de pH 4,5 en cada pocillo por triplicado (Figura 7). Se leen finalmente los patrones a 510 nm y 700 nm, utilizando un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT y el software BioTek Gen5. El análisis se realizó posterior a un periodo de agitación por 10 segundos a velocidad media y un periodo de incubación de 30 minutos en el lector de microplacas.

Con respecto a las muestras, a partir de pruebas previas se adicionó 75 µL de muestra previamente extraída con metanol al 80 % de cada uno de los tipos de radiación incidente en una microplaca y se adicionó 125 µL de buffer de pH 1,0 en cada pocillo por triplicado. Luego, se repitió el mismo proceso y volumen de muestra, pero adicionando 125 µL de buffer de pH 4,5 en cada pocillo por triplicado (Figura 7). Finalmente, las muestras se leyeron a 510 nm y 700 nm en un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT posterior a un periodo de incubación de 30 minutos.

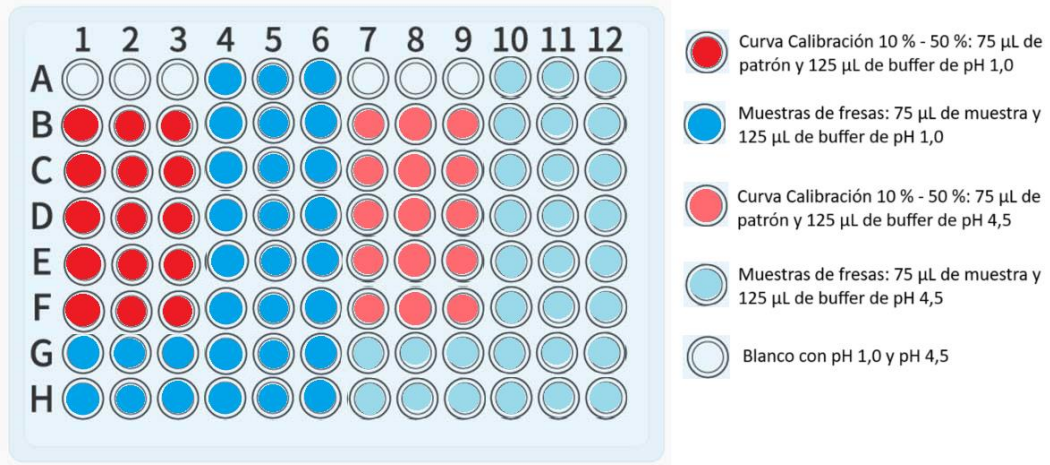

Figura 7. Distribución y volúmenes de adición de las curvas y muestras en la placa microtituladora para leer las absorbancias de los analitos a 510 nm y 700 nm, utilizando buffers de pH 1,0 y pH 4,5 para la cuantificación de antocianinas por el método de pH diferencial

Cuando se obtuvieron las absorbancias de las muestras a 510 nm y 700 nm se utilizó la ecuación 10 para calcular la absorbancia final de cada muestra, para luego determinar el

contenido total de antocianinas mediante la curva de calibración de cianidina-3-glucósido realizada. Se reporta al final la concentración corregida de las muestras como µg de cianidina-3-glucosido equivalentes por gramo de muestra seca.

$$A_f = [(A510 - A700)\,pH_1 - (A510 - A700)\,pH_{4,5}]$$

Ecuación 10. Cálculo de la absorbancia final de las muestras leídas a 510 nm y 700 nm, utilizando soluciones tampón de 1,0 y 4,5 leído en un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT

En donde la absorbancia final (A_f) es igual a la absorbancia medida a 510 nm ($A_{510, pH1}$) menos la absorbancia a 700 nm ($A_{700, pH1}$) utilizando el buffer de pH 1,0, menos la diferencia entre la absorbancia a 510 nm ($A_{510, pH4.5}$) y 700 nm ($A_{700, pH4.5}$), utilizando el buffer de pH 4,5 [65].

Finalmente, cuando se obtuvo la concentración de antocianinas de las muestras se aplicó un análisis estadístico de comparación de muestras K, siguiendo la sección 3.5 para evaluar si existe diferencia significativa en la cantidad de antocianinas totales de las fresas cuando estas se exponen a diferentes tipos de radiación incidente.

3.4.3. Azúcares totales por el método Fenol-Sulfúrico

Debido a que la literatura confirma que la glucosa es uno de los principales azúcares de las fresas [66,67] se preparó una disolución madre de glucosa de 175 µg/mL, con la cual se generó una curva de calibración de 10 µg/mL a 70 µg/mL. Luego, para analizar la cantidad de azúcares totales se utilizó la metodología Fenol-Sulfúrico, en donde 2 mL de los extractos, en relación 1:120, obtenidos de la sección 4.4.1, se les agregó 50 µL de Fenol al 80 % $^{v}/^{v}$ y 5 mL de H_2SO_4 concentrado. Finalmente, se dejaron las muestras incubar por 30 minutos y se analizaron espectrofotométricamente en un equipo marca Thermo Fisher modelo Evolution 350 UV-Vis a 483 nm, debido a un previo barrido espectral [66].

A partir de los resultados se obtuvo una curva de calibración de glucosa, donde se obtuvo la concentración de las muestras a partir de las absorbancias obtenidas. Seguidamente, se utilizó la ecuación 11 para reportar la concentración de azúcares totales en cada una de las muestras en miligramos de glucosa equivalentes por miligramo de muestra medida.

$$Conc\left(\frac{mg\ gluc}{mg\ muest}\right) = \frac{\left(Conc\left(\frac{\mu g}{mL}\right) * Fact\ Diluc\ \left(\frac{mL}{mL}\right) * Balon\ (mL)\right) * \frac{1\ mg}{1000\ \mu g}}{Muestra\ Seca\ Liofilizada\ (mg)}$$

Ecuación 11. Obtención de la concentración de azúcares totales en las muestras de fresas de distintos tipos de radiación incidente reportadas como miligramos de glucosa equivalentes por miligramo de muestra medida

Luego, con las concentraciones obtenidas se realizó un análisis estadístico, siguiendo la metodología planteada en la sección 3.5, para evaluar si existe una diferencia significativa en la concentración de azúcares totales de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente.

3.5. Evaluación estadística para la validación de hipótesis en las mediciones de radiación incidente y la evaluación de las propiedades de las fresas al exponerse a distintos tipos de radiación incidente

A partir de los datos obtenidos en las secciones 1.2, 1.3, 3.1, 3.3 y 3.4, se realizó un análisis estadístico para validar las hipótesis planteadas en cada una de estas secciones y las cuales se encuentran resumidas en el Cuadro 11. Para realizar la evaluación estadística se utilizó el software licenciado JMP Pro-14, en donde se tabuló la información obtenida en cada una de estas secciones y se aplicó una comparación de muestras K para validar cada una de las respectivas hipótesis. El diagrama de flujo sobre el tratamiento estadístico se presenta en la Figura 8.

Cuadro 11. Resumen de estadísticos de las diferentes variables e hipótesis a analizar en las secciones de radiación incidente y la determinación de la calidad de las fresas al exponerse a diferentes tipos de radiación incidente

Sección	Variable	Unidad de medición	Hipótesis
1.2	PPFD diaria	µmol m^{-2} s^{-1}	H_0: No hay diferencia significativa en la radiación incidente que reciben las plantas de fresas al estar protegidas de la radiación solar directa mediante el uso de un invernadero H_1: Existe diferencia significativa en la radiación incidente que reciben las plantas de fresas al estar protegidas de la radiación solar directa mediante el uso de un invernadero
1.3.1	1. Tamaño tallo 2. Tamaño de hoja	cm cm	H_0: No existe una diferencia significativa en la altura de los tallos y el tamaño de las hojas de las plantas de fresas al recibir diferente tipo de radiación incidente. H_1: Existe una diferencia significativa en la altura de los tallos y el tamaño de las hojas de las plantas de fresas al recibir diferente tipo de radiación incidente.
1.3.2	PPFD por punto de medición	µmol m^{-2} s^{-1}	H_0: No existe una diferencia significativa en la radiación incidente que reciben las plantas de fresas dentro de una misma sección de radiación incidente. H_1: Existe una diferencia significativa en la radiación incidente que reciben las plantas de fresas dentro de una misma sección de radiación incidente.
3.1	1. Grosor	mm	H_0: No existe una diferencia significativa en la altura

	2. Altura	mm	y el ancho de las fresas cuando se exponen a diferentes tipos de radiación incidente. H_1: Existe una diferencia significativa en la altura y el ancho de las fresas cuando se exponen a diferentes tipos de radiación incidente.
3.3.1	Tipo de disolvente	Absorbancia/ masa muestra (UA/mg)	H_0: No hay diferencia significativa en el tipo de disolvente utilizado para mejorar el proceso de extracción de los analitos de las fresas H_1: Existe diferencia significativa en el tipo de disolvente utilizado para mejorar el proceso de extracción de los analitos de las fresas
3.3.2	Número de extracciones	miligramos de ácido gálico equivalentes por miligramo de muestra seca (mg AG/mg MS)	H_0: No existe diferencia significativa en la concentración de analitos respecto a cantidad de extracciones H_1: Existe diferencia significativa en la concentración de analitos respecto a cantidad de extracciones.
3.4.1	Tipo de radiación incidente	miligramos de ácido gálico equivalentes por miligramo de muestra seca (mg AG/mg MS)	H_0: No existe diferencia significativa en la cantidad de polifenoles totales de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente. H_1: Existe diferencia significativa en la cantidad de polifenoles totales de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente.
3.4.2	Tipo de radiación incidente	µg de cianidina-3-glucosido equivalentes por gramo de muestra seca (µg C3G/ mg MS)	H_0: No existe diferencia significativa en la cantidad de antocianinas totales de las fresas cuando estas se exponen a diferentes tipos de radiación incidente. H_1: Existe diferencia significativa en la cantidad de antocianinas totales de las fresas cuando estas se exponen a diferentes tipos de radiación incidente.
3.4.3	Tipo de radiación incidente	miligramos de glucosa equivalentes por miligramo de muestra (mg Glu/ mg MS)	H_0: No existe una diferencia significativa en la concentración de azúcares totales de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente. H_1: Existe una diferencia significativa en la concentración de azúcares totales de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente.

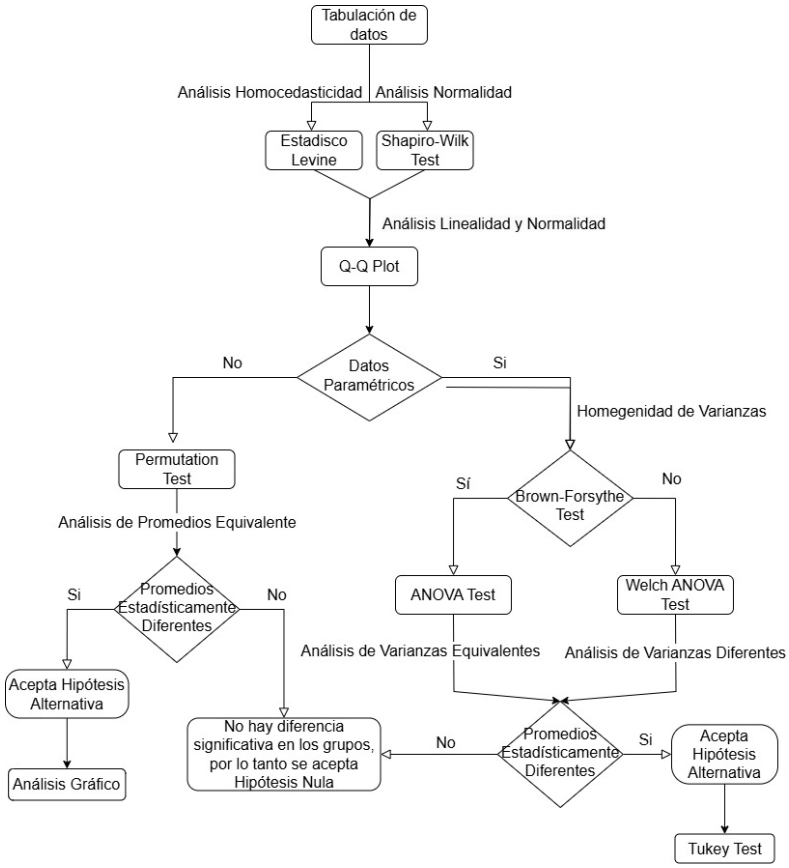

Figura 8. Diagrama de flujo del análisis estadístico de comparación de muestras K para la validación de hipótesis en las mediciones de radiación incidente y la evaluación de las propiedades de las fresas al exponerse a distintos tipos de radiación incidente

Inicialmente, se realizaron pruebas de normalidad y de homocedasticidad mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene respectivamente, para evaluar si los datos presentados seguían una tendencia paramétrica o no, [68,69]. Adicionalmente, se realizaron gráficos Q-Q plot para observar la distribución de los datos en los cuartiles. En caso de que las pruebas anteriores demostraran que se obtuvo datos paramétricos, se evalúo si los datos cumplían con el supuesto de homogeneidad de la varianza, mediante la prueba de Brown-Forsythe. Si se cumplía este supuesto se realizó un análisis de promedios aplicando el ANOVA Test [70]. Por otra parte, en caso de que la anterior prueba indique que los datos son heterocedásticos, se utilizó el Welch ANOVA Test, el cual asume que las varianzas de los datos no son iguales [71]. Para ambas pruebas ANOVA, en caso de que se demostrara que los promedios no son estadísticamente diferentes, se explica que no hay una diferencia significativa entre los grupos, por lo cual se aceptaba la hipótesis nula. En contraposición, si se demostraba una diferencia significativa en los promedios de los datos, se aceptaba la hipótesis alternativa y se aplicó el Tukey Test, para realizar una comparación de las medias de cada uno de los grupos de datos, para verificar cuales conjuntos presentan una diferencia significativa con respecto a los otros [72].

Por otra parte, para los casos en que las pruebas de normalidad y homocedasticidad demostraran que se obtuvo datos no paramétricos, se realizaron Permutation Test, en donde se permutaron los datos deseados 10000 veces para comparar las medias de los grupos analizados [73]. En caso de que se demostrara que los promedios no son estadísticamente diferentes, se explica que no hay una diferencia significativa entre los grupos, por lo cual se aceptaba la hipótesis nula. En contraposición, si se demostraba una diferencia significativa en los promedios de los datos, se aceptaba la hipótesis alternativa y se hizo un análisis gráfico para determinar el o los grupos que presentaron alguna diferencia significativa con respecto a los otros [74].

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Efecto de utilizar diferentes tipos de radiación incidente en el crecimiento de fresas, en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia

1.1. Diferencia en la radiación incidente al utilizar invernaderos para el crecimiento de fresas

Conocer la distribución espectral de los rayos del sol y la variación en la intensidad de luz según la hora del día y la ubicación geográfica, resulta de gran importancia, ya que esto es un factor que limita la distribución y el crecimiento de las plantas alrededor del mundo [75]. Esto debido a que la radiación solar es la principal fuente de energía de las plantas para generar la fotosíntesis, lo cual esta relación directa podría dar indicios de la calidad de cosechas que se pueden obtener [76].

Para conocer la diferencia en la distribución de energía espectral (Spectral, Power Distribution, SPD) en el lugar, se realizaron mediciones de radiación incidente en el invernadero ubicado en el sector de Vara Blanca de Heredia a lo largo de un día, se obtuvieron los promedios de PPFD en diferentes puntos dentro y fuera del invernadero durante diferentes horas solares. En la Figura 9 se observa como la radiación incidente incrementa hasta la mitad del día y posteriormente vuelve a disminuir en ambas zonas. Además, se aprecia que a la mitad del día es cuando hubo una mayor diferencia en la radiación incidente entre la zona interna y externa a una misma hora solar. Adicionalmente, los resultados demuestran que en todas las horas solares el PPFD promedio fue mayor en la zona externa que en la interna.

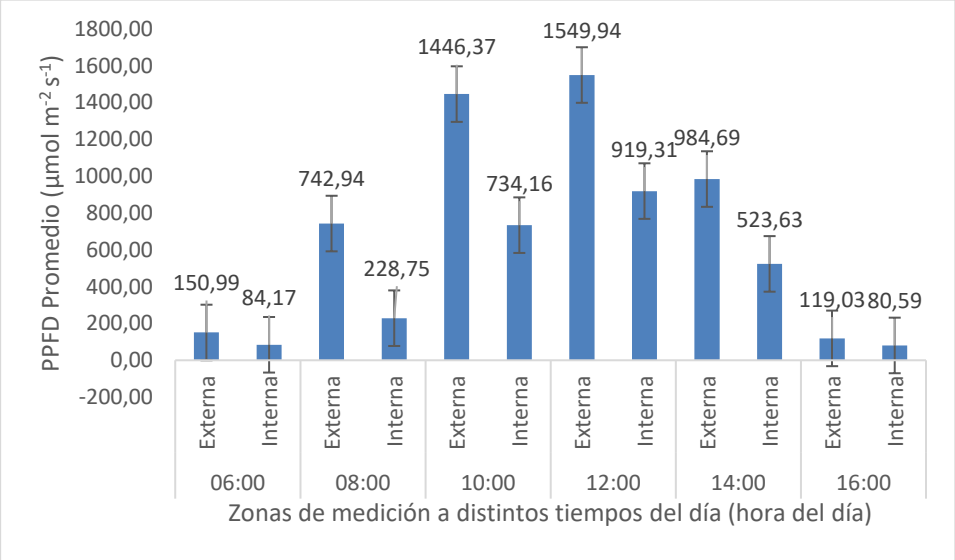

Figura 9. PPFD promedio medido en diferentes puntos de zonas externas e internas de un invernadero en Vara Blanca de Heredia a diferentes horas solares durante un día, a partir de 12 mediciones por zona y hora

Adicionalmente para confirmar que efectivamente existe una diferencia significativa en la radiación incidente que reciben las plantas de fresas al estar protegidas de la radiación solar directa mediante el uso de un invernadero, se aplicó el análisis estadístico de comparación de muestras K, mostrado en el Cuadro 12.

Cuadro 12. Pruebas estadísticas aplicadas al PPFD promedio obtenido en diferentes puntos de zonas externas e internas de un invernadero en Vara Blanca de Heredia a diferentes horas solares durante un día utilizando el software JMP-14

Normalidad (Shapiro-Wilk)	Homocedasticidad (Levene)	Test de permutación
< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

Los resultados mostrados en el Cuadro 12 demuestran que los datos se comportan de manera no paramétrica y además con la prueba de permutación se confirmó que existe diferencia significativa en las medias los tratamientos medidos, confirmando una variabilidad en la radiación incidente que reciben las plantas de fresas al estar protegidas de la radiación solar directa, utilizando un invernadero.

Finalmente, se realizó un análisis gráfico entre los datos de radiación incidente cuando se utilizó o se eliminó la presencia del invernadero (Figura 10). Se obtuvo que la cantidad y la variabilidad de la radiación (PPFD) es mayor cuando no se utiliza un invernadero (Externa) ((832 ± 587) µmol m^{-2} s^{-1}) en comparación con el uso del invernadero (Interna) ((428 ± 354) µmol m^{-2} s^{-1}). Lo cual permitió confirmar que cuando se utiliza invernaderos, se obtiene una radiación más uniforme en toda el área analizada junto con una disminución

significativa en la radiación incidente que reciben las plantas.

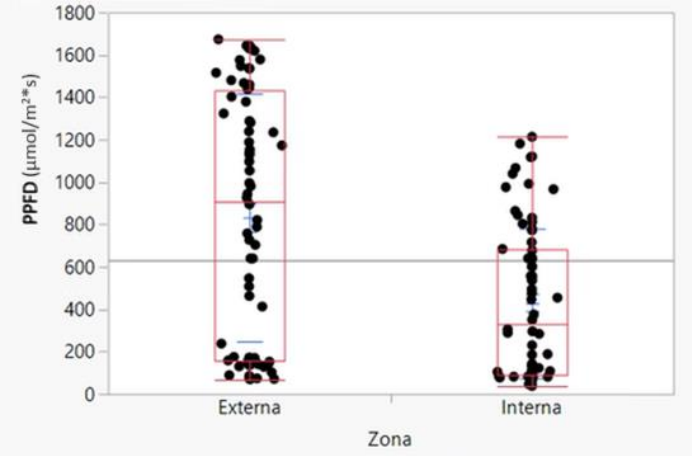

Figura 10. Análisis gráfico del PPFD obtenido al medir la radiación incidente en puntos externos e internos de un invernadero en el sector de Vara Blanca de Heredia, utilizando el software JMP-14

En el caso del aumento en la cantidad de PPFD a mitad del día solar, la literatura confirma que se debe principalmente a que los rayos del sol, al llegar a la Tierra, pueden tener una trayectoria oblicua, larga o corta a través de la atmósfera según la estación, ubicación y principalmente la hora del día [77]. La radiación directa del sol ocurre con una forma gaussiana, presentando su mayor punto de radiación solar, cerca del mediodía y mientras conforme ocurre el orto (momento donde sale el sol en el horizonte) y el ocaso (momento cuando se oculta el sol), la elevación solar comienza a disminuir, presentando sus valores de radiación solar mínimos [76]. Adicionalmente, se sabe que los invernaderos cumplen un rol importante en controlar la transmisividad (proporción de radiación que atraviesa un objeto), cuando los ángulos de incidencia del sol son perpendiculares, sin embargo, para la radiación difusa el control de transmisividad es poca, por lo cual esto explica porque se observa una mayor diferencia en el promedio de PPFD a medio día entre las zonas en comparación a otras horas solares [76].

Además, la explicación del por qué se obtienen datos no paramétricos en los valores de PPFD se podría atribuir, principalmente, a que durante el día existe una atenuación de la radiación solar debido a la dispersión o la absorción en la atmósfera, causado por sustancias como nitrógeno y oxígeno, así como por partículas de polvo, aerosoles y gotas de agua, que propician que estos valores puedan variar entre cada toma de muestra [75].

Por lo tanto, a partir de los resultados obtenidos es que se confirma que efectivamente la utilización del invernadero en la parcela #9 de la finca Gamaliel cumple su objetivo de disminuir la radiación incidente directa del sol en más de un 51 %. Adicionalmente, la evidencia científica ha confirmado que estos lugares, al permitir principalmente el paso de

la radiación difusa, mejora el crecimiento de las plantas, ya que disminuye el sombreo de las hojas superiores sobre las hojas inferiores, lo que generó una mejor penetración de fotones entre la vegetación [76]. Además, se ha demostrado que valores altos en estos factores también afectan el desarrollo de los pigmentos rojos de las fresas, así como su calidad nutricional, reforzando con esto, la necesidad de utilizar estos invernaderos en el proyecto Gamaliel para el cultivo de las fresas [22,78].

1.2. Efecto de la radiación incidente en el crecimiento de fresas

1.2.1. Variabilidad en la cantidad de radiación incidente en distintos puntos de una misma zona de radiación incidente

Al utilizar las mediciones de radiación incidente en los distintos puntos (tratamientos con radiación) de una zona con un mismo color de bombillo, se aplicó el análisis estadístico de la sección 3.5 para determinar si existe una diferencia significativa en la radiación incidente que reciben las plantas de fresas dentro de una misma zona de radiación incidente. A partir de este análisis estadístico se aplicaron las siguientes pruebas a cada una de las zonas, obteniendo los resultados del Cuadro 13.

Cuadro 13. Pruebas estadísticas aplicadas a los tratamientos de cada una de las zonas con distintos tipos de radiación incidente utilizando el software JMP-14

Zona de Radiación	Normalidad (Shapiro-Wilk)	Homocedasticidad (Levene)	Prueba de Permutación
Azul	0,2612	< 0,0001	0,9190
Rojo	0,0068	< 0,0001	0,5292
Verde	< 0,0001	< 0,0001	0,1576
Control	0,0030	0,0237	0,0027

Los análisis estadísticos del Cuadro 13 permitieron determinar que los datos de ninguna de las zonas de radiación incidente se comportan de manera paramétrica, siendo necesario aplicar pruebas de permutación, en donde se permutaron los datos 10000 veces para todos los casos. De esta manera, se obtuvo como resultado que los tratamientos de las zonas de radiación rojas, verdes y azules tienen valores de p-value > 0,05, utilizando un nivel de significancia de 5 % en todos los casos. Esto demuestra que no hay suficiente evidencia estadística para mostrar una diferencia significativa en la radiación incidente que reciben las plantas de fresas dentro de cada una de estas zonas.

Sin embargo, para la prueba de permutación en la zona control, se obtuvo un valor de p-value < 0,05, lo cual indica que uno o varios puntos medidos poseen una diferencia significativa en la radiación incidente que reciben las plantas de fresas dentro de esta zona. A partir de esto, se aplicó un análisis gráfico (Figura 11), para comparar los resultados entre cada tratamiento. En esta figura se observa, que el punto 4 ((318 ± 127) µmol $m^{-2} \cdot s^{-1}$) posee

una diferencia en los datos, con respecto a los tratamientos 5 y 6 ((173 ± 50) µmol $m^{-2} \cdot s^{-1}$ y (164 ± 52) µmol $m^{-2} \cdot s^{-1}$, respectivamente), debido a que el primero posee una mayor variabilidad de los datos lo cual genera que el promedio sea distante con respecto a los otros dos puntos.

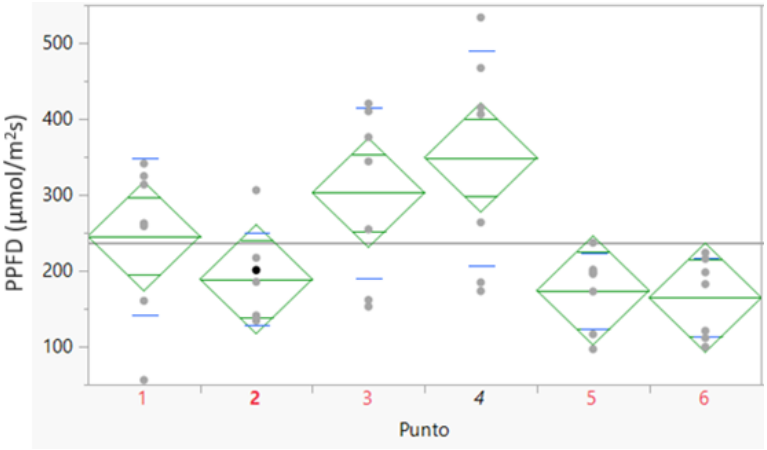

Figura 11. Análisis gráfico del PPFD obtenido al medir la radiación incidente en los distintos tratamientos de la zona de radiación incidente control, utilizando el software JMP-14

A partir de estos resultados, se pudo concluir que no existió impacto significativo en utilizar y combinar las fresas de cada uno de los tipos de radiación incidente que recibieron luz artificial, para realizar posteriormente los análisis de calidad de las fresas, debido a que todas crecieron con una radiación homogénea sin variación significativa. Esto ocurre porque como el plástico negro absorbe la radiación solar, este color genera un ambiente cálido, que beneficia el crecimiento de los cultivos al crear un microclima homogéneo dentro del lugar, sin mucha variación entre la radiación de un punto y otro [78].

Sin embargo, en el caso de las muestras control que no recibieron luz artificial para su crecimiento, se concluyó que las plantas que crecieron cerca de los tratamientos 5 y 6 presentaron una variación significativa con respecto al punto 4 (Figura 12), lo cual indicaba que la radiación no fue homogénea entre estos puntos y no era factible realizar la combinación de fresas que crecieron entre las plantas de cada tipo. Esta variación pudo presentarse debido a que las mediciones de radiación de las muestras control se realizaron en una parcela adyacente al plástico negro, que se colocó para hacer la segregación de radiación artificial entre cada una de las secciones, en donde específicamente las plantas que involucraban los tratamientos 5 y 6 eran los que se encontraban al lado del plástico negro, en comparación con el punto 4, el cual poseía una distancia más significativa al plástico, siendo la manta negra colocada el posible principal factor de esta variación.

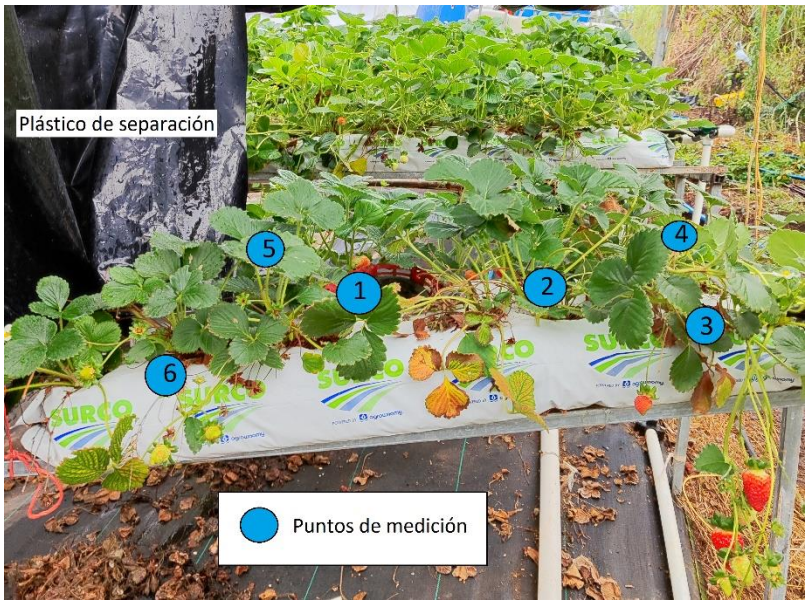

Figura 12. Representación de los puntos de medición de PPFD, en donde los puntos 5 y 6 se encontraban más adyacentes al plástico negro en comparación al tratamiento 4

La literatura apoya esta hipótesis debido a que la Radiación Fotosintética Activa (PAR) es directamente afectada por el color del plástico, debido a que este material puede variar la transmitancia, la absorbancia y la reflectancia de las ondas de radiación largas y cortas. En el caso del plástico color negro, absorbe eficientemente la radiación UV, visible e infrarroja del sol, mientras que las mantas blancas o transparentes, como las que tiene el techo del invernadero, ocasionan el efecto contrario, permitiendo el paso de la mayoría de las ondas de luz [79]. Esta diferencia en la absorción de la radiación entre los colores de las mantas puede afectar el microclima y el balance de radiación al haber variaciones de absortividad versus reflectividad entre cada punto de medición [80].

Este resultado no representó un impacto significativo para el proyecto, debido a que como se deseaba estudiar la variación entre plantas crecidas con radiación artificial, en comparación con la radiación que reciben las plantas en todo el invernadero. Las muestras de fresas control que se utilizaron para los siguientes análisis fueron una mezcla de fresas cosechadas de toda la parcela #9 del proyecto Gamaliel, en donde no hubo luz artificial involucrada, por lo cual las probabilidades de haber obtenido y analizado muestras de fresas de los tratamientos 5 y 6 fueron mínimas.

1.2.2. Efecto de la radiación incidente en crecimiento de las plantas de fresas

La luz es uno de los principales factores ambientales abióticos que aseguran un correcto crecimiento de las plantas, protegiéndolas contra los daños y haciéndolas más

fuertes [81]. Por eso, al manipular el tipo de luz que reciben los cultivos puede afectarse el crecimiento de las hojas y de los tallos, provocando alteraciones que son perjudiciales, o pueden traer beneficios [82]. A partir de esto, se ha introducido la utilización de radiación artificial como los bombillos LEDs que han permitido el crecimiento de plantas en ambientes controlados como invernaderos y mediante el cual se pudo observar diferencias físicas en el crecimiento de las plantas utilizando diferentes longitudes de onda en el invernadero en estudio [77].

Para evaluar las diferencias físicas en el crecimiento de las plantas de fresas, conforme se iban tomando mediciones de la radiación incidente para descartar la variabilidad de radiación entre las plantas de fresas de un mismo tipo, se realizaron las mediciones de los tallos y las hojas de plantas que presentaban mayor tamaño, ya que se verificó el crecimiento y la apariencia física de las plantas de fresas con respecto al tipo de radiación incidente que están recibiendo. A partir de estos datos tabulados, se obtuvo el promedio del tamaño de los tallos y las hojas de cada uno de los tipos de radiación incidente durante todo el periodo de cosecha, los cuales se ven representados en la Figura 13.

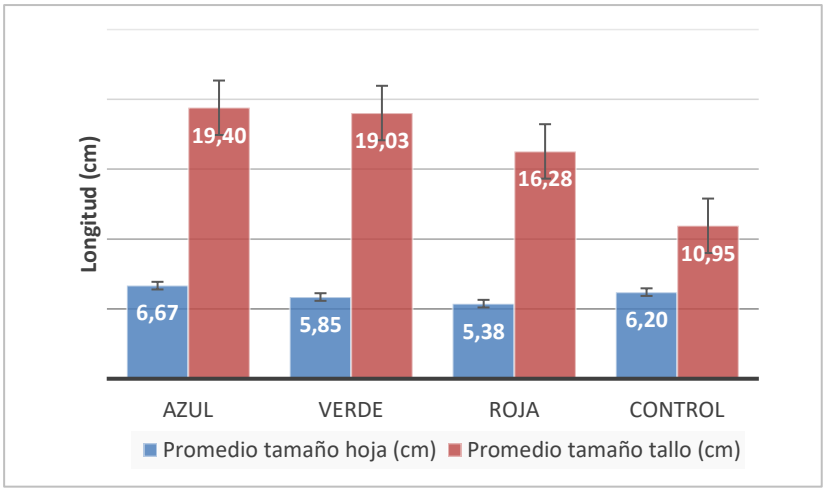

Figura 13. Gráfico de los promedios en los tamaños de las hojas y tallos de las plantas de fresas expuestas a diferentes tipos de radiación incidente, durante un periodo completo de cosecha

Según los datos anteriormente mostrados, parece indicar que las plantas de fresas que crecieron bajo radiación color azul son las que presentaron un tamaño mayor de hojas y de tallos. Mientras que las plantas control, presentaron un menor tamaño de tallo con respecto a las demás muestras, y en segunda posición referente al tamaño de las hojas. Esto hizo que la muestra control presentara una proporción $\frac{\text{tamaño hoja}}{\text{tamaño tallo}}$ del 56,6 %, en comparación a las proporciones de los otros tipos de radiación que oscilaban entre 30,7 % y 34,4 %.

A nivel estadístico se realizó una prueba de muestra K, para confirmar si efectivamente se obtuvo una diferencia significativa en el tamaño del tallo y las hojas de las plantas de fresas expuestas a diferentes tipos de radiación incidente. Inicialmente, en la Figura 14 se graficaron los datos del largo de los tallos y el tamaño de las hojas de las plantas de fresas expuestas a diferentes tipos de radiación incidente artificial para obtener los gráficos Q-Q.

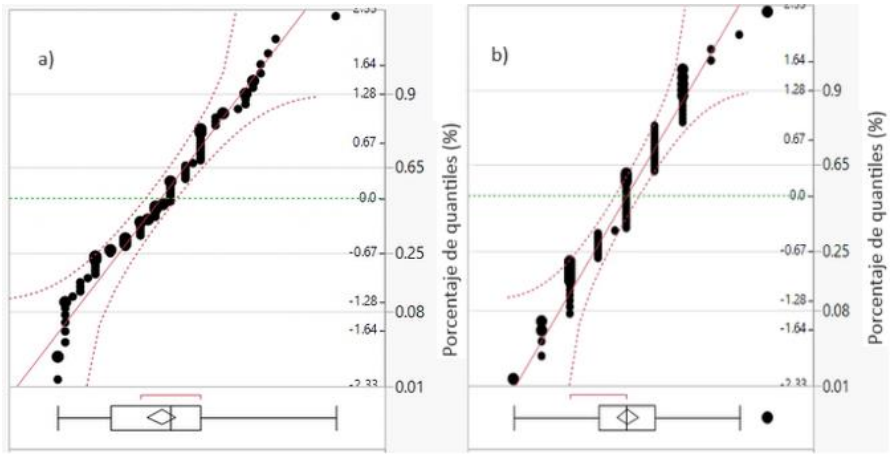

Figura 14. Gráficos Q-Q del largo del tallo (a) y tamaño de las hojas (b) de las plantas de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente utilizando el software JMP-14.

En esta Figura se representa las líneas de coincidencia perfecta de los cuantiles, en donde los datos se encuentran dentro de los parámetros de los cuantiles; sin embargo, no aparentan seguir apropiadamente una tendencia lineal, principalmente para el caso del tamaño de hojas el cual posee muchos datos acumulados en varias secciones el cual dificulta mostrar una aparente linealidad. Razón por la cual se decidió considerar que los datos no son paramétricos, obtenido los resultados estadísticos mostrados en el Cuadro 14.

Cuadro 14. Pruebas estadísticas aplicadas a las medidas del tallo y las hojas de las plantas de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14

Medida	**Normalidad (Shapiro-Wilk)**	**Homocedasticidad (Levene)**	**Permutación Test**
Largo tallo	0,0463	0,0073	0,0523
Tamaño de Hojas	0,0200	0,4063	0,5478

Debido a que las pruebas estadísticas de normalidad y homocedasticidad demostraron igualmente el comportamiento no paramétrico de los datos y posterior a realizar la prueba de permutación 10000 veces con el software JMP-14, en donde se obtuvo valores de p-values > 0,05. Por tal motivo, se concluye que los resultados presentaron que no hay suficiente evidencia estadística para mostrar una diferencia significativa en la altura de los tallos y el tamaño de las hojas de las plantas de fresas al recibir diferente tipo de radiación incidente,

demostrando que las diferencias en los tamaños mostrados en la Figura 13 no fueron significativos. Sin embargo, es importante recalcar que para el largo de los tallos el valor de la permutación es ≈ 0,05, por lo cual sería recomendable para una investigación futura repetir el análisis con una mayor cantidad de muestras para tener datos más concluyentes sobre los resultados no significativos obtenidos[83].

Por otra parte, también se observaron diferencias físicas en el crecimiento de las plantas (Figura 15), en donde se tuvo que las plantas que crecieron bajo radiación azul, a pesar de tener los tallos más largos, muchas de sus plantas presentaban sus tallos caídos. Con respecto a las plantas que crecieron bajo radiación verde, se encontró que eran la que poseían tonalidades con verdes más intensos y con tallos erguidos en dirección hacia el bombillo específico. Por otra parte, las plantas que se expusieron con radiación roja eran las que tenían las plantas más pequeñas y poco erguidas con respecto a los 3 tipos de radiación artificial utilizada, en donde también se apreció algunas tonalidades amarillentas en las hojas. Finalmente, en relación con las plantas control se determinó que estas plantas no tienen un crecimiento hacia arriba como las plantas de radiación artificial sino se expanden hacia los lados con tallos pequeños, pero con hojas grandes.

Figura 15. Diferencias en el crecimiento de las plantas de fresas expuestas a diferentes tipos de radiación incidente

En el caso de las plantas irradiadas con luz azul, la literatura indica que se producen tallos más altos con un incremento de los entrenudos y el grosor del tallo; sin embargo, en este caso muchas de estas plantas presentaron tallos caídos, pero no se le realizó medición al grosor de las plantas [81]. Por otra parte, en el caso de obtener plantas con un verde más intenso al utilizar radiación verde, se debe que esta longitud de onda, junto con la radiación solar diaria que recibieron las plantas incrementa la concentración de clorofilas, el cual es el compuesto que genera este color en las plantas de origen vegetal [81,82].

Con respecto a las plantas cultivadas bajo radiación roja, este rango del espectro electromagnético podría alterar la forma de los tallos y de las hojas (morfogénesis), debido a que este modifica el sistema fitocromo de las plantas, el cual es un fotorreceptor de la luz [84]. Pero se ha demostrado que las plantas, al estar expuestas a una radiación específica del espectro por un largo periodo, comienzan a alterar la composición de clorofila, en donde la radiación roja pudo haber ocasionado una clorosis, el cual es una patología debida a la disminución de clorofila, en donde se generan la coloración amarillenta de las hojas [77]. Con respecto al crecimiento hacia los lados de las plantas control con baja altitud de tallos, se puede deber principalmente al fototropismo, en donde los tallos crecen en dirección hacia la fuente de luz, lo cual como estas plantas no presentaban radiación artificial directa crecieron de manera paralela buscando la principal fuente de luz en este caso la solar, sin caracterizarse por un importante crecimiento vertical [85].

1.3. Análisis financiero que asegura costo/beneficio positivo para producir fresas utilizando radiación artificial

Esta investigación se realizó con bombillos incandescentes inteligentes, debido al bajo costo de adquisición; pero, se ha demostrado que, a nivel productivo, los sistemas que mejores resultados producen para aumentar la producción y la calidad de los frutos es la utilización de luces LED, debido a que tienen una alta eficiencia, largos periodos de vida, menor impacto ambiental y colores más vividos. Es por esta razón que en la actualidad en las plantaciones industriales se están suplantando los bombillos fluorescentes y de HPS (High Pressure Sodium Lights), debido a que muchas veces se produce un mayor o al menos igual rendimiento por un menor gasto energético. Sin embargo, de las pocas desventajas de esta tecnología radica en el alto costo de adquisición, debido a que esta metodología es más costosa en comparación a las otras técnicas anteriormente mencionadas [84,86]. Por lo tanto, para escalar el proceso realizado en esta investigación a nivel productivo y obtener un costo beneficio positivo, se decidió hacer el análisis exploratorio financiero, considerando la tecnología LED como el mejor método para incrementar el rendimiento y la calidad de las fresas.

Por lo tanto, a partir de los datos obtenidos de la sección 1.1 y el tipo de lámpara LED explicada en la sección 1.4 de la sección metodológica, se calculó el DLI que reciben las plantas de fresas durante un día y el que teóricamente podría recibir las plantas, utilizando el dispositivo escogido durante un periodo de baja o nula luz solar. Para obtener estos datos se utilizó la Ecuación 1, obteniendo los resultados mostrados en el Cuadro 15.

Cuadro 15. DLI obtenido en las plantaciones de fresas del proyecto Gamaliel y teórico proveído por las especificaciones del equipo

Variable	Valor
PPFD promedio de radiación interna en zona	428,44 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$
PPFD teórico de la lampara LED *	400,00 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$
Duración promedio del día en Costa Rica **	12 horas
DLI por día sin radiación artificial	18,51 $mol \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$
DLI por día con radiación artificial	17,28 $mol \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$
Tiempo de uso diario requerido de radiación artificial	6 horas

* Referencia de lampara LED: [48]

** Referencia de la duración promedio del día en Costa Rica: [87]

Esta información permite demostrar que tanto la radiación solar que se obtiene en la zona como el equipo escogido posee un PPFD similar, lo cual hace que el valor del DLI sea muy cercano para ambos casos, considerando una radiación solar de 12 horas, como ocurre en Costa Rica, y las siguientes 12 horas con radiación artificial [87]. Además, para ambos casos se obtiene valores de DLI adecuados para la plantación de fresas, debido a que se encuentra encima de los 12,00 $mol \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$ de radiación diaria que recomienda la literatura [49]. Sin embargo, no es recomendable estar recibiendo radiación las 24 horas del día por parte de las plantas, para evitar enfermedades y disminución del rendimiento. Por tal motivo, se recomienda irradiarlas como máximo por 18 horas, motivo razonable que justifica que el tiempo de uso real de las luces LED solo se tendrá presupuestado usarlas por 6 horas, lo cual también se ajusta con las horas de operación anuales de las lámparas en lugares de producción industriales [88,89]

Para determinar el costo de la inversión, primero, se determinó la cantidad de piezas necesarias por adquirir para abarcar los 7000 m^2 de terreno de la parcela, en donde se consideró una distancia de 2 metros entre pieza (4 m^2), debido a la potencia y las características que poseen estas unidades. Posteriormente, se realizó la consulta del costo de instalación de estos equipos en el invernadero, al ingeniero electromecánico Mario Alberto Vargas, el cual es experto en trabajos eléctricos, con el objetivo de considerar los costos extras para asumir esta inversión. Luego, conociendo los costos requeridos de la inversión, se decidió considerar pedir un préstamo al Banco Centroamericano de Integración Económica (BCIE), utilizando el “Programa de Apoyo a la MIPYME con Enfoque en

Agronegocios", el cual busca el desarrollo de las MIPYMES del sector del agro por medio del acceso a créditos que les permitirán invertir en nuevas tecnologías para fortalecer su competitividad, como ocurre en este caso. El préstamo se pagará por trimestre y con un periodo de gracias de 36 meses [90,91]. Finalmente, considerando el costo de las luces LED, impuestos y transporte indicado en el sitio web, la información del ingeniero eléctrico y la información del préstamo suministrada por el BCIE, se introdujo la información en la Ecuación 2 y 3, para obtener la información resumida en el Cuadro 16 [48,92].

Cuadro 16. Análisis del costo de la inversión y el pago mensual para el préstamo

Variable	Valor
Piezas requeridas en terreno	1750
Precio por pieza	₡ 62 994,75 *
Precio total de los equipos	₡ 110 240 812,50
Transporte + Impuestos	₡ 15 750 000,00
Banco de transformadores	₡ 7 875 000,00
Canalización e instalación eléctrica	₡ 27 562 500,00
Honorarios profesionales diseño y ejecución	₡ 9 187 500,00
Inversión total	₡ 170 615 812,50
Periodo del préstamo	10 años
Tasa de interés determinada	11,15 %
Interés promedio trimestral durante periodo de gracia (36 meses)	₡ 4 755 915, 77
Interés + amortización promedio trimestral después **del periodo de gracia (84 meses)**	₡ 8 858 045,94

* Conversión monetaria realizada a los paneles solares de $119,99, utilizando un tipo de cambio de venta de ₡ 525 del Banco Central, el 29 de mayo de 2024.

Por lo tanto, considerando todos los gastos se obtuvo que se requiere una inversión total de más de 170 millones de colones o 325 000 dólares, para iniciar con el proyecto de cultivar fresas con luces LED de manera industrial, es por esto que es recomendado recibir un asesoramiento financiero por parte del banco para acceder a un préstamo de este tipo. Además, debido a que es un costo alto, se puede iniciar con un porcentaje de la inversión sobre un área, dejar las previstas de instalación eléctrica, e ir avanzando con porcentajes de área con luces LED para cubrir el espacio designado. Así, los costos se van diluyendo en el tiempo y con las ganancias se cubre parte de las inversiones escalonadas que se van haciendo.

Luego, para obtener los costos eléctricos al utilizar radiación LED, se consideró que debido al alto costo energético que amerita esta inversión, se va a firmar un contrato anual con el Instituto Costarricense de Electricidad (ICE) para que se aplique una tarifa de "Media Tensión" en donde el dueño del invernadero se comprometerá a consumir como mínimo 120 000 kWh por año calendario, y además las luces se van a encender desde (12:00 am – 6:00 am) todos los días para abarcar el periodo de DLA de las plantas durante la tarifa

considerada de periodo nocturno para el ICE. Por lo cual, el costo de la factura por todos los equipos se calculó a partir de las ecuaciones 4, 5, 6 y 7, utilizando el ajuste eléctrico del periodo del 01 de enero y hasta el 31 de diciembre 2024, y los resultados encuentran resumidos en el Cuadro 17 [93].

Cuadro 17. Costos eléctricos teóricos asumidos en la parcela #9 al instalar un sistema de radiación LED

Variable	Valor
Piezas requeridas en terreno	1750
Potencia por pieza	0,1 kW
Potencia total	175 kW
DLA	6 horas
Consumo eléctrico mensual	1050 kWh
Carga eléctrica nocturna	₡14,02
Costo por energía	₡441 630,00
Carga potencia nocturna	₡4 447,56
Costo por potencia	₡778 323,00
Costo total mensual	₡1 219 953,00
Aumento extra de la electricidad	6099,77 %

Como se observa en el Cuadro 17, el costo de la factura eléctrica mensual también incrementa considerablemente, debido a que termina representando más de 6000 % más que lo que se paga actualmente. Además, se debe de considerar realizar el cambio de la factura eléctrica a “Media Tensión”, y ser muy ordenados con la utilización de las luces solo durante el periodo nocturno y asegurarse cumplir con la cuota de consumo acordada para asegurar tener este costo eléctrico lo más bajo posible, a como fue determinado anteriormente. Por otro lado, como se ha mencionado anteriormente la mejor opción es hacer la adquisición inicial de luces LED, debido a que se ha demostrado que a largo plazo la inversión inicial se compensa con los costos energéticos, ya que esta tecnología genera hasta un 45 % menos kWh en comparación a tecnologías como las luces HPS [86]. Sin embargo, como es esperado el ahorro energético por usar radiación LED es mayor conforme aumenta el área superficial por irradiar [94].

Otro factor a favor de las luces LED, es su largo periodo de vida, el cual, según la literatura, su rango promedio de vida ronda entre las 25000 h a las 50000 h [89], lo cual es mucho mayor en comparación a otras tecnologías como las bombillas comunes (1000 h a 1500 h) y las luces HPS (12000 h a 15000 h). Además, se debe de considerar que el proveedor ofrece hasta 5 años de garantía, lo cual confirma su alto periodo de vida [95]. Por lo cual según esta información y los cálculos mostrados en el Cuadro 18, el costo de mantenimiento de este tipo de luces se tendrá que asumir posterior al pago de la deuda con

el banco. Es por esto que no se consideran en los gastos mensuales actuales y, por lo tanto, ayudan a compensar el costo inicial de la inversión [84].

Cuadro 18. Cálculo aproximado del tiempo requerido para dar mantenimiento a equipos LED en la parcela #9

Variable	Valor
Horas anuales de uso por pieza	2190 horas
Rango promedio de tiempo de vida	37500 horas
Tiempo aproximado para mantenimiento	17 años

Finalmente, para determinar el costo de las ganancias mensuales que se deberían obtener, se consideraron las variables representadas en la Ecuación 4. Seguidamente, fue requerido realizar una investigación bibliográfica para obtener una referencia aproximada del incremento en la producción de fresas en climas tropicales como los de Costa Rica cuando se utilizan bombillos de luces LED para producción, obteniendo que el incremento aproximado en la producción es 2,5 veces más, por lo cual, se utilizó el nuevo aumento para realizar los siguientes cálculos teóricos [96]. Con lo anterior se estimó cuál sería el porcentaje que se debe de aumentar actualmente al precio del kilogramo de primer tipo y de segundo tipo de fresas vendidos en la parcela #9 del proyecto Gamaliel, para obtener un costo beneficio positivo y asumir los costos del préstamo. Los resultados se muestran en el Cuadro 19.

Cuadro 19. Determinación del costo del kilogramo de fresa de primer tipo y de segundo tipo para obtener un costo-beneficios positivo

Variable	Valor
Ventas totales actuales mensuales	₡2 300 000,00
Incremento teórico 2,5 veces de primera	2500
Incremento teórico 2,5 veces de segunda	750
Costo fresa kg primera	₡ 2 000,00
Costo fresa kg segunda	₡ 1 000,00
Ganancias brutas mensuales proyectadas primera	₡ 5 000 000,00
Ganancias brutas mensuales proyectadas segunda	₡ 750 000,00
Ganancias futuras	₡ 5 750 000,00
Interés promedio mensual durante periodo de gracia (36 meses)	₡1 188 978,94
Interés + amortización promedio mensual después del periodo de gracia (84 meses)	₡2 214 511,48
Gastos eléctricos	₡ 1 219 953,00
Gastos totales mensuales en periodo gracia	₡ 2 408 931,94
Gastos totales mensuales después periodo gracia	₡ 3 434 464,48
Aumento de los precios requerido	0 %
Ganancias netas en periodo de gracia	₡ 3 341 068,06
Ganancias netas después periodo de gracia	₡ 2 315 535,52

Según los cálculos, para hacer frente a la deuda, los costos eléctricos y obtener las ganancias que se tienen actualmente, se obtiene que se debe de recaudar más del doble de dinero que lo que la empresa genera actualmente. Sin embargo, debido al alto rendimiento que la teoría indica, que se puede obtener al utilizar radiación LED en vez de los métodos convencionales de agricultura que se usan en la actualidad. Se indica que las ganancias proyectadas pueden rondar los 2.3-3.3 millones de colones, lo cual es casi 0.67-1.3 millones más de colones que el dinero que se requiere al invertir en utilizar radiación LED. Por lo tanto, esto indica que los precios actuales del kg de primer tipo y de segundo tipo no es necesario de aumentarse, ya que por sí solo el aumento en la producción compensa los costos adicionales añadidos al proceso productivo, obteniendo un costo-beneficio positivo.[86]

Adicionalmente, es importante recalcar que este estudio financiero es un análisis exploratorio y como no se tuvieron las herramientas necesarias para extrapolar industrialmente el trabajo y utilizar sistemas LEDs, los resultados podrían variar considerablemente. Por lo tanto, para futuras investigaciones es recomendable adquirir el sistema LED, para demostrar si efectivamente los resultados mostrados en la teoría se pueden cumplir en la región de Vara Blanca de Heredia. Asimismo, es recomendable para un futuro productor, asesorarse financieramente con un profesional si es factible realizar este proyecto, debido a su alta inversión inicial y el costo del préstamo que se está solicitando, así como tener presente otras variables adicionales que pueden surgir si se tiene un aumento de la producción considerable como el pago de horas extras o la adquisición de más mano de obra.

Por último, si se analiza la diferencia entre las ganancias actuales y las ganancias obtenidas durante el pago del préstamo sin periodo de gracia, la diferencia obtenida es mínima, lo cual durante aproximadamente 7 años no representaría una ganancia significativa financieramente si se decide invertir en esta tecnología. Por lo tanto, a nivel productivo en esta zona puede no representar rentable realizar una inversión tan riesgosa como es este caso, y es por esta razón que es requerido un análisis financiero más a profundidad con un experto, para evaluar diferentes variables adicionales o formas de efectuar la inversión. Sin embargo, a largo plazo (posterior el pago del préstamo) en caso que se demuestre un incremento significativo en la producción y la calidad de la fresa, entonces podría representar rentable el cambio a esta nueva tecnología.

2. Clasificación la calidad del agua de la quebrada Azufre para ser utilizada para el cultivo de fresas por hidroponía en el sector de Vara Blanca de Heredia

2.1. Grado de contaminación de la quebrada Azufre según el Sistema Holandés de Valoración de la Calidad Físico-Química del Agua para cuerpos receptores

A partir de las mediciones realizadas *in-situ* del oxígeno disuelto y los resultados de

laboratorio del amonio y DBO obtenidos en la quebrada Azufre en los puntos de la medición de la quebrada y el invernadero, realizados tanto en época lluviosa como en época seca, se obtuvo los siguientes resultados del grado de contaminación de la quebrada, mostrados en el Cuadro 20.

Cuadro 20. Resumen del grado de contaminación de la quebrada Azufre utilizando el Sistema Holandés de Valoración de la Calidad Físico-Química del Agua para cuerpos receptores, en distintos puntos de medición y estaciones climáticas

Categoría de Evaluación	Época	Sumatoria de puntos	Código de Color	Interpretación de Calidad
Quebrada	Seca	6	Verde	Contaminación Incipiente
	Lluviosa	7	Amarillo	Contaminación Moderada
Invernadero	Seca	6	Verde	Contaminación Incipiente
	Lluviosa	7	Amarillo	Contaminación Moderada
Promedio por Época	Seca	6	Verde	Contaminación Incipiente
	Lluviosa	7	Amarillo	Contaminación Moderada
Promedio general		6,5	Amarillo	Contaminación Moderada

El Cuadro 20 muestra que en la época seca se obtuvo una sumatoria de puntos menor en comparación a la época lluviosa en ambos puntos, lo cual permite dilucidar que el índice se mantiene constante en los puntos medidos, y el factor que altera los resultados y la interpretación de calidad es la época en que se midió. En donde el principal factor de variación entre cada época fue la concentración de DBO, la cual en la época seca se obtuvo un puntaje de 1 y en época lluviosa fue de 2.

Estos resultados, también demuestran que existió una diferencia de puntajes por época climática y se obtuvo una variación en la interpretación de calidad, en ambos casos el agua se encontraba contaminada. En donde la sumatoria de puntos se vio alterado principalmente por el valor del % PSO, debido a que en promedio se tuvo un valor de 41,6 %, indicando una concentración de oxígeno disuelto muy baja. Por tal motivo, solo este rubro generó un valor de 4 para todos los casos, lo cual contribuyó ampliamente en el grado de contaminación de esta quebrada.

Estos resultados se pueden deber principalmente a que se ha confirmado por evidencias de los lugareños y de las personas productoras de fresas que cerca del lugar de la quebrada existe la presencia de una lechería, y cuando hay lluvias intensas, los trabajadores del lugar aprovechan la situación para desaguar las aguas residuales en esta quebrada, aumentando con esto la carga de materia orgánica e impactando la calidad del agua [97].

Debido a esta situación es que se observa una alteración en las concentraciones de DBO y % PSO en el agua de la quebrada, ya que, al existir una alta descarga de material

orgánico, la capacidad de producción de oxígeno disminuye, provocando una anaerobiosis de los sedimentos [98]. Adicionalmente, como la DBO mide la cantidad de oxígeno requerido por los microorganismos para estabilizar la materia orgánica en condiciones aeróbicas, esta variable tiene una relación inversa con el % PSO, haciendo que, a mayor cantidad de materia orgánica en el agua, mayor será el consumo de oxígeno por parte de los microorganismos para descomponerla, lo cual este consumo elevado de oxígeno causa una disminución en el % PSO [98]. Por lo tanto, la aparente liberación de boñiga en la quebrada Azufre hace que según el índice holandés este cuerpo de agua se encuentre contaminada, donde la contaminación en la época lluviosa es mayor debido a que en este periodo producen un incremento en la liberación de material orgánico.

2.2. Grado de contaminación de la quebrada Azufre según el Índice de la Calidad del Agua de la Fundación Nacional de Saneamiento (NSF) de los Estados Unidos

El valor de la Calidad del Agua según el Índice de la NSF de los Estados Unidos en los distintos puntos y en diferentes épocas se presenta en el Cuadro 21.

Cuadro 21. Resumen del índice de la Calidad del Agua de la Fundación Nacional de Saneamiento (NSF) de los Estados Unidos en distintos puntos de medición de la quebrada Azufre y en distintas estaciones climáticas

Categoría de Evaluación	Época	Resultado	Rango	Calidad
Quebrada	Seca	56	51-70	Medio
	Lluviosa	51	51-70	Medio
Invernadero	Seca	58	51-70	Medio
	Lluviosa	55	51-70	Medio
Promedio por época	Seca	57	51-70	Medio
	Lluviosa	53	51-70	Medio
Promedio general		55	51-70	Medio

Con respecto al Cuadro 21, se aprecia que en general se obtuvo un grado de calidad del agua de categoría “Medio”, lo cual confirma que el agua se encuentra contaminada. En donde, entre los parámetros analizados se detectó una baja concentración de oxígeno disuelto y una alta concentración en el contenido de coliformes fecales en todas las mediciones, lo que generó valores de Q-Value y subtotales bajos, por lo tanto, se obtuvo resultados bajos en los valores del grado de contaminación de la quebrada. Estos dos factores se podrían atribuir a la liberación de material orgánico en el cuerpo del agua debido a lecherías en la parte superior de la quebrada, lo cual ocasiona el efecto que se discutió con anterioridad [98].

Por otra parte, existe un menor resultado en los valores de época lluviosa en comparación con la época seca y, por consiguiente, una mayor contaminación, debido

principalmente a que se observó un aumento en las concentraciones de nitratos y de la DBO, lo que hizo que disminuyera los valores de Q-Value y Subtotales y a la vez el resultado en esta época climática. Específicamente, el parámetro de concentración de nitratos fue uno de los principales factores que hizo que en el punto de la quebrada en la época lluviosa se obtuviera un valor cercano al extremo inferior del rango, de 2,93 mg/L para la época seca y 5,47 mg/L para la época lluviosa, es decir, casi se duplicó la concentración de nitratos en el agua de acuerdo con el periodo climático analizado. El cambio en las concentraciones de la DBO y de nitratos podrían deberse igualmente a la liberación de este material fecal al cuerpo de agua. Específicamente en el caso de los nitratos se ha documentado que uno de los factores para la contaminación de las aguas por compuestos nitrogenados se debe a la polución puntual debido a actividades de origen industrial, ganadero o urbano, en donde entre los ejemplos, de estas categorías se encuentra los efluentes orgánicos producto de las explotaciones ganaderas [99].

Se ha documentado que estos desechos animales son de las principales fuentes generadoras de nitratos, los cuales al ser excretados al suelo pueden ingresar a las aguas subterráneas o superficiales como resultado de la lixiviación o la escorrentía. Además, posterior a que los nitratos son excretados, los microorganismos presentes en el agua los pueden usar como fuente generadora de nitrógeno, por lo tanto, al proveerles mayor material orgánico, las poblaciones de microorganismos se multiplican y se rompe el balance que existe en la naturaleza, lo cual puede disminuir la calidad del agua [100]. Por lo tanto, este parámetro es un indicio de que en la época lluviosa se puede dar un efecto de escorrentía o lixiviación de las excretas de la lechería hacia el río, aumentando el grado de contaminación del agua durante esta estación climática.

Adicionalmente, en la quebrada se obtuvo un grado de contaminación mayor en comparación con el punto de análisis del invernadero. Esto se debió principalmente a que los resultados de los parámetros de turbidez y sólidos totales fueron aproximadamente 60 % mayores en la zona de la quebrada en comparación al invernadero. Esto se puede deber principalmente a que la captación de agua de la quebrada Azufre no cuenta actualmente con una concesión por parte de la Dirección de Aguas del Ministerio de Ambiente y Energía, ocasionando que el proyecto Gamaliel no cuente con un sistema adecuado de seguridad hídrica y, por esta razón, en los invernaderos tengan que utilizarse filtros y sistemas de distribución rudimentarios, para retener gran cantidad de sedimentos con alta carga orgánica y vegetal [97]. Según los resultados, se demuestra que estos sistemas cumplen su función debido a que disminuyen considerablemente los sedimentos para que no lleguen a los cultivos y, por eso, el grado de contaminación es menor en el punto del invernadero. Sin embargo, resulta imperativo contar con un sistema de captación de agua para disminuir aún más estos parámetros, debido a que según comentan los productores deben de estar limpiando constantemente estos sistemas de tuberías y filtros para disminuir los sedimentos

que llegan al proyecto del INDER.

Al comparar estos dos índices se demuestra que la quebrada se encuentra contaminada, debido principalmente a la aparente descarga de material orgánico ocasionado por la lechería río arriba, lo cual en el caso del índice holandés generó una disminución del % PSO y un aumento de la DBO. Mientras que, con respecto al índice de la NSF de los Estados Unidos, además de estos parámetros anteriores también detectó un incremento en las concentraciones de nitratos y de coliformes fecales, lo cual comprueba la liberación de desechos fecales a este cuerpo de agua.

Debido a que se debe de analizar una mayor cantidad de parámetros en el índice NSF, esto permitió observar una serie de variaciones al hacer mediciones en distintos puntos de la quebrada, por lo tanto, se pudo apreciar diferencias en la cantidad de sedimentos que se desplazan y que pueden llegar a los cultivos de fresas. El índice holandés, no tiene esta capacidad de determinación, debido a que solo analiza 3 parámetros centrados principalmente en analizar la contaminación del agua por factores externos y no en evaluar otros parámetros físico-químicos que proveen las características del cuerpo de agua en sí, como el pH y la temperatura. Esto demuestra una desventaja considerable en los parámetros físico-químicos aprobados por la legislación costarricense para la clasificación inicial del cuerpo de agua [98].

2.3. Calidad del agua de la quebrada Azufre a partir de los parámetros complementarios del Reglamento Nº 33903 de Costa Rica

Los resultados de las clases de cada uno de los parámetros complementarios del Reglamento Nº 33903 de Costa Rica, en la Quebrada Azufre, resumidos por época climática se muestran en el Cuadro 22.

Cuadro 22. Resumen de las clases para cada uno de los parámetros complementarios del Reglamento Nº 33903 de Costa Rica, determinados en diferentes estaciones climáticas en la quebrada Azufre

Parámetro Complementario	Clase Época Seca	Clase Época Lluviosa
Turbiedad (UNT)	1	1
Temperatura (°C)	1	1
Potencial de hidrógeno (pH)	1	1
Nitratos, NO_3^- (mgN/L)	1	2
Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	1	1
Cloruros (como Cl) (mg/L)	1	1
Fluoruros (como F) (mg/L)	1	1
Color (Pt-Co)	1	1

Parámetro Complementario	Clase Época Seca	Clase Época Lluviosa
Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)	1	1
Sólidos Disueltos (mg/L)	1	1
Grasas y Aceites (mg/L)	1	1
Sustancias activas al azul de metileno (mg/L)	3	4
Arsénico (mg/L)	2	2
Boro (mg/L)	1	2
Cadmio (mg/L)	1	1
Cianuro (mg CN^- /L)	1	1
Cobre (mg/L)	1	1
Cromo Total (mg/L)	2	2
Magnesio mg $MgCO_3$ / L	1	1
Mercurio (mg/L)	1	1
Níquel (mg/L)	1	1
Plomo (mg/L)	1	1
Selenio (mg/L)	3	3
Sulfatos (SO_4^{-2} mg/L)	1	1
Sumatoria de los Compuestos Organoclorados (mg/L)	3	3
Sumatoria de los Compuestos Organofosforados (mg/L)	3	3
Coliformes Fecales (NMP/100 mL)	5	4
Clase Seleccionada	**5**	**4**
Clasificación	**No utilizable**	**No utilizable**

Con respecto a los resultados presentados en el Cuadro 22, las propiedades fisicoquímicas de la quebrada Azufre, como iones, pH, temperatura y turbiedad, se encuentra entre los parámetros adecuados para clasificarlos como clase 1 en ambas épocas climáticas. Adicionalmente, los análisis de metales también se encontraron entre los parámetros correctos para clasificarlos como clase 1. Sin embargo, es necesario recalcar que, para el caso del selenio y del arsénico, así como los resultados de compuestos organoclorados y organofosforados, se obtuvieron clases mayores debido a que este reglamento no permitía proveer clases menores para estas variables, por lo cual se les colocó la mayor clase posible según el resultado obtenido, basándose en el principio precautorio en materia ambiental. Según el principio 15 de la Declaración de Río sobre el Medio Ambiente y Desarrollo, en donde Costa Rica es firmante, indica que no se debe de postergar la adopción de medidas eficaces para impedir la degradación ambiental, a pesar de no exista certeza científica sobre el impacto que pueda tener una actividad en el medio ambiente [101].

Adicionalmente, para el caso del análisis de sustancias activas al azul de metileno (SAAM), se asignó un valor de 3 para la época seca, basándose igualmente en el principio precautorio en materia ambiental; sin embargo, para la época lluviosa sí fue requerido

asignar una clase 4, debido a que se obtuvieron resultados de 1,32 mg/L y 1,52 mg/L para el punto de la quebrada y el invernadero, respectivamente. Este análisis permite identificar surfactantes, los cuales son comúnmente encontrados en detergentes de uso cotidiano y los cuales representan uno de los principales agentes contaminantes ambientales debido a su incremento uso y su potencial toxicidad [102]. Lo cual, identificar concentraciones altas de surfactantes en esta quebrada, podría deberse a las sustancias químicas que la lechería utiliza para limpiar los corrales.

Finalmente, el Cuadro 22 permite concluir que la calidad del agua de la quebrada Azufre se obtiene una clase 4 para la época seca y una clase 5 para la época lluviosa, lo cual en ambos casos se clasifica como un agua "No utilizable" según el Cuadro 9 de este proyecto, basándose en el Reglamento Nº 33903 de Costa Rica. Este resultado se debe a que el parámetro de coliformes fecales para ambos casos fue el que delimitó la clasificación de este cuerpo de agua, el cual para ambas épocas y puntos de medición se obtuvo concentraciones por encima de los valores aceptables para ser usada en actividades industriales destinadas a la producción de algunos alimentos de consumo humano, como las fresas en este caso. Además, esta clasificación resulta de gran importancia debido a que altas concentraciones de *E.coli* en zonas de alta densidad poblacional representan un riesgo a la salud, debido a la transmisión de microorganismos patógenos para el ser humano, en donde según se ha hecho constar en otros estudios es común de observar que en cantones de Alajuela cercanos a Vara Blanca como Grecia y Poás, otras fuentes de agua igualmente se encuentran contaminadas por estos agentes [99,103].

Según los resultados, esta agua no es recomendable para ser utilizada en el cultivo de fresas y, por lo tanto, a mediano-largo plazo se debe de replantear la utilización de otro cuerpo de agua, el cual posea una concesión por parte de la Dirección de Aguas del Ministerio de Ambiente y Energía. Entre estas propuestas se ha documentado que el MINAE y el INDER están trabajando en el "Proyecto de riego Gamaliel-Prodifresa", el cual tiene como objetivo crear un sistema de abastecimiento de agua que permita suplir las necesidades hídricas de sus actividades agrícolas, utilizando otras fuentes de abastecimiento como la quebrada Piedras Negras, la cual se ubica en las cercanías del proyecto del INDER [97].

Adicionalmente, se decidió obtener información más actualizada sobre el avance del proyecto y el día 5 de febrero de 2024 se planteó una reunión con los ingenieros Luis Ramírez y Ulises Vargas, los cuales pertenecen al área de Ingeniería y Desarrollo de Proyectos del Servicio Nacional de Aguas Subterráneas, Riego y Avenamiento (SENARA) y tienen a cargo el proyecto indicado anteriormente. Los expertos indicaron que efectivamente el proyecto de captación de agua del afluente del río Piedras Negras se encuentra en el cronograma de proyectos de la entidad. En donde, la decisión de utilizar este cuerpo de agua se debe a que posee una concesión formal desde hace 5 años y por sus

condiciones hidráulicas representa la mejor alternativa, ya que permitiría trasladar el agua hasta Gamaliel por gravedad como ocurre actualmente con la Quebrada Azufre [104].

Este proyecto estuvo detenido a nivel legal desde el año 2021 debido a que faltaba aclaraciones en el Artículo 33 de la Ley Forestal, por lo cual el proyecto no se pudo realizar con anterioridad; sin embargo, el artículo se logró aclarar con un texto sustitutivo en la Asamblea Legislativa del gobierno de Carlos Alvarado Quesada (2018-2022) y actualmente existe un acuerdo entre las partes (SINAC-MINAE y SENARA) para que el plan pueda continuar, por lo que, al momento de la reunión planteada, el factor que está determinando el inicio de las obras es la obtención del recurso económico. El plan de las instituciones consiste en otorgarle el contenido presupuestario por medio de fondos del INDER y se trasladará al SENARA por un proceso licitatorio y de adjudicación. Al momento de la reunión se indicó que el convenio específico para la ejecución de las obras en Gamaliel se firmó el pasado 20 de agosto de 2024, por lo cual este proyecto se incluyó para el Presupuesto Ordinario Institucional del 2025 del SENARA. Para agosto del 2024, el proyecto se encuentra en trámite de contratación administrativa, en donde se están haciendo las revisiones de carteles y trámites administrativos, para seleccionar la empresa que realizará la construcción de la obra, a inicios del año 2025.

En la Figura 16, compartida por los ingenieros de SENARA, se muestra la imagen satelital en donde se localiza los proyectos Gamaliel y Prodifresa en color azul, de color rojo la quebrada Azufre de la cual se alimenta actualmente el proyecto Gamaliel, así como el punto amarillo el cual representa el futuro punto de captación del afluente Piedras Negras. Adicionalmente, en color celeste se representa algunas construcciones aguas arriba cercanas a la Quebrada Azufre, los cuales pueden representar el posible foco de contaminación explicado previamente.

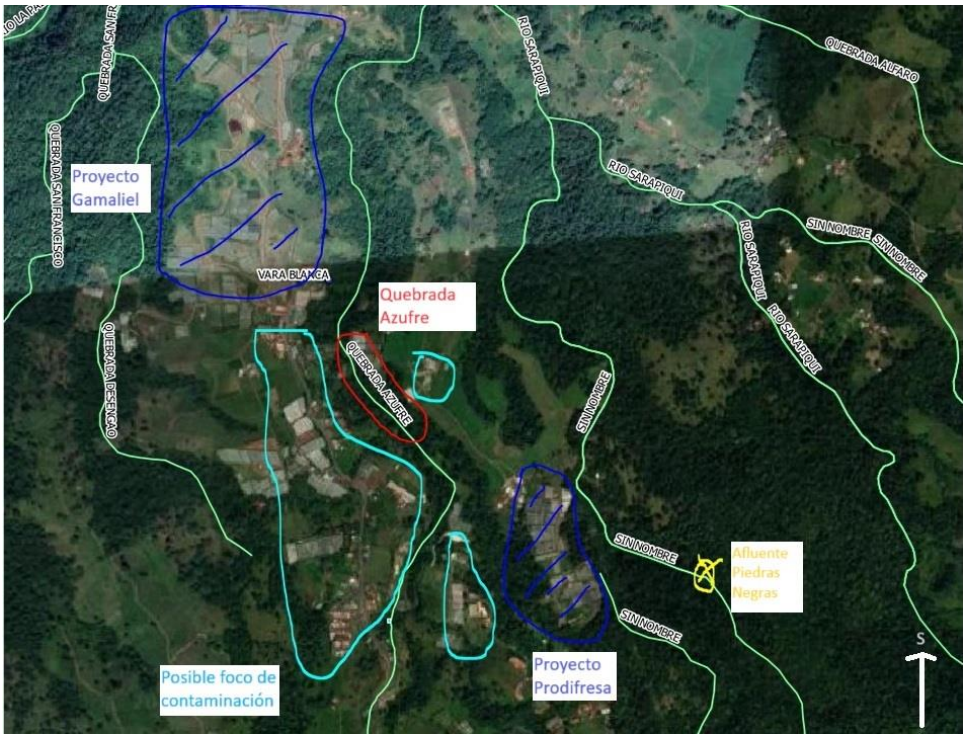

Figura 16. Imagen satelital del área de Vara Blanca, Heredia vista de norte a sur

3. Efecto en el tamaño y las concentraciones de polifenoles, antocianinas y azúcares totales de las fresas en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia cuando se exponen a distintos tipos de radiación incidente

3.1. Variabilidad en el tamaño de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente

A partir de las mediciones del tamaño de las fresas de distintos tipos de radiación incidente realizadas, se planteó un análisis estadístico de comparación de muestra K para evaluar si existe una diferencia significativa en la altura y el ancho de las fresas cuando se exponen a diferentes tipos de radiación incidente artificial. Es importante recalcar que para esta sección no se consideraron muestras control debido a que las condiciones de almacenamiento de este tipo de fresas no fueron contantes en comparación a las muestras con radiación artificial.

Por lo tanto, en la Figura 17 se graficaron los datos del largo y del grosor de las fresas expuestas a diferentes tipos de radiación incidente artificial, para obtener los gráficos Q-Q. En esta Figura se aprecia en la sección inferior como los datos presentan una aparente tendencia normal, con promedios de largo de aproximadamente 30 mm y de grosor de 26 mm. Adicionalmente, en la parte superior se representa las líneas de coincidencia perfecta de los cuantiles, en donde los datos aparentan seguir esta tendencia lineal, demostrando un

aparente comportamiento normal de los datos.

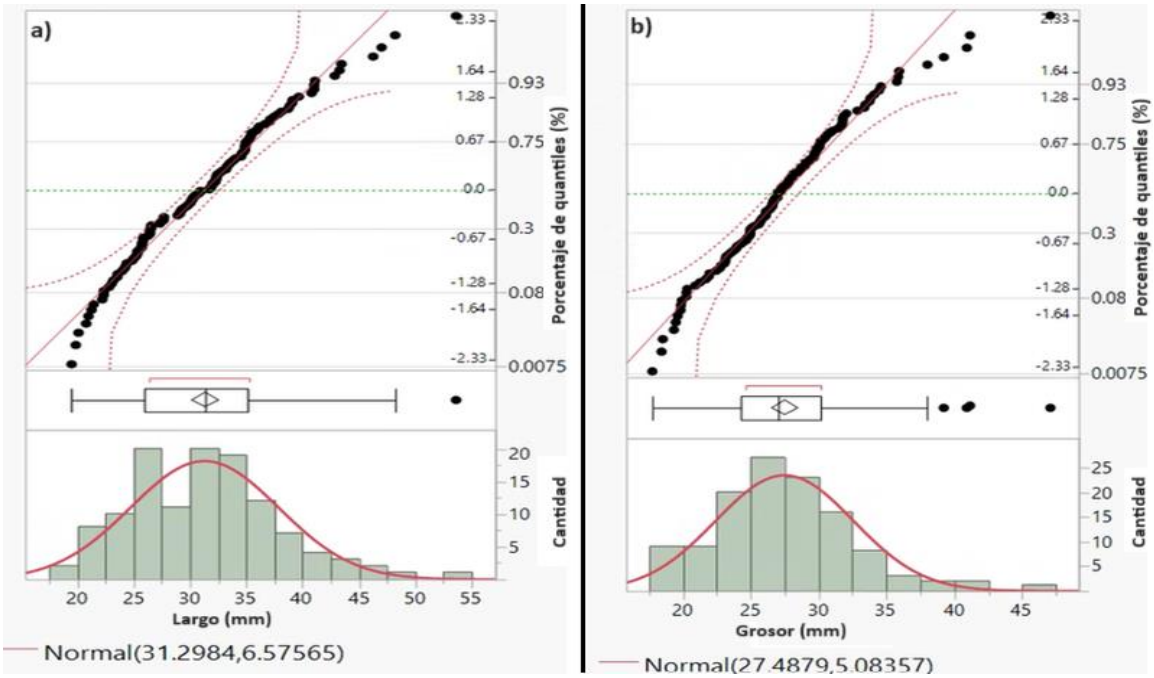

Figura 17. Gráficos Q-Q del largo (a) y grosor (b) de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente utilizando el software JMP-14

A partir de la prueba de normalidad y de homocedasticidad, mostrada en el Cuadro 23, se obtuvo que los datos no se comportan completamente normales, por tanto, como este proyecto es un análisis exploratorio, se requiere una cantidad mayor de muestras en el tiempo para tener una conclusión más acertada, porque estas pruebas son muy susceptibles al tamaño de muestra y a los valores extremos. Por tal motivo, se decidió considerar que los datos se comportan de manera normal, con el objetivo de utilizar los datos medidos y no simulaciones como ocurren en los datos no paramétricos. Por lo que, al utilizar un nivel de significancia de 5 % para todas las pruebas, se obtuvo los siguientes resultados.

Cuadro 23. Pruebas estadísticas aplicadas a las medidas de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14

Medida	Normalidad (Shapiro-Wilk)	Homocedasticidad (Levene)	Homogeneidad de Varianzas (Brown-Forsythe)	Anova Test
Largo	0,1441	0,0230	0,1578	0,1117
Ancho	0,0277	0,0043	0,0694	0,2759

A partir de las pruebas estadísticas en donde se obtuvo un p-value > 0,05 en los ANOVA test, se concluye que la información muestra que hay suficiente evidencia estadística para no rechazar la hipótesis nula, lo cual es indicativo de que no hay diferencias

significativas en el largo y en el grosor de las fresas cuando se exponen a diferentes tipos de radiación incidente artificial.

Pese a que se tiene conocimiento en cuanto a que el tamaño es uno de los principales factores que determinan la calidad de las fresas, no existen muchas investigaciones en los que se compare la variación del tipo de radiación incidente con el tamaño de las fresas cosechadas [57]. Esto debido a que en variados estudios se ignora este hecho y segregan las fresas cosechadas que tuvieran mayor tamaño, un mayor color rojizo, un adecuado grado de madurez y sin daños, lo cual muchos artículos se encuentran sesgados por la escogencia del tipo de fresa, sin evaluar cada fresa individualmente, como se realizó en este estudio [46].

Por otra parte, se han hecho análisis del impacto de la radiación UV en cultivos como maíz, trigo, tomate y lechuga y en general estos estudios no mostraron evidencia clara del efecto de la radiación ultravioleta en la productividad de los cultivos, lo cual brinda una similitud con los resultados, utilizando radiación visible. También, se ha determinado que la intensidad de la luz que reciben las plantas de fresas sí cumple un rol importante en el cultivo y en la madurez del fruto; pero, específicamente al generar una reducción de la percepción de la irradiación durante la vida más corta de las plantas. Además, se ha confirmado que el efecto de la iluminación artificial depende de la duración del período de luz diario y no de la dosis diaria total, donde para este caso todas las fresas tuvieron una percepción de radiación y una duración del periodo de luz diario constante, lo cual no generó un impacto en la variación del tamaño de los grupos [105,106].

A pesar de que la radiación parece no tener un impacto significativo en el tamaño de las fresas, sí se ha confirmado que hay otros factores que impactan significativamente esta propiedad del fruto, entre los que se encuentran: la humedad, variaciones en los regímenes de riego, variación del color del plástico protector, así como cambiar la capacidad reflectiva de estas mantas a la radiación solar [32,80,107,108].Click or tap here to enter text.De igual manera, todas estas variables se consideraron constantes y no se produjo una variación significativa del tamaño cultivo en alguno de los grupos cosechados con diferente tipo de radiación incidente artificial.

3.2. Determinación de los parámetros que mejoran el proceso de extracción de los analitos

3.2.1. Pruebas de disolventes

Para asegurar una correcta extracción de las antocianinas y de otros compuestos de las fresas, se deben tomar en cuenta una serie de factores como: el tiempo de incubación, la frecuencia de muestreo, el tipo de muestra, la temperatura y el disolvente [109]. Para este

proyecto solo se estudió el último factor, debido a que los demás se consideraron constantes, ya que los frutos se cultivaron y se cosecharon bajo los mismos estándares. La importancia de estudiar el mejor disolvente de extracción reside en que estos compuestos impactan la estructura cuaternaria, afectando el color de cualquiera de las estructuras primarias, secundarias o terciarias de las antocianinas y posteriormente la absorción máxima. Los compuestos polifenólicos son selectivamente solubles en diferentes disolventes, por lo cual la polaridad del disolvente resulta de importancia ya que juega un papel clave con el aumento de la solubilidad del grupo fenol en las antocianinas [110,111].

Por esta razón, la literatura reporta que entre los principales disolventes de los compuestos de las fresas se encuentran el metanol, el agua y la acetona, además de sus mezclas ácidas y básicas [111]. Por tal motivo, se realizó un estudio sobre el mejor disolvente reportado por la literatura para el proceso de extracción de los analitos en las fresas. Se ejecutó un análisis espectrofotométrico con estas sustancias químicas, para obtener las relaciones absorbancia/masa muestra. Con esta información, se realizó una comparación de muestra K para determinar si algún disolvente reportado por la literatura mejora el proceso de extracción de los analitos de las fresas.

Para las pruebas de normalidad y homocedasticidad se obtuvieron valores de 0,0115 y 0,133, respectivamente, por lo tanto, debido a que el Estadístico de Levene mostró un valor de p-value < 0,05, las pruebas estadísticas resultan una aparente tendencia no normal; no obstante, posteriormente se realizó un gráfico Q-Q (Figura 19) para analizar si existe un comportamiento lineal y normal de los datos dentro de los cuantiles, observando una linealidad donde los datos se mantienen dentro de los parámetros del gráfico, con lo que se demuestra un aparente comportamiento lineal de los datos. Adicionalmente, debido a que en este proyecto se está haciendo análisis exploratorios y no inferencias de los resultados, y que además en investigaciones previas se ha demostrado que al aplicar pruebas paramétricas como el análisis de varianza de una vía (ANOVA) para el tratamiento de los datos de este tipo, se obtienen resultados satisfactorios [37,111]. Por tal motivo, se decidió considerar que los datos se comportan de manera normal, con el objetivo de utilizar los datos medidos y no simulaciones como ocurren en los datos no paramétricos. Por lo tanto, utilizando un nivel de significancia de 5 % para todas las pruebas se obtuvo los resultados mostrados en el Cuadro 24.

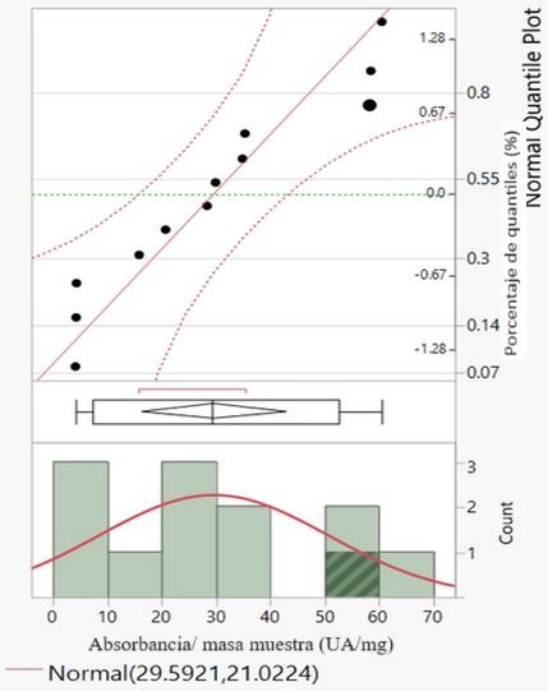

Figura 18. Gráficos Q-Q de las concentraciones de antocianinas en las muestras de fresas, utilizando distintos tipos de disolventes para realizar las extracciones, utilizando el software JMP-14

Cuadro 24. Pruebas estadísticas aplicadas a las muestras de fresas extraídas con distintos tipos de disolventes, utilizando el software JMP-14

Normalidad (Shapiro-Wilk)	Homocedasticidad (Levene)	Homogeneidad de Varianzas (Brown-Forsythe)	Anova Test	Tukey Test
0,133	0,012	0,2671	< 0,001	< 0,05

A partir de las pruebas estadísticas en donde se obtuvo un p-value < 0,001 en los ANOVA test, se concluye que hay suficiente evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula, lo cual es indicativo que existe diferencia significativa en el tipo de disolvente utilizado para mejorar el proceso de extracción de los analitos de las fresas. Adicionalmente, con el Tukey test y su respectiva representación gráfica, mostrada en la Figura 20, se pudo confirmar que el tipo de disolvente que extrae significativamente una mayor concentración de polifenoles es el metanol al 80 %. Además, en el cuadro inferior de la Figura 20, se tiene una comparación entre cada uno de los parámetros y se obtuvieron p-values < 0,05 al comparar el metanol 80 % v/v con los otros tipos de disolventes, indicativo de una diferencia significativa en la cantidad de antocianinas extraídas, utilizando este compuesto en comparación a los otros. Por lo que el disolvente escogido es el metanol 80 % v/v para realizar las extracciones de los polifenoles de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente y realizar los respectivos análisis de calidad de estos frutos.

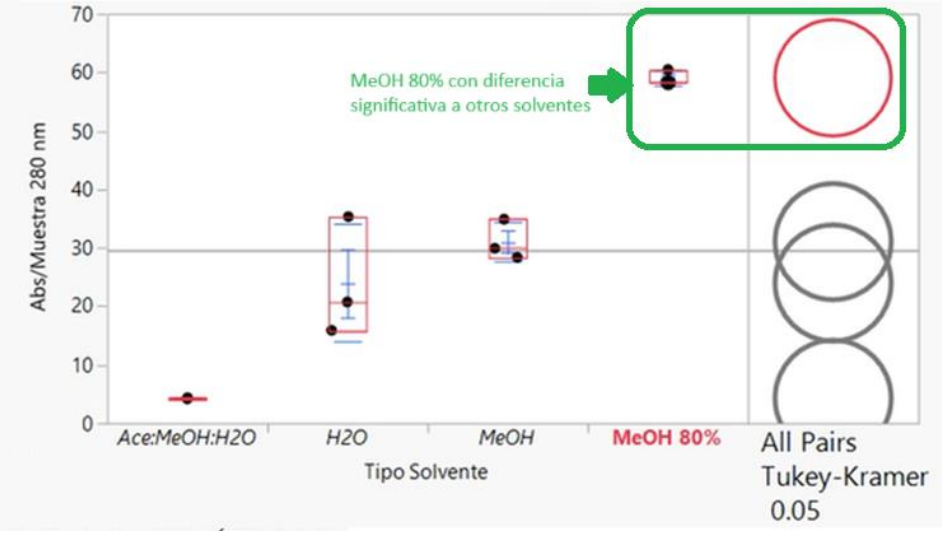

Figura 19. Tukey Test de las concentraciones de antocianinas en las muestras de fresas, utilizando distintos tipos de disolventes para realizar las extracciones, utilizando el software JMP-14

Estos resultados se pueden atribuir a que las fresas están compuestas por un 95 % agua y solo un 5 % de materia seca, en donde en este pequeño porcentaje se encuentran sustancias como los polifenoles y entre estos las antocianinas, que les proveen características hidrofóbicas a estos compuestos. Por tal motivo el metanol al 80 % v/v fue el mejor disolvente [2,32,109].

A pesar de la alta solubilidad en el agua de los compuestos polifenólicos, la literatura al igual que los resultados, confirma que utilizar agua como disolvente no produce un alto rendimiento de extracción de las antocianinas [109]. En este caso, es preferible utilizar como disolvente una mezcla de metanol y agua en diferentes proporciones, en este caso metanol al 80 % v/v y el agua al 20 % v/v, debido a que esta combinación permite una mejor solvatación de los compuestos antioxidantes presentes en las frutas debido a que las interacciones por puentes de hidrógeno entre los sitios polares de las moléculas antioxidantes y el disolvente se ven mejorados [111]. Adicionalmente, la literatura ha confirmado que al acidificar las disoluciones como se hizo en todos los casos también mejora la extracción, debido a que las disoluciones acidificadas ayudan a que las antocianinas penetren a través de la membrana celular y se liberen en el tampón de extracción más fácil [110].

A pesar que se estudiaron los principales disolventes indicados por las metodologías consultadas para realizar los análisis de calidad de las fresas, también la literatura reporta otros disolventes para mejorar las extracciones y se ha recomendado la mezcla de cloroformo:metanol como uno de los mejores disolventes de antocianinas de las fresas, donde en algunos casos recomiendan acidificarlo hasta pH 3,0 para mejorar la extracción del Pelagordinin, una de las principales antocianinas de las fresas [109,110]. De esta manera, el

metanol al 80 % v/v es el disolvente que se recomienda.

3.2.2. Análisis de cantidad de extracciones necesarias

Se procedió a estudiar la cantidad de extracciones necesarias para las muestras de fresas, utilizando el Metanol al 80 % v/v, para asegurar la máxima extracción posible. Por lo tanto, cuando se obtuvo las muestras compuestas con diferentes cantidades de extracciones se aplicó un análisis por Folin-Ciocalteu expresando los promedios de las concentraciones de las muestras de fresas en miligramos de ácido gálico equivalente por gramo de muestra medida, como se observa en el Cuadro 25.

Cuadro 25. Promedio de las concentraciones de muestras con diferentes cantidades de extracciones, realizado mediante la metodología Folin-Ciocalteu en un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT

Número de Extracciones	Concentración (mg ácido gálico/ mg muestra seca)	Desviación Estándar
1	0,11	± 0,02
2	0,13	± 0,02
3	0,12	± 0,02
4	0,117	± 0,006

Para realizar los análisis estadísticos, se tabularon los datos para obtener los gráficos Q-Q. En la Figura 21 se muestra una distribución normal y la prueba Shapiro Wilk confirma esta tendencia. Adicionalmente, con la prueba de Levene se confirmó que los datos se comportan de manera homocedásticos. Por lo tanto, a partir de estos resultados se aplicaron pruebas paramétricas, utilizando un nivel de significancia de 5 % para todas las pruebas, obteniendo los resultados mostrados en el Cuadro 26.

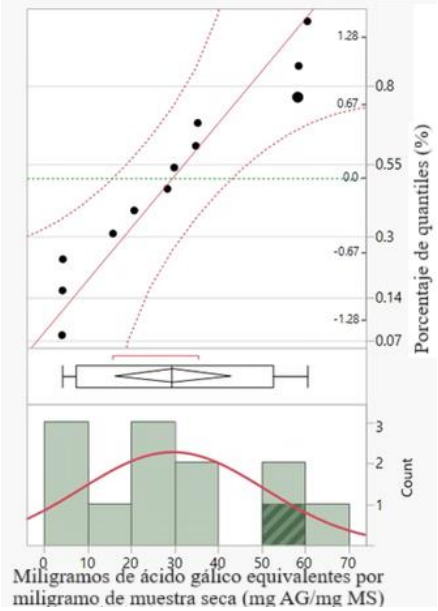

Figura 20. Gráficos Q-Q de las concentraciones de antocianinas en las muestras de fresas variando la cantidad de extracciones, utilizando el software JMP-14

Cuadro 26. Pruebas estadísticas aplicadas a las muestras de fresas con diferente cantidad de extracciones, utilizando el software JMP-14

Normalidad (Shapiro-Wilk)	Homocedasticidad (Levene)	Homogeneidad de Varianzas (Brown-Forsythe)	Anova Test
0,455	0,159	0,187	0,104

A partir de las pruebas estadísticas en donde se obtuvo un p-value > 0,05 en los ANOVA test, se concluye que la información muestra que hay suficiente evidencia estadística para no rechazar la hipótesis nula, lo cual es indicativo de que no existe diferencia significativa en la concentración de analitos con respecto a la cantidad de extracciones realizadas a las muestras de fresas. Adicionalmente, en la Figura 22 se hace una comparación mediante un gráfico One-Way Anova de la distribución de los datos, donde se muestra que cada grupo posee una distribución similar, con poca variación entre los valores extremos. A partir de esta conclusión se tomó la decisión de realizar al menos 3 extracciones a las muestras de fresas para asegurar que la mayoría de los analitos se hubieran extraído en el metanol al 80 % v/v ya que la estadística demostró que no existió una diferencia significativa en ninguno de los grupos.

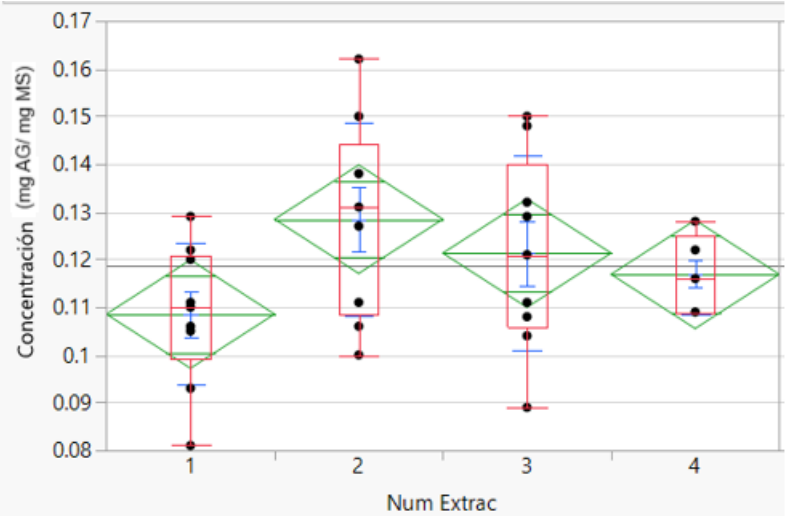

Figura 21. Gráficos Oneway Anova del número de extracciones requeridas para obtener la máxima concentración de analito, utilizando el software JMP-14

La teoría confirma que aumentar la cantidad de extracciones se obtiene un mayor rendimiento en la extracción de antocianinas [112]. Además, se ha confirmado que estadísticamente no existe diferencia significativa entre realizar dos o tres extracciones [113], pero si se recomienda que al momento de realizar el proceso de extracción, este paso se debe de repetir al menos tres veces para obtener un mejor rendimiento; justificando la cantidad de extracciones realizadas en el presente estudio [112–114].

Adicionalmente, se debe de considerar que, al momento de realizar las extracciones de antocianinas, se agregó Ácido clorhídrico diluido (0,1 % v/v) en pequeñas proporciones, el cual se ha confirmado que funciona para que la disolución acuosa tenga un pH bajo donde las antocianinas se mantengan estables en un ambiente ácido [112].

3.3. Variación de metabolitos de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente

3.3.1. Polifenoles totales

De acuerdo con la metodología planteada, se realizó una curva de calibración de ácido gálico, en donde se obtuvo un coeficiente de determinación de 0,9994, como se ilustra en la Figura 23.

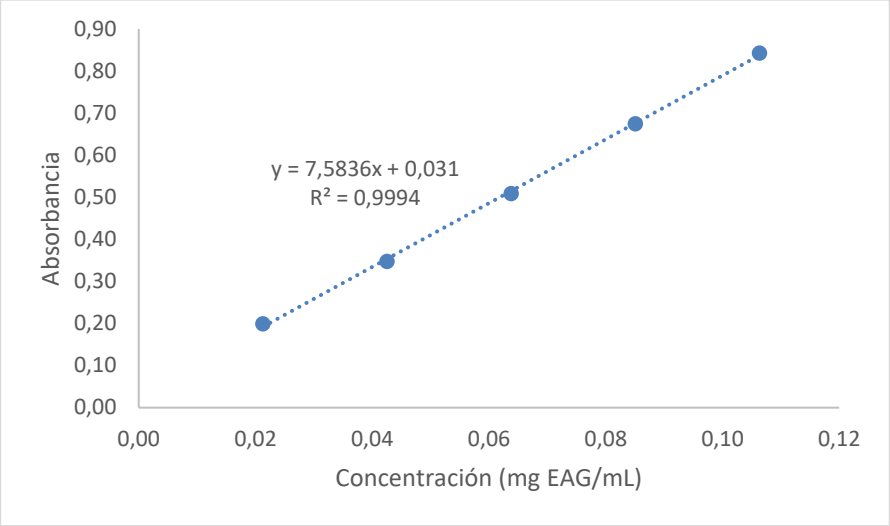

Figura 22. Curva de calibración de ácido gálico realizado por la metodología de Folin-Ciocalteu y medido en un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT

A partir de esta curva de calibración se obtuvo la concentración de polifenoles totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, mediante la prueba de Folin-Ciocalteu; expresando los promedios de las concentraciones de las muestras de fresas en miligramos de Ácido gálico equivalente por gramo de muestra medida, como se observa en el Cuadro 27.

Cuadro 27. Promedio de las concentraciones de polifenoles totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, realizado mediante la metodología Folin-Ciocalteu en un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT

Tipo Radiación	Concentración (mg EAG/g mS)	Desviación Estandar
Control	168	± 9
Rojo	151	± 8
Verde	170	± 20
Azul	170	± 30

A partir de esta información, se planteó un análisis estadístico de comparación de muestras K, para evaluar si existe diferencia significativa en la cantidad de polifenoles totales de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente. En la Figura 24 se muestra el gráfico Q-Q, en donde los datos a pesar de no mostrar una tendencia completamente lineal se mantienen dentro de los parámetros del gráfico, y donde adicionalmente, el gráfico de barra inferior muestra una distribución gaussiana, lo cual en ambos casos es indicativo que los datos se comportan de manera normal. Debido a que en este proyecto se está haciendo análisis exploratorios y no inferencias de los resultados, y que además en investigaciones previas se ha demostrado que al aplicar pruebas paramétricas como el análisis de varianza de una vía (ANOVA) para el tratamiento de los datos, se

obtienen resultados satisfactorios [32,33,36,37], se decidió considerar que los datos se comportan de manera normal, con el objetivo de utilizar los datos medidos y no simulaciones como ocurren en los datos no paramétricos. Por lo tanto, utilizando un nivel de significancia de 5 % para todas las pruebas se obtuvo los resultados mostrados en el Cuadro 28.

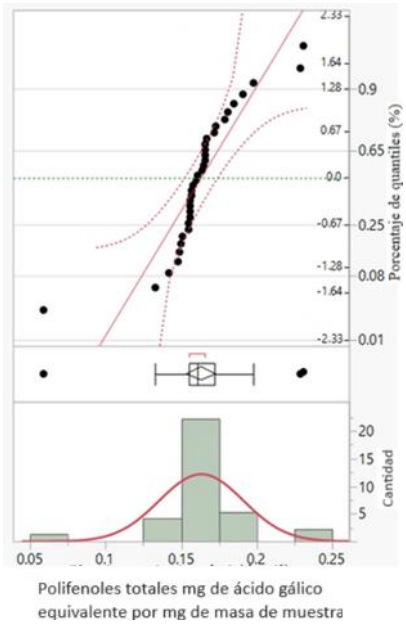

Figura 23. Gráficos Q-Q de las concentraciones de polifenoles totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14

Cuadro 28. Pruebas estadísticas aplicadas a las concentraciones de polifenoles totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14

Normalidad (Shapiro-Wilk)	Homocedasticidad (Levene)	Homogeneidad de Varianzas (Brown-Forsythe)	Anova Test
< 0,001	0,041	0,052	0,472

A partir de las pruebas estadísticas en donde se obtuvo un p-value > 0,05 en los ANOVA test, se concluye que hay suficiente evidencia estadística para no rechazar la hipótesis nula, lo cual es indicativo que no existe diferencia significativa en la cantidad de polifenoles totales de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente [115,116,117].

La literatura confirma que utilizar radiación artificial sí tiene un factor directo en el aumento de la concentración de compuestos fenólicos en vegetales verdes, como lechugas y espinacas [119]. Con respecto a las fresas, parece ser que la luz monocromática no tiene un factor adecuado para el aumento de estos metabolitos, pero se ha demostrado que si estas radiaciones se combinan principalmente en una relación 18:45:37 azul:verde:rojo, se podría tener un aumento en la productividad biológica de hasta el 41 % con respecto a las

muestras control [120,121]. Sin embargo, el principal tipo de radiación que afecta significativamente el contenido fenólico en los cultivos rojos como el tomate y las fresas son la radiación UV [115]. Esto debido a que la radiación UV-A y UV-B, ocasiona la formación de metabolitos secundarios, incluidos compuestos fenólicos y antioxidantes, además que los flavonoides absorben luz en el rango de radiación UV-A [121]. Por eso, para futuras investigaciones sería adecuado estudiar este espectro de luz para conocer cómo puede alterar la concentración de polifenoles en las fresas, así como la temperatura y la duración de la luz solar que parece ser otras variables que alteran la formación de metabolitos secundarios en estos frutos [116].

3.3.2. Antocianinas totales

Para obtener el contenido de antocianinas totales inicialmente se aisló y purificó la cianidina-3-glucósido de aproximadamente 250 g de moras. Cuando este proceso culminó, se requirió confirmar que la muestra se encontraba purificada, por lo cual al inyectar una parte de este analito en el UHPLC+ con detector de arreglo de diodos, Thermo Scientific Ultimate 3000, se obtuvo un espectro de absorción con un solo un pico claro aproximadamente al minuto 1,479 durante la corrida de 25 minutos, lo cual permitió dilucidar un compuesto claramente purificado en la disolución, como se observa en la Figura 26.

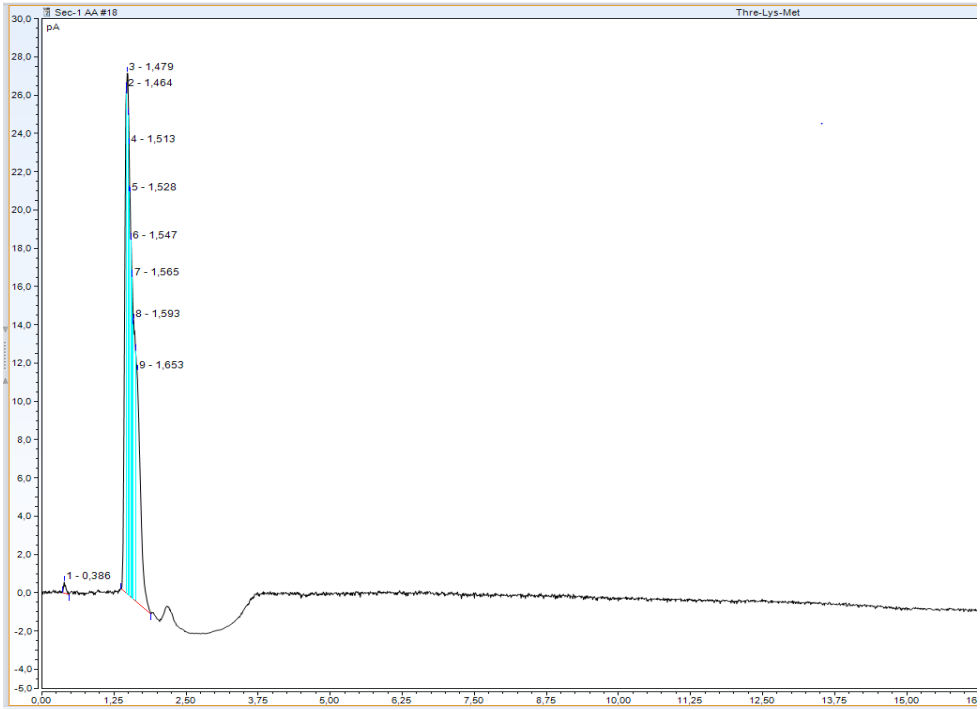

Figura 24.Cromatograma obtenido del extracto de moras aislado y purificado para obtener la antocianina cianidina-3-glucósido, realizado en un UHPLC+ Thermo Scientific Ultimate 3000

Posteriormente, para determinar el compuesto que se logró purificar a partir de las moras, un porcentaje de este extracto fue inyectado en un HPLC-MS Waters Alliance 2695, el cual generó una separación de iones según su relación masa-carga (m/z), en donde el espectro indicó que se obtuvo un ion con una relación masa/carga de 449, como se observa en la Figura 27. Este es el peso molecular del analito buscado, y como anteriormente en la literatura se ha obtenido el mismo espectro de masas para este compuesto cuando no ha existido fragmentación, se pudo corroborar que la antocianina aislada y purificada de la mora fue la cianidina-3-glucósido [122,123].

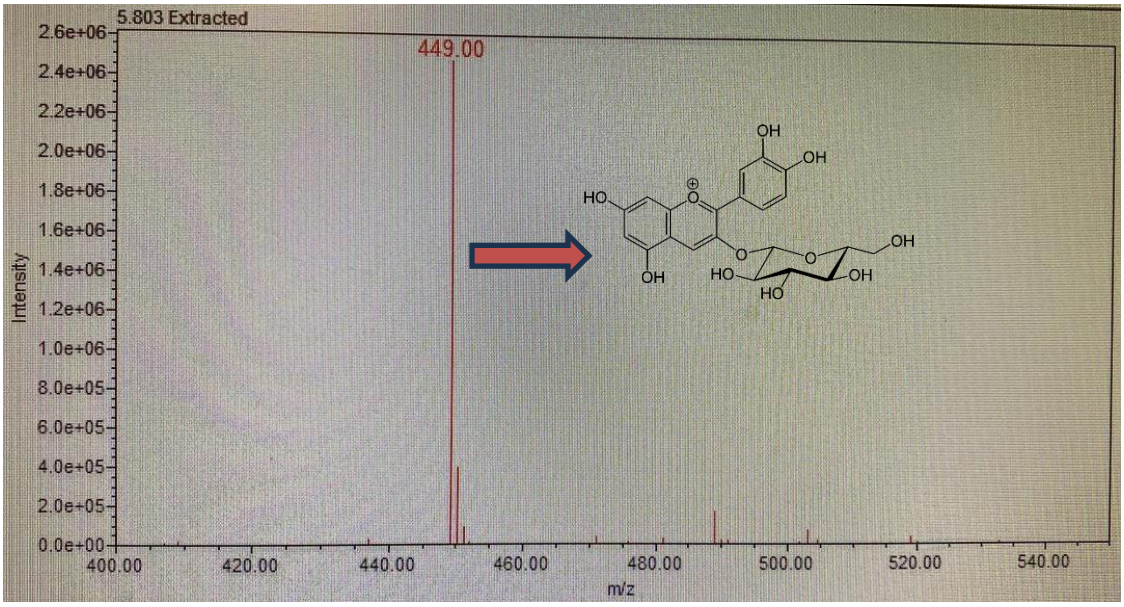

Figura 25. Espectro de masas obtenido en un HPLC masas Waters Alliance 2695 a partir de la inyección de una muestra purificada y aislada de moras

Con la antocianina previamente aislada y purificada, se preparó una curva de calibración medida espectrofotométricamente, utilizando la metodología de pH diferencial, la cual, generó un coeficiente de determinación de 0,9993, que se observa en la Figura 28.

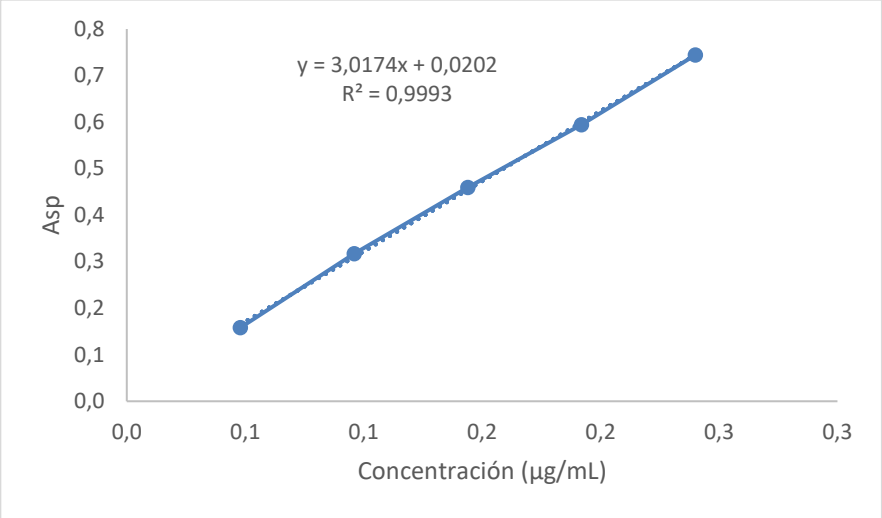

Figura 26. Curva de calibración de la antocianina cianidina-3-glucósido medida por pH diferencial, utilizando un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT

Mediante la metodología de pH diferencial se obtuvo la concentración de antocianinas, debido a que este es un proceso donde las disoluciones amortiguadoras crean cambios estructurales reversibles en la composición de las antocianinas a diferentes pH. Por lo tanto, debido a que la concentración de estos pigmentos es proporcional a la diferencia de absorbancia utilizando diferentes longitudes de onda, este método permite estimar la concentración de antocianinas totales [109].

Por lo tanto, con la curva de calibración de la Figura 28 se determinó la concentración de las antocianinas totales de las fresas, usando distintos tipos de radiación incidente, utilizando como patrón de referencia a la cianidina-3-glúcosido, como se observa en el Cuadro 29, reportando la concentración en µg de cianidina-3-glucosido equivalentes / g muestra seca.

Cuadro 29. Promedio de las concentraciones de antocianinas totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, realizado mediante la metodología de pH diferencial en un lector de microplacas Biotek modelo Synergy HT

Tipo Radiación	Concentración (µg C3G/g MS)	Desviación estándar
Control	5,49	±0,16
Rojo	7,74	±0,82
Verde	9,19	±0,85
Azul	8,54	±0,88

A partir de estos datos, se aplicó la comparación de muestras K para evaluar si existe diferencia significativa en la cantidad de polifenoles totales de las fresas expuestas a distintos

tipos de radiación incidente. En la Figura 29 se muestran los gráficos Q-Q, en donde no se muestra una tendencia completamente lineal, pero se mantienen dentro de los parámetros del gráfico. Adicionalmente, el gráfico de barra muestra una tendencia normal. Debido a que en este proyecto se está haciendo análisis exploratorios y no inferencias de los resultados, y que además en investigaciones previas se ha demostrado que al aplicar pruebas paramétricas como el análisis de varianza de una vía (ANOVA) para el tratamiento de los datos, se obtienen resultados satisfactorios [32,33,36,37], se decidió considerar que los datos se comportan de manera normal, con el objetivo de utilizar los datos medidos y no simulaciones como ocurren en los datos no paramétricos. Sin embargo, debido a que no se obtuvo equivalencia de varianzas como se aprecia en el Cuadro 30, se decidió utilizar Welch ANOVA para concluir la hipótesis. Por lo tanto, utilizando un nivel de significancia de 5 % para todas las pruebas se obtuvo los resultados mostrados en el Cuadro 29.

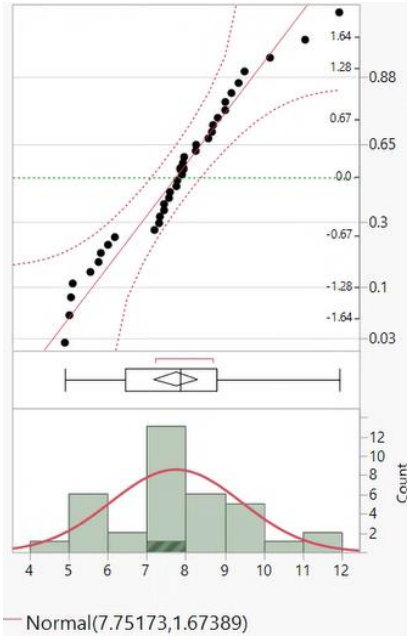

Figura 27. Gráficos Q-Q de las concentraciones de antocianinas totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14

Cuadro 30. Pruebas estadísticas aplicadas a las concentraciones de antocianinas totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14

Normalidad (Shapiro-Wilk)	Homocedasticidad (Levene)	Homogeneidad de Varianzas (Brown-Forsythe)	Welch Anova Test
0,2554	0,0275	0,0475	< 0,0001

A partir de las pruebas estadísticas en donde se obtuvo un p-value < 0,05 en el Welch ANOVA test, se concluyó que la información muestra que hay suficiente evidencia

estadística para rechazar la hipótesis nula, lo cual es indicativo que existe diferencia significativa en la cantidad de antocianinas totales de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente. Adicionalmente en la Figura 30, en la parte inferior se hizo un análisis Tukey, el cual permitió comparar los promedios entre cada tipo de radiación incidente, en donde con un gráfico One-Way Anova, se observa que las fresas que no tuvieron radiación artificial (Control) poseen una concentración de antocianinas significativamente menor a los restantes grupos que tuvieron una radiación incidente artificial. Sin embargo, los grupos con radiación artificial no mostraron una diferencia significativa entre ellos.

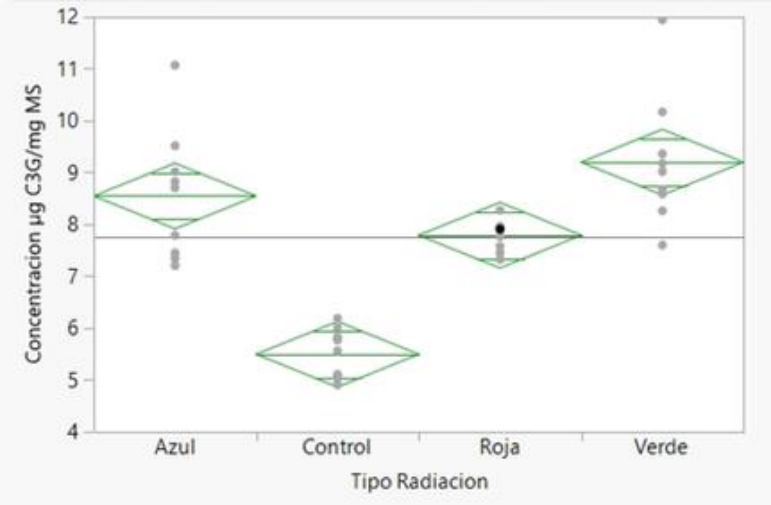

Figura 28. Tukey Test y gráfico Oneway Anova de las concentraciones de antocianinas totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14

Mediante la metodología de pH diferencial se obtuvo la concentración de antocianinas, debido a que este es un proceso donde las disoluciones amortiguadoras crean cambios estructurales reversibles en la composición de las antocianinas a diferentes pH. Por lo tanto, debido a que la concentración de estos pigmentos es proporcional a la diferencia de absorbancia utilizando diferentes longitudes de onda, este método permite estimar la concentración de antocianinas totales [109].

La diferencia de estos resultados se debe principalmente a que la radiación artificial aumenta la absorción de radiación fotosintéticamente activa y se impulsa la fotosíntesis de manera eficiente en todos los cloroplastos (Terashima et al., 2009a). Al mejorarse la fotosíntesis hace que los diferentes pigmentos fotosintéticos absorban esta energía, mejorando las características químicas y organolépticas, y con esto se aumente el contenido de por ejemplo antocianinas, materia seca y las capacidades antioxidantes [124]. Para mejorar la tasa de acumulación de antocianinas se debe de realizar en condiciones de baja tasa de fluencia como los bombillos de baja potencia que se colocaron debido a que esta tendencia se puede revertir si se aumenta la tasa de fluencia [117,121,125,126].

Además de obtener mayores concentraciones de antocianinas, utilizando radiación artificial; la teoría también provee beneficios adicionales a esta tecnología, entre las que se destacan el aumento del área foliar de las plantas y un aumento en el índice de contenido de clorofila durante el crecimiento de plantas como de pimientos negros [82]. Pero, así como ocurre con la generación de compuesto fenólicos, se ha visto que el tipo de radiación ideal para aumentar las concentraciones de antocianinas es la radiación UV, ya que se ha demostrado que estas longitudes de onda afectan el contenido de fitoquímicos y pigmentos de las plantas de tomate, debido a que la radiación UV-B adicional provoca un enrojecimiento más temprano y por consiguiente un mayor contenido polifenólico [34]. Adicionalmente, otros factores que pueden alterar las concentraciones de antocianinas son el pH, concentración de CO_2, y el medio de cultivo; siendo interesante estudiar además de la radiación UV algunos de estas otras variables a futuro, para entender si se puede mejorar aún más la calidad de las fresas cultivadas en el sector de Vara Blanca [34,121].

3.3.3. Azúcares totales

Determinar el contenido de azúcares en las frutas es de vital importancia ya que estos determinan el dulzor de la fruta fresca. Además, afectan la calidad de los productos procesados del fruto. Los azúcares postcosecha son sustratos importantes para muchos metabolitos secundarios, ya que hacen que la planta sea más resistente a diversos tipos de estrés [35]. En el caso específico de las fresas, se ha determinado que el contenido de azúcares consiste en sacarosa, fructuosa y azúcares reductores y no reductores [127]. Es por lo anterior que se realizaron los siguientes análisis para entender cómo afecta los distintos tipos de radiación artificial al crecimiento de fresas.

A partir de la metodología planteada, se obtuvo una curva de calibración de glucosa con un coeficiente de determinación de 0,9928 medido espectrofotométricamente por el procedimiento de Fenol-sulfúrico, como se observa en la Figura 31.

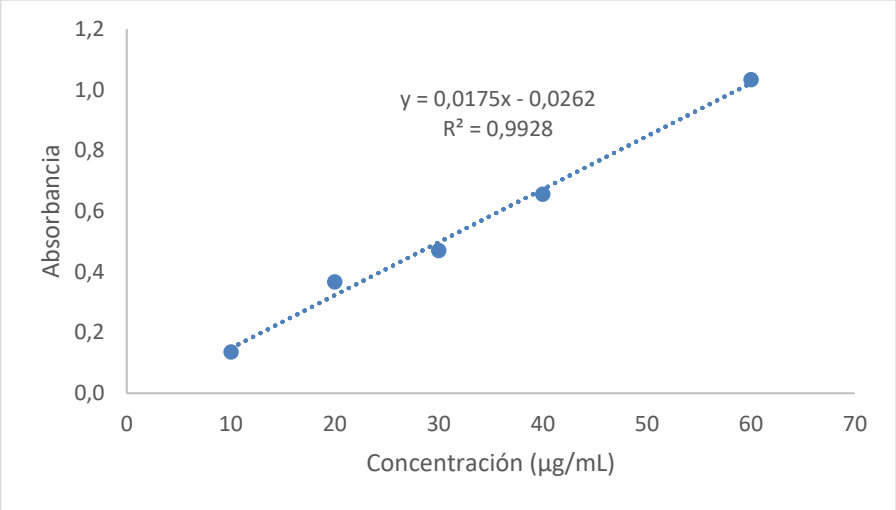

Figura 29. Curva de calibración de glucosa, medido espectrofotométricamente por el método de Fenol-sulfúrico en un espectrofotómetro Thermo Fisher modelo Evolution 350 UV-Vis

A partir de la Figura 31, se obtuvo la concentración de azúcares totales de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, como se observa en el Cuadro 31, el cual detalla los resultados en mg de glucosa / mg muestra seca.

Cuadro 31. Promedio de las concentraciones de azúcares totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, realizado por espectrofotometría en un espectrofotómetro Thermo Fisher modelo Evolution 350 UV-Vis

Tipo Radiación	Concentración (mg Glucosa/mg Muestra Seca)	Desviación Estándar
Control	3,38	± 0,34
Rojo	3,38	± 0,95
Verde	3,96	± 0,28
Azul	3,61	± 0,44

A partir de estos datos, se aplicó la comparación de muestras K para evaluar si existe una diferencia significativa en la concentración de azúcares totales de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente. Para esto, se generaron los gráficos Q-Q de la Figura 32, en donde los datos no muestran una tendencia completamente lineal, pero se mantienen dentro de los parámetros de los cuartiles, mostrando una tendencia normal. Adicionalmente, debido a que en este proyecto se está haciendo análisis exploratorios y no inferencias de los resultados, y que además en investigaciones previas se ha demostrado que al aplicar pruebas paramétricas como el análisis de varianza de una vía (ANOVA) para el tratamiento de los datos, se obtienen resultados satisfactorios [32,33,36,37]. Por tal motivo, se decidió considerar que los datos se comportan de manera normal, con el objetivo de utilizar los datos medidos y no simulaciones como ocurren en los datos no paramétricos. Por lo tanto, usando un nivel de significancia de 5 % para las pruebas se obtuvo los resultados del Cuadro 32.

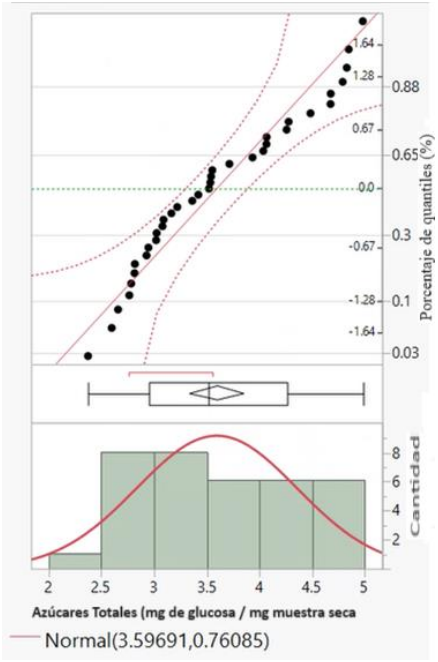

Figura 30. Gráficos Q-Q de las concentraciones de azúcares totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14

Cuadro 32. Pruebas estadísticas aplicadas a las concentraciones de azúcares totales en las muestras de fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente, utilizando el software JMP-14

Normalidad (Shapiro-Wilk)	Homocedasticidad (Levene)	Homogeneidad de Varianzas (Brown-Forsythe)	Anova Test
0,043	0,183	0,522	0,361

A partir de las pruebas estadísticas en donde se obtuvo un p-value > 0,05 en los ANOVA test, lo cual permite concluir que hay suficiente evidencia estadística para no rechazar la hipótesis nula, lo cual es indicativo de que no existe diferencia significativa en la cantidad de azúcares totales de las fresas expuestas a distintos tipos de radiación incidente. 127,128128129

Por lo tanto, un factor que podría mejorar la concentración de azúcares totales en las fresas consiste en emplear otro tipo de lampara debido a que se ha demostrado una relación directa entre las concentraciones de azúcar en los tomates y el aumento en la intensidad de la radiación y en este caso al utilizar bombillos de 10 Watts pudieron no ser los adecuado para el cultivo en invernaderos [119]. Adicionalmente, se ha confirmado que la mezcla de distintos tipos de radiaciones como la radiación Roja/Azul, ha mostrado mejores resultados en las concentraciones de azúcares, así como en el sabor, rendimiento y sabor de frutos y

en este caso las pruebas realizadas solo fueron con luces monocromáticas y no se realizaron pruebas con combinación de distintos tipos de radiaciones [129].

Pero, así como ocurre con los análisis de antocianinas y polifenoles, también se ha confirmado que la radiación UV es la que tiene repercusiones en el aumento de azúcares en las frutas en comparación a la radiación LED visible, esto debido a que la fructuosa es afectada por la radiación UVA, mientras que las radiaciones UVB y UVC tienen un impacto significativo con la glucosa [35]. Adicionalmente, la temperatura sigue siendo otro factor primordial para la variación de azúcares en las fresas, ya que la variación de temperaturas entre el día y la noche y el aumento de temperaturas dependiendo de la estación, disminuyen significativamente la concentración de estos analitos [108]. Por esto, estas dos variables siguen siendo importante estudiarlas en futuras investigaciones para observar si se obtienen mejores resultados en las concentraciones de los diferentes analitos que aumentan la calidad de las fresas.

3.4. Análisis de la calidad de las fresas al ser expuestas a distintos tipos de radiación incidente en Vara Blanca de Heredia

Para evaluar algunos de los parámetros de calidad de las fresas, los cuales se explicaron en las previas secciones del capítulo 3, se muestra el Cuadro 33.

Cuadro 33. Evaluación estadística de algunos de los parámetros de calidad de las fresas al exponerse a distintos tipos de radiación incidente

Prueba	¿Existe Diferencia Significativa?	Tipo de radiación con diferencia significativa
Polifenoles Totales	No	-
Antocianinas Totales	Sí	Control
Azúcares Totales	No	-

Estos resultados demuestran como, en general, para esta investigación no se logró obtener una diferencia significativa al utilizar radiación incidente para aumentar las concentraciones de polifenoles y azúcares totales, mientras que, para el caso de las antocianinas totales, solo se determinó que efectivamente esta propiedad puede verse aumentada al usar radiación artificial, sin embargo, ninguna de las longitudes de onda evaluadas mostró una mayor eficiencia que otra.

La diferencia de utilizar radiación natural con respecto a la radiación suplementaria artificial se ha confirmado anteriormente ya que aumenta la fotosíntesis de las hojas, el crecimiento de las plantas y se obtienen mejores rendimientos y calidades de frutos, esto principalmente porque la radiación artificial contribuye a incrementar el tamaño de las hojas, mejorando la interceptación de la luz y la fotosíntesis, similar a los resultados

obtenidos en las secciones previas de esta investigación [45]. Sin embargo, en variadas investigaciones también se ha recalcado que la combinación de diferentes longitudes de onda (emisiones azules – verde – roja), es cuando se obtienen mejores resultados en el crecimiento y el desarrollo de las fresas *Fragaria×ananassa* Duch, mientras para este caso cada muestra se realizó utilizando una longitud de onda fija [120].

Otro factor que se debe de considerar es que en muchas regiones el cultivo de frutos como lechugas y tomates en ambientes controlados con radiación artificial es muy común, en donde el uso de las lámparas incandescentes y de sodio de alta presión (HPS) son los tipos más común de fuente de luz eléctrica utilizada en invernaderos comerciales y en los últimos años también el uso de diodos emisores de luz (LED) se ha comenzado a comercializar debido a que consumen menos electricidad, provee longitudes de onda específicas y poseen un mayor ciclo de vida. Adicionalmente en estos cultivos, la potencia que provee estos dispositivos ronda más de los 100 Watts llegando en casos hasta más de 600 Watts [119,130,131]. Mientras para esta investigación, la cual era de manera exploratoria aplicada a los cultivos de fresas, se utilizaron bombillos de bajo consumo (10 Watts). Es por esta razón de calidad energética y el tipo de bombillo utilizado que probablemente no se obtuvieron resultados que pudieran mostrar una diferencia significativa entre cada tipo de radiación incidente artificial.

Sin embargo, los resultados revelaron que la radiación artificial solamente contribuyó a mejorar la concentración de antocianinas en los frutos y si para futuras investigaciones se utilizan bombillos de mejor calidad, tipo LED, se podrían obtener mejores propiedades y calidad en las fresas como incrementos en el contenido de sólidos solubles, acidez, vitamina C, antocianinas, polifenoles, azúcares solubles y carotenoides [77,127,128]. Se debe de tener en consideración que la variedad de resultados reportados en los diferentes estudios es muy grande y la efectividad de la irradiación artificial dependerán de factores como la intensidad de la radiación utilizada, las concentraciones de CO_2, la temperatura ambiental, la época del año y el tiempo bajo exposición [132].

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Efecto de utilizar radiación artificial para el crecimiento de fresas en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia

Se confirmó que el invernadero en la finca Gamaliel cumple su objetivo al reducir la radiación solar directa, al permitir principalmente el paso de la radiación difusa y mejorar el crecimiento de las plantas. La utilización de invernaderos en el proyecto Gamaliel se presenta como una necesidad respaldada a partir de la investigación realizada.

En las investigaciones con respecto a la variabilidad y el efecto de utilizar distintos tipos de radiación incidente para el crecimiento de fresa, las pruebas estadísticas aplicadas no encontraron diferencias significativas en la radiación incidente entre las zonas con radiación artificial, mientras la variabilidad observada en la zona control se asocia con la influencia del plástico negro en la absorción de radiación, afectando la homogeneidad en este caso.

Con respecto al análisis financiero, teóricamente el aumento de producción compensa los gastos de la inversión inicial al utilizar radiación LED. Sin embargo, es fundamental destacar que estas conclusiones se basan en un análisis exploratorio y teórico, y se recomienda para futuras investigaciones plantear un sistema que utilice equipos profesionales de irradiación de luz artificial de cultivos para llevar a cabo investigaciones y pruebas prácticas para validar estos resultados en condiciones reales de cultivo antes de iniciar una posible producción industrial con radiación artificial.

2. **Calidad del agua de la quebrada Azufre para ser utilizada para el cultivo de fresas por hidroponía en el sector de Vara Blanca de Heredia**

La comparación entre los índices holandés y NSF resalta que ambos confirman la contaminación de la quebrada Azufre, en donde los resultados obtenidos de las altas concentraciones de DBO, la baja presencia de oxígeno disuelto y altas concentraciones de coliformes fecales, indican la presencia de contaminantes en el agua. La principal causa de esta contaminación pudo deberse a la posible liberación de materia orgánica, en el cauce de la quebrada.

La evaluación de la calidad del agua según el reglamento costarricense revela que, a pesar de algunas propiedades físico-químicas en rango aceptable, la presencia de coliformes fecales determina una clasificación de "No utilizable" para ambas estaciones climáticas, debido principalmente a las altas concentraciones de material orgánico y coliformes fecales que impacta negativamente en la calidad del agua. Por lo que, entre las acciones correctivas a corto plazo, se recalca la importancia de reducir la contaminación por coliformes fecales, incluyendo denuncias y evaluaciones ambientales, mientras a mediano plazo se debe de llevar a cabo, el proyecto Gamaliel-Prodifresa, en donde la captación se agua se trasladará a una nueva fuente de agua en busca de asegurar el acceso sostenible a fuentes de agua seguras y concesionadas.

3. **Variación en la calidad de las fresas en viveros del sector de Vara Blanca de Heredia cuando se exponen a distintos tipos de radiación incidente**

El estudio abordó la influencia de distintos tipos de radiación LED en el contenido de

polifenoles totales, antocianinas y azúcares totales en fresas. Respecto al contenido de polifenoles y azúcares totales, no se obtuvo una diferencia significativa al utilizar radiación incidente artificial, en comparación al análisis de antocianinas totales que demostró un aumento de estos compuestos al utilizar radiación artificial para irradiar las plantas de fresas, sin mostrar diferencias significativas por algún espectro específico de la luz visible.

En general, utilizando bombillos de 10 Watts para irradiar artificialmente las plantas de fresas, se concluye que el potencial generado no fue suficiente para mostrar una diferencia significativa en la mayoría de las propiedades físico-químicas de las fresas, y se sugiere para futuras investigaciones el uso de bombillos de mejor calidad, como los LED, para optimizar mejor las propiedades de las fresas. No obstante, se destaca la variabilidad en los resultados de diferentes estudios, y se enfatiza la necesidad de considerar factores como la intensidad de la radiación, concentraciones de CO_2, época del año y tiempo de exposición en futuras investigaciones para obtener mejores resultados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(1) Folta, K. M. Functionalizing the Strawberry Genome-A Review. *International Journal of Fruit Science*. January 2013, pp 162–174. https://doi.org/10.1080/15538362.2012.698150.

(2) Akhatou, I.; Fernández Recamales, Á. Influence of Cultivar and Culture System on Nutritional and Organoleptic Quality of Strawberry. *J Sci Food Agric* 2014, *94* (5), 866–875. https://doi.org/10.1002/jsfa.6313.

(3) Colquhoun, T. A.; Levin, L. A.; Moskowitz, H. R.; Whitaker, V. M.; Clark, D. G.; Folta, K. M. Framing the Perfect Strawberry: An Exercise in Consumer-Assisted Selection of Fruit Crops. *J Berry Res* 2012, *2* (1), 45–61. https://doi.org/10.3233/JBR-2011-027.

(4) Dhukate, M. R.; Kher, M. M.; Vadawale, A. V. Protocol for Micropropagation of Strawberry (Fragaria × Ananassa) Cv. 'Sweet Charlie' and 'Winter Dawn.' *Environmental and Experimental Biology* 2021, *19* (1). https://doi.org/10.22364/eeb.19.01.

(5) Giampieri, F.; Alvarez-Suarez, J. M.; Mazzoni, L.; Romandini, S.; Bompadre, S.; Diamanti, J.; Capocasa, F.; Mezzetti, B.; Quiles, J. L.; Ferreiro, M. S.; Tulipani, S.; Battino, M. The Strawberry: Composition, Nutritional Quality, and Impact on Human Health. *Nutrition* 2012, *28*, 9–19. https://doi.org/10.1080/14786419.2012.706294.

(6) Pillet, J.; Yu, H. W.; Chambers, A. H.; Whitaker, V. M.; Folta, K. M. Identification of Candidate Flavonoid Pathway Genes Using Transcriptome Correlation Network Analysis in Ripe Strawberry (Fragaria × Ananassa) Fruits. *J Exp Bot* 2015, *66* (15), 4455–4467. https://doi.org/10.1093/jxb/erv205.

(7) Ministerio de Agricultura y Ganadería. *FRAGARIA SPP. ROSACEAE INTRODUCCION*. http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/biblioteca_vvirtual/tec_fresa.pdf (accessed 2022-04-29).

(8) Mangku, I. G. P.; Rudianta, I. N. Stabilization of the Quality and Anthocyanin in

Strawberry Puree during Storage. In *Journal of Physics: Conference Series*; Institute of Physics Publishing, 2019; Vol. 1402. https://doi.org/10.1088/1742-6596/1402/2/022063.

(9) Heliospectra. *Oasis Springs Farm_ Using LED Grow Lights to Improve Crop Quality and Increase Production by 33% in Shipping Containers*. https://www.heliospectra.com/customer-references/oasis-springs-farm-led-grow-lights. https://www.heliospectra.com/customer-references/oasis-springs-farm-led-grow-lights (accessed 2022-04-29).

(10) Kepenek, K. Photosynthetic Effects of Light-Emitting Diode (LED) on in Vitro-Derived Strawberry (Fragaria x Ananassa Cv. Festival) Plants Under in Vitro Conditions. *Erwerbs-Obstbau* 2019, *61* (2), 179–187. https://doi.org/10.1007/s10341-018-00414-0.

(11) Rout, G. R.; Palei, S.; Das, A. K. In Vitro Studies of Strawberry-An Important Fruit Crop: A Review. *Jour Pl Sci Res* 2015, *31* (2), 115–131.

(12) Capocasa, F.; Balducci, F.; Marcellini, M.; Bernardini, D.; Navacchi, O.; Mezzetti, B. Comparing Nursery Behavior, Field Plant Yield and Fruit Quality of in Vitro and in Vivo Propagated Strawberry Mother Plants. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 2019, *136* (1), 65–74. https://doi.org/10.1007/s11240-018-1492-8.

(13) Eurosemillas. *San Andrea Eurosemillas*; 2022.

(14) Rodrigues de Miranda, F.; Barros da Silva, V.; Sérgio Ribeiro dos Santos, F.; Guimarães Rossetti, A.; de Fatima Bruce da Silva, C. Production of Strawberry Cultivars in Closed Hydroponic Systems and Coconut Fibre Substrate 1 Produção de Cultivares Morangueiro Em Sistemas Hidropônicos Fechados e Substrato de Fibra de Coco. *Revista Ciência Agronômica* 2014, 833–841.

(15) Thakulla, D.; Dunn, B.; Hu, B.; Goad, C.; Maness, N. Nutrient Solution Temperature Affects Growth And◦ Brix Parameters of Seventeen Lettuce Cultivars Grown in an NFT Hydroponic System. *Horticulturae* 2021, *7* (9). https://doi.org/10.3390/horticulturae7090321.

(16) DRAIE, R. Are Hydroponics of Strawberry in Home Balconies a Promising EconomicTechnique? *International Research Journal of Innovations in Engineering and Technology (IRJIET)* 2019, *3* (11), 10–18.

(17) Lema-Rumińska, J.; Kulus, D.; Tymoszuk, A.; Miler, N.; Woźny, A.; Wenda-Piesik, A. Physiological, Biochemical, and Biometrical Response of Cultivated Strawberry and Wild Strawberry in Greenhouse Gutter Cultivation in the Autumn-Winter Season in Poland—Preliminary Study. *Agronomy* 2021, *11* (8). https://doi.org/10.3390/agronomy11081633.

(18) Jeon, S. H.; Kuppusamy, S.; Yoon, Y. E.; Kim, H. T.; Lee, Y. B. Are There as Many Essential and Non-Essential Minerals in Hydroponic Strawberry (Fragaria Ananassa L.) Compared to Those Grown in Soil? *Biol Trace Elem Res* 2019, *187* (2), 562–567. https://doi.org/10.1007/s12011-018-1394-y.

(19) Adak, N.; Tozlu, I.; Gubbuk, H. Influence of Different Soilless Substrates to Morpho-Physiological Characteristics and Yield Relations in Strawberries. *Erwerbs-Obstbau* 2018, *60* (4), 341–348. https://doi.org/10.1007/s10341-018-0382-x.

(20) Kumar, R. R.; Cho, J. Y. Reuse of Hydroponic Waste Solution. *Environmental Science and Pollution Research*. Springer Verlag 2014, pp 9569–9577. https://doi.org/10.1007/s11356-014-3024-3.

(21) Guerrero Guerrero, E. M. Evaluación de Sustratos Bajo Un Sistema Hidropónico En Un Cultivo de Fresa Con Variables de Calidad. *Informador Técnico* 2020, *85* (1), 52–63. https://doi.org/10.23850/22565035.2922.
(22) Casierra-Posada, F.; Peña-Olmos, J.; Ulrichs, C. Basic Growth Analysis in Strawberry Plants (Fragaria Sp.) Exposed to Different Radiation Environments. *Agron Colomb* 2012, *30* (1), 25–33.
(23) Shiukhy, S.; Raeini-Sarjaz, M.; Chalavi, V. Colored Plastic Mulch Microclimates Affect Strawberry Fruit Yield and Quality. *Int J Biometeorol* 2015, *59* (8), 1061–1066. https://doi.org/10.1007/s00484-014-0919-0.
(24) Zheng, J. F.; He, D. X.; Ji, F. Effects of Light Intensity and Photoperiod on Runner Plant Propagation of Hydroponic Strawberry Transplants under LED Lighting. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering* 2019, *12* (6), 26–31. https://doi.org/10.25165/j.ijabe.20191206.5265.
(25) Kume, A.; Akitsu, T.; Nasahara, K. N. Why Is Chlorophyll b Only Used in Light-Harvesting Systems? *J Plant Res* 2018, *131* (6), 961–972. https://doi.org/10.1007/s10265-018-1052-7.
(26) Milne, B. F.; Toker, Y.; Rubio, A.; Nielsen, S. B. Unraveling the Intrinsic Color of Chlorophyll. *Angewandte Chemie - International Edition* 2015, *54* (7), 2170–2173. https://doi.org/10.1002/anie.201410899.
(27) Mccree, K. J. *Sigufficance of Enhancement for Calculations Based on the Action Spectrum for Photosynthesist*; 1971; Vol. 49. www.plantphysiol.org.
(28) Asensetek. Spectrum Genius Agricultural Lighting – SGAL. https://spectrophotometer.eu/smart-spectrometer-app-for-ios-android/agricultural-lighting-spectrometer-app-ios-android/ 2014.
(29) Zhang, X.; Zhang, F.; Li, M.; Zhang, Z.; Liu, W. Design and Applications of Multichannel Photosynthetic Photon Flux Density Sensor for Artificial Lighting. *Optical Engineering* 2019, *58* (02), 1. https://doi.org/10.1117/1.oe.58.2.027105.
(30) Palmer, S.; van Iersel, M. W. Increasing Growth of Lettuce and Mizuna under Sole-Source LED Lighting Using Longer Photoperiods with the Same Daily Light Integral. *Agronomy* 2020, *10* (11). https://doi.org/10.3390/agronomy10111659.
(31) Zhang, Y.; Kaiser, E.; Zhang, Y.; Yang, Q.; Li, T. Red/Blue Light Ratio Strongly Affects Steady-State Photosynthesis, but Hardly Affects Photosynthetic Induction in Tomato (Solanum Lycopersicum). *Physiol Plant* 2019, *167* (2), 144–158. https://doi.org/10.1111/ppl.12876.
(32) Weber, N.; Zupanc, V.; Jakopic, J.; Veberic, R.; Mikulic-Petkovsek, M.; Stampar, F. Influence of Deficit Irrigation on Strawberry (Fragaria × Ananassa Duch.) Fruit Quality. *J Sci Food Agric* 2017, *97* (3), 849–857. https://doi.org/10.1002/jsfa.7806.
(33) Peng, X.; Wang, B.; Wang, X.; Ni, B.; Zuo, Z. Variations in Aroma and Specific Flavor in Strawberry under Different Colored Light-Quality Selective Plastic Film. *Flavour Fragr J* 2020, *35* (3), 350–359. https://doi.org/10.1002/ffj.3569.
(34) Ordidge, M.; García-Macías, P.; Battey, N. H.; Gordon, M. H.; John, P.; Lovegrove, J. A.; Vysini, E.; Wagstaffe, A.; Hadley, P. Development of Colour and Firmness in Strawberry Crops Is UV Light Sensitive, but Colour Is Not a Good Predictor of Several Quality Parameters. *J Sci Food Agric* 2012, *92* (8), 1597–1604. https://doi.org/10.1002/jsfa.4744.
(35) Hu, L.; Yang, C.; Zhang, L.; Feng, J.; Xi, W. Effect of Light-Emitting Diodes and

Ultraviolet Irradiation on the Soluble Sugar, Organic Acid, and Carotenoid Content of Postharvest Sweet Oranges (Citrus Sinensis (L.) Osbeck). *Molecules* 2019, *24* (19). https://doi.org/10.3390/molecules24193440.

(36) Yoon, Y. S.; Kim, J. K.; Lee, K. C.; Eun, J. B.; Park, J. H. Effects of Electron-Beam Irradiation on Postharvest Strawberry Quality. *J Food Process Preserv* 2020, *44* (9). https://doi.org/10.1111/jfpp.14665.

(37) Balasooriya, H. N.; Dassanayake, K. B.; Seneweera, S.; Ajlouni, S. Impact of Elevated Carbon Dioxide and Temperature on Strawberry Polyphenols. *J Sci Food Agric* 2019, *99* (10), 4659–4669. https://doi.org/10.1002/jsfa.9706.

(38) Alvarez, V. *Análisis de Azucares Totales Por Fenol Sulfturico*; 2020.

(39) Haida, M.; El Khalloufi, F.; Mugani, R.; Redouane, E. M.; Campos, A.; Vasconcelos, V.; Oudra, B. Effects of Irrigation with Microcystin-Containing Water on Growth, Physiology, and Antioxidant Defense in Strawberry Fragaria Vulgaris under Hydroponic Culture. *Toxins (Basel)* 2022, *14* (3). https://doi.org/10.3390/toxins14030198.

(40) Calvo-Brenes, G.; Araya-Ulloa, A. Evaluación de Dos Índices de Calidad Del Agua En Varios Sitios de La Quebrada La Central, Pacayas de Alvarado, Costa Rica. *Revista Tecnología en Marcha* 2018. https://doi.org/10.18845/tm.v31i4.3966.

(41) Gobierno de Costa Rica. Decreto No 33903-MINAE-S. *Diario Oficial La Gaceta*. San José September 17, 2007.

(42) Wills, M.; Irvine, K. N. *Application of the National Sanitation Foundation Water Quality Index in the Cazenovia Creek NY, Pilot Watershed Management Project*; 1996.

(43) Mani, R.; Godfy, I. Artificial Light Balance for Growing Different Varieties of Tomatoes in Different Environments. *IES 2018 Annual Conference* 2018.

(44) Allied Scientific Pro. *How do You Measure Light?* https://www.alliedscientificpro.com/blog/welcome-to-our-blogs-1/post/how-do-you-measure-light-122 (accessed 2022-07-02).

(45) Nguyen, T. K. L.; Cho, K. M.; Lee, H. Y.; Sim, H. S.; Kim, J. H.; Son, K. H. Growth, Fruit Yield, and Bioactive Compounds of Cherry Tomato in Response to Specific White-Based Full-Spectrum Supplemental LED Lighting. *Horticulturae* 2022, *8* (4). https://doi.org/10.3390/horticulturae8040319.

(46) Yanat, M.; Baysal, T. Effect of Freezing Rate and Storage Time on Quality Parameters of Strawberry Frozen in Modified and Home Type Freezer. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* 2018, *13* (3–4), 154–158.

(47) Runkle, E. *Sole-Source Lighting of Plants*; 2017. www.hrt.msu.edu/labs/cell.

(48) Amazon. *MARS HYDRO 2024 TS600 100Watt LED Grow Light 2x2ft Coverage, New Diodes Layout Full Spectrum Growing Lamps for Hydroponic Indoor Plants Seeding Veg and Bloom Greenhouse Fixtures Four for 4x4'*. https://www.amazon.com/dp/B07RSRX1RS?ref=emc_p_m_5_i_atc&th=1.

(49) P.L. Light Systems. *Greenhouse Strawberry Production Recommendations*. https://pllight.com/indoor-strawberry-cultivation/.

(50) Nazir, H. M.; Hussain, I.; Zafar, M. I.; Ali, Z.; AbdEl-Salam, N. M. Classification of Drinking Water Quality Index and Identification of Significant Factors. *Water Resources Management* 2016, *30* (12), 4233–4246. https://doi.org/10.1007/s11269-016-1417-4.

(51) Chemical Industry Digest. *Products & Processes: Hanna Instruments' Innovative Multiparameter*; Athena Information Solutions Pvt. Ltd., 2016.
(52) Mulec, J.; Petrič, M.; Koželj, A.; Brun, C.; Batagelj, E.; Hladnik, A.; Holko, L. A Multiparameter Analysis of Environmental Gradients Related to Hydrological Conditions in a Binary Karst System (Underground Course of the Pivka River, Slovenia). *Acta Carsologica* 2019, *48* (3), 314–327. https://doi.org/10.3986/ac.v48i3.7145.
(53) American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation. Lipps WC; Braun-Howland EB, B. TE. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 24rd ed.; APHA Press: Washington DC, 2023.
(54) Baird, R.; Bridgewater, L.; American Public Health Association; American Water Works Association; Water Environment Federation. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 23rd edition.; American Public Health Association: Washington, D.C., 2017; Vol. 1.
(55) Known Your Own H2O. *Water Quality Index Calculator for Surface Water*. https://www.knowyourh2o.com/outdoor-3/water-quality-index-calculator-for-surface-water.
(56) Brown, R. M.; McClelland, N. I.; Deininger, R. A.; Tozer, R. G. A Water Quality Index: Do We Dare? *Water Sewage Works* 1970, *117* (10), 339–343.
(57) Crecente-Campo, J.; Nunes-Damaceno, M.; Romero-Rodríguez, M. A.; Vázquez-Odériz, M. L. Color, Anthocyanin Pigment, Ascorbic Acid and Total Phenolic Compound Determination in Organic versus Conventional Strawberries (Fragaria×ananassa Duch, Cv Selva). *Journal of Food Composition and Analysis* 2012, *28* (1), 23–30. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.07.004.
(58) de Faria, R. C.; Morgado, C. M. A.; Vespucci, I. L.; de Campos, A. J. UV-C Radiation in Postharvest Quality of Red Dragon Fruit. *Comunicata Scientiae* 2022, *13*. https://doi.org/10.14295/CS.v13.3857.
(59) Cheok, C. Y.; Chin, N. L.; Yusof, Y. A.; Law, C. L. Extraction of Total Phenolic Content from Garcinia Mangostana Linn. Hull. I. Effects of Solvents and UV-Vis Spectrophotometer Absorbance Method. *Food Bioproc Tech* 2012, *5* (7), 2928–2933. https://doi.org/10.1007/s11947-011-0627-2.
(60) Kaeswurm, J. A. H.; Scharinger, A.; Teipel, J.; Buchweitz, M. Absorption Coefficients of Phenolic Structures in Different Solvents Routinely Used for Experiments. *Molecules* 2021, *26* (15). https://doi.org/10.3390/molecules26154656.
(61) Mizzi, L.; Chatzitzika, C.; Gatt, R.; Valdramidis, V. HPLC Analysis of Phenolic Compounds and Flavonoids with Overlapping Peaks. *Food Technol Biotechnol* 2020, *58* (1), 12–19. https://doi.org/10.17113/ftb.58.01.20.6395.
(62) Milinkevich, K. A.; Ye, L.; Kurth, M. J. Synthesis of 5-(Thiazol-5-Yl)-4,5-Dihydroisoxazoles from 3-Chloropentane-2,4-Dione. *J Comb Chem* 2008, *10* (4), 521–525. https://doi.org/10.1021/cc800033m.
(63) Lohachoompol, V.; Srzednicki, G.; Craske, J. *The Change of Total Anthocyanins in Blueberries and Their Antioxidant Effect After Drying and Freezing*; 2004. http://jbb.hindawi.com.
(64) Shi, M.; Mathai, M. L.; Xu, G.; Su, X. Q.; McAinch, A. J. The Effect of Dietary Supplementation with Blueberry, Cyanidin-3-O-β-Glucoside, Yoghurt and Its

Peptides on Gene Expression Associated with Glucose Metabolism in Skeletal Muscle Obtained from a High-Fat-Highcarbohydrate Diet Induced Obesity Model. *PLoS One* 2022, *17* (9 September). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270306.

(65) Inácio, M. R. C.; De Lima, K. M. G.; Lopes, V. G.; Pessoa, J. D. C.; De Almeida Teixeira, G. H. Total Anthocyanin Content Determination in Intact Açaí (Euterpe Oleracea Mart.) and Palmitero-Juçara (Euterpe Edulis Mart.) Fruit Using near Infrared Spectroscopy (NIR) and Multivariate Calibration. *Food Chem* 2013, *136* (3–4), 1160–1164. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.046.

(66) Akšić, M. F.; Tosti, T.; Sredojević, M.; Milivojević, J.; Meland, M.; Natić, M. Comparison of Sugar Profile between Leaves and Fruits of Blueberry and Strawberry Cultivars Grown in Organic and Integrated Production System. *Plants* 2019, *8* (7). https://doi.org/10.3390/plants8070205.

(67) Mahmood, T.; Anwar, F.; Abbas, M.; Boyce, M. C.; Saari, N. Compositional Variation in Sugars and Organic Acids at Different Maturity Stages in Selected Small Fruits from Pakistan. *Int J Mol Sci* 2012, *13* (2), 1380–1392. https://doi.org/10.3390/ijms13021380.

(68) Shapiro, S. S.; Wilk, A. M. B. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples)! *Biometrika* 1965, *52*, 591–611.

(69) Levene, H. Robust Tests for the Equality of Variances. *Contributions to Probability and Statistics* 1960, *69* (346), 278–292.

(70) Fisher, R. A. The Correlation between Relatives on the Supposition of Mendelian Inheritance. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh* 1918, *52*, 399–433.

(71) Welch, B. L. On the Comparison of Several Mean Values: An Alternative Approach. *Biometrika* 1951, *38* (3), 330–336.

(72) Tukey, J. W. Comparing Individual Means in the Analysis of Variance. *Biometrics* 1949, *5* (2), 99–114.

(73) Pitman, E. J. G. Statistics and Science. *J Am Stat Assoc* 1957, *52* (279), 322–330.

(74) Dunnett, C. W. A Multiple Comparison Procedure for Comparing Several Treatments with a Control. *J Am Stat Assoc* 1955, *50* (272), 1096–1121.

(75) Gates, D. M. *Spectral Distribution of Solar Radiation at the Earth's Surface*; 1966; Vol. 151.

(76) Hernández, J.; Castilla, N. La Radiación Solar En Invernaderos Mediterráneos. *Horticultura* 2001, 18–34.

(77) Park, Y.; Runkle, E. S. Spectral Effects of Light-Emitting Diodes on Plant Growth, Visual Color Quality, and Photosynthetic Photon Efficacy: White versus Blue plus Red Radiation. *PLoS One* 2018, *13* (8). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202386.

(78) Shiukhy, S.; Raeini-Sarjaz, M.; Chalavi, V. Colored Plastic Mulch Microclimates Affect Strawberry Fruit Yield and Quality. *Int J Biometeorol* 2015, *59* (8), 1061–1066. https://doi.org/10.1007/s00484-014-0919-0.

(79) Amare, G.; Desta, B. Coloured Plastic Mulches: Impact on Soil Properties and Crop Productivity. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH December 1, 2021. https://doi.org/10.1186/s40538-020-00201-8.

(80) Sharma, N. C.; Sharma, S. D.; Spehia, R. S. *Effect of Plastic Mulch Colour on Growth, Fruiting and Fruit Quality of Strawberry under Polyhouse Cultivation*; 2013.

(81) PISZCZEK, P.; Beata, G. Effect of the Colour of Light on Cucumber (Cucumis Sativus l.) Seedlings. *Vegetable Crops Research Bulletin* 2008, *68*, 71–80. https://doi.org/10.2478/v10032-008-0006-3.
(82) Casierra-Posada, F.; Matallana-Díaz, Y. A.; Zapata-Casierra, E. Growth of Bell Pepper Plants (Capsicum Annuum) Affected by Coloured Covers. *Gesunde Pflanzen* 2014, *66* (4), 149–155. https://doi.org/10.1007/s10343-014-0328-7.
(83) Lyda, S. How Light Color Influences Plant Growth. *Countryside and Small Stock Journal* 2005, *89* (68), 68.
(84) Rehman, M.; Ullah, S.; Bao, Y.; Wang, B.; Peng, D.; Liu, L. Light-Emitting Diodes: Whether an Efficient Source of Light for Indoor Plants? *Environmental Science and Pollution Research*. Springer Verlag November 1, 2017, pp 24743–24752. https://doi.org/10.1007/s11356-017-0333-3.
(85) Gomez, S. N.; Angle, J. M.; Doust, A. How Different Colors of Light Influence Plant Growth. *Science Scope* 2022, *45* (6), 16–23.
(86) Stadler, C. What Must Be Considered in Winter Strawberry Production under LEDs in Iceland? *Acta Agric Scand B Soil Plant Sci* 2023, *73* (1), 152–160. https://doi.org/10.1080/09064710.2023.2251498.
(87) WorldData.info. *Sunrise and sunset in Costa Rica*. https://www.worlddata.info/america/costa-rica/sunset.php.
(88) Granture. *Can You Leave Grow Lights On 24 Hours A Day?*. https://medium.com/@moonycindy/can-you-leave-grow-lights-on-24-hours-a-day-43b88c6dfbf3#:~:text=Ideally%2C%20you%20can%20keep%20grow,need%20to%20sleep%20as%20well.
(89) Runkle, E. The Economic Viability Of LED Lighting. *Greenhouse Grower TECHNOLOGY* 2016, 22.
(90) BCIE. *Tasas de Interés Mínimas Referenciales Aplicables al Sector Público Para Préstamos En Dólares En Los Países Prestatarios Del BCIE (Trimestre Abril - Junio 2024)*; 2024.
(91) BCIE. *Programas de Apoyo a la MIPYME Agronegocios*. https://www.bcie.org/modalidades-e-instrumentos-financieros/intermediacion-financiera/programas-de-mipyme/programas-de-apoyo-a-la-mipyme-agronegocios.
(92) Gutierrez Wa-Chong, T. ¿Tiene Una Pyme? Esto Es Lo Que Ofrecen Los Bancos Nacionales. *https://www.larepublica.net/noticia/-tiene-una-pyme-esto-es-lo-que-ofrecen-los-bancos-nacionales*. San José January 30, 2017.
(93) INSTITUTO COSTARRICENSE DE ELECTRICIDAD. Alcance N°257 Gaceta N°237 Del 21 de Diciembre Del 2023. *Gaceta*. San José December 21, 2023.
(94) Wollaeger, H. M.; Runkle, E. S. Growing Seedlings Under LEDs. *Greehouse Grower* 2014, 80–85.
(95) MarsHydro Europe. *Mars Hydro Warranty*. https://marshydro.eu/refund-warranty/.
(96) Nakayama, M.; Nakazawa, Y. Effects of Environmental Control and LED Supplemental Lighting on Strawberry Growth and Yield in a Subtropical Climate. *Sci Hortic* 2023, *321*. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112349.
(97) Arguedas, A. A. Acciones de Adaptación Ante El Cambio Climático Con Enfoque Participativo En El Proyecto de Desarrollo Rural Gamaliel, Vara Blanca, Costa Rica, Universidad Nacional de Costa Rica, Heredia, 2022.
(98) Auquilla Cisneros, R. Uso Del Suelo y Calidad Del Agua En Quebradas de Fincas

Con Sistemas En La Subcuenca Del Río Jabonal, Costa Rica, 2005.
(99) Bolaños-Alfaro, J. D.; Cordero-Castro, G.; Segura-Araya, G. Determinación de Nitritos, Nitratos, Sulfatos y Fosfatos En Agua Potable Como Indicadores de Contaminación Ocasionada Por El Hombre, En Dos Cantones de Alajuela (Costa Rica). *Revista Tecnología en Marcha* 2017, *30* (4), 15. https://doi.org/10.18845/tm.v30i4.3408.
(100) National Research Council. *Nitrate and Nitrite in Drinking Water*; National Academies Press: Washington, D.C., 1995. https://doi.org/10.17226/9038.
(101) Silva Hernández, F. PRINCIPIO DE PREVENCIÓN Y PRECAUTORIO EN MATERIA AMBIENTAL. *Revista Jurídica Derecho* 2019, *8* (11), 93–106.
(102) Wyrwas, B.; Zgoła-Grześkowiak, A. Continuous Flow Methylene Blue Active Substances Method for the Determination of Anionic Surfactants in River Water and Biodegradation Test Samples. *J Surfactants Deterg* 2014, *17* (1), 191–198. https://doi.org/10.1007/s11743-013-1469-x.
(103) Barrantes, K.; Chacón, L. M.; Solano, M.; Achí, R. Contaminación Fecal del Agua Superficial de la Microcuenca Del Río Purires, Costa Rica. 2010-2011. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 2013, *33*, 40–45.
(104) Afú, C. *Información Proyecto de Riego Gamaliel-Prodifresa*; Alajuela, 2024.
(105) Palencia, P.; Martínez, F.; Medina, J. J.; López-Medina, J. Strawberry Yield Efficiency and Its Correlation with Temperature and Solar Radiation. *Hortic Bras* 2013, *31*, 93–99.
(106) Arney, S. E. Studies of Growth and Development in the Genus Fragaria VI. THE EFFECT OF PHOTOPERIOD AND TEMPERATURE ON LEAF SIZE. *J Exp Bot* 1956, *7* (19), 65–79.
(107) Atkinson, C. J.; Dodds, P. A. A.; Ford, Y. Y.; Le Mière, J.; Taylor, J. M.; Blake, P. S.; Paul, N. Effects of Cultivar, Fruit Number and Reflected Photosynthetically Active Radiation on Fragaria x Ananassa Productivity and Fruit Ellagic Acid and Ascorbic Acid Concentrations. *Ann Bot* 2006, *97* (3), 429–441. https://doi.org/10.1093/aob/mcj046.
(108) Khammayom, N.; Maruyama, N.; Chaichana, C. The Effect of Climatic Parameters on Strawberry Production in a Small Walk-In Greenhouse. *AgriEngineering* 2022, *4* (1), 104–121. https://doi.org/10.3390/agriengineering4010007.
(109) Taghavi, T.; Patel, H.; Rafie, R. Extraction Solvents Affect Anthocyanin Yield, Color, and Profile of Strawberries. *Plants* 2023, *12* (9). https://doi.org/10.3390/plants12091833.
(110) Taghavi, T.; Patel, H.; Akande, O. E.; Galam, D. C. A. Total Anthocyanin Content of Strawberry and the Profile Changes by Extraction Methods and Sample Processing. *Foods* 2022, *11* (8). https://doi.org/10.3390/foods11081072.
(111) Boeing, J. S.; Barizão, É. O.; e Silva, B. C.; Montanher, P. F.; de Cinque Almeida, V.; Visentainer, J. V. Evaluation of Solvent Effect on the Extraction of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacities from the Berries: Application of Principal Component Analysis. *Chem Cent J* 2014, *8* (1). https://doi.org/10.1186/s13065-014-0048-1.
(112) Rodriguez-Saona, Luis. E.; Wrolstad, R. E. Extraction, Isolation, and Purification of Anthocyanins. *Food Analytical Chemistry* 2001.
(113) de Vargas, E. F.; Jablonski, A.; Flôres, S. H.; Rios, A. de O. Obtention of Natural

Dyes from Industrial Blackberry Pulp Residues (Rubus Sp). *J Food Process Preserv* 2017, *41* (1). https://doi.org/10.1111/jfpp.12777.
(114) Alves, G. H.; Ferreira, C. D.; Vivian, P. G.; Monks, J. L. F.; Elias, M. C.; Vanier, N. L.; De Oliveira, M. The Revisited Levels of Free and Bound Phenolics in Rice: Effects of the Extraction Procedure. *Food Chem* 2016, *208*, 116–123. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.107.
(115) Lee, N. Y.; Lee, M. J.; Kim, Y. K.; Park, J. C.; Park, H. K.; Choi, J. S.; Hyun, J. N.; Kim, K. J.; Park, K. H.; Ko, J. K.; Kim, J. G. Effect of Light Emitting Diode Radiation on Antioxidant Activity of Barley Leaf. *J Appl Biol Chem* 2010, *53* (6), 685–690. https://doi.org/10.3839/jksabc.2010.104.
(116) Palmieri, L.; Masuero, D.; Martinatti, P.; Baratto, G.; Martens, S.; Vrhovsek, U. Genotype-by-Environment Effect on Bioactive Compounds in Strawberry (Fragaria x Ananassa Duch.). *J Sci Food Agric* 2017, *97* (12), 4180–4189. https://doi.org/10.1002/jsfa.8290.
(117) Runkle, E. Red Light and Plant Growth. *GPNMAG.COM*. 2016, p 50.
(118) Terashima, I.; Fujita, T.; Inoue, T.; Chow, W. S.; Oguchi, R. Green Light Drives Leaf Photosynthesis More Efficiently than Red Light in Strong White Light: Revisiting the Enigmatic Question of Why Leaves Are Green. *Plant Cell Physiol* 2009, *50* (4), 684–697. https://doi.org/10.1093/pcp/pcp034.
(119) Gómez, C.; Currey, C. J.; Dickson, R. W.; Kim, H. J.; Hernández, R.; Sabeh, N. C.; Raudales, R. E.; Brumfield, R. G.; Laury-Shaw, A.; Wilke, A. K.; Lopez, R. G.; Burnett, S. E. Controlled Environment Food Production for Urban Agriculture. *HortScience* 2019, *54* (9), 1448–1458. https://doi.org/10.21273/HORTSCI14073-19.
(120) Evlakov, P. M.; Bichkov, A. A.; Grodetskaya, T. A.; Yu Zapletin, V. Effect of Various LED Lighting on the Growth and Development of Garden Strawberry Fragariaxananassa Duch. And Groundcover Rose Rosa Hybrida L. And Greenhouse Conditions. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* 2021, *935* (1), 1–8. https://doi.org/10.1088/1755-1315/935/1/012046.
(121) Warner, R.; Wu, B. Sen; MacPherson, S.; Lefsrud, M. A Review of Strawberry Photobiology and Fruit Flavonoids in Controlled Environments. *Front Plant Sci* 2021, *12*. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.611893.
(122) Singh, P.; Roy, T. K.; Kanupriya, C.; Tripathi, P. C.; Kumar, P.; Shivashankara, K. S. Evaluation of Bioactive Constituents of Garcinia Indica (Kokum) as a Potential Source of Hydroxycitric Acid, Anthocyanin, and Phenolic Compounds. *LWT* 2022, *156*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112999.
(123) Díaz-De-Cerio, E.; Verardo, V.; Gómez-Caravaca, A. M.; Fernández-Gutiérrez, A.; Segura-Carretero, A. Exploratory Characterization of Phenolic Compounds with Demonstrated Anti-Diabetic Activity in Guava Leaves at Different Oxidation States. *Int J Mol Sci* 2016, *17* (5). https://doi.org/10.3390/ijms17050699.
(124) Deaquiz-Oyola, Y. A. Los Frutos y Sus Fotosíntesis. *CONEXAGRO JDC* 2014, *4* (1), 39–47.
(125) Carvalho, S. D.; Folta, K. M. Green Light Control of Anthocyanin Production in Microgreens. *Acta Hortic* 2016, *1134*, 13–18. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1134.2.
(126) Runkle, E. Effects of Blue Light on Plants. *GPNMAG.COM*. 2017, p 38.
(127) Kim, B. S.; Lee, H. O.; Kim, J. Y.; Kwon, K. H.; Cha, H. S.; Kim, J. H. An Effect of

Light Emitting Diode (LED) Irradiation Treatment on the Amplification of Functional Components of Immature Strawberry. *Hortic Environ Biotechnol* 2011, *52* (1), 35–39. https://doi.org/10.1007/s13580-011-0189-2.

(128) Huang, J. Y.; Xu, F.; Zhou, W. Effect of LED Irradiation on the Ripening and Nutritional Quality of Postharvest Banana Fruit. *J Sci Food Agric* 2018, *98* (14), 5486–5493. https://doi.org/10.1002/jsfa.9093.

(129) Chen, X. li; Wang, L. chun; Li, T.; Yang, Q. chang; Guo, W. zhong. Sugar Accumulation and Growth of Lettuce Exposed to Different Lighting Modes of Red and Blue LED Light. *Sci Rep* 2019, *9* (1). https://doi.org/10.1038/s41598-019-43498-8.

(130) Meng, Q.; Runkle, E. Control Flowering with LEDs. *Lightening Research* 2014.

(131) Gómez, C.; Mitchell, C. A. *Growth Responses of Tomato Seedlings to Different Spectra of Supplemental Lighting*; 2015; Vol. 50.

(132) Marcelis, L. F. M.; Broekhuijsen, A. G. M.; Meinen, E.; Nijs, E. M. F. M.; Raaphorst, M. G. M. QUANTIFICATION OF THE GROWTH RESPONSE TO LIGHT QUANTITY OF GREENHOUSE GROWN CROPS. *Acta Hortic* 2006, No. 711, 97–104. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.711.9.

(133) Fernandez-Aulis, F.; Hernandez-Vazquez, L.; Aguilar-Osorio, G.; Arrieta-Baez, D.; Navarro-Ocana, A. Extraction and Identification of Anthocyanins in Corn Cob and Corn Husk from Cacahuacintle Maize. *J Food Sci* 2019, *84* (5), 954–962. https://doi.org/10.1111/1750-3841.14589.

ANEXOS

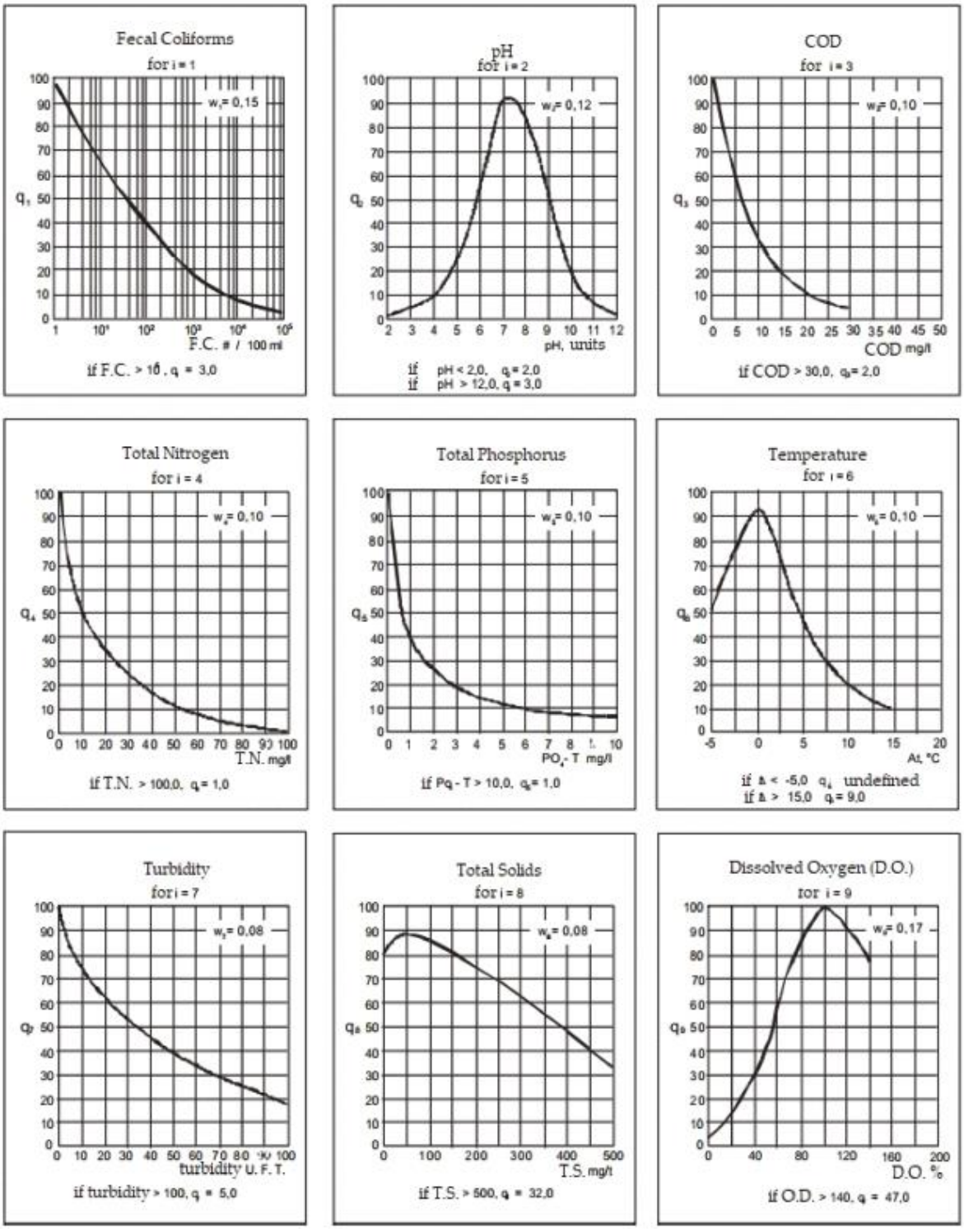

Figura 31. Gráficos de variación de las curvas de los distintos parámetros utilizados en el Índice de la Calidad del Agua de la Fundación Nacional de Saneamiento (NSF) de los Estados Unidos [133]

Cuadro 34. Cuadro 33. Datos obtenidos en los distintos puntos de medición y las diferentes épocas para determinar el índice NSF de la quebrada Azufre

Factor	Weight Factor	Resultado	Fecha	Lugar	Q-Value	Sub-total
Oxígeno Disuelto	0,17	36,93	16/1/2023 (Época Seca)	Quebrada	25,63	4,36
		40,10		Invernadero	29,45	5,01
		42,90	17/7/2023 (Época Lluviosa)	Quebrada	33,11	5,63
		46,50		Invernadero	38,12	6,48
Coliformes Fecales	0,16	7270,00	16/1/2023 (Época Seca)	Quebrada	16,98	2,72
		5480,00		Invernadero	19,56	3,13
		14100,00	17/7/2023 (Época Lluviosa)	Quebrada	10,95	1,75
		2010,00		Invernadero	28,70	4,59
pH	0,11	6,98	16/1/2023 (Época Seca)	Quebrada	87,35	9,61
		7,02		Invernadero	88,62	9,75
		6,25	17/7/2023 (Época Lluviosa)	Quebrada	63,38	6,97
		5,95		Invernadero	53,67	5,90
DBO	0,11	2,91	16/1/2023 (Época Seca)	Quebrada	71,30	7,84
		2,15		Invernadero	77,81	8,56
		5,30	17/7/2023 (Época Lluviosa)	Quebrada	54,55	6,00
		3,20		Invernadero	68,98	7,59
Temperatura	0,10	16,61	16/1/2023 (Época Seca)	Quebrada	NA	NA
		18,07		Invernadero	NA	NA
		-1,46		Promedio	86,00	8,60
		17,41	17/7/2023 (Época Lluviosa)	Quebrada	NA	NA
		18,48		Invernadero	NA	NA
		-1,07		Promedio	90,00	9,00
Fosfato Total	0,10	1,00	16/1/2023 (Época Seca)	Quebrada	74,15	7,42
		1,00		Invernadero	74,15	7,42
		1,00	17/7/2023 (Época Lluviosa)	Quebrada	74,15	7,42
		1,00		Invernadero	74,15	7,42
Nitratos	0,10	2,91	16/1/2023 (Época Seca)	Quebrada	81,00	8,10
		2,96		Invernadero	80,70	8,07
		5,43	17/7/2023 (Época Lluviosa)	Quebrada	66,00	6,60
		5,51		Invernadero	65,00	6,50
Turbidez	0,08	4,94	16/1/2023 (Época Seca)	Quebrada	88,00	7,04
		2,71		Invernadero	92,00	7,36
		4,24	17/7/2023 (Época Lluviosa)	Quebrada	89,00	7,12
		2,50		Invernadero	93,00	7,44
Solidos Totales	0,07	248,00	16/1/2023 (Época Seca)	Quebrada	1,00	0,07
		108,00		Invernadero	1,00	0,07
		140,00	17/7/2023 (Época Lluviosa)	Quebrada	1,00	0,07
		124,00		Invernadero	1,00	0,07

Cuadro 35. Datos obtenidos en los distintos puntos de medición y las diferentes épocas de los parámetros complementarios de la quebrada Azufre

Parámetros Complementarios (Unidades)	Lugar	Fecha	Resultado	Clase	Fecha	Resultado	Clase
Turbiedad (UNT)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	4,94	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	4,24	1
	Invernadero		2,71	1		2,50	1
Temperatura (°C)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	16,61	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	17,41	1
	Invernadero		18,07	1		18,48	1
Potencial de hidrógeno (pH)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	6,98	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	6,25	1
	Invernadero		7,02	1		5,95	1
Nitratos, NO_3^- (mgN/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	2,91	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	9,14	2
	Invernadero		2,96	1		8,92	2
Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	4,30	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	7,84	1
	Invernadero		4,11	1		6,12	1
Cloruros (como Cl) (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	3,50	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	4,22	1
	Invernadero		3,40	1		3,84	1
Fluoruros (como F) (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	0,10	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	0,59	1
	Invernadero		0,10	1		0,58	1
Color (Pt-Co)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	5,00	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	10,00	1
	Invernadero		5,00	1		5,00	1
Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	<6	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	<6	1
	Invernadero		<1	1		<6	1
Sólidos Disueltos (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	244,00	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	138,00	1
	Invernadero		108,00	1		120,00	1
Grasas y Aceites (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	<2,20	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	<2,20	1
Sustancias activas al azul de metileno (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	0,60	3	17/1/2023 (Época Lluviosa)	1,32	4
	Invernadero		0,54	3		1,52	4
Arsénico (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	<0,01 (ND)	2	17/1/2023 (Época Lluviosa)	<0,01 (ND)	2
	Invernadero		<0,01 (ND)	2		<0,01 (ND)	2
Boro (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	0,13	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	0,21	2
Cadmio (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	<0,003 (NC)	1		<0,003 (NC)	1

Parámetros Complementarios (Unidades)	Lugar	Fecha	Resultado	Clase	Fecha	Resultado	Clase
	Invernadero		<0,003 (NC)	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	<0,003 (NC)	1
Cianuro (mg CN^- /L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	< 0,02	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	< 0,02	1
	Invernadero		< 0,02	1		< 0,02	1
Cobre (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	<0,054 (ND)	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	<0,054 (ND)	1
	Invernadero		<0,054 (ND)	1		<0,054 (ND)	1
Cromo Total (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	<0,05 (NC)	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	<0,05 (NC)	1
	Invernadero		<0,05 (NC)	1		<0,05 (NC)	1
Magnesio (mg $MgCO_3$/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	3,98	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	5,38	1
	Invernadero		4,12	1		7,12	1
Mercurio (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	<0,001 (ND)	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	<0,001 (ND)	1
	Invernadero		<0,001 (ND)	1		<0,001 (ND)	1
Níquel (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	<0,02 (NC)	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	<0,02 (NC)	1
	Invernadero		<0,02 (NC)	1		<0,02 (NC)	1
Plomo (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	<0,01 (ND)	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	<0,01 (ND)	1
	Invernadero		<0,01 (ND)	1		<0,01 (ND)	1
Selenio (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	<0,01 (ND)	2	17/1/2023 (Época Lluviosa)	<0,01 (ND)	2
	Invernadero		<0,01 (ND)	2		<0,01 (ND)	2
Sulfatos (SO_4^{-2} (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	49,59	1	17/1/2023 (Época Lluviosa)	53,43	1
	Invernadero		50,23	1		48,27	1
Sumatoria de los Compuestos Organoclorados (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	<0,01	3	17/1/2023 (Época Lluviosa)	<0,01	3
	Invernadero		<0,01	3		<0,01	3
Sumatoria de los Compuestos Organofosforados (mg/L)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	<0,01	3	17/1/2023 (Época Lluviosa)	<0,01	3
	Invernadero		<0,01	3		<0,01	3
Coliformes Fecales (NMP/100 mL)	Quebrada	16/1/2023 (Época Seca)	7270,00	5	17/1/2023 (Época Lluviosa)	14100,00	5
	Invernadero		5480,00	5		2010,00	4