

Estudios para el aprovechamiento potencial de hojas de *Guadua angustifolia* Kunth (Poaceae), para el sector cosmético

Studies for the potential utilization of *Guadua angustifolia* Kunth (Poaceae) leaves for the cosmetic sector

QF. Enith Susana Durango Álvarez, Dr.C. Cecilia Gallardo Cabrera,
QF. Anyeline Contreras Contreras

Universidad de Antioquia. Calle 67 N° 53-68, Medellín, Colombia.

RESUMEN

Introducción: el aprovechamiento de residuos agroindustriales es una práctica que se trata de implementar por el impacto ambiental que representa.

Objetivo: realizar un análisis bromatológico y fitoquímico de las hojas de *Guadua* y evaluar el efecto de algunas variables implicadas en el proceso de obtención del materia vegetal que puedan afectar el rendimiento y la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico.

Métodos: se identificó cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en las hojas y se complementó con un estudio bromatológico según normas AOAC. Mediante diseños de comparación simple y diseño factorial 2^2 , se determinó la influencia del proceso de secado (natural y controlado), el tamaño de partícula (120 μm y 64 μm), edad de los cultivos (3-4 años) y el tiempo de almacenamiento de las hojas secas y molidas (1 y 6 meses) sobre el rendimiento de extracción y la actividad antioxidante (*Folin Ciocalteu* y *DPPH*) del extracto hidroalcohólico.

Resultados: las hojas secas revelan presencia de compuestos con actividad antioxidante (flavonoides y fenoles) y un 2,4 % de nitrógeno menor al reportado para otros bambús. A partir de las hojas se puede obtener un extracto hidroalcohólico con un rendimiento hasta del 10,6 % y con actividad antioxidante hasta de 9,2 mg ácido gálico/100g y 14,5 mg *Trolox* /100g. Se observó que la propiedad antioxidante del extracto hidroalcohólico y el rendimiento de extracción no varían con la edad de los cultivos (3-4 años) de donde provienen las hojas, ni con el método de secado, ni con el tiempo de almacenamiento de las hojas, mientras que si cambian con el tamaño de partícula.

Conclusión: las hojas de Guadua por su actividad antioxidante son una materia prima potencial para ser usada en la industria cosmética.

Palabras clave: actividad antioxidante, *Guadua angustifolia Kunt*, Bambú, Cosméticos.

ABSTRACT

Introduction: the use of agro-industrial wastes is a practice that has been implemented by the environmental impact it represents.

Objective: to perform a bromatological and phytochemical analysis of Guadua leaves and to evaluate the effect of some variables involved in the process of obtaining plant material that may affect the yield and the antioxidant activity of hydroalcoholic extract.

Methods: secondary metabolites in the leaves were qualitatively identified and then supplemented with bromatologic study according to AOAC standards. Through a simple comparison designs and factorial design 2², there was determined the influence of the drying process (natural and controlled), the particle size (120 and 64 µm), crop age (3-4 years) and storage time of the dried and ground leaves (1 and 6 months) on the extraction yield and antioxidant activity (DPPH *Folin and Ciocalteu*) of hydroalcoholic extract.

Results: dried leaves revealed the presence of compounds with antioxidant activity (flavonoids and phenols) and 2,4 % nitrogen less than reported for other bamboo trees. From the leaves, one can obtain a hydroalcoholic extract with yield up to 10,6 % and antioxidant activity up to 9,2 mg gallic acid / 100g and Trolox 14,5 mg / 100g. It was observed that neither age of the cultures (3-4 years) from leaves, the drying method, nor the time storage of leaves affect antioxidant properties and the extraction yield of hydroalcoholic extract, whereas these properties did change with the particle size.

Conclusions: Guadua leaves, for their antioxidant activity, are a potential raw material for use in the cosmetics industry.

Keywords: antioxidant activity, *Guadua angustifolia Kunt*, Bamboo, Cosmetics.

INTRODUCCIÓN

Guadua angustifolia Kunt (Guadua) es el bambú endémico de América¹ y es una de las tres especies más grandes de bambú en el mundo. Debido a la versatilidad, ligereza, flexibilidad, dureza, resistencia de su madera, como a la adaptabilidad climática, crecimiento rápido y fácil manejo en su cultivo, es ampliamente utilizado en las industrias de papel, carbón, y de la construcción. La silvicultura de guaduales en Colombia es una práctica que alcanza un desarrollo tecnológico de gran impacto, con más de 1 145 de cultivo tecnificado en el departamento del Quindío.² En una plantación promedio de la región del Quindío se reporta una producción promedio por cosecha de 700 tallos de Guadua por hectaria (Ha).³ Por cada tallo se generan en promedio 7 kilos de hojas verdes. Para la zona del Quindío se reporta que el 83 % de las empresas desechan las hojas de Guadua y otros residuos de la planta

por medio de repique (esparcimiento o apilamiento de los residuos) para su descomposición, sirviendo de abono para las nuevas plántulas, el 9 % se dejan dispuestos en el mismo cultivo sin llevar a cabo el repique, y el 8 % los dejan a la intemperie acumulados en volumen y mala disposición o no efectúan ninguna de las prácticas anteriores.^{4,5} Así, los desechos del cultivo de Guadua pueden contaminar el aire, agua y suelo, generar lixiviados y convertirse en fuente de agentes patógenos.

Estudios previos reportan el aprovechamiento que se hace de las hojas de otros bambúes.^{6,7} En nuestro laboratorio se ha estudiado la actividad antioxidante de extractos de hojas de Guadua.⁸ Actualmente se incorporan extractos con actividad antioxidante a las formulaciones cosméticas para conferirles propiedades como ansiedad, fotoprotección, entre otras.⁹ Una limitante en la obtención de extractos naturales usados para tales fines es que no se deben usar solventes cuya seguridad esté comprometida, siendo necesaria la revisión de los listados de permisividad cosmética, donde uno de los solventes permitidos es el etanol.¹⁰ La falta de estudios realizados sobre el aprovechamiento de las hojas de Guadua y la necesidad de planificar los terrenos hacen necesario estudiar el efecto de variables como: la edad de la Guadua, el tipo de secado de las hojas, el tipo de molinado, el almacenamiento, entre otras, y determinar si éstas afectan las propiedades del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de las hojas de Guadua.

Este estudio busca hacer un análisis bromatológico e identificar la presencia de metabolitos secundarios en las hojas de Guadua y en segundo término busca determinar las variables implicadas en el proceso de obtención del materia vegetal que puedan afectar el rendimiento y la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico, mediante dos diseños de comparación simple y un diseño factorial 2.²

MÉTODOS

OBTENCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL. El material vegetal procede de cultivos tecnificados ubicados en la localidad de Maracaibo, Valle del Cauca, Colombia. La clasificación y conservación de la especie se encuentra en el Instituto de Ciencias Naturales de Colombia, con código de barras COL000177528, número de catálogo 61 713 y de colección 8 333.

Para el análisis bromatológico y estudio de metabolitos secundarios de las hojas de Guadua, las hojas verdes provenientes de cultivos de cuatro años, fueron secadas a 60 °C por 48 horas. Luego se pasó el material por molino de martillo hasta un tamaño de partícula de 120 µm.

Para el estudio de las variables implicadas en el proceso de preparación del material vegetal, materia prima para el extracto hidroalcohólico seco (EOH), se formaron tres diseños por separado, los cuales se explican a continuación. En el primero se comparó el porcentaje de rendimiento y la actividad antioxidante de EOH obtenidos a partir de hojas secadas por diferentes métodos: natural (hojas dispuestas en láminas de secado al sol, por siete días) y controlado (hojas secadas en horno de calor convectivo a 60 °C por 72 horas). Se fijó la edad del cultivo (4 años) y tamaño de partícula (120 µm).

En el segundo diseño se comparó el porcentaje de rendimiento y la actividad antioxidante de EOH obtenidos a partir de hojas molidas hasta tamaños de partícula

diferentes: 64 y 120 μm . Se fijó la edad del cultivo (4 años) y el tipo de secado (controlado)

En el tercero diseño se comparó el porciento de rendimiento y la actividad antioxidante de EOH obtenidos a partir de material vegetal proveniente de hojas de cultivo de 3 y 4 años, secadas por método controlado (60 °C por 72 horas), molidas a 64 μm y almacenadas en bolsas de polipropileno durante 1 y 6 meses.

DETERMINACIÓN BROMATOLÓGICA DE LAS HOJAS DE GUADUA. Se evaluó el porcentaje de humedad, compuestos grasos y nitrógeno total por métodos AOAC: 930.15/90 (secado convectivo), 920.39/90 (extracción con *Soxhlet*) y 955.04/90 (*MicroKjeldhal*), respectivamente.

ESTUDIO DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE LAS HOJAS DE GUADUA. 30 g de hojas secas y molidas fueron desengrasadas en *soxhlet* con hexano como solvente por 3 horas. Luego fueron sometidas a extracciones sucesivas con solventes de diferente polaridad e identificados los metabolitos de cada fracción según método descrito por Martínez et al (2002).¹¹

OBTENCIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO SECO (EOH). 100 g de material vegetal previamente desengrasado se llevaron a un percolador con 600 mL de etanol al 65 % y se dejó en maceración durante 48 horas a temperatura ambiente, luego se recogió el líquido extractivo y se concentró a sequedad bajo presión de vacío. Este extracto se pesó para determinar la masa y posteriormente se calculó el porciento de rendimiento de la extracción como el cociente entre el peso obtenido de EOH y el peso inicial de hojas usadas, por cien.

DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES (FT). Se preparó una solución de EOH en metanol a una concentración de 15 mg/mL. De esta solución se tomó 200 μl que se diluyeron en 300 μl de agua. A esta mezcla se le agregó 1 250 μl de Na_2CO_3 (20 %) y 250 μl del reactivo de *Folin Ciocalteu*. Los tubos de ensayo se guardaron en la oscuridad durante 40 minutos y se midió la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro (*Cary 50 UV Vis, Varian Inc, EE.UU*). Los resultados fueron reportados como mg de ácido gálico/ 100 g de EOH.

DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR MÉTODO DPPH. Se aplicó el método descrito por Kimet y col con modificaciones.¹² Se preparó una solución de DPPH a 40 ppm en etanol. Paralelamente se preparó una solución de EOH en metanol a una concentración de 15mg/mL, a la cual se le agregó 2 250 μL de la solución DPPH anteriormente preparada, la mezcla se homogenizó cuidadosamente, y se mantuvo en la oscuridad durante 30 min. Al cabo de los cuales se midió la absorbancia a 517 nm (A_m). Los resultados se expresaron como mg *Trolox* /100g EOH, mediante la construcción de una curva de calibración, donde se usó como referencia soluciones de *Trolox* a concentraciones de 0-25 μM en metanol.

ESTADÍSTICA. El efecto de secado y del tamaño de partícula se determinó independientemente a través de dos diseños de comparación simple, evaluando cada factor en dos niveles diferentes, buscando encontrar si existen diferencias significativas (a un nivel de significancia del 95 %) en el rendimiento de la extracción y la actividad antioxidante. Se buscó también el efecto del secado en la humedad de las hojas.

Mediante un diseño factorial 2^2 se evaluó conjuntamente la influencia que tiene la edad de la planta (3 y 4 años) y el tiempo de almacenamiento de las hojas como materia prima (1 y 6 meses), en el porcentaje de humedad, el rendimiento de la

extracción y la actividad biológica antioxidante. Se aplicó análisis de varianza a los resultados. Para ambos estudios, el *software* usado fue *Minitab* 16.

RESULTADOS

Los resultados del estudio de metabolitos secundarios sobre las hojas de *Guadua* secas y molidas revelaron la presencia de cardiotónicos, aminoácidos, triterpenoides y esteroides, flavonoides (incluyendo las leucoantocianidinas cuya estructura fundamental corresponde a $C_6C_3C_6$) y compuestos fenólicos.

Los resultados del análisis bromatológico para las hojas de *Guadua* arrojaron valores de humedad del $6,6 \pm 0,1$ %, de compuestos grasos o lípidos de $1,4 \pm 0,1$ % y de nitrógeno total de $2,4 \pm 1,0$ %.

El efecto de las variables involucradas en el proceso de obtención de la materia prima, se reporta en las tablas 1 y 2. Se encontró que el tipo de secado afecta el porcentaje de humedad de las hojas y el porcentaje de rendimiento de EOH ($p < 0,05$), mientras que para la actividad antioxidante se encontraron valores $p > 0,05$ ($0,130$ para FT y $0,239$ para DPPH) indicando que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los extractos provenientes de hojas secadas en condiciones naturales y controladas, a un nivel de significancia ($\alpha = 0,05$) del 95 %. Por otro lado, el tamaño de partícula afecta significativamente ($p < 0,05$) a un nivel de significancia ($\alpha = 0,05$) del 95 %, la actividad antioxidante tanto en equivalentes de ácido gálico y *trolox* del EOH, la cual aumenta al minimizar el tamaño de partícula de la hoja seca.

Tabla 1. Efecto del método de secado y el tamaño de partícula de las hojas de *Guadua* sobre el % de humedad en las hojas, la actividad biológica y el rendimiento de EOH

MUESTRA	% Humedad	% Rendimiento	FT (mg AG / 100g EOH)	DPPH (mg Trolox / 100g EOH)
Tipo de secado				
Secado natural (al sol)	$7,4 \pm 0,0$	$7,8 \pm 0,0$	$8,2 \pm 0,4$	$14,8 \pm 1,5$
Secado controlado (60 °C)	$4,8 \pm 0,0^*$	$7,0 \pm 0,0^*$	$7,5 \pm 0,4$	$13,4 \pm 1,0$
Tamaño de partícula				
120 μ m	-	$9,3 \pm 0,1$	$7,6 \pm 0,3^{**}$	$13,7 \pm 0,3^{**}$
64 μ m	-	$10,6 \pm 1,1$	$9,2 \pm 0,3$	$14,5 \pm 0,2$

- significa que la variable no aplica para esa condición.

Los datos se expresan como media \pm DE.

* $p < 0,05$ con respecto al secado natural, por análisis de comparación simple.

** $p < 0,05$ con respecto al tamaño de partícula de 64 μ m, por análisis de comparación simple.

A través del análisis de varianza que se muestra en la tabla 2, se evaluó el diseño factorial 2.² Se encontró que ninguno de los valores F_0 es mayor a los valores de F_{tabla} a un nivel de significancia del 95 % ($\alpha = 0,05$) lo que soporta que utilizar *Guadua*s de tres o cuatro años de edad y con tiempos de almacenamiento (1 o 6 meses) no afecta la actividad antioxidante ni el rendimiento de EOH. De igual forma se encontró que el porcentaje de humedad de las hojas no es afectado por estos dos factores.

Tabla 2. Análisis de varianza para el efecto de la edad de la Guadua y el tiempo de almacenamiento de las hojas en las diferentes propiedades del material vegetal y del EOH*

Fuente de variación	% Humedad		% Rendimiento		FT (mg AG / 100 g EOH)		DPPH (mg Trolox / 100g EOH)	
	F ₀	F _{tabla}	F ₀	F _{tabla}	F ₀	F _{tabla}	F ₀	F _{tabla}
Tratamiento (Almacenamiento)	3,2	9,3	3,2	9,3	1,6	9,3	2,1	9,3
Bloques (Edad)	0,1	10,1	1,0	10,1	1,5	10,1	2,0	10,1

*Análisis con 3 grados de libertad en el tratamiento y 1 para los bloques. (n=3).

DISCUSIÓN

El análisis de metabolitos secundarios mostró la presencia de compuestos fenólicos que dan a las hojas de Guadua un perfil amplio de aplicabilidad en el campo de los antioxidantes. Las leucoantocianidinas en este material se encontraron en las fracciones más polares lo que concuerda con reportes para este tipo de compuestos.¹³ Los demás flavonoides aparecieron en las fracciones en cloroformo lo que indica que son de baja polaridad que pueden ser flavonoides agliconas como, isoflavonas, flavanonas o dihidroflavanoles como lo indica otro estudio¹⁴ y en la fracción de etilacetato se encontraron flavonoides de baja polaridad pero que son solubles en soluciones ácidas. También se pudo observar que los compuestos fenólicos aparecieron en las fracciones acuosas. La presencia de este tipo de metabolitos fue corroborada por los resultados de actividad antioxidante. Los cardiotónicos, triterpenoides y esteroides aparecen en fracciones de polaridad media a baja en solventes como: diclorometano, HCl 5 % y cloroformo. En cuanto a quinonas y taninos no se pudieron detectar mediante los ensayos, colorimétricos y de precipitación empleados.

En el ensayo bromatológico, se encontró que las hojas de Guadua mostraron un % de humedad del $6,6 \pm 0,01$ % después de ser sometidas al proceso de secado a 60 °C por 48 horas, lo cual es un porcentaje apropiado para la estabilidad microbiana de la materia prima vegetal.¹⁵ Se encontró que la diferencia más notable frente a otros análisis bromatológicos reportados para otras bambusas es el porcentaje de nitrógeno, como por ejemplo el reportado para la *Bambusa sp.*, con 6,2 %, ¹⁶ la *Bambusa vulgaris* con 14,4 %, ¹⁷ la *Bambusa arundinacea* con 16 %¹⁸ y el *Phyllostachysedulis* con un 2,6 % de porcentaje de nitrógeno,¹⁹ según datos reportados usando método AOAC. Sobresale también el bajo porcentaje de compuestos grasos o lípidos, dando indicios de que estas hojas son pobres en contenido de lípidos o ésteres de ácidos grasos, fosfolípidos, lecitinas, esteroides, ceras y ácidos grasos libres.

Sobre el método de secado se encontró que éste se puede llevar a cabo bajo condiciones naturales o controladas, en ambos casos se logró actividades similares, aunque el rendimiento sea menor en secado controlado. Sobresalió el hecho de que la exposición a la luz (en el secado natural) no afecte los metabolitos antioxidantes, como se observa en otros estudios.²⁰

En los cultivos tecnificados de Guadua, la cosecha se lleva a cabo a una edad de 3-4 años, donde se considera que la basa (tallo) ha alcanzado la maduración

suficiente para ser empleada en la construcción. Los resultados de este estudio indicaron que el EOH obtenido a partir de hojas provenientes de cultivos de las diferentes edades estudiadas, son similares en cuanto a las propiedades antioxidantes y porcentaje de rendimiento. Tampoco se encontró diferencias en estas dos propiedades para los EOH obtenidos a partir de material vegetal almacenado a 1 y 6 meses. La no afectación de estas propiedades en el EOH por la edad del cultivo y por el tiempo de almacenamiento de las hojas como materia prima facilita el aprovechamiento de las hojas generadas como residuo durante la cosecha de la Guadua.

Todo lo anterior indica que las hojas de Guadua, como residuos de cultivos tecnificados, son una materia prima potencial para ser aprovechada en la formulación de productos cosméticos, una vez se concluyan estudios de citotoxicidad y eficacia, dada la sustentabilidad que presenta este producto, la vida en almacenamiento, y el fácil proceso de acondicionamiento para obtener un extracto funcional, además da valor agregado a los procesos realizados por los silvicultores, generando nuevos ingresos y productos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia por financiar el proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Navas Gutiérrez E. Aplicaciones estructurales de la Guadua (*Guadua angustifolia* Kunth). Proyecto de estructura modular multifuncional en Colombia. [Tesis]. Madrid: Universidad politécnica de Madrid; 2011.
2. Corporación Regional del Quindío (CRQ). Día Mundial del Bambú-Guadua en el Quindío. [Actualizado 9 feb. 2015; citado 20 nov. 2014]. Disponible en: <http://www.crq.gov.co/news/186-dia-mundial-bambu-Guadua-quindio>
3. Sabogal A, Giraldo E. Una Alternativa Sostenible: La Guadua. Armenia, Colombia: Corporación Autónoma Regional del Quindío; 2000. 33 p.
4. Campos Parra W, Cardona L., Giraldo Aristizabal L., Londoño I. La responsabilidad social como factor de competitividad en el eslabón de producción de Guadua en bosques naturales en el Quindío. Armenia, Colombia: Escuela de Administración y Mercadotecnia del Quindío; 2010. 141 p.
5. Cadena CE. Aserrín de Guadua: un residuo potencial para la industria. Agencia de noticias UN. 12 abr. 2013. Secc. Ciencia y Tecnología. [Actualizado 12 feb. 2015; citado 01 abr. 2014]. Disponible en: <http://www.agenciadenoticias.unal.edu.co/ndetalle/article/aserrin-de-Guadua-un-residuo-potencial-para-la-industria.html>
6. Baiyi Lu, Xiaoqin Wu, Xiaowei Tie, Yu Zhang, Yin Zhang. Toxicology and Safety of Anti-Oxidant of Bamboo Leaves. Part 1: Acute and Subchronic Toxicity Studies on Anti-Oxidant of Bamboo Leaves. *Food Chem Toxicol.* 2005; 43: 783-792.
7. Shang, Y. F., Sang, M. K., Byung-Hun, U. Optimisation of pressurised liquid extraction of antioxidants from black bamboo leaves. *Food Chemistry.* 2014; 154: 164-170.

8. Valencia, M., Durango, S., Pinillos, J., Gallardo, C. Extracción de fracciones con actividad antioxidante en hojas de *Guadua angustifolia* Kunth. RCPM. 2011; 16(4): 364-373.
8. Idha K., Gunawan I. Studies in Natural Products Chemistry. In: Atta-ur-Rahman editor. Natural Antioxidants in Cosmetics. Volume 40. Surabaya, Indonesia: Dharmawangsa Dalam; 2013. p. 485-505.
9. Diario Oficial de la Unión Europea. Decisión 2006/257/CE de la comisión, de 9 de febrero de 2006, sobre un inventario y una nomenclatura común de ingredientes empleados en los productos cosméticos. [citado: 14 marzo 2013]. Disponible en: http://www.aemps.gob.es/cosmeticosHigiene/cosmeticos/docs/inventario_cosmet_junio06.pdf
10. Martínez A. Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y fitoquímica. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia; 2002. 102 p.
11. Kim HJ, Feng C, Changqing W, Xi W, Hau YC, Zhengyu J. Evaluation of antioxidant activity of Australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil and its components. J Agr Food Chem. 2004; 52: 2849-2854.
12. Porter LJ, Hirstich LN, Chan BG. The Conversion of Procyanidins and prodelphinidins to Cyanidin and Delphinidin. Phytochemistry. 1986; 25: 223-230.
13. Harborne JB. The Flavonoids: Advances in Research since 1986. 2nd Ed. London: Chapman and Hall; 1994. p. 676.
14. Beuchat LR. Microbial stability as affected by water activity. Cereal Foods World. 1981;26(7):345-349.
15. González J, Karin O. Composición Botánica y nutricional de la dieta de *Dinomys branickii* (Rodentia dinomyidae) en los andes centrales de Colombia. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient 2013; 16(1): 235 - 244.
16. Luis CG, UNAICC. El Bambú como alimento Vegetal. Actas del VII Simposio Internacional de Biotecnología Vegetal; 17 - 20 abril 2006; Santa Clara, Cuba. Revista Biotecnología Vegetal. 2006; 6 (2): 124-125.
17. Khatta VK, Tewatia BS, Gupta PC. Nutritional Evaluation of Tree Leaves of Humid Subtropical Region of Himachal Pradesh. Indian J Anim Nut. 1999; 16 (3): 220-223.
18. Fu M, Yang X, Jiany S. Technical manual on Utilization of Sympodial Bamboos. Beijing, China: China Forestry Publishing House; 2007. 187 p.
19. Álvarez RA, González L., Urquiola C A. Evaluación fitoquímica de *Erythroxylum confusum* Britt. (Erythorxylacea) al variar el método de secado de las hojas. Revista CENIC Ciencias Químicas. 2008; 39 (3): 135-137.

Recibido: 20 de noviembre de 2014.

Aprobado: 27 de febrero de 2015.

Cecilia Gallardo Cabrera. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Calle 67 N° 53-68, Medellín, Colombia. Correo electrónico: gallardoqf@gmail.com