

**EVALUACIÓN DEL EFECTO PLAGUICIDA DE EXTRACTOS ETANÓLICOS
OBTENIDOS DEL CLAVICEPS PURPUREA**

**NATALIA ANDREA CAMACHO MORALES
HAROL ANDRES MESA CRISTANCHO**

**PROYECTO INTEGRAL DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO
DE INGENIERO QUÍMICO**

**DIRECTOR
DAVID LEONARDO SOTELO TOBON.
QUÍMICO MSC. CPHD.**

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

2024

NOTA DE ACEPTACIÓN

DAVID LEONARDO SOTELO TOBÓN
Director

ADRIANA SUESCA DÍAZ
Presidente Jurado

ADRIANA SUESCA DÍAZ
Jurado No.1

IVÁN RAMIREZ MARÍN
Jurado No.2

Bogotá D.C., julio de 202

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector de Claustro

Dr. Mario Posada García-Peña

Consejo Institucional

Dr. Luis Jaime Posada García -Peña

Vicerrectora Académica

Dra. María Fernanda Vega de Mendoza

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. Ramiro Augusto Forero Corzo

Vicerrectora de Investigaciones y Extensión

Dra. Susan Margarita Benavides Trujillo

Secretario General

Dr. José Luis Macías Rodríguez

Decana de Facultad de Ingenierías

Dra. Naliny Patricia Guerra Prieto

Director del Departamento de Ingeniería Química

Ing. Nubia Liliana Becerra

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

DEDICATORIA

Dedico esta investigación a inicialmente a Dios dado que sin duda alguna me brindó la salud y me ayudó a tomar las decisiones adecuadas para el objetivo planteado. Junto a Él, se lo dedico a mis padres y hermana que son mi motor principal de vida, como profesional se lo dedicó a la vanguardia y la innovación en el sector agrícola, un campo vital para el sustento de comunidades enteras y el motor de la economía colombiana. En un país tan rico en biodiversidad como Colombia, es crucial reconocer la importancia de salvaguardar nuestras tierras y recursos hídricos: esta tesis no solo busca explorar el efecto plaguicida de los extractos etanólicos obtenidos del *Claviceps Purpurea*, sino que también aspira a ser un llamado a la acción, a la reflexión sobre las prácticas agrícolas y su impacto en el medio ambiente. Al impulsar la conciencia sobre las fugas de seguridad y los riesgos asociados con los componentes químicos absorbidos por la tierra y el agua, espero contribuir a un cambio positivo en nuestras políticas agrícolas y promover prácticas más sostenibles que beneficien tanto a la producción agrícola como a la preservación de nuestro invaluable entorno natural.

AGRADECIMIENTOS

Al final de este camino, quisiera expresar mi profundo agradecimiento a mi familia por su apoyo incondicional y su constante motivación ante los retos que conlleva finalizar la etapa de estudios mientras ya se está construyendo un trayecto laboral, su confianza, amor y sacrificio fue mi ancla ante momentos de incertidumbre y desasosiego. Gracias Rocío, mamá, por cuidar de mí y ayudarme a hallar siempre miles de soluciones ante las adversidades, ser ese café y abrazo sincero que abriga en las noches frías de Bogotá; gracias Lina, hermana, por lograr hacerme reír a carcajadas, por ser el sol al final de la tarde en la playa; gracias Heriberto, papá, por darme certeza y fe de mis capacidades, por ser esa cerveza con limón que se disfruta con amigos luego de una semana ardua.

Por otro lado, agradezco a mi par en esta investigación, mi mejor amigo y compañero de vida, Harol Andrés Mesa Cristancho, cuya visión y dedicación enriqueció cada paso de este proceso, por motivarnos a no caer en la derrota y tener esa actitud inquebrantable. Es, fue y será un honor trabajar a su lado y espero que este sea el primero de muchos proyectos juntos, porque si algo he de admitir es que hacemos un excelente equipo.

Mi más sincero agradecimiento al director de tesis, David Leonardo Sotelo Tobón, por su orientación constante y su paciencia en el desarrollo de este proyecto, sus aportes desde su experiencia fueron claves para el resultado obtenido. Finalmente, no puedo pasar por alto el invaluable apoyo logístico y las instalaciones proporcionadas por la Universidad de América, que permitió el desarrollo de esta investigación.

A cada uno de ustedes, gracias por creer en este proyecto y por su potencial porque con sus aportes de diferente índole hicieron posible su realización y consecuentemente poder compartir con ustedes la alegría de finalmente ser ingenieros químicos.

“La gratitud es la memoria del corazón” - Lao Tse.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a todas las personas que hicieron posible la realización de esta investigación. En primer lugar, a toda mi familia, incondicional y constante motivación, a mi mamá, Fayzulith Cristancho Arevalo, por estar siempre a mi lado y brindarme su amor y aliento inquebrantable. A mi papá, Luis Oscar Mesa Zamudio, por su valiosa colaboración en equipo y su atención constante. A mi hermana, Karol Julith Mesa Cristancho, y su esposo, Cristian Cardona, por sus palabras de aliento y su apoyo emocional durante todo este proceso. También agradezco a Productos Alimenticios Doria por proporcionarme la materia prima necesaria y ser mi primer acercamiento a la industria de alimentos.

A mi compañera de investigación, cuya dedicación, persistencia y habilidades fueron cruciales para el éxito de este proyecto, le debo un agradecimiento especial. Su esfuerzo constante fue fundamental para superar los desafíos que se presentaron.

Finalmente, a mi tutor de tesis, David Leonardo Sotelo, por su tiempo y dedicación, así como por la oportunidad de ser sus aprendices en este, nuestro primer proyecto de investigación. Su guía y apoyo han sido esenciales para alcanzar nuestros objetivos.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	17
OBJETIVOS	19
1. GENERALIDADES Y MARCO TEÓRICO	20
1.1. Hongos y sus propiedades	20
<i>1.1.1. Tipos de hongos</i>	22
<i>1.1.2. Aplicaciones</i>	25
1.2. Cornezuelo (<i>Claviceps Purpurea</i>)	26
<i>1.2.1. Propiedades y Usos</i>	29
<i>1.2.2. Impacto ambiental</i>	30
<i>1.2.3. Alcaloides del Claviceps Purpurea como biocida</i>	31
1.3. Grillos (<i>Gryllidae</i>)	34
<i>1.3.1. Tipos de grillos</i>	35
<i>1.3.2. Impacto Ambiental</i>	36
1.4. Métodos de extracción	36
<i>1.4.1. Extractos etanólicos</i>	39
<i>1.4.2. Aplicaciones de los extractos etanólicos</i>	39
1.5. Biocidas	40
<i>1.5.1. Propiedades y Aplicaciones</i>	42
<i>1.5.2. Impacto Ambiental</i>	45
<i>1.5.3. Normativa</i>	46
2. METODOLOGÍA	49
2.1 Caracterización de la materia prima	49
2.2. Selección y Preparación de la muestra	50
<i>2.2.1. Identificación visual</i>	50

2.2.2. Estado de pureza en la muestra	50
2.2.4. Componentes no deseados	51
2.3. Procedimiento de preparación	51
2.4. Extracción de alcaloides de <i>Claviceps Purpurea</i>	52
2.4.1. Obtención del extracto etanólico	52
2.5. Marcha fitoquímica, análisis cualitativo de alcaloides	57
2.6. Protocolo Experimental para la obtención de extracto etanólico de <i>Claviceps Purpurea</i>	57
2.7. Análisis del extracto etanólico	58
2.8. Formulación del plaguicida	59
2.8.2. Preparación base del plaguicida (fase oleosa)	60
2.8.3. Preparación extracto etanólico	61
2.8.4. Mezcla y Homogeneización	62
2.8.6. Protocolo Experimental para la formulación de un plaguicida a base extracto etanólico de <i>Claviceps Purpurea</i>	63
2.9. Evaluación In Vivo del Plaguicida	63
2.9.1. Diseño experimental	64
2.9.2. Selección de sistemas de evaluación, preparación del medio y muestras	64
2.9.3. Aplicación del Plaguicida	66
2.9.4. Monitoreo	66
3. RESULTADOS	68
3.1. Extracción etanólica de los esclerocios del <i>Claviceps Purpurea</i>	68
3.1.1. Rendimiento del extracto	68
3.1.2. Identificación fisicoquímica del extracto	71
3.1.4. Análisis espectrofotométrico	73
3.2. Formulación del Plaguicida	76

3.2.1. <i>Propiedades del Producto Final</i>	76
3.3. Análisis In Vivo.	77
3.3.1. <i>Diseño experimental</i>	77
3.3.2. <i>Aplicación de sustancias de control</i>	84
3.3.3. <i>Datos de comportamiento y mortalidad</i>	84
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	90
4.1. Espectro Visible	90
4.1.2. <i>Interpretación de los picos de absorción</i>	90
4.2. <i>Eficacia del Plaguicida.</i>	95
4.2.1. <i>Tasa de Mortalidad Inicial</i>	95
4.2.2. <i>Comparación de Efectividad</i>	95
4.2.3. <i>Tendencias Generales</i>	95
4.3. Diseño conceptual del proceso productivo de plaguicida a base de extracto etanólico a partir de <i>Claviceps Purpurea</i>	96
4.3.1. <i>Balance de masa</i>	97
4.3.2. <i>Diagrama de flujo de bloques (FBD)</i>	99
4.3.3. <i>Implicaciones Prácticas</i>	118
4.3.4. <i>Potencial aplicación del plaguicida formulado</i>	119
4.3.5. <i>Recomendaciones para futuros estudios y aplicaciones prácticas</i>	119
5. CONCLUSIÓN	122
REFERENCIAS	124

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Hongos comestibles y de alto valor culinario.	21
Figura 2. Ejemplos de morfología de un hongo (macromiceto).	22
Figura 3. Clasificación de hongos.	25
Figura 4. Identificación del <i>Claviceps Purpurea</i> .	27
Figura 5. Identificación microscópica del <i>Claviceps Purpurea</i> .	27
Figura 6. Germinación de estromas con aspecto de seta y cabeza del <i>Claviceps Purpurea</i> .	28
Figura 7. Ciclo de vida del <i>Claviceps Purpurea</i> .	29
Figura 8. Alcaloides principales del <i>Claviceps Purpurea</i> .	32
Figura 9. Reacción de obtención del L-triptófano.	32
Figura 10. Extrusor.	37
Figura 11. Montaje de extracción por solventes a nivel laboratorio (soxhlet).	38
Figura 12. Montaje de extracción por arrastre de vapor a nivel laboratorio.	39
Figura 13. Muestra de "trigo limpio" con respecto al desecho de trigo.	49
Figura 14. Esclerocios de <i>Claviceps Purpurea</i> .	50
Figura 15. Distribución de componentes en una muestra de 500 g de desechos de trigo.	51
Figura 16. Visualización de la composición de trigo sucio.	51
Figura 17. Etapa de extracción entre hidróxido de amoníaco y éter etílico.	54
Figura 18. Proceso de secado, ácido tartárico y éter etílico.	55
Figura 19. Diagrama de fases, mezcla cloroformo - etanol.	55
Figura 20. Sistema de separación asistido por rotavapor al vacío.	56
Figura 21. Sistema de decantación fase etanólica y clorofórmica.	56
Figura 22. Protocolo de laboratorio.	58
Figura 23. Separación de materia prima por tamaño de partícula.	58
Figura 24. Preparación de muestras para análisis espectrofotométrico de barrido en zona visible.	59
Figura 25. Fase oleosa.	61
Figura 26. Fase etanólica.	62
Figura 27. Formulación de plaguicida.	62
Figura 28. Evaluación In Vivo	64

Figura 29. Color extracto etanólico.	72
Figura 30. Análisis cualitativo.	73
Figura 31. Distribución de muestras según su tamaño de partícula.	73
Figura 32. Tratamiento estadístico según su grupo.	74
Figura 33. Espectro de absorción visible, Grupo 1 (Grueso).	75
Figura 34. Espectro de absorción visible, Grupo 2 (Intermedio).	75
Figura 35. Espectro de absorción visible, Grupo 3 (Fino).	76
Figura 36. Color plaguicida formulado.	77
Figura 37. Modelo 3D cámara de aislamiento.	79
Figura 38. cámara de aislamiento, tapa y accesorios.	79
Figura 39. Válvula 1.	81
Figura 40. Válvula 2.	82
Figura 41. Válvula 3.	83
Figura 42. Plaguicida comercial, EC Numetrin.	84
Figura 43. Muestra nutricional.	85
Figura 44. Comparativo morfológico de la población de grillos.	86
Figura 45. Tasa de mortalidad en función del tiempo, según su componente de control.	89
Figura 46. Barrido comparativo espectrofotométrico Uv-vis flavonoides Schinus molle.	91
Figura 47. Barrido comparativo espectrofotométrico Uv-vis alcaloides M. lathyroides.	92
Figura 48. Barrido comparativo espectrofotométrico Uv-vis alcaloides Phytolacca americana.	93
Figura 49. Barrido espectrofotométrico Uv-vis Claviceps Purpurea	94
Figura 50. Diagrama de bloques simplificado, proceso productivo del plaguicida.	96
Figura 51. Diagrama de flujo de bloques (FBD), proceso productivo.	99
Figura 52. Operación de Separación.	102
Figura 53. Operación de molienda.	103
Figura 54. Proceso unitario, Reactor 1	104
Figura 55. Operación unitaria, separador 1.	105
Figura 56. Operación unitaria, secado 1.	106
Figura 57. Proceso unitario, reactor 2.	107
Figura 58. Proceso unitario, separado 2.	108
Figura 59. Proceso unitario, secado 2.	109

Figura 60 . Proceso unitario, mezclador 1.	110
Figura 61. Proceso unitario, separador 3.	111
Figura 62. Proceso unitario, filtración	112
Figura 63. Proceso unitario, mezclador 2.	113
Figura 64. Proceso unitario, mezclador 3.	114
Figura 65. Proceso unitario, mezclador 4.	115
Figura 66. Proceso unitario, enfriamiento.	116
Figura 67. Operación unitaria, envasado, etiquetado y almacenamiento.	117

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Métodos convencionales de extracción.	36
Tabla 2. Clasificación de insecticidas	40
Tabla 3. Clasificación de insecticidas según su formulación líquida.	41
Tabla 4. Composición para la formulación un de biocida. [56]	44
Tabla 5. Sustancias fuera de comercialización, resolución y entidades emisoras.	47
Tabla 6. Formulación de plaguicida tipo Concentrado Emulsionante.	60
Tabla 7. Elección de factores, niveles y rangos.	64
Tabla 8. Sistema de monitoreo y evaluación.	65
Tabla 9. Registro de muestras durante el proceso de extracción.	68
Tabla 10. Resultados según el proceso de extracción.	69
Tabla 11. Rendimientos.	70
Tabla 12. Registro de densidad.	71
Tabla 13. Registró de densidad.	76
Tabla 14. Registro de masa atomizada para la válvula 1.	80
Tabla 15. Registro de masa atomizada para la válvula 2.	81
Tabla 16. Registro de masa atomizada para la válvula 3.	82
Tabla 17. Registro de tasa de mortalidad en función del tiempo.	86
Tabla 18. Registro de grillos muertos en función del tiempo	87
Tabla 19. Balance de materia, separación.	102
Tabla 20. Balance de materia, molienda.	103
Tabla 21. Balance de materia, reactor 1.	104
Tabla 22. Balance de materia, separador 1.	105
Tabla 23. Balance de materia, secado 1.	106
Tabla 24. Balance de materia, reactor 2.	107
Tabla 25. Balance de materia, separador 2.	108
Tabla 26. Balance de materia, secado 2.	109
Tabla 27. Balance de materia, mezclador 1.	110
Tabla 28. Balance de materia, separador 3.	111
Tabla 29. Balance de materia, filtración.	112

Tabla 30. Balance de materia, mezclador 2.	113
Tabla 31. Balance de materia, mezclador 3.	114
Tabla 32. Balance de materia, mezclador 4.	115
Tabla 33. Balance de materia, enfriamiento.	116
Tabla 34. Balance de materia, envasado, etiquetado y almacenamiento.	117
Tabla 35. Listado de equipos.	120

RESUMEN

El siguiente proyecto presenta la extracción etanólica de los compuestos presentes en el *Claviceps Purpurea* mediante un sistema líquido-líquido y líquido sólido, donde se identificó la presencia de alcaloides, flavonoides y antocianinas gracias a la obtención de espectros de absorción visibles UV-VIS con picos de absorbancia entre 400 y 500 nm y métodos de observación fisicoquímica como la prueba Wagner y Dragendorff. Hecho esto, se llevó a cabo la evaluación del efecto plaguicida dentro de una formulación del tipo concentrado emulsionado obteniendo una tasa de mortalidad del insecto (*Gryllidae*) del 100% en menos de 48 horas. Este resultado sugiere que, aunque el plaguicida comercial (Numetrin) tiene un compuesto activo más eficaz (Cipermetrina), el extracto de *Claviceps Purpurea* ofrece una alta efectividad sostenida y evidencia ser una alternativa viable y sostenible en la industria agrícola.

Por consiguiente, se determinan los parámetros y condiciones para el diseño conceptual de la producción del plaguicida a partir del extracto etanólico obtenido determinando que se requiere 500g de alimentación para obtener 213 ml de plaguicida con una eficiencia del 75%, sugiriendo mejoras del proceso para futuras exploraciones de combinaciones con otros métodos de control biológico para el desarrollo continuo en este campo.

Palabras clave: *Claviceps Purpurea*, *Biocida*, *Cultivo*, *Esclerocio*, *Extracción fúngica*.

INTRODUCCIÓN

Actualmente el uso excesivo de los plaguicidas en Colombia representa una de las prioridades más críticas del país, el Instituto Nacional de Salud (INS) estima que anualmente se reportan alrededor de 3,000 casos de intoxicación aguda por plaguicidas en el país, consecuentemente según datos del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Colombia se encuentra entre los mayores consumidores de plaguicidas en América Latina, con un uso anual que supera las 20,000 toneladas. En el país, la presencia de insectos como los grillos (*Gryllidae*) pueden representar una amenaza para una variedad de cultivos agrícolas como maíz, arroz, tomate, sorgo, trigo y vegetales de hoja verde como la lechuga y la espinaca, según informes del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), se estima que los grillos pueden causar pérdidas económicas significativas, afectando hasta el 20% de la producción en algunas regiones del país, por lo cual se ha recurrido al uso de plaguicidas convencionales los cuales han generado alta toxicidad en los campos de cultivo y fuentes hídricas, pérdida de biodiversidad e incidencias de problemas de salud en la comunidad rural siendo así un desafío para la industria agrícola encontrar nuevas soluciones que permitan abordar este de manera efectiva y sostenible promoviendo el uso de la biotecnología para controlar plagas y enfermedades en los cultivos.

En la última década, el estudio de los hongos ha sido objeto de un constante interés en diversos ámbitos industriales y científicos. Estos organismos pluricelulares se asocian principalmente con la industria farmacéutica, gracias a hallazgos notables como el descubrimiento de la penicilina, pero su versatilidad y potencial han permitido su estudio y desarrollo en campos tan diversos como la gastronomía y la cosmética. En particular, el *Claviceps Purpurea*, comúnmente conocido como Ergot, representa un reto dentro del sector de la agricultura debido a su naturaleza parasitaria en plantas gramíneas como el trigo y la cebada; pese que ha sido reconocido por sus aplicaciones medicinales dada su amplia gama de compuestos alcaloides, en la industria alimenticia aproximadamente el 9% de 167 millones de toneladas brutas de materia prima importada se convierte en residuo; alineado con la búsqueda de nuevas tecnologías en el sector agrícola y mayor productividad en las industrias alimenticias del país que manejan gramíneos, se identificó que es posible el aprovechamiento de la materia fúngica para obtener un concentrado de alcaloides con un alto potencial como plaguicida en el sector agrícola debido a los efectos significativos sobre una variedad de organismos nocivos para los cultivos, lo que los convierte en una alternativa interesante a las sustancias convencionales.

Este estudio busca evaluar el efecto plaguicida de extractos etanólicos provenientes del *Claviceps Purpurea* mediante un análisis de la eficacia de los extractos en el control de plagas agrícolas según su mecanismo de acción y su impacto en el ecosistema obteniendo extractos etanólicos de alta calidad fisicoquímica, considerando aspectos como la selección de solventes adecuados y las condiciones óptimas de extracción el cual se espera que sea competitivo con los pesticidas convencionales más utilizados en Colombia, identificando sus ventajas y limitaciones en términos de eficacia y seguridad. Finalmente, se plantea el diseño conceptual del proceso productivo de un plaguicida a base del extracto etanólico del *Claviceps Purpurea*, integrando aspectos técnicos, económicos y ambientales para garantizar su viabilidad y sostenibilidad a largo plazo.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto plaguicida de extractos etanólicos provenientes del Cornezuelo (*Claviceps Purpurea*).

Objetivos específicos

1. Obtener fisicoquímicamente extractos etanólicos a partir del *Claviceps Purpurea*.
2. Analizar el efecto de extractos etanólicos provenientes del *Claviceps Purpurea* comparado con el pesticida más empleado en Colombia actualmente.
3. Realizar el diseño conceptual del proceso productivo de un plaguicida a base del extracto etanólico del *Claviceps Purpurea*.

1. GENERALIDADES Y MARCO TEÓRICO

En este capítulo se explicarán brevemente distintos conceptos que se encuentran dentro del aprovechamiento de residuos industriales, procesos químicos y otros temas considerados relevantes para la investigación, con el propósito de contextualizar y otorgar una idea nítida para el lector.

1.1. Hongos y sus propiedades

Los hongos constituyen un reino separado de las plantas, animales y bacterias en la clasificación biológica al ser un grupo diverso que incluye una amplia variedad de formas de vida, desde microorganismos unicelulares como las levaduras hasta estructuras multicelulares más complejas como los hongos filamentosos [1]. Dicho reino animal se le ha obligado a vivir como parásitos encontrando dentro de ellos 3 especies de hongos dependiendo del sustrato o fuente de alimentación: Parásitos, simbioses y saprobios. Las especies parásitas infectan y viven a costa de otro organismo los cuales durante su sobrevivencia ocasionan daños en diferentes magnitudes para la preservación y proliferación del mismo, caso contrario con los simbioses, esta especie convive entre su organismo huésped y el hongo, brindando alimento y en algunos casos protección. Por otra parte, las especies saprobias toman los nutrientes de materia orgánica inerte siendo estos de origen biológico o hechos por el ser humano. Cabe mencionar que estudios recientes han encontrado comportamientos de sobrevivencia en los hongos cambiando sus comportamientos adaptándose a sus requerimientos nutricionales. ejemplo de parásitos a saprobias [2].

Figura 1.

Hongos comestibles y de alto valor culinario.



Nota. Ejemplos de hongos comestibles y de alto valor culinario. Tomado de: Edu.co. [En línea]. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/79887/Morfolog%C3%ADa%20y%20clasificaci%C3%B3n%20de%20los%20hongos.pdf?sequence=2&isAllowed=y>.

Las numerosas especies de hongos en particular los microscópicos, que invaden todos los cuerpos orgánicos, vivos o muertos, y las sustancias que de ellos se forman, desempeñan un papel importante en la biología y la economía orgánica. La parte vegetativa de los hongos es la encargada de la nutrición y es rica en materiales orgánicos, así mismo como células eucariotas poseen células con núcleo definido y organelos membranosos, su pared celular está compuesta principalmente de quitina diferenciándolos de las plantas donde el compuesto de mayor proporción es la celulosa. Estos organismos carecen de clorofila por lo cual son incapaces de realizar el proceso de organización del carbono en fotosíntesis y son obligados a ser heterótrofos que obtienen nutrientes a partir de la descomposición de materia orgánica, ya sea como descomponedores de materia muerta o interactuando con organismos vivos.

Con excepción del grupo de las levaduras, su composición en general se divide en órganos destinados a la vida vegetativa y otros a la reproducción; inicialmente encontramos los filiformes de una o más células conocidos como *hifas*, los cuales se entrelazan para formar el cuerpo del hongo llamado *micelio*. En algunos casos, la unión entre hifas suele robustecer y generar formaciones tálicas pero en otros casos pueden ramificarse, infiltrarse y entrecruzarse, producir cuerpos de sustancia dura (casi esclerosa), una parte medular (rica en grasas) y otra periférica. Por otro lado, aunque a simple vista no lo podemos percibir, los micelios son estructuras exploradoras que se mueven en la búsqueda de compuestos alimenticios, los cuales son transformados mediante

la secreción de enzimas a moléculas más sencillas para posteriormente absorberlos e incorporarlos al torrente citoplasmático de las hifas. [3].

Su reproducción puede ser asexual, por medio de esporas producidas por mitosis o sexual, a través de procesos complejos de meiosis donde se involucran estructuras especializadas como esporangios, ascas o basidios, dependiendo del grupo fúngico; dada la cantidad de esporas que puede producir, su dispersión y colonización de nuevas hábitats es fácilmente rápida, adicionalmente producen una amplia gama de metabolitos secundarios los cuales se han implementado en el sector de la medicina y la biotecnología.[4]

Figura 2.

Ejemplos de morfología de un hongo (macromiceto).



Nota. Anatomía general de los hongos. Tomado de: RP Puig, “Morfología de los hongos”, Lifeder , 9 de septiembre de 2020. <https://www.lifeder.com/morfología-hongos/>.

1.1.1. Tipos de hongos

La división de hongos presenta algunas dificultades, pues en ellos hay grupos que presentan grandes semejanzas y analogías con otros [6], no obstante, dependiendo de la fuente de alimento o sustrato, a lo largo del tiempo se han diferenciado tres grupos principales de hongos: **parásitos**, **simbiontes** y **saprobios**. Los hongos simbiontes establecen relaciones de beneficio u oportunidad con plantas y animales mientras que las especies saprobias toman sus nutrientes de materiales orgánicos inertes ya sea de origen biológico o bien manufacturados por el ser humano siendo el grupo de hongos más abundante en los ecosistema y con mayor número de especies;

estudios recientes han evidenciado que los hongos tienen la capacidad de cambiar su condición de parásito a saprobia y viceversa, o bien de simbiote a parásito, según sea necesario, lo cual demuestra su facilidad de adaptación [6] y su papel crucial en los ecosistemas globales.

Las relaciones mutualistas (beneficio mutuo) con otros organismos es una de las simbiosis más comunes y vitales, por ejemplo, la **micorriza** en ecosistemas como el bosque nuboso, donde los hongos forman un enlace con las raíces de las plantas brindando mejoras de absorción de agua y nutrientes (especialmente fósforo) para la planta, mientras que el hongo obtiene a cambio carbohidratos y otros compuestos orgánicos producidos por la planta durante la fotosíntesis; existen dos tipos principales de micorrizas: las ectomicorrizas, las cuales forman una red alrededor de las raíces sin penetrar las células, y las endomicorrizas, donde las hifas del hongo penetran las células de la raíz formando estructuras especializadas como los arbusculos. Otra relación simbiótica eficiente es la de los **líquenes** entre hongos y algas o cianobacterias donde los seres autótrofos proporcionan productos fotosintéticos al hongo, mientras que el hongo brinda protección y acceso a nutrientes minerales. Este tipo de hongo es capaz de colonizar ambientes extremos como desiertos y árticos, destacando la adaptabilidad y facilitando la supervivencia de las especies asociadas.[6]

Por el contrario, los saprobios obtienen su fuente de alimento mediante la descomposición de materia muerta de plantas, animales y otros organismos a través de la secreción de enzimas extracelulares, este tipo de hongo recolecta e incorpora elementos esenciales como carbono, nitrógeno y fósforo de vuelta al ecosistema, también tienen la capacidad de descomponer polímeros complejos como la celulosa y la lignina, presentes materia vegetal para ser usado posteriormente como fuente de crecimiento y reproducción en forma de humus en el suelo; algunos ejemplos son los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Rhizopus*, siendo estudiados en la producción de biocombustibles, tratamiento de residuos y la biorremediación (limpieza de ambientes contaminados), destacando su importancia en la sostenibilidad de los ecosistemas.[4]

La clasificación parasitaria del reino Fungi representa una de las mayores amenazas para los cultivos comerciales siendo patógenos letales que implican alto gasto tanto energético como económico y consecuencias para el medio ambiente; esto incluye a la población agricultora. Se caracterizan por su producción de estructuras especializadas como esporas, conidios y células las cuales son depositadas sobre materia vegetal o animal para que el patógeno pueda germinar,

invadir y eventualmente colonizar el tejido. [7] Dentro de los hongos causantes más comunes de dicha infestación postcosecha encontramos:

- ***Botrytis cinerea***: También conocido como "moho gris", este hongo afecta una amplia gama de cultivos, como uvas, fresas, tomates y flores. Provoca el análisis de los productos agrícolas y es particularmente problemático en condiciones de alta humedad.
- ***Penicillium spp*** : Varias especies de *Penicillium* pueden contaminar cultivos almacenados, como frutas cítricas, manzanas y papas. Pueden causar pudrición azul o verde en los productos.
- ***Fusarium spp.***: Estos hongos pueden infectar cultivos como maíz, trigo, cebada y tomates. Causan daños significativos en las plantas y pueden reducir los rendimientos.
- ***Rhizoctonia spp.***: Los hongos del género *Rhizoctonia* afectan a una variedad de cultivos, incluidos los tubérculos, las hortalizas y los cereales. Pueden causar pudrición de raíces y marchitez.
- ***Alternaria spp.***: Estos hongos afectan a cultivos como tomates, papas, zanahorias y cítricos. Causan manchas foliares y daños en los frutos.
- ***Sclerotinia sclerotiorum***: Este hongo causa la pudrición blanca en cultivos como la soja, los cacahuetes y el girasol. Puede ser destructivo y difícil de controlar.
- ***Peronospora spp.***: Los hongos del género *Peronospora* son responsables del mildiú polvoriento en cultivos como la vid, el pepino y el tabaco.
- ***Pythium spp.***: Estos hongos afectan a muchas plantas, incluidos cultivos en viveros y campos. Pueden causar la pudrición de la raíz y el daño a las plántulas.
- ***Clavicipitaceae***: Es un grupo de hongos que incluye muchas especies que son patógenas o endófitas (viven en simbiosis) en plantas, especialmente en la familia de las gramíneas. Algunos miembros de la familia *Clavicipitaceae* pueden tener efectos significativos en los cultivos comerciales, tanto positivos como negativos.
 - **Hongos endófitos**: Algunos hongos de la familia *Clavicipitaceae* pueden formar relaciones simbióticas con las plantas, especialmente con las gramíneas como el maíz y el trigo. Estos hongos endófitos, como el género *Epichloë*, pueden proporcionar beneficios a las plantas hospedadoras, como la resistencia a herbívoros e insectos, la tolerancia a condiciones de estrés y la mejora del crecimiento [2]. Estas interacciones pueden ser

valiosas para los agricultores en términos de rendimiento de cultivos y reducción de la necesidad de pesticidas.

- **Hongos parasitarios:** Por otro lado, algunos miembros de la familia *Clavicipitaceae* son hongos parásitos que pueden infectar y dañar cultivos comerciales. Un ejemplo importante es el género *Claviceps*, que incluye la especie *Claviceps Purpurea*, causante de la enfermedad llamada "Ergot" en cereales, especialmente el centeno. El cornezuelo produce esclerocios, estructuras especializadas de hongos que reemplazan los granos en las espigas de los cereales, lo que disminuye la calidad y el valor de la cosecha [8]. Además, el cornezuelo contiene alcaloides tóxicos que pueden ser peligrosos para la salud humana y animal si se consume en grandes cantidades.

La presencia y prevalencia de estos hongos pueden variar según la ubicación geográfica, las prácticas de cultivo y el clima, generalmente logran germinar a temperaturas entre 20 y 25 °C (dependiendo de la especie), sin embargo, algunos son más difíciles de combatir por su capacidad de resistir altos niveles de estrés [9].

Figura 3.

Clasificación de hongos.



Nota. Categorías familiares entre hongos. Tomado de: Cestaysetas.com. [En línea]. <https://www.cestaysetas.com/wp-content/uploads/2013/04/filosfungi.gif>.

1.1.2. Aplicaciones

En la última década pese que los hongos han sido ampliamente debatidos dentro de la industria por la sensibilidad de su uso en líneas de procesos industriales, el avance tecnológico dentro de sectores como la farmacéutica permitió el mayor descubrimiento conocido como la penicilina a partir de un hongo filamentoso hialino llamado *Penicillium*, este es un saprófito perteneciente al

filo Ascomycota descubierto en 1928 por St. Mary 's Hospital de Londres, Alexander Fleming [11]. Al igual que este, otros organismos del reino fungi producen compuestos con propiedades medicinales y microbianas, ahora bien, desde la perspectiva gastronómica, hongos como champiñones, trufas y setas son consumidos por todo el mundo sin excluir sus aplicaciones dentro de productos cosméticos por sus propiedades rejuvenecedoras y antioxidantes [12].

En la industria alimentaria, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es crucial en la fermentación alcohólica y la producción de pan, donde transforma los azúcares en dióxido de carbono y etanol, otros hongos, como *Aspergillus niger*, se utilizan para producir ácidos orgánicos, como el ácido cítrico, que es un aditivo común en alimentos y bebidas. También son estructuras fundamentales en la producción de enzimas industriales, como la amilasa, la celulasa y la proteasa, que tienen aplicaciones en la industria textil, papelera y de detergentes, mejorando procesos como el blanqueo, la degradación de almidones y la limpieza de textiles. Actualmente, la biotecnología moderna también explora el uso de hongos en la biorremediación, donde se emplean para degradar contaminantes ambientales como hidrocarburos y metales pesados, y en la bio fabricación, donde el micelio se utiliza para crear materiales sostenibles y biodegradables para embalajes, textiles y construcción.[13] En relación a la agricultura, los hongos mejoran la productividad y sostenibilidad de los cultivos como es el ejemplo de las micorrizas las cuales brindan protección frente a enfermedades y condiciones de estrés ambiental, como sequía y salinidad o los hongos entomopatógenos, como *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae*, que se utilizan como agentes de control biológico para manejar plagas agrícolas infectando y matando los insectos perjudiciales del cultivo, ofreciendo una alternativa ecológica a los pesticidas químicos.

1.2. Cornezuelo (*Claviceps Purpurea*)

El cornezuelo *Claviceps Purpurea* conocido por el nombre común francés Ergot, es un hongo parásito perteneciente a la familia Clavicipitaceae el cual se reproduce en plantas de tipo gramíneas como trigo, sorgo, cebada, arroz, avena, entre otras; estos organismos poseen un micelio tabicado que produce ascosporas, es decir, esporas endógenas, caracterizándose, así como un ascomiceto que puede llegar a parasitar más de 600 plantas monocotiledóneas. Usualmente su identificación se debe a la presencia de un esclerocio en las espigas como una protuberancia en forma de cuerno desarrollándose simbióticamente con el grano del cereal. Etimológicamente el término *Claviceps* proviene de “clavus uña” y del sufijo -ceps (derivado de cáput que significa cabeza), refiriéndose

a la forma de los esclerocios y el epíteto griego específico *Purpurea* debido a su color rojo púrpura pese que puede variar entre este color y negro [14].

Figura 4.

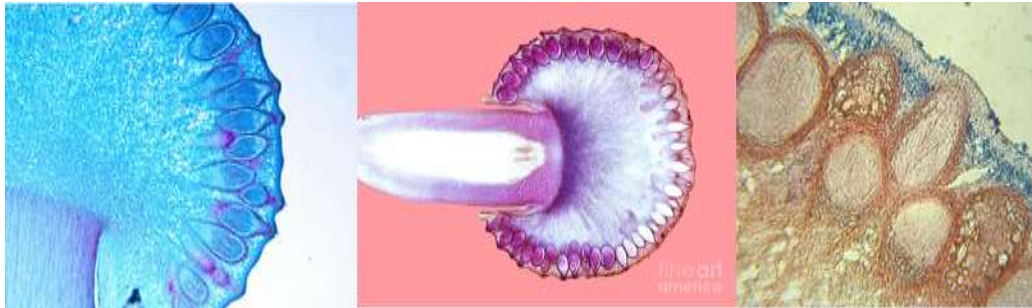
Identificación del Claviceps Purpurea.



Nota. Identificación de la presencia de *Claviceps Purpurea*. Tomado de: “herbarium”, Plantasyhongos.es. [En línea]. https://www.plantasyhongos.es/herbarium/htm/Claviceps_Purpurea.htm.

Figura 5.

Identificación microscópica del Claviceps Purpurea.



Nota. Visualización del *Claviceps Purpurea* a nivel microscópico. Tomado de: “Bio. Sci. 4 microscopic images”, Sierracollege.edu. [En línea]. Disponible en: https://biosci.sierracollege.edu/resources/mslides-2016/mslides-bio4-pages2016/claviceps_Purpurea2.html.

Su reproducción empieza con la producción de ascosporas filiformes que se descargan activamente desde los peritecios coincidiendo con el cultivo de las gramíneas [16], la infección inicia cuando llegan hasta el ovario de la espiga, a medida que se desarrolla el micelio, destruye los tejidos del mismo y los sustituye por una estela de micelios blanda, blanca, algodonosa protegida por capas de conidióforos cortos los cuales posteriormente emiten conidios y una secreción pegajosa dulce atractiva para los insectos facilitando su diseminación completa. Al final la estela de micelios se endurece y madura como el esclerocio el cual ya posee una tonalidad rosada o púrpura sustituyendo

finalmente los ovarios iniciales mientras que los no infectados desarrollan su fruto de forma natural, es decir, las espigas maduras contienen tanto esclerocios de *Claviceps Purpurea* como frutos de la gramínea, su longitud está comprendida entre 1 y 4 cm con un diámetro de 0,2 a 5 cm. Durante la siembra gran cantidad de esclerocios caen al suelo y, la siguiente temporada germinan formando estromas con aspecto de seta y cabeza esférica los cuales posteriormente se convierten en ascas.

Figura 6.

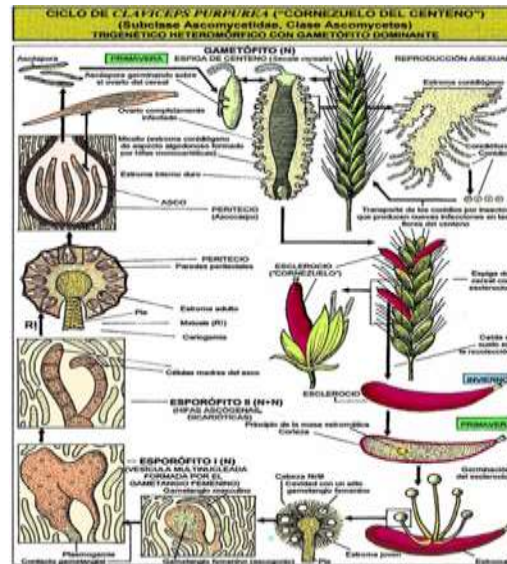
*Germinación de estromas con aspecto de seta y cabeza del *Claviceps Purpurea*.*



Nota. Visualización de estromas en el *Claviceps Purpurea*. Tomado de: I. de Enseñanza E Investigación En Ciencias Agrícolas, “COLEGIO DE POSTGRADUADOS”, Colpos.mx:8080. [En línea]. Disponible en: http://colposdigital.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/2273/Moreno_Manzano_CE_MC_Fitopatologia_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Figura 7.

Ciclo de vida del Claviceps Purpurea.



Nota. Ciclo de vida del hongo *Claviceps Purpurea*. Tomado de: “visualización macroscópica del cornezuelo”, Pinimg.com. [En línea]. <https://i.pinimg.com/originals/62/20/f5/6220f55c385f3fb07f63abd307b55ab8.jpg>.

1.2.1. Propiedades y Usos

Inicialmente, en la cultura griega el *Claviceps Purpurea* se asocia con los misterios eleusinos, ritos en honor de Deméter (o Ceres en la cultura romana), la diosa de la agricultura, en estas ceremonias era tradicional el consumo de una bebida llamada kykeon en cuya composición se ha sugerido que pudiera haber estado el cornezuelo. Posteriormente el primer hallazgo del *Claviceps Purpurea* se registra en el periodo neolítico y en la Edad del Hierro en individuos en condiciones de fallecimiento cuyas razones eran inexplicables para la época [18].

Para el año 370 a.C. Hipócrates se refirió al cornezuelo como “*malathion*” destacando su uso para reducir la hemorragia postpartum. Durante la época se sugirió la ingesta de harina de cebada cocida mezclada con agua con el fin de adelantar el parto, luego Dioscórides (40-90 d.C.) recomendó su uso para el tratamiento de la hemoptisis (sangrado de los pulmones) asegurando su efecto anticoagulante. Dado lo anterior, actualmente este ascomiceto se ha utilizado en la fabricación de medicamentos debido a la presencia de los alcaloides conocidos como ergotamina y la ergometrina. Estos poseen propiedades vasoconstrictoras y uterotónicas, lo que los hacen útiles en:

- **Tratamiento de la migraña:** La ergotamina ayuda a reducir la dilatación de los vasos sanguíneos en el cerebro y aliviar los síntomas de las migrañas.
- **Tratamiento de la hemorragia posparto:** La ergometrina se ha implementado en la obstetricia para prevenir y tratar la hemorragia posparto, ya que ayuda a contraer el útero y detener el sangrado excesivo después del parto.

Sin embargo, durante la Edad Media, se producen epidemias frecuentes de ergotismo causadas por la ingestión de pan de centeno contaminado con *Claviceps Purpurea*. Estas epidemias se manifiestan en dos formas distintas: una gangrenosa y otra convulsiva. En el año 857, se registró una epidemia de ergotismo en el valle del Rin, donde las personas perdían sus extremidades antes de fallecer, durante esta plaga, la enfermedad se conoció como "fuego sagrado" refiriéndose a la sensación de ardor experimentada en las extremidades de quienes sufrían el ergotismo gangrenoso, y "sagrado" se atribuía a la creencia de que era un castigo divino. No fue sino hasta principios del siglo XIX que se implementaron políticas de salud pública que promueven la separación del hongo de las plantas gramíneas en conjunto con el consumo de pan blanco de trigo y la patata americana en la dieta europea. La última epidemia de ergotismo convulsivo se registró en Alemania, específicamente en Oberhessen, según el informe de Siemens en 1879. Respecto al tipo gangrenoso, se registró su último brote en Etiopía durante 1977-1978, afectando a 140 personas con una tasa de mortalidad del 34%. [19]

En la actualidad, los casos de ergotismo son sumamente raros y generalmente están relacionados con la intoxicación por ergotamina, un medicamento extraído del cornezuelo que se utiliza en el tratamiento de la migraña. Ahora bien, es importante destacar que el uso del cornezuelo y sus alcaloides está altamente regulado y restringido debido a su toxicidad y posibles efectos secundarios adversos en la Unión Europea, pese a ello se ha podido realizar investigaciones científicas para comprender mejor los efectos de los alcaloides sobre el sistema vascular y los receptores de serotonina, sin omitir las posibles aplicaciones a otros ámbitos de la ciencia y biotecnología.

1.2.2. Impacto ambiental

El cornezuelo del centeno o trigo (*Claviceps Purpurea*) es un hongo conocido a lo largo de la historia por ser hongo parásito que ataca a los cultivos de trigo, avena, cebada, centeno y otras

variedades de cultivos gramíneos o pasto. [20]. La infección en estos cultivos sucede durante la etapa de floración, donde visualmente se muestra un cuerpo oscuro y duro conocido como “esclerocio” [21,22]. La producción de semillas gramíneas durante las épocas frías o que hayan sido asoladas por épocas de invierno y posteriormente experimenten una temporada de abundante sol, madura las condiciones de germinación de este hongo ; en la agricultura los cultivos del noroeste en el pacífico de E.E.U.U y Oregón quienes son los principales productores mundialmente con más de 254.000 toneladas métricas de semillas de césped y más de 148.000 hectáreas en oregon de cultivos gramíneos, los cuales están avaluados en un aproximado de 393.899.000 USD con un valor económico agregado por sus tierras fértiles [23]. Canadá para el 2018 produjo alrededor de 32 millones de toneladas de trigo teniendo afectaciones por salinidad, sequía y enfermedades entre el 10% y 15% donde la participación del hongo es del 8% equivalente a 2.560.000 toneladas de *Claviceps Purpurea* [24,25], las condiciones geográficas de Colombia no benefician a la rápida reproducción del hongo en mención debido a las condiciones meteorológicas del país, sin embargo, 36 molinos industrializados [26] cuentan con una media de 167 millones de toneladas brutas de materia prima importada de estos países y otros como México, Finlandia, Rusia y Ucrania [27]. Aproximadamente el 9% de la materia prima sale del proceso como residuo debido a que no pueden existir trazas del hongo en los productos terminados, este ha sido destinado para la obtención de energía a partir de biomasa.

Los alcaloides como la ergotamina y la ergometrina han sido implementados en nuevas tecnologías enfocadas a la medicina y la química pura gracias a su potencial farmacológico, no obstante, su investigación en la agricultura ha sido menos investigada. Se desea realizar una evaluación del efecto plaguicida a partir de distintos tipos de separación en extracto crudo del *Claviceps Purpurea*, y la viabilidad industrial para su aprovechamiento a partir de la disponibilidad de materia prima residual en industrias alimenticias que contemplen el uso de trigo dentro de su proceso. La aplicación biotecnológica del hongo *Claviceps Purpurea* podría llegar a ser una alternativa sostenible que mitigaría los daños ocasionados por los plaguicidas sintéticos y disminuiría los gastos industriales de selección de materia prima dentro de las problemáticas ambientales y de seguridad social que pueda enfrentar el país.

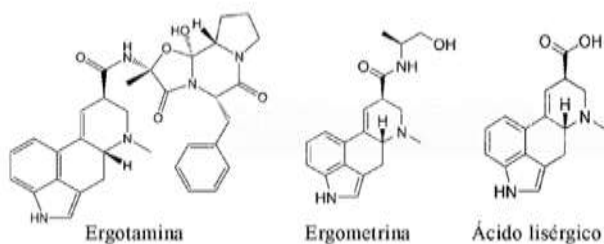
1.2.3. Alcaloides del Claviceps Purpurea como biocida

El *Claviceps Purpurea* es conocido por la producción de una amplia variedad de compuestos

activos que abarcan desde los más simples, como aminas y aminoácidos, hasta los más complejos, como los alcaloides policíclicos. Se han identificado más de 200 compuestos químicos en un simple extracto de este hongo, de los cuales, hasta la fecha, se conocen 40 alcaloides pertenecientes a 12 tipos diferentes [28], basados en la estructura del ácido lisérgico y sus amidas.

Figura 8.

Alcaloides principales del Claviceps Purpurea.

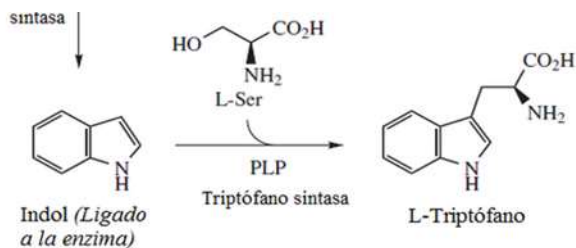


Nota: Alcaloides de mayor importancia en el Claviceps Purpurea debido a su valor mico toxico.

Tomado de: “Cornezuelo o ergot del centeno (Claviceps Purpurea)”, Herbario Virtual Fitopatología, 29-sep-2021. [En línea]. Disponible en: https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=15695.

Figura 9.

Reacción de obtención del L-triptófano.



Nota: Reacción para el aprovechamiento de los metabolitos secundarios. Tomado de: R. Duno De Stefano, L. L. Can Itzá, L. Didier Cox-Tamay, Y. Elma, y B. Heredia-Campos, “Epidemias en la agricultura ¡Las plantas también se enferman!”, Repositorioinstitucional.mx. [En línea].

<https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/2603/1/2020-09-17-Didier-Cox-Epidemias-en-la-agricultura.pdf>.

La estructura de los alcaloides del *Claviceps Purpurea* se basa en un sistema tetracíclico conocido como ergolina donde es característico la presencia de un compuesto aminoácido esencial L-triptófano llamado *Indol* [28]. Por esta razón, los científicos consideran a estos metabolitos

secundarios como derivados del triptófano; estos compuestos se clasifican en tres categorías distintas en función de la posición del doble enlace en el anillo aromático D y de la sustitución en la posición C8: Clavinas, ergo amidas y ergo péptidos.

Consecuentemente, es posible el aprovechamiento de la materia fúngica para obtener un concentrado de alcaloides mediante el tratamiento del *Claviceps Purpurea* como extracto fúngico con solventes apropiados, tales como agua, etanol o éter, entre otros, de compuestos solubles, constituido por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad, su preparación requiere la obtención y concentración del mismo. Los alcaloides son sustancias de origen biológico, que siempre contienen carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno, excepcionalmente algunos alcaloides contienen azufre, así pues, reciben el nombre de nitrogenados heterocíclicos. Como plaguicidas, su mecanismo de acción parece ser mediante intercalación entre la pared celular y el DNA del microorganismo correspondiente.

Un estudio [30] reporta 12 epímeros (6 alcaloides) dentro de una muestra representativa de trigo , que rápidamente se pueden seleccionar para su aplicación a plaguicidas contemplando la materia prima destinada a exportación para un producto de consumo humano, consecuentemente se evidencia una cromatografía de gases que es mayormente utilizada para identificar alcaloides en materia vegetal junto con una cromatografía líquida y espectroscopia de masas ; cada ensayo se realizó en muestras de 0,5 mg/L, esta investigación abordó nuevos métodos de análisis donde dependiendo la selectividad y sensibilidad. Ahora bien, recientemente se identifican una amplia variedad de alcaloides, ergina, isoergina, ergometrina, ergotamina, elimoclavina, penniclavina y chanoclavina contemplando no solo el grano infectado sino también sus hojas y tallo descubriendo analizando presencia de posibles compuestos psicoactivos, lo que podrían tener implicaciones importantes en términos de regulació. interviene con 5 posibles métodos de extracción cada uno variando el solvente y condiciones de extracción, se puede adaptar a las condiciones del laboratorio la extracción L-L mediante dietil éter, hidróxido de amonio, cloroformo y bicarbonato. [31]

El *Claviceps Purpurea* si bien no es un problema dentro de los suelos Colombianos, se evidencia la presencia en la materia prima en los molinos dentro del proceso de molienda de granos como trigo, centeno, avena o gramíneos y sus aplicaciones enfocadas a sectores farmacéuticos brindan una oportunidad para ampliar su exploración con un enfoque hacia la agricultura. Al utilizar residuos industriales para la producción de plaguicidas, se plantea analizar cómo contribuye a la gestión responsable de los recursos con la generación innecesaria de desechos y fomentando la

economía circular (ODS 12). Desde otra visión, se espera que su desarrollo reduzca la dependencia de sustancias químicas sintéticas y se minimice el impacto negativo en los ecosistemas de Colombia, favoreciendo la conservación de la biodiversidad y la preservación de la salud de los suelos y la fauna asociada (ODS 15).

Como se menciona en la sección de Propiedades y Usos, el consumo de alimentos contaminados con alcaloides del cornezuelo puede provocar convulsiones, alucinaciones, espasmos musculares y vasoconstricción en las extremidades. Además, también puede tener efectos adversos como infertilidad, embriotoxicidad, problemas en el desarrollo del feto e inhibición de la lactancia. La madurez de los esclerocios, la cepa del moho, la planta huésped y las condiciones climáticas, como precipitaciones abundantes y los suelos húmedos, pueden influir en el perfil y la capacidad de proliferación de micotoxinas (toxinas provenientes del hongo) [32], sus efectos se deben a la interacción entre los metabolitos secundarios y los receptores acoplados a proteínas grampositivas ubicados en la membrana plasmática de diversas células, estas toxinas se unen a los receptores especiales de neurotransmisores como la norepinefrina, la serotonina y la dopamina debido a su similitud estructural con estos compuestos.

Es importante destacar el rol de la ingeniería química al momento de indagar y proponer la transformación de una materia prima mediante la extracción, síntesis y purificación de compuestos, cumpliendo con requisitos que involucran la formulación, comprobación y análisis, demostrando con garantía la eficiencia, seguridad y viabilidad del proceso ya que, sin esta oportunidad podríamos estar ignorando una oportunidad de elevado potencial en la búsqueda de alternativas seguras para los campos de cultivos, implicando mantener la dependencia de pesticidas sintéticos, intensificando los problemas de resistencia en las plagas, afectando desmedidamente el ecosistema, provocando riesgos en la salud pública, limitando la búsqueda de alternativas sostenibles y desaprovechando compuestos orgánicos potencialmente aplicables en la creación de plaguicidas amigables con el entorno.

1.3. Grillos (*Gryllidae*)

Los grillos, pertenecientes al orden Orthoptera y la familia Ensifera, subfamilia Gryllidae, se distinguen por una serie de características únicas: Antenas largas y delgadas, dos cercos abdominales táctiles, tres segmentos tarsales y unas setas sensoriales bulbosas ubicadas en la base

interior de los cercos los cuales son especialmente notables y lo comparten únicamente ciertos miembros de la familia Stenopelmatidae [33].

Las alas anteriores de esta especie son rígidas y coriáceas, mientras que las traseras son membranosas y se pliegan en forma de abanico bajo las alas anteriores cuando no están en uso. Estos insectos tienen una distribución global amplia, habitando en casi todas las regiones del planeta, desde las zonas de vegetación de tierra situadas aproximadamente a 55° de latitud norte y sur; algunos grillos se nutren casi exclusivamente de materia vegetal, aunque también pueden actuar como carroñeros o depredadores, cazando y consumiendo otros insectos de manera voraz. Algunas especies, como *Acheta domesticus* y *Grylloides sigillatus*, frecuentan viviendas humanas y montones de basura o por ejemplo, los grillos subterráneos se alimentan principalmente de raíces, lo que puede convertirlos en plagas perjudiciales para cultivos, jardines, céspedes y bosques recién sembrados cuando su población es alta [34].

1.3.1. Tipos de grillos

Los grillos incluyen una amplia variedad de especies con diferentes hábitats y comportamientos, por lo tanto, generan impactos ambientales específicos según el ecosistema y las interacciones internas. Algunos de los tipos más comunes son [35]:

- Grillos de campo (*Gryllus* spp.): Se encuentran comúnmente en áreas rurales y agrícolas. Tienen hábitos nocturnos y son conocidos por su canto característico.
- Grillos domésticos (*Acheta domesticus*): Estos grillos son comúnmente criados como alimento para mascotas, como reptiles y aves. Tienen un tamaño moderado y se adaptan bien a los entornos controlados.
- Grillos topo (*Gryllotalpidae*): A diferencia de otros grillos, son subterráneos y tienen adaptaciones especiales para cavar túneles en el suelo. Son consideradas plagas en algunos cultivos debido a los daños que causan a las raíces de las plantas.
- Grillos arbóreos (*Oecanthinae*): Estos grillos son conocidos por su capacidad para trepar y por habitar en áreas arbóreas. Son más pequeños en comparación con otros grillos y a menudo se les encuentra en zonas boscosas.
- Grillos del desierto (*Schistocerca* spp.): Son grillos que habitan en regiones áridas y semiáridas. Algunas especies, como la langosta del desierto (*Schistocerca gregaria*), pueden formar enjambres migratorios y representar una amenaza para la agricultura.

1.3.2. Impacto Ambiental

En Colombia, hoy en día se evidencia la problemática causada por la presencia de grillos en los cultivos de gramíneas [36] dado que se ha intensificado el daño de cultivos comerciales como los cafetales [37], por otro lado, en los Llanos Orientales se ha aumentado la población de esta especie donde su reproducción ha llegado a los departamentos del Meta, Vichada, Guaviare y Casanare amenazando el sector agropecuario infestando praderas dedicadas a la ganadería y cultivos como lo son arroz, maíz, sorgo y otros gramíneas de la zona [38].

Una plaga no solo afecta la vida útil de un cultivo, sino también aumenta su costo y disminuye gradualmente la calidad de su producción; en el caso del ají, la presencia de grillos representa una amenaza durante la fase de transplante (de vivero a cultivo), convirtiéndola en la fase más importante de control, es decir, sin la oportuna intervención durante el trasplante, la producción del cultivo se puede reducir hasta en un 90%, también pueden estar presentes en los cultivos de manera temprana al momento de germinación de la planta alimentándose de su tallo generando que se quiebren, sin mencionar el efecto de vientos o lluvias los cuales son factores bióticos que limitan el crecimiento de cultivo.[39]

Dado lo anterior, se evidencia que la especie logra impactar negativamente [40] tanto los cultivos de edad temprana como en edad madura y la necesidad del uso de biocidas como estrategias que ayuden a mantener la seguridad alimentaria y la economía agrícola. Ahora bien, estudios recientes sugieren una resistencia mejorada del insecto ante los pesticidas orgánicos tradicionales [41] y ante la urgencia de desarrollar alternativas más efectivas y sostenibles [36,42], en otros países se han implementado insecticidas biológicos en base a hongos entomopatógenos liderado por el I.I.B.C. en el desierto de África a partir del hongo *Metarhizium Flavoviride*. [43]

1.4. Métodos de extracción

En particular, dentro de los métodos más convencionales de extracción encontramos la destilación, la extracción con solventes y el arrastre de Vapor; pese que la industria le ha apostado a la investigación e innovación tecnológica en pro del desarrollo de nuevos métodos de vanguardia, los métodos convencionales siguen predominando en cuanto a su relación costo-eficiencia.

Tabla 1.

Métodos convencionales de extracción.

Método	Procedimiento	Producto obtenido
Directo	Extrusión	Aceites esenciales cítricos
	Exudación	Gomas, resinas, bálsamos

<i>Destilación</i>	Directa	Aceites esenciales y aguas aromáticas
	Arrastre con vapor de agua	
	Destilación – maceración	
<i>Extracción con solvente</i>	Solventes volátiles	Infusiones y resinoideos alcohólicos
		Concretos y absolutos
	Solventes fijos (grasas y aceites)	Absolutos de pomadas
	Extracción con fluidos en estado supercrítico	Absolutos de enflorados

Nota. Metodologías de extracción en función de su procedimiento. Tomado de: C. de Ingeniería Agroindustrial, “UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”, Edu.ec. [En línea]. <https://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/5128/6/PC-000362.pdf>.

En el caso de los métodos directos requieren el sometimiento de la materia vegetal o fúngica a fuerzas mecánicas, un ejemplo claro es la extrusión de cítricos dado que sus aceites están mayormente presentes en la corteza del fruto y la temperatura de otros métodos puede alterar su composición.

Figura 10.

Extrusor.



Nota. Equipo de extracción. Tomado de: “Extrusora de cocción de doble tornillo”, GEA engineering for a better world. [En línea]. Disponible en: <https://www.gea.com/es/products/extruders/tru-twin-series.jsp>.

Destilación y extracción con solventes: La destilación consiste en la separación de los compuestos a partir de la diferencia de volatilidades durante el calentamiento de las sustancias relativamente inmiscibles con el agua, de otras más miscibles, enfriando luego su vapor para reducirlas nuevamente a un líquido concentrado.

Por otro lado, al elegir el uso de solventes orgánicos estos penetran en el material orgánico con el fin de lograr la disolución del sustrato en los compuestos volátiles a partir de las diferencias de punto de ebullición entre el disolvente y el sustrato. Este método se lleva a cabo a bajas temperaturas [46], evitando la pérdida de componentes termolábiles, o reacciones químicas

indeseables que contaminen la extracción.

Es de los métodos de preferencia a escala laboratorio debido a los altos costos que los solventes a escala industrial representan. El procedimiento más utilizado es **soxhlet**, donde la muestra seca pasa por una reducción de tamaño de partícula y se pone en contacto con los solventes elegidos, estos mismos solubilizan la esencia y extraen otras sustancias tales como ácidos grasos, ceras y pigmentos.

Figura 11.

Montaje de extracción por solventes a nivel laboratorio (soxhlet).



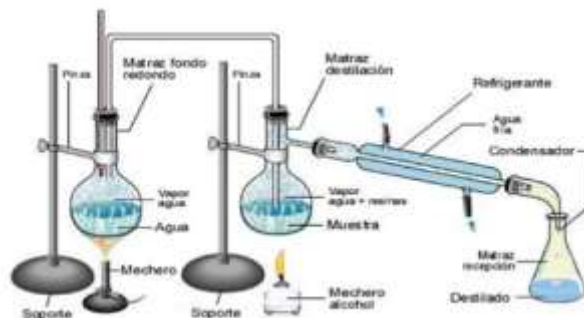
Nota. Composición montaje tipo Soxhlet. Tomado de: “DESTILACIÓN DE VAPOR”, Klublr.com. [En línea]. Disponible en: https://klublr.com/esa/destilaci%C3%B3n-al-vapor?clickref=11011xWKTbvj&utm_source=vibrantads&utm_medium=affiliate&utm_campaign=110111995&affiliate_source=pz. [Consultado: 16-nov-2023].

Arrastre de Vapor: La destilación por arrastre de vapor es un método popular para extraer aceites esenciales, utilizando el vapor de agua para asociarse con las moléculas de aceite. Este proceso implica destilar una mezcla de dos líquidos inmiscibles a temperaturas inferiores a sus puntos de ebullición. El vapor de agua, generado externamente, calienta la mezcla y añade tensión de vapor a los componentes volátiles, facilitando así su extracción.

Aunque existen otros métodos, como la extracción con solventes orgánicos o el calentamiento directo, la destilación por arrastre de vapor de agua sigue siendo insustituible debido a sus numerosas ventajas. Entre estos destacan la economía del vapor de agua en comparación con los costosos disolventes orgánicos y la ausencia de la necesidad de equipos atractivos [48].

Figura 12.

Montaje de extracción por arrastre de vapor a nivel laboratorio.



Nota. Composición del montaje mediante arrastre de vapor. Tomado de: “La extracción de los aceites esenciales”, Vital Aromaterapia, 30 de abril de 2019. [En línea]. <https://vitalaromaterapia.com/como-es-la-extraccion-de-los-aceites-esenciales/>.

1.4.1. Extractos etanólicos

La definición se entiende como “*extracto con olor característico obtenido a partir de materia prima seca de origen vegetal, por maceración o percolación en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico*” [49]. Estos procesos pueden ser sometidos a determinadas operaciones unitarias para eliminar algunos de sus compuestos indeseados y así mejorar la calidad o pureza del producto deseado.

1.4.2. Aplicaciones de los extractos etanólicos

Los extractos etanólicos tienen una amplia gama de aplicaciones debido a sus propiedades bioactivas, conservantes y solventes, dado lo anterior, estos son algunos ejemplos de las áreas en las que se han implementado [50]:

- **Medicina y Fitoterapia:** Se utilizan para extraer metabolitos secundarios de plantas, tales como alcaloides, flavonoides, terpenoides, saponinas y taninos, los cuales presentan actividades farmacológicas diversas. Por ejemplo, los flavonoides son conocidos por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, mientras que los alcaloides pueden tener efectos analgésicos y anti cancerígenos. [51]
- **Cosmética:** Se agregan en la formulación de productos cosméticos debido a su capacidad para penetrar la piel y liberar los compuestos bioactivos. Por ejemplo, los fenoles y los polifenoles extraídos de plantas poseen propiedades antioxidantes que protegen la piel del daño causado por los radicales libres. [52]
- **Alimentos y Bebidas:** Se utilizan para extraer compuestos que mejoran el sabor, el color y la vida útil de los productos alimenticios. Por ejemplo, los carotenoides y antocianinas son

utilizados como colorantes naturales, mientras que los compuestos fenólicos pueden actuar como conservantes debido a sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes. [53]

- Agricultura: Algunos extractos etanólicos poseen compuestos bioactivos como piretrinas y rotenonas ofreciendo una alternativa a los pesticidas sintéticos. [83,84]
- Industria Farmacéutica: Usados para extraer y purificar principios activos que luego se incorporan en medicamentos, este proceso es crucial para la obtención de compuestos con alta pureza y actividad biológica, como los ginsenósidos del ginseng y los salicilatos de la corteza de salsa. [53]

Investigación Científica: Son empleados en investigaciones para aislar y caracterizar compuestos bioactivos mediante técnicas como cromatografía de alta resolución (HPLC), espectrometría de masas (MS) y resonancia magnética nuclear (NMR). [54]

1.5. Biocidas

Según la FAO [55] un biocida o insecticida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias desarrolladas para prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los virus de enfermedades humanas o animales, plantas indeseables o combatir insectos que puedan causar consecuencias negativas en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización agrícola, incluyendo sus derivados.

Tabla 2.

Clasificación de insecticidas

Actividad	Ruta de ingreso	Naturaleza química	Toxicidad
<i>Insecticidas</i>	Por ingestión	Inorgánicos	Extremadamente Tóxico
<i>Nematicidas</i>	Por contacto	Orgánicos (botánicos, organofosforados, carbamatos)	Altamente tóxico
<i>Fungicidas</i>			Moderadamente tóxico
<i>Herbicidas</i>	Por inhalación		Ligeramente tóxico
<i>Acaricidas</i>			

Nota. Clasificación de insecticidas según su actividad en función de su ruta de actividad. Tomado de: “formulación de Un Insecticida Natural A Base de, “UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO”, Edu.pe . [En línea]. <https://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/7427/FIQ%20TESISORTEGA%20SILVA2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Los plaguicidas también se clasifican según su formulación en gránulos, pellets, fumigantes y

líquidos. En la tabla 3 se muestra la clasificatoria en función a la formulación líquida.

Tabla

3.

Clasificación de insecticidas según su formulación líquida.

Formulaciones Líquidas	Composición	Características
<i>Concentrado soluble (CS)</i>	Ingredientes activos disueltos en agua.	Soluble en agua. Requiere dilución antes de su uso. Se dispersa fácilmente en el agua.
<i>Emulsión concentrada (EC)</i>	Ingredientes activos disueltos en aceite y dispersados en agua mediante un agente emulsionante.	Aspecto del aceite en agua. Estable. No se separa fácilmente.
<i>Emulsión en agua (EA)</i>	Ingredientes activos dispersos en agua con la ayuda de un agente emulsionante.	Aspecto lechoso o traslúcido. Requiere agitación antes de su uso.
<i>Suspensión concentrada (SC)</i>	Partículas finas de ingredientes activos suspendidos en agua.	Requiere agitación antes de su uso. Las partículas activas permanecen suspendidas en el líquido.
<i>Suspensión emulsionante (SE)</i>	Combinación de una suspensión y una emulsión, con ingredientes activos dispersos tanto en el agua como en el aceite.	Proporciona las ventajas de las emulsiones y las suspensiones. Requiere agitación antes de usar.
<i>Aceites</i>	Ingredientes activos disueltos en aceite portador.	Pueden requerir dilución antes de su uso. Facilita la aplicación y absorción.
<i>Aerosoles</i>	Mezcla líquida finamente dividida en partículas y dispersada en un gas propulsor.	Se liberan mediante pulverización. Conveniente para áreas extensas o de difícil acceso.

Nota. Clasificación de insecticidas según su formulación, detallando composición y características. Tomado de: “Capítulo 2: PLAGUICIDAS QUÍMICOS, COMPOSICIÓN Y FORMULACIONES, ETIQUETADO, CLASIFICACIÓN TOXICOLÓGICA, RESIDUOS Y MÉTODOS DE APLICACIÓN”, Manualfitosanitario.com .

[En

línea].

<https://www.manualfitosanitario.com/InfoNews/INTA%20Aplicacion%20eficiente%20de%20fitosanitarios%20Cap%202.%20%20Formulaciones.pdf>.

Los insecticidas más usados en especial son los elaborados a base de organofosforados y piretroides sintéticos según el informe del 2022 del ICA [58], este tipo de insecticida se sintetiza a partir de compuestos que se encuentran en las flores conocidas como el crisantemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). Se reconoce su capacidad antiparasitaria dada principalmente por su alta especificidad por los insectos y baja toxicidad para los mamíferos, entre ellos se encuentra la aletrina, permetrina, cipermetrina, deltametrina y fenotrina, entre otros [59]. Su mecanismo de acción se basa en la interrupción de la transmisión normal de impulsos nerviosos, específicamente por la interferencia de los canales de sodio. Los piretroides más usados para el control de grillos son cipermetrina, alfa-cipermetrina, cialotrina y permetrina [59,85].

1.5.1. Propiedades y Aplicaciones

Ahora bien, los insecticidas son mezclas o disoluciones cuyo objetivo es contrarrestar o neutralizar mediante propiedades físico químicas y biológicas generando un control en de la carga microbiana, los cuales se categorizan según su enfoque industrial [60]:

- 1. Categoría 1:** Desinfectantes.
- 2. Categoría 2:** Conservantes.
- 3. Categoría 3:** Plaguicidas.
- 4. Categoría 4:** Otros.

Su principal objetivo es la conservación integral de los alimentos con todas sus características respecto a cantidad, calidad y pureza mediante la disminución, neutralización y destrucción de la acción microbiana o ejercer el control sobre la reproducción de una especie de organismo, este compuesto actúa a nivel de la membrana celular del microorganismo, penetrándose y destruyendo los sistemas que le permiten su supervivencia de forma física, química o biológica. No obstante, un mal manejo del producto puede provocar diferentes implicaciones sobre la salud de las personas, animales o el medio ambiente, pues están diseñados para mitigar células y por ello se encuentran reguladas a nivel Europeo por el reglamento (UE) n° 528/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de mayo de 2012, quien vigila el uso y comercialización de las biocidas [60].

En Colombia se emite Perfil Nacional de Sustancias Químicas en Colombia Vol II -2017 [61]

Dentro de sus principales características podemos mencionar que cuenta con diversos puntos de actividad, alta efectividad a bajas concentraciones, amplio rango de pH , usualmente son solubles en agua y compatibles ambientalmente, además cuentan con alta durabilidad y fácil neutralización.

Frente a la categoría 3 como plaguicida está constituido generalmente por 4 componentes esenciales [62]:

- **Ingrediente activo:** Compuesto orgánico de origen biológico que determina la actividad del plaguicida, es decir, los alcaloides del *Claviceps Purpurea*.
- **Ingredientes inertes:** Sustancias que unidos a los ingredientes formule la preparación para su debida aplicación dosificada.
- **Coadyuvantes:** Sustancias tensoactivas, estabilizantes o fluidificantes que junto a la elaboración logren modificar las propiedades físicas y químicas de los ingredientes activos.
- **Aditivos:** Sustancias que por sus propiedades ayudan a la preparación del plaguicida cumpliendo con normativas finales.

Adicionalmente, estos se pueden diferenciar entre [63]:

- **Biocida físico:** Fuentes de radiación de luz UV que logra oxidar la pared proteica y generar una incineración del organismo.
- **Biocida biológico:** Sustancias creadas por organismos superiores en la cadena para autodefensa, generalmente son de tipo proteico conocidas como enzimas.
- **Biocida químico:** Inorgánicos o de síntesis orgánica.
- **De contacto:** Aplicados sobre la superficie afectada pero no son absorbidos y no tienen efecto plaguicida en hojas o frutos.
- **Sistémicos:** Logran llegar al interior de la materia vegetal disminuyendo considerablemente la probabilidad del desarrollo de la enfermedad.

Como plaguicida establece control y eliminación sobre: Malezas indeseadas; insectos, artrópodos y vertebrados de tipo parásito que se encuentran en el cultivo, y agentes patógenos, que provocan enfermedades en los frutos como hongos, virus y bacterias. Las pérdidas de producción que pueden ocasionar dependen de la plaga, del cultivo y de la región geográfica donde las de mayor preocupación en el gremio son los insectos y hongos [64]. Para su uso es de suma importancia conocer datos sobre la humedad, la temperatura y la resistencia de los cultivos frente a las sustancias para determinar cuál es el biocida indicado.

Un plaguicida actúa por contacto e ingestión, inhibiendo la enzima acetilcolinesterasa la cual regula la acción de la acetilcolina que transmite el impulso nervioso del insecto y continúa haciéndolo repetidamente causando alteraciones sensoriales y de comportamiento, incoordinación

y depresión de la función motora, hasta que el insecto muere. Existen reducidas patentes donde indican las proporciones de los componentes que debe tener un insecticida en forma general entre ellas tenemos formulaciones con propiedades fungicida con fin agrícola y hortícola que no plantea problemas de fitotoxicidad [57]. En la tabla No.4 se muestra la formulación base para un insecticida de tipo ES (concentrado emulsionado).

Tabla 4.

Composición para la formulación un de biocida

Componentes	Proporción (%)
<i>Principio</i>	10
<i>Disolvente</i>	4
<i>Dispersante</i>	2
<i>Humectante</i>	10
<i>Espesante</i>	0,2
<i>Agua Desionizada</i>	73,8

Nota. Composición general de un biocida. Tomado de: “formulación de Un Insecticida Natural A Base de, “UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO”, Edu.pe. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/7427/FIQ%20TESISORTEGA%20SILVA2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Hoy en día anualmente se emplean aproximadamente 2.600 millones de kilogramos de fungicidas, insecticidas y herbicidas, esto representa una significativa relevancia económica dado que según aumente la cantidad de suelos destinados a la agricultura en Colombia, la cifra aumentará a través del tiempo. La mayoría de estos plaguicidas son desarrollados por laboratorios reconocidos a nivel global, como Aliette® 80 W, Consentó® 45 SC, Silvacur Combi 30 EC, Verita 71,1 WG, entre otros, los cuales cuentan con ingredientes activos basados en compuestos químicos de tipo fosfórico, carbamato, triazol y fosfórico, respectivamente [65].

Por ejemplo, se han desarrollado biocidas a partir de extractos etanólicos de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) para su uso en control del hongo *Botrytis cinerea* [66], su relevancia radica en que parte de su metodología y diseño dado que se emplean 3 solventes diferentes en un equipo ultrasonido especificando condiciones de uso y mezclado, para su elaboración en la extracción donde se resalta mediante análisis fitoquímico la comprobación de distintos metabolitos

secundarios si se encuentran en abundancia, presencia o ausencia. Otro ejemplo es la capacidad del hongo *Beauveria bassiana* para el control de *Thysanoptera* presente en los cultivos de pimienta dulce en invernaderos [67], donde en un análisis empleando 66 muestras de hoja del cultivo de los cuales se dividen en brotes inóculos, infectados, y combinados, se demostró un análisis positivo y negativo y su competitividad con otros insecticidas sintéticos, denotando un uso competitivo.

1.5.2. Impacto Ambiental

La agricultura en Colombia es una actividad que según las cifras recientes del DANE, para el primer trimestre de 2023 la población de campesinos ocupa el 30% total de habitantes dentro del territorio nacional contando con alrededor de 15,2 millones de personas [68]; durante décadas dicha población ha sido la mayormente afectada por la presencia de plagas como polilla guatemalteca (*Tecia solanivora*) la cual puede generar pérdidas significativas en campos de papa o en el caso de los Pulgones quienes afectan tanto “forraje”, alimento de gran interés para los ganaderos [69]. Tradicionalmente, el control de pestes ha dependido en gran medida por su efectividad de productos químicos sintéticos como los pesticidas organofosforados, organoclorados y carbamatos, cuyo uso excesivo y de alta concentración han generado preocupaciones relacionadas con la preservación de la salud y la seguridad ambiental.

Colombia es uno de los países con mayor consumo de pesticidas sintéticos en América del Sur [70], Las prácticas agrícolas juegan un rol importante ya que estos son los encargados de comprender qué plaguicida usar sobre sus cultivos sin embargo se han mostrado análisis como el deterioro cognitivo en niños en zonas rurales viéndose afectadas 7 de cada 10 familias por la inhalación pasiva de estas sustancias sintéticas [70] y posterior recuperación de dichas sustancias químicas en fuentes hídricas siendo mayor al 70%. Un estudio realizado en Ventaquemada, Boyacá donde existe una producción alta de cultivos de papa y zanahoria demostró la presencia de Carbofurano , plaguicida tóxico usado regularmente en tubérculos y hortalizas en 22 muestras representativas ; adicionalmente del total de 25 muestras de agua, 16 muestras presentan la presencia de *Mancozeb*, fungicida el cual inhibe la respiración de la membrana celular empobreciendo el crecimiento del hongo [71].

Dado lo anterior, el control de plagas mediante plaguicidas tradicionales está regulado por el ministerio de ambiente y el sistema nacional de insumos agropecuarios (SINIA) junto a entes departamentales que decretan la prohibición de plaguicidas etiquetados como COP y permite el uso de alternativa como insecticidas organofosforados, carbamatos, piretrinas y piretroides [69],

sin embargo, no ha resultado ser una solución definitiva ya que la toxicidad en los campos de cultivo, fuentes hídricas y zonas rurales sigue siendo alta dando cabida a problemáticas como la contaminación en los suelos y aguas subterráneas donde se evidencia concentraciones mayores al 70% de estos plaguicidas [70] o la disminución de la capacidad cognitiva en la población infantil de la periferia urbana debido a la inhalación pasiva de estos compuestos [71].

Dentro de los beneficios de los plaguicidas orgánicos podemos encontrar el control de población e inmunidad de los insectos, ser un producto competitivo y establecido en el mismo mercado debido a un portafolio amplio de mayor exploración y ser de uso flexible ante diferentes tipos de cultivos facilitando su adaptabilidad al hábitat.

1.5.3. Normativa

Decreto 1071 de 2015 Sector Administrativo Agropecuario, Pesquero y de Desarrollo Rural: Decreto Único Reglamentario del Sector Administrativo Agropecuario, Pesquero y de Desarrollo Rural, en lo relacionado con la adopción de medidas para administrar, fomentar y controlar la actividad de la acuicultura. [72]

Resolución 1344 de 1990 - Por la cual se reglamenta el manejo fitosanitario de algunos cultivos transitorios, Este resuelve el manejo fitosanitario disminuyendo los índices de plagas, el manejo integrado de plagas utilizando técnicas conteniendo poblaciones a niveles mínimos. [73]

Ley 2183 (6 de enero del 2023) POR MEDIO DEL CUAL SE CONSTITUYE EL SISTEMA NACIONAL DE INSUMOS AGROPECUARIOS, SE ESTABLECE LA POLÍTICA NACIONAL y DE INSUMOS AGROPECUARIOS, SE CREA EL FONDO DE ACCESO A LOS INSUMOS AGROPECUARIOS y SE DICTAN OTRAS DISPOSICIONES. Entidad encargada de regular todo en relación a los insumos agropecuarios incluyendo plaguicidas orgánicos junto a entes territoriales. [74]

Cartilla sobre plaguicidas COP, Contaminantes orgánicos persistentes, dando características y propiedades generales, usos nocivos, y donde se usaban junto a las resoluciones que dejan fuera de circulación sustancias Endrin, Aldrina, Clordano, DDT, Dieldrina, Heptacloro, Mirex, Lindano, Toxafeno y Endosulfan [75]

Tabla 5.

Sustancias fuera de comercialización, resolución y entidades emisoras.

Sustancia	Prohibición definitiva	Entidad emisora
<i>Endrina o Endrín</i>	Resolución 1849 de 1985	ICA (Instituto Colombiano Agropecuario)
<i>Aldrina o Aldrín</i>	Decreto 305 de 1988	Ministerios de Salud y Agricultura
<i>Clordano</i>	Resolución 10255 de 1993	Ministerio de Salud
<i>DDT</i>		
<i>Dieldrina o Dieldrín</i>		
<i>Heptacloro</i>		
<i>Mirex</i>		
<i>Lindano</i>	Resolución 04166 de 1997	
<i>Toxafeno o canfecloro</i>	Resolución 02971 de 2000	
<i>Endosulfán</i>	Resolución 01669 de 1997 (Sentencia N° 5483 de 2001)	Ministerio de Salud y Consejo de Estado

Nota. Sustancias utilizadas en plaguicidas que salen de circulación debido a implicaciones en la salud pública, resolución y entidad que emite esta norma. Tomado de: P. De Las Naciones Unidas Para El Desarrollo Ministerio de ambiente El Fondo Para el Medio Ambiente Mundial GEF, “Contaminantes Orgánicos Persistentes, cartilla de plaguicidas”, 2017. Composición general de un biocida. Tomado de: “formulación de Un Insecticida Natural A Base de, “UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO”, Edu.pe . [En línea]. <https://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12952/7427/FIQ%20TESISORTEGA%20SILVA2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Ley 9 de 1979. Por la cual se dictan Medidas Sanitarias.

- **TÍTULO I.** De la protección del medio ambiente.
- **TÍTULO 2.** Suministro de agua. En cuanto a usos del agua, residuos líquidos y se dictan otras disposiciones.
- **TÍTULO 3.** Salud ocupacional. Donde se encuentran las siguientes secciones:
 - De los agentes químicos y biológicos. Artículos 101-109.
 - De la seguridad industrial. Artículo 112. acerca de las maquinarias, equipos y herramientas.
 - De los plaguicidas Artículos 136-144

Los artículos mencionados hacen parte del control y regulación de plaguicidas [76]:

Art. 136: El Ministerio de Salud establecerá normas para proteger la salud y seguridad de las

personas contra riesgos derivados de plaguicidas.

Art. 137: Pide registro para importar, comerciar o fabricar plaguicidas y solo se emitirá siempre que se haya establecido que no tendrá ninguna implicación en el ambiente y salud pública.

Art. 141: El etiquetado debe cumplir con características de registro y sistema de simbología según su clasificación de toxicología.

Art. 142: Suscita medidas preventivas en la aplicación de plaguicidas evitando la contaminación en áreas tratadas

Art. 143: Las personas que apliquen plaguicidas deben contar con una licencia operativa expedida por autoridades sanitarias en vigilancia del ministerio de salud.

Art. 144: Residuos de plaguicidas no deben ir en contacto directo con el agua, suelo o aire. debe tener una debida disposición para evitar el riesgo a la salud

La resolución 0631 de 2015. Instaura parámetros máximos permisibles en vertimientos a cuerpos de agua puntuales, alcantarillado y otro tipo de disposición [77].

2. METODOLOGÍA

2.1 Caracterización de la materia prima

El *Claviceps Purpurea* aparece en la naturaleza mayormente en plantas monocotiledóneas, especialmente en el forraje para el caso de Colombia o en cultivos de centeno y trigo en zonas de cultivos que tengan temporadas invernales, la manera de infestar estas plantas es a través de polinizadores, tras la infección, el hongo forma esclerocios de color rojo oscuro a negro dentro de los floretes en lugar de los granos [78] con un tamaño de hasta 3 veces el grano de la espiga; la NORMA I - Resolución SAGyP 1075/94 en el régimen de exportación tiene un % de tolerancia de este hongo menor al 0,1% [79] para Colombia dado que sus importaciones de trigo u otros cereales provienen de Canada, Ucrania, Alemania, Estados Unidos o Argentina. En la selección de granos de importación se encuentra el *Triticum durum* originario de Canadá, el cual es solicitado por plantas de producción alimentaria de pastas o galletas debido a su contenido de proteínas que contribuye a la formación de una red fuerte y elástica de gluten, sin mencionar que tiene una capacidad superior para retener la humedad, lo que mejora su rendimiento durante el proceso de horneado y asegura que los productos finales mantengan una buena consistencia y resistencia.

Figura 13.

Muestra de "trigo limpio" con respecto al desecho de trigo.



Nota. Fotografía de muestras proporcionadas de productos alimenticios Doria S.A.S.

En industrias alimenticias donde su producto final contemple la manufactura de molino de trigo o gramíneas, este desecho de trigo es puesto a disposición por autoridades ambientales para su uso y aprovechamiento como biomasa para generación de energías alternativas, sin embargo, no deja de ser de alto valor para la investigación de nuevos fármacos o introducción de una categoría de toxinas amigables con los cultivos sin dañar el ecosistema.

2.2. Selección y Preparación de la muestra

Para la selección de la materia prima se toma una muestra de 500 g de desecho de trigo en el cual específicamente se deben seleccionar los esclerocios teniendo en cuenta todas las precauciones necesarias (Uso de guantes, tapabocas y protección visual) dado que estos son considerados un desecho orgánico potencialmente peligroso y nocivo que puede causar problemas en la salud pública por su toxicidad; los criterios de selección se basan en varias características claves logrando separar la mayor cantidad de esta materia prima.

2.2.1. Identificación visual

Los esclerocios se identifican visualmente por su estructura alargada, dura y resistente de color oscuro y textura rugosa siendo similares al grano del trigo, pero con diferente color y tamaño; el hongo aumenta hasta 3 veces el tamaño de un grano sano y su color varía entre un negro profundo hasta un marrón opaco. Estas características agilizan el proceso de separación entre la mezcla de granos.

Figura 14.

Esclerocios de Claviceps Purpurea.



Nota: Fotografía grano de Claviceps Purpurea

2.2.2. Estado de pureza en la muestra

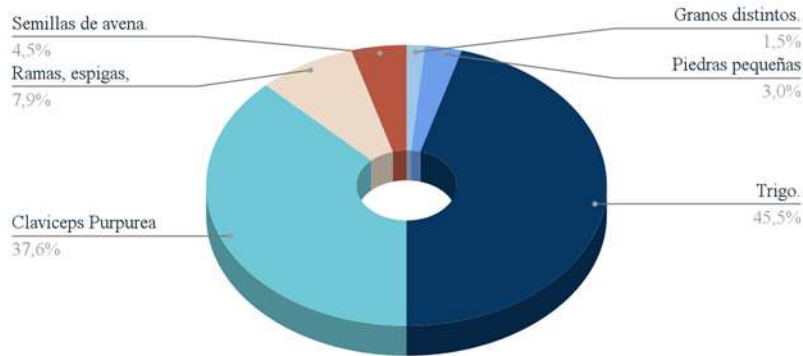
Según la muestra proporcionada por Productos Alimenticios Doria S.A.S en 500 g, la cantidad de esclerocios de *Claviceps Purpurea* está alrededor de 187 g - 209 g siendo esta el 37 % a 41 % de masa dentro de la muestra.

El proceso previo a la recolección del trigo sucio está dado por una serie de equipos de selección de grano especializados en separar el trigo de distintos agentes que no deberían estar en el proceso. La segmentación de este proceso se resume en centrifugar eliminando partículas de mayor

densidad, después de un sistema de selección por color con inyección de aire para finalmente pasar por un detector magnético eliminando materiales metálicos u objetos ferrosos.

Figura 15.

Distribución de componentes en una muestra de 500 g de desechos de trigo.



Nota. Análisis de una muestra de 500 g de desechos de trigo mediante la distribución de componentes encontrados, diagrama circular.

2.2.4. Componentes no deseados

Si bien la selección manual del esclerocio para granos de tamaño intermedio a grande es fáciles y rápidos de identificar por su color y forma, paralelamente se encontrarán trozos pequeños que se pueden confundir con pequeñas rocas de tamaño similar o granos de cultivo distinto.

Figura 16.

Visualización de la composición de trigo sucio.



Nota. Muestra de “trigo sucio”. 1. Granos distintos. 2. Piedras pequeñas. 3. Trigo. 4. Claviceps Purpurea. 5. Ramas, espigas, endospermo o capas de salvado. 6. Semillas de avena.

2.3. Procedimiento de preparación

La muestra se coloca en primer lugar sobre una bandeja de aluminio en un horno a 10 °C durante 1h logrando eliminar humedad superficial sin llegar a causar degradación de los compuestos

bioactivos de los esclerocios. Posteriormente la muestra se transfiere a vasos de precipitado no superando la cantidad de 20g por vaso y llevándolos a un desecador durante 5h, permitiendo eliminar humedad residual de humedad controlando el ambiente sin tener la posibilidad de perder y degradar materia orgánica.

2.4. Extracción de alcaloides de *Claviceps Purpurea*

2.4.1. Obtención del extracto etanólico

El *Claviceps Purpurea* está constituido por una variedad de compuestos químicos, especialmente alcaloides ergotínicos, que son de alto interés siendo a su vez los más estudiados y conocidos debido a sus efectos farmacológicos y tóxicos. El ergotismo es asociado con la familia del *Claviceps* donde sus estructuras están basadas en un núcleo de la ergolina dividido en dos categorías de estudio frecuente, alcaloides derivados del ácido lisérgico y alcaloides de ácido lisérgico. Derivados como ergometrina, ergonovino, ergotamina, ergotoxina, ergosina, ergosinina, ergometrina, beta-ergotoxina entre más alcaloides ergóticos con diferentes propiedades tóxicas o farmacológicas.

Frentes a minoría de compuestos se encuentran los ácidos orgánicos como el ácido clavico y ciclo-clavico, compuestos relacionados a los alcaloides, metabolitos secundarios como ácido mevalónico, terpenos y esteroides, azúcares alcohólicos como el manitol, trehalosa y melaninas, pigmentos que contribuyen al color oscuro distintivo de este hongo.

La extracción no se limita a un compuesto orgánico específico, este se orienta a recuperar todos los componentes que puedan ser útiles para formular un plaguicida, los alcaloides ergóticos y metabolitos secundarios tiene propiedades bioactivas que pueden ser eficaces para el control de plagas aprovechando una sinergia de toxinas naturales presentes en el hongo robusteciendo el extracto y lo que puede ofrecer de ello.

Se sigue un sistema de extracción sólido - líquido junto con una extracción líquido - líquido, simultánea. [80] dividido en 5 fases.

2.4.2.a. Fase molienda del *Claviceps Purpurea*. El grano se somete a un proceso de molienda manual para reducir su tamaño de partícula. Considerando medir una granulometría uniforme el material molido pasa por tamices de 600 μ m y 300 μ m respectivamente buscando una adecuada superficie de contacto durante la extracción de compuestos bioactivos. Para ello se dividen en 3 grupos según su tamaño de partícula, gruesos mayores a 600 μ m, intermedios mayores a 300 μ m y finos menor a 300 μ m, considerando un 1% de pérdidas por tamaños de partículas diminutos.

2.4.2.b. Fase inicial tratamiento con hidróxido de amoníaco y éter etílico. Se prepara una disolución de hidróxido de amonio al 10% P/V quien actúa como base fuerte, ayudando a desprotonar los compuestos ácidos, liberando metabolitos secundarios y alcaloides ergóticos presentes en los esclerocios, este proceso es apoyado con agitación y un tamaño de partícula en los esclerocios > 1 mm. Por otro lado, el éter etílico es un solvente orgánico que ayuda al arrastre de compuestos que ya había desprotonado el hidróxido de amoníaco, se recomienda tener medidas de seguridad respiratorias ya que estos vapores son tóxicos de categoría 1 para el caso del hidróxido de amonio, pero el éter etílico puede llegar a provocar somnolencia y vértigo, debe de emplearse la ayuda de cabina de extracción y de ser posible mascarilla antigases o tapabocas.

Para llevar a cabo el sistema de separación entre estos dos reactivos se debe entender que esta es una mezcla heterogénea y por diferencia de densidades el éter etílico es quien será el primer solvente en evaporarse por lo que se debe dejar evaporar la muestra con hidróxido de amonio hasta $\frac{1}{4}$ de su volumen y posteriormente adicionar el 60% de volumen en éter etílico. Esta mezcla debe estar en constante agitación facilitando el contacto entre hidróxido de amonio y éter etílico, así como su transporte de componentes activos en el esclerocio.

Figura 17.

Etapa de extracción entre hidróxido de amoníaco y éter etílico.



Nota. Fotografía con respecto a la precaución de la etapa de extracción debido a la columna de burbujas que genera la volatilidad del éter etílico.

El perfil de temperatura para esta mezcla debe estar en constante supervisión debido a que el éter etílico elevando su temperatura a más de 24 °C genera una columna de burbujas que rápidamente precipita fuera del recipiente lo que puede causar pérdida de la materia prima y compuestos extraídos hasta el momento, durante la evaporación del éter etílico se recomienda dejar la mezcla a menos de 24,6 °C hasta llegar al volumen de amoníaco de ahí se sube la temperatura hasta 85 ° - 90 °C, dejando que seque totalmente la muestra.

2.4.2.c. Fase intermedia solubilización entre ácido tartárico y éter etílico. Se prepara una solución de ácido tartárico al 1% P/V en agua, esta solución facilita la protonación entre los alcaloides y otros compuestos básicos, aumentando su solubilidad en la fase etanólica. se agita la muestra durante 20 minutos y llevando a evaporar el volumen de ácido tartárico alrededor de los 90 °C - 100 °C, llegando a 1/4 de su volumen se agrega un 60% de su volumen de éter etílico, debido a que este solvente es no polar, lograra extraer componentes lipofílicos que no se solubilizan en la fase etanólica. La mezcla debe entrar en agitación continua entre 130 - 200 rpm e igualmente que la fase anterior se debe mantener un control de temperatura para el volumen de éter etílico por su columna de burbujas, mientras no se evapore todo el volumen de éter etílico se recomienda dejar la mezcla a menos de < 24 °C. Una vez se evapore todo el volumen de éter etílico se puede subir la temperatura hasta unos 90 °C - 100°C hasta dejar la mezcla seca, obteniendo un extracto más puro y concentrado.

Figura 18.

Proceso de secado, ácido tartárico y éter etílico.

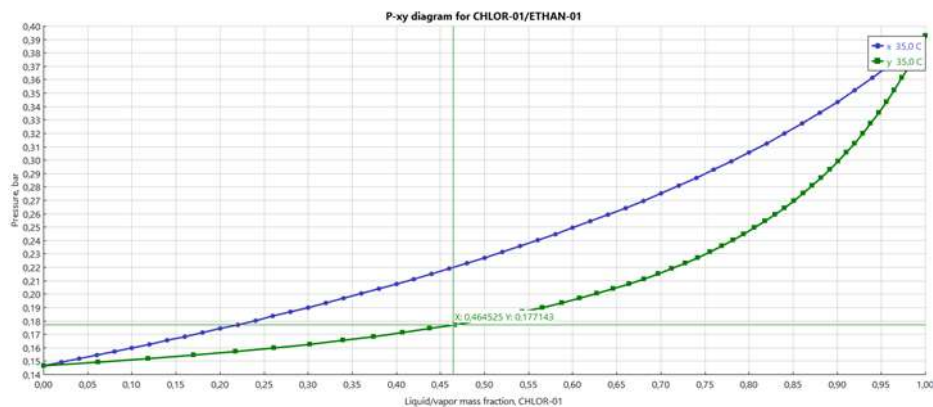


Nota. Fotografía durante la etapa de secado en horno a 98°C.

2.4.2.d. Fase final extracción con cloroformo, etanol y agua en exceso de bicarbonato de sodio. Para la fase final la muestra se somete a un proceso de extracción utilizando una mezcla ternaria compuesta por cloroformo, etanol al 96% y agua en exceso de bicarbonato de sodio, el volumen a suministrar es 0,8:1:0,1 dentro del mismo orden. El bicarbonato de sodio actúa como alcalinizante frente al proceso desprotonando compuestos ácidos facilitando la solubilidad de estos mismos en la fase orgánica. El cloroformo al ser un solvente no polar solubiliza varios de los compuestos orgánicos mientras que el etanol se llenará de compuestos polares logrando solubilizarlos.

Figura 19.

Diagrama de fases, mezcla cloroformo - etanol.



Nota. Grafico de fases para una mezcla binaria entre cloroformo y etanol elaborada en Aspen Plus

La muestra se llevará a rotavapor de vacío, consecuentemente mayor parte de esta es cloroformo y etanol puro, así que con un diagrama de fases binario se logra reunir información a que presión poner la bomba de vacío. La muestra tiene un volumen del 46% en cloroformo lo que junto a una isoterma de 35°C la presión de vacío se debe tomar a 17 mbar.

Figura 20.

Sistema de separación asistido por rotavapor al vacío.



Nota. Fotografía sistema de separación en conjunto a un rotavapor al vacío en condiciones de 15mbares y 35 °C.

Visualmente se puede encontrar que la fase etanólica extrajo componentes polares en forma de pigmentos rojos fuertes, se puede asumir que parte de ellos también son metabolitos secundarios y alcaloides, la concentración del color también será un apoyo visual para determinar la concentración de extracto obtenido en la fase etanólica ya que si vira a marrones claros o amarillos estarán menos concentrado.

2.4.2.e. Filtración y almacenamiento. Una vez finalizado el proceso en el rotavapor, el extracto etanólico obtenido se somete a un proceso de filtración eliminando partículas sólidas de gran tamaño, obteniendo un producto final más puro y limpio. Tras la filtración el extracto a embudos de decantación durante 3h buscando fases una división de fases en el extracto etanólico y cloroformo.

Figura 21.

Sistema de decantación fase etanólica y clorofórmica.



Nota. Fotografía sistema de decantación entre las fases etanolicas y clorofórmicas.

2.5. Marcha fitoquímica, análisis cualitativo de alcaloides

Para validar la posibilidad de alcaloides dentro del extracto etanólico se puede realizar una marcha fitoquímica guiada a la verificación cualitativa de del extracto obtenido, debido a que el extracto se ha intervenido con cloroformo, se debe verificar el pH hasta llegar a 12, para ello se puede agregar una solución de hidróxido de sodio, posteriormente se toma una alícuota de 5ml de extracto en un tubo de ensayo y 5 ml de HCl concentrado 86 % estas muestras deben calentarse hasta llegar a punto de burbuja, una vez visualizado este punto, toma una alícuota de 3 ml en un tubo de ensayo y se agrega 3 gotas reactivo Wagner, en otro tubo de ensayo junto a otra alícuota de 3 ml y 3 gotas de reactivo Mayer, y de mismo forma en otro tubo de ensayo junto a 3 gotas de reactivo Dragendorff.

2.6. Protocolo Experimental para la obtención de extracto etanólico de *Claviceps Purpurea*

Se pesa 5g de muestra molida por cada grupo de tamaño de partícula y se pasa a un Erlenmeyer de 250 ml junto con 25 ml de hidróxido de amonio diluido al 10%, esto se mantiene en agitación sobre un agitador orbital entre 140 a 150 rpm por 20 minutos, luego de esta, se pasa a una plancha de calentamiento y se agrega un agitador magnético junto 25 ml de éter etílico, para el sistema de secado se tomarán dos fases inicialmente mientras tenemos un volumen de éter mantendremos la temperatura a menos de 24 °C y 200 rpm hasta lograr reducir y secar todo el volumen de éter etílico, para luego subir cada 5 minutos 10 °C hasta llegar a 80 °C y así secar el volumen restante de hidróxido de amonio. Para este proceso se recomienda utilizar cabina de extracción y máscara antigases.

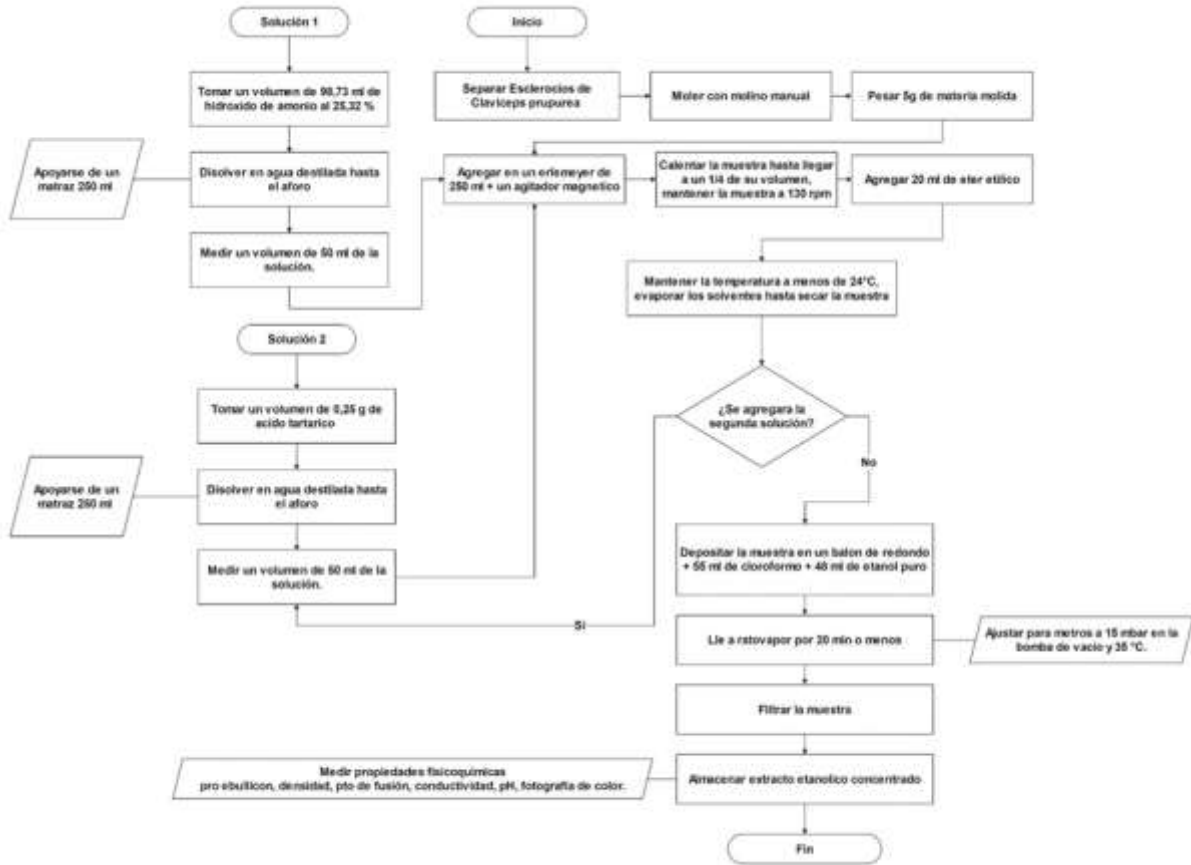
Una vez seca la muestra se suministra 25 ml ácido tartárico al 1% llevándolo a 50°C y 320 rpm, cuando se reduzca hasta la mitad de su volumen se suministra 25 ml de éter etílico, es preferible dejar enfriar a 35 °C la muestra e ir agregando de manera lenta el éter etílico sin agitación, de igual manera mientras se evapora el volumen de éter etílico se debe mantener a una temperatura a menos de 24 °C y menos a 200 rpm, hasta secar totalmente la muestra.

Una vez seca la muestra se transfiere a un balón de fondo plano esmerilado a cuál se le transfiere toda la muestra y junto a 30 ml de cloroformo, 45 ml de etanol al 96 % y 10 ml de agua. El balón se coloca en un rotavapor a vacío, ajustando la bomba de vacío a 15 milibares, la temperatura de calefacción en 35 °C y la velocidad de rotación a 40 rpm. Este proceso se debe mantener durante 20 a 30 minutos. Finalmente se recoge la fase etanólica que se filtra para obtener un volumen de 40 ml de extracto etanólico concentrado.

Dada toda la información anterior, a continuación, se presenta el diagrama de bloques propuesto para la obtención de extracto etanólico a partir del *Claviceps Purpurea*.

Figura 22.

Protocolo de laboratorio.



Nota. Diagrama de bloques para la obtención de extracto etanólico a partir del *Claviceps Purpurea* en EDraw.

2.7. Análisis del extracto etanólico

Figura 23.

Separación de materia prima por tamaño de partícula.



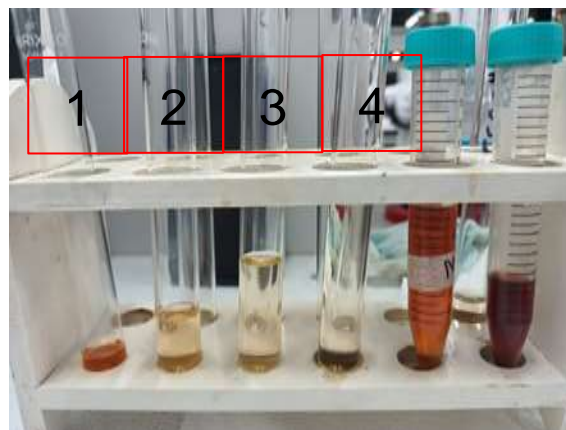
Nota. Fotografía tamaño de partícula posterior a la molienda de la materia prima.

Para el análisis del extracto obtenido, se lleva a cabo un barrido espectral entre 325 a 1100 nm rango visible utilizando etanol como blanco analítico durante el protocolo de experimentación se hace un paso previo al pesaje de las muestras y es la define un tamaño de partícula para cada muestra siendo estos de tamaño de 600 y 300 mm. obteniendo tres tipos de tamaño para la materia prima (*grano grueso, intermedio y fino*).

Al finalizar el proceso de extracción y filtrado se preparan cuatro muestras diferentes evaluando el concentrado del extracto: para el extracto concentrado, sin diluir (Tubo 1), y tres diluciones del extracto concentrado. La primera dilución se prepara en 0,5 ml de extracto y 3 ml de etanol (Tubo 2), La segunda dilución se prepara en 0,5 ml de extracto y 6 ml de etanol (tubo 3), y la tercera dilución se preparó en 0,5 ml de extracto y 9 ml de etanol (Tubo 4).

Figura 24.

Preparación de muestras para análisis espectrofotométrico de barrido en zona visible.



Nota. Fotografía preparación de diluciones para barrido espectrofotométrico. (1) muestra concentrada, (2), diluciones 1:3 en etanol, (3) dilución 1:6 en etanol, (4) dilución 1:9 en etanol.

Junto a un espectrofotómetro, se ejecuta un barrido espectral de cada muestra identificado picos característicos de compuestos presentes en el extracto, de igual forma los espectros se analizan entre ellos mismos validando el tamaño de partícula para interactuar con el sistema de extracción y cuantificación del concentrado.

2.8. Formulación del plaguicida

La formulación del plaguicida se basa en un concentrado emulsionante (Tabla No. 3), el cual combina el extracto etanólico, aceite mineral, y distintos coadyuvantes. Este tipo de formulación es idónea para el posterior análisis in-vivo ya que el sujeto de estudio son grillos (*Gryllidae*) y su viscosidad permite el contacto prolongado y absorción en la piel de los mismos.

La fase etanólica no se solubiliza fácilmente con aceite mineral debido a las diferencias en sus propiedades polares y no polares. El etanol es polar, mientras que el aceite mineral es no polar. Para formar una emulsión estable entre estos dos componentes, es necesario utilizar un emulsificante que pueda estabilizar la mezcla y permitir que una fase se disperse uniformemente en la otra. Sabiendo que se requiere una fase oleosa, el aceite mineral será solvente de sustancias no polares solubilizando el aceite lavanda, el cual actúa como coadyuvante, e ingredientes opcionales como lo son glicerina que actúa como humectante y polisorbato 80 que actúa como surfactante. Para la fase etanólica este se comprende como ingrediente activo y al mismo tiempo un disolvente de componentes polares como lo es el emulsificante estearato de sodio y agua.

Tabla 6.

Formulación de plaguicida tipo Concentrado Emulsionante.

<i>Función tecnológica</i>	<i>Ingrediente</i>	Opción 4	
		%	mL
Dispersante/emulsionante	Estearato de sodio	3%	3,3
Disolvente compuestos no polares	Aceite Mineral	10%	11,0
Coadyuvante	Aceite de Lavanda	4%	4,4
Ingrediente Activo (Polar)	Extracto etanólico	60%	66,0
Opcionales			
Humectante	Glicerina	3%	3,3
Surfactante	Polisorbato 80	10%	11,0
Disolventes compuestos polares	Agua	10%	11,0
<i>Total (mL)</i>		100%	110

Nota. Formulación en función de su proporción para una muestra de 110 ml

2.8.2. Preparación base del plaguicida (fase oleosa)

Dado los resultados de la matriz de decisión observados en la tabla No.12, se elige la formulación No.4. considerando que para su producción se requiere de una base oleosa para los componentes no polares. En un recipiente limpio y seco se añade aceite mineral el cual se comportará como el disolvente principal de los compuestos no polares con funciones de coadyuvantes, durante todo el proceso la muestra debe calentarse a una temperatura mayor a 50 °C logrando disminuir la

viscosidad entre los componentes mediante una agitación uniforme y constante. Seguidamente se suministra el aceite de lavanda, el cual no aporta propiedades insecticidas adicionales ya que se considera como un repelente natural, es decir, sus propiedades no generan la muerte sino repulsión del insecto ante superficies con la sustancia, consecuentemente, se agrega el polisorbato 80, el cual aporta propiedades de emulsificante, donde su objetivo principal es estabilizar la fase que se encuentra mejorando la solubilidad de los componentes lipofílicos en la fase etanólica. Finalizando, se añade la glicerina que aporta propiedades humectantes al plaguicida como la capacidad de retener la humedad, corroborando la estabilidad de la emulsión y evitando la desecación en los compuestos activos de la formulación.

Figura 25.

Fase oleosa.



Nota. Fotografía integración de componentes no polares para la fase oleosa de la formulación.

2.8.3. Preparación extracto etanólico

Simultáneamente el extracto etanólico debe llevarse a una temperatura no mayor a 50 °C debido a la posible degradación de los componentes bioactivos presentes en el extracto. La fase etanólica se formula como ingrediente activo y solvente de los compuestos polares. La mayor parte de esta formulación es el volumen de la fase etanólica siendo este el 60% del plaguicida, para finalizar se genera una mezcla entre agua y estearato de sodio, el agua para esta ocasión servirá como disolvente del estearato de sodio reduciendo la tensión superficial entre los compuestos polares como también lo es el extracto etanólico, mientras que el estearato es el agente emulsificante, el cual se encargará de estabilizar la muestra frente a los compuestos polares y no polares. Finalmente, la mezcla se agrega a la muestra etanólica manteniendo su temperatura, agitándose continuamente asegurando una distribución uniforme.

Figura 26.

Fase etanólica.



Nota. Fotografía integración de componentes polares en el principio activo de la formulación

2.8.4. Mezcla y Homogeneización

Ambas fases deben estar a una temperatura no mayor a 50 °C evitando la degradación de componentes bioactivos dentro de la fase etanólica, con apoyo de una bureta se vierte dentro la fase etanólica, para mantener el calor durante el proceso se puede envolver en papel aluminio, la fase etanólica debe irse incorporando a la fase oleosa de manera lenta y progresiva, la válvula de la bureta puede estar abierta en un 50 % mostrando un goteo continuo.

Figura 27.

Formulación de plaguicida.



Nota. Fotografía del producto final de la formulación integrando las fases anteriores

Una vez incorporado ambas fases se debe tener cuidado con el proceso de enfriamiento, este debe hacerse de manera progresiva, en la misma plancha de calentamiento se deja enfriar hasta llegar a temperatura ambiente evitando choques térmicos agresivos se envuelve en papel aluminio, sellando el recipiente, bajando la intensidad de agitación a 100 rpm.

2.8.6. Protocolo Experimental para la formulación de un plaguicida a base extracto etanólico de *Claviceps Purpurea*

Para elaborar un volumen de plaguicida de 110 ml eligió la formulación No.4 (Tabla No.12). Este proceso se prepara en dos fases, para la primera fase en un Erlenmeyer de 100 ml se prepara la base del plaguicida siendo esta la base oleosa, en una en una plancha de calentamiento y agitación magnética se agrega 11 ml de aceite mineral hasta alcanzar una temperatura de 50 °C, se coloca un agitador magnética ajustando la velocidad de agitación a 130 rpm, cuando la muestra alcance la temperatura se le suministra 4,4 ml de aceite de lavanda esperando 10 minutos a que la muestra homogenice, se suministra 11 ml de polisorbato 80 esperando 10 minuto hasta evidenciar homogeneidad, finalmente 3,3 ml de glicerina. Mientras se agita la muestra con todos los componentes no polares de manera simultánea en otro Erlenmeyer de 100 ml se agregan 66 ml de extracto etanólico, se lleva a calentamiento hasta alcanzar una temperatura de 50 °C, se agrega un agitador magnético y se ajusta a 160 rpm, durante el proceso de calentamiento se pesan 3,3 g de estearato de sodio y desde que alcanza una temperatura de 30 °C en la muestra, se agregan poco a poco, lo aproximado al borde de la espátula o una cucharada de micro-espátula siendo esto 0,2 g - 0,5 g hasta homogenizar la muestra, para ayudar al proceso de homogeneización se suministran 11 ml de agua a una temperatura de 25 - 30 °C. Una vez todos los componentes estén en su respectivo solvente junto a una temperatura de 50°C se toma una bureta de 100 ml envuelta en aluminio y se vierte en ella la muestra de extracto etanólico y demás componentes, ajustando la válvula a 50 - 60 % de su apertura, lo justo para crear un goteo continuo. Debajo de esta estará la base oleosa de componentes no polares ajustada a 100 rpm y manteniendo la temperatura constante.

Una vez vacía la bureta se espera 10 minutos a homogeneizar el plaguicida, pasado este tiempo el Erlenmeyer se envuelve en aluminio y se sella su entrada, se apaga la plancha el sistema de calentamiento dejando activa la agitación, la muestra debe enfriarse de manera paulatina hasta llegar a temperatura ambiente.

2.9. Evaluación In Vivo del Plaguicida

Esta actividad se lleva a cabo para evaluar la eficacia del plaguicida obtenido en un entorno controlado antes de su posible aplicación en el campo. Para este caso, se propone realizar una serie de pruebas in vivo a través de un diseño factorial 4x2 (42) que incluyen la evaluación del índice de mortalidad y el tiempo necesario empleando grillos doméstico (*Acheta domesticus*) como objeto de estudio debido a su capacidad de adaptación ante los entornos controlados con el fin de

identificar posibles efectos adversos y asegurar que el insecticida cumpla con los estándares de calidad y seguridad necesarios para su uso escalado en la industria agrícola.

2.9.1. Diseño experimental

Tabla 7.

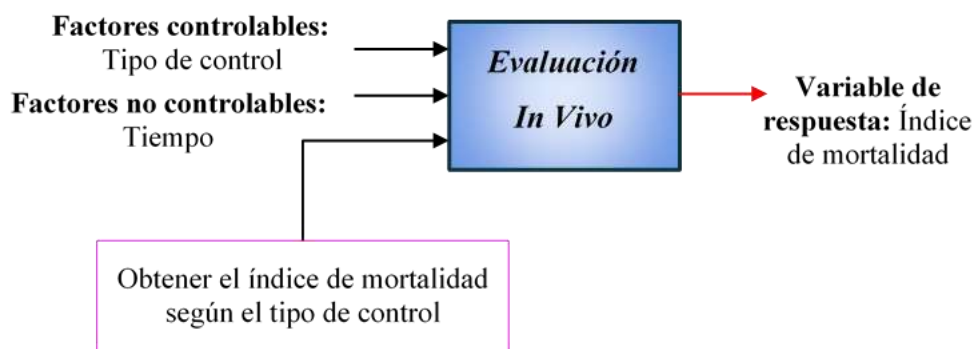
Elección de factores, niveles y rangos.

Factores	Tipo de factor	Tipo de variable	Niveles		Rango
Tipo de control	Controlable/ Independiente	Cualitativa nominal	4	Positivo (Plaguicida comercial) Positivo (Extracto formulado) Negativo (Agua) Negativo (Ninguno)	mín.2,máx.4 comparables
Tiempo	No controlable/ Dependiente	Cuantitativa continua	4	12 h 24 h 36 h 48 h	12 h < t < 48 h
Índice de mortalidad	Diseño/Respuesta	Cuantitativa discreta	NA		NA

Nota. Elección de variables, niveles y rangos de trabajo para el diseño experimental del análisis in vivo en grillos.

Figura 28.

Evaluación In Vivo



Nota. Planteamiento diseño experimental de la variable de respuesta.

2.9.2. Selección de sistemas de evaluación, preparación del medio y muestras

Se elaboran 10 cajas a partir de policarbonato macizo de 22 x 13,5 x 12 x 0,2 cm (Ancho, largo, altura y espesor) para la adaptación de 4 espacios diferentes de control para su seguimiento durante 9 días donde 4 cajas serán evaluadas con el plaguicida de estudio o prueba (extracto etanólico del

Claviceps Purpurea) y 2 con el plaguicida Comercial (Numetrin)) como controles positivos, 2 con de agua atomizada y 2 con ninguna sustancia adicional como controles negativos del experimento.

Tabla 8.

Sistema de monitoreo y evaluación.

Caja No.	Muestra	Tipo de Control
1	10 grillos	Ninguno (Sin plaguicida)
2		Plaguicida formulado (extracto etanólico del <i>Claviceps Purpurea</i>)
3		Plaguicida Comercial (Numetrin)
4		Agua
5		Plaguicida formulado (extracto etanólico del <i>Claviceps Purpurea</i>)
6		Plaguicida Comercial (Numetrin)
7		Agua
8		Plaguicida formulado (extracto etanólico del <i>Claviceps Purpurea</i>)
9		Plaguicida formulado (extracto etanólico del <i>Claviceps Purpurea</i>)
10		Ninguno (Sin plaguicida)

Nota. sistema de evaluación según el número de la cámara de aislamiento.

Positivo (Plaguicida comercial): El plaguicida a evaluar será el Numetrin conocido como un insecticida piretroide selectivo con excelente efecto de choque y prolongada acción residual para el control de plagas, este actúa por contacto dermal, penetrando rápidamente a través de la cutícula del insecto durante la aplicación o con residuos sobre las partes tratadas (característico de concentraciones emulsionadas), adicionalmente es de categoría toxicológica II (moderadamente peligroso/dañino)[82].

Positivo (Extracto etanólico): Será el objeto de estudio del diseño experimental propuesto, considerando que el extracto etanólico es el ingrediente activo de la formulación propuesta.

Negativo (Agua): Se utiliza agua como control negativo en experimentos de toxicidad y eficacia de insecticidas para establecer una línea base de comparación, asegurando que cualquier efecto observado sea atribuible al insecticida y no a otros factores. El agua, especialmente cuando es destilada o desionizada, no debe tener efectos adversos sobre los insectos, permitiendo verificar la idoneidad de las condiciones experimentales y la respuesta. Además, al ser una sustancia química estable, minimiza variables adicionales, facilitando una interpretación precisa de los resultados.

Negativo (Ninguno): Este control se emplea como garantía o referencia de comparación de resultados sobre la eficacia de los plaguicidas planteados como soporte de los efectos por

aplicación del plaguicida y no de otros factores del sistema, además de la validación de la técnica experimental (funcionamiento correcto de las variables dentro del sistema).

Para llevar a cabo la experimentación con grillos, inicialmente se ubican manualmente 10 espécimen de tamaño medio a adulto en cada caja donde se agregan 2 secciones de 4 compartimentos de cartón de huevo proporcionando refugio y adaptación natural al espacio. Para asegurar la hidratación se colocan 2 tapas de botella plásticas en las esquinas de la caja llenas hasta la mitad de agua y para la alimentación se cortan trozos de zanahoria fresca (rodajas finas no mayor a 2 mm) los cuales anteriormente se les retira la piel y se colocan en soportes de cartón, evitando el contacto con el suelo.

2.9.3. Aplicación del Plaguicida

Para la aplicación de los sistemas de control se cuantifica la cantidad de materia que atomizan estos envases realizando 30 muestras según la válvula que atomiza, adicional se encuentra la distancia idónea a la cual los atomizadores dispersen las diferentes sustancias cubriendo una un área total mayor al 20 % encontrando posibles puntos de exposición entre los grillos. Cada 12 h se atomizan las cajas asegurando una exposición controlada y constante.

Para evitar la contaminación los puntos de hidratación y alimentación se extraen de la caja una vez ésta vaya a ser atomizada, exponiendo los grillos a la absorción de las sustancias, pasado 5 minutos se devuelve la alimentación y el agua. El comportamiento de ellos se registra durante 3 h inmediato al momento de atomizar las sustancias de control evaluando su actividad y salud.

2.9.4. Monitoreo

Para evaluar el comportamiento de los grillos frente a un plaguicida biológico, el procedimiento implica observación continúa evaluando su estado de salud, comportamiento, actividad y mortalidad. Para de los siguientes criterios se generan parámetros precisos para diagnosticar el impacto del plaguicida:

- Frecuencia de observación: Se realizan observaciones en intervalos de 4h durante los próximos 9 días, duración para el análisis In Vivo fijando 2 franjas en la mañana, 1 en la tarde, 2 en la noche y 1 en la madrugada.
- Registro de su comportamiento: Los grillos se acondicionan en las cajas durante 48 horas antes de iniciar el experimento con el fin de registrar su estado de salud, actividad, canto,

movimiento, alimentación e hidratación. Seguidamente, durante el análisis se documenta su cambio de comportamiento, actividad motora, docilidad, estímulos y mortalidad.

- Estado físico: Se examina de manera visual signos de estrés, toxicidad, partes faltantes, letargo, o algún otro daño de rápida detección tomando como base el estado de salud en el que llegaron.
- Mortalidad: Se da registro documental y fotográfico del número de grillos muertos en cada intervalo de revisión. El índice se calcula y compara para determinar la eficacia del plaguicida a su vez que se grafica con los demás sistemas de control.
- Reporte: Toda la información es registrada día a día en una bitácora que se adjunta al detalle incluyendo gráficos, y tablas describiendo sus resultados.

3. RESULTADOS

Esta sección presenta y analiza los resultados obtenidos durante a lo largo de todo el proceso. Así mismo se divide en tres secciones, iniciando por la extracción etanólica, seguida por el análisis espectrofotométrico de los compuestos extraídos. Posteriormente, se describe la formulación del plaguicida utilizando el extracto etanólico. Finalmente se expone el análisis In Vivo del plaguicida formulado, evaluando la eficacia en un entorno controlado. Cada sección proporciona una visión integral del proceso y sus implicaciones.

3.1. Extracción etanólica de los esclerocios del *Claviceps Purpurea*

Esta sección detalla los resultados obtenidos durante el proceso de extracción a partir del método extracción por solventes utilizando solventes volátiles (Tabla No.1)

3.1.1. Rendimiento del extracto

Se realizan 9 muestras con una masa individual de 5g inicialmente, pasando por la primera fase hidróxido de amonio y éter etílico, seguida de la segunda fase ácido tartárico y éter etílico, para luego entrar un proceso de separación asistido con rotavapor al vacío junto en un sistema de cloroformo, agua y etanol, del cual su producto general extracto soluble en etanol pasando por un filtrado pesando la masa residual.

Para el extracto solubilizado en etanol nuevamente es asistido por el rotavapor ajustado en condiciones para extraer el etanol dejando extracto puro.

Tabla 9.

Registro de muestras durante el proceso de extracción.

Registro de muestras					
Muestra	Peso inicial (g)	Fase 1 (g)	Fase 2 (g)	Extracto filtrado (g)	Extracto puro (g)
m_1	4,9977	3,7689	3,8065	2,0253	0,4581
m_2	5,0002	4,5876	4,6127	2,3576	0,3998
m_3	4,9995	3,6547	3,7138	2,2451	0,4028
m_4	5,0010	4,5789	4,6258	3,5687	0,6694
m_5	5,0020	4,3580	4,4038	3,2046	0,5677

m_6	4,9978	4,4589	4,6129	3,1568	0,6012
m_7	4,9996	5,1354	5,3098	4,3541	1,0023
m_8	5,0006	5,1206	5,2654	4,2366	1,1024
m_9	4,9993	5,1277	5,1078	4,3647	1,0986

Nota. Fase 1. Etapa de extracción entre el hidróxido de amonio y éter etílico. **Fase 2.** Etapa de extracción entre el ácido tartárico y éter etílico. **Extracto filtrado.** Proceso posterior al sistema ternario cloroformo, agua y etanol en el rotavapor. **Extracto puro.** Producto de la extracción de etanol en el rotavapor.

Durante el proceso de extracción en la fase 1 y 2, se pierde masa debido a la columna de burbujas que precipita rápidamente debido al volumen de éter etílico presente, si no se tiene un sistema de temperatura controlada superando los 24 °C se genera desbordamiento del solvente en el recipiente dando pérdidas de rendimiento en el extracto puro. Para calcular el rendimiento se requiere la masa inicial al momento de empezar el proceso de extracción (m_i), masa del extracto puro extrayendo el etanol (m_{pi}) y la masa final que es el residuo sólido después del filtrado (m_{fi}).

Se calculan dos tipos de rendimiento siendo rendimiento (1) la cantidad de extracto en proporción al extracto sólido filtrado, y rendimiento (2) cantidad de extracto en proporción a la masa inicial.

Masa inicial (m_i)

Masa extracto puro (m_{pi})

Masa final (m_{fi})

$$\% \text{ Rendimiento (1)} = (m_{pi} / m_{fi}) * 100$$

$$\% \text{ Rendimiento (2)} = (m_{pi} / m_i) * 100$$

Ecuación 1. Cálculo de rendimiento

Tabla 10.

Resultados según el proceso de extracción.

Resumen de pesos			
<i>No. de muestra</i>	<i>Peso inicial (g)</i>	<i>Peso final (g)</i>	<i>Extracto puro (g)</i>
m_1	4,9977	2,0253	0,2581
m_2	5,0002	2,3576	0,1998

m_3	4,9995	2,2451	0,2028
m_4	5,0010	3,5687	0,6694
m_5	5,0020	3,2046	0,5677
m_6	4,9978	3,1568	0,6012
m_7	4,9996	4,3541	1,0023
m_8	5,0006	4,2366	1,1024
m_9	4,9993	4,3647	1,0986

Nota. Extracto obtenido según la muestra en comparación a su peso inicial y final.

Tabla 11.

Rendimientos.

Rendimiento según la muestra				
<i>No. de muestra</i>	<i>Rendimiento (1)</i>	<i>%</i>	<i>Rendimiento (2)</i>	<i>%</i>
m_1	0,1274	12,74	0,0562	5,62
m_2	0,0847	8,47	0,0399	3,99
m_3	0,0903	9,03	0,0406	4,06
m_4	0,1875	18,75	0,1338	13,38
m_5	0,1771	17,71	0,1135	11,35
m_6	0,1904	19,04	0,1203	12,03
m_7	0,2301	23,01	0,2004	20,04
m_8	0,2602	26,02	0,2204	22,04
m_9	0,2517	25,17	0,2196	21,96

Nota. **Rendimiento 1**, cociente entre la masa del extracto puro y la masa del peso final. **Rendimiento 2**, cociente entre la masa del extracto puro y la masa inicial.

3.1.2. Identificación fisicoquímica del extracto

Se identifican propiedades fisicoquímicas y organolépticas suficientes para comprender la naturaleza del extracto etanólico que posteriormente se formulara como plaguicida, las siguientes propiedades son:

- **Densidad:** La determinación de la densidad se realiza en 10 picnómetros de 10 ml cada uno, recopilados en la siguiente tabla.

Tabla 12.

Registro de densidad.

Registro de peso y determinación de densidad			
No. Picnómetro	Peso vacío (g)	Masa extracto (g)	Densidad (g/ml)
1	15,103	9,728	0,973
2	15,104	9,726	0,973
3	15,100	9,696	0,970
4	15,103	9,728	0,973
5	15,100	9,693	0,970
6	15,100	9,699	0,970
7	15,104	9,729	0,973
8	15,100	9,726	0,973
9	15,102	9,698	0,970
10	15,103	9,678	0,968

Nota. registro de densidad según un picnómetro de 10ml.

Se contabilizan las 10 muestras hallando la media estadística a través de la siguiente ecuación:

$$\text{densidad promedio} = \left(\sum_{i=1}^n \rho_i \right) / n$$

Ecuación 2. Cálculo densidad promedio

para $n = 10$ la densidad promedio es 0,9713 g/ml

- **Viscosidad:** Para la determinación de la viscosidad del extracto etanólico se dispone del equipo BROOKFIELD DV-E junto a la aguja No. 4 a 100 rpm, reporta 32 cP.
- **pH:** Para la determinación de pH se dispone de un potenciómetro calibrado en una solución neutra, se reporta un pH de 10,36
- **Color:** Según el identificador de colores en la web [86], nos muestra que el color más cercano es:

HEX: #9c1c22

RGB: (156,28,34)

Figura 29.

Color extracto etanólico.



Nota. Fotografía del color aparente del extracto etanólico.

- **Olor:** etanólico

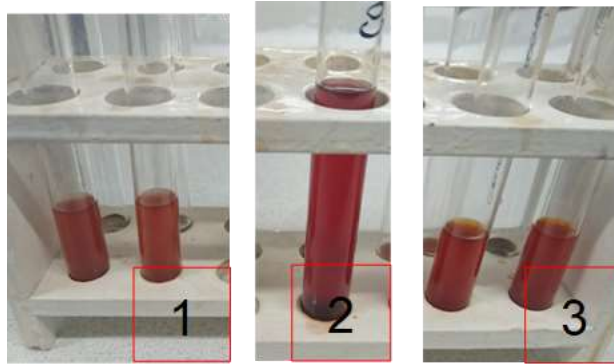
3.1.3. Análisis cualitativo de alcaloides

Debido a que el extracto etanólico fue previamente tratado con cloroformo, y tiene un pH alto (10,36) se toman 2 alícuotas de 10 ml de la muestra en dos tubos de ensayo diferentes junto a 10 ml de HCl al 1% en cada uno, en un Erlenmeyer hasta la mitad agua y junto a una plancha de calentamiento se imita el baño de maría donde se colocarán dos tubos, la temperatura de la muestra se registra alrededor de los 36 °C -38 °C cuando inicia el punto de burbuja ahí, se mantiene durante por 2 minutos. en dos tubos de ensayo distintos se toman alícuotas de 5 ml en cada una obteniendo un total de 4 muestras, a dos de ellas se les agrega 5 gotas de reactivo Wagner, el que se logra divisar un cambio de color a marrón o café confirmando la posibilidad de alcaloides dentro del extracto.

En los otros dos tubos de ensayo se toman 2 alícuotas de 5 ml de muestra junto a 3 gotas de reactivo Dragendorff, de igual forma con el reactivo Wagner se visibiliza una prueba positiva siendo para este caso un color anaranjado para confirmar la presencia de alcaloides.

Figura 30.

Análisis cualitativo.



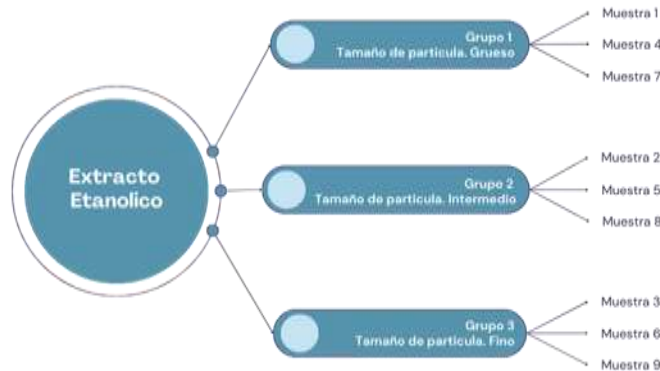
Nota. Fotografía, análisis cualitativo acerca de la presencia de alcaloides en el extracto, (1) Tratamiento con reactivo Wagner, (2) Tratamiento con reactivo Dragendorff, muestra control (3)

3.1.4. Análisis espectrofotométrico

Para esta sección se genera un tratamiento estadístico evaluando las 9 muestras según su tamaño de partícula (grueso, intermedio, fino), de modo que se obtienen 3 mediciones según su tamaño de partícula.

Figura 31.

Distribución de muestras según su tamaño de partícula.



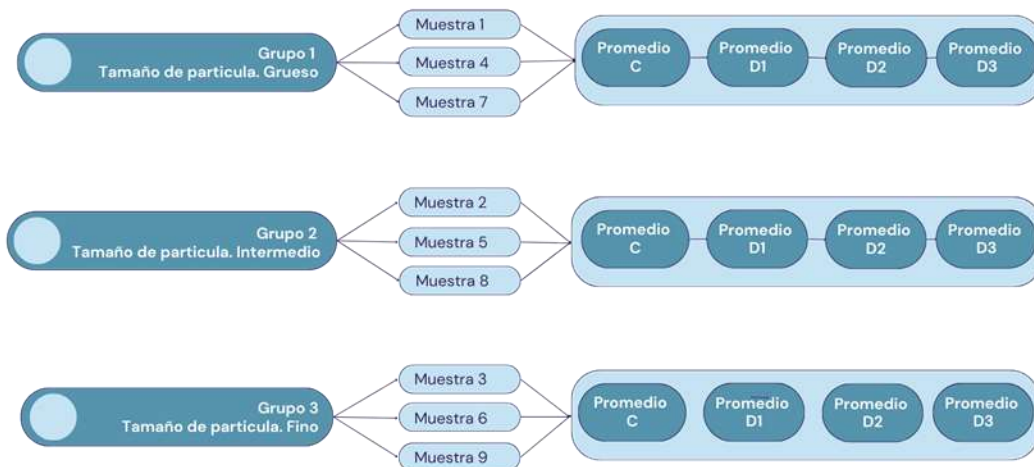
Nota. Segmentación de muestras según su tamaño de partícula, en grano grueso, intermedio y fino

Para cada muestra se toma una alícuota de 0,5 ml de extracto concentrado y en 3 tubos de ensayo, se diluye junto a 3 ml de etanol (Tubo 1), 6 ml de etanol (Tubo 2) y 9 ml de etanol (Tubo 3). Con esta dilución se genera un barrido espectral para cada extracto concentrado y conjunto de diluciones dentro del rango de longitud luz visible (325 nm a 1100 nm), obteniendo un total de 36 mediciones a partir de 3 mediciones según su tamaño de partícula y 4 según su concentración, cabe aclarar que estas 36 mediciones contemplan todos los datos del barrido (776). Debido a la similitud de resultados entre barridos de cada muestra se promedia la absorbancia según la clasificación

mencionada anteriormente, obteniendo así 4 gráficas por grupo según su dilución, siendo un total de 12 espectros para su posterior análisis.

Figura 32.

Tratamiento estadístico según su grupo.

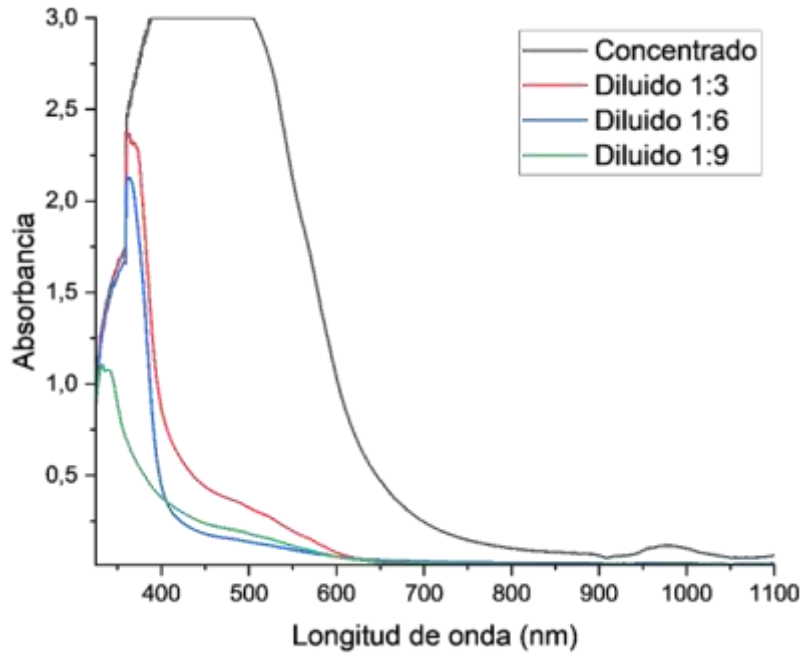


Nota. C: Extracto concentrado. D1: Dilución 1 0,5 ml extracto en 3 ml de etanol. D2: Dilución 1 0,5 ml extracto en 6 ml de etanol. D3: Dilución 3 0,5 ml extracto en 9 ml de etanol.

A continuación, se muestran los gráficos de absorbancia en función de longitud de onda, identificando compuestos para un rango de 350 nm a 450 nm.

Figura 33.

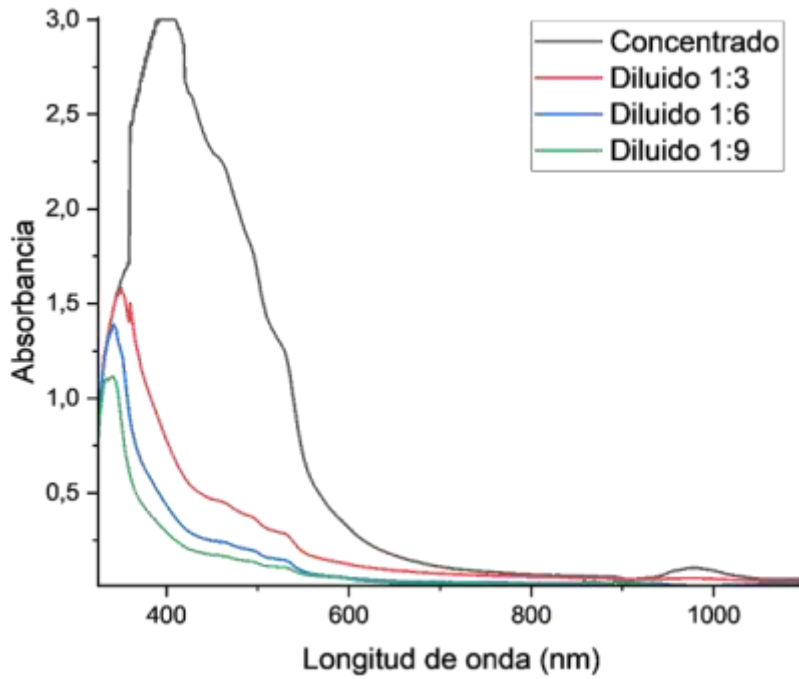
Espectro de absorción visible, Grupo 1 (Grueso).



Nota. Gráfico de barrido espectrofotométrico en la zona visible (325 nm a 1100 nm) para el grupo de partículas gruesas

Figura 34.

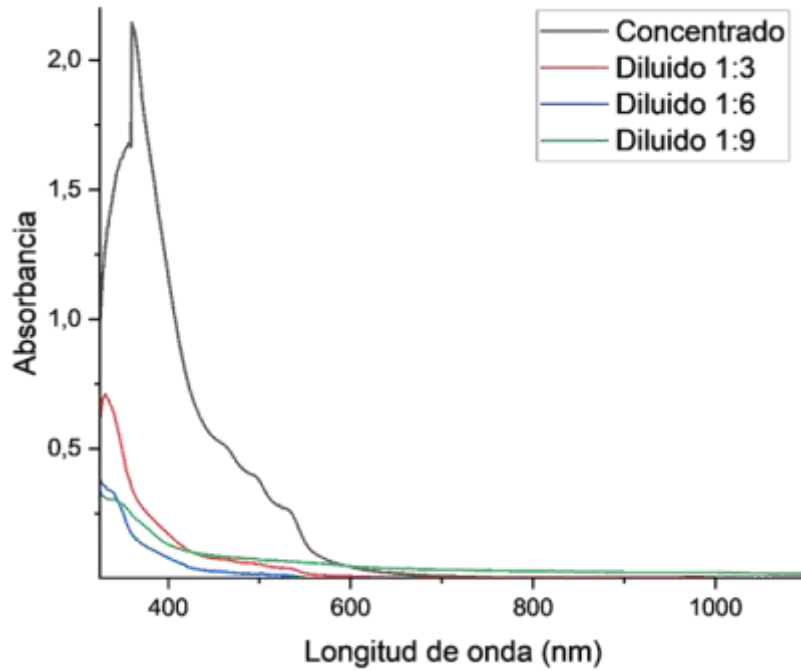
Espectro de absorción visible, Grupo 2 (Intermedio).



Nota. Gráfico de barrido espectrofotométrico en la zona visible (325 nm a 1100 nm) para el grupo de partículas intermedio

Figura 35.

Espectro de absorción visible, Grupo 3 (Fino).



Nota. Grafico de barrido espectrofotométrico en la zona visible (325 nm a 1100 nm) para el grupo de partículas fino.

3.2. Formulación del Plaguicida

3.2.1. Propiedades del Producto Final

- **Densidad:** La determinación de la densidad se realiza en 10 picnómetros de 10 ml cada uno, recopilados en la siguiente tabla.

Tabla 13.

Registro de densidad.

Registro de peso y determinación de densidad			
No. Picnómetro	Peso vacío (g)	Masa extracto (g)	Densidad (g/ml)
1	15,104	9,287	0,929
2	15,104	9,302	0,930
3	15,103	9,313	0,931
4	15,103	9,296	0,930
5	15,104	9,287	0,929

6	15,100	9,301	0,930
7	15,104	9,311	0,931
8	15,100	9,289	0,929
9	15,103	9,294	0,929
10	15,104	9,302	0,930

Nota. Se registro de 10 muestras hallando la media estadística.

Según Ecuación no.2 se calcula para $n = 10$ la densidad promedio es 0.930 g/ml

- **Viscosidad:** Para la determinación de la viscosidad del extracto etanólico se dispone del equipo BROOKFIELD DV-E junto a la aguja No. 4 a 100 rpm, reporta 60 cP.
- **pH:** Para la determinación de pH se dispone de un potenciómetro calibrado en una solución neutra, se reporta- un pH de 9,48
- **Color:** Según el identificador de colores en la web [86], nos muestra que el color más cercano es:

HEX: #e81e58

RGBA: (232,30,88,255)

Figura 36.

Color plaguicida formulado.



Nota. Color aparente del plaguicida formulado.

3.3. Análisis In Vivo

3.3.1. Diseño experimental

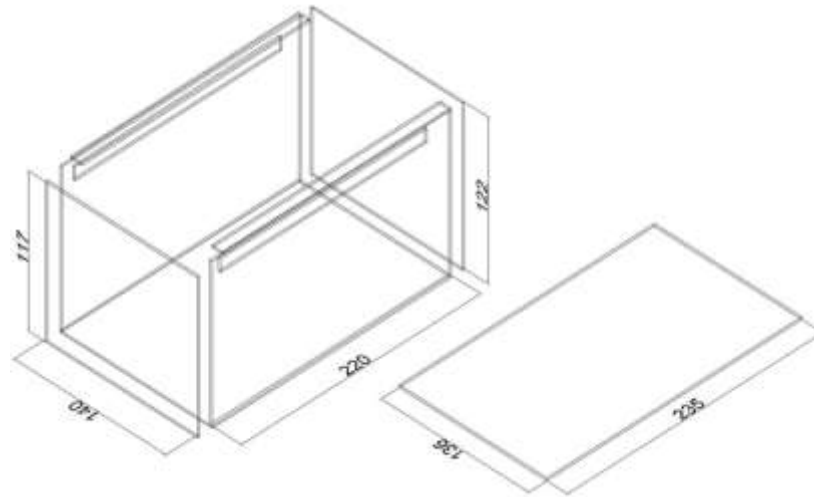
El comportamiento y actividad de los grillos, así como su tasa de mortalidad cada 2h es registrada en una bitácora para cada cámara, con información puntual de cada una de ellas. Su fuente de alimentación e hidratación son renovados cada dos días, el espacio para cada cámara de aislamiento se encuentre dentro de un cuarto teniendo un perfil de temperatura uniforme entre 16 °C a 19 °C temperatura ambiente, zona sur de Bogotá.

- Número de Repeticiones: El experimento se realizó con un total de 2 experimentos (1 repetición) por control, en el caso del plaguicida formulado se realizaron 4 experimentos (3 repeticiones) para asegurar la fiabilidad de los resultados.
- Ambiente del Experimento: El experimento se llevó a cabo en una habitación aislada, donde las condiciones ambientales como la temperatura, la humedad y la luz fueron lo más cercanas a un entorno real.
- Proveniencia de los Grillos: Los grillos utilizados en el experimento fueron obtenidos en Mercado Libre como venta de comida para animales salvajes y especializados en criaderos. Estos grillos fueron seleccionados y aclimatados durante una semana en las cámaras de aislamiento antes de iniciar el experimento.
- Comportamiento de los Grillos: Durante el experimento se registró diariamente la actividad motora de los grillos, se observó que estos insectos mostraban una respuesta consistente a la variación de la temperatura ambiental, a medida que la temperatura aumentaba, los grillos incrementaron la frecuencia de sus cantos. Así mismo, en condiciones de mayor estrés como la aplicación de insecticida tendían a ser más agresivos y a competir más intensamente por los recursos y el territorio para buscar escondite en los cubículos de la caja.
- Mortalidad: Se contabilizó el número de grillos muertos a intervalos regulares de tiempo (cada 4 horas) durante un período de 7 días y se calcula la tasa de mortalidad a partir de la cantidad inicial del experimento.
- Condiciones Ambientales del Lugar del Experimento: El experimento se realizó en un invernadero ubicado a una altitud de 2625 metros sobre el nivel del mar a presión atmosférica de 0,73 atm y temperatura ambiente media de 16 °C con un rango de variación de $\pm 5^{\circ}\text{C}$ con una humedad relativa estimada de 60% con un rango de variación de $\pm 5\%$.

3.3.1.a. Cámara de aislamiento. Se diseña un espacio adecuado para el desarrollo natural de la especie, asegurando el ingreso de la especie, extracción sencilla en su hidratación y alimentación y extracción de insectos muertos. Estos espacios al tener una superficie cristalina amplían las zonas observables en plenitud teniendo registro de su comportamiento y actividad durante el día y la noche.

Figura 37.

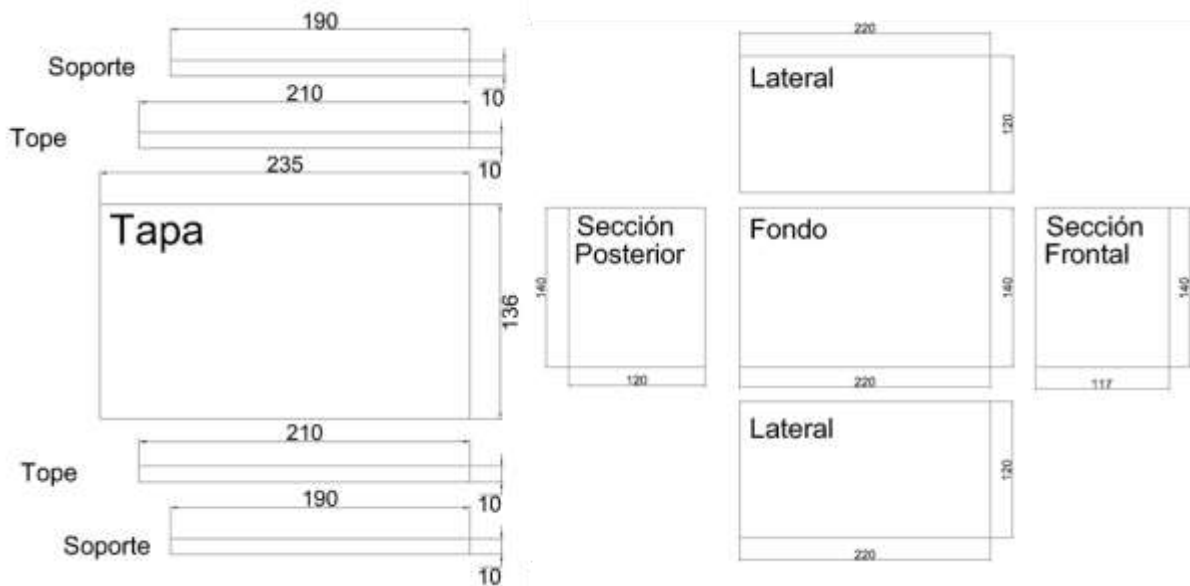
Modelo 3D cámara de aislamiento.



Nota. Modelo 3D cámara de aislamiento, escala 1:1 mm en AutoCAD.

Figura 38.

Cámara de aislamiento, tapa y accesorios.



Nota. Proporciones de la tapa y accesorios, escala 1:1 mm en AutoCAD.

Las cámaras de aislamiento se diseñaron con el objetivo de proporcionar un entorno de control seguro y supervisión continua de los ejemplares. Siendo un total de 10 cajas dentro de cada una se introducen 10 ejemplares.

3.3.1.b. *Válvula de atomización.* Para los 3 tipos de control se usan 3 tipos distintos de válvula de atomización, donde mediante 15 ensayos se promedia el peso evaluando la cantidad de masa que puede dosificar:

Tabla 14.

Registro de masa atomizada para la válvula 1.

Válvula 1	
No. ensayo	Peso (g)
1	2,03
2	2,03
3	2,03
4	3,01
5	3,00
6	2,67
7	1,99
8	1,99
9	2,56
10	2,03
11	1,97
12	2,34
13	3,02
14	2,79
15	1,96

Nota. Se registro de 15 muestras según la masa dispersada por la válvula 1.

Cantidad de ensayos (n)

Masa atomizada (m_i)

$$\text{masa promedio} = \left(\sum_{i=1}^n m_i \right) / n$$

Ecuación 3. *Cálculo masa promedio.*

Para $n = 15$ las masa promedio atomizada por la válvula 1 es 2.36 g.

Figura 39.

Válvula 1.



Nota. Fotografía, tipo de válvula 1

Tabla 15.

Registro de masa atomizada para la válvula 2.

Válvula 2	
No. ensayo	Peso (g)
1	0,77
2	0,79
3	0,8
4	0,72
5	0,75
6	0,82
7	0,74
8	0,76
9	0,75
10	0,8
11	0,83
12	0,84
13	0,81
14	0,85
15	0,81

Nota. Se registro de 15 muestras según la masa dispersada por la válvula 2.

Con base a la **Ecuación 3.** para $n = 15$ las masa promedio atomizada por la válvula 2 es 0,79 g.

Figura 40.

Válvula 2.



Nota. Fotografía, tipo de válvula 2

Tabla 16.

Registro de masa atomizada para la válvula 3.

Válvula 3	
No. ensayo	Peso (g)
1	0,083
2	0,091
3	0,079
4	0,080
5	0,081
6	0,076
7	0,091
8	0,089
9	0,088
10	0,090
11	0,078
12	0,083
13	0,086
14	0,087
15	0,090

Nota. Se registro de 15 muestras según la masa dispersada por la válvula 3.

Con base a la **Ecuación 3.** para $n = 15$ las masa promedio atomizada por la válvula 3 es 0,08 g.

Figura 41.

Válvula 3.



Nota. Fotografía, tipo de válvula 3

Para normalizar la cantidad de masa atomizada en cada válvula se toma de referencia la válvula 1 quién dispersa 2,36 g la mayor cantidad de masa, las veces que debe atomizar cada válvula son:

- **Válvula 1:** 1 vez.
- **Válvula 2:** 3 veces.
- **Válvula 3:** 28 veces.

Para calcular la cantidad de masa atomizada por hectárea según la ficha técnica de plaguicida Numetrin [82]

$$\text{Cultivo de arroz: } 0,5 \frac{L}{HA} = 500 \frac{ml}{Ha} \rightarrow \text{Cantidad } x m^2 = \frac{500 ml}{10000 m^2} = 0,05 \frac{ml}{m^2}$$

$$\text{Cultivo de maíz: } 0,25 \frac{L}{HA} = 250 \frac{ml}{Ha} \rightarrow \text{Cantidad } x m^2 = \frac{250 ml}{10000 m^2} = 0,025 \frac{ml}{m^2}$$

$$\text{Cultivo de tomate: } 0,35 \frac{L}{HA} = 350 \frac{ml}{Ha} \rightarrow \text{Cantidad } x m^2 = \frac{350 ml}{10000 m^2} = 0,035 \frac{ml}{m^2}$$

Dimensionando la masa mínima necesaria y utilizada:

$$\text{área caja} = 2 * (lw + hw + hl)$$

$$\text{área caja} = 2 * ((22 * 14) + (12 * 14) + (12 * 22)) \text{ cm}^2$$

$$\text{área caja} = 1480 \text{ cm}^2 \rightarrow 0,148 \text{ m}^2$$

$$X_{teórico} = 0,035 \frac{ml}{m^2}$$

$$Y_{teórico} = 0,148 \frac{m^2}{caja} * 0,035 \frac{ml}{m^2} = 0,00518 \frac{ml}{caja}$$

$$Y_{real} = 2,54 \frac{ml}{caja}$$

$$X_{real} = 2,54 \frac{ml}{caja} * \frac{1}{0,148} \frac{caja}{m^2} = 17 \frac{ml}{m^2}$$

3.3.2. Aplicación de sustancias de control

Para evaluar las sustancias dentro del experimentos se establecen 4 grupos de tratamientos: agua como control negativo, Numetrin 200 EC [82] como plaguicida comercial y control positivo, plaguicida formulado a partir de extracto etanólico del *Claviceps Purpurea* y un control sin tratamiento. Evitando perder ejemplares se abre la compuerta superior un 30 % - 40 % extrayendo las fuentes de hidratación y comida para evitar su contaminación. Posterior a 5 min se devuelven. La preparación para el Nutrien 200 EC [82], según el fabricante recomendando una disolución 1:1, siendo esto 1 ml de concentrado por 1 l de agua, se utilizarán 250 ml de plaguicida comercial para ello se calcula de la siguiente manera.

$$250 \text{ ml Plaguicida} \left(\frac{1 \text{ ml EC Numetrin}}{1000 \text{ ml Plaguicida}} \right) = 0,25 \text{ ml EC Numetrin}$$

0,25 ml de EC Numetrin junto a 249,75 ml de agua destilada dando un total de 250 ml en la preparación del plaguicida comercial.

Figura 42.

Plaguicida comercial, EC Numetrin.



Nota. Fotografía, Plaguicida comercial tipo emulsionante concentrado de Numetrin

3.3.3. Datos de comportamiento y mortalidad

Se usaron 110 ejemplares aproximadamente, al momento de adaptar las cámaras de aislamiento deben de gozar de luz natural evitando truncar su reloj natural y ventilación debido a que la formulación a partir de extracto etanólico del *Claviceps Purpurea* y el plaguicida comercial tiene olores particulares y al menos uno de ellos con indicaciones de peligro en inhalación prolongada. Se toman las primeras 48h para registrar su comportamiento natural, la etapa de adaptación de los grillos no se revela mayor comportamiento debido a que se mantuvieron escondidos, no se

observaba ningún movimiento o sonido durante este tiempo su fuente alimenticia se mostraba sin daños. Después de 36h transcurridas escucho la estimulación de ciertas cámaras, siendo parte del transcurso de la tarde e ingresó a la noche junto a grillos adultos yendo a fuentes de hidratación y pequeños espacios en las fuentes de alimentación mostrando actividad positiva en las cámaras.

Para su primera atomización las 4 cámaras de control a partir del plaguicida experimental los grillos expuestos se muestran erráticos saltando a los escondites de cartón de huevo y algunos otros derrumbándose boca arriba, ciertos ejemplares tuvieron contacto directo con el plaguicida quienes con sus propias patas expresaban el quitarse la sustancia. Para las 2 cámaras de control a base del plaguicida comercial los grillos se muestran distintos, ya saliendo de sus espacios se muestran más pasivos la actividad de ellos se muestra decaída sin tanto movimiento. Durante las primeras 3h hay indicios de ejemplares muertos, sin embargo, hay un comportamiento extraño en las cámaras de plaguicida experimental el cual los grillos estiran las patas posteriores extendiéndose y trayéndolas de manera seguida.

Para su segunda atomización el plaguicida comercial mantiene a los grillos en un estado de letargo, no se muestran zonas de alimentación nuevas en sus cámaras, logrando una mortalidad de 40% en total de las caras correspondientes, mientras que para el plaguicida experimental los grillos se observan en movimiento evitando los puntos donde se mantiene el plaguicida, logrando una mortalidad del 34% en total de las cámaras correspondientes, para los demás controles los grillos han salido a alimentarse de manera seguida escucho la estimulación más frecuentemente a lo largo del día.

Figura 43.

Muestra nutricional.



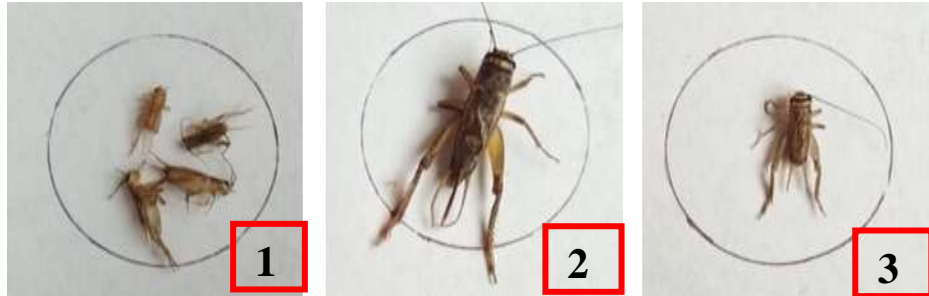
Nota. Fotografía, muestra nutricional al tercer día.

Para su tercera atomización el plaguicida comercial logra el 100 % de mortalidad en las caras respectivas evitando atomizar una tercera vez. Por otro lado el plaguicida experimental logra un 79 % de mortalidad en conjunto con las demás cámaras respectivas, no se evidencian zonas

mayores nuevas de alimentación. El plaguicida experimental logra el 100 % de su mortalidad antes de las 36 h de iniciado el experimento.

Figura 44.

Comparativo morfológico de la población de grillos.



Nota. Fotografía, morfología de grillos denotados como crías (1), adultos (2) y crecimiento (3).

Para las demás cámaras de aislamiento se ha incrementado la actividad de los grillos, moviéndose por los espacios del cartón de huevo, comiendo de manera progresiva, se han registrado 3 cadáveres a lo largo del experimento debido a su comportamiento caníbal, resulta un tanto incongruente ya que este es un comportamiento de condiciones extremas de escasez de alimento más durante el experimento este no fue el caso.

Tabla 17.

Registro de tasa de mortalidad en función del tiempo.

Tasa de mortalidad (%)				
	Tipo de control			
Tiempo (h)	Formulación	Plaguicida Comercial	Agua	Nada
0	0	0	0	0
2	0	0	0	0
4	13	15	0	0
6	18	25	0	0
8	18	25	0	0
10	23	30	0	0
12	33	30	0	0
14	33	50	0	0
16	38	65	0	0

18	38	65	0	0
20	45	65	0	0
22	45	80	0	0
24	55	100	5	0
26	70	100	5	0
28	88	100	5	0
30	93	100	5	5
32	100	100	5	5
34	100	100	5	5
36	100	100	5	5
38	100	100	5	5
40	100	100	5	5
42	100	100	5	5
44	100	100	5	15
46	100	100	5	15

Nota. Registro de la tasa de mortalidad según su tipo de control en intervalos de 2 h.

Tabla 18.

Registro de grillos muertos en función del tiempo

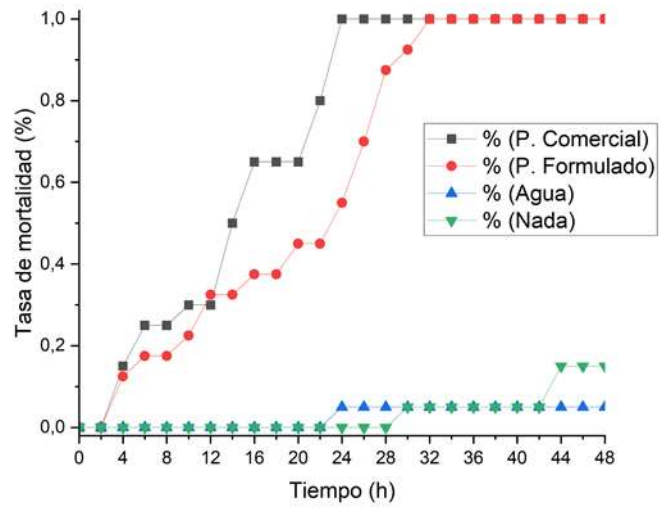
Grillos muertos (No. de individuos)				
	Tipo de control			
Tiempo (h)	Formulación	Plaguicida Comercial	Agua	Nada
0	0	0	0	0
2	0	0	0	0
4	5	3	0	0
6	7	5	0	0
8	7	5	0	0
10	9	6	0	0

12	13	6	0	0
14	13	10	0	0
16	15	13	0	0
18	15	13	0	0
20	18	13	0	0
22	18	16	0	0
24	22	20	1	0
26	28	20	1	0
28	35	20	1	0
30	37	20	1	1
32	40	20	1	1
34	40	20	1	1
36	40	20	1	1
38	40	20	1	1
40	40	20	1	1
42	40	20	1	1
44	40	20	1	3
46	40	20	1	3
48	40	20	1	3

Nota. Registro de la cantidad de grillos muertos según su tipo de control en intervalos de 2 h.

Figura 45.

Tasa de mortalidad en función del tiempo, según su componente de control.



Nota. Grafico comparativo de la eficiencia de los tipos de control en cada aplicado en la población de grillos.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Espectro Visible

Las gráficas de absorbancia obtenidas del extracto concentrado (Figura 2,6 y10) abarcan un rango de longitud de onda desde 325 nm hasta 1100 nm. En cada una de las tres se observa un pico significativo de absorbancia, con un valor máximo alrededor de 3 (exceptuando el extracto obtenido a partir del polvo fino el cual alcanzó una absorbancia máxima de 2,1) en el rango de 400 nm a 500 nm, luego se evidencia una disminución progresiva de esta propiedad, descendiendo de manera constante, casi estabilizándose en valores muy bajos (cerca de 0) desde aproximadamente 800 nm en adelante.

Ahora bien, el pico de absorbancia en la región de 400-500 nm sugiere que la sustancia absorbe fuertemente en esta parte del espectro, lo que podría estar asociado a la presencia de cromóforos que absorben en el rango visible azul-violeta. Este comportamiento es característico de ciertos colorantes y pigmentos orgánicos, así como de algunas nanopartículas metálicas como las de plata, es decir, después de los 500 nm la sustancia indica una menor capacidad de absorción en las longitudes de onda más largas (verde, amarillo, rojo e infrarrojo cercano) [87].

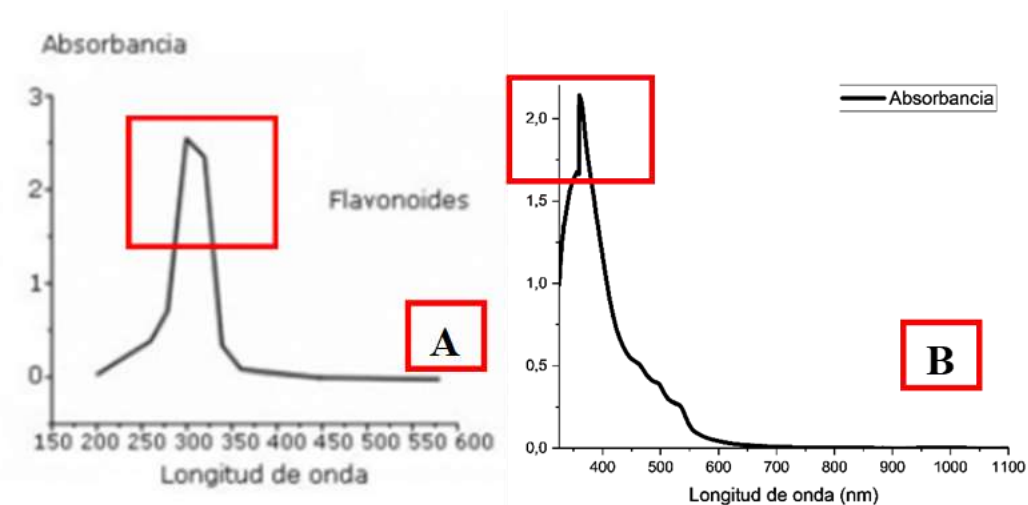
4.1.2. Interpretación de los picos de absorción

Según el perfil del extracto etanólico obtenido (*Claviceps Purpurea*) los cromóforos presentes pueden ser flavonas, flavonoles y antocianinas (los cuales son subgrupos de los flavonoides), conocidos como compuestos polifenólicos con la capacidad para absorber luz en el rango UV y visible, lo cual explica el poder evidenciar su pico característico en los espectros obtenidos entre 300 y 550 nm, estos compuestos son responsables de una amplia gama de colores de extractos vegetales dentro de los que destacan el rojo, púrpura y azul, y la combinación de estos tres compuestos pueden influir en la intensidad y estabilidad del color rojo actuando como copigmentos que estabilizan y evitan la degradación del color, esta descripción es coherente con el color observado del extracto (Figura 14). Cabe aclarar que, basándonos en la literatura científica disponible, no hay datos específicos que indiquen un porcentaje de flavonoides en *Claviceps Purpurea* dado que la mayor parte de la investigación sobre este hongo se ha centrado en sus alcaloides ergolínicos, sin embargo, estudios si demuestran su presencia [88,89].

Alineado con lo anterior, un estudio reciente [90] revela un análisis detallado, donde identificaron y caracterizaron una variedad de estos compuestos bioactivos en diferentes partes de la planta *Schinus molle L*, el espectro de absorción obtenido de flavonoides presentes presenta una proximidad frente al espectro obtenido del extracto etanólico concentrado del *Claviceps Purpurea* dadas las similitudes estructurales de la curva y absorción de la misma, pese que también se evidencian diferencias frente al máx. de longitud de onda que pueden ser ocasionadas por la fuente diferente del extracto, tratándose de una planta vs un hongo.(Figura 19).

Figura 46.

Barrido comparativo espectrofotométrico Uv-vis flavonoides Schinus molle.



Nota. Grafico comparativo de flavonoides presentes entre barrido espectrofotométrico. Uv-Vis del *Schinus molle* (A). Tomado de: A. Dimitrova, M. G. Di Milia, R. Rensi, S. Grassi, B. Gualco, y F. Vaiano, “Determination of lysergic acid diethylamide and 2-oxo-3-hydroxy-LSD in blood: Validation and comparison of two liquid chromatography–tandem mass spectrometry methods”, *Separations*, vol. 10, núm. 9, p. 502, 2023. y barrido espectrofotométrico visible del extracto del *Claviceps Purpurea* (B).

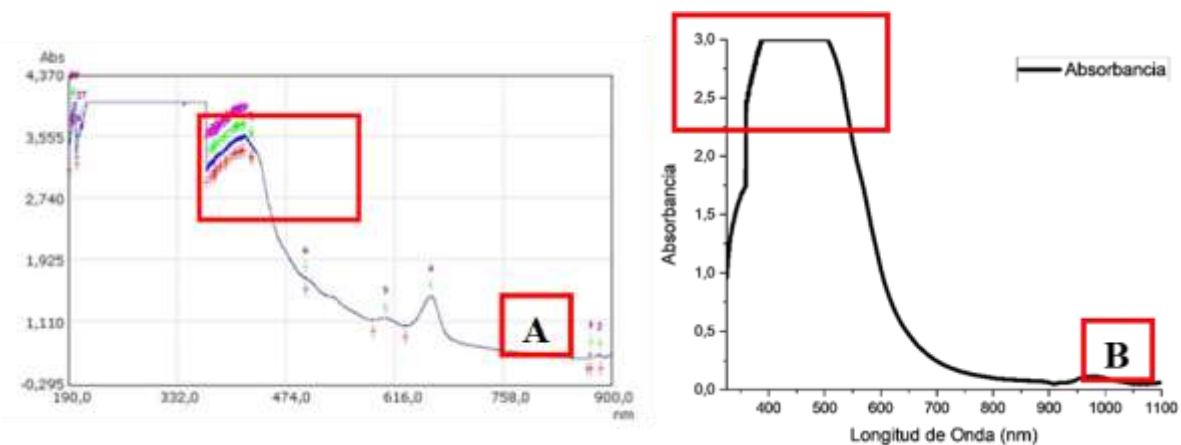
Por otro lado, hablando de los compuestos más estudiados del *Claviceps Purpurea*, los alcaloides, su rango de absorbancia el espectro UV-Vis esta reportado generalmente entre 200 y 400 nanómetros (nm) y se debe a la presencia de enlaces dobles conjugados y sistemas aromáticos en las moléculas que les confieren propiedades cromóforas [91], siendo congruente con los picos observados en los extractos etanólicos concentrados pese que pueden variar dependiendo de la estructura química específica de cada compuesto. Dentro de los más hallados en este hongo se encuentra la ergotamina y ergometrina, los cuales tienen un pico de absorción característico

alrededor de 250 y 280 nm en la región UV [92] y por lo tanto no es posible su análisis, pero respecto al ácido lisérgico, se evidencian picos de absorción en el rango visible (325 – 400 nm) pese que principalmente se compruebe su presencia en la región UV, este compuesto puede exhibir transiciones electrónicas que les permiten absorber en el visible cercano [93].

Comparado con un estudio [94] donde se realizó la espectroscopia UV-vis de los extractos secos de hojas, tallos y raíces de *M. lathyroides*, el espectro mostró máximos de absorción a longitudes de onda de 375, 384, 386, 390 y 392 nm, que evidencian la presencia de alcaloides, la curva y la gráfica es muy similar a la obtenida en el caso del extracto concentrado del polvo grueso.

Figura 47.

Barrido comparativo espectrofotométrico Uv-vis alcaloides M. lathyroides.

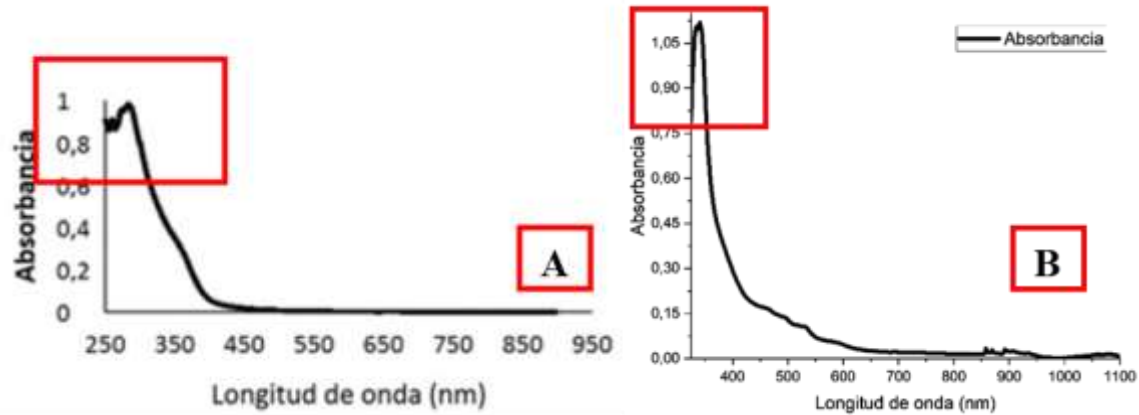


Nota. Grafico comparativo de alcaloides entre barrido espectrofotométrico. Uv-Vis del *M. lathyroides* (A). Tomado de: D. P. Fuentes, J. de la Trinidad López Fuentes, y G. C. Herrera, “Actividad antibacteriana in vitro de los extractos y las tinturas al 20 % de *Macroptilium lathyroides* (L.) Urban (maribari)”, *Rev. Cuba. Plantas Med.*, vol. 22, núm. 4, 2018. y barrido espectrofotométrico visible del extracto del *Claviceps Purpurea* (B).

Adicionalmente, analizando los espectros obtenidos de absorbancia en el extracto etanólico diluido (Figura 33,34 y 35), se puede observar un pico de absorbancia en la misma longitud de onda que el extracto concentrado, pero con diferencias en su porcentaje siendo entre 0,33 a 2,36 y comparado con el espectro de absorción de las hojas de *Phytolacca americana* [95], también se puede inferir la presencia de alcaloides por la similitud de resultado (Figura 21).

Figura 48.

Barrido comparativo espectrofotométrico Uv-vis alcaloides Phytolacca americana.



Nota. Grafico comparativo de alcaloides entre barrido espectrofotométrico. Uv-Vis del Phytolacca americana (A). Tomado de “Caracterización fitoquímica de las hojas de Phytolacca americana y determinación de su potencial antifúngico”, Unirioja.es. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7278574>.y barrido espectrofotométrico visible del extracto del Claviceps Purpurea (B).

Desde otra perspectiva, el análisis de las muestras mediante las pruebas de Wagner [96] y Dragendorff ha dado resultados positivos, confirmando la presencia de alcaloides. En la prueba de Wagner, al añadir el reactivo correspondiente al extracto de la muestra concentrada, se observó la formación de un color turbio marrón-rojizo (Figura 15). Este resultado es indicativo de la presencia de alcaloides, ya que estos compuestos reaccionan con el yoduro de potasio y el yodo del reactivo de Wagner, formando complejos insolubles que precipitan en esta coloración característica.

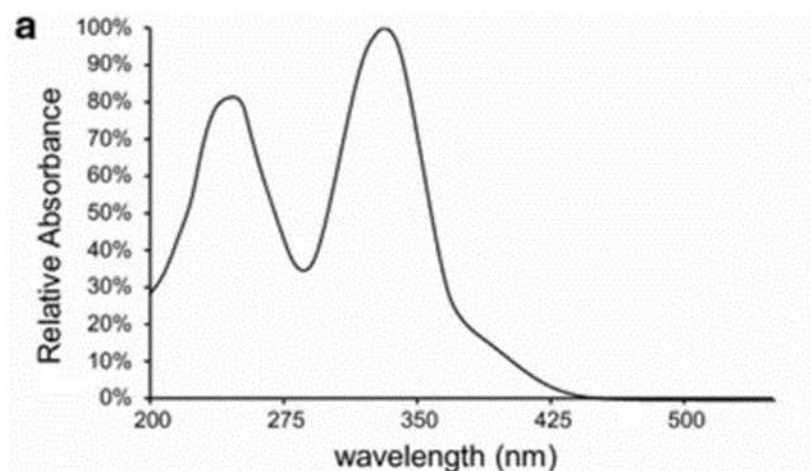
Asimismo, la prueba de Dragendorff [97] confirmó estos hallazgos, al añadir el reactivo de Dragendorff, que contiene yoduro de bismuto y ácido tartárico, se produjo una coloración rojizo naranja (Figura 15), lo cual refuerza la presencia de alcaloides formando complejos con el bismuto presente en el reactivo. La consolidación de los resultados positivos de marcha fitoquímica en ambas pruebas y el análisis de los espectros de absorción observados proporcionan una sólida evidencia de la presencia de alcaloides en las muestras analizadas.

En otro estudio, se pudieron detectar los pigmentos rojos endocrocina y clavorubina, así como señales prominentes del ácido ergocromo secalónico amarillo. La Figura 22 demuestra claramente la diferencia en las señales del pigmento amarillo a UV 332 nm entre el OE TF y el tipo salvaje.

Las señales marcadas a los 34, 35 y 36 min corresponden a un valor m/z de 637,1554, que coincide estrechamente con la masa teórica 637,1561 para los derivados del ácido secalónico en el modo de ionización negativa” [43] Esto complementa todo lo anteriormente mencionado, donde es posible que también el extracto se encuentre la presencia de este ácido.

Figura 49.

Barrido espectrofotométrico Uv-vis Claviceps Purpurea



Nota. Señal es absorción en búsqueda de alcaloides del *Claviceps Purpurea*. Tomado de: L. Neubauer, J. Dopstadt, H.-U. Humpf, y P. Tudzynski, “Identification and characterization of the ergochrome gene cluster in the plant pathogenic fungus *Claviceps Purpurea*”, *Fungal Biol. Biotechnol.*, vol. 3, núm. 1, 2016.

Finalmente, respecto a la diferencia de absorción entre los extractos etanólicos diluidos y los concentrados, esta puede ser consecuencia de que los compuestos activos se encuentran en una menor concentración y esto reduce la cantidad de moléculas disponibles para interactuar con la luz. También, el etanol puede interactuar con estos compuestos, alterando su estructura y estabilidad, afectando su capacidad de absorción en determinadas longitudes de onda o la presencia de compuestos adicionales pueden competir y alterar las propiedades de los compuestos activos, reduciendo la absorbancia global del extracto [98], sin embargo, en las 4 concentraciones propuestas por cada grupo definido según el tamaño de partícula, se infiere la presencia de flavonoides y alcaloides en el extracto etanólico los cuales se asume que son el compuesto activo del plaguicida formulad

4.2. Eficacia del Plaguicida

Inicialmente, según la gráfica No.14 la tasa de mortalidad de grillos varía en función del tiempo (hasta 36 horas) para dos tipos de controles positivos: el plaguicida comercial (Numetrin) y el plaguicida experimental (a partir de *Claviceps Purpurea*). Los resultados obtenidos evidencian que la formulación es un tratamiento eficaz, alcanzando una mortalidad total de 40 grillos en 48 horas. El plaguicida comercial, tiene un impacto similar, con 30 grillos muertos en el mismo período. Los tratamientos con agua y sin tratamiento apenas afectan la mortalidad, con solo 3 y 1 grillos muertos, respectivamente. Estos resultados sugieren que la formulación tiene un impacto rápido y sostenido en la población de grillos en comparación con el plaguicida comercial, mientras que los tratamientos con agua y sin tratamiento no son efectivos, lo cual era de esperarse por lo que son negativos.

4.2.1. Tasa de Mortalidad Inicial

- Ambas tasas de mortalidad empiezan a aumentar a partir de las 3 horas.
- El plaguicida comercial muestra un aumento más rápido en la tasa de mortalidad inicial.

4.2.2. Comparación de Efectividad

- Hasta las 18 horas, las tasas de mortalidad de ambos plaguicidas son comparables.
- A partir de las 18 horas, el plaguicida comercial experimenta un incremento más pronunciado, alcanzando cerca del 90% de mortalidad a las 27 horas.
- El plaguicida experimental, aunque efectivo, muestra una tasa de mortalidad ligeramente menor en comparación con el plaguicida comercial durante el mismo periodo.

4.2.3. Tendencias Generales

- Después de las 27 horas, ambos tratamientos alcanzan una tasa de mortalidad que se aproxima al 100%, pero el plaguicida comercial lo logra de manera más consistente y rápida.
- Los datos sugieren que, aunque ambos tratamientos son efectivos, el plaguicida comercial tiende a tener un efecto más rápido en términos de tasa de mortalidad en las primeras horas de aplicación. Esta observación puede indicar que el plaguicida comercial tiene una fórmula más potente o un modo de acción más inmediato por su compuesto activo (Cipermetrina). En comparación, el plaguicida experimental parece ofrecer una mortalidad ligeramente más lenta, pero también llega a una tasa alta de efectividad en el tiempo observado.

Comparando estos resultados con estudios similares, encontramos consistencia con investigaciones que demuestran la eficacia superior o similar de formulaciones específicas sobre

los plaguicidas comerciales. Por ejemplo, una investigación [99] encontró que las formulaciones biológicas basadas en extractos naturales tenían una mayor tasa de mortalidad en plagas agrícolas en comparación con los plaguicidas comerciales, que mostraron una eficacia moderada. Asimismo, un estudio reciente [100] sobre el uso de tratamientos de agua en el control de plagas subrayó su baja efectividad, confirmando que métodos no químicos o naturales tienden a ser significativamente menos eficaces que las formulaciones especializadas. La formulación a partir del extracto etanólico del *Claviceps Purpurea* aparentemente es apta para usar en contextos agrícolas o domésticos donde la rapidez y efectividad del control de plagas puede ser significativa.

Cabe destacar también que un estudio reciente demuestra que las estrategias de control biológico no sólo son efectivas sino también más sostenibles y menos dañinas para el medio ambiente [101,102]. Además, la adopción de biopesticidas en la agricultura sostenible está en aumento debido a su impacto positivo en el medio ambiente y la salud humana, alineándose con los objetivos de desarrollo sostenible.

4.3. Diseño conceptual del proceso productivo de plaguicida a base de extracto etanólico a partir de *Claviceps Purpurea*

Figura 50.

Diagrama de bloques simplificado, proceso productivo del plaguicida.



Nota. Proceso productivo del plaguicida a base de *Claviceps Purpurea*.

Para llevar a cabo el diseño conceptual se divide el proceso en 4 diferentes etapas:

- **Etapa de tratamiento:** Se inicia desde la incorporación de trigo sucio como materia prima donde se selecciona y capta cada componente de esclerocio perteneciente al *Claviceps Purpurea*, posteriormente pasa a un proceso de molienda donde se busca un tamaño de partícula mayor a 2mm.
- **Etapa de extracción Líquido - Líquido:** Se ingresa lo obtenido en la molienda a reaccionar con hidróxido de amonio para posteriormente se separa del proceso conjunto a extracción de compuestos orgánicos no polares presentes en la muestra en ayuda del éter etílico, hasta llegar a una muestra seca. Lo obtenido pasa por un proceso de reacción con el ácido tartárico al 1%

P/V, el cual se separa del proceso posteriormente separar los compuestos orgánicos no polares con éter etílico, dejando la mayor parte de compuestos polares en la muestra.

- **Etapa de purificación:** La muestra previamente tratada se conoce como extracto de compuestos orgánicos altamente polares, el cual es mezclado con en cloroformo y etanol, para posteriormente separar compuestos no polares junto al cloroformo dejando el residuo constituido por sólidos reaccionados de los esclerocios y compuestos orgánicos polares diluidos en etanol. donde por medio de una filtración se purifica el concentrado de extractos obtenidos en etanol.
- **Etapa de formulación:** El extracto disuelto en etanol obtenido pasa por una primera unidad de mezclado siendo esta quien tendrá estearato de sodio el cual actúa como emulsionante, de manera simultánea se están mezclando de manera aparte los componentes no polares de base oleosos. Ambos componentes se homogenizan en un solo mezclador para luego llevar a un enfriamiento progresivo hasta llegar a temperatura ambiente, este será el indicativo para poner envasar, etiquetar y almacenar el producto final.

4.3.1. Balance de masa

Suposiciones Balance de materia:

- **Estado estacionario:** El sistema opera en estado estacionario, lo que significa que las concentraciones de los reactivos y productos no cambian con el tiempo.
- **No hay acumulación:** No hay acumulación de material dentro del reactor, es decir, la cantidad de material que entra es igual a la cantidad de material que sale.
- **Reacción completa:** La reacción química del ácido tartárico se considera completa, lo que significa que todos los reactivos se convierten en productos.
- **Sistema cerrado:** El sistema es cerrado, sin pérdidas de material debido a fugas o evaporación.
- **Condiciones ideales:** Las condiciones de operación son ideales, con temperatura y presión constantes.
- **Equilibrio de Evaporación:** Se supone que los solventes en el sistema alcanzan un equilibrio dinámico entre las fases líquida y vapor. Esto significa que la tasa de evaporación del solvente es igual a la tasa de condensación.
- **Solventes Volátiles:** Se considera que solo los solventes volátiles (aquellos con alta presión de vapor a la temperatura de operación) contribuyen significativamente a la evaporación. Los

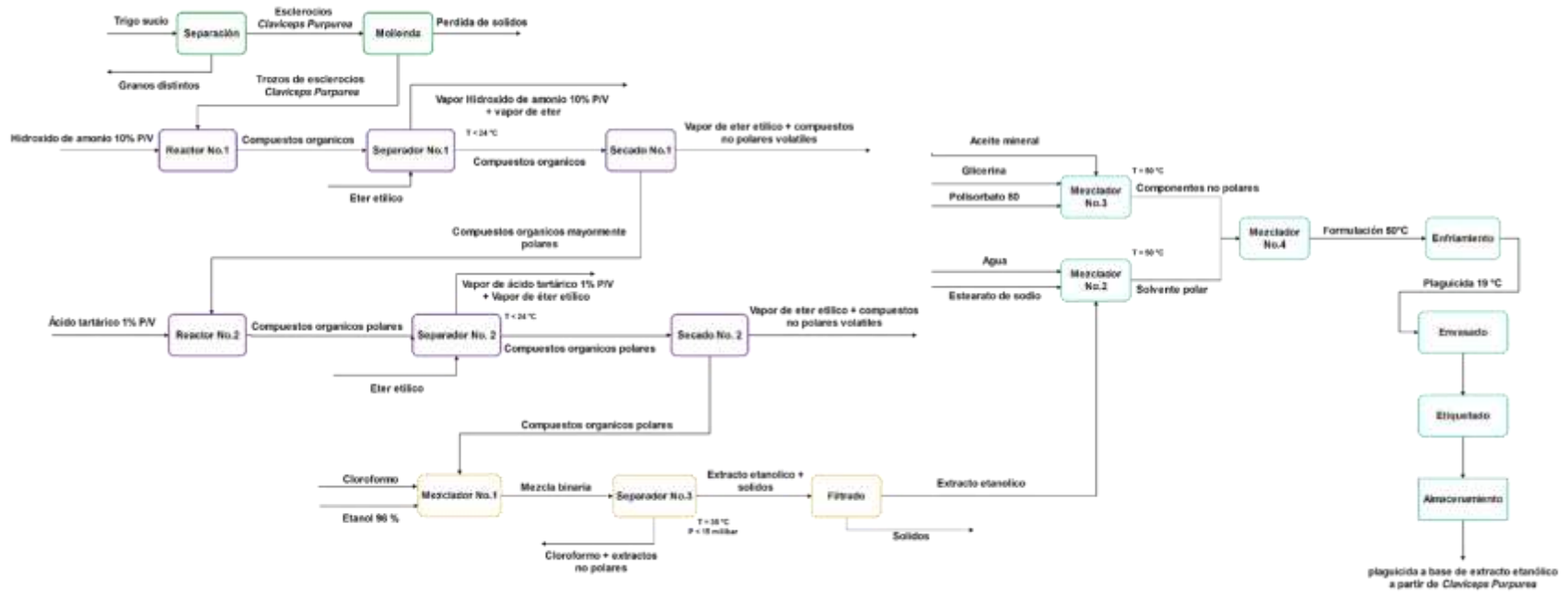
solventes con baja presión de vapor se asumen como no evaporados en cantidades significativas.

- **Fugas y Pérdidas:** No hay pérdidas significativas de solventes debido a fugas o volatilización
- **Condiciones de Operación Constantes:** Las condiciones de temperatura y presión del reactor son constantes, lo que permite suponer que las concentraciones de los solventes en la fase vapor también son constantes durante la operación.
- **Sin Interacciones Químicas:** Los solventes evaporados no reaccionan químicamente con otros componentes del sistema durante la evaporación. Permanecen en su forma original

4.3.2. Diagrama de flujo de bloques (FBD)

Figura 51.

Diagrama de flujo de bloques (FBD), proceso productivo.



Nota. Proceso productivo del plaguicida a base de Claviceps Purpurea segmentado en 5 etapas.

Para manejar y recuperar vapores de reactivos como éter etílico y cloroformo, es fundamental considerar tanto la eficiencia de recuperación como la seguridad debido a la naturaleza inflamable y tóxica de estos compuestos. Se sugiere:

Condensación y Recuperación de Vapores:

- **Condensadores de Superficie:** Utiliza intercambiadores de calor para condensar los vapores. Debido a los puntos de ebullición relativamente bajos de estos compuestos, la refrigeración debe ser eficiente. El éter etílico condensa a aproximadamente 34,6°C y el cloroformo a 61,2°C.
- **Condensadores Criogénicos:** Si la condensación a temperaturas normales no es suficiente, los condensadores criogénicos pueden ser empleados para asegurar una recuperación eficiente.

Almacenamiento de Líquidos Condensados:

- **Tanques de Almacenamiento Seguros:** Almacenar los líquidos recuperados en tanques adecuados con sistemas de seguridad para prevenir fugas e incendios. Estos tanques deben estar equipados con sistemas de contención secundaria y ventilación adecuada.
- **Recirculación al Proceso:** Los líquidos recuperados pueden ser purificados, si es necesario, y recirculados de vuelta al proceso como reactivos.

Tratamiento de Gases No Condensables:

- **Scrubbers:** Utilizar sistemas de lavado de gases para eliminar cualquier residuo de vapor que no haya sido condensado.
- **Sistemas de Adsorción:** Emplear carbón activado u otros materiales adsorbentes para capturar vapores residuales. Estos sistemas pueden ser útiles para concentraciones bajas de vapor en el gas de escape.

Posibles Recirculaciones y Reutilización:

- **Destilación:** Los líquidos recuperados pueden ser destilados para purificación antes de ser reutilizados en el proceso. Esto es especialmente importante si los reactivos se contaminan durante el proceso.
- **Reintroducción al Proceso:** Una vez purificados, el éter etílico y el cloroformo pueden ser recirculados y reintroducidos en las etapas del proceso donde son necesarios.

Recirculación en Sistemas de Seguridad y Control:

- **Monitoreo y Control:** Implementar sistemas de monitoreo continuo para medir las concentraciones de vapores en el aire y asegurar que los sistemas de recuperación y tratamiento estén funcionando adecuadamente.
- **Sistemas de Emergencia:** Instalar sistemas de detección y supresión de incendios específicos para compuestos volátiles e inflamables como el éter etílico.

Tratamiento de Efluentes Líquidos:

- **Tratamiento de Aguas Residuales:** Si los reactivos se mezclan con agua u otros líquidos, es necesario un tratamiento adecuado antes de la descarga. Los sistemas de separación de fases y tratamiento de aguas residuales pueden ser necesarios.

Para los cálculos adicionales en operaciones unitarias se utilizan las siguientes ecuaciones. Para balance general:

$$\text{Masa de entrada} = \text{Masa de salida} \quad (1)$$

$$\sum_{i=1}^n m_{e,i} = \sum_{i=1}^n m_{s,i} \quad (2)$$

Para balance por componente específico.

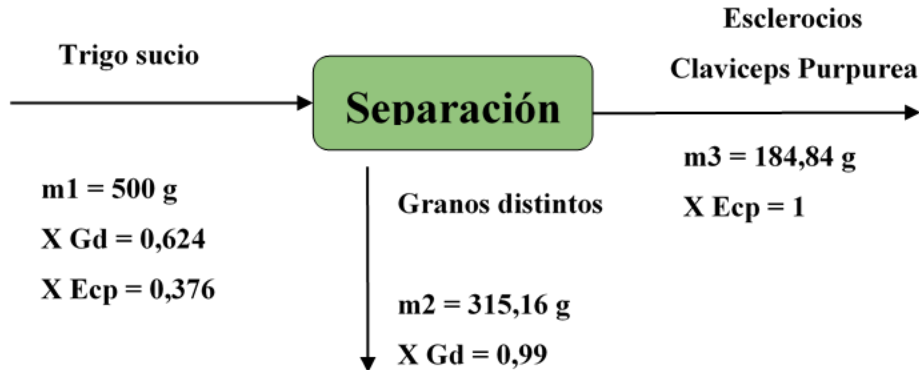
$$\sum_{i=1}^n (m_{e,i} x_{e,m_i}) = \sum_{i=1}^n (m_{s,i} x_{s,m_i}) \quad (3)$$

Etapas de tratamiento:

- **Operación unitaria “Separación”.**

Figura 52.

Operación de Separación.



Nota. Este proceso inicia desde el ingreso de trigo sucio bajo una muestra de 500 g separando granos distintos que no interesan en el proceso y la materia prima de interés que es el hongo Claviceps Purpurea.

Tabla 19.

Balance de materia, separación.

Balance de materia			
Componente	Número de corriente		
	Entrada	Salida	
	m_1 (g)	m_2 (g)	m_3 (g)
Esclerocios Claviceps Purpurea	188	3,16	184,84
Granos distintos	312	312,00	0,00
Total (g)	500	315,16	184,84

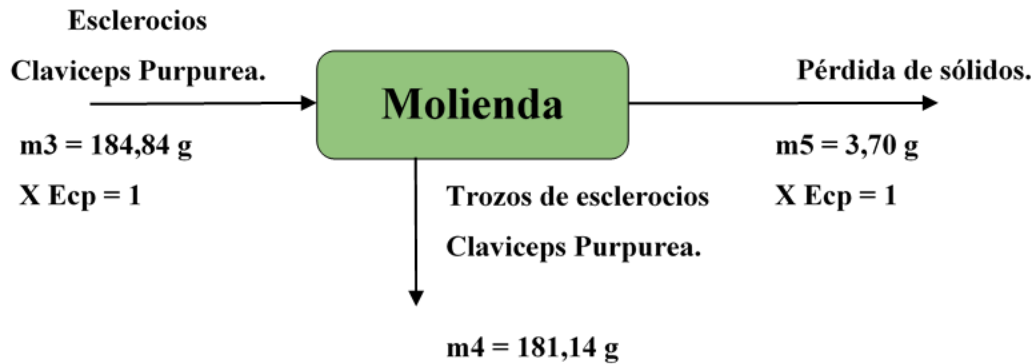
Nota: Se hace un balance de masa donde se interesa la materia prima clave siendo el hongo Claviceps Purpurea.

- **Operación unitaria “Molienda”.**

El proceso de molienda se hace de se lleva a cabo con un molino manual de grano, el proceso obtuvo una pérdida de material del 2% sobre la cantidad total ingresada.

Figura 53.

Operación de molienda.



Nota. en la molienda ingresa únicamente esclerocios de *Claviceps Purpurea*.

Tabla 20.

Balance de materia, molienda.

Balance de materia			
Componente	Número de corriente		
	Entrada	Salida	
	<i>m3</i> (g)	<i>m4</i> (g)	<i>m5</i> (g)
Esclerocios <i>Claviceps Purpurea</i>	184,84	181,14	3,70
Total (g)	184,84	181,14	3,70

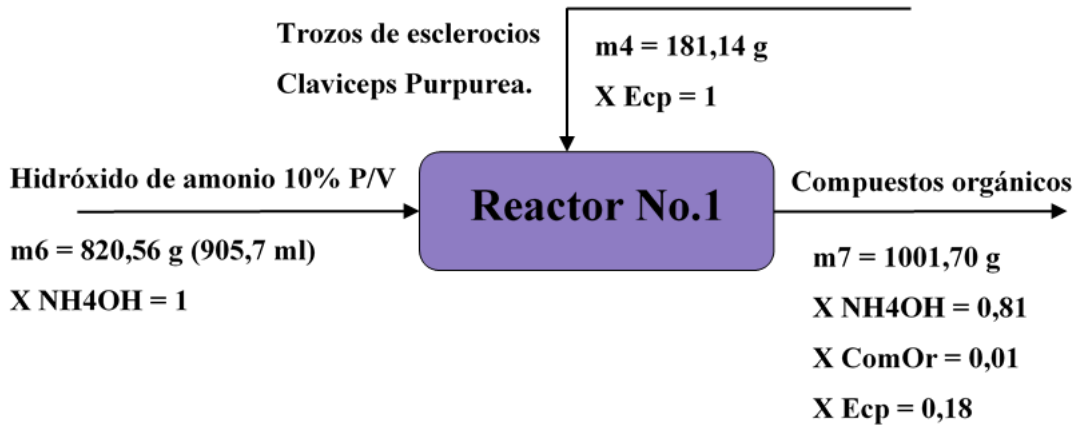
Nota. Este proceso solo disminuye el tamaño de partícula.

Etapa de extracción Líquido - Líquido:

- **Proceso unitario “Reactor No.1”.**

Figura 54.

Proceso unitario, Reactor 1



Nota. Para el primer reactor se ingresa hidróxido de amonio al 10% junto a los esclerocios de Claviceps Purpurea.

Tabla 21.

Balance de materia, reactor 1.

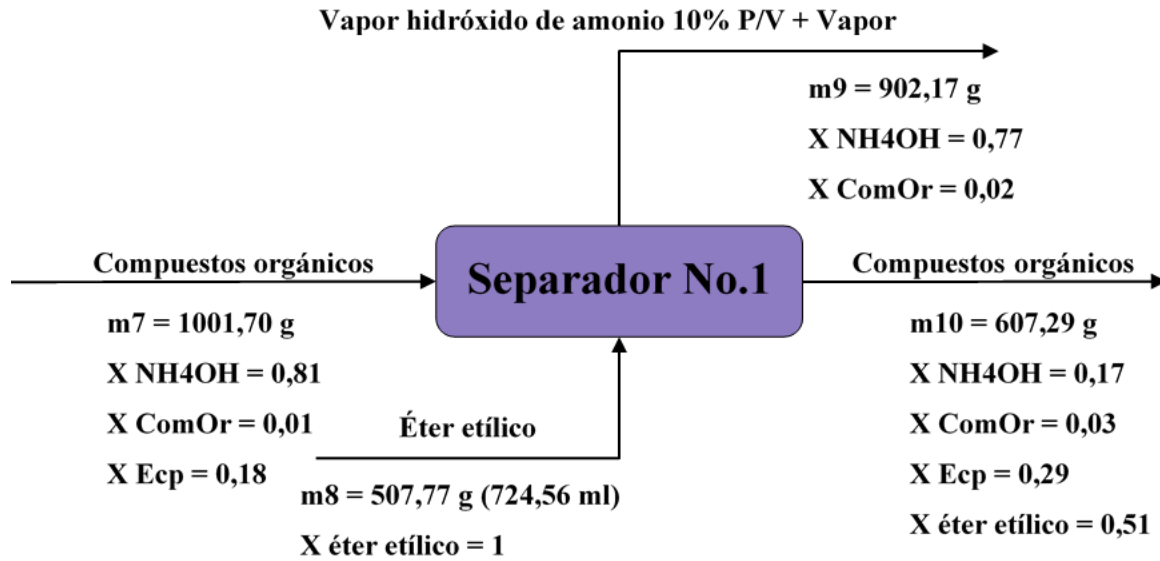
Balance de materia			
Componente	Número de corriente		
	Entrada		Salida
	<i>m4</i> (g)	<i>m6</i> (g)	<i>m7</i> (g)
Esclerocios <i>Claviceps Purpurea</i>	181,14	0,00	181,14
Hidróxido de amonio (NH ₄ OH)	0,00	820,56	804,64
Compuestos orgánicos (ComOr)	0,00	0,00	15,92
Total (g)	181,14	820,56	1001,7

Nota. Primer reactor, se deja reaccionar los esclerocios junto al hidróxido de amonio.

- Operación unitaria “Separador No.1”.

Figura 55.

Operación unitaria, separador 1.



Nota. Para el primer separador se mantiene la composición de la salida de reactor en conjunto a éter etílico.

Tabla 22.

Balance de materia, separador 1.

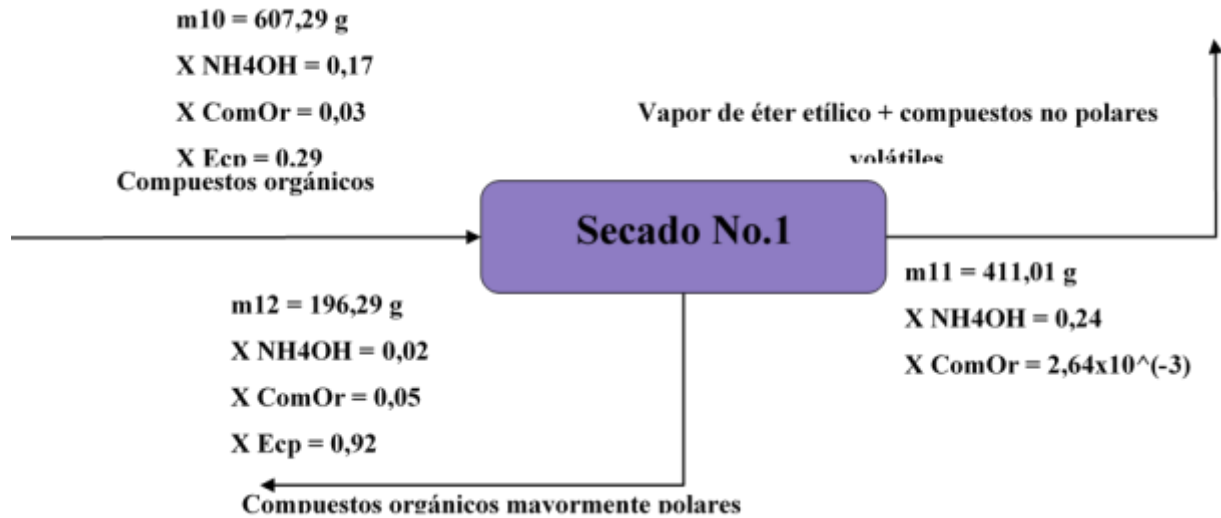
Balance de materia				
Componente	Número de corriente			
	Entrada		Salida	
	m7 (g)	m8 (g)	m9 (g)	m10 (g)
Esclerocios <i>Claviceps Purpurea</i>	181,14	0,00	0,00	181,14
Hidróxido de amonio (NH4OH)	804,64	0,00	700,04	104,60
Compuestos orgánicos (ComOr)	15,92	0,00	6,04	9,88
Éter etílico (Éter etílico)	0,00	507,77	196,10	311,66
Total (g)	1001,70	507,77	902,18	607,29

Nota. Compuestos orgánicos reaccionados salgan con el solvente volátil que es el éter etílico.

- Operación unitaria “Secado No. 1”.

Figura 56.

Operación unitaria, secado 1.



Nota. Operación unitaria, secado 1.

Tabla 23.

Balance de materia, secado 1.

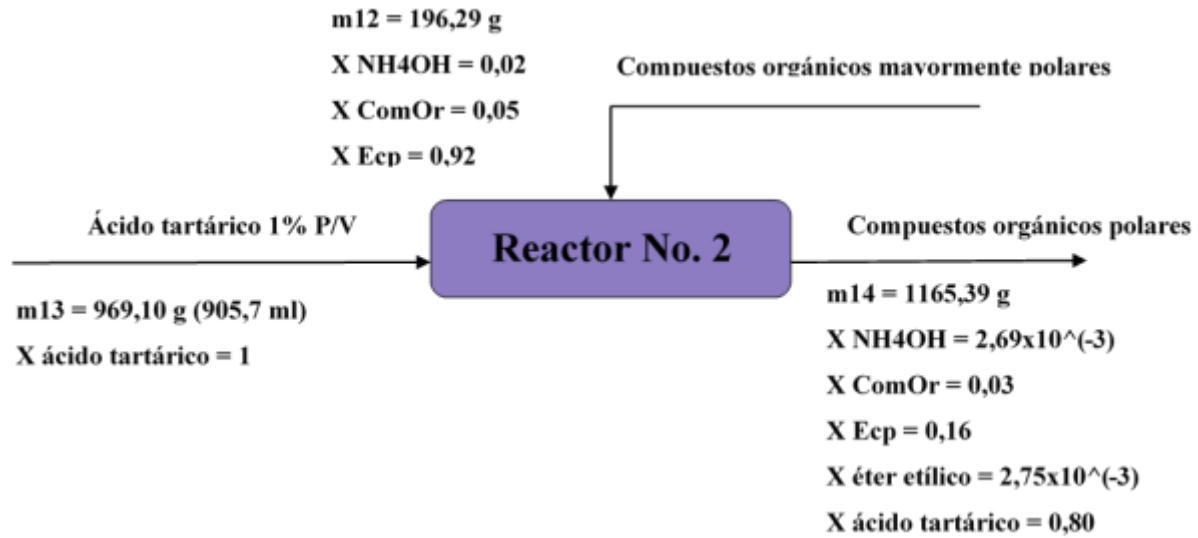
Balance de masa			
Componente	Número de corriente		
	Entrada	Salida	
	m10 (g)	m11 (g)	m12 (g)
Esclerocios <i>Claviceps Purpurea</i>	181,14	0,00	181,14
Hidróxido de amonio (NH ₄ OH)	104,60	101,46	3,14
Compuestos orgánicos (ComOr)	9,88	1,09	8,79
Éter etílico (Éter etílico)	311,66	308,46	3,21
Total (g)	607,29	411,01	196,28

Nota. Balance de materia, secado 1.

- Proceso unitario “Reactor No.2”.

Figura 57.

Proceso unitario, reactor 2.



Nota. Proceso unitario, reactor 2.

Tabla 24.

Balance de materia, reactor 2.

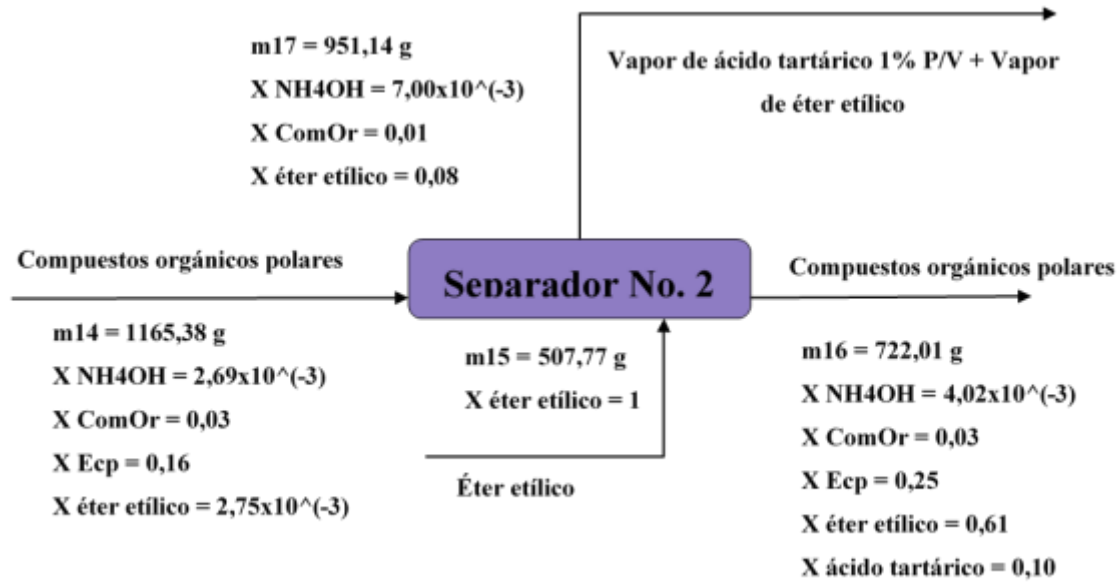
Balance de materia			
Componente	Número de corriente		
	Entrada		Salida
	m12 (g)	m13 (g)	m14 (g)
Esclerocios <i>Claviceps Purpurea</i>	181,14	0,00	181,14
Hidróxido de amonio (NH4OH)	3,14	0,00	3,14
Compuestos orgánicos (ComOr)	8,79	0,00	37,87
Éter etílico (Éter etílico)	3,21	0,00	3,21
Ácido tartarico (acido tartarico)	0,00	969,10	940,02
Total (g)	196,28	969,10	1165,38

Nota. Balance de materia, reactor 2.

- Proceso unitario “Separador No.2”.

Figura 58.

Proceso unitario, separado 2.



Nota. Proceso unitario, separado 2

Tabla 25.

Balace de materia, separador 2.

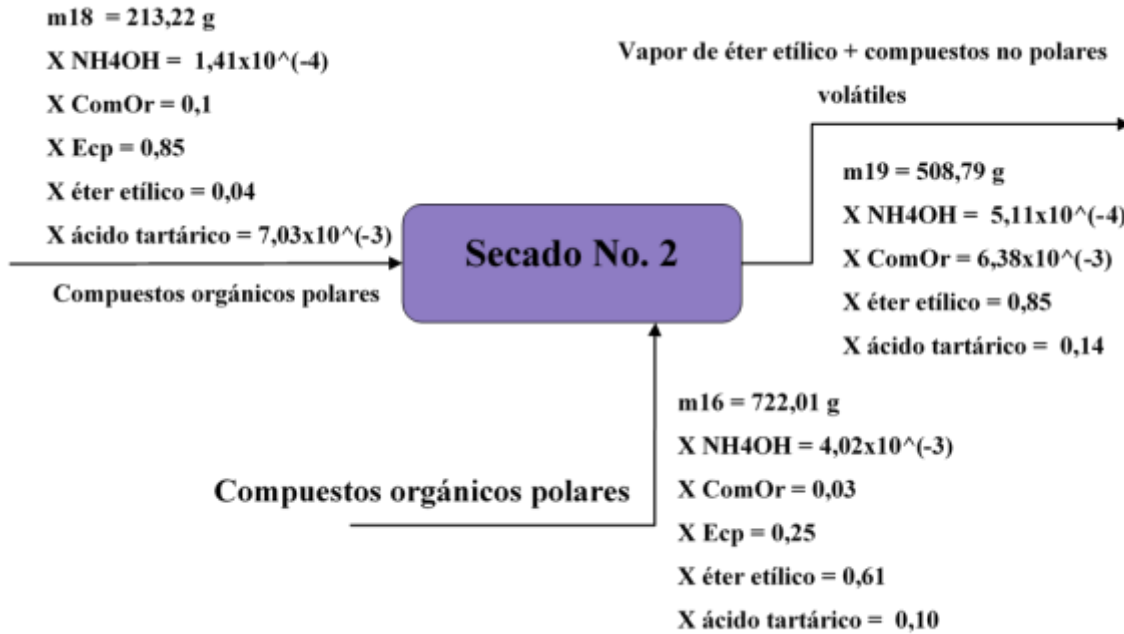
Balance de materia				
Componente	Número de corriente			
	Entrada		Salida	
	$m14 \text{ (g)}$	$m15 \text{ (g)}$	$m16 \text{ (g)}$	$m17 \text{ (g)}$
Esclerocios <i>Claviceps Purpurea</i>	181,14	0,00	181,14	0,00
Hidróxido de amonio (NH ₄ OH)	3,14	0,00	0,29	2,86
Compuestos orgánicos (ComOr)	37,87	0,00	24,99	12,88
Éter etílico (Éter etílico)	3,21	507,77	440,39	70,58
Ácido tartarico (ácido tartarico)	940,02	0,00	75,20	864,82
Total (g)	1165,38	507,77	722,01	951,14

Nota. Balace de materia, separador 2.

- Proceso unitario “Secado No.2”.

Figura 59.

Proceso unitario, secado 2.



Nota. Proceso unitario, secado 2.

Tabla 26.

Balance de materia, secado 2.

Balance de masa			
Componente	Número de corriente		
	Entrada	Salida	
	m16 (g)	m18 (g)	m19 (g)
Esclerocios <i>Claviceps Purpurea</i>	181,14	181,14	0,00
Hidróxido de amonio (NH4OH)	0,29	0,03	0,26
Compuestos orgánicos (ComOr)	24,99	21,74	3,25
Éter etílico (Éter etílico)	440,39	8,81	431,58
Ácido tartarico (acido tartarico)	75,20	1,50	73,70
Total (g)	722,01	213,22	508,79

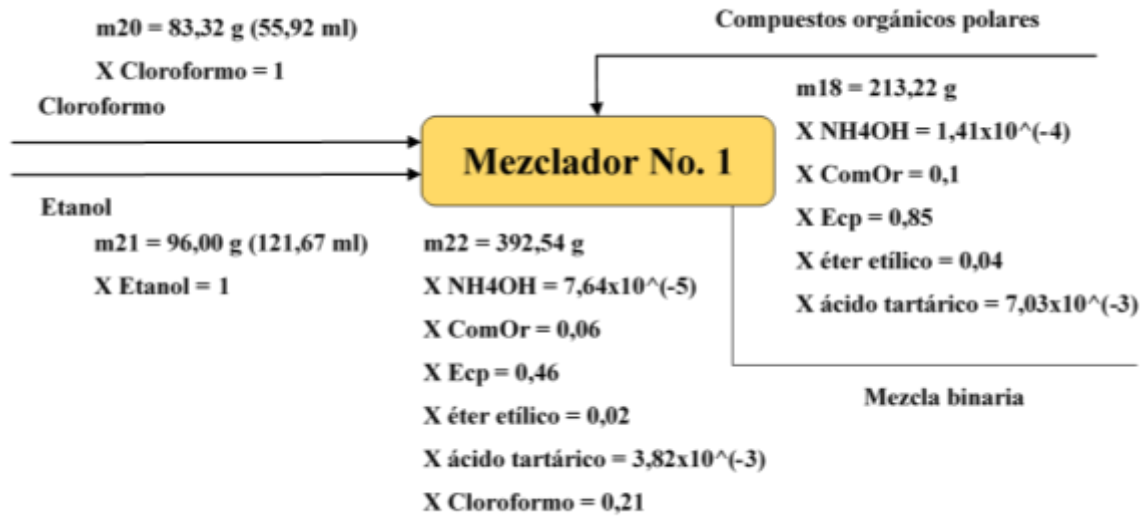
Nota. Balance de materia, secado 2.

Etapas de purificación extracto etanólico:

- **Proceso unitario “Mezclador No.1”.**

Figura 60 .

Proceso unitario, mezclador 1.



Nota. Proceso unitario, mezclador 1.

Tabla 27.

Balace de materia, mezclador 1.

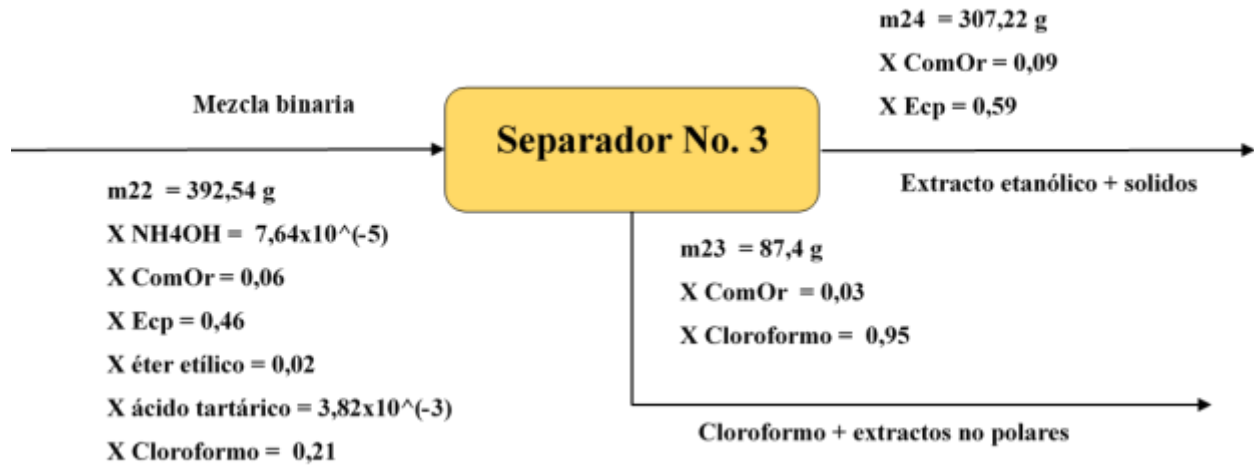
Balance de materia				
Componente	Número de corriente			
	Entrada			Salida
	$m_{18} \text{ (g)}$	$m_{20} \text{ (g)}$	$m_{21} \text{ (g)}$	$m_{22} \text{ (g)}$
Esclerocios <i>Claviceps Purpurea</i>	181,14	0,00	0,00	181,14
Hidróxido de amonio (NH ₄ OH)	0,03	0,00	0,00	0,03
Compuestos orgánicos (ComOr)	21,74	0,00	0,00	21,74
Éter etílico (Éter etílico)	8,81	0,00	0,00	8,81
Ácido tartarico (acido tartarico)	1,50	0,00	0,00	1,50
Cloroformo	0,00	83,32	0,00	83,32
Etanol	0,00	0,00	96,00	96,00
Total (g)	213,22	83,32	96,00	392,54

Nota. Balance de materia, mezclador 1.

- Proceso unitario “Separador No.3”.

Figura 61.

Proceso unitario, separador 3.



Nota. Proceso unitario, separador 3.

Tabla 28.

Balance de materia, separador 3.

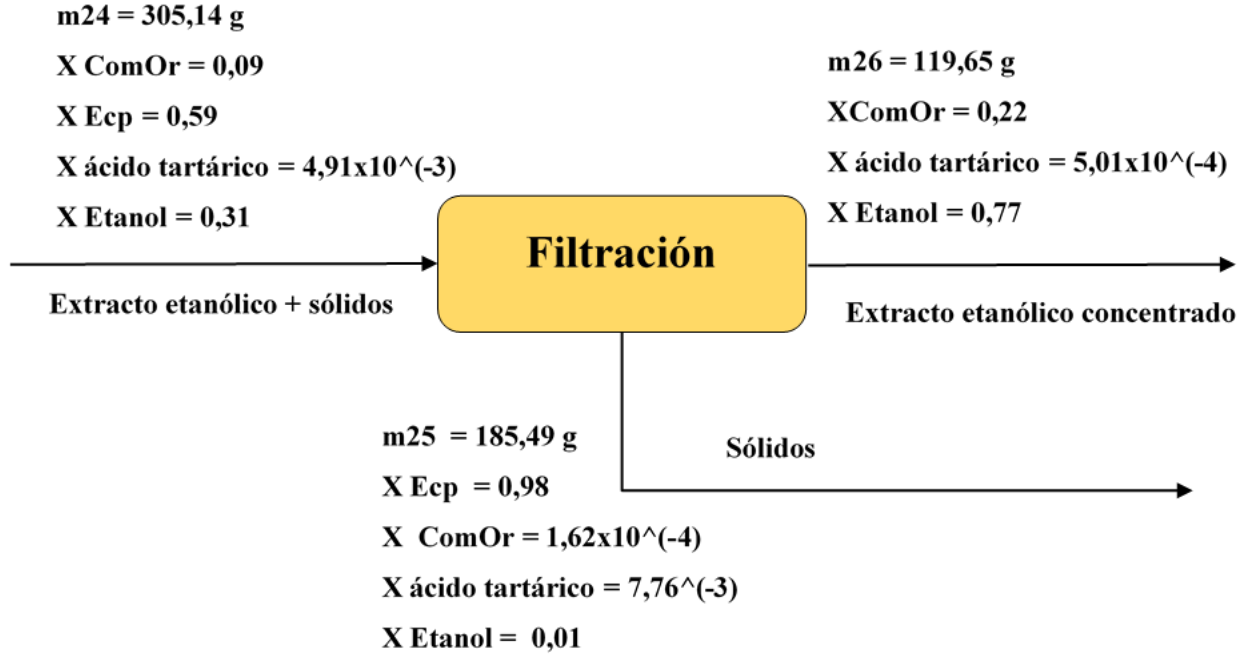
Balance de materia			
Componente	Número de corriente		
	Entrada	Salida	
	$m_{22} \text{ (g)}$	$m_{23} \text{ (g)}$	$m_{24} \text{ (g)}$
Esclerocios <i>Claviceps Purpurea</i>	181,14	0,00	181,14
Hidróxido de amonio (NH ₄ OH)	0,03	2,83	0,00
Compuestos orgánicos (ComOr)	21,74	2,83	26,5
Éter etílico (Éter etílico)	8,81	1,23	0,00
Ácido tartarico (ácido tartarico)	1,50	0,00	1,50
Cloroformo	83,32	83,32	0,00
Etanol	96,00	0,00	96,00
Total (g)	392,54	87,40	305,14

Nota. Balance de materia, separador 3.

- Proceso unitario “Filtración”.

Figura 62.

Proceso unitario, filtración



Nota. Proceso unitario, filtración

Tabla 29.

Balance de materia, filtración.

Balance de materia			
Componente	Número de corriente		
	Entrada	Salida	
	m24 (g)	m25 (g)	m26 (g)
Esclerocios <i>Claviceps Purpurea</i>	181,14	181,14	0,00
Hidróxido de amonio (NH4OH)	0,00	0,00	0,00
Compuestos orgánicos (ComOr)	26,50	0,03	26,47
Éter etílico (Éter etílico)	0,00	0,00	0,00
Ácido tartarico (ácido tartarico)	1,50	1,44	0,06
Cloroformo	0,00	0,00	0,00
Etanol	96,00	2,88	93,12
Total (g)	305,14	185,49	119,65

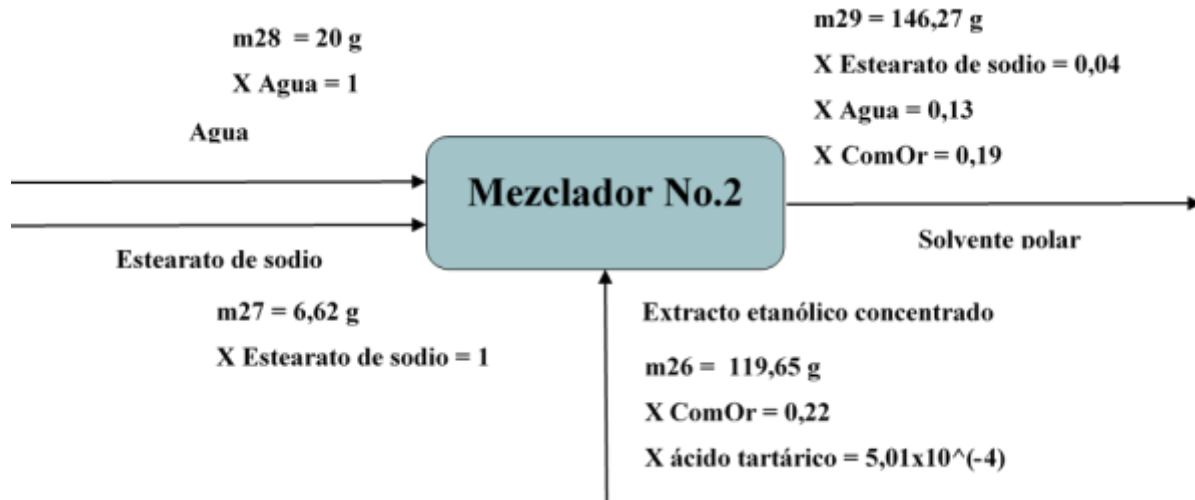
Nota. Balance de materia, filtración

Etapas de formulación plaguicida:

- **Proceso unitario “Mezclado No. 2”.**

Figura 63.

Proceso unitario, mezclador 2.



Nota. Proceso unitario, mezclador 2.

Tabla 30.

Balance de materia, mezclador 2.

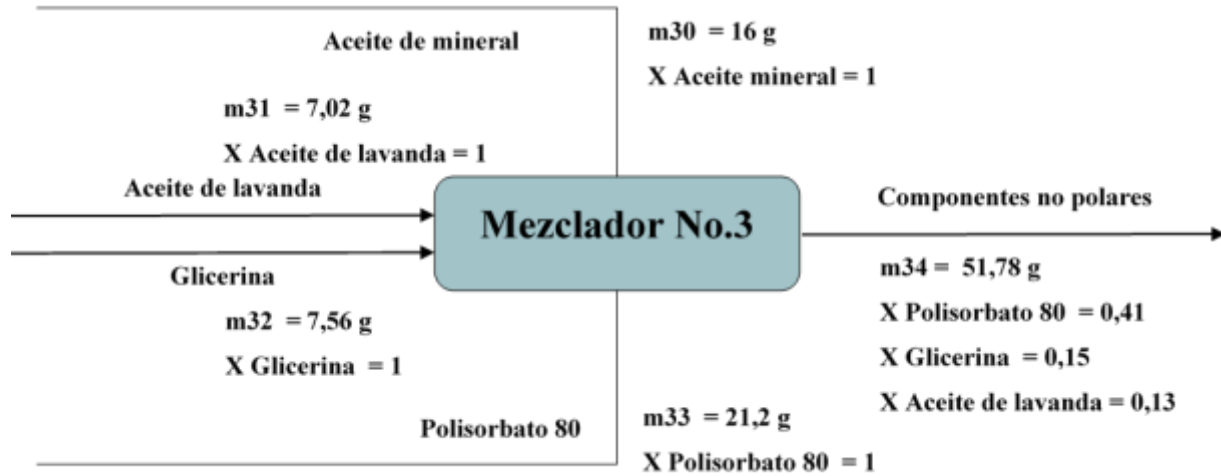
Balance de materia				
Componente	Número de corriente			
	Entrada			Salida
	m26 (g)	m27 (g)	m28 (g)	m29 (g)
Compuestos orgánicos (ComOr)	26,47	0,00	0,00	26,47
Ácido tartarico (acido tartarico)	0,06	0,00	0,00	0,06
Etanol	93,12	0,00	0,00	93,12
Agua	0,00	0,00	20,00	20,00
Estearato de sodio	0,00	6,62	0,00	6,62
Total (g)	119,65	6,62	20	146,27

Nota. Balance de materia, mezclador 2.

- **Proceso unitario “Mezclado No. 3”.**

Figura 64.

Proceso unitario, mezclador 3.



Nota. Proceso unitario, mezclador 3.

Tabla 31.

Balance de materia, mezclador 3.

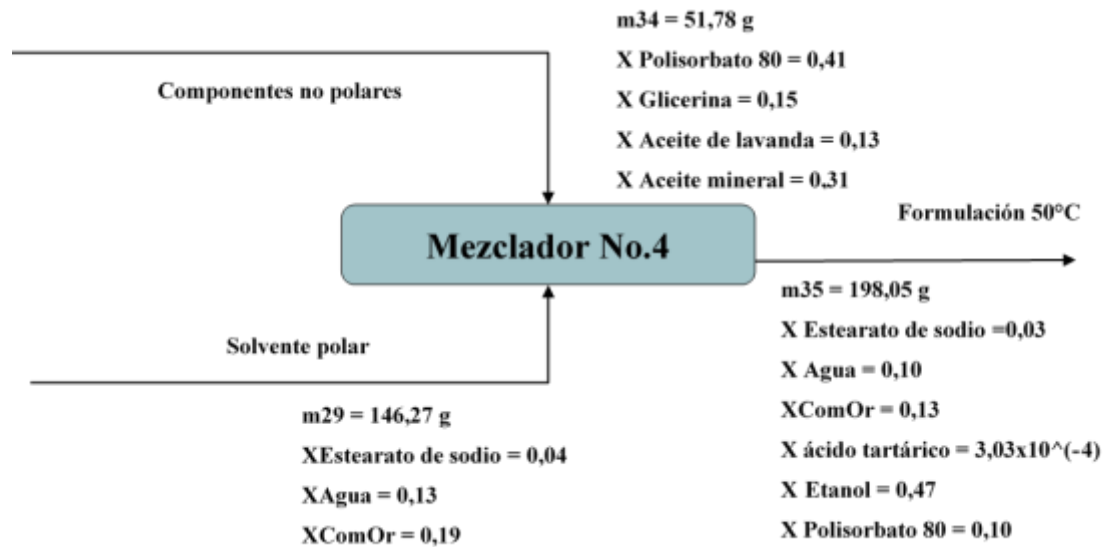
Balance de materia					
Componente	Número de corriente				
	Entrada				Salidas
	$m_{30} \text{ (g)}$	$m_{31} \text{ (g)}$	$m_{32} \text{ (g)}$	$m_{33} \text{ (g)}$	$m_{34} \text{ (g)}$
Aceite mineral(Aceite mineral)	16,00	0,00	0,00	0,00	16,00
Aceite de lavanda (Aceite de lavanda)	0,00	7,02	0,00	0,00	7,02
Glicerina (Glicerina)	0,00	0,00	7,56	0,00	7,56
Polisorbato 80(Polisorbato 80)	0,00	0,00	0,00	21,20	21,20
Total (g)	16,00	7,02	7,56	21,20	71,58

Nota. Balance de materia, mezclador 3.

- Proceso unitario “Mezclador No. 4”.

Figura 65.

Proceso unitario, mezclador 4.



Nota. Proceso unitario, mezclador 4

Tabla 32.

Balance de materia, mezclador 4.

Balance de materia			
Componente	Número de corriente		
	Entrada		Salidas
	$m_{29} \text{ (g)}$	$m_{34} \text{ (g)}$	$m_{35} \text{ (g)}$
Aceite mineral I (Aceite mineral)	0,00	16,00	16,00
Aceite de lavanda (Aceite de lavanda)	0,00	7,02	7,02
Glicerina (Glicerina)	0,00	7,56	7,56
Polisorbato 80 (Polisorbato 80)	0,00	21,20	21,20
Compuestos orgánicos (ComOr)	26,47	0,00	26,47
Ácido tartarico (acido tartarico)	0,06	0,00	0,06
Etanol	93,12	0,00	93,12
Agua	20,00	0,00	20,00
Estearato de sodio	6,62	0,00	6,62
Total (g)	146,27	51,78	198,05

Nota. Balance de materia, mezclador 4.

- Proceso unitario “Enfriamiento”.

Figura 66.

Proceso unitario, enfriamiento.



Nota. Proceso unitario, enfriamiento

Tabla 33.

Balance de materia, enfriamiento.

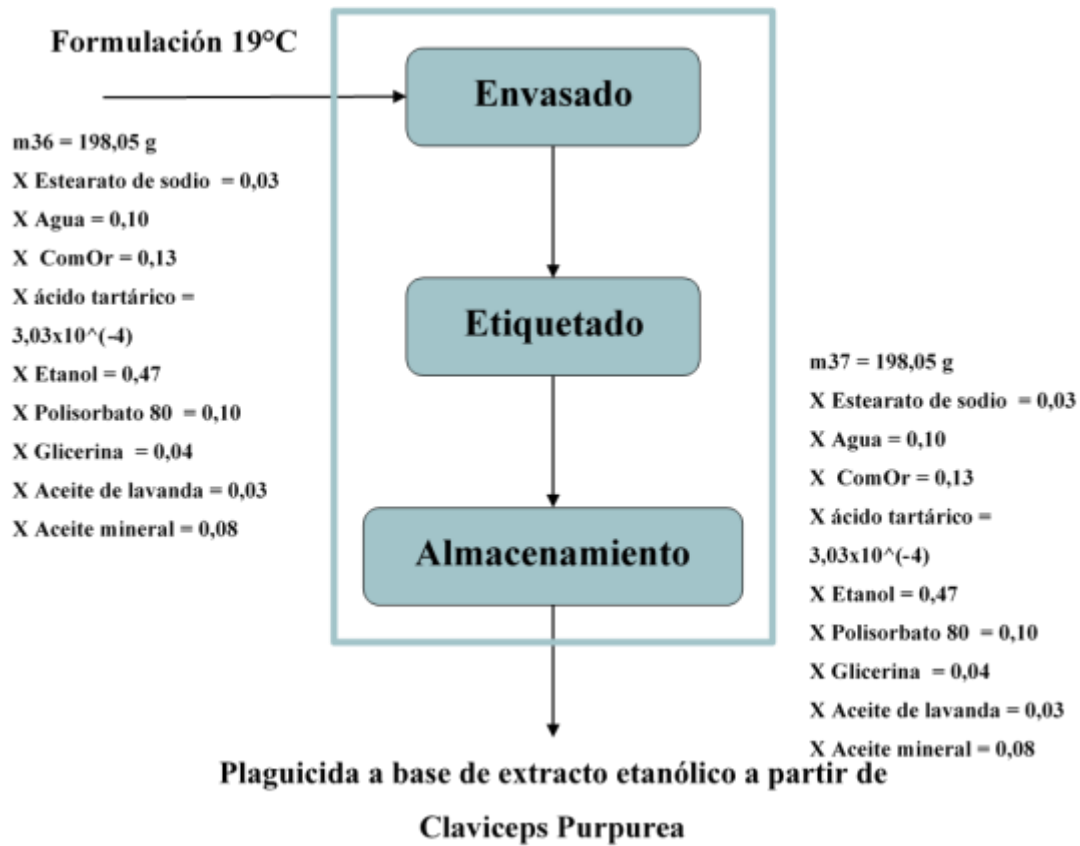
Balance de materia		
Componente	Número de corriente	
	Entrada	Salidas
	m35 (g)	m36 (g)
Aceite mineral(Aceite mineral)	16,00	16,00
Aceite de lavanda (Aceite de lavanda)	7,02	7,02
Glicerina (Glicerina)	7,56	7,56
Polisorbato 80(Polisorbato 80)	21,20	21,20
Compuestos orgánicos (ComOr)	26,47	26,47
Ácido tartarico (acido tartarico)	0,06	0,06
Etanol	93,12	93,12
Agua	20,00	20,00
Estearato de sodio	6,62	6,62
Total (g)	198,05	198,05

Nota. Balance de materia, enfriamiento.

- Operación unitaria “Envasado, etiquetado y almacenamiento”.

Figura 67.

Operación unitaria, envasado, etiquetado y almacenamiento.



Nota. Operación unitaria, envasado, etiquetado y almacenamiento

Tabla 34.

Balanza de materia, envasado, etiquetado y almacenamiento.

Balance de materia		
Componente	Número de corriente	
	Entrada	Salidas
	$m_{36} \text{ (g)}$	$m_{37} \text{ (g)}$
Aceite mineral (Aceite mineral)	16,00	16,00
Aceite de lavanda (Aceite de lavanda)	7,02	7,02
Glicerina (Glicerina)	7,56	7,56
Polisorbato 80 (Polisorbato 80)	21,20	21,20
Compuestos orgánicos (ComOr)	26,47	26,47
Ácido tartárico (ácido tartárico)	0,06	0,06

Etanol	93,12	93,12
Agua	20,00	20,00
Estearato de sodio	6,62	6,62
Total (g)	198,05	198,05

Nota. Balance de materia, envasado, etiquetado y almacenamiento.

4.3.3. Implicaciones Prácticas

La implementación práctica para el proceso de extracción y formulación de un plaguicida en base etanólica a partir del *Claviceps Purpurea* tiene intervalos específicos que se requieren de un control constante de las mismas variables. para iniciar el suministro de materia prima, como ya se ha mencionado, el hongo *Claviceps Purpurea* no es nativo de los cultivos gramíneos de Colombia ya que viene de la importación de trigo duros que son cosechados en climas de temporada fría, representando una barrera al contemplar el ingreso de hongo dimensional a la producción de estas industrias. Si bien los molinos industriales y algunas industrias de productos alimenticios descartan está hongo debido a su toxicidad para los procesos alimenticios, Colombia, así como el resto del mundo determinó que este hongo no debe ser consumido, sin embargo, no hay reglamentación estricta para el transporte o manipulación fuera del área de salud, solamente las autoridades competentes conocen los usos de este hongo lo que puede o no ser una barrera al momento de transportarla en grandes cantidades. Es esencial establecer acuerdos de suministro asegurando prácticas confiables de almacenamiento previniendo así la degradación de la materia.

Ahora bien, para seleccionar la materia prima hay opciones viables debido a que el hongo presenta una coloración particular referente a como la presentación de “trigo sucio” como la entrega la industria, el uso de equipos de clasificación por color y posterior tratamiento de inyección de aire o por centrifuga lograra dar un porcentaje de materia prima útil dentro del proceso

Para esta metodología de extracción mediante líquidos volátiles genera varias indicaciones de seguridad y precaución iniciando con el hidróxido de amonio y éter etílico, son líquidos altamente oloroso ambos corrosivos a inhalaciones prolongadas lo que vuelve difícil su inspección constante, adicionalmente el éter etílico es un líquido muy volátil y sensible a cambios bruscos de temperatura generando una rápida columna de burbujas atribuido a la efervescencia del mismo llegando a rebosar el recipiente de contención, esta temperatura debe estar a menos 24 °C para mantener controlado esta sustancia.

La formulación del plaguicida requiere de estabilidad en el producto final debido a que el extracto es una sustancia polar y para lograr llegar a absorción cutánea en los insectos necesitamos una

sustancia más viscosa como una base de coadyuvantes oleosos son idóneas para el proceso esto requiere de un emulsificante quien el cual ayudará la afinidad entre ambas sustancias, así como el uso en los equipos disponibles en el mercado.

4.3.4. Potencial aplicación del plaguicida formulado

La formulación de este plaguicida puede aplicarse a diversas áreas agrícolas y el control de plagas, al ser un biocida su extracto puede ofrecer una alternativa efectiva y amigable frente a productos químicos sintéticos convencionales los cuales el estudio cinético de sus propiedades en Colombia desarrolla resultados frente a la contaminación tanto de suelo como de fuentes hídricas, lo que está puesta en marcha de plaguicidas biológico es una innovación para el sector. Al ser un plaguicida a base de un extracto de componentes polares puede tener un rango de toxicidad en un espectro amplio de insectos dando una gama de plagas agrícolas a las que se puede atacar, llevándola de igual forma a cultivos distintos encontrando su misma eficacia o mejor.

4.3.5. Recomendaciones para futuros estudios y aplicaciones prácticas

Dentro del proceso de extracción mediante líquidos volátiles la separación de compuestos no polares mediante éter etílico, se recomienda un perfil de temperatura controlada a menos de 24 °C, esta condición específica evitará que la muestra se desborda del recipiente generando pérdidas de compuestos disueltos y materia prima. Adicionalmente el hidróxido de amonio se utiliza para empezar una extracción en entorno básico mayor a un pH de 10 pero se podría cuantificar al menos tres concentraciones distintas una por debajo de 10% p/v y por encima de ella, con el objetivo de analizar una concentración justa para protonar más compuestos útiles, de misma forma con el ácido tartárico, ya que se utiliza a 1% posiblemente elevando tu concentración se tengan perfiles de extracción con mayor cantidad de elementos o no influya tanto en el experimento, mantener factores visuales importantes para el caso de una extracción etanólica y es el color a final de la ruta entre más rojo o violeta sea su color más concentrado, estudiar la fase clorofórmica teniendo en cuenta que se deben utilizar celdas de cuarzo o vidrio debido a la naturaleza del cloroformo para degradar el plástico. Complementar con un barrido completo desde la zona UV. La seguridad en esta etapa debe ser indispensable, debido a la naturaleza volátil y tóxica de los gases involucrados, como lo son el hidróxido de amoníaco, éter etílico y cloroformo. El uso de mascarillas con filtros adecuados y sistemas de ventilación suficientes para proteger a los investigadores de la inhalación progresiva de estos gases nocivos. Para este caso los solventes se evaporan prolongando el tiempo de extracción hasta alcanzar el extracto seco. Se debería investigar la viabilidad de recuperar los

solventes y reciclarlos en otras extracciones, logrando ser más factible desde el punto de vista operativo en costos a largo plazo.



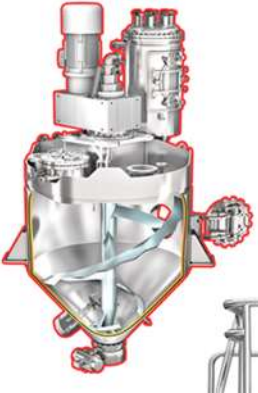

En cuanto a la formulación del plaguicida, se debería llevar un sistema de pruebas de estabilidad con el objetivo de encontrar una formulación equilibrada, Si se decide seguir bajo la formulación No. 4 (tabla 10) Variar concentraciones de polisorbato y estearato de sodio quienes actúan como emulsionantes dentro de la formulación, evaluar el uso de aceites esenciales debido al costo que interpreta su extracción.

Finalmente, para el análisis in vivo, realizar estudios con rocíos negativos individual de cada sustancia que compone el plaguicida esto con el objetivo de ampliar el rango de visibilidad con respecto al comportamiento de los insectos con estas sustancias individuales evaluando si realmente mueren por la sinergia entre la formulación, proporcionando datos más precisos acerca de la efectividad y dimensionando la seguridad a la que le puede aplicar en la formulación del plaguicida.

Tabla 35.

Listado de equipos.

Equipo	Imagen	Especificaciones
Separador		La clasificadora óptica SORTEX B es adecuada para clasificar granos, semillas, nueces y plásticos. Detecta color claro u oscuro con capacidad de hasta 8 toneladas por hora en cada canal. [113]
Molino de bolas		Cuenta con una capacidad de 10 a 20 kg/h, siguiendo el principio de más trituración menos molienda para ahorrar energía con un tamaño de 1 ft por 2ft [114].
Reactor		ASME reactor de presión de acero inoxidable estándar son adecuados para su uso en farmacéutica, bioingeniería, química fina, síntesis química y otras industrias. Los materiales son todos de SUS304 o SUS316L, batch de agitación a escala de 1kg. [115]

<p>Tanque de almacenamiento</p>		<p>acero inoxidable 304 o 316, con capacidades 1 m³ a 3 m³ ,ideal para almacenar sustancias químicas que deben cumplir grandes estándares de calidad y a su vez evitar corrosión aguantar un alto estrés térmico y radiación UV, además de eso tiene un grosor de pared entre los 4 y 10 mm [116].</p>
<p>Mezclador</p>		<p>Este tipo de blender, a diferencia de otros modelos de mezcladores más habituales, incorpora una bomba de tornillo helicoidal instalada después del mixer, muy adecuada para productos de alta viscosidad. También esta formado por un mixer in-line con un sistema venturi en la aspiración y una tolva con una válvula de mariposa para adicionar los sólidos. Gracias al venturi se crea una fuerte depresión en la base de la tolva.[117]</p>
<p>Secador</p>		<p>La hoja de mezcla helicoidal -colocado dentro de la cámara vertical de mezcla- crea un efecto de mezcla tridimensional, un ensamblaje ascendente y un flujo descendente hacia el centro del tanque. Gracias al diseño vertical y cónico del tanque de mezcla, es posible conseguir una descarga de hasta el 100% de materiales fluidos. El secador de contacto puede ser utilizado como dispositivo y reactor estéril.[118]</p>
<p>Envasadora</p>		<p>La Embotelladora manual de 6 cánulas de llenado para el envasado en vidrio o PET de 250 ml a 1 litro de sustancias de alta viscosidad. [119]</p>

Nota. Listado de equipos.

5. CONCLUSIÓN

Se obtuvieron extractos etanólicos a partir del *Claviceps Purpurea* mediante el proceso de extracción Líquido-Líquido y Líquido- Sólido, el cual demostró ser efectivo al momento de aislar compuestos orgánicos polares de una muestra inicial de 5 gramos, logrando un rendimiento de hasta 26,02%; empleando solventes volátiles y tratamientos puntuales con hidróxido de amonio y ácido tartárico permitió la separación de compuestos según su polaridad. La visualización de un extracto etanólico de color rojo-violeta sugiere la presencia de compuestos orgánicos polares. Las gráficas de absorbancia de los extractos concentrados mostraron un rango de longitud de onda de 325 nm a 1100 nm, con picos significativos de absorbancia en el rango de 400-500 nm. Estos picos sugieren la presencia de cromóforos como flavonas, flavonoles y antocianinas, compuestos poli fenólicos conocidos por su capacidad para absorber luz en el rango UV y visible. Este comportamiento es coherente con el color rojo, púrpura y azul observado en los extractos etanólicos obtenidos, adicionalmente se evidenció visualmente la presencia de alcaloides mediante pruebas de Wagner y Dragendorff, reforzando la presencia de estos compuestos activos en la solución obtenida.

El análisis espectroscópico reveló que los extractos etanólicos diluidos presentaban picos de absorbancia similares a los extractos concentrados, pero con diferencias en el porcentaje de absorbancia, variando entre 0,33 y 2,36, debido a la menor concentración de compuestos activos y la posible interacción del etanol con estos compuestos, alterando su estructura y capacidad de absorción. Ahora bien, el efecto plaguicida de los extractos etanólicos de *Claviceps Purpurea* y el pesticida comercial más empleado en Colombia reveló que los extractos etanólicos son altamente efectivos; la tasa de mortalidad de grillos tratada con el plaguicida experimental alcanzó un 100% en 48 horas, similar al efecto del pesticida comercial pese que el pesticida comercial mostró un aumento más rápido en la tasa de mortalidad inicial, alcanzando cerca del 90% a las 27 horas, mientras que el plaguicida a base del extracto etanólico mostró una tasa de mortalidad ligeramente menor en comparación durante el mismo período. Estos resultados sugieren que, aunque el plaguicida comercial tiene una fórmula más potente o un modo de acción más inmediato, el extracto de *Claviceps Purpurea* ofrece una alta efectividad sostenida, lo que lo convierte en una alternativa viable y sostenible en la industria agrícola.

Dado lo anterior, se realizó el diseño conceptual del proceso productivo del plaguicida basado en el extracto etanólico de *Claviceps Purpurea*, abarcando todas las etapas necesarias desde la

recolección del hongo hasta la formulación final del producto, requiriendo 500 g de materia prima (trigo sucio) para la producción de 213 ml de plaguicida. este proceso es realizado a escala de laboratorio y se identificó limitaciones del estudio, como la variabilidad en la composición de los extractos y por lo tanto la necesidad de pruebas de campo más amplias, lo cual abre oportunidades para futuras investigaciones, optimización del proceso de extracción, evaluación de la estabilidad y seguridad del plaguicida, y la exploración de combinaciones con otros métodos de control biológico para el desarrollo continuo en este campo.

Finalmente, dentro de las recomendaciones del proceso de extracción, se recomienda un perfil de temperatura controlada a menos de 24 °C, esta condición específica evitará que la muestra se desborde del recipiente generando pérdidas de compuestos disueltos y materia prima. Adicionalmente el hidróxido de amonio se utiliza para empezar una extracción en entorno básico mayor a un pH de 10 pero se podría cuantificar al menos tres concentraciones distintas una por debajo de 10% p/v y por encima de ella, con el objetivo de analizar una concentración justa para protonar más compuestos útiles, de misma forma con el ácido tartárico, ya que se utiliza a 1% posiblemente elevando tu concentración se tengan perfiles de extracción con mayor cantidad de elementos o no influya tanto en el experimento, mantener factores visuales importantes para el caso de una extracción etanólica y es el color a final de la ruta entre más rojo o violeta sea su color más concentrado, estudiar la fase clorofórmica teniendo en cuenta que se deben utilizar celdas de cuarzo o vidrio debido a la naturaleza del cloroformo para degradar el plástico. Para este caso los solventes se evaporan prolongando el tiempo de extracción hasta alcanzar el extracto seco y variar concentraciones de polisorbato y estearato de sodio quienes actúan como emulsionantes dentro de la formulación, evaluar el uso de aceites esenciales debido al costo que interpreta su extracción.

REFERENCIAS

- [1] “Hongos”, Cuidateplus, 25-Mar-2009. [En Línea]. Disponible En: <https://Cuidateplus.Marca.Com/Enfermedades/Enfermedades-Del-Pie/Hongos.Html>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [2] Á. Trigos, “Encontrando El Punto Débil De Los Hongos”, Cdigital.Uv.Mx. [En Línea]. Disponible En: <https://Cdigital.Uv.Mx/Bitstream/Handle/123456789/34583/Hongos2d2.Pdf?Sequence=2&Isallowed=Y>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [3] “Morfología Y Clasificación De Hongos” , *Edu.Co*. [En Línea]. Disponible: <https://Repositorio.Unal.Edu.Co/Bitstream/Handle/Unal/79887/Morfolog%C3%Ada%20y%20clasificaci%C3%B3n%20de%20los%20hongos.Pdf?Sequence=2&Isallowed=Y>. [Consulta: 30 De Mayo De 2024].
- [4] Rrp Alonso, “Clasificación Y Descripción De Los Hongos”, Smlucus.Org . [En Línea]. Disponible: http://Www.Smlucus.Org/Userfiles/Files/Curso/3taxonomia_Y_Clasificacion_De_Los_Hongos.Pdf. [Consulta: 30 De Mayo De 2024]
- [5] Rp Puig, “Morfología De Los Hongos”, Lifeder , 9 De Septiembre De 2020. [En Línea]. Disponible: <https://Www.Lifeder.Com/Morfología-Hongos/>. [Consulta: 30 De Mayo De 2024]
- [6] Gp Heredia-Abarca, “La Importancia De Los Hongos (Fungi) En Los Servicios Ecosistémicos”, *Bioagrocencias* , Vol. 13, Núm. 2, 2020.
- [7] Revista, “La Importancia De Los Hongos”, *Ecologistas En Acción*, 01-Sep-2010. [En Línea]. Disponible En: <https://Www.Ecologistasenaccion.Org/19972/La-Importancia-De-Los-Hongos/>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [8] G. Gallo, “Relaciones Amistosas Entre Hongos Y Plantas”, Inecol.Mx. [En Línea]. Disponible En: <https://Www.Inecol.Mx/Inecol/Index.Php/Es/Ct-Menu-Item-25/Ct-Menu-Item-27/17-Ciencia-Hoy/1174-Relaciones-Amistosas-Entre-Hongos-Y-Plantas>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [9] José Ariel Ruiz Corral, Guillermo Medina García, Irma Julieta González Acuña, Hugo Ernesto Flores López, Gabriela Ramírez Ojeda, Ceferino Ortiz Trejo, Keir Francisco Byerly Murphy, Ramón Armando Martínez Parra, “Requerimientos Agroecológicos De Cultivos”, *Researchgate.Net*, Oviembre 2013. [En Línea]. Disponible En:

https://www.researchgate.net/profile/Jose-Ruizcorral/publication/343047223_Requerimientosagroecologicos_De_Cultivos_2da_Edicion/links/5f1310e04585151299a4c447/Requerimientos-Agroecologicos-De-Cultivos-2da-Edicion.pdf

Ecologicos_De_Cultivos_2da_Edicion/Links/5f1310e04585151299a4c447/Requerimientos-Agroecologicos-De-Cultivos-2da-Edicion.Pdf. [Consultado: 16-Nov-2023].

- [10] “Imagen Clasificación De Hongos”, Cestaysetas.Com. [En Línea]. Disponible En: <https://www.cestaysetas.com/wp-content/uploads/2013/04/Filosfungi.gif>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [11] D. Mediavilla, “La Secuencia Del Hongo Con El Que Fleming Inventó Los Antibióticos”, Ediciones El País S.L, 28-Sep-2020. [En Línea]. Disponible En: <https://elpais.com/ciencia/2020-09-27/la-secuencia-del-hongo-con-el-que-fleming-invento-los-antibioticos.html>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [12] S. Voser, “¿En Qué Se Diferencian Las Setas Mágicas Y Las Trufas Mágicas?”, Zamnesia.Es. [En Línea]. Disponible En: <https://www.zamnesia.es/content/108-diferencia-entre-las-setas-magicas-y-les-trufas-magicas>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [13] Rm Arias, G. Heredia Abarca, Y. Del Carmen Perea Rojas, Y. De La Cruz Elizondo Y Ky García Guzman, “Selección Y Caracterización De Hongos Solubilizadores De Fosfatos Y Sus Efectos En Cafetales”, Plantas , Vol. 12, Núm. 19, Pág. 3395, 2023.
- [14] “Pudrición Blanca (Sclerotium Cepivorum) En El Cultivo De Cebolla Extraído De <https://www.intagri.com/articulos/hortalizas/pudricion-blanca-sclerotium-cepivorum-en-el-cultivo-de-cebolla> - Esta Información Es Propiedad Intelectual De Intagri S.C., Intagri Se Reserva El Derecho De Su Publicación Y Reproducción Total O Parcial”, Intagri.Com. [En Línea]. Disponible En: <https://www.intagri.com/articulos/hortalizas/pudricion-blanca-sclerotium-cepivorum-en-el-cultivo-de-cebolla>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [15] “Herbarium”, Plantasyhongos.Es. [En Línea]. Disponible En: https://www.plantasyhongos.es/herbarium/htm/claviceps_purpurea.htm. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [16] “Bio. Sci. 4 Microscopic Images”, Sierracollege.Edu. [En Línea]. Disponible En: https://biosci.sierracollege.edu/resources/mslides-2016/mslides-bio4-pages2016/claviceps_purpurea2.html. [Consultado: 16-Nov-2023].

- [17] I. De Enseñanza E Investigacion En Ciencias Agrícolas, “Colegio De Postgraduados”, Colpos.Mx:8080. [En Línea]. Disponible En: Http://Colposdigital.Colpos.Mx:8080/Xmlui/Bitstream/Handle/10521/2273/Moreno_Manzano_Ce_Mc_Fitopatologia_2014.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [18] “Visualización Macroscopica Del Cornezuelo”, Pinimg.Com. [En Línea]. Disponible En: <Https://I.Pinimg.Com/Originals/62/20/F5/6220f55c385f3fb07f63abd307b55ab8.Jpg>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [19] Cloudfront.Net. [En Línea]. Disponible En: Https://D1wqtxts1xzle7.Cloudfront.Net/87965060/Hongos_Fitopatogenos_21_1-Libre.Pdf?1656095020=&Response-Content-Disposition=Inline%3b+Filename%3dhongos_Fitopatogenos.Pdf&Expires=1699922893&Signature=Wna5xsfj7sff-Fzgbahqm0cas5gifg08vygebtz~Vupmca6g440pqibazoyo3vegb6l05x9ydafjqgtgogggwldnp5egdatvusvk1te4paxesddwmfduojmwv2hdldporq7hnnwcqxnkvo57scgvj1v5jhdipvwfdrg-1sgvl-6qmkbft-Y27n47k51vv~Dc0faattiowdbmmxe5iykssswbtsjbuh~Lo9js4jw5yx5je5lqnq0ymqs5p3ecbfzsjdv90pumf3s125n3hjejonuopgg9hvr-Evghfarkcoug7uafkicrgucidic4i6cs3hlfqjgi4rv3rkhg2kg__&Key-Pair-Id=Apkajlohf5ggslrbv4za. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [20] Hernandez Nopsa, J. F., Thomas-Sharma, S., & Garrett, K. A., “Climate Change And Plant Disease”, Encyclopedia Of Agriculture And Food Systems. Pp. 232–243, 2014.
- [21] American Association Of Cereal Chemists International, Wheat (Fourth Edition). 2009, Pages 97-118.
- [22] William A. Meyer^{1,*}, Phillip Vines¹, Stacy A. Bonos¹, Ronald F. Bara¹, Dirk A. Smith¹, And Eric N. Weibel, “Breeding Improved Cool-Season Turfgrass With Improved Seed Production”, En Proceedings Of The 10th International Herbage Seed Conference, 2019.
- [23] R. V.-V. J. N.-S. Torresmontalvo, “Diseminación Inicial Del Cornezuelo (Claviceps Africana) De Sorgo En México”, Revista Mexicana De Fitopatología, P. Volumen 19, Paginas 1, 2001.
- [24] E. De Canadá En México, “Sabores De Canadá :: Productos :: Cereales”, Sabores De Canadá :: Productos :: Cereales. [En Línea]. Disponible En:

- <https://www.saboresdecana.com.mx/productos.php?p=granos-canadienses>. [Consultado: 08-Nov-2023].
- [25] A. Comte, T. Gräfenhan, M. G. Links, S. M. Hemmingsen, Y T. J. Dumonceaux, “Quantitative Molecular Diagnostic Assays Of Grain Washes For *Claviceps Purpurea* Are Correlated With Visual Determinations Of Ergot Contamination”, *Plos One*, Vol. 12, Núm. 3, P. E0173495, 2017.
- [26] “Emerging Markets Research, Data And News”, *Emis.Com*. [En Línea]. Disponible En: <https://www.emis.com/php/search/searchv2?keyword=Molino>. [Consultado: 12-Nov-2023].
- [27] “Legiscomex - Inteligencia Comercial Y Comercio Internacional”, *Legiscomex.Com*. [En Línea]. Disponible En: <https://www.legiscomex.com/reportedetallado/indexrankings/?guid=270bf79c-9d1c-4363-896c-6665da8cb35e>. [Consultado: 12-Nov-2023].
- [28] “Cornezuelo O Ergot Del Centeno (*Claviceps Purpurea*)”, *Herbario Virtual Fitopatología*, 29-Sep-2021. [En Línea]. Disponible En: https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=15695. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [29] R. Duno De Stefano, L. L. Can Itzá, L. Didier Cox-Tamay, Y. Elma, Y B. Heredia-Campos, “Epidemias En La Agricultura ¡Las Plantas También Se Enferman!”, *Repositorioinstitucional.Mx*. [En Línea]. Disponible En: <https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/2603/1/2020-09-17-Didier-Cox-Epidemias-En-La-Agricultura.pdf>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [30] L. Carbonell Rozas, “Nuevas Estrategias Analíticas Para La Determinación De Residuos De Insecticidas Y Alcaloides Ergóticos En Muestras Ambientales Y Alimentarias”, *Universidad De Granada*, 2021.
- [31] W. L. Witters, “Extraction And Identification Of Clavine And Lysergic Acid Alkaloids From Morning Glories¹”, *Department Of Zoology And Microbiology, Ohio University, Athens, Ohio*, P. 4, 1975.
- [32] “El Cornezuelo Del Centeno (I): Biología, Historia Y Ergotismo”, *Researchgate.Net*. [En Línea]. Disponible En: https://www.researchgate.net/profile/Carlos-Illana/publication/286452935_El_Cornezuelo_Del_Centeno_I_Biologia_Historia_Y_Ergot

ismo/Links/566a8de708ae430ab4f79403/El-Cornezuelo-Del-Centeno-I-Biologia-Historia-Y-Ergotismo.Pdf. [Consultado: 16-Nov-2023].

- [33] Rd Alexander Y D. Otte, “Crickets”, En Encyclopedia Of Insects , Elsevier, 2009, Págs. 232–236.
- [34] “Perspectivas De Uso Sostenible Del Grillo Doméstico Tropical (Gryllos Sigillatus) Para La Alimentación Humana En Colombia” , Org.Co. [En Línea]. Disponible: <Http://Www.Scielo.Org.Co/Pdf/Rfmvz/V69n3/0120-2952-Rfmvz-69-03-310.Pdf>. [Consulta: 30 De Mayo De 2024].
- [35] I Castellanos-Vargaszenón Cano-Santanazenón Cano-Santanaricardo Mariño-Pérezricardo Mariño-Pérezshow All 5 Authorsfilippo Maria Buzzettifilippo Maria Buzzetti, “Ortópteros: Chapulines, Langostas, Grillos Y Esperanzas”, Researchgate.Net. [En Línea]. Disponible En: Https://Www.Researchgate.Net/Profile/Ricardo-Marino-Perez/Publication/362558254_Ortopteros_Chapulines_Langostas_Grillos_Y_Esperanzas/Links/62f144a6505511283e9eb540/Ortopteros-Chapulines-Langostas-Grillos-Y-Esperanzas.Pdf. [Consultado: 06-Abr-2024].
- [36] J. A. Rubiano Rodríguez, L. F. Gómez Ramírez, P. V. Sierra-Baquero, T. Sánchez Doria, D. A. Fuentes Cassiani, Y R. F. De Oro Aguado, “Plagas Asociadas Al Cultivo De Sorgo Forrajero Corpoica Jjt-18 (Sorghum Bicolor [L] Moench) En El Departamento Del Cesar, Colombia”. Corporación Colombiana De Investigación Agropecuaria (Agrosavia), Sep-2023.
- [37] C. Divulgativa, “El Cultivo Del Café”, Edu.Co. [En Línea]. Disponible En: <Https://Sired.Udenar.Edu.Co/6518/1/Cartilla%20divulgativa%202020%20ok.Pdf>. [Consultado: 06-Abr-2024].
- [38] H. Recomendaciones Para Su Manejo, “El Grillo De Los Llanos Orientales”, Agrosavia.Co. [En Línea]. Disponible En: Https://Repository.Agrosavia.Co/Bitstream/Handle/20.500.12324/31769/38711_21304.Pdf?Sequence=1. [Consultado: 06-Abr-2024].
- [39] I. De 2. 500 M2 Del C. De 2. 500 M2 Del C. De A. Vo De A. V. T. A. T. En La F. S. M. En La F. S. M. En El M. T. En El M. V. Del G. P. V. Del Guamuez Putumayo Yo, “Ciencia Unisalle Ciencia Unisalle”, Edu.Co. [En Línea]. Disponible En:

https://Ciencia.Lasalle.Edu.Co/Cgi/Viewcontent.Cgi?Article=1031&Context=Ingenieria_Agronomica. [Consultado: 06-Abr-2024].

- [40] D. S. Álvarez., “Efectos Socioambientales Relacionados Con El Uso Y Manejo De Los Pesticidas En La Agricultura En La Vereda El Naranjal Del Corregimiento De San Cristóbal, Medellín”, Edu.Co, 2022. [En Línea]. Disponible En: <https://Dspace.Tdea.Edu.Co/Bitstream/Handle/Tdea/2311/Informe%20daniela%20silva%20alvarez.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y>. [Consultado: 06-Abr-2024].
- [41] B. Ospina, La Yuca En El Tercer Milenio: Sistemas Modernos De Producción, Procesamiento, Utilización Y Comercialización. Ciat, 2002.
- [42] Salazar Ordoñez, Laura Ximena, Joaqui Anacona , Jhoan Sebastian Y A. Y. Rodriguez Catuche, “Diseño Y Construcción De Invernadero Con Sistema De Compostaje Y Prevención De Plagas Para El Cultivo Del Tomate (*Lycopersicon Esculetum* Mill)”, Dialnet.Es, 2022. [En Línea]. Disponible En: <https://Dialnet.Unirioja.Es/Servlet/Articulo?Codigo=8960876>. [Consultado: 06-Abr-2024].
- [43] L. Neubauer, J. Dopstadt, H.-U. Humpf, Y P. Tudzynski, “Identification And Characterization Of The Ergochrome Gene Cluster In The Plant Pathogenic Fungus *Claviceps Purpurea*”, Fungal Biol. Biotechnol., Vol. 3, Núm. 1, 2016.
- [44] C. De Ingeniería Agroindustrial, “Universidad Técnica De Cotopaxi”, Edu.Ec. [En Línea]. Disponible En: <https://Repositorio.Utc.Edu.Ec/Bitstream/27000/5128/6/Pc-000362.Pdf>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [45] “Extrusora De Cocción De Doble Tornillo”, Gea Engineering For A Better World. [En Línea]. Disponible En: <https://Www.Gea.Com/Es/Products/Extruders/Tru-Twin-Series.Jsp>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [46] “Métodos De Extracción En El Análisis De Grasas”, Gerhardt.De. [En Línea]. Disponible En: <https://Www.Gerhardt.De/Es/Know-How/Metodos-Analiticos/Metodos-De-Extraccion-En-El-Analisis-De-Grasas/>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [47] “Destilación De Vapor”, Klublr.Com. [En Línea]. Disponible En: https://Klublr.Com/Esa/Destilaci%C3%B3n-Al-Vapor?Clickref=11011xwktbvj&Utm_Source=Vibrantads&Utm_Medium=Affiliate&Utm_Campaign=110111995&Affiliate_Source=Pz. [Consultado: 16-Nov-2023].

- [48] “La Extracción De Los Aceites Esenciales”, Vital Aromaterapia , 30 De Abril De 2019. [En Línea]. Disponible: <https://vitalaromaterapia.com/como-es-la-extraccion-de-los-aceites-esenciales/>. [Consulta: 30 De Mayo De 2024].
- [49] Aag Villa, “Obtención De Aceites Esenciales Y Extractos Etanolicos De Plantas Del Amazonas” , Edu.Co. [En Línea]. Disponible: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/2800/Angelaandregonzalezvilla.2004.pdf?sequence=1&isallowed=Y#:~:Text=Extractos%20etan%C3%93licos%5b1%2c2%2c,Solvente%20por%20un%20procedimiento%20f%C3%Adstico>. [Consulta: 30 De Mayo De 2024].
- [50] Rn Cavalcanti, T. Forster-Carneiro, Mtms Gomes, Ma Rostagno, Jm Prado Y Maa Meireles, “Capítulo 1. Usos Y Aplicaciones De Extractos De Fuentes Naturales”, En Green Chemistry Series , Cambridge: Royal Society Of Chemistry, 2013, Págs. 1–57.
- [51] “Actividad Antioxidante Del Extracto Etanólico De Partes Aéreas De Loricaria Ferruginea (Ruiz & Pav.) Wedd”, Bvsalud.Org . [En Línea]. Disponible: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/12/876583/Actividad-Antioxidante-Del-Extracto-Etanolico-De-Partes-Aereas-_Pfvpoxa.pdf. [Consulta: 30 De Mayo De 2024].
- [52] A. Ribeiro, M. Estanqueiro, M. Oliveira Y J. Sousa Lobo, “Principales Beneficios Y Aplicabilidad De Extractos De Plantas En Productos Para El Cuidado De La Piel”, Cosméticos , Vol. 2, Núm. 2, Págs. 48–65, 2015.
- [53] M. Rezzoug Et Al. , “Composición Química Y Bioactividad De Aceites Esenciales Y Extractos Etanólicos De Ocimum Basilicum L. Y Thymus Algeriensis Boiss. & Reut. Del Atlas Sahariano Argelino”, Bmc Complement. Alternativo. Medicina. , Vol. 19, Núm. 1, 2019.
- [54] “Extracción De Compuestos Fenólicos Y Contenido De Catequina En Cortezas De Tres Especies Forestales Del Cauca-Colombial” , Org.Co. [En Línea]. Disponible: <http://www.scielo.org.co/pdf/ecei/v15n29/1909-8367-ecei-15-29-19.pdf>. [Consulta: 30 De Mayo De 2024].
- [55] J. R. S. Viña, “Productos Naturales Vegetales”, Core.Ac.Uk. [En Línea]. Disponible En: <https://core.ac.uk/download/pdf/15784539.pdf>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [56] “Formulación De Un Insecticida Natural A Base De, “Universidad Nacional Del Callao”, Edu.Pe . [En Línea]. Disponible:

- <https://Repositorio.Unac.Edu.Pe/Bitstream/Handle/20.500.12952/7427/Fiq%20tesis-Ortega%20silva2022.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y>. [Consulta: 30 De Mayo De 2024].
- [57] “Capítulo 2: Plaguicidas Químicos, Composición Y Formulaciones, Etiquetado, Clasificación Toxicológica, Residuos Y Métodos De Aplicación”, Manualfitosanitario.Com . [En Línea]. Disponible:
<https://Www.Manualfitosanitario.Com/Infonews/Inta%20aplicacion%20eficiente%20de%20fitosanitarios%20cap%202.%20%20formulaciones.Pdf>. [Consulta: 30 De Mayo De 2024].
- [58] “Produccion Y Ventas De Plaguicidas Año 2022” , Gov.Co. [En Línea]. Disponible:
<https://Www.Ica.Gov.Co/Areas/Agricola/Servicios/Regulacion-Y-Control-De-Plaguicidas-Quimicos/Estadisticas/Estadisticas-Pqua-2022-Final.AspX>. [Consulta: 30 De Mayo De 2024].
- [59] O. Us Epa, “Pesticidas Para Controlar Las Plagas Comunes”, 2016.
- [60] “Biocidas”, Gob.Es. [En Línea]. Disponible En: <https://Www.Miteco.Gob.Es/Es/Calidad-Y-Evaluacion-Ambiental/Temas/Productos-Quimicos/Biocidas.Html>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [61] Organizacion De Las Naciones Unidas Para El Desarrollo Industrial Ministerio De Ambiente Y Desarrollo Sostenible, “Perfil De Sustancias Quimicas En Colombia”, Gov.Co, 2012. [En Línea]. Disponible En: https://Www.Minambiente.Gov.Co/Wp-Content/Uploads/2021/10/Perfil_Nacional_De_Sustancias_Quimicas_En_Colombia_2012.Pdf. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [62] “Composicion General Para La Formulación De Biocidas”, Gob.Es. [En Línea]. Disponible En: <https://Www.Miteco.Gob.Es/Es/Calidad-Y-Evaluacion-Ambiental/Temas/Productos-Quimicos/Biocidas.Html>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [63] “Usos Y Aplicaciones Del Biocida”, Pochteca Colombia | Venta De Materias Primas Para La Industria, 22-Abr-2022. .
- [64] C. I. En S. De Protección Agrícola Y Forestal, “Métodos De Control De Plagas”, Edu.Ni. [En Línea]. Disponible En: <https://Cenida.Una.Edu.Ni/Relectronicos/Renh10j61me.Pdf>. [Consultado: 16-Nov-2023].

- [65] “Residuos De Plaguicidas En Los Alimentos”, Who.Int. [En Línea]. Disponible En: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food>. [Consultado: 16-Nov-2023].
- [66] L. R. R. Chaves, “Desarrollo De Una Propuesta Para La Producción De Un Biocida Partiendo De Extractos Etanólicos De Hojas De Tabaco (Nicotiana Tabacum) En El Control De Botrytis Cinerea (Pilisboecea)”, Fundación Universidad De América, Facultad De Ingenierías, Programa De Ingeniería Química, Bogota, Sede Los Cerros, 2020.
- [67] M. E. Dos Santos Domingues, “Capacidad Biocida Del Hongo Entomopatógeno Beauveria Bassiana Para El Control De Trips (Insecta: Thysanoptera) En Pimiento Bajo Cubierta”, Universidad Nacional De La Plata, Buenos Aires, Argentina, 2022.
- [68] “Hay Más De 15,2 Millones De Campesinos, Que Representan 30% De Los Colombianos”, Gov.Co. [En Línea]. Disponible En: <https://www.agronet.gov.co/noticias/paginas/hay-m%C3%A1s-de-15,2-millones-de-campesinos,-que-representan-30-de-los-colombianos.aspx>. [Consultado: 10-Nov-2023].
- [69] J. M. Santos Et Al., Gov.Co. [En Línea]. Disponible En: https://quimicos.minambiente.gov.co/wp-content/uploads/2021/05/Cartilla_Plaguicidas_Cop_2017.pdf. [Consultado: 10-Nov-2023].
- [70] J. A. Benavides-Piracón Et Al., “Prenatal And Postnatal Exposure To Pesticides And School-Age Children’s Cognitive Ability In Rural Bogotá, Colombia”, Neurotoxicology, Vol. 90, Pp. 112–120, 2022.
- [71] M. C. B. Caballero, “Estudio Y Ubicación De Las Fuentes Hidricas Contaminadas Por Pesticidas O Plaguicidas En Colombia”, Edu.Co. [En Línea]. Disponible En: <https://repository.ucc.edu.co/server/api/core/bitstreams/68fde17b-64b6-4574-A6b5-A2907319c065/content>. [Consultado: 08-Nov-2023].
- [72] M. De Ambiente Y Desarrollo Social, “Decreto 1071 De 2015 Sector Administrativo Agropecuario, Pesquero Y De Desarrollo Rural”, 26 De Mayo 2015.
- [73] I. C. A. -Ica-, “Resolución 1344 Del 25 Abril De 1990. Por La Cual Se Reglamenta El Manejo Fitosanitario De Algunos Cultivos Transitorios”, 25 Abril De 1990.
- [74] E. L. C. De La República De Colombia, “Por Medio Del Cual Se Constituye El Sistema Nacional De Insumos Agropecuarios, Se Establece La Política Nacional I De Insumos

- Agropecuarios, Se Crea El Fondo De Acceso A Los Insumos Agropecuarios Y Se Dictan Otras Disposiciones”, Ene. 2022.
- [75] P. De Las Naciones Unidas Para El Desarrollo Ministerio De Ambiente El Fondo Para El Medio Ambiente Mundial Gef, “Contaminantes Orgánicos Persistentes, Cartilla De Plaguicidas”, 2017.
- [76] E. L. C. De Colombia, “Ley 9 De 1979 Medidas Sanitarias”, 5 De Febrero De 1979.
- [77] E. L. M. De Ambiente Y Desarrollo Sostenible, “Resolución 631 De 2015, Por La Cual Se Establecen Los Parámetros Y Los Valores Límites Máximos Permisibles En Los Vertimientos Puntuales A Cuerpos De Aguas Superficiales Y A Los Sistemas De Alcantarillado Público Y Se Dictan Otras Disposiciones”, 2015.
- [78] F. Lünne, E.-M. Niehaus, S. Lipinski, J. Kunigkeit, S. A. Kalinina, Y H.-U. Humpf, “Identification Of The Polyketide Synthase Pks7 Responsible For The Production Of Lecanoric Acid And Ethyl Lecanorate In *Claviceps Purpurea*”, *Fungal Genet. Biol.*, Vol. 145, Núm. 103481, P. 103481, 2020.
- [79] C. A. De Cereales, “Cuadros De Normas De Calidad Para La Comercialización”, Com.Ar. [En Línea]. Disponible En: https://www.cac.bcr.com.ar/sites/default/files/2018-04/normas_de_comercializacion_completa.pdf. [Consultado: 24-May-2024].
- [80] W. A. Taber And L. C. Vining, “Clavine And Lysergic Acid Alkaloids In Varieties Of Morning Glory”, *Phytochemistry*, P. 65 A 70, 1963.
- [81] “Aspen Plus_Base De Datos Análisis Binario”. [Consultado: 23- Mayo-2024]
- [82] “Numetrin - Sumitomo Chemical”, Colombia . [En Línea]. Disponible: <https://www.sumitomochemical.com.co/productos/insecticidas/numetrin/>. [Consulta: 30 De Mayo De 2024].
- [83] “Evaluación De Diferentes Dosis De Insecticida A Base De Nicotiana Tabacum Para El Manejo De Bemisia Tabaci En El Cultivo De Phaseolus Vulgaris, Ucatse-2020” , Edu.Ni. [En Línea]. Disponible En: <http://repositorio.unflep.edu.ni/78/1/D0025-2020.pdf>. [Consulta: 30 De Mayo De 2024].
- [84] E. En V. De La Eficacia Insecticida Y/O Repelente De Extractos De Sauco *Sambucus Nigra* Sobre Moscas Del Género *Haematobia Irritans* En Bovinos En Una Finca De Lechería, “Cienciaa Unisaalle Cienciaa Unisaalle”, Edu.Co . [En Línea]. Disponible:

https://Ciencia.Lasalle.Edu.Co/Cgi/Viewcontent.Cgi?Article=1170&Context=Medicina_Veterinaria. [Consulta: 30 De Mayo De 2024].

- [85] Mk Mukerji Y Ab Ewen, “Evaluación De Campo De Cipermetrina Y Carbarilo Como Aerosoles Y Cebos Para El Control De Saltamontes (Orthoptera: Acrididae) En Saskatchewan”, *Can. Entomol.* , Vol. 116, Núm. 1, Págs. 5 A 9, 1984.
- [86] “🖱 Selector De Color En Línea”, Imagecolorpicker.Com . [En Línea]. Disponible: <https://Imagecolorpicker.Com/Es>. [Consulta: 4 De Junio De 2024].
- [87] Universidad David Harveydepauw, “1.2: Espectroscopia Fotoluminiscente”, *Chemistry Libretexts* , 10 De Enero De 2020. [En Línea]. Disponible: https://Chem.Libretexts.Org/Courses/British_Columbia_Institute_Of_Technology/Chem_2305%3a_Biochemistry%2f%2finstrumental_Analysis/01%3a_Spectroscopy/1.02%3a_Photoluminescent_Spectroscopia. [Consulta: 3 De Junio De 2024].
- [88] S.-R. Lin Et Al. , “Compuestos Naturales Como Posibles Adyuvantes De La Terapia Contra El Cáncer: Evidencia Preclínica”, *Br. J. Farmacol.* , Vol. 177, Núm. 6, Págs. 1409-1423, 2020.
- [89] Am Font, “Investigación Cromatográfica Y Espectrofotométrica De Cornezuelo En Harinas”, *Diposit.Ub.Edu* . [En Línea]. Disponible: https://Diposit.Ub.Edu/Dspace/Bitstream/2445/182315/1/01.Amf_1de2.Pdf. [Consulta: 3 De Junio De 2024].
- [90] G. García, “Perfil Químico Y Actividad Antibacteriana De Extractos De *Peltigera Laciniata* (Merrill Ex Riddle) Gyeln” , *Sld.Cu*. [En Línea]. Disponible: <https://Revplantasmedicinales.Sld.Cu/Index.Php/Pla/Rt/Printerfriendly/311/196>. [Consulta: 4 De Junio De 2024].
- [91] “14.9: Conjugation, Color, And The Chemistry Of Vision”, *Chemistry Libretexts*, 03-May-2015. [En Línea]. Disponible En: [https://Chem.Libretexts.Org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Organic_Chemistry_\(Morsch_et_Al.\)/14%3a_Conjugated_Compounds_And_Ultraviolet_Spectroscopy/14.09%3a_Conjugation_Color_And_The_Chemistry_Of_Vision](https://Chem.Libretexts.Org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Organic_Chemistry_(Morsch_et_Al.)/14%3a_Conjugated_Compounds_And_Ultraviolet_Spectroscopy/14.09%3a_Conjugation_Color_And_The_Chemistry_Of_Vision). [Consultado: 04-Jun-2024].

- [92] A. Dimitrova, M. G. Di Milia, R. Rensi, S. Grassi, B. Gualco, Y F. Vaiano, “Determination Of Lysergic Acid Diethylamide And 2-Oxo-3-Hydroxy-Lsd In Blood: Validation And Comparison Of Two Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Methods”, *Separations*, Vol. 10, Núm. 9, P. 502, 2023.
- [93] “Ultraviolet And Visible Spectroscopy”. [En Línea]. Disponible En: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Organic_Chemistry\)/Spectroscopy/Visible_And_Ultraviolet_Spectroscopy/Ultraviolet_And_Visible_Spectroscopy](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Supplemental_Modules_(Organic_Chemistry)/Spectroscopy/Visible_And_Ultraviolet_Spectroscopy/Ultraviolet_And_Visible_Spectroscopy). [Consultado: 04-Jun-2024].
- [94] D. P. Fuentes, J. De La Trinidad López Fuentes, Y G. C. Herrera, “Actividad Antibacteriana In Vitro De Los Extractos Y Las Tinturas Al 20 % De *Macroptilium Lathyroides* (L.) Urban (Maribari)”, *Rev. Cuba. Plantas Med.*, Vol. 22, Núm. 4, 2018.
- [95] “Caracterización Fitoquímica De Las Hojas De *Phytolacca Americana* Y Determinación De Su Potencial Antifúngico”, *Unirioja.Es*. [En Línea]. Disponible En: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7278574>. [Consultado: 04-Jun-2024].
- [96] U. C. Roopalatha Y V. M. Nair, “Phytochemical Analysis Of Successive Reextracts Of The Leaves Of *Moringa Oleifera* Lam”, *Innovareacademics.In*. [En Línea]. Disponible En: <https://www.innovareacademics.in/journal/ijpps/vol5suppl3/7426.pdf>. [Consultado: 04-Jun-2024].
- [97] L. L. Espada-Domínguez, A. Ferrer-Serrano, L. Y. Batista-King Ii, L. A. Bandera-Nápoles Iii, Y L. Y. Almeida-Acosta, “Flowers Of The Specie *Spilanthes Urens* Jacq”, *Sld.Cu*. [En Línea]. Disponible En: <http://scielo.sld.cu/pdf/ind/v28n1/ind06116.pdf>. [Consultado: 04-Jun-2024].
- [98] W. R. Tavares, M. Do C. Barreto, Y A. M. L. Seca, “Aqueous And Ethanolic Plant Extracts As Bio-Insecticides—Establishing A Bridge Between Raw Scientific Data And Practical Reality”, *Plants*, Vol. 10, Núm. 5, P. 920, 2021.

- [99] Bp Baker, Ta Green Y Aj Loker, “Control Biológico Y Manejo Integrado De Plagas En Sistemas Orgánicos Y Convencionales”, *Biol. Controlar* , Vol. 140, Núm. 104095, Pág. 104095, 2020.
- [100] "Las Aguas Residuales Como Recurso Para El Control De Plagas: Una Descripción General", Ncsu.Edu . [En Línea]. Disponible: <https://bioresources.cnr.ncsu.edu/resources/wastewater-as-a-resource-for-pest-control-an-overview/>. [Consulta: 4 De Junio De 2024].
- [101] Eo Fenibo, Gn Ijoma Y T. Matambo, “Biopesticidas En La Agricultura Sostenible: Un Impulsor Fundamental Del Desarrollo Sostenible Regido Por Los Principios De La Química Verde”, *Front. Sostener. Sistema De Alimentación.* , Vol. 5, 2021.
- [102] Dk Jaiswal, Sj Gawande, Ps Soumia, R. Krishna, A. Vaishnav Y Ab Ade, “Estrategias De Biocontrol: Una Herramienta Ecológica Para El Manejo Integrado De Plagas Y Enfermedades”, *Bmc Microbiol.* , Vol. 22, Núm. 1, 2022.
- [103] L. C. Vining Y W. A. Taber, “Estimation Of Ergot Alkaloids In Cultures Of *Claviceps Purpurea*”, *Can. J. Microbiol.*, Vol. 5, Núm. 5, Pp. 441–451, 1959.
- [104] T. P. P. O. E. L. G. A. De Licenciada En Química., “Occhipinti Angela”, *Edu.Ar.* [En Línea]. Disponible En: <https://repo.unlpam.edu.ar/bitstream/handle/unlpam/8617/Xtg-Occeva023.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y>. [Consultado: 09-Nov-2023].
- [105] C. Guo Et Al., “Advances In Research And Utilization Of Botanical Pesticides For Agricultural Pest Management In Inner Mongolia, China”, *Chin. Herb. Med.*, 2023.
- [106] Gloria Helena González Blair Jesús Antonio Galvis Vanegas Alexy Florez Vergara, “Manual De Zanahoria”, 2010.
- [107] Cram101 Textbook Reviews, Studyguide For Lehninger Principles Of Biochemistry By Nelson, David L., Isbn 9780716743392. La Vergne, Tn, Estados Unidos De América: Cram101, 2010.
- [108] C. Franzmann, J. Wächter, N. Dittmer, Y H.-U. Humpf, “Ricinoleic Acid As A Marker For Ergot Impurities In Rye And Rye Products”, *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 58, Núm. 7, Pp. 4223–4229, 2010.

- [109]E. E. Uu., “Equivalencia Internacional De Tamices”, Wordpress.Com. [En Línea]. Disponible En: <https://ucatedraivan.files.wordpress.com/2014/08/Equivalencia-Internacional-De-Tamices.Pdf>. [Consultado: 14-Nov-2023].
- [110]Z. Feng, W. Shen, G. P. Rangaiah, Y L. Dong, “Design And Control Of Vapor Recompression Assisted Extractive Distillation For Separating N-Hexane And Ethyl Acetate”, Sep. Purif. Technol., Vol. 240, Núm. 116655, P. 116655, 2020.
- [111]E. R. O. Silva, “Formulación De Un Insecticida Natural A Base De Concentrado De Alcaloides Del Lupinus Mutabilis”, Universidad Nacional Del Callao Facultad De Ingeniería Química Escuela Profesional De Ingeniería Química, Peru, 2022.
- [112]86 Fecha De Presentación Y. Número De La Solicitud Internacional:, “12 Traducción De Patente Europea”, Oepm.Es. [En Línea]. Disponible En: https://consultas2.oepm.es/pdf/es/0000/000/02/81/70/es-2817081_T3.Pdf. [Consultado: 15-Nov-2023].
- [113]“Separador Industrial Serie I - Industria Alimentaria - Separador Industrial”, Interempresas.Net. [En Línea]. Disponible En: <https://www.interempresas.net/alimentaria/feriavirtual/producto-separador-industrial-serie-i-188181.html>. [Consultado: 24-Jul-2024].
- [114]“Línea De Producción De Fertilizantes De Piedra Caliza”, Fabricante De Máquinas Para Fabricar Fertilizantes, 03-Abr-2024. [En Línea]. Disponible En: https://www.ysxmaquinasfertilizantes.com/product/linea-de-produccion-de-fertilizantes-de-piedra-caliza/?Gad_Source=1&Gclid=Cjwkcawjqf20bhbwewat7dtdsnqt9t42cvxrzjroleoy0_0pmqtc2qdlvygdqcbdg-U7x_Zytkfmrocz20qavd_Bwe. [Consultado: 24-Jul-2024].
- [115]Reactor Manufacturers & Suppliers, China Reactor Manufacturers Price. 2021.
- [116]“Catálogo Línea Almacenamiento”, Ainoxsas.Com. [En Línea]. Disponible En: <https://www.ainoxsas.com/catalogo-linea-almacenamiento/>. [Consultado: 24-Jul-2024].
- [117]“Market Leader In Agitation And Mixing Technology”, Ekato, 28-Sep-2020. [En Línea]. Disponible En: https://www.ekato.com/?keyword=Industrial%20mixers%20manufacturers&Device=C&Network=S&Gad_Source=5&Gclid=Eaiaiqobchminanr6mo-Hwmvbet_Ar3bwwxceaayasaegk_O_D_Bwe. [Consultado: 24-Jul-2024].

[118]“Secador Y Reactor Industrial Al Vacío Tipo Vmt - Amixon Gmbh - Catálogo Pdf”, Directindustry.Es. [En Línea]. Disponible En: <https://Pdf.Directindustry.Es/Pdf/Amixon-Gmbh/Secador-Reactor-Industrial-Vacio-Tipo-Vmt/29438-1014088.Html>. [Consultado: 24-Jul-2024].

[119] [7] “Máquinas Plaspak En Chile Para Envasar Y Procesar”, Plaspak.Cl. [En Línea]. Disponible En: https://Www.Plaspak.Cl/10-Equipos-Plaspak?Utm_Term=Envasadora%20automatica&Utm_Campaign=&Utm_Source=Adwords&Utm_Medium=Ppc&Hsa_Acc=4758848756&Hsa_Cam=20701987605&Hsa_Grp=152809959977&Hsa_Ad=678397943665&Hsa_Src=G&Hsa_Tgt=Kwd-6183317253&Hsa_Kw=Envasadora%20automatica&Hsa_Mt=B&Hsa_Net=Adwords&Hsa_Ver=3&Gad_Source=1&Gclid=Cjwkcajwqf20bhbweiwat7dtdntkqd84znkke3z9c8zt215wuf2rr3u5g6nj5fck4bmnfh5z-Tbvxcwqgqavd_Bwe. [Consultado: 24-Jul-2024].