

**OBTENCIÓN DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE HOJAS DE TABACO (*NICOTIANA  
TABACUM*) PARA INHIBICIÓN DEL HONGO *FUSARIUM OXYSPORUM***

**BRAYAN CAMILO PATIÑO SABOGAL**

**JOSE ALBERTO SÁNCHEZ OSORIO**

**Proyecto integral de grado para optar al título de  
INGENIERIO QUIMICO**

**DIRECTOR**

**DAVID LEONARDO SOTELO TOBON**

**Químico. MSc. cPhD.**

**FUNDACION UNIVERSIDAD DE AMERICA**

**FACULTAD DE INGENIERIA**

**PROGRAMA DE INGENIERIA QUIMICA**

**BOGOTA**

**2024**

**NOTA DE ACEPTACION**

---

---

---

Firma del director

---

Firma del jurado

---

Firma del jurado

---

Bogotá D.C agosto de 2024

## **DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD**

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. Mario Posada García-Peña

Consejero institucional

Dr. Luis Jaime Posada García-Peña

Vicerrectora Académica

Dra. María Fernanda Vega De Mendoza

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. Ricardo Alfonso Peñaranda Castro

Vicerrectora de Investigaciones y Extensión

Dra. Susan Margarita Benavides Trujillo

Secretario General

Dr. José Luis Macías Rodríguez

Decana Facultad de Ingeniería

Dra. Naliny Patricia Guerra Prieto

Directora Departamento de Ingeniería Ambiental e Ingeniería Química

Dra. Nubia Lliana Becerra Ospina

Las directivas de la 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.

## **DEDICATORIAS**

Dedicamos este trabajo de grado a nuestros padres; gracias por sus valiosas enseñanzas y ejemplos a seguir a lo largo de nuestras vidas.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi agradecimiento a mi madre y a mi padre, por su apoyo, sacrificio y acompañamiento constante a lo largo de esta etapa educativa, gracias por creer en mí y enseñarme a ser la persona que soy hoy en día.

A mi hermano mayor, por ser la inspiración, mi guía y por aconsejarme a lo largo de esta etapa, le agradezco por su compañía, comprensión y ánimo en los momentos más desafiantes, y a mi hermano menor, los consejos y la ayuda que ha brindado a mi vida y proceso formativo.

Al profesor David Leonardo Sotelo Tobon, mi director de tesis, quiero expresar mi agradecimiento por brindarme la oportunidad de hacer parte del semillero Bioside y de trabajar en este proyecto de grado.

A todos aquellos que de una forma u otra contribuyeron a la realización de este trabajo grado, gracias por su colaboración, consejos y motivación.

**BRAYAN CAMILO PATIÑO SABOGAL**

Quisiera agradecer en primera instancia a mi madre por estar desde el primer momento motivándome a salir adelante, a ser el mejor en lo que hago y nunca rendirme, por ser un apoyo incondicional y por siempre haber confiado en mí. A mi hermano que me ha enseñado muchas cosas sobre la vida, a luchar por mis sueños y tener la certeza y la tranquilidad que todo lo que se haga con el corazón y con buena intención, tendrá buenos resultados y dejará muchas enseñanzas, y finalmente a todos los profesores que me han transmitido su conocimiento semestre a semestre para ser el mejor ingeniero y la mejor persona que pueda ser.

JOSE ALBERTO SANCHEZ OSORIO

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
RESUMEN	15
INTRODUCCION	16
1. MARCO TEORICO	18
1.1 Genero Nicotiana	18
1.1.1 Nicotiana tabacum	18
1.1.2 Botánica	18
1.1.3 Condiciones climáticas de cultivo	18
1.1.4 Sistema de cultivo	19
1.2 Metabolitos	19
1.2.1 Metabolismos secundarios	20
1.2.2 Metabolitos secundarios	21
1.3 Nicotina	22
1.4 Biocidas	23
1.4.1 Biocidas a base de extractos vegetales	24
1.5 Hongos	24
1.5.1 Genero Fusarium	25
1.5.2 Fusarium oxysporum	26
1.5.3 Métodos de control contra Fusarium osysporum	26
1.6 Solventes	27
1.6.1 Solventes para extractos de Nicotiana tabacum	28
1.7 Métodos de extracción	29
1.7.1 Maceración fría	29
1.7.2 Destilación Soxleth:	30

1.7.3	Destilación simple	31
2.	OBJETIVOS	33
2.1	Objetivo general	33
2.2	Objetivos específicos	33
3.	MATERIALES Y METODOS	34
3.1	Obtención de la <i>Nicotina</i>	34
3.1.1	Preparación de materia prima	34
3.1.2	Extracción química	34
3.1.3	Secado del extracto	37
3.2	Caracterización del extracto	37
3.2.1	Ensayo para Taninos	39
3.2.2	Ensayo para Flavonoides	39
3.2.3	Ensayo de Esteroides	41
3.2.4	Ensayo de Quinonas	43
3.2.5	Ensayo de Alcaloides	43
3.3	Cultivo de <i>Fusarium oxysporum</i>	44
3.3.1	Activación de <i>Fusarium oxysporum</i>	44
3.3.2	Banco de trabajo	45
3.3.3	Medio de cultivo	46
3.4	Antibiogramas	46
3.4.1	Preparación de solución	46
3.4.2	Implementación de antibiogramas	48
4.	RESULTADOS	49
4.1	Rendimiento	49
4.2	Marcha fitoquímica	52

4.3	Eficacia de los extractos	53
4.3.1	Eficacia de maceración en frío	54
4.3.2	Eficacia de Destilación simple	58
4.3.3	Eficacia de Destilación Soxhlet	63
5.	SELECCION DEL PROCESO	70
5.1	Evaluación de alternativas	71
5.1.1	Dimensión económica.	72
5.1.2	Dimensión ambiental	74
5.1.3	Dimensión social	75
5.2	Rendimiento	75
5.2.1	Eficiencia	76
5.2.2	Inhibición	76
5.2.3	Recuperación del solvente	77
5.2.4	Escalabilidad	77
5.3	Análisis de resultados y conclusiones para la toma de decisión	78
6.	PLANTA PILOTO	81
6.1	Balance de masa	81
6.1.1	Balance de masa experimental	81
6.1.2	Balance de masa escalado a planta piloto	82
6.1.3	Balance de masa por equipos	82
6.2	Balance de energía de los procesos de separación	84
6.2.1	Destilación flash	84
6.2.2	Torre de destilación extractiva	84
6.3	Diseño del proceso	84
6.3.1	Descripción del proceso	85

6.3.2	Diagrama de bloques	86
6.4	Equipos	86
6.4.1	Selección y dimensionamiento de equipos	86
6.5	Especificaciones y costos	89
6.5.1	Indicadores económicos	90
6.6	Control, regulaciones y seguridad	91
6.6.1	Monitoreo y control de la planta	91
6.6.2	Regulaciones de la planta	92
7.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	94
8.	CONCLUSIONES	97
	REFERENCIAS	98

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1 <i>Metabolitos secundarios en las plantas</i>	20
Figura 2 <i>Molécula de nicotina</i>	22
Figura 3 <i>Esquema de extracción simple</i>	31
Figura 4 <i>Esquema de extracción simple</i>	32
Figura 5 <i>Maceración fría</i>	35
Figura 6 <i>Destilación simple</i>	36
Figura 7 <i>Extracción Soxhlet</i>	37
Figura 8 <i>Inicio marcha fitoquímica.</i>	38
Figura 9 <i>Preparación marcha fitoquímica</i>	38
Figura 10 <i>Ensayo taninos</i>	39
Figura 11 <i>Ensayo Flavonoides parte 1</i>	40
Figura 12 <i>Ensayo Flavonoides parte 2</i>	41
Figura 13 <i>Ensayo Esteroides parte 1</i>	42
Figura 14 <i>Ensayo Esteroides parte 2</i>	42
Figura 15 <i>Ensayo Quinonas. Prueba para quinonas parte insoluble</i>	43
Figura 16 <i>Ensayo Alcaloides</i>	44
Figura 17 <i>Banco de trabajo</i>	45
Figura 18 <i>Soluciones Madre</i>	46
Figura 19 <i>Diluciones por cada tipo de extracción</i>	47
Figura 20 <i>Paquete de cultivos para Maceración en frio</i>	54
Figura 21 <i>Antibiograma #1 para maceración en frio</i>	55
Figura 22 <i>Antibiograma #2 para maceración en frio}</i>	55
Figura 23 <i>Antibiograma #3 para maceración en frio</i>	56
Figura 24 <i>Prueba de inhibición con componente químico</i>	56
Figura 25 <i>Prueba con Agua desionizada para maceración en frio</i>	57
Figura 26 <i>Comportamiento del hongo sin inhibición para maceración en frio</i>	57
Figura 27 <i>Paquete de cultivos para Destilación Simple</i>	58
Figura 28 <i>Antibiograma #1 para destilación simple</i>	59

Figura 29 <i>Antibiograma #2 para Destilación simple</i>	60
Figura 30 <i>Antibiograma #3 para Destilación simple</i>	61
Figura 31 <i>Prueba con Hidróxido de sodio para Destilación simple</i>	62
Figura 32 <i>Prueba con Agua desionizada para Destilación simple</i>	62
Figura 33 <i>Comportamiento del hongo sin inhibición para Destilación simple</i>	63
Figura 34 <i>Paquete de pruebas para Destilación Soxhlet</i>	64
Figura 35 <i>Antibiograma #1 para Destilación Soxleth</i>	64
Figura 36 <i>Antibiograma #2 para Destilación Soxleth</i>	65
Figura 37 <i>Antibiograma #3 para Destilación Soxlhet</i>	66
Figura 38 <i>Prueba de inhibición con Hidróxido de sodio para Destilación Soxhlet</i>	67
Figura 39 <i>Prueba con Agua desionizada para Destilación Soxlhet</i>	68
Figura 40 <i>Comportamiento del hongo sin inhibición para Destilación Soxhlet</i>	69
Figura 41 <i>Evaluación de alternativas de procesos</i>	72
Figura 42 <i>Diseño de proceso</i>	85
Figura 43 <i>Diagrama de bloques para el proceso de destilación Simple</i>	86

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 <i>Solventes por polaridad.</i>	28
Tabla 2 <i>Rendimiento para Maceración en frío</i>	50
Tabla 3 <i>Desviación estándar y coeficiente de variación para Maceración en frío</i>	51
Tabla 4 <i>Rendimiento para Destilación Simple</i>	51
Tabla 5 <i>Resultados estadísticos para destilación simple</i>	51
Tabla 6 <i>Rendimiento para extracción Soxhlet</i>	52
Tabla 7 <i>Resultados estadísticos para destilación Soxhlet</i>	52
Tabla 8 <i>Resultados marcha fitoquímica</i>	53
Tabla 9 <i>Balance económico destilación simple</i>	73
Tabla 10 <i>Balance económico maceración fría</i>	73
Tabla 11 <i>Balance económico método soxhlet</i>	74
Tabla 12 <i>Resultados de tiempo experimental y teórico para cada tipo de extracción</i>	76
Tabla 13 <i>Producción estimada de planta piloto</i>	78
Tabla 14 <i>Resultados para la toma de decisión</i>	79
Tabla 15 <i>Resultados de las dimensiones TBL</i>	79
Tabla 16 <i>Especificaciones y costos</i>	89

## RESUMEN

El mercado de los fungicidas en Colombia está experimentando un crecimiento exponencial debido a las condiciones favorables para la agricultura en el país, incluyendo el clima, el suelo y la diversidad de cultivos. Estas condiciones también facilitan el crecimiento de hongos que pueden contaminar los cultivos agrícolas, resultando en pérdidas significativas si no se aplican fungicidas adecuados y a tiempo.

Los fungicidas más utilizados actualmente contienen compuestos químicos como triazoles, estrobilurinas, benzimidazoles y dicarboximidas, diseñados para inhibir o eliminar hongos según sus mecanismos de acción. Sin embargo, muchos de estos fungicidas tienen efectos secundarios negativos en los suelos, como la infertilidad y la contaminación de aguas cercanas, así como en plantas que sirven de alimento para animales locales.

Por esta razón, se ha impulsado la investigación hacia el desarrollo de fungicidas a partir de materia prima orgánica para mitigar estos efectos secundarios de los productos sintéticos. El proyecto actual busca evaluar tres métodos de extracción etanólica y la capacidad de la hoja de tabaco para inhibir el hongo *Fusarium Oxysporum*, utilizando un alcaloide presente en la planta de hoja de tabaco (Nicotina). Este alcaloide interfiere con la membrana celular del hongo, inhibe enzimas fúngicas y detiene su crecimiento.

El proyecto busca identificar el método de extracción más eficaz en términos de rendimiento, capacidad de inhibición, eficiencia, análisis económico, minimización de riesgos ambientales y sociales. Con estos resultados, se planea conceptualizar una planta piloto para la producción a escala media del fungicida orgánico. Este plan incluirá la definición del diagrama de bloques, balances de masa, costos de equipos, cumplimiento de regulaciones, medidas de seguridad y sistemas de control necesarios para la operación de la planta.

Este enfoque permitirá establecer una base sólida para la escalabilidad de la extracción etanólica seleccionada y la posterior implementación del fungicida orgánico en la industria agrícola.

## INTRODUCCION

Los hongos fitopatógenos son una preocupación en la agricultura, causantes de enfermedades de pre y postcosecha en cultivos de hortalizas, cereales y plantas frutales, siendo responsables de grandes pérdidas económicas. Cada año, se aplican miles de toneladas de agroquímicos en el mundo para controlar a estos organismos [1]. Entre los hongos fitopatógenos más comunes se encuentra *Fusarium oxysporum*, un hongo filamentoso perteneciente a la familia *Nectriaceae*, culpable de importantes pérdidas económicas y alimentarias. En 2012, fue incluido entre los 10 hongos fitopatógenos más importantes del mundo [2]. *Fusarium oxysporum* causa síntomas como pudrición de la raíz, disminución de rigidez en el tallo, marchitez de las hojas, y puede provocar la muerte de la planta hospedera al expandirse a lo largo de ella [3].

El control de *Fusarium oxysporum* se realiza principalmente mediante el uso de fungicidas sintéticos. Sin embargo, el uso frecuente de estos químicos conlleva efectos adversos en la salud y el medio ambiente, debido a componentes como bencenos, carbamatos, ditiocarbamatos, compuestos de cobre, mercurio, estaño, entre otros. Varios estudios han señalado que la aplicación repetida de fungicidas puede inhibir procesos en los agroecosistemas, especialmente en el suelo, reduciendo la población microbiana beneficiosa, afectando la absorción de nutrientes por las plantas, alterando el pH del suelo y causando infertilidad [4].

En respuesta a estos problemas, ha aumentado la investigación y desarrollo de alternativas sostenibles y ecológicas. Una de estas opciones es el uso de extractos vegetales, que poseen propiedades antifúngicas naturales y reducen el impacto ambiental.

Los extractos vegetales y los aceites esenciales han demostrado ser efectivos en el control de hongos fitopatógenos. Estos compuestos derivados de las plantas están formados por sustancias bioactivas producidas en procesos de metabolización, actuando como productos intermedios o finales. Los extractos etanólicos de plantas han mostrado resultados positivos en la obtención de compuestos con propiedades antimicrobianas. El etanol se utiliza como solvente eficiente para disolver una amplia gama de bioactivos, como alcaloides, flavonoides, terpenoides y fenoles, debido a su polaridad.

El objetivo de este estudio es seleccionar entre tres métodos de extracción etanólica de *Nicotiana tabacum* y evaluar la efectividad de estos extractos en la inhibición del hongo *Fusarium oxysporum* a diferentes concentraciones. Los extractos que demuestren un mejor desempeño serán evaluados

para su potencial escalado en el diseño de una planta piloto destinada a la producción de un biocida a partir de estos extractos vegetales.

## 1. MARCO TEORICO

### 1.1 Genero *Nicotiana*

Son plantas originarias principalmente de América del Sur y Australia, plantas típicamente herbáceas, aunque algunas pueden ser arbustos o arboles pequeños. Son de hojas grandes y sus flores suelen ser de color blanco, amarillo, rojo y morado. Este género contiene 88 especies clasificadas desde la *Nicotiana acaulis* hasta la *Nicotiana sanderae* [5]

#### 1.1.1 *Nicotiana tabacum*

El tabaco *Nicotiana tabacum*, es originaria de Sur América, específicamente de los andes. Es una hierba de la familia de las solanáceas, la planta de tabaco se cultiva por sus hojas de tabaco las cuales se secan para producir cigarrillos, puros y tabaco de mascar. El componente activo de las hojas de tabaco y lo que la hace adictiva es la nicotina sustancia que tiene también un efecto farmacológico utilizándose para estimulación y sedación. [6]

Es una planta herbácea anual importante, económicamente, que crece en climas cálidos y con suelos húmedos, se cultiva a partir de semillas o esquejes y su cosecha alcanza la madurez completa, luego sus hojas pasan por un proceso industrial para producir productos para el consumo humano.

#### 1.1.2 *Botánica*

*Nicotiana tabacum* es una planta anual, con raíces fibrosas que se encuentran a 30cm de profundidad, un tallo erecto que alcanza una altura de 1.4 a 2.7m de donde brotan sus hojas largas y anchas y produce alrededor de 10 a 20 hojas, su fruto es una capsula ovoide y sus flores presentan colores rosa y rosado en forma de 5 sépalos y sus semillas son pequeñas y de color oscuro; aproximadamente 10.000 semillas pesan 1g y germinan de 10 a 20 días. [7]

#### 1.1.3 *Condiciones climáticas de cultivo*

Es una especie que se desarrolla en un margen extenso de condiciones ambientales. Algunos aspectos óptimos para el crecimiento y desarrollo de la planta son:

Temperatura: La temperatura ideal oscila entre los 18°C y los 28°C. Requiriendo un promedio de 3700°C para completar su estado vegetativo.

Luz: La cantidad de luz que reciba la planta afecta a la formación de nicotina favoreciendo las distintas cantidades de este alcaloide.

Precipitaciones: La planta soporta la sequía, pero el tamaño de las hojas y la calidad dependen de la cantidad de agua que se obtenga durante el ciclo vegetativo.

Viento: Si son muy intensos o frecuentes pueden causar traumatismo y ruptura del tallo.

Suelo: Los suelos debes tener un nivel de acides entre 5,2 y 6.2 con un 3% de materia orgánica.

La calidad de nicotina obtenida en las hojas también depende de estas condiciones. [8]

#### **1.1.4 Sistema de cultivo**

1.1.4.a Semilleros. El semillero constituye una etapa crucial en el cultivo del tabaco, requiriendo tierra suelta con buen drenaje tanto superficial como subterráneo. La selección adecuada del terreno y el uso de semillas de alta calidad son el primer paso para establecer una plantación exitosa.

Los métodos de semillero varían según la especie de tabaco a cultivar. En Colombia, se cultivan dos tipos: Tabaco Burley y Tabaco Negro. Para el primero, se emplea la técnica del sistema de piscinas, donde se prepara la tierra formando canales que facilitan la hidratación de las semillas. En cambio, para el Tabaco Negro se utiliza el método tradicional, donde las semillas se siembran directamente en el suelo sin ninguna preparación adicional [5].

1.1.4.b Cosecha. La cosecha se realiza en el momento en el que las hojas se vuelven amarillentas con una viscosidad y un sudor particular además de un olor penetrante, fuerte y característico. Es difícil obtener una maduración igual en todo el tabaco, por esta razón se realiza una cosecha parcializada. Se deja madurar la planta y se cortan las hojas por orden de nacimiento de una a tres por tallo, luego se coloca en unas varas llamadas cujes, de esta manera la hoja queda libre por lado y lado, se lleva a un proceso de secado hasta que obtengamos la característica deseada de hoja.

1.1.4.c Secaderos. Los secaderos son unas estructuras construidas especialmente para una buena curación del tabaco. Debe procurarse que estos espacios sean oscuros, no sean húmedos y tengan una buena y fácil ventilación.

### **1.2 Metabolitos**

Las células de los seres vivos sintetizan elementos como carbono, nitrógeno, oxígeno, entre otros mediante reacciones químicas necesarias para el funcionamiento del organismo estando inmersas en procesos de crecimiento, desarrollo o reproducción a estos se le denominan metabolitos primarios, pero las plantas poseen la capacidad de sintetizar varias moléculas orgánicas que no

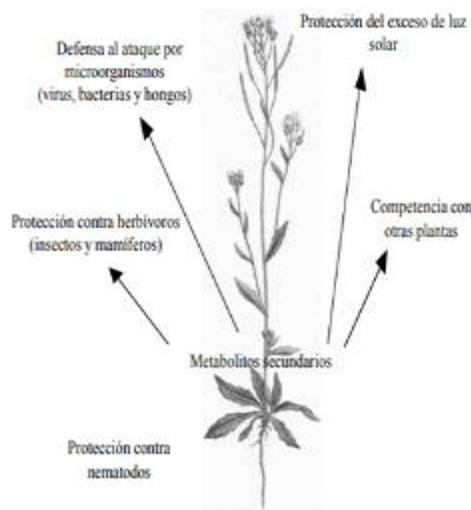
tienen una función directa con los procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de carbohidratos o lípidos. [9]

### 1.2.1 *Metabolismos secundarios*

Las plantas producen muchos compuestos bioactivos y de metabolitos secundarios, utilizando estos para defenderse al ataque de insectos, microorganismos y como medio de adaptación al ecosistema. Durante años se han utilizado estos compuestos bioactivos principalmente en la producción de medicamentos y preservantes de alimentos, pero se ha demostrado que tiene efectividad para modular selectivamente las poblaciones de algunas plagas que atacan cultivos agrícolas.

**Figura 1**

*Metabolitos secundarios en las plantas*



**Nota:** La figura anterior muestra la función de los metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas. Avalible: [https://www.researchgate.net/publication/242671743\\_La\\_Participacion\\_de\\_los\\_Metabolitos\\_Secundarios\\_en\\_la\\_Defensa\\_de\\_las\\_Plantas](https://www.researchgate.net/publication/242671743_La_Participacion_de_los_Metabolitos_Secundarios_en_la_Defensa_de_las_Plantas)

Como parte de esta defensa química las plantas sintetizan y acumulan compuestos de bajo peso molecular, algunos pertenecientes al grupo de los alcaloides, los terpenoides y los fenilpropanoides, que participan de una forma directa matando selectivamente microorganismos patógenos que se encuentran en la planta.

### ***1.2.2 Metabolitos secundarios***

1.2.2.a Alcaloides. Los alcaloides son compuestos heterocíclicos sintetizados a partir de algunos aminoácidos como lo son: el triptófano, tirosina, fenilamina, lisina, arginina y ornitina. Los alcaloides se pueden dividir en los siguientes grupos: alcaloides isoquinolécicos, alcaloides quinolizidínicos, alcaloides pirrolizidínicos, alcaloides tropánicos y alcaloides indólicos [10] Sus efectos inhibidores del crecimiento microbiano radican en su capacidad de intercalarse en el DNA impidiendo la síntesis de proteínas y enzimas de transcripción lo que contribuye a los efectos aleloquímicos y tóxicos contra bacterias, hongos, virus, insectos y vertebrados de esta forma impide su crecimiento y desarrollo. Como antes se mencionó los alcaloides se sintetizan para defensa de las plantas, pero se conocen de microorganismos que evitan estos métodos de defensa asimilando, transportando y almacenando estos compuestos para utilizarlos en beneficio propio. Entre los alcaloides con actividad biológica tenemos la Nicotina, Sanginarina, Citisina, Berberina Betanina entre otros.[11]

1.2.2.b Taninos. Son un grupo de metabolitos secundarios que defienden a las plantas de microorganismos, por la capacidad de su estructura química de unirse con las proteínas y precipitarlas.

Los taninos tienen un olor característico, sabor amargo y astringente, de color amarillo hasta castaño oscuro, existen dos clases de taninos: Los taninos condensados son polímeros derivados de un flavonoide mayormente encontrados en madera de plantas leñosas y los taninos hidrolizables polímeros formados por ácidos fenólicos, ácido gálico y azúcares simples. [12]

1.2.2.c Flavonoides. Es un grupo de metabolitos secundarios que presenta en su esqueleto 15 carbonos ordenados en dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres carbonos. Se clasifican en antocianinas, flavonas, flavonoles e isoflavonas y depende del estado de oxidación del puente de carbonos en cada caso. Las plantas emplean este metabolito para la defensa ante microorganismos y para la generación de sus pigmentos. [13]

1.2.2.d Esteroides. Los esteroides son de estructura básica conformada de cuatro anillos de ciclopentano, se encuentra en plantas y animales. Descubierta en 1926 en plantas de cereales como avena ya arroz. Otros investigadores demostraron la actividad en remolacha, la papa y la levadura. Luego de tres años se descubrió que los humanos generan esteroides por una hormona llamada estrona secretada por los ovarios.

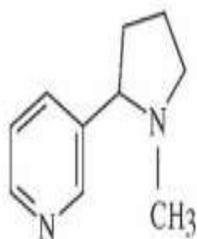
1.2.2.e Quinonas. Las quinonas son dicetonas cíclicas conjugadas encargadas de la oxidación y reducción de los sistemas bioquímicos son muy comunes en plantas, hongos, bacterias y en el reino animal en artrópodos y equinodermos dentro de las planas, ligada a la oxidación de NADPH compuesto presente en el proceso de fotosíntesis en la fase oscura. Se clasifican en benzoquinonas, naftoquinonas o antraquinonas. [14]

### 1.3 Nicotina

La fórmula química de la nicotina es  $C_{10}H_{14}N_2$  y su estructura química se observa en la figura 2.

**Figura 2**

*Molécula de nicotina*



**Nicotina**

Nota: La figura ilustra la Molécula de nicotina Available: [https://www.researchgate.net/publication/284284409\\_PLAGUICIDAS\\_BOTANICOS\\_UNA\\_ALTERNATIVA\\_A\\_TENER\\_EN\\_CUENTA](https://www.researchgate.net/publication/284284409_PLAGUICIDAS_BOTANICOS_UNA_ALTERNATIVA_A_TENER_EN_CUENTA)

La nicotina fue conocida en 1809 y está formada por una piridina 3-sustituida enlazada a un anillo N- metilpirrolidina, se sintetiza principalmente en las raíces de la planta y de allí es conducida por la savia a través del tallo para acumularse en las hojas bajo forma de sales orgánicas. [15]

Este alcaloide se encuentra en las hojas de 0.6 a 6% de nicotina y puede llegar al 15% en algunos casos. [16] La nicotina es el alcaloide con mayor representación con un 95% del total de la fracción alcaloide el segundo es la nornicotina. En los últimos años se le ha dado importancia a los extractos de esta planta para ser utilizados como repelentes por ejemplo en Brasil donde se han realizado estudios como un inhibidor de la garrapata común.

La nicotina es un compuesto que a temperaturas elevadas se descompone, es de color amarillo o marrón, de aspecto aceitoso, es de un olor fuerte, combustible higroscópico, soluble en agua y alcohol, también es toxica, adictiva y venenosa.

#### **1.4 Biocidas**

Los biocidas son sustancias naturales químicas o biológicas utilizadas para destruir, controlar, prevenir o mitigar organismos nocivos, como bacterias, virus, hongos, insectos, roedores u otras plagas que pueden afectar la salud humana, la agricultura, la ganadería, el medio ambiente o la industria. La mayoría de los biocidas actúan sobre la membrana celular de las células vivas, especialmente sobre los lípidos, proteínas, ácidos nucleicos, minerales, hormonas además de otros elementos que se encuentran en la célula. [17]

Sus características son:

- Amplio rango de actividad frente a los organismos a combatir.
- Capacidad para mantenerse activo a diferentes rangos de pH.
- Alta solubilidad en agua.
- Efectividad a bajas concentraciones de esta forma se aminora los costos de transporte, almacenamiento y producción.
- Baja toxicidad para los humanos.
- Compatible con sustancias químicas presentes en el proceso.

Los biocidas están divididos en 22 tipos de productos de acuerdo con su uso, que se clasifican en grupos de acuerdo con su blanco de acción y el efecto específico que ejercen dentro de estos se encuentran:

Grupo 1: Desinfectantes.

Grupo 2: Conservantes.

Grupo 3: Plaguicidas.

Grupo 4: Otros biocidas.

El control de plagas usando biocidas se acepta en múltiples ámbitos, pero los organismos desarrollan estrategias inherentes que les confiere la capacidad de evadir estos compuestos. Es por esto que la acción del biocida esta medida por factores, que le causan a las células un daño irreversible, logrando el control del microorganismo y generando así la inhibición o eliminación de manera exitosa. [18]

#### ***1.4.1 Biocidas a base de extractos vegetales***

Algunos tipos de plantas producen compuestos que tienen la capacidad de inhibir el ataque de ciertos patógenos, como los exudados fungitóxicos presentes en las hojas de algunas especies. Estos compuestos, como los fenoles y taninos, se acumulan en altas concentraciones en las células vegetales, especialmente en las hojas o frutos jóvenes, como respuesta a la infección.

Estas plantas contienen principios activos como sales minerales (silícicas, potásicas, magnésicas y de aluminio), saponósidos (equisetonina), taninos, flavonoides (isoquercetrósido, glucósidos de kenferol), vitaminas, ácidos y trazas de alcaloides. Estos compuestos orgánicos se utilizan como biocidas debido a su actividad antimicrobiana y a los efectos bioactivos que generan como resultado de los compuestos químicos que producen [19].

### **1.5 Hongos**

Los hongos presentan características generales como una membrana nuclear y organelos rodeados de membrana definidos como células eucariotas. Los hongos necesitan carbohidratos complejos como fuente de energía ya que no pueden hacer fotosíntesis ni fijar carbono, por lo que son heterótrofos.

La mayoría de los hongos toman sus nutrientes por absorción, obteniéndolos por la degradación de compuestos complejos por las exoenzimas que liberan al medio; realizando una digestión extracelular, permitiendo utilizar muchos sustratos como nutrientes y fuentes de energía, interviniendo activamente en los ciclos de carbono y nitrógeno.

Un gran porcentaje de estos hongos son aerobios estrictos porque necesitan para crecer el oxígeno libre como aceptor de electrones, pero algunos pueden ser anaerobios facultativos, pueden usar otras moléculas como aceptores de electrones. Adicionalmente, se conoce que un grupo de hongos que vive en el rumen de los herbívoros no poseen mitocondria sino hidrogenosomas y son anaerobios estrictos.

Son organismos que no poseen flagelos, por lo cual no son capaces de tener movimiento por sí mismos, a excepción de las zoosporas y los planogametos de los hongos acuáticos. La fase somática o vegetativa (talo) puede ser unicelular como en las levaduras; filamentosa como en los mohos cuya fase somática está constituida por filamentos tubulares denominados hifas. [20]

### **1.5.1 Genero *Fusarium***

El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos habitante del suelo, muchas de sus especies causan enfermedades a los seres vivos (Humanos, animales y plantas), Las especies *Fusarium* pueden causar un amplio espectro de enfermedades, en plantas son muy variados e incluyen pudriciones de raíces y tallos, chancros, marchiteces, pudriciones de frutos y semillas y daños en las hojas. Las marchiteces por *Fusarium* afectan y causan pérdidas económicas ya que afectan varios cultivos como hortalizas, flores, algodón, tabaco, banano, café tomate y caña de azúcar. [21]

Entre las enfermedades más importantes está el mal de Panamá causada por *Fusarium oxysporum* la cual corresponde a una epidemia que ha pasado fronteras, ya que la enfermedad a llegado a Colombia hace unos años afectan principalmente los cultivos de plátano y banano.

En el género *Fusarium* se reconocen más de 200 especies, se estima que el 70% de estas son patógenas, según los datos de la Sociedad Americana de Fitopatología (APS), Colombia registra al menos 54 especies de *Fusarium* como patógenas entre las que se encuentran *F. oxysporum f. sp cubense*, *Fusarium solani f. sp. Phaseoli* *Fusarium graminearum* y *Fusarium verticillioides*. [22]

### **1.5.2 *Fusarium oxysporum***

*Fusarium oxysporum* es un hongo habitante del suelo que puede sobrevivir por varios años sin la presencia del hospedante, parasitando más de 100 especies de plantas Gimnospermas y Angiospermas, esto debido a la capacidad que tiene el hongo para vencer las defensas de muchas plantas. Es la especie de *Fusarium* de mayor importancia económica ya que el hongo alberga en el suelo cepas patógenas para diferentes cultivos, se caracteriza por producir colonias de rápido crecimiento. La morfología de las colonias es variable, pero presenta textura algodonosa, de blanco a rosado durazno y un tinte purpura o violeta. [23]

El hongo se conserva en el suelo y puede sobrevivir a una profundidad de 100 a 150cm, resiste a la desecación y a la saturación del agua en el suelo. Las esporas pueden difundirse durante la manipulación de la planta, por el agua de riego o por el viento, luego se depositan sobre los sustratos de cultivo. El micelio se desarrolla y empieza a contaminar la raíz, por heridas o aperturas naturales, debido a esto, las esporas y la resina que secreta la planta para defenderse, el tejido vascular se bloquea y da lugar al principal síntoma que genera *Fusarium oxysporum* la marchitez. El hongo sigue creciendo, generando esporas en el tejido muerto y dando lugar a las macroconidias, puntas de *Fusarium* en forma de luna que luego se dispersan hasta dañar completamente el cultivo.

En distintos países y en diversas épocas se han presentado epidemias por *Fusarium oxysporum* atacando plantas económicamente importantes, causando marchitamientos vasculares y muerte en las plantas, En hortalizas se registran ataques contra cultivos de tomate, apio, repollo, espárragos y remolacha. En frutas ataca se registran ataques en banano, plátano, cítricos, melón y guayaba. En leguminosas hay ataques en granos de frijol, soya, alverja, lenteja y garbanzo. En plantas productoras de aceite en ajonjolí y palma africana. En plantas productoras fibra se encuentra en lino y cáñamo. En cultivos ilícitos se registra ataque en coca, amapola y marihuana. [24]

### **1.5.3 *Métodos de control contra Fusarium oxysporum***

1.5.3.a Métodos biológicos. Para el control de esta enfermedad se ha propuesto una lucha biológica utilizando otro tipo de microorganismos antagonistas como diversos hongos y bacterias para el control de la especie *Fusarium oxysporum*.

Algunas bacterias fluorescentes tales como *Pseudomonas putida*, *Paeruginosa* y *pseudomonas* han reducido notablemente la infección por *Fusarium oxysporum*. Además algunas combinaciones de

bacterias y el quelato de hierro EDDHA han ocasionado una acción aditiva a la reducción de la enfermedad. Otras bacterias quitinolíticas como *Serratia liquefaciens*, *Arthrobacter sp* y *Alcaligenes Sp.* han logrado también la reducción apreciable de este tipo de hongo.[25] En Finlandia se demostró la variedad antagonista de diversas especies de *Streptomyces* en el control de *Fusarium oxysporum*, siendo el aislamiento de *Streptomyces griseoviridis*, la especie de bacteria antagonista más efectiva y la cual se comercializa bajo el nombre de Mycostop.

Además de los métodos mencionados, la aplicación combinada de estos microorganismos con otras sustancias parece ser la estrategia más conveniente para un mejoramiento racional enfermedad, sin embargo, son procesos que tienen que hacerse con exactitud para que sean realmente efectivos y económicamente viable.

1.5.3.b Métodos químicos. Para disminuir el hongo en el suelo, se utiliza un tratamiento con vapor y fumigantes. El tratamiento con vapor al suelo ha sido el método más eficiente para reducir la enfermedad y se ha logrado tener mayor eficiencia con la aplicación previa de algunos fumigantes. A pesar de la alta eficiencia de este método presenta alguna limitación, como lo son su alto costo y la desprotección biológica del suelo después del tratamiento.

Así mismo se han utilizado diversos fumigantes, tales como lo son Metan-sodio, Dazomet, Metil-isotiocianato, Formaldehido y Bromuro de metilo, los cuales se obtienen resultados variables de control y una erradicación parcial del patógeno. Estos activos fumigantes son costosos, tienen una poca selectividad y ocasionan una reducción muy apreciable de los antagonistas biológicos anteriormente mencionados. La aplicación sistemática de otros fungicidas del grupo de los Benzimidazoles y de los Tiofanatos ha sido otro de los métodos de control de enfermedades con resultados variables, hay investigadores que apoyan estos dos últimos, pero otros que rechazan y refutan estas afirmaciones. [26]

## **1.6 Solventes**

Un solvente es una sustancia capaz de disolver o diluir otras sustancias debido a su estructura molecular, que permite que interactúe con los solutos y los separe de su estructura original, formando una mezcla homogénea. Un solvente es considerado suficientemente puro si no contiene impurezas en cantidad para inferir sobre la calidad admisible del producto.

El agua es el solvente más común y ampliamente utilizado en todo el mundo, como en la fabricación de productos químicos, procesos biológicos, de limpieza, entre otros. Así como el

agua, existe una gran variedad de disolventes orgánicos como la acetona, el etanol, el metano, entre otros; Estos solventes tienen la particularidad de ser utilizados mayormente en la industria química y en laboratorios para disolver productos orgánicos y realizar reacciones químicas.

En la industria petrolera podemos encontrar muchos disolventes extraídos del proceso de refinamiento de los crudos, utilizados en aplicaciones como la limpieza de grasas y aceites, extracción de aceites esenciales y fabricación de productos químicos. Estos solventes son hidrocarburos refinados como la gasolina, el queroseno, aromáticos BTX (benceno, tolueno, xileno), la nafta, parafinas y otros derivados del petróleo.

Para tener un buen criterio de selección de solventes para la extracción requerida es importante tener en cuenta factores como la naturaleza del soluto, su compatibilidad, la toxicidad y seguridad asociados con el solvente, el costo y consideraciones ambientales. Al considerar estos factores, es posible tomar una decisión informada sobre qué solvente utilizar en una aplicación específica para minimizar riesgos y tener el mejor rendimiento en el producto final. [27]

### ***1.6.1 Solventes para extractos de *Nicotiana tabacum****

Los compuestos orgánicos presentes en las plantas generalmente son más solubles en solventes orgánicos que en agua. La elección del disolvente depende de la solubilidad, la volatilidad, inflamabilidad y toxicidad. En la tabla 1 se muestran algunos disolventes según su polaridad. Cuanto mayor es la afinidad del disolvente por el extracto es más fácil su extracción y esto depende de la polaridad de ambos. El disolvente de extracción debe ser inerte, no altere la forma química del compuesto que se quiere extraer.

**Tabla 1**

*Solventes por polaridad*

<b>Éter de petróleo</b>	
<b>n- Hexano</b>	
<b>Benceno</b>	
<b>Tolueno</b>	
<b>Xileno</b>	

Cloroformo	<p>MENOS POLAR</p> <p>MAS POLAR</p>
Éter Etflico	
Acetato de Etilo	
cetona	
Etanol	
Metanol	
Agua	
Ácido acético	

**Nota:** La tabla anterior muestra los diferentes solventes que se utilizan ordenados de menor polaridad a mayor polaridad

Para extraer los componentes de un tejido animal o vegetal, se parte del material molido, la extracción de un compuesto orgánico depende de la polaridad del disolvente elegido, normalmente se utiliza un disolvente poco polar para la extracción de metabolitos secundarios. En algunos casos los residuos se separan y se somete a una nueva extracción con un solvente de mayor polaridad. [28].

La elección del solvente se realiza con base en dos artículos de investigación titulados Obtención de alcaloides a partir de corteza y madera de la especie *Rollinia pittieri* (ANNONACEAE) [29] y Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales, [30] en los que se utiliza etanol al 96% para extraer metabolitos secundarios alcaloides de diferentes plantas, ya que la afinidad que tiene este solvente con este tipo de compuestos bioquímicos hace una extracción más rápida, aumentando el rendimiento y la cantidad de extracto final obtenido.

## 1.7 Métodos de extracción

### 1.7.1 Maceración fría

La maceración en frío es una técnica de extracción solido-líquido que consiste en remojar el material a extraer debidamente triturado en un solvente apropiado, hasta que este penetre los tejidos ablandando y disolviendo las porciones solubles, debe realizarse en un recipiente que no reaccione con el disolvente, normalmente se utiliza vidrio. El recipiente se sella y se almacena por un periodo determinado de tiempo en un lugar fresco y oscuro agitándose ocasionalmente. Después

de haber pasado el tiempo se obtendrá los compuestos a extraer gracias a la afinidad que este tiene con el material a extraer. [31]

### ***1.7.2 Destilación Soxleth:***

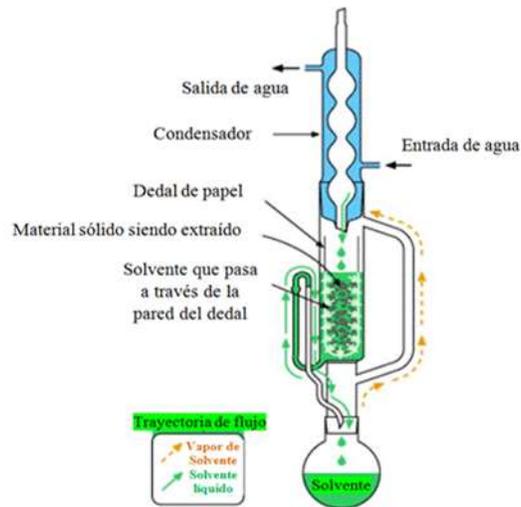
La extracción Soxleth consiste en el lavado de la materia prima solida con un determinado solvente líquido que va extrayendo los componentes más solubles, mientras está en un constante calentamiento. Esto ocurre en un aparato de extracción continuo solido-liquido llamado extractor Soxleth que se usa comúnmente para extracción de productos naturales.

Entre sus ventajas se incluye el uso de grandes cantidades de muestra y que el proceso en el equipo se hace de manera casi continua, es decir, no tienen que estar controlados continuamente. Entre sus inconvenientes se destaca los largos tiempos de extracción, uso de grandes cantidades de disolventes y la necesidad de concentración después de la extracción. [32]

La velocidad de reflujo depende de la eficiencia y el tamaño del condensador. La materia para extraer se introduce en unos cartuchos porosos y se coloca en el centro del recipiente posteriormente el solvente se calienta, los vapores suben por el tubo y llegan al condensador en donde el solvente cambia de estado y cuando el sifón se llena, se desocupa y regresa al recipiente como solvente+extracto. Este proceso se repite hasta que se completa un número determinado de sifonados. A continuación, en la figura 3 se muestra el proceso de extracción Soxleth. [33]

**Figura 3**

*Esquema de extracción simple*



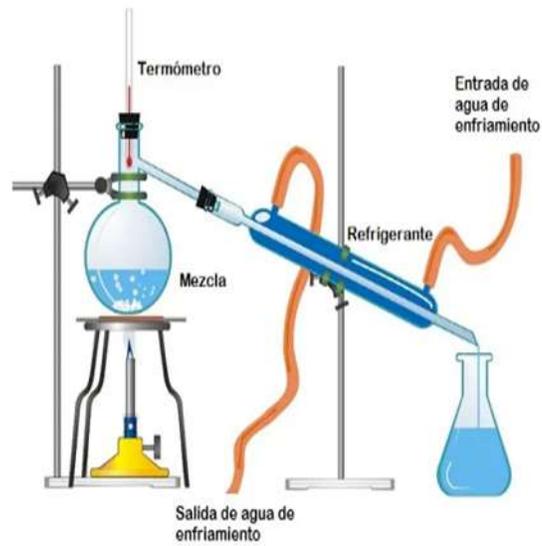
**Nota:** La figura representa el montaje experimental para una extracción Soxhlet. Available: <http://ainstrumental.wikispaces.com/EQUIPO+SOXHLE>

### ***1.7.3 Destilación simple***

Una destilación simple es una operación mediante se separan uno o varios constituyentes contenidos en un sólido a través de un disolvente que se calienta a una temperatura determinada hasta lograr su cambio de fase, posteriormente parte de este se recupera haciendo que los vapores liberados pasen por un condensador, el proceso de destilación simple se detiene cuando obtenemos un valor determinado de solvente recuperado. La ventaja de este proceso es la recuperación de disolvente que se puede realizar, la desventaja es que este disolvente debe ser tratado para volver a ser utilizado en otros procesos. En la figura 4 podemos observar el montaje del proceso de extracción simple. [34]

**Figura 4**

*Esquema de extracción simple*



*Nota:* La figura representa el montaje experimental de una destilación simple. Available: <https://doi.org/10.35466/vid2021n6021>

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

- Producir un biocida generado a partir de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) para el control del hongo *Fusarium oxysporum*.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar fisicoquímicamente los extractos etanólicos provenientes de hojas de tabaco (*N. tabacum*).
- Evaluar el rendimiento de extractos etanólicos provenientes de hojas de tabaco (*N. tabacum*) por tres métodos de extracción diferentes.
- Determinar el efecto antifúngico de extractos etanólicos provenientes de hojas de tabaco (*N. tabacum*).
- Diseño conceptual a escala de planta piloto del proceso productivo de un biocida a partir de extractos etanólicos provenientes de hojas de tabaco (*N. tabacum*).

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Obtención de la *Nicotina*

La extracción de nicotina se llevó a cabo utilizando hojas frescas de tabaco obtenidas en la plaza de Paloquemao en la ciudad de Bogotá D.C. Se emplearon tres métodos de extracción: maceración fría, destilación Soxhlet y destilación simple, utilizando etanol al 96% como disolvente. La elección de este solvente se basó en la información registrada en la tabla 1 y en los resultados obtenidos en el artículo titulado "Insecticida con extractos naturales", donde se demuestra que el etanol al 96% es eficaz para la extracción de metabolitos secundarios de *Nicotiana tabacum* [35]. Debido a que la nicotina es un compuesto polar, este solvente facilita su extracción.

##### 3.1.1 Preparación de materia prima

Las hojas de *Nicotiana tabacum* se trituran hasta disminuir su tamaño de partícula ya que esto facilita el contacto entre el solvente y el soluto, permitiendo así una transferencia de masa eficaz. [36]

##### 3.1.2 Extracción química

El proceso de extracción se desarrolla mediante tres tipos de extracción en condiciones ambientales estándar (25°C y 0.74 atm), empleando etanol al 96% como solvente en todos los casos. Cada método fue replicado tres veces. A continuación, se detallan las cantidades de materia prima, solvente y las variables controladas en cada tipo de extracción:

- Maceración fría: El primer método de extracción es la maceración en frío, consiste en triturar la materia prima, aproximadamente 50g que se introducen en frascos schott con un volumen de disolvente de 333ml, se deja en reposo de 8 a 10 días, en un ambiente oscuro, sin humedad y mezclando eventualmente, este método de extracción se realizó modificando los valores experimentales del artículo titulado evaluación de varias especies vegetales para la inhibición de la oviposición y el control de la proliferación de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, [37] en donde se obtienen resultados positivos para la extracción de hoja de tabaco con cantidades similares a las propuestas. En la figura 5 se puede observar el proceso de maceración fría después del reposo.

## Figura 5

### *Maceración fría*



*Nota:* La figura muestra el resultado de la extracción por maceración en frío antes del proceso de secado.

Con base en estos datos, se calcula la cantidad de etanol utilizada para los dos procesos siguientes, destilación simple y destilación Soxhlet. Esto se realiza debido a que la cantidad de materia prima varía para estos métodos de extracción según la disponibilidad de tamaños en los equipos experimentales. La cantidad de solvente se calcula para los cambios de masa de la siguiente manera:

$$\text{Volumen de etanol} = \left( \frac{30g * 333ml}{50g} \right)$$

- Destilación simple: El proceso de destilación simple, se realiza pesando 30g de materia prima, se trituran y se sumergen en 200ml de disolvente, posteriormente se utiliza un matraz de fondo plano y un beaker que se ubican a lado y lado del condensador, en el matraz de fondo plano se agrega la materia prima con el disolvente y se le aplica calor hasta que el disolvente cambia su fase, una temperatura de 75°C-80°C, el beaker recolecta el disolvente producto de la condensación, este proceso finaliza cuando se recupera 100ml de etanol.[16] En la figura 6 se observa el montaje experimental para este tipo de extracción, en donde se realizan tres réplicas de esta extracción.

## Figura 6

### *Destilación simple*



**Nota:** La figura muestra el montaje de la extracción por destilación simple antes del proceso de secado.

- Extracción Soxhlet: En este procedimiento, se emplea aproximadamente 20 g de materia prima sólida previamente triturada, la cual se coloca en un cartucho de material poroso (papel filtro) ubicado en la cámara del extractor Soxhlet. Se añaden 150 ml de disolvente en un matraz de fondo plano y se calienta a una temperatura de 75°C-80°C. Los vapores del disolvente se condensan y gotean sobre el cartucho que contiene la materia prima, permitiendo la extracción de los componentes solubles. Cuando el nivel de disolvente condensado alcanza un cierto punto en la cámara, el sistema de sifonado del equipo lo devuelve al matraz [38], como se ilustra en la figura 7

## Figura 7

### *Extracción Soxhlet*



*Nota:* La figura muestra el montaje de la extracción por extracción Soxhlet.

### **3.1.3 Secado del extracto**

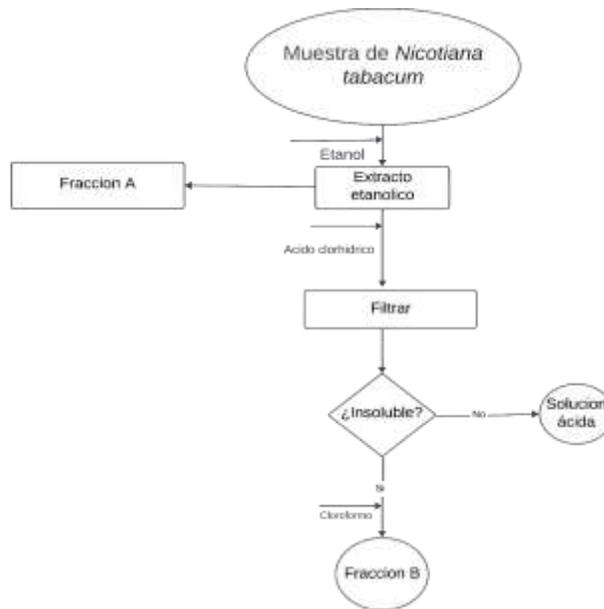
Una vez realizada cada extracción se separa la materia sólida del extracto líquido, introduciendo este en un horno a una temperatura de 65°C, en donde va a hacer retirado el solvente, dejando como producto una sustancia de color verde/negra con textura de melcocha, la cual se depositará en tubos falcón y será llevada a refrigeración.

## **3.2 Caracterización del extracto**

Se realizó una marcha fitoquímica para determinar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en el extracto, esto se realiza mediante reacciones de precipitación y de coloración. Inicialmente se usa una muestra de extracto crudo Sólido a la cual se le añade etanol, posteriormente se agrega ácido clorhídrico, se hace un proceso de filtración para separar la fase insoluble de la solución ácida extraída,[39] a la primera se le añade cloroformo y con estos se realizan los ensayos para identificar taninos y flavonoides, la segunda se utilizará para realizar las pruebas de Esteroides y la presencia de alcaloides, como se ve en la figura 8 y 9.[40]

**Figura 8**

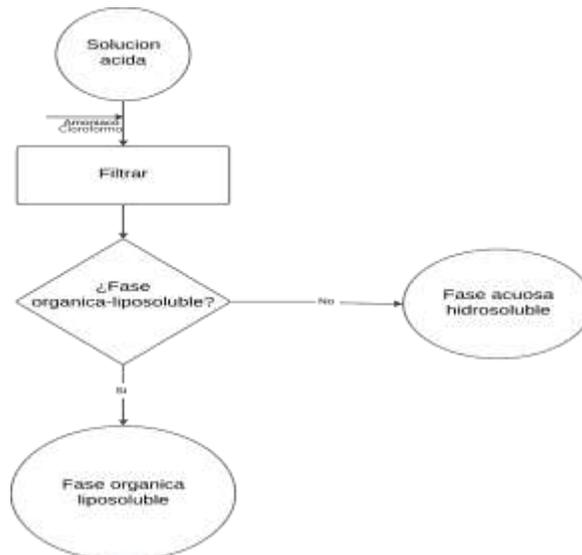
*Inicio marcha fitoquímica*



*Nota:* La figura muestra el diagrama de flujo de la marcha fitoquímica, la separación del material soluble e insoluble.

**Figura 9**

*Preparación marcha fitoquímica*



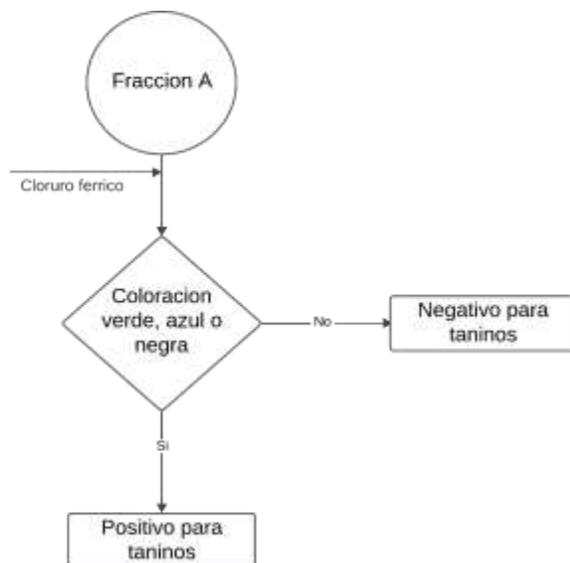
*Nota:* La figura muestra el diagrama de flujo de la marcha fitoquímica, la separación de fases orgánica liposolubles y fase acuosa hidrosoluble

### 3.2.1 *Ensayo para Taninos*

A la fracción A se le adicionan 2 gotas de cloruro férrico al 1%, el resultado de esta prueba es una coloración verde, azul o negra lo que significa que es positivo para taninos, en la figura 10 se puede observar el procedimiento para la obtención de esta caracterización. [41]

**Figura 10**

*Ensayo taninos*



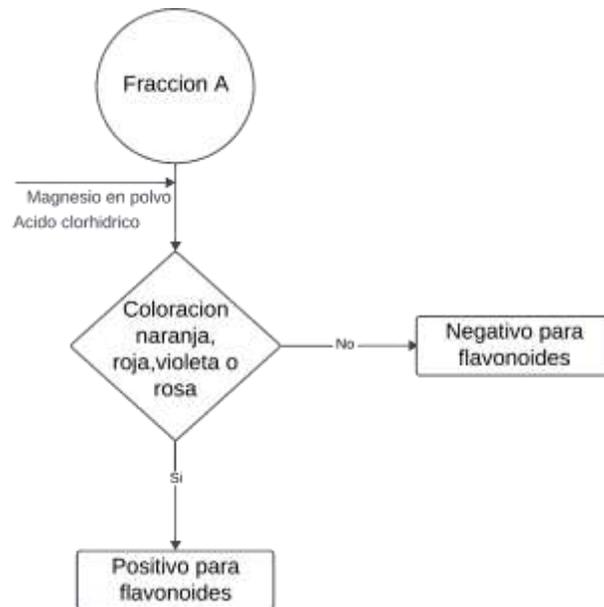
*Nota:* La figura muestra el diagrama de flujo para la caracterización de taninos en la muestra.

### 3.2.2 *Ensayo para Flavonoides*

La identificación de flavonoides se realizó mediante el ensayo Shinoda tanto para la fracción A líquida como para la fase acuosa – hidrosoluble y consiste en añadir limaduras de Magnesio al extracto líquido, posteriormente añade HCl. Es una reacción del magnesio en medio ácido que reduce los componentes flavonoides generando un producto pigmentado de naranja, rojo, violeta o rosa en donde se considera que es positivo para flavonoides. [42]

**Figura 11**

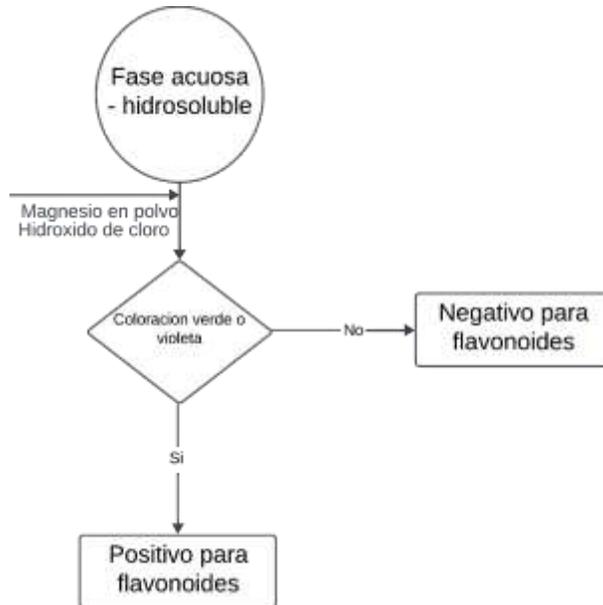
*Ensayo Flavonoides parte 1*



**Nota:** La figura muestra el diagrama de flujo para la caracterización de flavonoides polares por medio de la fracción A.

**Figura 12**

*Ensayo Flavonoides parte 2*



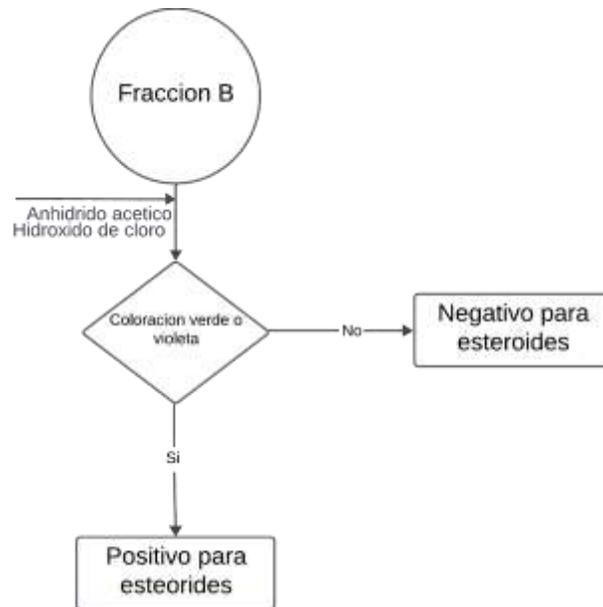
*Nota:* La figura muestra el diagrama de flujo para la caracterización de flavonoides no polares utilizando la fase acuosa-hidrosoluble.

### **3.2.3 Ensayo de Esteroides**

Para este análisis se añade cloroforma a la parte insoluble, se agita y se filtra al vacío haciendo un proceso de separación. Se le añade anhídrido acético puro y Ácido clorhídrico, si la coloración es verde o violeta es positivo para esteroides ver figura 13, mientras que a la solución ácida se le sube el pH utilizando amoníaco, se añade cloroforma, anhídrido acético y Ácido clorhídrico, si esta reacción da como resultado una coloración verde o violeta es positivo para esteroides. [43] tal y como lo muestra la figura 14.

**Figura 13**

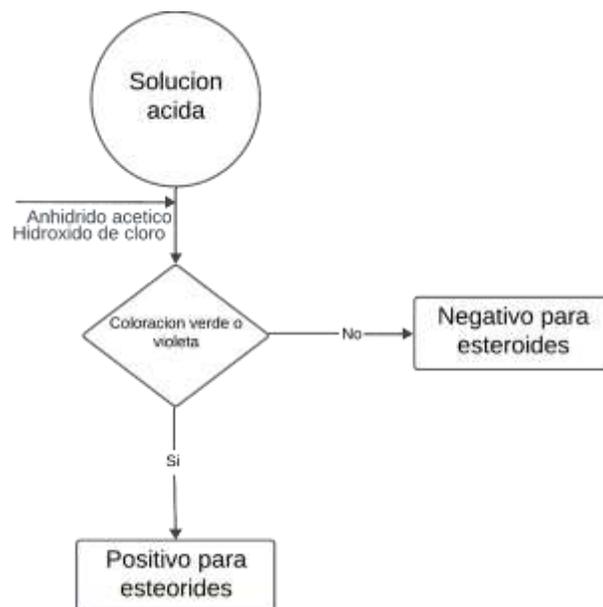
*Ensayo Esteroides parte 1*



*Nota:* La figura muestra el diagrama de flujo para la caracterización de esteroides polares utilizando la fracción B.

**Figura 14**

*Ensayo Esteroides parte 2*



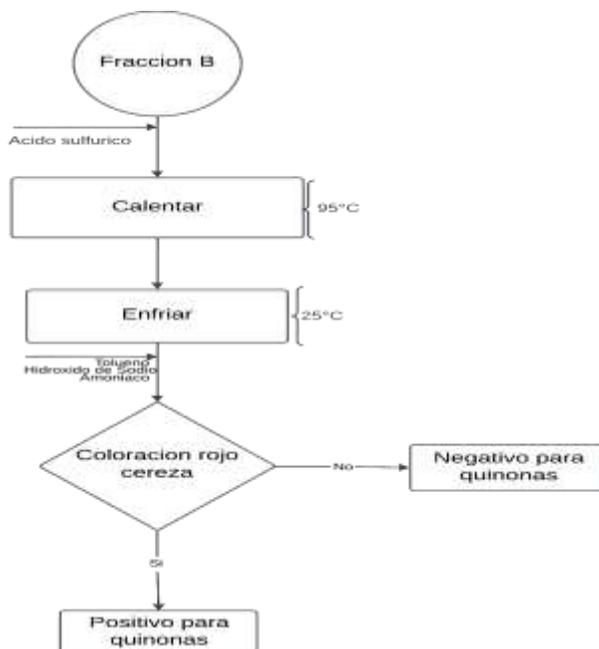
*Nota:* La figura muestra el diagrama de flujo para la caracterización de esteroides polares utilizando la solución acida.

### 3.2.4 Ensayo de Quinonas

Para la detección de este metabolito secundario se emplea una prueba denominada acción de Borntrafer-Kraus. Este procedimiento se le realiza a la fase insoluble anterior, se adiciona ácido sulfúrico posteriormente se introduce la solución a baño maría, estas drásticas condiciones hidrolizan los enlaces glucosídicos y haciendo que los compuestos quinonicos se oxiden, se adiciona Hidróxido de Sodio y amoniaco este último para el pH, el resultado de esta reacción es una es una sustancia de color rojo cereza lo que significa que es positivo para quinonas. [44]

Figura 15

*Ensayo Quinonas. Prueba para quinonas parte insoluble*



**Nota:** La figura muestra el diagrama de flujo para la caracterización de quinonas polares utilizando la fracción B proveniente de la parte insoluble.

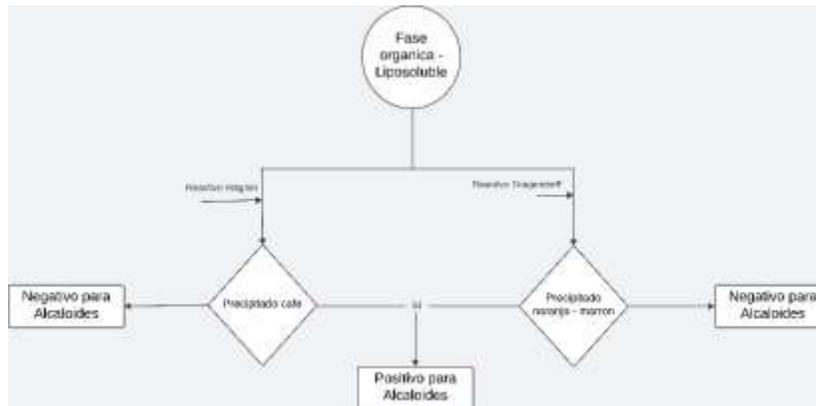
### 3.2.5 Ensayo de Alcaloides

En la marcha fitoquímica, los reactivos de Wargen y Dragendorff desempeñan un papel crucial en la detección de alcaloides. El reactivo de Wargen, una solución de yodo en ácido acético glacial, forma complejos coloreados, normalmente precipitados de color café. Por otro lado, el reactivo de Dragendorff, compuesto de yoduro de potasio en ácido acético con nitrato de bismuto, produce precipitados de colores como naranja o marrón al reaccionar con diferentes alcaloides. Estos reactivos son fundamentales en el análisis fitoquímico, proporcionando herramientas para la

identificación cualitativa de alcaloides en muestras de plantas. [45] Como se observa en la figura 16.

**Figura 16**

*Ensayo Alcaloides*



*Nota:* La figura muestra el diagrama de flujo para la caracterización de alcaloides.

### 3.3 Cultivo de *Fusarium oxysporum*

#### 3.3.1 Activación de *Fusarium oxysporum*

Para la activación del hongo (*Fusarium oxysporum*) es necesario preparar un cultivo, el cual se escogió un medio adecuado para este hongo que será el Agar Sabouraud Dextrose.

En dos cajas de Petri se vierten 20 mL de agua desionizada o destilada en cada una, para un total de 40mL. En los cuales serán mezclados con 2,6 gramos de Agar Sabouraud Dextrose, de acuerdo con la siguiente proporción.

Posteriormente, se esterilizan las cajas de Petri junto con todos los materiales que serán usados en la caja de extracción para activar el hongo a una temperatura de aproximadamente 120°C, por un tiempo promedio de 45-60 minutos, para luego ser vertido en las cajas de Petri bajo las condiciones asépticas como una cabina de extracción de flujo laminar hasta que enfríe y se solidifique el medio.

Debido a que el hongo está en un esporangio o en forma de cultivo de placa, se utiliza un asa de inoculación estéril para recoger una muestra pequeña y estirando el hongo uniformemente sobre la superficie del agar para la fase de inoculación del hongo.

El siguiente paso es la incubación de las placas para el crecimiento del hongo a temperaturas entre los 20-30 grados Celsius en condiciones de oscuridad o luz controlada, monitoreando el cultivo regularmente para verificar el óptimo crecimiento del hongo el cual puede tardar desde días hasta semanas e identificar características morfológicas como la formación de colonias, color y textura, para confirmar la activación del hongo según su clase y el cultivo.

Una vez activado y crecido, el hongo debe ser almacenado para usarlo posteriormente y así ser conservado a corto plazo en las placas de agar selladas con Parafilm a máximo 4 grados Celsius para evitar contaminaciones y asegurar la pureza del cultivo. [46]

### **3.3.2 Banco de trabajo**

Un banco de trabajo es un aislamiento del hongo después de su activación, esto se hace para conservar el hongo. El procedimiento se realiza en tubos eppendorf utilizando una proporción 1/1 de glicerina y Caldo Dextrosa Sabouraud, en este caso se utilizó 1ml de cada reactivo, posteriormente utilizando el área de la cabina laminar previamente desinfectada y utilizando asas y puntas de micropipeta se almacenan los cilindros del hongo en los tubos eppendorf para conservarlos en una nevera a una temperatura de refrigeración de 0 a -5°C.

**Figura 17**

*Banco de trabajo*



**Nota:** La figura muestra el banco de trabajo con aproximadamente 10 muestras de hongo *Fusarium oxysporum*

### 3.3.3 Medio de cultivo

Se emplea un medio de cultivo usando Agar Dextrosa Sabouraud y agua desionizada, se pesa 65g de Agar por 1L de agua considerando que para 10 cajas Petri de vidrio se usan 250ml de agua, la solución se pone en agitación hasta que el Agar se diluya en su totalidad mientras esto ocurre se preparan unos sobres para cubrir el material a utilizar. La solución de Agar se autoclave a una presión de 15 bares junto con los sobres, una vez terminado el auto clavado el Agar se enfría en baño maría para agregarse en las diferentes cajas Petri, con ayuda de las asas y dentro de la cabina laminar se pasan los hongos de los tubos eppendorf a cada una de las cajas Petri, se sellan las cajas Petri con Parafilm y se envuelven en vinipell. Las cajas Petri son almacenadas en una incubadora a una temperatura de 25°C a 30°C durante un periodo de 8 a 13 días. [47]

## 3.4 Antibiogramas

### 3.4.1 Preparación de solución

Figura 18

*Soluciones Madre*



*Nota:* La figura muestra las soluciones madre, compuestas de extracto y agua de donde se van a obtener diluciones posteriores

Cada uno de los extractos obtenidos serán usados para preparar una solución extracto/agua, consiste en tomar 1,2g de extracto y disolverlo en 12ml de agua agitando constantemente por un

periodo de 5 minutos, al resultado de este proceso se le llama “Solución madre”, esta será utilizada para hacer diluciones a diferentes concentraciones, así:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Donde:

$$V_1 = \text{Volumen inicial}$$

$$C_1 = \text{Concentracion inicial}$$

$$V_2 = \text{Volumen final}$$

$$C_2 = \text{Concentracion final}$$

Las diluciones se preparan a concentraciones de 1000, 2000, 3000 y 5000ppm, con base en el artículo nombrado “Estandarización de un método de evaluación de la susceptibilidad a antifúngicos según la norma M38-A2 en *Fusarium oxysporum f. sp. Cubense*” [48] en donde se realiza un estudio de una de las técnicas que permiten evaluar la susceptibilidad del hongo a diferentes fungicidas utilizando diluciones a diferentes concentraciones obteniendo resultados de crecimiento menores al 100% en concentraciones menores a 5000ppm.

### Figura 19

*Diluciones por cada tipo de extracción*



**Nota:** La anterior figura muestra cada dilución a concentraciones de 1000ppm, 2000ppm, 3000ppm y 5000ppm para cada tipo de extracción.

### **3.4.2 Implementación de antibiogramas**

Se usan antibiogramas para determinar la probabilidad de que el extracto impida el crecimiento del hongo, para este procedimiento se usan discos de papel filtro que se impregnan de cada dilución agua-extracto preparada anteriormente, el proceso se repite por triplicado para cada concentración, luego se cultiva el hongo en las cajas Petri con los antibiogramas así podemos observar cómo es su comportamiento frente a los extractos, modificando la técnica utilizada en el artículo de investigación titulado: Evaluación *in vitro* de extractos del género *Lilium* para el control de *Fusarium oxysporum*. [49] Con esta técnica se pueden obtener resultados cualitativos que indican si el hongo es sensible o resistente al antibiótico, o cuantitativas que determinan la concentración que frena el crecimiento microbiano. Además de las tres cajas Petri con antibiogramas etanolicos, se cultivan tres más, una positiva que tendrá en su interior discos impregnados de hidróxido de sodio sustancia química que inhibe el crecimiento del hongo, la segunda nombrada negativa es una caja Petri con discos impregnados de agua desionizada y un tercer cultivo con el hongo libre de alguna inhibición.

## 4. RESULTADOS

A continuación, se muestran los resultados obtenidos en la fase experimental, se calculan una serie de variables experimentales para la selección del proceso que mejor se adapte a las necesidades del proyecto.

### 4.1 Rendimiento

Como en esta extracción no existe una reacción química en su proceso, es imposible encontrar un rendimiento teórico, es por esto que la relación de este rendimiento es indicada por la cantidad de materia prima que se pudo recuperar (extracto) con respecto al peso inicial de las hojas frescas de la materia prima (tabaco).

Este cálculo se realizó por triplicado para la maceración en frío, la destilación Simple y la destilación Soxhlet, obteniendo los resultados presentes en la tabla 2, tabla 4 y tabla 6 respectivamente.

$$RENDIMIENTO (\%) = \left( \frac{m_2}{m_1} \right) \cdot 100$$

En donde:

$$m_1 = \text{Masa de hoja de tabaco}$$

$$m_2 = \text{Masa del extracto}$$

Después se realizaron cálculos estadísticos de promedio, desviación estándar y el coeficiente de variación para analizar el comportamiento y la confiabilidad de los datos, los resultados se observan en la tabla 3, tabla 5 y tabla 7, para este caso se calcularon estos valores así:

- Promedio

$$S = \frac{(X_n + X_{n2} + X_{n3})}{N}$$

En donde:

$$S = \text{promedio}$$

$$X_n = \text{Datos}$$

$$N = \text{Numero de datos}$$

- Desviación estándar:

$$\alpha = \frac{\sqrt{((X_n - S)^2 + (X_{n2} - S)^2 + (X_{n3} - S)^2)}}{N - 1}$$

En donde:

$$\alpha = \text{DESVIACION ESTANDAR}$$

$X_n = \text{Datos}$

$N = \text{Numero de datos}$

- Coeficiente de variación (CV):

$$CV = \left(\frac{\alpha}{S}\right)$$

En donde:

$$CV = \text{Coeficiente de variación}$$

$$\alpha = \text{DESVIACION ESTANDAR}$$

$$S = \text{PROMEDIO}$$

A continuación, se muestran los resultados de los cálculos anteriores:

**Tabla 2**

*Rendimiento para Maceración en frío*

<b>Maceración en frío</b>	1	2	3
<b>Peso de la hoja fresca (g)</b>	50,096	50,194	50,389
Extracto (g)	1,646	1,694	1,742
Rendimiento (%)	3,29	3,37	3,46

**Nota:** La tabla anterior muestra los valores obtenidos para cada uno de los extractos, y su respectivo rendimiento en cada una de las repeticiones del proceso

**Tabla 3***Desviación estándar y coeficiente de variación para Maceración en frío*

<b>Promedio (%)</b>	3,37
<b>Desviación estándar (%)</b>	0,070
<b>CV</b>	2,08

*Nota:* La tabla anterior muestra los resultados estadísticos promedio, desviación estándar y coeficiente de variabilidad para el extracto maceración en frío

Con un promedio de 3.37% y una desviación estándar de 0.070% podemos decir que los datos obtenidos de maceración en frío son reproducibles y fiables. Con esta información podemos comparar los datos obtenidos con los de las otras dos extracciones.

**Tabla 4***Rendimiento para Destilación Simple*

<b>Destilación Simple</b>	1	2	3
<b>Peso de la hoja fresca (g)</b>	30,681	30,53	30,665
<b>Extracto (g)</b>	1,168	1,06	0,996
<b>Rendimiento (%)</b>	3,81	3,47	3,25

*Nota:* La tabla anterior muestra los resultados de extracción y rendimiento para cada uno de los duplicados de la destilación simple

**Tabla 5***Resultados estadísticos para destilación simple*

<b>Promedio (%)</b>	3,51
<b>Desviación estándar (%)</b>	0,230
<b>CV</b>	6,55

*Nota:* La tabla anterior muestra los resultados estadísticos como promedio, desviación estándar y coeficiente de variabilidad para los datos obtenidos de la extracción simple

Los datos de destilación simple muestran un comportamiento del promedio de 3,51%, lo que nos da un resultado promedio mayor que en el caso anterior, la desviación estándar es de 0,23%. Esta variabilidad de datos puede indicar que el proceso de destilación simple es menos consistente y puede llegar a optimizarse las condiciones del proceso para aumentar la eficiencia del método.

**Tabla 6***Rendimiento para extracción Soxleth*

<b>Destilación Soxleth</b>	1	2	3
Peso de la hoja fresca (g)	20,255	20,276	20,647
Extracto (g)	0,6041	1,0823	1,0433
Rendimiento (%)	2,98	5,34	5,05

*Nota:* La tabla anterior muestra los resultados estadísticos como promedio, desviación estándar y coeficiente de variabilidad para los datos obtenidos de la extracción simple

**Tabla 7***Resultados estadísticos para destilación Soxhlet*

<b>Promedio (%)</b>	4,43
<b>Desviación estándar (%)</b>	1,084
<b>CV</b>	24,45

*Nota:* La tabla anterior muestra los resultados estadísticos como promedio, desviación estándar y coeficiente de variabilidad para los datos obtenidos de la extracción Soxleth

Los resultados de destilación Soxhlet muestran una notable variabilidad, el promedio de rendimiento extractivo es de 4.43%, y una desviación estándar de 1.084%. Este resultado puede indicar que el proceso extractivo Soxhlet es sensible a las condiciones de operación o a la naturaleza de la materia vegetal.

#### **4.2 Marcha fitoquímica**

Los resultados del análisis cuantitativo en la caracterización de los extractos de las hojas de *Nicotiana tabacum* muestran la presencia de metabolitos secundarios Flavonoides, Esteroides polares y no polares para ambos casos, y Alcaloides en los tres tipos de extracción desarrolladas, sin embargo, en la extracción por maceración fría se evidencia pruebas no concluyentes por las bajas coloraciones que se obtuvieron, esto puede deberse a la baja concentración que tiene la extracción de este tipo. Mientras que los Taninos y las Quinonas no se encuentran presentes en el extracto ya que no se evidencio ningún cambio de coloración en las reacciones.

**Tabla 8***Resultados marcha fitoquímica*

<b>CARACTERIZACION DEL EXTRACTO</b>			
Tipo de extracto	Maceracion fria	Destilacion Simple	Destilacion Soxhlet
Alcaloides	+	+	+
Flavonoides polares	+	+	+
Flavonoides NO polares	+-	+	+
Taninos	-	-	-
Esteroides polares	+-	+	+
Esteroides NO polares	+-	+	+
Quinonas	-	-	-

*Nota:* La anterior tabla muestra los resultados obtenidos para caracterización fitoquímica de cada uno de los extractos obtenidos

Donde:

*+: Positivo*

*-: Negativo*

*±: Inconcluyente*

La tabla 8 presenta los resultados de la marcha fitoquímica por cada uno de los métodos de extracción: Maceración en frío, destilación simple y destilación Soxhlet. Se evalúan las coloraciones que arroja cada muestra después de las reacciones. Los métodos más completos son las destilaciones de tipo Soxhlet y Simple en términos de eficiencia y rango de compuestos extraídos, la maceración en fría puede ser más adecuada para compuestos fáciles de extraer.

#### **4.3 Eficacia de los extractos**

A continuación, se presentan los resultados cualitativos obtenidos del antibiograma realizado para evaluar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos. Empleando concentraciones de 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm y 5000 ppm para observar la eficacia en la inhibición del crecimiento

frente a otro tipo de organismo como *Fusarium oxysporum*. Así mismo, se analizó el efecto del hidróxido de sodio y del agua desionizada sobre el hongo, por último, se observó el comportamiento del hongo sin ningún tipo de sustancia para tener una comparación en el tiempo de crecimiento del hongo con cada una de las pruebas anteriores.

#### 4.3.1 Eficacia de maceración en frío

Se puede observar en la figura 18 cómo se comporta el hongo en un extracto por maceración en frío, es un resultado que no es favorable ya que el hongo crece de una manera normal y uniforme sin ser inhibido por ninguna de las concentraciones, el hidróxido de sodio detiene el crecimiento del hongo y el agua desionizada no hace ningún efecto en esta característica.

**Figura 20**

*Paquete de cultivos para Maceración en frío*

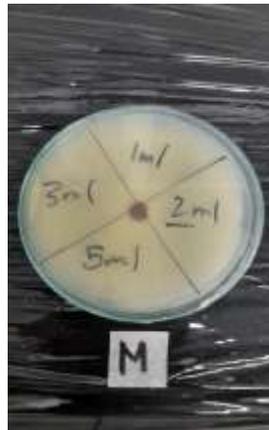


**Nota:** La anterior figura muestra los cultivos que se realizaron para la maceración en frío.

- Antibiograma 1.

**Figura 21**

*Antibiograma #1 para maceración en frío*

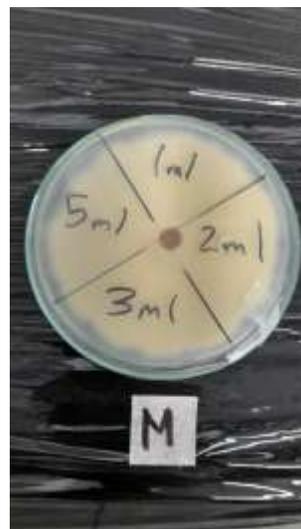


**Nota:** La figura muestra el efecto que tiene el extracto por maceración en frío a una concentración de 1000ppm, 2000ppm, 3000ppm y 5000ppm

- Antibiograma 2

**Figura 22**

*Antibiograma #2 para maceración en frío*



**Nota:** La figura muestra el efecto que tiene el extracto por maceración en frío a una concentración de 1000ppm, 2000ppm, 3000ppm y 5000ppm

- Antibiograma 3

**Figura 23**

*Antibiograma #3 para maceración en frío*

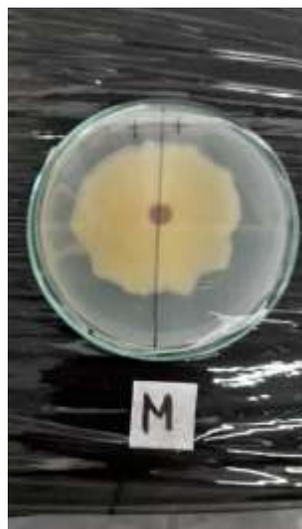


*Nota:* La figura muestra el efecto que tiene el extracto por maceración en frío a una concentración de 1000ppm, 2000ppm, 3000ppm y 5000ppm.

- Prueba de inhibición con Hidróxido de Sodio

**Figura 24**

*Prueba de inhibición con componente químico*



*Nota:* La figura muestra el efecto que tiene el componente químico hidróxido de sodio sobre el hongo *Fusarium oxysporum*

- Prueba con Agua desionizada

**Figura 25**

*Prueba con Agua desionizada para maceración en frio*



*Nota:* La figura muestra el efecto que tiene el agua desionizada se utiliza como prueba comparativa de los otros cultivos.

- Cultivo de hongo sin inhibición

**Figura 26**

*Comportamiento del hongo sin inhibición para maceración en frio*



*Nota:* La anterior figura muestra un cultivo para comparar el comportamiento que tiene sin ningún tipo de inhibición.

### 4.3.2 Eficacia de Destilación simple

En la figura 15 se observa como el hongo se comporta en un extracto por destilación simple, los antibiogramas de hidróxido de sodio y agua desionizada, así como la base se comportan de una forma igual a la anterior, el cambio está en los antibiogramas 1, 2 y 3 ya que vemos inhibición cuando el hongo llega a los discos impregnados con la solución extracto-agua a concentraciones de 5000ppm y 3000ppm, sin embargo, en las concentraciones de 1000ppm y 2000ppm el hongo crece de forma normal.

**Figura 27**

*Paquete de cultivos para Destilación Simple*

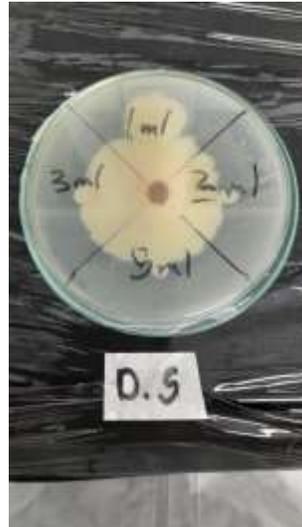


**Nota:** La anterior figura muestra los cultivos que se realizaron para la destilación simple.

- Antibiograma 1.

**Figura 28**

*Antibiograma #1 para destilación simple*

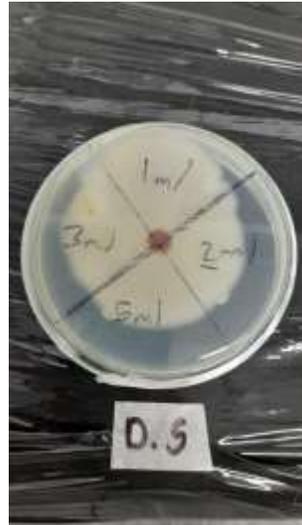


**Nota:** La figura muestra el efecto que tiene el extracto por destilación simple concentraciones de 1000ppm, 2000ppm, 3000ppm y 5000ppm

- Antibiograma 2

**Figura 29**

*Antibiograma #2 para Destilación simple*

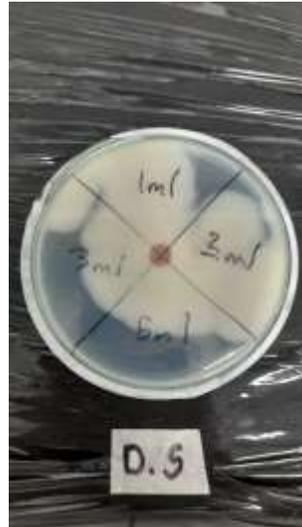


**Nota:** La figura muestra el efecto que tiene el extracto por destilación simple concentraciones de 1000ppm, 2000ppm, 3000ppm y 5000ppm

- Antibiograma 3

**Figura 30**

*Antibiograma #3 para Destilación simple*

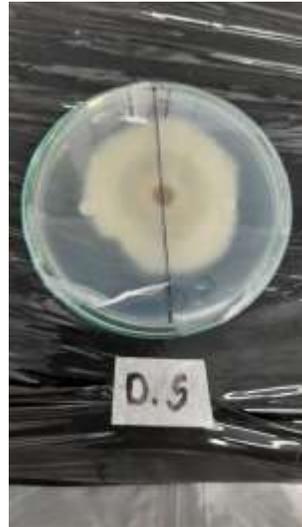


**Nota:** La figura muestra el efecto que tiene el extracto por destilación simple a concentraciones de 1000ppm, 2000ppm, 3000ppm y 5000ppm.

- Prueba de inhibición con Hidróxido de Sodio

**Figura 31**

*Prueba con Hidróxido de sodio para Destilación simple*



**Nota:** La figura muestra el efecto inhibitor del hidróxido de sodio contra el hongo *fusarium oxysporum*

- Prueba con agua desionizada

**Figura 32**

*Prueba con Agua desionizada para Destilación simple*



**Nota:** La figura muestra una prueba realizada con agua desionizada para demostrar el comportamiento del hongo *Fusarium osysporum*

- Cultivo de hongo sin inhibición

**Figura 33**

*Comportamiento del hongo sin inhibición para Destilación simple*



**Nota:** La figura muestra el hongo *Fusarium oxysporum* sin ningún tipo de inhibición, para demostrar el comportamiento que tiene en su estado natural.

#### **4.3.3 Eficacia de Destilación Soxhlet**

En la figura 15 se observa como el hongo se comporta en un extracto por destilación simple, los antibiogramas de hidróxido de sodio y agua desionizada, así como la base se comportan de una forma igual a la anterior, el cambio está en los antibiogramas 1, 2 y 3 ya que vemos inhibición cuando el hongo llega a los discos impregnados con la solución extracto-agua a concentraciones de 5000ppm y 3000ppm, sin embargo, en la concentración de 2000ppm tenemos un resultado no concluyente ya que observamos que en la figura el hongo se inhibe pero en la figura el hongo coloniza el área donde está la solución, 1000ppm no inhibe el hongo.

### Figura 34

*Paquete de pruebas para Destilación Soxhlet*



*Nota:* La figura muestra los diferentes cultivos que se realizaron para comparar el comportamiento de la destilación Soxhlet

- Antibiograma 1.

### Figura 35

*Antibiograma #1 para Destilación Soxhlet*

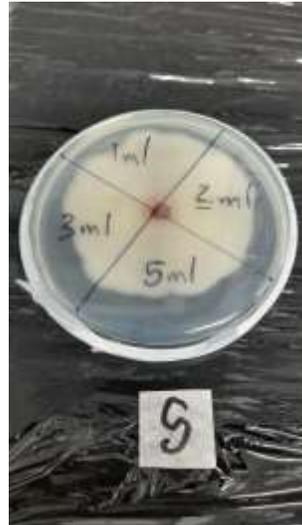


*Nota:* La figura anterior muestra el comportamiento del extracto a 1000ppm, 2000ppm, 3000ppm y 5000ppm para el extracto por destilación Soxhlet.

- Antibiograma 2

**Figura 36**

*Antibiograma #2 para Destilación Soxleth*

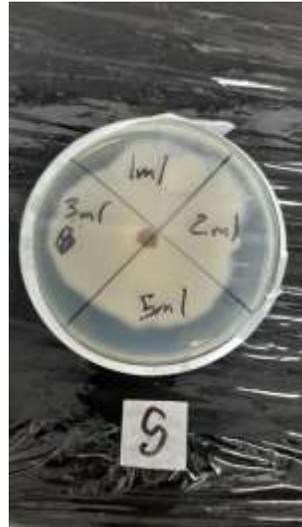


**Nota:** La figura anterior muestra el comportamiento del extracto a 1000ppm, 2000ppm, 3000ppm y 5000ppm para el extracto por destilación Soxleth.

- Antibiograma 3

**Figura 37**

*Antibiograma #3 para Destilación Soxlhet*



**Nota:** La figura muestra el comportamiento del extracto Soxlhet para la inhibición del hongo *Fusarium oxysporum*

- Prueba de inhibición con Hidróxido de Sodio

**Figura 38**

*Prueba de inhibición con Hidróxido de sodio para Destilación Soxhlet*



**Nota:** La figura muestra el comportamiento del extracto Soxhlet para la inhibición del hongo *Fusarium oxysporum*

- Prueba con agua desionizada

**Figura 39**

*Prueba con Agua desionizada para Destilación Soxhlet*



**Nota:** La figura muestra una prueba con agua desionizada para observar el comportamiento del hongo *Fusarium oxisporum*

- Cultivo del hongo sin inhibición

**Figura 40**

*Comportamiento del hongo sin inhibición para Destilación Soxhlet*



**Nota:** La figura anterior muestra el hongo *Fusarium oxysporum*.

## 5. SELECCION DEL PROCESO

En la actualidad, es de gran importancia alcanzar producciones y consumos sostenibles, por lo cual en el sector químico se han implementado acciones para lograr enfatizar este aspecto, que, aunque queda mucho camino por recorrer, las nuevas industrias deben contribuir con la ideología de sostenibilidad ya que es un desafío mundial.

Para el diseño de productos/procesos la ODS (Naciones Unidas sobre los Objetivos de Desarrollo Sostenible) propone seguir ciertos pasos para generar una sostenibilidad en el sector químico, los cuales se mencionan a continuación y son tenidos en cuenta para la selección del proceso de extracción a escalar a planta piloto.

- Una perspectiva multidimensional en la cual incorpora tres dimensiones: económica, ambiental y social; o factores de gran importancia denominadas TBL (dimensiones de triple resultado).
- Una visión multiescalar, porque las decisiones tomadas a escala molecular, de laboratorio o de cadena de suministros, pueden tener efectos a escala de ecosistema o de planeta.
- Un problema multiactor o multiparcitipante, debido a que las decisiones deben tomarse de acuerdo con diferentes intereses que pueden verse afectados o beneficiados por el producto/proceso a realizar. Las partes interesadas que se consideran incluyen inversores, gobiernos, comunidades o individuos.

La sostenibilidad se puede evaluar usando indicadores relacionado con las dimensiones de TBL adecuadas, dependiendo de la etapa del diseño bajo evaluación e información disponible, debido que se deben considerar desde el diseño principal de la planta hasta la etapa de producción para tomar decisiones administrativas o de operación.

Se han propuesto varios enfoques de evaluación de sostenibilidad aplicables en las primeras etapas de diseño, como metodologías basadas en indicadores propuestos por Srinivasan y Nhan en el 2008 [51], el índice de peligro ambiental (EHI) propuesto por Cave y Edwards en 1997 [52] y el algoritmo de disminución de desechos por Young en el 2000 [53]. La dimensión social es más complicada de evaluar en las primeras etapas del diseño debido a falta de modelos e información, por lo que se aplican métodos con enfoque sustituto utilizando indicadores de seguridad y salud, como el índice de seguridad inherente (ISI-ISI2) [54], el índice de seguridad inherente prototipo

(PIIS) [55], en la salud, el índice inherente de Salud Ocupacional [56] y el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos [57].

Para el indicador económico, se realiza un proceso comparativo de los equipos específicos seleccionados a escalar, considerando condiciones de proceso, tamaño y tecnología, en cada una de las extracciones y su capacidad de producción, partiendo de un peso (kg) inicial base que pueda generar cada ruta según bibliografía, para la parte del escalamiento a planta piloto. Esto se debe a que la materia prima y el producto final de estas extracciones es el mismo, por lo que no se tienen en cuenta estos costos, los cuales solo son tenidos en consideración cuando uno de estos productos que entra como alimento, logra ser recirculado en el proceso o reutilizado como residuo aprovechable o producto terminado.

Además de la selección de indicadores adecuados, es necesario considerar dos aspectos al realizar una evaluación integrada de sostenibilidad [58]:

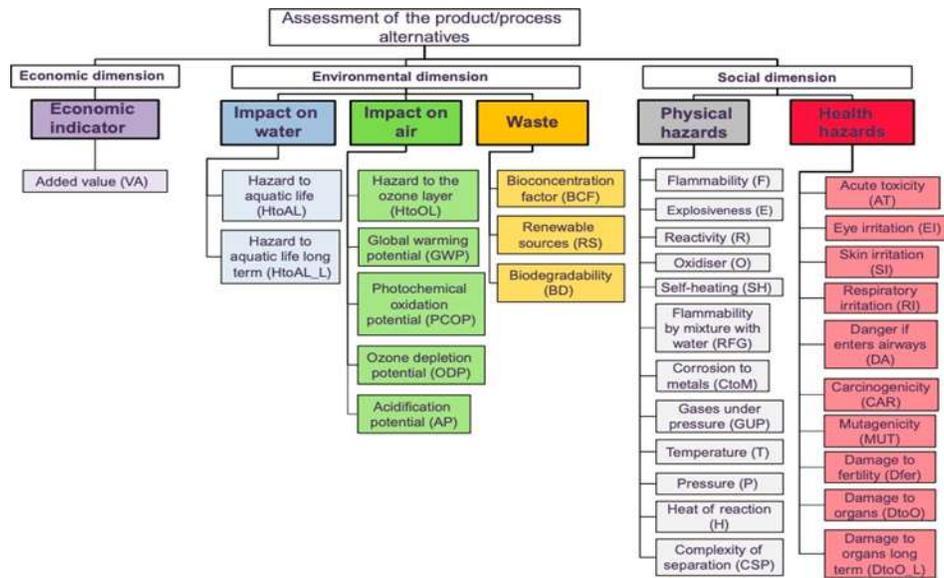
- Normalizar los indicadores para hacerlos comparables
- Presentar los indicadores simultáneamente para que, al tomar decisiones, se puedan identificar eventuales compromisos entre alternativas
- Esta metodología utiliza métodos MCDA (análisis de decisión multicriterio) como el proceso de jerarquía analítica (AHP) y el método de organización de clasificación de preferencias para el enriquecimiento de evaluaciones (PROMETHEE), con el motivo de comparación clara de alternativas.

## **5.1 Evaluación de alternativas**

Se evalúa el desempeño de las extracciones dentro de las dimensiones TBL a través los indicadores económicos, ambiental y social, como se muestra en la *Figura 40*.

Figura 41

Evaluación de alternativas de procesos



*Nota:* En esta imagen se muestra el diagrama de selección TBL

### 5.1.1 Dimensión económica.

Se evalúan los costos específicos de los equipos en las tres extracciones, que fueron seleccionados de acuerdo con sus condiciones de operación, capacidad, tecnología y requerimientos.

Se realiza una estimación de los precios de la materia prima y su capacidad de producción según resultados experimentales de laboratorio, para generar un balance económico y analizar la viabilidad de las extracciones de acuerdo con la cantidad de producto final con respecto con el volumen de materia prima ingresada y su rendimiento.

Algunas de las características de este balance económico son:

- Los costos fueron estimados por bibliografía
- En la maceración fría no se recuperó solvente
- El total del peso final no templa el peso del extracto porque ya está implícito en el fungicida
- El costo de la materia prima es negativo y el de los productos positivo
- Los residuos de hoja de tabaco pueden ser utilizados como abono, pero serán interpretados con precio 0 para que no afecte el balance, por lo que no pueden ser recirculados al proceso

- El valor de los rendimientos y del total del balance tiene que verse comparado con el tiempo de extracción, por lo que se busca es un proceso costo-efectivo

5.1.1.a Destilación simple. Tiempo de extracción: 0.5 h con margen de 28.9 USD de ganancia.

**Tabla 9**

*Balance económico destilación simple*

<b>Materiales</b>	<b>Costos USD</b>	<b>Peso inicial</b>	<b>Peso final</b>	<b>Rendimiento</b>	<b>Balance económico</b>
Hoja de tabaco	-0.3	30.62 (g)	29.5 (g)		-9.1 USD
Etanol	-0.8	157.8 (g)	78.9 (g)		-126.24 USD
Extracto	0	0	1.075 (g)	3.509	
Fungicida	+7.4	0	21.5 (g)	8.57	159.6 USD
<b>Total</b>		<b>188.42 (g)</b>	<b>130 (g)</b>		<b>28.9 USD</b>

*Nota:* En esta tabla se ven los resultados del balance económico de la destilación simple

5.1.1.b Maceración fría. Tiempo de extracción: 240 h con margen de 25.12 USD de ganancia

**Tabla 10**

*Balance económico maceración fría*

<b>Materiales</b>	<b>Costos USD</b>	<b>Peso inicial</b>	<b>Peso final</b>	<b>Rendimiento</b>	<b>Balance económico</b>
Hoja de tabaco	- 0.3	50.23 (g)	48,54 (g)		-15.06 USD
Etanol	-0.8	263 (g)	0		-210 USD
Extracto	0	0	1.69 (g)	3.37	
Fungicida	7.4	0	33.8 (g)	9.26	250.12 USD
<b>Total</b>		<b>303.23 (g)</b>	<b>82.34 (g)</b>		<b>25.12 USD</b>

*Nota:* En esta tabla se ven los resultados del balance económico de la maceración fría

5.1.1.c Método Soxhlet. Tiempo de extracción: 2.5 h con margen de 42.93 USD de ganancia

**Tabla 11**

*Balance económico método soxhlet*

<b>Materiales</b>	<b>Costos USD</b>	<b>Peso inicial</b>	<b>Peso final</b>	<b>Rendimient</b> <b>o</b>	<b>Balance económico</b>
Hoja de tabaco	- 0.3	20.4 (g)	19.5 (g)		-6.12 USD
Etanol	- 0.8	105.2 (g)	50.75 (g)		-84.15 USD
Extracto	0	0	0.9 (g)	4.45	
Fungicida	7.4	0	18 (g)	28.2	133.2 USD
Total		125.2 (g)	88.25 (g)		42.93 USD

*Nota:* En esta tabla se ven los resultados del balance económico del método Soxhlet

El balance económico se basa en la diferencia del costo de las materias primas por la cantidad de peso que entra al proceso y el costo del producto final por la cantidad producida de acuerdo a dicho peso, que refleja un valor marginal de cada extracción realizada en el laboratorio en su respectivo tiempo que tardaron cada una de las mismas. Este balance no refleja los resultados similares a escala de planta piloto, por lo que los equipos varían los rendimientos, los tiempos de extracción y la producción del proceso. [60]

Por especificación de los equipos de la destilación simple y extracción Soxhlet, se obtuvo una recuperación del 50% del solvente (etanol), que debe pasar previamente a un proceso de purificación en una destilación extractiva para retirar el agua añadida en el proceso y poder ser recirculado con la pureza indicada. En escala a planta piloto estas cantidades de etanol son más significativas, por lo que se busca tener un tratamiento de deshidratación, con el fin de recircularlo al proceso y no pierda su pureza.

### **5.1.2 Dimensión ambiental**

Este indicador se basa en el impacto ambiental que genera la planta en todas sus etapas y se divide en el impacto de la planta con el agua, el aire y el tratamiento de sus desechos.

Para la destilación simple y el método Soxhlet, a escala piloto es necesario utilizar un destilador para separar el etanol y la solución con extracto que será llevado a un horno para finalizar la

evaporación del solvente. Este etanol que sale por cimbras en el destilador tendrá que ir a un segundo proceso de destilación extractiva de dos torres de destilación, debido a que esta mezcla binaria genera un azeótropo y no puede ser separado en el primer proceso de destilación convencional, en la cual se pueda deshidratar el etanol con una pureza arriba del 96% para poder ser recirculado al sistema con el porcentaje de agua que se haya adherido de las hojas de tabaco y el aire del medio ambiente, y posteriormente pasa a una segunda torre con condiciones de vacío, con el fin de separar el agua de fondos del solvente que en este caso será el glicerol por puntos de ebullición y volatilidad. Este proceso es utilizado para purificar el etanol, pero implícitamente hace un tratamiento y descontaminación del agua, evitando generar aguas sucias.

### **5.1.3 Dimensión social**

Una falla en el funcionamiento del proceso como una fuga, una grieta en algún equipo o tubería podría generar daños que lleven a consecuencias catastróficas que pueden afectar muchas personas con daños físicos o en la salud, enfermedades crónicas o patógenas. A pesar de que estas extracciones no incluyen reacciones químicas, es importante tomar medidas de seguridad, prevención y manuales con información para saber cómo actuar en accidentes de cualquier tipo.

Tanto para los trabajadores como para las personas que viven cerca de la planta, es un riesgo que la planta no cuente con la seguridad necesaria ya que los daños pueden ser tan básicos como una fiebre, hasta la mortalidad.

## **5.2 Rendimiento**

El rendimiento en un proceso químico con reacción se refiere a la cantidad de producto obtenido al final de una reacción, comparada con la cantidad teórica obtenida según los reactivos utilizados. Como en esta extracción no existe una reacción química en su proceso, es imposible encontrar un rendimiento teórico, es por esto que la relación de este rendimiento es indicada por la cantidad de materia prima que se pudo recuperar (extracto) con respecto al peso inicial de las hojas frescas de la materia prima (tabaco) [61].

Según los resultados obtenidos en el laboratorio, la maceración fría fue el método de extracción que mejor rendimiento obtuvo, con un promedio de 96,6% con respecto al peso de la hoja de tabaco (gramos), a la cual se realizó la extracción y el extracto obtenido al finalizar la extracción (gramos).

$$\text{Rendimiento}(\%) = \frac{\text{Peso del extracto}(g)}{\text{Peso de la hoja fresca}(g)} * 100$$

### 5.2.1 Eficiencia

La eficiencia se refiere a la capacidad del proceso para extraer el compuesto orgánico deseado del material de partida en comparación con un escenario ideal, en otras palabras, una medida del desempeño del proceso de extracción. Es por esto que la efectividad se puede medir por concentración por espectrofotometría o por tiempo de extracción en horas, que será el enfoque en este proyecto [62].

El tiempo de estas tres extracciones recolectadas en la práctica de laboratorio y de las teóricas recolectadas por bibliografía, se ilustran a continuación.

**Tabla 12**

*Resultados de tiempo experimental y teórico para cada tipo de extracción*

	Tiempo experimental (h)	Tiempo teórico (h)
Maceración fría	240	48-168 [63]
Destilación simple	0.5	1-5 [64]
Soxhlet	2.5	12-24 [65]

*Nota:* En esta tabla se ven los resultados de los tiempos calculados de las extracciones en el laboratorio y los teóricos basados de bibliografías

### 5.2.2 Inhibición

Podemos definir inhibición como el proceso mediante el cual se reduce o se detiene el crecimiento y la proliferación de los hongos, en donde existen diversos métodos o pruebas para evaluar la inhibición en las practicas experimentales realizadas en el laboratorio, como pruebas de sensibilidad a Antimicóticos (MIC) para determinar su concentración mínima inhibidora, el ensayo de difusión de placa usado con discos de papel impregnados con antimicóticos y agar con una suspensión de esporas del hongo, espectrofotometría en un medio líquido o midiendo la distancia de las colonias con respecto al centro de la caja de Petri donde fue ubicado la sustancia inhibidora [63].

Según las muestras de laboratorio, que serán anexadas posteriormente, podemos evidenciar que las cajas de Petri que se utilizaron para poner el extracto de la maceración fría, el hongo no presentó propiedades inhibidoras con este método de extracción, por lo que se puede descartar, ya que la inhibición es la característica principal de las biosidas.

### **5.2.3 *Recuperación del solvente***

En la maceración fría, no fue posible obtener una recuperación en el solvente (etanol) de manera experimental, debido a que la maceración es un proceso abierto. Es importante resaltar que, a comparación de un proceso de laboratorio, a escala de laboratorio, es viable diseñar un proceso en la cual los equipos tengan la capacidad de recuperar el solvente para que pase a la etapa de deshidratación y tenga la pureza necesaria para ser recirculado al proceso.

Por otro lado, en la destilación simple y en el método Soxhlet, es posible recuperar el solvente antes de ser llevado al horno y es muy común en los procesos industriales de este tipo.

### **5.2.4 *Escalabilidad***

Es un reto para todos los ingenieros químicos saber escalar procesos químicos experimentales de laboratorio a planta piloto o a dimensiones industriales y poder pasar de gramos y mililitros a toneladas y metros cúbicos. Esto es vital porque las pruebas de laboratorio buscan el comportamiento de reacciones, microorganismos, mezclas y procesos en diferentes condiciones para analizar cambios con respecto al tiempo, para luego transcribir este conocimiento industrial y generar flujos de alimentación y de producto final para ventas nacionales o internacionales. [64]

Es común que las reacciones químicas tengan diferente comportamiento a escalas industriales por razones como contacto de superficie, velocidad de la reacción, condiciones del recipiente, entre otros. Es por esto que se necesita tener un margen de error a la hora del escalamiento y mantener un control de la calidad del producto y el mantenimiento de los equipos con la frecuencia necesaria.[65]

El escalamiento de un proceso experimental a planta piloto puede ser obtenido por análisis dimensional, similaridad química, geométrica, cinética, térmica, mecánica o dinámica; para este proceso se realizó un estimado por producción, basados en el volumen que se quiere tener de producto final y su abastecimiento a la demanda nacional.[66] Debido al volumen de cultivo de la hoja de tabaco en Colombia, la demanda nacional de este fungicida anual y la producción esperada de la planta piloto, se tomó la decisión de escalar la planta 1 a 1000, obteniendo un peso de 50 kg de hoja fresca de tabaco como alimento diario a la planta, que produce 200 kg de producto. Esta producción logrará abastecer un 70% del negocio de este fungicida a nivel nacional, con el beneficio o valor agregado que, a comparación de otros fungicidas, éste proviene de materia prima

orgánica y no tiene efectos secundarios negativos en el medio ambiente como dejar el suelo infértil en los cultivos donde se aplique dicha biosida [67].

**Tabla 13**

*Producción estimada de planta piloto*

<b>PRODUCCIÓN ESTIMADA</b>				
Tiempo	Hoja de tabaco	Extracto	Producto	Residos
Diaria	50 kg	1 kg	200 kg	49 kg
Mensual	1.5 ton	30 kg	6 ton	1.47 ton
Anual	18.2 ton	3.5 ton	70 ton	17.6 ton

*Nota:* En esta tabla se ven los resultados calculados de la producción estimada diaria, mensual y anual.

- Producción anual (2023) nacional hoja de tabaco: 5000 ton [68]
- Demanda anual (2023) nacional fungicida sintético: 100 ton [69]
- Producción estimada fungicida a base de hoja de tabaco: 70 ton

### **5.3 Análisis de resultados y conclusiones para la toma de decisión**

De acuerdo con los resultados obtenidos en las dimensiones TBL, la producción estimada y los cálculos de rendimiento, escalamiento, recuperación del solvente e inhibición, se estima que el proceso óptimo a seleccionar es la destilación simple para alcanzar la producción esperada con el balance económico más viable a nivel industrial. El tiempo de extracción supera con diferencia a las demás extracciones, implicando menos gastos energéticos y una producción más rápida y eficiente.

La recuperación del solvente es un factor importante en las industrias de la actualidad para ayudar con la sostenibilidad de estas y evite huella de carbono que impacte negativamente el ecosistema.

**Tabla 14***Resultados para la toma de decisión*

	<b>Rendimiento (%)</b>	<b>Inhibición</b>	<b>Recuperación del solvente</b>	<b>Balance económico (USD/h)</b>
<b>Destilación simple</b>	3.5	Si	Si	57.8
<b>Maceración fría</b>	3,7	No	No	0.1
<b>Soxhlet</b>	4.5	Si	Si	16.83

*Nota:* En esta tabla se ven los resultados calculados del balance económico de las extracciones

Según los resultados calculado de las extracciones se observa que el método Soxhlet obtiene el mejor rendimiento, pero al tener en cuenta el tiempo que tardan las extracciones comparadas con los teóricos, la destilación simple es la más costo-eficiente y rápida, lo que genera un menor gasto energético y un caudal de producto final mayor, por lo que es el método por seleccionar y la extracción más viable para escalar a planta piloto.

**Tabla 15***Resultados de las dimensiones TBL*

	<b>Económico</b>	<b>Ambiental</b>	<b>Social</b>
<b>Concepto</b>	Costo aproximado de equipos (USD)	Contaminación. Daños al medio ambiente (agua, aire, ecosistema)	Posibles daños a los trabajadores y población aledaña
<b>Destilación simple</b>	16 mil [70]	Etanol recirculado. Tratamiento de materia orgánica desechada	Posibles daños en el flash, explosión con emisiones de etanol a altas presiones y temperaturas.

<b>Maceración fría</b>	12 mil [71]	Gases emitidos a la atmósfera	Efectos de las emisiones en la salud y posibilidad de enfermedades crónicas
<b>Soxhlet</b>	18 mil [72]	Etanol recirculado. Tratamiento de materia orgánica desechada	Posibles daños en el flash, explosión con emisiones de etanol a altas presiones y temperaturas.

*Nota:* En esta tabla se ven los resultados de las dimensiones TBL

## 6. PLANTA PILOTO

### 6.1 Balance de masa

El balance de masa es un método matemático para rectificar la teoría de la conservación de la materia en un sistema cerrado o abierto, en donde establece que la masa no se crea ni se destruye, solo se transforma. Este método implica que las entradas sean iguales másicamente que las salidas, aunque puede existir una acumulación o generación de masa en un sistema que tengan reacciones químicas [73].

#### 6.1.1 Balance de masa experimental

Como entradas al proceso en los tres casos de extracción, encontramos las hojas de tabaco y el etanol (solvente), por lo que el peso de la sumatoria de estas dos sustancias debe ser equivalente al peso de todas las salidas del proceso, como es un sistema abierto es necesario suponer un factor de transferencia de masa continuo con el medio ambiente.

El siguiente balance de masa se realizará sobre la extracción escogida, la destilación simple, que será descrita a continuación.

Masa total de materia prima (ingreso) = Masa total de productos y residuos (salida)

Masa total de materia prima:

- Peso hojas frescas de hoja de tabaco = 30,5 g
- Volumen etanol líquido (solvente) = 200 ml
- Densidad del etanol al 96% = 0,789 g/ml
- Peso etanol = 200 ml \* 0,789 g/ml = 157,8 g
- Total, de la masa de ingreso al proceso = 188,3 g

Masa total de productos y residuos:

- Etanol recirculado en la destilación simple = 100 ml \* 0,789 g/ml = 78,9 g
- Residuos de la hoja de tabaco = 29,42 g
- Etanol evaporado en el horno = 100 ml \* 0,789 g/ml = 78,9 g
- Extracto = 1.08 g

- Total, de la masa de productos y residuos = 188,3 g

### **6.1.2 Balance de masa escalado a planta piloto**

Como se mencionó, el dimensionamiento del proceso experimental a planta piloto es de 1 a 1000, por lo que para el balance de masa hay que multiplicar los valores experimentales por 1000 para obtener las cantidades necesarias a escala media.

Para este proceso se realiza un balance de masa y energía general del proceso, así como también de los equipos individuales para tener más claridad de las entradas y salidas.

Masa total de materia prima (ingreso) = Masa total de productos y residuos (salida)

Masa total de materia prima:

- Peso hojas frescas de hoja de tabaco = 30,5 kg
- Volumen etanol líquido (solvente) = 200 L
- Densidad del etanol al 96% = 0,789 kg/L
- Peso etanol = 200 L \* 0,789 kg/L = 157,8 kg
- Total, de la masa de ingreso al proceso = 188,3 kg

Masa total de productos y residuos:

- Etanol recirculado en la destilación simple = 100 L \* 0,789 kg/L = 78,9 kg
- Residuos de la hoja de tabaco = 29,42 kg
- Etanol evaporado en el horno = 100 L \* 0,789 kg/L = 78,9 kg
- Extracto = 1,08 kg
- Total, de la masa de productos y residuos = 188,3 kg

### **6.1.3 Balance de masa por equipos**

6.1.3.a Destilador flash. Entrada:

- Peso hojas frescas de hoja de tabaco = 30,5 kg
- Residuos de la hoja de tabaco = 29,42 kg

- Volumen etanol líquido (solvente) = 200 L = 175.8 kg

Salida:

- Fondos = Extracto diluido: 118.4 kg
- Cimas = Mezcla binaria etanol-agua: 87.9 kg

6.1.3.b Destilación extractiva. Entrada:

- Mezcla binaria etanol-agua = 87.9 kg
- Glicerina (solvente para romper azeótropo) = 3.516 kg
- Etanol evaporado proveniente del horno = 87.9 kg
- Cimas = Etanol de alta pureza: 84.38 kg + 84.38 kg = 168.76 kg
- Fondos = Mezcla glicerina-agua: 7.032 kg + 3.552 kg = 10.552 kg

6.1.3.c Segunda torre de destilación. Entrada

- Mezcla glicerina-agua: 10.552 kg

Salida:

- Fondos = Glicerina 3.552 kg
- Cimas = Agua: 6.968 kg

6.1.3.d Tanque de almacenamiento etanol

- Entrada alimento: 7.04 kg
- Salida: 175.8 kg

6.1.3.e Filtro

- Entrada: 118.4 kg
- Salida extracto sólido: 26.55 kg
- Salida extracto líquido: 3.94 kg + 87.9 kg = 91.84

6.1.3.f Horno

- Entrada: 91.84 kg

- Salida etanol evaporado: 84.38 kg
- Salida extracto seco: 7.46 kg

## 6.2 Balance de energía de los procesos de separación

### 6.2.1 Destilación flash

$$Q - W + \sum m_{in}h_{in} = \sum m_{out}h_{out}$$

Donde,

Entalpía de entrada:  $h_{in} = (175.8 \text{ kg/día} \times 1100 \text{ kJ/kg}) + (30 \text{ kg/día} \times 22000 \text{ kJ/kg}) = 853380 \text{ kJ/día}$  La torre de destilación es adiabática por lo que  $Q=0$

Entalpía destilado:  $(175.8 \text{ kg/día} \times 0.85) = 149.43 \times 1100 = 164373 \text{ kJ/día}$

Entalpía fondos:  $(30 \text{ kg/día} \times 0.15) = 4.5 \times 22000 = 99000$

$\text{kJ/día } H_{out} = 164373 \text{ kJ/día} + 99000 \text{ kJ/día} = 263373 \text{ kJ/h}$

$W = 853380 \text{ kJ/día} - 263373 \text{ kJ/día} = 590007 \text{ kJ/día}$

### 6.2.2 Torre de destilación extractiva

$$Q - W + \sum m_{in}h_{in} = \sum m_{out}h_{out}$$

Donde,

Entalpía de entrada:  $h_{in} = (84.32 \text{ kg/día} \times 1100 \text{ kJ/kg}) + (3.58 \text{ kg/día} \times 420 \text{ kJ/kg}) = 94255.6 \text{ kJ/día}$

La torre de destilación es adiabática por lo que  $Q=0$

Entalpía destilado:  $(84.32 \text{ kg/día} \times 0.8) = 67.456 \times 1100 = 74.201 \text{ kJ/día}$

Entalpía fondos:  $(3.96 \text{ kg/día} \times 0.2) = 0.79 \times 420 = 332.64$

$\text{kJ/día } H_{out} = 332.64 \text{ kJ/día} + 74.201 \text{ kJ/día} = 406.84 \text{ kJ/h}$

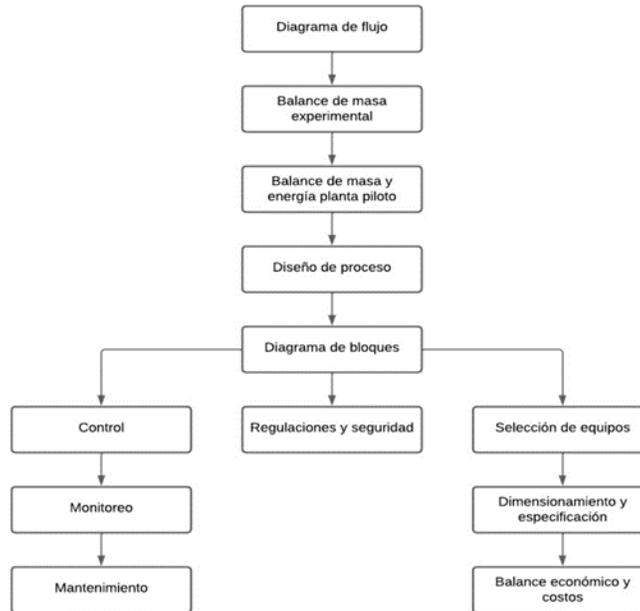
$W = 94255.6 \text{ kJ/día} - 406.84 \text{ kJ/día} = 93848.7 \text{ kJ/día}$

## 6.3 Diseño del proceso

Se realiza un breve diseño conceptual sobre el proceso trabajado, donde se explica el paso a paso en un diagrama de bloques donde muestran las entradas, salidas, equipos y corrientes en el sistema, el costo de los equipos, su especificación y condiciones de diseño.

**Figura 42**

*Diseño de proceso*



*Nota:* En esta tabla se muestra el diagrama de flujo del proceso a escalar.

### 6.3.1 Descripción del proceso

El objetivo principal del proceso es realizar un fungicida que inhiba el hongo *fusarium oxysporum*, mediante la extracción de la hoja de tabaco por el método de destilación simple con etanol como solvente, el cual se realiza en un destilador tipo flash, el cual a 80 grados Celsius y 1 atm de presión, separa etanol en fase vapor debido a su punto de ebullición para ser recirculado al sistema debido a su alta pureza, y la parte que contenga la hoja de tabaco tendrá un punto de ebullición más alto y saldrá por fondos como el destilado requerido para luego ser secado en un horno industrial que va evaporar la parte líquida, dejando solamente el extracto capaz de inhibir el hongo a tratar.

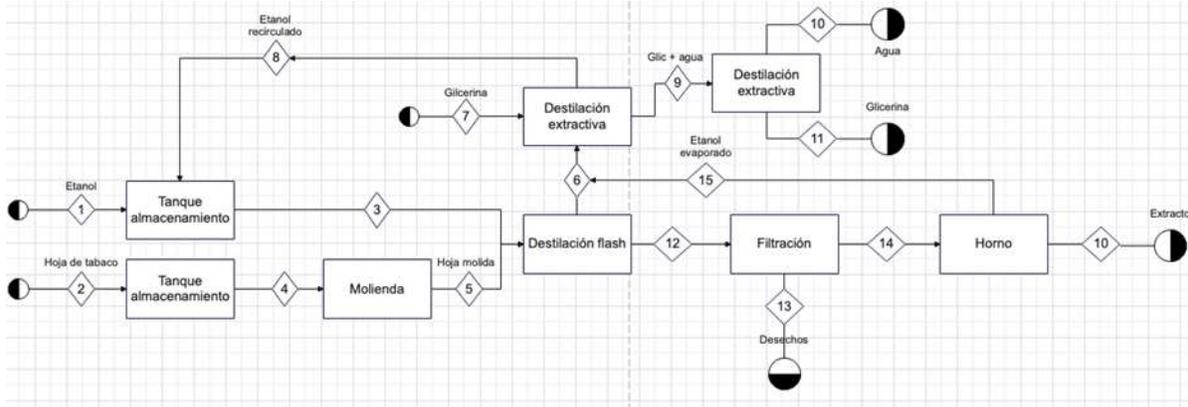
Este proceso industrial puede trabajarse como continuo, no está dividido en fases o en tiempos en los que la planta tiene se detiene para que en los equipos se haga un proceso en un tiempo específico y, al final, vuelvan a circular las corrientes de la planta. Pero si se requiere, también puede ser discontinuo para que facilite el mantenimiento.

Luego de tener el extracto de la hoja de tabaco en estado sólido al salir del horno, se debe mezclar con agua para pasar a su fase de embotellamiento, en el cual el extracto tendrá 5000 ppm con respecto al agua, generando así, una mezcla de 5% extracto diluido en 95% de agua destilada.

### 6.3.2 Diagrama de bloques

Figura 43

Diagrama de bloques para el proceso de destilación Simple



*Nota:* En esta tabla se muestra el diagrama de bloques del proceso destilación simple.

## 6.4 Equipos

### 6.4.1 Selección y dimensionamiento de equipos

Los principales equipos para este proceso industrial son dos tanques de almacenamiento, uno para la hoja fresca de tabaco y otro para el etanol, el cual tenga una entrada de la materia prima y otra para la recirculación. El primer equipo de separación es un destilador flash que a condiciones de temperatura de 80C y 1 atm de presión, se encarga de separar el extracto con el etanol para ser secado y obtener el extracto final. El etanol a la salida de cimas necesita pasar por un proceso de deshidratación que tenga la pureza necesaria para ser recirculado y no afecte el alimento del etanol. Un horno industrial para secar la fase vapor y dejar el extracto sólido para diluir con 95% de agua como el producto final.

El dimensionamiento de los equipos se obtiene de acuerdo con los caudales de entrada, su capacidad de producción, condiciones específicas y tamaño necesario para abastecer las cantidades de producto que se requiere obtener en un periodo de tiempo, los cuales se describen individualmente a continuación:

6.4.1.a Tanques de almacenamiento. Para el tanque de almacenamiento del etanol se requiere un volumen mínimo de 10 litros, que tendrá un caudal de 2 litros cada una, que tarda el flash en separar las fases de esta mezcla bifásica que se llenará hasta el 60 % para optimizar su separación y poder tener un flujo continuo en los equipos.

Para el tanque de las hojas de tabaco es necesario una capacidad de 50 kg en peso, como la densidad de dichas hojas es muy bajita, es recomendable tener un tanque con un volumen grande y una máquina transportadora que la esté alimentando constantemente.

6.4.1.b Maceración. Para tener una mayor superficie de contacto en la hoja de tabaco y el etanol pueda retener más fácilmente las propiedades de la hoja, es viable tener un proceso de maceración previo a la entrada del destilador. Este es un proceso similar al que le hacen a la malta para hacer la cerveza, solo que en este caso no es necesario aumentar la temperatura del recipiente.

6.4.1.c Equipos de destilación. Existen diferentes equipos de destilación en la industria diseñados para separar mezclas por su punto de ebullición y volatilidad. Entre más compleja la mezcla, se requieren equipos especializados para generar un alto porcentaje de pureza en los productos deseados, por ejemplo, en una mezcla con azeótropos, es necesaria una destilación extractiva con un solvente para romper el azeótropo y varíen los puntos de ebullición de los componentes, que es el caso de la deshidratación del etanol a la salida del flash. En este caso, lo que primero se quiere separar es el etanol sobrante que no es capaz de ser mezclado con la hoja de tabaco para recoger sus propiedades y ser enviado al horno para luego sacar el extracto deseado. Es por esto por lo que una destilación flash es requerida en este proceso.

En la corriente de cimbras sale el etanol que, para ser recirculado de nuevo al sistema, tiene que pasar por un proceso de deshidratación por su baja pureza al tener porcentajes de agua que se adhiere de la hoja de tabaco y del aire, es por esto que es necesario un proceso de destilación extractiva ingresando un solvente (glicerina) para romper el azeótropo que existe entre la mezcla binaria etanol-agua y podamos tener una pureza por encima del 96% del etanol y poder recircularlo al sistema. Por fondos sale una mezcla de agua-glicerina que es enviada a una segunda torre de destilación al vacío para recuperar el solvente y purificar el agua.

En general los glicoles, especialmente el glicerol muestra tener una alta capacidad para separar la curva de equilibrio líquido-vapor de la mezcla etanol-agua, y así permitir romper el azeótropo que se presenta al 96% en peso. Adicionalmente el punto de ebullición del glicerol es de 290C, lo que

permite bajar por la torre de destilación, recogiendo las partículas de agua y dejando evaporar el etanol gracias a que tiene la volatilidad más alta.

Especificaciones de la torre de destilación extractiva: [74]

- Número de platos: 24
- Condiciones torre: 1 bar, 80C
- Relación de reflujo (condensador): 0.6
- Plato de alimento etanol: 16
- Plato de alimento glicerina: 3
- Condiciones condensador: Condensador total, 1 bar, 100C.
- Condiciones rehervidor: 1 bar, 85C.

De este proceso se obtiene el etanol anhidro con una composición molar aproximada de 0.995

6.4.1.d Filtración. A la salida de la corriente de fondos del destilador se obtiene una mezcla heterogénea líquido- sólida en la que se requiere separar por un proceso de filtrado donde se recupere el extracto sólido que será reutilizado como abono y envíe la parte líquida al horno para su proceso de secado.

Un filtro de malla es suficiente para cumplir este objetivo, su costo no es elevado y tiene una alta eficiencia, el extracto sólido no tiene partículas muy pequeñas que requieran un sistema más detallado para su separación.

6.4.1.e Horno. El destilado que sale por la corriente de fondos en el flash, después de pasar por un filtro se envía por una tubería a un horno llamado evaporador rotatorio con una capacidad de 100L, para su proceso de secado a una temperatura superior a la del punto de ebullición del etanol (90C) y a presión de vacío, para lograr su evaporación completa y dejar en las paredes del balón el extracto deseado, que se diluirá con agua a una proporción de 2/100 de extracto y 98/100 de agua, para luego llevarlo al proceso de embotellamiento [75].

El etanol evaporado se recupera por una condensación con agua fría como refrigerante y presión al vacío, recuperando así, la materia prima para poder ser recirculada al sistema.

## 6.5 Especificaciones y costos

Tabla 16

*Especificaciones y costos*

Equipo	Imagen	Descripción
Tanque de almacenamiento para etanol (cerrado)		Volumen: 1 m <sup>3</sup> Material: Acero inoxidable, polietileno y fibra de vidrio. Costo: 1200 USD [76]
Tanque de almacenamiento para hoja de tabaco (abierto)		Volumen: 3 m <sup>3</sup> Material: Acero inoxidable, polietileno y fibra de vidrio. Costo: 900 USD [77]
Sistema de destilación del etanol		Volumen: 1.5 m <sup>3</sup> Temperatura: 80 C Presión: 1 atm Material: Acero inoxidable, aleaciones de níquel. Costo: 131.500 USD [78]
Horno (Evaporador rotatorio)		Volumen: 100 L Temperatura: 90 C Presión: Vacío Material: Vidrio borosilicato y acero inoxidable Costo: 3500 USD [79]

**Nota:** En esta tabla se muestran las especificaciones de los equipos.

### 6.5.1 Indicadores económicos

6.5.1.a Inversión. Es calculada con los costos aproximados de los equipos, el costo de la materia prima por la cantidad anual que se requiere para el proceso y un 20% de más para contratos de personal, servicios públicos y otros gastos. Este porcentaje es una estimación basada en referencias de empresas con producción similar en las que cuentan con un número de personal aproximado de 16 trabajadores entre STAFF, trabajadores de planta, ingenieros de optimización y de procesos, analistas comerciales y de trading, gerentes financieros y administrativos, entre otros. [80]

Para este proyecto se estima una inversión de 160 mil dólares con una tasa de descuento del 10% EA por 3 años, que es una estimación del dinero actual y el del futuro, considerando una sumatoria del costo de los recursos financieros, derivado de préstamos bancarios indicado por la tasa de interés, la prima de riesgo y el efecto de la inflación. Adicionalmente, se estima una producción anual de 70 toneladas de producto final con un precio aproximado de venta al público de 7.5 dólares el litro.

6.5.1.b 7. Valor Actual Neto (VAN). Consiste en el valor presente de los flujos de caja futuros descontados a una tasa de descuento específica, menos la inversión inicial. Indica el valor que se añade a la empresa.

$$VAN = \sum_{j=1}^n \frac{CF_t}{(1+i)^t} - I_0$$

Donde,

$CF_t =$  Flujo de caja en el periodo  $T$

$r =$  Tasa de descuento

$t =$  Periodo (0, 1, 2, ..., n)

$I_0 =$  Inversión inicial.

$$VAN = \frac{-160000}{(1+0.1)^0} + \frac{525000}{(1+0.1)^1} + \frac{525000}{(1+0.1)^2} + \frac{525000}{(1+0.1)^3}$$

$$VAN = 1145597 - 160000 = 985597 \text{ USD}$$

6.5.1.c Tasa Interna de Retorno (TIR). Indica la tasa de retorno que hace que el VAN sea cero, en otras palabras, la tasa en la rentabilidad esperada del proyecto

*TIR = Resolver la ecuación para r*

$$VAN = \sum_{j=1}^n \frac{CFt}{(1+i)^t} - I_0$$

$$0 = \frac{-160000}{(1+0.1)^t} + \frac{525000}{(1+0.1)^t} + \frac{525000}{(1+0.1)^t} + \frac{525000}{(1+0.1)^t} - 160000$$

$$r = 23.81$$

El TIR es mayor que la tasa de descuento obtenida, indicando que el proyecto es viable económicamente.

## **6.6 Control, regulaciones y seguridad**

### **6.6.1 Monitoreo y control de la planta**

Esta planta cuenta con un monitoreo automatizado el cual se encarga de medir, controlar y corregir factores del proceso como la temperatura y presión interna de los equipos, la velocidad de flujo de las corrientes, el porcentaje de apertura de válvulas, el nivel de llenado de los equipos, la calidad de la materia prima y los productos.

Este sistema transmite señales eléctricas y neumáticas desde los lazos de control evaluando los factores mencionados y determina límites máximos y mínimos que se corregirán si no está a condiciones ideales, optimizando la producción, costos de energía y evitando accidentes que puedan generar daños en la planta o en la producción. El sistema activa alarmas cuando dichas condiciones estén a un nivel crítico para poder tomar acciones y evitar complicaciones mayores.

Este sistema de monitoreo automatizado será controlado por una empresa especializada en prestar este servicio y se encarga de poner los lazos de control de los equipos, las condiciones indicadas y el sistema de sensores y alarmas necesarios para el funcionamiento óptimo del proceso; así mismo como del mantenimiento anual de dos semanas.

## **6.6.2 Regulaciones de la planta**

La producción de fungicidas en Colombia está sujeta a una serie de regulaciones y normativas que buscan garantizar la seguridad, salud pública y la protección del medio ambiente. En estas regulaciones se abarcan aspectos como autorización de productos químicos, gestión de residuos, y factores a considerar que se describen a continuación [81].

6.6.2.a Registro y autorización de productos. El instituto Colombiano Agropecuario (ICA) es el encargado de los registros y autorizaciones requeridas para estas plaguicidas, el cual evalúa su eficiencia y seguridad del producto, presentando estudios técnicos, toxicológicos y ecotoxicológicos para su aprobación [82].

6.6.2.b Normas de seguridad y salud en el trabajo. El ministerio del trabajo se encarga de implementar medidas de seguridad y salud ocupacional para proteger a los trabajadores, incluyendo capacitaciones, equipos de protección personal y gestión de riesgos, y el desarrollo e implementación de planes de respuesta a emergencias y manejo de accidentes [83].

6.6.2.c Regulaciones ambientales. El ministerio de ambiente y desarrollo sostenible es el encargado en otorgar las licencias ambientales, el plan de manejo ambiental (PMA), y la norma que regula las emisiones atmosféricas contaminantes generadas por fuentes fijas y establece límites permisibles (resolución 909 de 2008 [84].

6.6.2.d Normas de producción y calidad. El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima) es el encargado de otorgar la certificación de calidad y buenas prácticas de manufactura (BPM) que indica que la empresa cumple con los estándares nacionales e internacionales para asegurar la calidad y seguridad de los productos químicos [85].

6.6.2.e Manejo y disposición de residuos. El ministerio de ambiente y desarrollo sostenible es el encargado de establecer estas normativas, como el decreto 4741 de 2005, que habla de la gestión integral de residuos peligrosos, incluyendo su almacenamiento, transporte, tratamiento y disposición final. El registro de generadores de residuos peligrosos, donde las empresas deben registrarse como generadores de residuos peligrosos y cumplir con las obligaciones de reporte y manejo seguro [86].

6.6.2.f Transporte y almacenamiento de sustancias químicas. El ministerio de transporte es que regula el transporte de sustancias peligrosas y la seguridad en almacenamiento e implica cumplir con la normativa del decreto 1609 de 2002, e implementa medidas de seguridad en el almacenamiento de sustancias químicas peligrosas para prevenir accidentes y garantizar la seguridad [87].

6.6.2.g Etiquetado y envasado. El ministerio de salud y la (ICA) aprueban el etiquetado de plaguicidas, que obliga a cumplir con normativas de etiquetado con información sobre el uso seguro, instrucciones de aplicación, precauciones y primeros auxilios, y las fichas de seguridad para los productos químicos, detallando las propiedades del producto, los riesgos asociados y las medidas de manejo seguro [88].

## 7. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se realizaron tres tipos de extracción maceración frío, destilación simple y destilación Soxhlet, utilizando etanol como solvente obteniendo como resultado rendimientos de 3.37%, 3.51% y 4.43% respectivamente para cada extracción, comparando con el artículo de investigación titulado “Efecto antibacteriano in vitro de exudados foliares de tabaco contra dos bacterias fitopatógenas” [89], en el cual se realizó una extracción de hoja de tabaco y se obtuvo un rendimiento del 3% al 7%, con estos datos se observa que el comportamiento del rendimiento del extracto está en un buen rango sin dejar de ser un rendimiento bajo al esperado, sin embargo, hay que aclarar que este rendimiento depende de la especie, el tipo y la forma de la materia prima (hoja seca, hoja fresca, hoja seca y en polvo).

Al momento de caracterizar los extractos con la marcha fitoquímica propuesta, visualizamos que todos los extractos contienen presencia de metabolitos secundarios tales como flavonoides polares-NO polares, esteroides polares-NO polares, y alcaloides. Sin embargo, la extracción por maceración en frío arroja resultados inconcluyentes, por esta razón se observa la poca inhibición que tiene en los antibiogramas como se observa en las figuras 21, 22 y 23. En cambio, observamos que la destilación Soxhlet y Simple arrojan datos más concluyentes para la presencia de estos metabolitos como se puede observar en la tabla 8, dando como resultado la coloración esperada en cada uno de los casos, al realizar una comparación con el artículo de investigación titulado “Evaluación Del Efecto Nematicida De Extractos Alcohólicos De Tres Especies Vegetales (*Ricinus Communis*, *Tagetes Filifolia*, *Nicotiana Tabacum*) En El Cantón Riobamba” [90]; En donde se realiza la caracterización fitoquímica de *Nicotiana Tabacum* observamos que los extractos tienen la presencia de metabolitos de este tipo.

Los antibiogramas realizados con las sustancias de 1000ppm, 2000ppm, 3000ppm y 5000ppm arrojaron una inhibición nula en el proceso de maceración en frío, observamos en las figuras 20, 21 y 22 que el medio de cultivo está totalmente ocupado por el hongo *Fusarium oxisporum*, este resultado descarta totalmente a este tipo de extracción siendo la que menos resultados positivos da en inhibición del hongo como en la caracterización del extracto. Los antibiogramas de la destilación simple y Soxhlet resultan ser positivos al observar el comportamiento de cada cuadrante en la caja Petri se puede observar el detenimiento en el crecimiento del hongo como se observa en la figura 28, 29, 30 para la destilación simple y 35,36 y 37 para la extracción Soxhlet en

concentraciones de 3000ppm y 5000ppm observamos un buen comportamiento de inhibición ya que en estos cuadrantes el hongo no creció, comparando los resultados obtenidos en la investigación titulada “Estandarización de un método de evaluación de la susceptibilidad a antifúngicos según la norma M38-A2 en *Fusarium oxysporum f. sp. Cubense*” [48] podemos observar que a estas concentraciones de fungicida el hongo disminuye su porcentaje de crecimiento; podemos analizar que la presencia de metabolitos secundarios induce a la inhibición del especies *fusarium* por la presencia principal de alcaloides y flavonoides metabolitos secundarios inmersos en la respuesta al ataque de patógenos durante el proceso infectivo.[91]

Podemos observar los resultados en las concentraciones de 1000ppm y 2000ppm para cada tipo de extracción en donde se ve que el hongo avanza en su crecimiento y descarta estas concentraciones esto se debe a la poca cantidad de metabolitos secundarios (alcaloides y flavonoides) de *Nicotiana tabacum* que se encuentran diluidos en estas diluciones.

Como fue descrito anteriormente y como resultado de las matrices de decisión y de riesgos, se evaluaron las extracciones experimentales de la hoja de tabaco para escalar a planta piloto el método óptimo, seguro y viable para la producción del fungicida que va a inhibir el *fusarium oxysporum*, a nivel industrial, el cual ha sido una problemática en muchos cultivos de alimentos a nivel nacional.

Según investigación, en el artículo “Desarrollo de una propuesta para la producción de un biocida partiendo de extractos etanólicos de hojas de tabaco para el control de *Botrytis cinerea*”,[48] los criterios de evaluación para la selección del método de extracción se basan entre el rendimiento, la relación entre materia prima orgánica y solvente, tamaño de partícula, tiempo de extracción y temperatura. Comparando estos criterios de evaluación con los del presente proyecto, podemos notar que tenemos una matriz para los resultados que se pueden calcular como rendimiento, efectividad, recuperación del solvente e inhibición, y una matriz de riesgos que nos ayuda a encontrar el método no solo más viable en el laboratorio, sino también para ver sus beneficios y problemáticas a escala media. Esto nos da una mejor visión sobre cuál es el mejor método de extracción para escalarlo a una planta piloto.

La capacidad de inhibición, el rendimiento, el tiempo de extracción, los costos, fueron factores tenidos en cuenta para la elección del método de extracción como resultado de las matrices de decisión el tipo de extracción elegido para escalar es la destilación simple, a pesar de que no tiene

el mejor rendimiento, si es la mejor en otros factores importantes, siendo el proceso que menos tiempo toma, en el cual se puede recircular el solvente para darle un mejor aprovechamiento, por esta razón es viable económicamente bajando costos al disminuir el uso del solvente, con presencia de metabolitos secundarios importantes y por ultimo teniendo una capacidad de repelencia ante el hongo como se observa en las figuras 28, 29 y 30.

Según la producción nacional de fungicidas sintéticos, la producción anual de esta planta piloto es capaz de abastecer el 70% de la demanda nacional, con las ventajas de que no genera efectos secundarios negativos en el medio ambiente donde se aplica dicho biocida. Esta planta tiene una economía de VAN y TIR positiva y viable para el proceso, capaz de devolver la inversión inicial desde el primer año.

## 8. CONCLUSIONES

Dentro del análisis fitoquímico de los extractos etanólicos de la hoja de tabaco (*N. tabacum*), se determina la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, esteroides y alcaloides, siendo este último el agente bioactivo para la inhibición del hongo *Fusarium oxysporum*. El extracto por maceración fría revela pruebas inconcluyentes debido a la baja coloración que da ante las reacciones realizadas en la marcha fitoquímica.

La evaluación del rendimiento muestra que la maceración fría es el tipo de extracto que menos rendimiento tiene, por otro lado, la destilación simple logra generar una mezcla homogénea donde gran parte de los compuestos de la hoja de tabaco los arrastra el solvente utilizado en esta prueba (etanol), para luego ser separados por calentamiento, lo que brinda un mejor aprovechamiento del solvente, por último, la destilación Soxhlet es el tipo de extracto que mejor se comporta en rendimiento, sin embargo es un proceso en el cual no se puede recuperar el solvente.

Los estudios antifúngicos de los extractos etanólicos de hoja de tabaco demuestran un control en diferentes cepas patógenas, los resultados cualitativos de los antibiogramas representan una disminución en el crecimiento del hongo en concentraciones extracto/agua superior a 3000ppm. Sin embargo, la maceración en frío no tiene buenos resultados ya que el hongo creció completamente con la presencia de extracto. Con esto podemos concluir que los metabolitos secundarios de la planta pueden ser utilizados para evitar el crecimiento fúngico de esta especie de hongo.

Por último, el diseño conceptual de una planta piloto resulta ser una solución eficiente y sostenible. La extracción por destilación simple da los mejores resultados destacándose por obtener extractos de hoja de tabaco con presencia de metabolitos secundarios capaces de inhibir *Fusarium oxysporum* también se destaca reducir el consumo de solvente. La integración de sistemas de recuperación de solventes minimiza el impacto ambiental y económico, haciendo que el proyecto sea poco contaminante.

## REFERENCIAS

- [1] Becerra, J., M. E. Sosa Mora, & A. Lopez Malo. (2010). Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción y métodos de control. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 4(2), 14–23.
- [2] Dean, r., Van Kan, j. a. l., Pretorius, z. a., Hammond-Kosack, k. e., di Pietro, a., Spanu, P. D., Rudd, j. j., Dickman, m., Kahmann, R., Ellis, j., & foster, g. d. (2012). the top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *molecular plant pathology*, 13(4), 414–430. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x>
- [3] Yang, J., Ahmed, W., Zhang, J., Gao, S., Wang, Z., Yang, H., Bai, X., Luo, K., Xu, C., & Ji, G. (2024). Identification of *Fusarium oxysporum* Causing Leaf Blight on *Dendrobium chrysotoxum* in Yunnan Province, China. *Life*, 14(3), 285. <https://doi.org/10.3390/life14030285>
- [4] Barbero, F. M., Romina, A. V., Dominchin, M. F., Perez, C., & Aoki, A. (2023). Comunidades microbianas afectadas por captan en suelos bajo diferentes prácticas de manejo. *Revista científica de la Asociacion Argentina de Ciencia del Suelo*, 41(1), 20–41.
- [5] Schoch CL, et al. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database (Oxford)*. 2020: baaa062. PubMed: 32761142 PMC: PMC7408187
- [6] J. Mocoora, “Breves comentarios sobre prueba y verdad”, *Inciso*, vol. 18, n.º 1, p. 11, junio Disponible: <https://doi.org/10.18634/incj.18v.1i.469>
- [7] Jose M, Gonzales & Guardian, William. (2014). Cultivo de Tabaco *Nicotiana tabacum* L. Escuela Agricola Panamericana.
- [8] Chinchilla, A. F. (1896). *Apuntes sobre el cultivo del tabaco*. Tip. Nacional.
- [9] García, A. Á., & Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal, 2(3), 145.
- [10] P. J. Facchini, “Alkaloidbiosynthesis in plants: Biochemistry, Cell Biology, Molecular Regulation, and Metabolic Engineering Applications”, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, vol. 52, n.º 1, pp. 29–66, Junio de 2001. Accedido el 15 de abril de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.52.1.29>

- [11] J. Dostál, “Two Faces of Alkaloids”, J. Chem. Educ., vol. 77, n.º 8, p. 993, agosto de 2000. Accedido el 16 de abril de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1021/ed077p993>
- [12] Sanchez, F. L., & Figueroa, G. (2022). Fitoquímica. Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
- [13] García, A. Á., & Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal., 2(3), 134.
- [14] Roberts, J. D. (1977). Basic principles of organic chemistry (2a ed.). W.A. Benjamin.
- [15] Koudel, Julia, et al., 2018. Identificación de alcaloides de un extracto acuoso de hojas de *nicotiana tabacum* por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas. Sesión de póster presentada en XIII Jornada Internacional de Ciencia y Tecnología. XI Jornada de Becarios y Tesistas. Corrientes: Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Odontología.
- [16] M. Gutierrez Cayon, “Estudio de los extractos de tabaco (*nicotiana tabacum*) y de las metodologías de extracción, en la determinación de actividades de atracción o repelencia sobre *Macrociphum rosae*”, Trabajo de grado, Pontif. Univ. Javer., Bogotá D.C, 2002.
- [17] “Usos y aplicaciones del biocida” | Pochteca Colombia”. Pochteca Colombia | Venta de materias primas para la Industria. Accedido el 12 de abril de 2024. [En línea]. Disponible: <https://colombia.pochteca.net/usos-y-aplicaciones-del-biocida/>
- [18] Patiño BDP, Pérez ALV, Torres CMI, et al. Uso de biocidas y mecanismos de respuesta bacteriana. Rev Cubana Invest Bioméd. 2018; 37 (3):1-17.
- [19] “Características y efecto biocida de productos vegetales para el control de *Pseudoperonospora cubensis*, en el cultivo de pepinillo. Dilmer Pezo Dávila. Tarapoto, Perú 2015. [https://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/11458/704/1/TFCA\\_28.pdf](https://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/11458/704/1/TFCA_28.pdf)
- [20] Biología de hongos - 1. ed. Univ. Andes, Dep. Cienc. Biol., 2012.
- [21] J. F. Leslie, L. L. Anderson, R. L. Bowden y Y.-W. Lee, “Inter- and intra-specific genetic variation in *Fusarium*”, Int. J. Food Microbiol., vol. 119, n.º 1-2, pp. 25–32, octubre de 2007. . Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.059>

- [22] P. W. Bosland, “*Fusarium Oxysporum*, a Pathogen of Many Plant Species”, en *Genetics of Plant Pathogenic Fungi*. Elsevier, 1988, pp. 281–289. Accedido el 14 de abril de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-033706-4.50023-2>
- [23] J. C. Delgado-Ortiz et al., “Patogenicidad de especies de *Fusarium* asociadas a la pudrición basal del ajo en el centro norte de México”, *Rev. Argent. Microbiol.*, vol. 48, n.º 3, pp. 222–228, julio de 2016. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2016.04.003>
- [24] A. S. Iturbide-Zuñiga, M. T. B. Colinas-León, H. Lozoya-Saldaña, S. A. Medina-Moreno y J. Ayala-Arreola, “Evaluación in vitro de extractos del genero *Lilium* para el control de *Fusarium oxysporum*”, *Revista Mex.a de Fitopatología, Mex. J. Phytopathol.*, vol. 35, n.º 3, mayo de 2017.
- [25] G. M. Armstrong, “Formae Speciales and Races of *Fusarium oxysporum* Causing Wilts of the Cucurbitaceae”, *Phytopathology*, vol. 68, n.º 1, p. 19, 1978. Accedido el 16 de abril de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1094/phyto-68-19>
- [26] F. M. Scher, “Biological Control of *Fusarium* wilts by *Pseudomonas putida* and its Enhancement by EDDHA”, en *Iron, Siderophores, and Plant Diseases*. Boston, MA: Springer US, 1986, pp. 109–117. Accedido el 16 de abril de 2024. [En línea]. Disponible: [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-9480-2\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-9480-2_13)
- [27] Salazar Garcés, E. C., Sailema Ortiz, M. L., Palacios Duchicela, R. H., Carrera Borja, W. X., & Zambrano Mendoza, C. A. (2023). Efecto de solvente y temperatura para la extracción de compuestos fenólicos en hojas de fresa. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(3), 2563–2575. [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i3.6365](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i3.6365)
- [28] Rodriguez, Joaquin & Cravero, Raquel & Gallo, Carla & Hourcade, Monica & Mamprin, Maria & Pellegrino, Jose & Poletti, Giovanni & Sturz, Nelson. (2008). Análisis de Lípidos de Biomembranas. Curso Práctico. Joaquin V. Rodríguez Editor Científico, 2008, UNR Editora. Rosario, Argentina. 150 pág. ISBN: 978-950-673-663-7.. 10.13140/RG.2.1.4691.1529.

- [29] Torres, O., Santafe, G., Angulo, A., Villa, H., Zuluaga, J., & Doria, M. (s.f.). Obtención de alcaloides a partir de corteza y madera de la especie *Rollinia pittieri* (Annonaceae). *Scientia et Technica*, 13(33), 4.
- [30] Benítez-Benítez, R., Sarria-Villa, R. A., Gallo-Corredor, J. A., Pérez Pacheco, N. O., Álvarez Sandoval, J. H., & Giraldo Aristizabal, C. I. (2020). Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 15(1), 31–40. <https://doi.org/10.18359/rfcb.3597>
- [31] Lamarque, A., & Maestri, D. C. (2009). Fundamentos teórico-prácticos de química orgánica. Editorial brujas.
- [32] G. P. Paola Tatiana, “Técnicas de extracción, rendimiento y posibles usos industriales del aceite de semilla de tabaco cultivado en Colombia”, Trabajo de grado, Corporación Tecnol. Bogotá, Bogotá D.C, 2015.
- [33] Rodríguez Terrones, E. A. (2018). “Extracción de flavonoides de la cebolla roja (*Allium cepa* L.) en un equipo Soxhlet con mezcla de solventes etanol – agua” [Trabajo de grado inédito]. Universidad Nacional del Callao.
- [34] Ortega Caballero, F., Vázquez Cabello, J., Carmona Asenjo, A. T., García Moreno, M. I., Monge Fernández, D., Díez Martín, E., Retamosa Hernández, M. d. G., Iglesias Sigüenza, F. J., Jiménez Blanco, J. L., & Moreno Vargas, A. J. (2021). Técnicas básicas en un laboratorio de química orgánica: destilación simple. *Portal de Vídeo Didáctico de la Universidad de Sevilla*. <https://doi.org/10.35466/vid2021n6021>
- [35] al T. y. a. la química Aprendices Investigadores: Valentina Romaña, H. Pérez, S. Ramos, N. Z. I. A. Toro, y D. M. M. Orcid, “INSECTICIDA CON EXTRACTOS NATURALES”, Edu.co. [En línea]. Disponible en: [https://repositorio.sena.edu.co/bitstream/handle/11404/8216/Revista\\_CienciomtriK\\_Vol\\_1\\_No\\_1\\_p\\_26.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.sena.edu.co/bitstream/handle/11404/8216/Revista_CienciomtriK_Vol_1_No_1_p_26.pdf?sequence=1&isAllowed=y). [Consultado: 02-jul-2024].
- [36] Rodríguez Chaves Laura Rocio. (2020). 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 cinérea* (Pilisboecea). [Trabajo de grado inédito]. Fundación Universidad de América.

- [37]“Pulido Suárez”, Sld.cu. [En línea]. Disponible en: <https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/rt/printerFriendly/775/300>. [Consultado: 29-jun-2024].
- [38] Inga Santillán, C. A., & Chavez Quintana, S. G. (2020). Estabilidad de la actividad antioxidante de extracto de hojas de *Guadua angustifolia* Kunth. *Revista Científica Dékamu Agropec*, 1(1), 1–5. <https://doi.org/10.55996/dekamuagropec.v1i1.24>
- [39] Gutiérrez-Pineda, K. M., & Herrera, M. (2022). Caracterización fitoquímica preliminar de los extractos etanólicos de hoja, fruto verde y maduro de *Terminalia catappa* L. (Almendro) en Panamá. *La Granja*, 36(2). <https://doi.org/10.17163/lgr.n36.2022.01>
- [40] Venegas Casanova, E. A. (2012). Quantification of total flavonoids and tannins present in the aqueous extract of leaves of *Thea sinensis* L. and its antioxidant capacity. *Scientia*, 4(2), 15.
- [41] Delporte, C. (2010). FARMACOGNOSIA. Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica.
- [42] Cabrera Forero, J. S. (2020). Identificación primaria de metabolitos secundarios de *ulex europaeus* L. (retamo espinoso) y su actividad biológica. [trabajo de grado, Universidad de la salle]. <https://ciencia.lasalle.edu.co/biologia>.
- [43] Carvajal Rojas, L., Uribe, Y. H., Sierra Martínez, N., & Rueda Niño, D. (2008). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). *Colombia Forestal*, 12, 161. <https://doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2009.1.a11>
- [44] A. A. Hurtado y T. Á. Cornejo, “Biología General (MA155), ciclo 2013-1: Guía de Prácticas de Laboratorio”, Univ. Peru. Cienc. Apl. - UPC, 2013. Accedido el 21 de mayo de 2024. [En línea]. Disponible: <http://hdl.handle.net/10757/271704>
- [45] García-Granados, R. U., Cruz-Sosa, F., Alarcón-Aguilar, F. J., Nieto-Trujillo, A., & Gallegos-Martínez, M. E. (2019). Análisis fitoquímico cualitativo de los extractos acuosos de *Thalassia Testudinum* Banks ex köning et sims de la localidad de champotón, campeche,

méxico, durante el ciclo anual 2016-2017. polibotánica, (48).  
<https://doi.org/10.18387/polibotanica.48.12>

- [46] Hegde, K., H. Narayanaswamy, & Veeraghanti, K. S. (2018). Morphological and cultural characteristics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* under laboratory condition. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(4), 2839–2842.
- [47] Castellanos Gonzalez, L., Torrado Martínez, J. M., & Céspedes Novoa, N. (2020). Alternativas biológicas para el control de *Fusarium oxysporum* en arveja en pamplona, Norte de Santander. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 12(1), 13–28. <https://doi.org/10.22490/21456453.3650>
- [48] M. C. Arredondo Vélez, J. J. Tamayo Velásquez, K. Valencia Aristizábal, y J. C. Zuluaga Jiménez, “Estandarización de un método de evaluación de la susceptibilidad a antifúngicos según la norma M38-A2 en *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*”, 2022.
- [49] A. S. Iturbide-Zuñiga, M. T. B. Colinas-León, H. Lozoya-Saldaña, S. A. Medina-Moreno y J. Ayala-Arreola, “Evaluación in vitro de extractos del genero *Lilium* para el control de *Fusarium oxysporum*”, *Revista Mex.a de Fitopatología, Mex. J. Phytopathol.*, vol. 35, n.º 3, mayo de 2017. Accedido el 7 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1609-6>
- [50] R. Srinivasan y N. T. Nhan, “A statistical approach for evaluating inherent benign-ness of chemical process routes in early design stages”, *Process Saf. Environmental Protection*, vol. 86, n.º 3, pp. 163–174, mayo de 2008. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2007.10.011>
- [51] . Cave, “Chemical Process Route Selection Based On Assessment of Inherent Environmental Hazard”, *Comput. & Chem. Eng.*, vol. 21, n.º 1-2, pp. S965—S970, 1997. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: [https://doi.org/10.1016/s0098-1354\(97\)00174-9](https://doi.org/10.1016/s0098-1354(97)00174-9)
- [52] D. Young, R. Scharp y H. Cabezas, “The waste reduction (WAR) algorithm: environmental impacts, energy consumption, and engineering economics”, *Waste Manage.*, vol. 20, n.º 8, pp. 605–615, diciembre de 2000. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: [https://doi.org/10.1016/s0956-053x\(00\)00047-7](https://doi.org/10.1016/s0956-053x(00)00047-7)
- [53] A. Argoti, A. Orjuela y P. C. Narváez, “Challenges and opportunities in assessing

- sustainability during chemical process design”, *Current Opinion Chem. Eng.*, vol. 26, pp. 96–103, diciembre de 2019. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.coche.2019.09.003>
- [54] I. K. Adu, H. Sugiyama, U. Fischer y K. Hungerbühler, “Comparison of methods for assessing environmental, health and safety (EHS) hazards in early phases of chemical process design”, *Process Saf. Environmental Protection*, vol. 86, n.º 2, pp. 77–93, marzo de 2008. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2007.10.005>
- [55] D. Lawrence, *Quantifying inherent safety of chemical process routes*. 1996.
- [56] M. H. Hassim y D. W. Edwards, “Development of a Methodology for Assessing Inherent Occupational Health Hazards”, *Process Saf. Environmental Protection*, vol. 84, n.º 5, pp. 378–390, septiembre de 2006. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.1205/psep.04412>
- [57] Narvaez. “Sustainability assessment for chemical product and process design during early design stages.”
- [58] Narvaez. “Sustainability assessment for chemical product and process design during early design stages.” Dimensionamiento modelo TBL
- [59] “idUS - Depósito de Investigación Universidad de Sevilla”. idUS - Depósito de Investigación de la Universidad de Sevilla. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://idus.us.es/handle/11441/142061>
- [60] “Influencia del tipo de catalizador en el rendimiento de reacción de glucólisis de poli tereftalato de etileno (pet) post-consumo.” scielo Ecuador- Scientific Electronic Library Online. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: [http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2477-91052022000100006](http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2477-91052022000100006)
- [61] “Análisis de eficiencia del tratamiento físico-químicos de las aguas residuales de la planta de tratamiento norte del Distrito de Chucuito, Provincia de Puno – 2020”. DSpace Home. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible:

<http://repositorio.upsc.edu.pe/handle/UPSC%20S.A.C./334>

- [62] “Rendimiento de la extracción de aceite esencial de espinaca (*Spinacia oleracea*) mediante arrastre de vapor”. Repositorio Institucional Digital. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.unac.edu.pe/handle/20.500.12952/8235>
- [63] “Optimización del proceso de extracción soxhlet del diente de león (*taraxacum officinale*) usando criterios de diseño de experimentos box-behnken.” SciELO Ecuador- Scientific Electronic Library Online. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: [http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?pid=S2477-91052022000100102&script=sci\\_arttext](http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?pid=S2477-91052022000100102&script=sci_arttext)
- [64] “Tecnología, Ciencia, Educación. (s/f). Redalyc.org. Recuperado el 12 de julio de 2024, de <https://www.redalyc.org/pdf/482/48223105.pdf>
- [65] “Diseño de una estrategia de escalamiento de un biorreactor para el crecimiento de consorcios de hongos marinos filamentosos”. Repositorio Académico - Universidad de Chile. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/199208>
- [66] Tecnología, Ciencia, Educación. (s/f). Redalyc.org. Recuperado el 12 de julio de 2024, de <https://www.redalyc.org/pdf/482/48223105.pdf>
- [67] GRUPO SEMILLAS. (s/f). Los plaguicidas en Colombia. sitio Web Semillas.org.co. Recuperado el 12 de julio de 2024, de <https://semillas.org.co/es/los-plaguicidas-en-colombia>
- [68] Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://www.fesc.edu.co/Revistas/OJS/index.php/convicciones/article/view/609>
- [69] “Estudio de mercado para la comercialización del fungicida biológico Amylo-X en los cultivos de aguacate y limón orgánico en el departamento de Nariño, para la empresa Coacosta, durante el segundo semestre del año 2022. - hdl:20.500.12010/27920”. Repositorio Institucional - Universidad Jorge Tadeo Lozano. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/handle/20.500.12010/27920>
- [70] “SciELO - Scientific electronic library online”. SciELO - Scientific electronic library online. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642004000200002&scr..>

- [71] Gisbert Verdú, Mauro. “Diseño del proceso industrial para la elaboración de cerveza”. RiuNet repositorio UPV. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://riunet.upv.es/handle/10251/73275>
- [72] “PRoducción de etanol absoluto por destilación extractiva combinada con efecto salino”. SciELO Colombia- Scientific Electronic Library Online. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0012-73532007000100006&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0012-73532007000100006&script=sci_arttext)
- [73] “Introducción a la ingeniería química: balances de masa y energía. Tomo I”. Google Books. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=\\_vyQSaHtU50C&oi=fn&pg=PA1&dq=balance+de+masa&ots=xV6ISn6dVP&sig=Dwz-fXsAhzHUw0VAZltwcOOCpY0#v=onepage&q=balance%20de%20masa&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=_vyQSaHtU50C&oi=fn&pg=PA1&dq=balance+de+masa&ots=xV6ISn6dVP&sig=Dwz-fXsAhzHUw0VAZltwcOOCpY0#v=onepage&q=balance%20de%20masa&f=false)
- [74] Chaves, I. D. G. [@ivandgilc]. (2020, junio 21). Destilación Extractiva (Etanol-Agua-Glicerol). Youtube. <https://www.youtube.com/watch?v=PAU61rS8PUI>
- [75] “Rotary Evaporators - GWSI”. GWSI. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: [https://gwsionline.com/rotary-evaporators/?gad\\_source=1&gclid=EAIaIQobChMIvZXgoJaZhwMVpolaBR3XpgY3EAA YASAAEgKGz\\_D\\_BwE](https://gwsionline.com/rotary-evaporators/?gad_source=1&gclid=EAIaIQobChMIvZXgoJaZhwMVpolaBR3XpgY3EAA YASAAEgKGz_D_BwE)
- [76] Home Center “tanque de almacenamiento de 1 metro cúbico” <https://www.homecenter.com.co/homecenter-co/product/316067/tanque-de-1000-litros/316067/>
- [77] Ingeniero Mecánico, G. N. M., del Litoral, E. S. P., Mecánico, 2008 Ingeniero, del Litoral, E. S. P., de Empresas, M. en A., & del Litoral, E. S. P. (s/f). Diseño de Tanque para Almacenamiento de Etanol Anhidro, Capacidad 5000 Barriles, con Membrana Flotante y Domo Geodésico. Edu.ec. Recuperado el 12 de julio de 2024, de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/2385/1/4725.pdf>
- [78] Equipnet. “Sistema de destilación del etanol – Modelo SRDX600”

- [79] “Rotaevaporador premium 5 litros venta Bogotá y Colombia”. Equipos para laboratorio insumos para laboratorio Bogota. Accedido el 9 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://quimicompany.com.co/productos-2/equipos-para-laboratorio-2/rotaevaporadores-para-laboratorio/rotaevaporador-premium-5-litros/>
- [80] Modelo administrativo de la empresa asecom integral S.A.S <https://dspace.tdea.edu.co/bitstream/handle/tda/151/MODELO%20ADMINISTRATIVO;jsessionid=BA8B60A457417811090A1473D88120A4?sequence=1>
- [81] Napoleón, B. S. J. (2020). Contabilidad de gestión ambiental y sostenibilidad empresarial en industrias químicas, distrito Lurigancho, Año 2019.
- [82] <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/56556>
- [83] David, C. S. J., & Eduardo, P. L. R. (2018, 24 septiembre). Diseño y simulación de esquemas de control tipo PID y Control por Modo Deslizante, que trabajan en la Región Factible de Operación (OFR) aplicado a un destilador flash. <https://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/19749>
- [84] Ambrosio, G. P., Acosta, V., & De Villavicencio, M. N. (2003). Deshidratación osmótica de guayaba a diferentes condiciones de vacío pulsante. Dialnet. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=643494>
- [85] Instituto Colombiano Agropecuario - ICA. (s. f.). <https://www.ica.gov.co/>
- [86] Inicio -. (2024, 22 mayo). <https://www.minambiente.gov.co/>
- [87] Marco legal - Ministerio del trabajo. (s. f.). <https://www.mintrabajo.gov.co/web/guest/marco-legal>
- [88] Inicio | INVIMA. (2024, 24 mayo). <https://www.invima.gov.co/>
- [89] Y. K. Capdesuñer et al., “Efecto antibacteriano in vitro de exudados foliares de tabaco contra dos bacterias fitopatógenas”, Rev. Colomb. Biotecnol., vol. 17, n.º 1, pp. 91–100, mayo de 2015. Accedido el 12 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v17n1.50707>

[90] “DSpace ESPOCH.: Evaluación del efecto nematocida de extractos alcohólicos de tres especies vegetales (*Ricinus communis*, *Tagetes filifolia*, *Nicotiana tabacum*) en el cantón Riobamba.” DSpace ESPOCH.: Página de inicio. Accedido el 12 de julio de 2024. [En línea]. Disponible: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/9499>