



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS NATURALES Y DEL
AMBIENTE
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TEMA:

“ELABORACIÓN DE UN BIOINSECTICIDA A PARTIR DEL RESIDUO AGROINDUSTRIAL DEL PROCESO DE COCCIÓN DEL CHOCHO (*Lupinus Mutabilis Sweet*), EN LA EMPRESA LAVERDE DE LA CIUDAD MACHACHI, CANTÓN MEJÍA-PICHINCHA”.

Proyecto de investigación previo a la obtención del Título de Ingeniero Agroindustrial, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Ingeniería Agroindustrial

AUTORES:

Jessica Pamela Tandalla Pillo

Karina Rocio Yugcha Capuz

DIRECTORA:

Dra. Herminia del Rosario Sanaguano PhD.

Guaranda-Ecuador

2022

TEMA

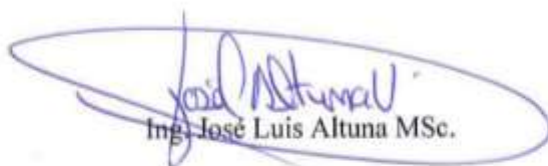
“ELABORACIÓN DE UN BIOINSECTICIDA A PARTIR DEL RESIDUO AGROINDUSTRIAL DEL PROCESO DE COCCIÓN DEL CHOCHO (*Lupinus Mutabilis Sweet*), EN LA EMPRESA LAVERDE DE LA CIUDAD MACHACHI, CANTÓN MEJÍA-PICHINCHA”.

REVISADO Y APROBADO POR:



Dra. Herminia del Rosario Sanaguano PhD.

DIRECTORA



Ing. José Luis Altuna MSc.

BIOMETRISTA



Ing. Iván Marcelo García MSc.

REDACCIÓN TÉCNICA

CERTIFICADO DE AUTORÍA

Nosotras, Jessica Pamela Tandalla Pillo con cédula de identidad N° 050264074-1 y Karina Rocío Yugcha Capuz con cédula de identidad N° 185006088-8 declaramos que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional y que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido citadas con sus respectivos autores.

La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normatización Institucional vigente.



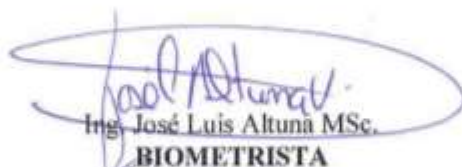
Jessica Pamela Tandalla Pillo
AUTORA
CI: 0502640741



Karina Rocío Yugcha Capuz
AUTORA
CI: 1850060888



Dra. Herminia del Rosario Sanaguano PhD.
DIRECTORA
CI: 0601587280



Ing. José Luis Altuna MSc.
BIOMETRISTA
CI: 1802538056



Ing. Iván Marcelo García MSc.
REDACCIÓN TÉCNICA
CI: 0201093960



Notaria Tercera del Cantón Guaranda
Msc. Ab. Henry Rojas Narvaez
Notario



...rio

N° ESCRITURA 20220201003P00404

DECLARACION JURAMENTADA OTORGADA POR: YUGCHA CAPUZ KARINA ROCIO y
TANDALLA PILLO JESSICA PAMELA

INDETERMINADA Di: 2 COPIAS H.R. Factura: 001-006 -000000817

En la ciudad de Guaranda, capital de la provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy día nueve de Marzo del dos mil veintidós, ante mi Abogado HENRY ROJAS NARVAEZ, Notario Público Tercero del Cantón Guaranda, comparecen las señoritas YUGCHA CAPUZ KARINA ROCIO, soltera, de ocupación estudiante, por sus propios derechos, celular (0993266150), domiciliada en la Parroquia de Santa Rosa del Cantón Ambato y de paso por este lugar, y TANDALLA PILLO JESSICA PAMELA, casada, por sus propios derechos de ocupación estudiante, domiciliada en la parroquia Guanujo, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, con celular número (0968189102), obligarse a quienes de conocerles doy fe en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación y con su autorización se ha procedido a verificar la información en el Sistema Nacional de Identificación Ciudadana; bien instruidos por mí el Notario con el objeto y resultado de esta escritura pública a la que procede libre y voluntariamente, advertidos de la gravedad del juramento y las penas de perjurio, me presenta su declaración Bajo Juramento declaran lo siguientes "Previo a la obtención del título de Ingenieras Agroindustriales de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente manifestamos que el criterio e ideas emitidas en el presente trabajo de investigación titulado "ELABORACIÓN DE UN BIOINSECTICIDA A PARTIR DEL RESIDUO AGROINDUSTRIAL DEL PROCESO DE COCCIÓN DEL CHOCHO (*Lupinus Mutabilis Sweet*), EN LA EMPRESA LAVERDE DE LA CIUDAD MACHACHI, CANTÓN MEJÍA - PICHINCHA". es de nuestra exclusiva responsabilidad en calidad de autoras, previo a la obtención de título de Ingenieras Agroindustriales de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, en la universidad Estatal de Bolívar. Es todo cuanto podemos declarar en honor a la verdad, la misma que la hacemos para los fines legales pertinentes. HASTA AQUÍ LA DECLARACIÓN JURADA. La misma que elevada a escritura pública con todo su valor legal. Para el otorgamiento de la presente escritura pública se observaron todos los preceptos legales del caso, leída que les fue a las comparecientes por mí el Notario en unidad de acto, aquella se ratifica queda incorporada al protocolo de esta notaria y firma conmigo de todo lo cual doy Fe.


YUGCHA CAPUZ KARINA ROCIO
 C.C. 1850060888


TANDALLA PILLO JESSICA PAMELA


 C.C. 0502640741
 AB. HENRY ROJAS NARVAEZ
 NOTARIO PUBLICO TERCERO DEL CANTON GUARANDA



CERTIFICADO DE URKUND

URKUND

Documento: [RECIBO DE ENTREGA DE SERVICIOS AGRICOLAS](#) (2022-03-24 14:03)

Presentado por: [JUAN CARLOS GARCIA](#)

Resolución: [1000-2022-03-24 14:03](#)

Mensaje: [RECIBO DE ENTREGA DE SERVICIOS AGRICOLAS](#)

Si se está en el idioma, la composición de texto presentada es la siguiente:

Lista de Fuentes	Bitácora
<input type="checkbox"/>	URKUND_URKUND_RECIBO DE ENTREGA DE SERVICIOS AGRICOLAS
<input type="checkbox"/>	TEXTO FUENTE PDF
<input type="checkbox"/>	2022-03-24_14:03_14:03
<input type="checkbox"/>	RECIBO DE ENTREGA DE SERVICIOS AGRICOLAS
<input type="checkbox"/>	RECIBO DE ENTREGA DE SERVICIOS AGRICOLAS
<input type="checkbox"/>	RECIBO DE ENTREGA DE SERVICIOS AGRICOLAS
<input type="checkbox"/>	RECIBO DE ENTREGA DE SERVICIOS AGRICOLAS
<input type="checkbox"/>	RECIBO DE ENTREGA DE SERVICIOS AGRICOLAS
<input type="checkbox"/>	RECIBO DE ENTREGA DE SERVICIOS AGRICOLAS
<input type="checkbox"/>	RECIBO DE ENTREGA DE SERVICIOS AGRICOLAS

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVIA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS, GANADERAS, RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE
CARRERA DE INGENIERIA AGRONOMICAS

TITULO ELABORACION DE UN PROYECTO DE INVESTIGACION A PARTIR DEL PROBLEMA AGROPECUARIO DEL PROCESO DE COCCION DEL
COCIDO JUNCO EN LA EMPRESA LA ROSA DE LA OJEDA UNICION, COCCION (TEMA-ACORDADA)

Aspecto de investigación para la obtención de tesis de ingeniería agropecuaria, otorgada por la Universidad Estatal de
Bolivia, Facultad de Ciencias Agrarias, GANADERAS, RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE, Carrera de Ingeniería
Agropecuaria

AUTORES: Dra. Herminia del Rosario Sanaguano PhD

DIRECTORA: Dra. Herminia del Rosario Sanaguano PhD

Guayaquil, Ecuador 2022

TITULO ELABORACION DE UN PROYECTO DE INVESTIGACION A PARTIR DEL PROBLEMA AGROPECUARIO DEL PROCESO DE COCCION DEL
COCIDO JUNCO EN LA EMPRESA LA ROSA DE LA OJEDA UNICION, COCCION (TEMA-ACORDADA)

Dra. Herminia del Rosario Sanaguano PhD, Directora



Dra. Herminia del Rosario Sanaguano PhD,
DIRECTORA



Ing. Iván Marcelo García MSc.
REDACCIÓN TÉCNICA

DEDICATORIA

A Dios, por darme la sabiduría, inteligencia y el conocimiento para poder llegar a este paso importante de mi formación profesional a pesar de todas mis caídas, él siempre me ha levantado para seguir adelante y alcanzar las metas que me propongo. A mi padre José Aníbal Tandalla que a pesar de las circunstancias de la vida siempre estuvo para guiarme correctamente por el camino del bien día tras día y apoyarme económicamente nunca dudo de mí y sin pensarlo dos veces me ayudo gracias papá. A mi hijo Yawri que llego en el momento preciso para ser mi inspiración, mi alegría, a mi esposo que estuvo dispuesto ayudarme, dándome ánimos y siendo un pilar fundamental en esta etapa de mi vida, a mi ángel que sin ser mi madre me apoyo incondicionalmente te fuiste sin ver este día estaré eternamente agradecida por brindarme su cariño ahora este logro también se lo dedico. A mis hermanos, abuelos, tíos y primos que siempre estuvieron dando ánimos para seguir y no resistir de lograr esta meta.

Este trabajo es la recompensa a todo su cariño, apoyo, tanto económico y moral de todos quienes me extendieron las manos en los buenos y malos momentos, considerando que la educación es la mejor herencia para los hijos.

Jessica Pamela Tandalla

DEDICATORIA

A Dios por darme sabiduría y fortaleza en momentos de debilidad, por permitirme vivir y disfrutar cada día y culminar con éxito mi trabajo investigativo y darme buena salud en todo momento.

Esta tesis va dedicada con todo mi cariño a mis padres Rafaela Capuz y Eloy Yugcha, por todo el apoyo y los sacrificios que han hecho por darme una buena educación e inculcarme valores que me han ayudado a ser mejor persona; por el amor, la comprensión y la paciencia, este logro es para ustedes, gracias por confiar y creer en mí.

A mis queridos hermanos Horlando, Gladys, Raúl, Jessica y Graciela por ser parte importante en mi vida y por impulsarme a seguir adelante, sus consejos me han motivado a seguir adelante y ser perseverante, hasta hoy poder alcanzar mi tan preciada meta, gracias por estar conmigo en todo momento. A mis amados abuelitos Nicolás y Teodora por estar siempre al pendiente de mí y darme todo su cariño.

A Juan Pacha por recorrer conmigo este camino y brindarme su amor incondicional.

Por último, pero no menos importante, este trabajo va para mí, por todo el esfuerzo, la paciencia y dedicación.

Karina Rocio Yugcha

AGRADECIMIENTOS

A la empresa “laVerde”, al Ing. Mario Laverde por habernos brindado la oportunidad de realizar el presente proyecto de tesis en sus instalaciones, por el apoyo y facilidades brindadas dentro de la misma, un agradecimiento especial a la Ing. Paola Aguaiza por el acompañamiento y colaboración en el desarrollo de la investigación.

A la Universidad Estatal de Bolívar a la Carrera de Ingeniería Agroindustrial y toda su planta docente por ser parte fundamental en nuestra formación académica y profesional.

Al Departamento de Investigación, a la Ing. Isabel Paredes por abrirnos las puertas para poder continuar con el trabajo de investigación.

Al Instituto de Fomento al Talento Humano (SENECYT), que a través de una beca nos permitieron continuar y culminar nuestros estudios, nuestros más sinceros agradecimientos a tan prestigiosa institución.

Al tribunal de titulación, Ing. José Luis Altuna, Ing. Marcelo García y en especial a la directora Dra. Herminia Sanaguano por su ayuda, paciencia y dedicación en el transcurso de todo el proceso.

Al Dr. Oswaldo Amangandi por abrirnos las puertas de su fundación para realizar nuestro trabajo de titulación.

Jessica Pamela Tandalla

Karina Rocio Yugcha

ÍNDICE GENERAL

CERTIFICADO DE AUTORÍA	III
CERTIFICADO DE URKUND	V
DEDICATORIA	VI
AGRADECIMIENTOS	VIII
ÍNDICE GENERAL	IX
ÍNDICE DE TABLAS	XVI
ÍNDICE DE FIGURAS	XIX
ÍNDICE DE ECUACIONES	XX
ÍNDICE DE ANEXOS	XXI
RESUMEN	XXII
ABSTRACT	XXIII
CAPÍTULO I	1
1.1 INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II	4
2.1 PROBLEMA	4
2.1.1 Planteamiento del problema	4
2.1.2 Formulación del problema.....	5
2.1.3 Sistematización del problema.....	5

2.1.4	Justificación del problema	5
CAPÍTULO III		7
3.1	MARCO TEÓRICO.....	7
3.1.1	Residuos Agroindustriales.....	7
3.1.1.1	Contaminación ambiental por residuos agroindustriales.	7
3.1.1.2	Aprovechamiento de residuos agroindustriales.....	8
3.1.2	El Lupinus Mutabilis Sweet (CHOCHO).....	8
3.1.2.1	Taxonomía.....	9
3.1.2.2	Variedades del tarwi en el Ecuador.....	10
3.1.2.3	Composición química y nutricional.	11
3.1.2.3.1	Composición química del chocho.....	11
3.1.2.3.2	Composición nutricional.....	11
3.1.2.4	Compuestos antinutricionales.	13
3.1.2.4.1	Alcaloides Quinolizidínicos.....	14
3.1.2.4.2	Propiedades físico químicas de los alcaloides quinolizidínicos.	15
3.1.2.4.2.1	Aplicaciones potenciales de los alcaloides del lupino	16
3.1.3	Desamargado del grano	16
3.1.3.1	Fases del desamargado.....	17
3.1.4	Métodos para la determinación de los alcaloides	18
3.1.5	Análisis fisicoquímicos y microbiológico del agua.....	19

3.1.5.1	Físicos.....	19
3.1.5.2	Químicos.	21
3.1.5.3	Microbiológico.....	23
3.1.6	Los insecticidas: características y clasificación.....	24
3.1.6.1	Insecticidas (bioinsecticidas) de origen botánico.....	25
3.1.6.1.1	Formulación de bioinsecticidas.....	25
3.1.6.1.1.1	Propiedades de las sustancias auxiliares.	26
3.1.6.2	Efecto tóxico de los bioinsecticidas.	27
3.1.7	Pulgones (<i>Myzus persicae</i>).....	28
3.1.7.1	Clasificación taxonómica.	29
3.1.7.2	Importancia y daño económico.	29
3.1.8	Mosca blanca.....	29
3.1.8.1	Taxonomía.....	30
3.1.8.2	Daños.....	30
3.1.9	Fundamentos de la constitución sobre seguridad alimentaria y ambiental	31
3.1.9.1	Constitución de la República del Ecuador.	31
CAPÍTULO IV.....		34
4.1 MARCO METODOLÓGICO.....		34
4.1.1	Localización de la investigación.....	34
4.1.2	Situación geográfica y climática.....	34

4.1.3	Zona de vida (zonificación ecológica).....	34
4.1.4	Materiales	35
4.1.4.1	Material experimental.	35
4.1.4.2	Sustancias auxiliares (aditivos).	35
4.1.5	Materiales de campo y oficina.....	35
4.1.6	Materiales de laboratorio.....	35
4.1.7	Equipos	36
4.1.8	Reactivos	37
4.1.9	Métodos	37
4.1.9.1	Factores en estudio.....	37
4.1.9.2	Tratamientos.....	37
4.1.9.3	Diseño experimental o estadístico.....	39
4.1.9.4	Modelo de análisis de varianza.	40
4.1.9.5	Pruebas de rangos múltiples.....	40
4.1.10	Metodología experimental.....	40
4.1.10.1	Procedimiento.....	40
4.1.10.2	Análisis físico-químicos y microbiológico.	41
4.1.10.3	Cuantificación de los alcaloides del agua de cocción de chocho.....	45
4.1.10.4	Desarrollo del bioinsecticida a partir el agua de cocción del chocho.	45
4.1.10.4.1	Diagrama de flujo del desarrollo del bioinsecticida.	46

4.1.10.4.1.1	Descripción del proceso.....	46
4.1.10.5	Evaluación de la efectividad del bioinsecticida mediante el control biológico en el pulgón y la mosca blanca.....	48
4.1.10.5.1	Material biológico.....	48
4.1.10.5.2	Recolección del pulgón y la mosca blanca.....	48
4.1.10.5.3	Preparación de los tratamientos.....	48
4.1.10.5.3.1	Dosificación.....	49
4.1.10.5.4	Evaluación de la efectividad del bioinsecticida.....	49
4.1.11	Análisis estadístico.....	50
CAPÍTULO V	51
5.1	RESULTADOS Y DISCUSIONES	51
5.1.1	Análisis físico-químico y microbiológico del agua de cocción del chocho.....	51
5.1.1.1	Análisis físico.....	51
5.1.1.2	Análisis químico.....	52
5.1.1.3	Análisis Microbiológico.....	53
5.1.2	Cuantificación de los alcaloides del agua de cocción de chocho.....	54
5.1.2.1	Espectro de masas.....	55
5.1.3	Desarrollar el bioinsecticida a partir del agua de cocción de chocho.....	57
5.1.3.1	Residuos obtenidos en la centrifugación del agua de chocho.....	58
5.1.3.2	Formulación.....	59

5.1.3.3	Evaluar la efectividad del bioinsecticida mediante el control biológico en el pulgón y la mosca blanca.....	68
5.1.4	Análisis estadístico	74
5.1.4.1	Resultados del ANOVA del porcentaje de mortalidad en los pulgones.	74
5.1.4.1.1	Pruebas de Múltiple Rangos para el porcentaje de mortalidad por Dosificación bioinsecticida/agua destilada ml.	75
5.1.4.1.2	Análisis de una muestra.	77
5.1.4.2	Resultados del ANOVA del porcentaje de mortalidad en mosca blanca.	78
5.1.4.2.1	Pruebas de Múltiple Rangos para el porcentaje de mortalidad por Dosificación bioinsecticida/agua destilada ml.	79
CAPÍTULO VI.....		82
6.1	COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS	82
6.1.1	Hipótesis a verificar.....	82
6.1.1.1	Hipótesis nula (Ho).	82
6.1.1.2	Hipótesis alterna (Ha).....	82
6.1.1.3	Verificación de la hipótesis.	82
CAPÍTULO VII.....		83
7.1	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	83
7.1.1	Conclusiones.....	83
7.1.2	Recomendaciones.....	84

BIBLIOGRAFÍA	85
ANEXOS.....	94
GLOSARIO DE TÉRMINOS	110

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Clasificación taxonómica de <i>Lupinus Mutabilis</i> Sweet	9
Tabla 2	Composición química del chocho.....	11
Tabla 3	Clasificación taxonómica de los "pulgonos"	29
Tabla 4	Clasificación taxonómica de la "mosca blanca"	30
Tabla 5	Parámetros de la situación geográfica y climática del lugar de la investigación	34
Tabla 6	Los factores considerados para determinar el porcentaje de mortalidad de los pulgonos y la mosca blanca con el bioinsecticida.....	37
Tabla 7	Tratamientos: Los factores considerados para el porcentaje de mortalidad del bioinsecticida en el control de los pulgonos y mosca blanca.	38
Tabla 8	Características del experimento.....	39
Tabla 9	Modelo de análisis de varianza.....	40
Tabla 10	Referencia bibliográfica de las aditivos o sustancias auxiliares para la formulación del bioinsecticida	47
Tabla 11	Parámetros físicos del agua de cocción de chocho.....	51
Tabla 12	Parámetros químicos del agua de cocción del chocho	52
Tabla 13	Parámetros microbiológicos del agua de cocción del chocho	53
Tabla 14	Rendimiento del agua de cocción de chocho.....	58
Tabla 15	Cálculo del residuo generado	58
Tabla 16	Formulación a base de agua de chocho + ácido bórico 5%	60
Tabla 17	Formulación a base de agua de chocho + 3,5 % ácido bórico.....	61
Tabla 18	Formulación a base de agua de chocho + 3,5 % ácido bórico + 5 % Glicerina	62

Tabla 19 Formulación a base de agua de chocho + 0,3% Tween 20 + 3 % Glicerina + 3,5% ácido bórico	63
Tabla 20 Formulación a base de agua de chocho + 10% aceite de eucalipto + 4 % Tween 20 + 3 % Glicerina + 3,5% ácido bórico.....	64
Tabla 21 Formulación a base de agua de chocho + 1% aceite de eucalipto + 4% Tween 20 + 3 % Glicerina+ 3,5% ácido bórico.....	66
Tabla 22 Formulación establecida mediante los ensayos realizados.....	67
Tabla 23 Costo de Producción del bioinsecticida.....	68
Tabla 24 pH de las dosificaciones	69
Tabla 25 Porcentaje de mortalidad de los pulgones con el agua de chocho tratada	69
Tabla 26 Porcentaje de mortalidad de los pulgones con el bioinsecticida formulado	70
Tabla 27 Porcentaje de mortalidad de las moscas blanca con el agua de chocho tratada	72
Tabla 28 Porcentaje de mortalidad de la mosca blanca con el bioinsecticida formulado	73
Tabla 29 Análisis de Varianza para el porcentaje de Mortalidad.....	74
Tabla 30 Pruebas de Múltiple Rangos para el porcentaje de mortalidad por Dosificación bioinsecticida/agua destilada ml: Método: 95,0 porcentaje LSD	75
Tabla 31 Contraste de las dosificaciones.....	76
Tabla 32 Análisis de una muestra del porcentaje de mortalidad del pulgón	77
Tabla 33 Análisis de Varianza para el porcentaje de mortalidad	78
Tabla 34 Pruebas de Múltiple Rangos para el porcentaje de mortalidad por Dosificación bioinsecticida/agua destilada ml: Método: 95,0 porcentaje LSD	79
Tabla 35 Contraste de las dosificaciones para el porcentaje de mortalidad de la mosca blanca	79

Tabla 36 Análisis de una muestra para el porcentaje de mortalidad de la mosca blanca80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura de la lupanina.....	15
Figura 2 Estructura de la esparteína.	16
Figura 3 Alcaloides identificados en el cromatograma.	54
Figura 4 Espectro de masas de la esparteína.	55
Figura 5 Espectro de masas de la biblioteca C:\Database\Wiley275.L de la esparteína.	56
Figura 6 Espectro de masas de la lupanina.....	56
Figura 7 Espectro de masas de la biblioteca C:\Database\Wiley275.L de la lupanina.	57
Figura 8 Representación del residuo sólido en porcentaje del agua de cocción del chocho. ...	59
Figura 9 Representación del porcentaje de mortalidad sobre los pulgones.....	70
Figura 10 Representación del porcentaje de mortalidad sobre los pulgones con el bioinsecticida.....	71
Figura 11 Representación del porcentaje de mortalidad sobre la mosca blanca.	72
Figura 12 Representación del porcentaje de mortalidad sobre la mosca blanca con el bioinsecticida.....	73
Figura 13 Media y 95,0% de Fisher LSD.....	76
Figura 14 Probabilidad normal.....	77
Figura 15 Media y 95,0% de Fisher LSD.....	80
Figura 16 Probabilidad normal.....	81

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Cálculo Método LSD.....	40
Ecuación 2. Cálculo de alcalinidad.....	42
Ecuación 3. Cálculo de los sólidos totales.....	42
Ecuación 4. Cálculo de % grasa	43
Ecuación 5. Cálculo % de nitrógeno.....	44
Ecuación 6. Cálculo de proteína	44
Ecuación 7. Cálculo de carbohidratos	44
Ecuación 8. fórmula de Abbott.....	49

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Mapa de ubicación de la investigación.....	95
Anexo 2. Certificado emitido por la empresa “laVerde”	96
Anexo 3. Análisis del agua de cocción del chocho	97
Anexo 4. Cromatogramas del perfil de los alcaloides “QUIMICALABS”	98
Anexo 5. Fotografías del trabajo experimental	103

RESUMEN

Esta investigación se enfoca en aprovechar el residuo agroindustrial del proceso de cocción del chocho generado en la empresa “laVerde” en la elaboración de bioinsecticida. A nivel de laboratorio se realizaron análisis físico-químicos y microbiológicos de los parámetros más relevantes, por método APHA para alcalinidad 236,27mg/L, conductividad 325,08 μ s/cm, sólidos totales 1652mg/L y turbiedad 50,64NTU; bajo el método AOAC para grasa 0%, proteína 3,07%, pH 5,47 INEN y carbohidratos bajo cálculo 1,60%; a través de la norma AOAC e ISO para aerobios totales 1,2x10⁶UFC/ml, mohos <10upm/ml y levaduras 1,3x10⁶upl/ml. Además, se cuantificó los alcaloides por (GC/MS), encontrando la lupanina en mayor proporción con 54,52%, con relación a la esparteína 18,17%, nuttalline 10,12% e isolupanina 0,56%. Para el desarrollo del bioinsecticida se realizó un tratamiento al agua con centrifugación a 5000 rpm por 10 min y filtración con el fin de separar la materia orgánica, para eliminar los microorganismos presentes se pasteurizó a 75°C por 15 min, estableciendo una composición de agua de chocho de 88,5% y sustancias auxiliares a 11,5%, el mismo que tuvo pH de 5,07 a 54 días. Posteriormente se evaluó la efectividad en pulgones y mosca blanca en base a la mortalidad de Abbott, la dosificación de 100ml y 75ml se evidenció una mortalidad del 63% a 24h de exposición, alcanzando un 85% y 75% de efectividad a las 72h para pulgones, a las mismas dosificaciones presentó mortalidades de 66% a 24h de exposición, alcanzando 75% y 83% de efectividad a 72h para mosca blanca.

Palabras claves: agua de cocción del chocho, bioinsecticida, alcaloides, mortalidad, lupanina, formulación, pulgones, mosca blanca

ABSTRACT

This research focuses on using the agro-industrial residue from the cooking process of lupine generated in the company "laVerde" in the elaboration of bioinsecticida. At the laboratory level, physicochemical and microbiological analyses were performed for the most relevant parameters, using the APHA method for alkalinity 236,27mg/L, conductivity 325,08 μ s/cm, total solids 1652mg/L and turbidity 50,64NTU; under AOAC method for fat 0%, protein 3,07%, pH 5,47 INEN and carbohydrates under calculation 1,60%; through AOAC and ISO standard for total aerobes 1.2x10⁶UFC/ml, molds 10upm/ml and yeasts 1. 3x10⁶upl/ml. In addition, the alkaloids were quantified by (GC/MS), finding lupanine in the highest proportion with 54.52%, in relation to sparteine 18,17%, nuttalline 10,12% and isolupanine 0,56%. For the development of the bioinsecticide, the water was treated with centrifugation at 5000 rpm for 10 min and filtration in order to separate the organic matter, and pasteurized at 75°C for 15 min to eliminate the microorganisms present, establishing a composition of 88,5% lupine water and 11,5% auxiliary substances, with a pH of 5,07 at 54 days. Subsequently, the effectiveness on aphids and whiteflies was evaluated based on Abbott mortality, the dosage of 100ml and 75ml showed a mortality of 63% at 24h of exposure, reaching 85% and 75% of effectiveness at 72h for aphids, at the same dosages presented mortalities of 66% at 24h of exposure, reaching 75% and 83% of effectiveness at 72h for whiteflies.

Key words: cooking water of lupine, bioinsecticide, alkaloids, mortality, lupanine, formulation, aphids, whitefly.

CAPÍTULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad las industrias agroalimentarias traen consigo ventajas indiscutibles como el aumento en la calidad de vida de las poblaciones, ofreciendo nuevos productos haciendo más complejos sus procesos, generando cada vez mayores cantidades de residuos agroindustriales implicando una problemática ambiental ya que muchas de estas industrias no cuentan con un sistema de tratamiento, lo que llevan a ser el blanco de muchas críticas y adquirir una imagen de contornos no muy positivos (Saval, 2012).

Aunque estos residuos no representen el valor principal de la transformación pueden ser la materia prima para el desarrollo de nuevos subproductos como la obtención de pectina, xilitol, ácido acético, la extracción de metabolitos fermentables, la obtención de aceites esenciales y compuestos con capacidad antioxidante, la producción de alimentos funcionales, biofertilizantes y bioplaguicidas debido a la presencia de compuestos bioactivos con propiedades funcionales (Urbina, 2019). Por esta razón es necesario la implementación de nuevas técnicas o métodos para el aprovechamiento de estos residuos ya que la generación de subproductos trae consigo ventajas socioeconómicas.

En general las industrias alimentarias producen un volumen elevado de efluentes líquidos como consecuencia de consumir cierta cantidad de agua, por ejemplo, la industria láctea exige un 2.5 m³/tonelada de producto y el procesamiento del chocho requiere 63 m³ de agua por tonelada de grano, ya que, el proceso de desamargado del lupinos comprende la selección, limpieza, hidratación, cocción y lavado del grano, por ello representa un consumo superior a las demás industrias (Carrión, 2006).

“laVerde” es una de las empresas que se dedica a procesar, empacar y comercializar el chocho desamargado listos para el consumo humano a pesar de sus múltiples beneficios no puede ser consumida directamente debido a la presencia de alcaloides que le dan un sabor amargo al grano y puede ser toxico, por este motivo debe sufrir un proceso de desamargado, con el objetivo de eliminar en un 99.92% de esta sustancia (Camarena et al., 2012).

Es importante decir que durante la industrialización del chocho específicamente en el proceso de cocción sus aguas son ricas en alcaloides entre los que destacan la lupanina seguida de la esparteína de tipo quinolizidínicos. Se conoce que en el agua proveniente del desamargado del chocho contiene 3.53 % (P/V) de alcaloides los mismos que al ser vertidos a los ríos, acequias, etc., provocan contaminación en el ambiente ocasionando la muerte de algunas especies por la gran toxicidad que poseen (Quishpe, 2017).

A pesar que los alcaloides dan el sabor amargo al chocho, tienen usos en la agricultura, siendo empleadas por los agricultores para el control de plagas y como regulador del crecimiento o fertilizante en los cultivos de maíz, trigo, soja y papa; además el líquido que se obtiene del desamargado ha sido utilizado para combatir las garrapatas en el ganado ovino y camélidos (Rodríguez, 2009). El principal alcaloide presente en el chocho es la lupanina, que puede ser utilizado como bioinsecticida contra lepidópteros y coleópteros, también a la planta, le sirve para crear mecanismos de defensa contra insectos, herbívoros y patógenos microbianos, debido a su actividad inhibidora de las síntesis de proteína, de ARN trasmisor, depresores del sistema nerviosos central, oxiotóxicos, antiarrítmicos e hipoglicemiantes (Villacrés, 2009).

Por tal motivo se debe investigar al *Lupinus Mutabilis Sweet*, ya que presentan metabolitos secundarios con actividad biológica que puede ser empleada para potenciar

medicamentos, insecticidas, herbicidas de esta manera aprovechar las propiedades que posee el grano.

Se presentan los siguientes objetivos:

Elaborar un bioinsecticida a partir del residuo agroindustrial del proceso de cocción del chocho (*Lupinus Mutabilis Sweet*), en la empresa “laVerde” de la ciudad Machachi, Cantón Mejía-Pichincha.

- Realizar un análisis físico-químico y microbiológico del agua de cocción de chocho
- Cuantificar los alcaloides del agua de cocción de chocho
- Desarrollar el bioinsecticida a partir del agua de cocción de chocho
- Evaluar la efectividad del bioinsecticida mediante el control biológico en el pulgón y la mosca blanca.

CAPÍTULO II

2.1 PROBLEMA

2.1.1 *Planteamiento del problema*

“laVerde” es una empresa alimenticia que en la industrialización del chocho genera residuos, principalmente en el proceso de cocción aproximadamente $1,5 m^3$ / día de este líquido, que no es tratado para su descarga lo que ocasiona un problema tanto a la empresa como al medio ambiente, puesto que este residuo es evacuado al sistema de alcantarillado y luego a las cuencas hídricas del sector donde funciona la mencionada empresa.

Los alcaloides son moléculas de origen vegetal que se encuentran presentes en el reino vegetal especialmente en las leguminosas, se caracterizan por su estructura molecular compleja a base de átomos de carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno. Hay aproximadamente 5000 alcaloides diferentes, y todos son de naturaleza alcalina (tienen un sabor amargo), de ahí su nombre (Ávalos A., Pérez, E., 2010). Según Camarena et al. (2012), han reportado la existencia de diferentes tipos de alcaloides quinolizidínicos presentes en los granos de tarwi, entre los que destacan: esparteína, lupinina y lupanina, siendo el principal alcaloide la lupanina.

En la actualidad el uso indiscriminado de insecticidas sintéticos ha originado un problema de residualidad, contaminación y quimioresistencia, lo que obliga a buscar nuevos métodos de control más inocuos. Dentro de este control alternativo, encontramos a los insecticidas de origen natural que se obtienen a través de extractos vegetales con propiedades con acción repelente, atrayentes, insecticidas, fungicidas, bactericidas y fertilizantes (Campos et al., 2016). Por esta razón se quiere aprovechar el agua de cocción del chocho por su contenido de alcaloides y darle un valor agregado a este residuo agroindustrial permitiendo el manejo y uso racional de los recursos naturales, seguridad alimentaria, estabilidad productiva,

biodiversidad en los agroecosistemas y reducción de la contaminación con mejoras en la salud de la población (Lubell et al., 2011).

2.1.2 Formulación del problema

Tomando como referencia lo planteado se genera la siguiente pregunta de investigación: ¿Qué características posee el agua de cocción del chocho producido en la empresa “laVerde” de la ciudad de Machachi y que se puede obtener a partir del mismo?

2.1.3 Sistematización del problema

Para llevar a cabo esta investigación se plantearon las siguientes interrogantes científicas metodológicas para dar cumplimiento al objetivo general siendo estas las siguientes preguntas de investigación:

- ¿Cuál es la composición físico-químico y microbiológico del agua de cocción de chocho?
- ¿Qué alcaloides contiene el agua de cocción de chocho?
- ¿Cómo desarrollar el bioinsecticida a partir del agua de cocción de chocho?
- ¿Cómo evaluar la efectividad del bioinsecticida?

2.1.4 Justificación del problema

El agua de cocción del chocho es un residuo agroindustrial, al cual, no se le ha dado la debida importancia y aprovechamiento, por su contenido de alcaloides que puede ser utilizada como insecticida por sus propiedades tóxicas ante organismos vivos como los insectos.

Según los autores Jacobsen y Mujica (2006) en investigación sobre “El Tarwi (*Lupinus Mutabilis Sweet*) y sus parientes silvestres”, el agua de tarwi es utilizada como biocida puesto que controla plagas de muchos cultivos nativos como papa, oca, habas ya que es un excelente repelente de insectos, que controla pulgones, trips, la pulguilla saltona (*Epitrix subcrinita*) y al gorgojo de los Andes (*Premnotripes solani*) en el cultivo de papa.

Rodríguez (2009) evaluó “in vitro” la actividad antibacteriana de los alcaloides del agua de desamargado del chocho (*Lupinus Mutabilis Sweet*) sobre cepas de microorganismos ATCC, mostrando actividad antimicrobiana a concentraciones muy altas en referencia a 100 µg/ml que es la relacionada a un alto nivel de potencia para usos farmacológicos. Mientras que Coloma (2009) en su estudio “Evaluación in vitro de la Actividad antifúngica de los Alcaloides del agua de cocción del proceso de desamargado del chocho (*Lupinus mutabilis sweet*)” estos trabajos estaban enfocados en disminuir la contaminación del medio ambiente.

En la presente investigación se va a aprovechar los alcaloides de tipo quinolizidínicos presentes en el agua de cocción del chocho, para elaboración de un bioinsecticida, en vista de que en los actuales momentos no se ha dado un debido uso e importancia a este efluente, de esta manera se propone aprovechar este residuo dando un valor agregado y con ello se minimizará uno de los problemas ambientales.

CAPÍTULO III

3.1 MARCO TEÓRICO

3.1.1 *Residuos Agroindustriales*

Los residuos o subproductos se generan en cualquier proceso productivo y usualmente no son de utilidad posterior como materia prima para la cadena de producción (Rosas et al., 2016). El sector agroindustrial no es la excepción, así que genera residuos que pueden ser definidos como materiales en estado sólido o líquido obtenidos a partir del consumo directo de productos primarios o de su industrialización, que ya no son de utilidad para el proceso que los generó, pero sí se pueden aprovechar o transformar para obtener otro producto con valor económico, comercial o social. Cada uno de los subsectores de la agroindustria genera residuos específicos. En su mayoría, estos presentan características óptimas y adecuadas para su aprovechamiento en otra cadena de producción o como alternativa de tratamiento o recuperación de algún medio contaminado. La disposición inadecuada de los residuos de producción agroindustrial es una constante en este sector, ocasionando alteraciones en los diferentes medios abióticos, bióticos y socioeconómicos, e incluso puede llegar a generar pérdidas económicas para las empresas (Vargas y Pérez, 2018).

3.1.1.1 Contaminación ambiental por residuos agroindustriales.

La generación de residuos agroindustriales sólidos, líquidos o gaseosos constituye focos potenciales de contaminación y riesgo para la salud, si no son dispuestos o procesados apropiadamente (Guerrero y Valenzuela, 2011). Algunos de estos residuos son quemados o vertidos en rellenos sanitarios, lo que produce una gran liberación de dióxido de carbono (CO₂), contaminación de cursos de aguas, molestias por presencia de olores, proliferación de moscas y otros insectos, entre otros efectos negativos. La generación de estos residuos puede ocurrir

durante los procesos relacionados con el cultivo u obtención de materia prima o en las actividades de procesamiento de esta. (Vargas, A. y Pérez, L., 2018). Si no son reciclados o dispuestos apropiadamente, tales residuos producen diversos impactos ambientales adversos, lo que genera, según contaminación principalmente en el suelo y el agua, tanto en fuentes superficiales como subterráneas (Guerrero y Valenzuela, 2011). La agroindustria alimentaria como de las oleaginosas, vegetales, azúcar, carnes, pesca, lácteos, etc., causa mayor impacto en el ambiente, entre otras, por la generación de diversos subproductos o residuos sólidos y líquidos en las diferentes etapas del procesamiento (Restrepo, 2011).

3.1.1.2 Aprovechamiento de residuos agroindustriales.

Los residuos agroindustriales actualmente están siendo motivo de diversos estudios, debido a que gran parte de sus componentes pueden ser utilizados como materia prima para la generación de productos con valor agregado (Peñaranda et al., 2017). Hoy en día, la industria busca nuevos procesos de producción que sean más eficientes y que generen bajo impacto en el medio ambiente. Dentro de estos nuevos procesos se ha encontrado la necesidad de disminuir la explotación de los recursos naturales aprovechando los residuos generados en la industria (Salamanca, 2012). Del mismo modo, el aprovechamiento de estos residuos o subproductos, no solo contribuye a disminuir la explotación de recursos sino también la contaminación y degradación del ecosistema, evitando una disposición final inadecuada como es el caso de las quemas, el uso en rellenos sanitarios o el vertimiento a fuentes hídricas (Peñaranda et al., 2017).

3.1.2 *El Lupinus Mutabilis Sweet (CHOCHO)*

Lupinus Mutabilis, es una especie comestible, conocida comúnmente como "chocho" o "tarwi", es una especie agrícola ancestral y cultivada desde hace aproximadamente 2000 años y probablemente ha sido la fuente para la nutrición proteica del poblador andino ya que su

contenido proteico en semillas secas oscila entre 40 - 45%, contiene proteínas de alto valor biológico, aminoácidos esenciales disponibles al organismo para satisfacer su requerimiento durante una situación biológica y valor nutricional (aminoácidos para síntesis de proteínas totales juntamente con otros nutrientes). Según los especialistas, su consumo en sopas, ceviches, ajíes y leches ayuda a los niños en su crecimiento y desarrollo cerebral, ya que poseen calcio y aminoácidos beneficiosos (Quishpe Z., 2017).

Según el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (2014), en Ecuador el cultivo de chocho se localiza en la Sierra, entre las provincias de Cotopaxi, Chimborazo, Pichincha, Bolívar, Tungurahua, Carchi e Imbabura. La provincia de Pichincha presenta la mayor superficie de cosecha con 7759 ha., seguida por la provincia de Tungurahua con 6535 ha.

3.1.2.1 Taxonomía.

A continuación, se detalla la taxonomía de *Lupinus Mutabilis Sweet*.

Tabla 1

Clasificación taxonómica de Lupinus Mutabilis Sweet

Descripción	Detalle
División	Espermatofita
Subdivisión	Angiosperma
Clase	Dicotiledóneas
Subclase	Arquiclamídeas
Orden	Rosales
Familia	Leguminosas
Subfamilia	Papilionoídeas
Tribu	Genisteas
Género	Lupinus
Especie	Mutabilis
Nombre científico	Lupinus mutabilis Sweet
Nombre común	Chocho, tahuri, tarwi

Fuente: Tapia (2015).

3.1.2.2 Variedades del tarwi en el Ecuador.

En Ecuador existen algunas variedades de chocho que se cultivan a nivel de la sierra en las provincias de Cotopaxi, Chimborazo, Pichincha, Bolívar, Carchi, Tungurahua e Imbabura. Estas variedades son INIAP 450 Andino, INIAP 451 Guaranguito y Criollo; las dos primeras son variedades mejoradas por Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones (INIAP) y el chocho Criollo es una variedad nativa de los agricultores (Caicedo et al., 2009).

✓ Andino INIAP 450

Es de hábito de crecimiento herbáceo, precoz, con cierta susceptibilidad a plagas y enfermedades foliares y radicales. El rendimiento de esta variedad es superior en un 18,3 % al rendimiento promedio de ecotipos locales (1350 a 1500 kg/ha). El grano es de calidad, tiene un diámetro mayor a 8 mm y es de color crema y redondo. Fue obtenida de una población de germoplasma introducida de Perú, en 1992 (INIAP, 2010).

✓ Guaranguito INIAP 451

La planta tiene un tipo de crecimiento erecto, es tolerante al acame de tallo por el viento, proviene de la línea ECU-2658-2 que fue una selección de la línea de ECU-2658 proveniente del Perú en el año 1992. Se cultiva en la Provincia de Bolívar, entre los 2200 a 3600 msnm, precipitaciones entre los 300 a 600 mm, temperatura de 7 a 14° C. Esta variedad posee el tamaño de grano seco y grande de forma oval aplanada, los días de floración es entre 75 a 84 días y los días de cosecha es entre 170 a 186, tiene una adaptación de 2200 a 3600 m.s.n.m., su rendimiento promedio en grano seco es de 1500 kg por hectárea (INIAP, 2010).

✓ Criollo

Es una variedad nativa de los agricultores de las diferentes provincias, de la cual no se tiene mucha información sobre sus características de cultivo y su composición debido a que no han

sido analizadas y pueden pertenecer a muchas variedades, mientras que las semillas que tiene el INIAP son certificadas y pertenecen a un banco de germoplasma (INIAP, 2010).

3.1.2.3 Composición química y nutricional.

3.1.2.3.1 Composición química del chocho.

El tarwi es altamente nutritivo, la misma, se constituye de proteínas y aceites más de la mitad de su peso, su valor nutritivo varía en función del grado de humedad y de la presencia o ausencia de cáscara. Estas semillas contienen sustancias amargas denominadas alcaloides de los que se destaca la lupanina, esparteína (Irigoin, 2016).

Tabla 2

Composición química del chocho

Composición	Contenido
Alcaloides	Lupindina, lupinina, orlupinina, esparteína
Contenido de aceite	Varía de 12- 26,67 %
Fibra	0,5%
Cenizas totales	4,7 %
Minerales	P, Ca, Mg, Vit. B1
Aminoácidos	Lisina, valina, cistina, metionina, treoinina, tirosina, lausina.
Grasa	15-24%

Fuente: Cutipa (2014).

3.1.2.3.2 Composición nutricional.

Los ensayos sobre los componentes químicos que posee el tarwi son de mucha importancia por el contenido de proteína y aceite. Así el grano amargo (con presencia de alcaloides quinolizidínicos) contiene en promedio 42% de proteína; mientras que en el proceso de desamargado, permite concentrar más el contenido de este nutriente, con valores de 51%. El grano también tiene un elevado contenido de aceite (18% a 22%), donde sobresalen los siguientes ácidos grasos: oleico (40%), linoleico (37%) y linolénico (3%) (INIAP, 2006).

✓ **Proteína**

Según Laurete Y. (2016) la semilla del chocho o tarwi contiene un 40% de proteínas un valor superior a los granos de soja, siendo las globulinas las proteínas de mayor fracción proteica (80%- 90%) y el resto está compuesta de la albúmina, presentando un amplio punto isoeléctrico entre pH 4 - 6 con solubilidad mínima de nitrógeno entre 10%-20 %. Por lo general las proteínas sólo son solubles en disolventes fuertemente polares, como, agua, glicerol, formamida, dimetil-formamida, ácido fórmico, y en disolventes menos polares, como, el etanol, solo en caso excepcionales hay una notable solubilidad. Las sales neutras tienen en general una doble influencia sobre la solubilidad de las proteínas a concentraciones bajas (0,5-1 mol/L), actúan como consecuencia de la disminución de las interacciones electrostáticas proteína-proteína, aumentando la solubilidad. Por ser sustancias polares las proteínas se hidratan en solución acuosa. El grado de hidratación (agua de hidratación/ g proteína) es variable. Unas 300 moléculas de agua son suficiente para recubrir la superficie de la lisozima (6000 \AA^2) es decir de una molécula de agua corresponde unos 20 \AA^2 . La capacidad de imbibición es para las proteínas insolubles lo que la hidratación para las proteínas solubles. Por penetración de agua en la estructura, se produce un aumento de volumen y otras modificaciones de las propiedades físicas del grano.

✓ **Ácidos Grasos.**

El ácido graso que predomina en el chocho, maní y soja es el ácido oleico, siendo así que su concentración en la semilla de chocho se aproxima al 40,40%. La concentración de ácido linolénico en la semilla del lupino es baja, esta característica le permite una buena conservación del aceite, ya que, éste se oxida rápidamente y podría originar cambios indeseables en el sabor del aceite, la composición de ácidos grasos, a diferencia de los aminoácidos, depende

fuertemente de las influencias ambientales, de manera que puedan presentarse considerables variaciones según las localizaciones y los años (Quishpe, 2015).

✓ **Carbohidratos**

Lupinus Mutabilis Sweet, contiene un bajo contenido de sacarosa y almidón, en cambio la proporción de oligosacáridos, que no son aprovechables para el hombre es relativamente alta; los oligosacáridos son los causantes de la producción de flatulencias en el hombre y animales caracterizada por la producción de gran cantidad de CO₂, H₂ y CH₄. En este grupo de α -galactósidos se han identificado: rafinosa, estaquiosa y verbascosa y otros de peso molecular más altos, en todos ellos está presente la galactosa con 1, 2 y 3 moléculas respectivamente, unidas a la sacarosa con enlaces (α 1-6) (Quishpe, 2015).

3.1.2.4 Compuestos antinutricionales.

Rodríguez (2009) menciona que el grano de *Lupinus mutabilis Sweet* no solo tiene un alto valor nutritivo sino también está compuesto por sustancias anti nutricionales, debido a esto, no es posible la ingesta directa del chocho, por lo que, previo a su uso alimenticio, se lo debe someter al lavado y a la cocción; eliminando en estos procesos compuestos anti nutritivos como:

- Hemaglutininas
- Glucósidos
- Inhibidores de proteasas
- Alcaloides

Los alcaloides son el principal compuesto antinutricional, que brindan toxicidad y sabor amargo al grano. Aunque estos, son ampliamente reconocidos en el área de la medicina, en términos de química ecológica, los alcaloides del género *Lupinus* representan un importante

sistema químico de defensa contra microorganismos fitopatógenos (virus, bacterias, hongos), animales herbívoros (nematodos, insectos, vertebrados) y contra otras especies de plantas que causan competitividad, pues, presentan propiedades antivirales, antibacterianos y antifúngicas (Wolko et al., 2011).

Sweetingham M. et al. (2006) manifiesta que la ruta biosintética de los alcaloides inicia con la lisina, la cual se convierte en cadaverina que luego producirá principalmente dos moléculas tetracíclicas: lupanina y esparteína. Encontrando a la lupanina como la molécula anti-nutricional más abundante presente en *Lupinus mutabilis* Sweet y este alcaloide corresponde al 2,5 % de composición en grano crudo y 11,5 % en extracto purificado. El segundo en importancia es la esparteína y corresponde al 0,32% en el grano crudo y 2,5% en el extracto purificado. (Villacrés et al., 2009).

3.1.2.4.1 *Alcaloides Quinolizidínicos.*

Los alcaloides de esta naturaleza química son derivados de la cadaverina y están ampliamente distribuidos entre las leguminosas, entre los que destacan: esparteína, lupinina y lupanina; los cuales se emplean para controlar insectos, ectoparásitos y parásitos intestinales de animales. En el género *Lupinus*, estos compuestos se sintetizan en los cloroplastos de las hojas y son transportados vía floema a otros órganos de la planta para su almacenamiento en tejido epidérmico y subepidérmico de hojas, tallos y principalmente semillas. Algunos alcaloides quinolizidínicos presentan propiedades farmacéuticas beneficiosas de tipo citotóxico, antibacteriano antiviral y oxiótico. Estructuralmente poseen anillos quinolizidínicos y se dividen en: bicíclicos, tricíclicos y tetracíclicos como la lupanina (Bunsupa et al., 2013).

Los alcaloides cíclicos (lupanina), sufren modificaciones por esterificación, Hidroxilación y glicosilación, dando lugar a una gran variedad de alcaloides; de la esterificación

se genera la 3- β -hidroxilupanina y 13-hidroxilupanina, alcaloides pertenecientes también a este género pero que se encuentran en cantidades mínimas (Ohmiya, 2007).

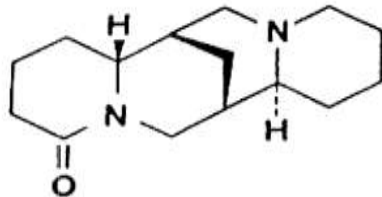
3.1.2.4.2 *Propiedades físico químicas de los alcaloides quinolizidínicos.*

✓ **Lupanina**

La lupanina es el alcaloide que se encuentra en mayor concentración en el chocho, su fórmula estructural $C_{15}H_{24}N_2O$ tiene un peso molecular de 248,36 g/mol, es soluble en agua, cloroformo, éter y alcohol e insoluble en éter de petróleo. Además, tiene actividad antibacteriana, nematicida, puede utilizarse como insecticida contra lepidópteros y coleópteros, también produce inhibición de las actividades moduladoras, inhibe la síntesis de proteínas, inhibe la fase de elongación de Phe-tRNA, además posee actividad antiarrítmica, hipotensora, y actividad hipoglicemiante (Aguirre, 2018).

Figura 1

Estructura de la lupanina.



Fuente: Aguirre E. (2018).

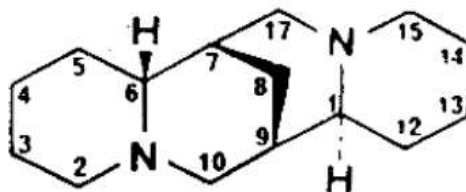
✓ **Esparteína**

Su fórmula estructural es $C_{15}H_{26}N_2$, los dos átomos de nitrógeno de la esparteína están unidos en forma terciaria, tienen un peso molecular de 234 g/mol. Es un líquido oleoso, espeso, incoloro con olor débil a anilina y sabor sumamente amargo. Tiene un peso específico de 1,02 a 20 °C y hierve a 311 °C en corriente alcalina. También tiene sus efectos tóxicos al inhibir los canales de K^+ , además inhibe la síntesis y formación del RNAt, es un depresor del sistema

nervioso central, posee actividad, oxiotóxica, uterotónica, antiarrítmica, diurética, hipoglicemiante, estimulante y nervioso (Aguirre, 2018).

Figura 2

Estructura de la esparteína.



Fuente: Aguirre E. (2018).

3.1.2.4.2.1 Aplicaciones potenciales de los alcaloides del lupino

El lupino contiene alcaloides con una significativa actividad biológica que puede ser utilizada en el campo de la farmacia, agricultura, e industria, su principal propósito, es la defensa de la planta contra insectos, herbívoros y patógenos microbianos. Los agricultores ocasionalmente utilizan el agua de cocción del tarwi como laxante y para el control de plagas en plantas, ectoparásitos y parásitos intestinales de los animales, tienen efectos tóxicos y mutagénicos en conejos, nematodos, abejas, caracoles, langostas, gusanos y escarabajos (Villacrés E. y Rubio A., 2008). La lupanina y la esparteína poseen actividad antifúngica, mientras que la lupinina, lupanina, 13-oxoesparteína y esparteína, tienen actividad insecticida, reprimiendo en los insectos el deseo de alimentación, de esta manera eliminan su supervivencia (Aguirre, 2018).

3.1.3 Desamargado del grano

Para poder aprovechar el tarwi en la alimentación humana y animal tiene que pasar por un proceso de extracción de las sustancias amargas o alcaloides que son compuestos

nitrogenados que le dan el sabor amargo al chocho, contiene alrededor de (2,6% a 4,2%); éste constituye el principal obstáculo para su consumo directo (Caicedo et al. 2009).

3.1.3.1 Fases del desamargado.

Según Caicedo et al. (2009), las fases necesarias para la obtención del alimento en condiciones óptimas para el consumo humano son: hidratación, cocción, lavado.

✓ Hidratación

El agua debe de ser potable, en óptimas condiciones con capacidad y volumen necesario. Además, el calentamiento del agua, se realiza de dos formas: el 50% con energía solar y el 50% restante con energía eléctrica. La temperatura adecuada es de 40°C, una vez alcanzada la temperatura se coloca las fundas en el tanque de hidratación por 14 horas.

✓ Cocción

El chocho hidratado se coloca en recipientes (ollas) para su cocción por el tiempo de 40 minutos, con una buena manipulación del producto, la temperaturas, equipos y materiales a utilizar deben ser apropiados.

✓ Lavado

La temperatura para el lavado debe ser a 40 °C, en esta etapa se mantiene el agua en contacto con el grano, se puede emplear la agitación para ayudar a la eliminación de estos alcaloides, en este tiempo se realiza tres lavados, hasta obtener el grano de chocho desamargado; pues, es de vital importancia para la obtención de un producto aceptable para el consumo humano con un bajo contenido de microorganismos.

3.1.4 Métodos para la determinación de los alcaloides

✓ Dosaje volumétrico

Este método consiste en neutralizar el residuo de alcaloides totales con un ácido conocido como HCl o H₂SO₄ a 0,1 N o 0,01 N (Fernández, 2017).

✓ Métodos cromatográficos

La cromatografía en capa fina es una técnica importante para la determinación de alcaloides ya que permite proporcionar información sobre la homogeneidad de los componentes químicos del producto y así garantizar que las sustancias responsables de la actividad farmacológica estén presentes en los niveles adecuados y también para, de esta manera, lograr la identificación de la planta (marcadores). Los marcadores constituyen químicos definidos que están presentes en la materia prima vegetal, de preferencia son los propios principios activos, los cuales son destinados al control de calidad de la materia prima vegetal, de las preparaciones fitoterapéuticas intermedias y de los productos fitoterapéuticos (Morales, 2011).

La técnica consiste en la separación de los componentes de la mezcla a través de la migración diferencial sobre una capa fina de adsorbente, retenida sobre una superficie plana, la solución de la muestra que va a ser analizada se aplica por medio de un tubo capilar sobre la superficie de un adsorbente inerte (sílica, alúmina) distribuida uniformemente sobre una placa de vidrio o de aluminio, la placa se coloca verticalmente dentro de una cámara previamente saturada con el vapor de la muestra adecuado, de tal forma que la parte inferior de la placa que contiene la muestra entre en contacto con la fase móvil; la muestra emigrará por capilaridad en la placa cromatográfica, separado por migración diferencial los diversos componentes de la mezcla a ser estudiada, se evapora la muestra y la placa se analiza utilizando luz UV o aplicando

reactivos que dan como resultado reacciones de coloración con las sustancias contenidas en la mezcla (Morales, 2011).

✓ **HPLC**

El sistema de cromatografía líquida es uno de los tantos métodos de cromatografía para la separación y análisis de los componentes químicos de una mezcla, básicamente, en este método participan las fases móviles y estacionaria (inmiscibles entre sí) y la muestra de interés, el gran avance de la cromatografía líquida de alta eficiencia permitirá la posibilidad de utilizar macropartículas, con lo cual se aumenta considerablemente la eficiencia de la separación (Suarez, 2018). Las principales ventajas que presenta son:

- ✓ Capacidad de separación bastante elevada.
- ✓ Separaciones a temperatura ambiente.
- ✓ No está limitada a la volatilidad o a la estabilidad térmica de las sustancias.
- ✓ Rapidez y reproducibilidad de los análisis.
- ✓ Las muestras no son destruidas por el detector y pueden ser recogidas y utilizadas puras (separaciones en escala preparativa).

3.1.5 Análisis fisicoquímicos y microbiológico del agua

3.1.5.1 Físicos.

✓ **Alcalinidad (UNE EN ISO 9963-1-1996 y UNE EN ISO 9963-2-1996)**

Se determina mediante valoración con ácido, fijando los puntos de equivalencia mediante electrodo selectivo de pH o indicadores adecuados, obteniéndose de los puntos de inflexión o puntos de equivalencia los valores de alcalinidad compuesta (carbonatos pH = 8,3) y la alcalinidad total (bicarbonatos + carbonatos pH = 4,5). Las condiciones de almacenamiento de muestras son similares a las de la determinación de acidez. Así, se puede conocer en las muestras

la capacidad de reaccionar con los iones hidrógeno del H₂O siendo provocada mayoritariamente por los iones carbonato (CO₃⁻) y bicarbonato (HCO₃⁻), aunque también está influida por el contenido de otros como boratos, fosfatos, silicatos y oxidrilos.

✓ **Conductividad (UNE EN 27888-1993):**

El agua pura se comporta como aislante eléctrico, siendo las sustancias en ella disueltas las que proporcionan al agua la capacidad de conducir la corriente eléctrica. Se calcula mediante electrometría con un electrodo conductimétrico, expresándose el resultado en microsiemens sobre cm⁻¹ (μS cm⁻¹), medida indirecta de la cantidad de sólidos disueltos estando relacionados ambos mediante la expresión empírica SD (mg/L) = 0,8 · Λo (μS cm⁻¹). Las muestras deben analizarse preferiblemente “in situ”, o conservarse en frascos de polietileno, nunca de vidrio sódico, en nevera a intervalos de temperaturas de entre 2-4 °C y a obscuridad durante un máximo de 24 h.

✓ **Turbidez (UNE-EN 27027:1995)**

Se mide los sólidos en suspensión de forma indirecta a partir de la extinción de un rayo de luz incidente, conocido a través de una muestra de agua. Cuanto más turbia sea el agua, más interceptado queda el haz de luz incidente y varía la medida final de la turbidez. La medida de los sólidos en suspensión (mg/l) nos indica los sólidos retenidos después de pasar por un filtro de 45 μm. Siendo esta una medida importante en aguas potables, pues las pequeñas partículas coloidales, pueden portar gérmenes patógenos.

✓ **Sólidos totales (UNE 77030:1982)**

El agua puede contener tanto partículas en suspensión como compuestos solubilizados, definiéndose la suma de ambos como Sólidos Totales (ST), se determina mediante la evaporación de un volumen conocido de muestra y secando el residuo en estufa a 105°C, hasta

pesada constante, indicándose el resultado en mg/L. Esta medida nos permite conocer el contenido total de sustancias no volátiles presentes en el agua. Además del contenido en ST, conviene conocer que parte de estos sólidos se encuentra disuelta (SD) y que otra es sedimentable (Ss). Los Ss se determinan por decantación (UNE 77032:1982) a partir de un volumen de muestra de un litro dejado en reposo en un recipiente cónico (cono Imhoff) durante una hora, expresándose el volumen sedimentado en el fondo del cono en ml/L. Los Ss nos dan una idea de la cantidad de lodos que se producirán en la decantación primaria. Los SD se determinan gravimétricamente mediante filtración, a vacío o presión, con filtros de fibra de vidrio de borosilicato de diámetro de poro de 0,45 μm , de un volumen conocido de agua bruta, denominándose Sólidos en Suspensión (SS) el residuo seco retenido en los mismos (UNE-EN 872:1996) expresado como mg/L. Al residuo del filtrado secado a 105 °C se le denomina Sólidos disueltos (SD), y se expresa también en mg/L (UNE 77031:1982).

3.1.5.2 Químicos.

✓ Acidez (pH)

Se define como el logaritmo de la inversa de la concentración de protones: $pH = \log 1/[H^+] = -\log [H^+]$. La medida del pH tiene amplia aplicación en el campo de las aguas naturales y residuales, esta propiedad básica e importante que afecta a muchas reacciones químicas y biológicas, ya que, valores extremos de pH pueden originar alteraciones en la flora y fauna, reacciones secundarias dañinas (por ejemplo, cambios en la solubilidad de los nutrientes, formación de precipitados, etc.). Es una medida de la concentración de iones hidronio (H_3O^+) en la disolución, las aguas con valores de pH menores de 7 son aguas ácidas y favorecen la corrosión de las piezas metálicas en contacto con ellas, y las que poseen valores mayores de 7 se denominan básicas y pueden producir precipitación de sales insolubles

(incrustaciones). En las medidas de pH hay que tener presente que estas sufren variaciones con la temperatura (Cabildo, 2009).

✓ **Amoniacó (NH₃), nitritos (NO₂-) y nitratos (NO₃-)**

El amoniacó es uno de los compuestos intermedios formados durante la biodegradación de los compuestos orgánicos nitrogenados (aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, etc.) que forman parte de los seres vivos, y junto con el nitrógeno orgánico es un indicador de que un curso de agua ha sufrido una contaminación reciente. Ambas formas de nitrógeno se determinan frecuentemente en una sola medida (método Kjeldahl UNE 77028-1983 y UNE EN 25663-1994). La oxidación aeróbica de los compuestos amoniacales y órgano nitrogenados, conduce a la formación de nitritos y posteriormente de estos en nitratos, por lo que un elevado contenido en nitratos y simultáneamente bajo en amonio, indica que se trata de un agua contaminada hace tiempo. Tanto el amonio, como los nitritos y nitratos se pueden determinar mediante espectrofotometría de adsorción (UNE 77027-1982, UNE EN 26777-1994 y UNE EN ISO 13395-1997) o empleando electrometría de electrodos selectivos.

✓ **Aceites y grasas (UNE 77037:1983, UNE 77038:1983)**

Los aceites y grasas se encuentran en estado libre son de origen animal, vegetal o mineral, los cuales generan problemas a la hora de la depuración de las aguas residuales como disminución de la mojabilidad de los sólidos en suspensión impidiendo, con ello su sedimentación, y formación de una película que recubre los microorganismos encargados de la biodegradación, impidiendo la captación de oxígeno por los mismos y disminuyendo su poder depurador. Su contenido es pequeño en vertidos urbanos, siendo su presencia un indicio de vertido industrial. La determinación de grasas y aceites de efluentes acuosos se efectúa por extracción en caliente o con un disolvente orgánico no miscible con el agua, a partir de un

volumen conocido del agua a analizar acidulada a $\text{pH} \leq 2$, evaluando la cantidad presente por pesada, una vez eliminado el disolvente de la fase orgánica, o mediante espectroscopia infrarroja, por comparación con curvas de calibrado.

✓ **Los carbohidratos**

Son biomoléculas que tienen una gran importancia en el campo de la investigación de las ciencias de la vida y en la aplicación industrial derivada de ello, se han reportado diferentes métodos analíticos para la determinación de carbohidratos, basados en la espectrofotometría, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la refractometría, entre otras. Existe una variedad de métodos colorimétricos los cuales utilizan reactivos distintos como antrona, fenol, orcinol o resorcinol. El método colorimétrico para la determinación de la concentración de carbohidratos más ampliamente utilizado es el desarrollado por DuBois, debido a la facilidad del procedimiento, sensibilidad, rapidez de los resultados y por ser apropiado para cuantificar diferentes azúcares como monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos (Leopol et al., 2011).

3.1.5.3 Microbiológico.

✓ **Aerobios mesófilos**

Son microorganismos que se desarrollan en presencia de oxígeno libre y a una temperatura comprendida entre 20°C y 45°C con una zona óptima entre 30°C y 40°C (INEN 1529-5, 2006). En el recuento de microorganismos aerobios mesófilos se estima la flora total, pero sin especificar tipos de gérmenes. Esta determinación refleja la calidad sanitaria de los productos analizados indicando, además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma como fueron manipulados durante su elaboración. Tienen un valor limitado como indicador de la presencia de patógenos o sus toxinas. Un recuento total de aerobios mesófilos bajo no asegura que un alimento esté exento de patógenos o sus toxinas; tampoco un recuento total alto significa,

inevitablemente, presencia de flora patógena. Generalmente, el recuento de la flora aerobio mesófila es una prueba para conocer las condiciones de salubridad de algunos alimentos (Loja y Sanmartín, 2014).

La presencia de Aerobios Mesófilos en los alimentos puede indicar:

- ✓ Materia prima excesivamente contaminada.
- ✓ Deficientes métodos de manipulación durante la elaboración de los productos.
- ✓ La posibilidad, por tratarse de microorganismos mesófilos de que entre ellos pueda haber patógenos, dado que esta flora pueda ser mesófila.
- ✓ Altos recuentos suelen ser signo de inmediata alteración del producto.
- ✓ **Mohos y levaduras**

Los mohos son hongos multicelulares, filamentosos cuyo crecimiento en los alimentos se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso, están constituidos por filamentos ramificados y entrecruzados, llamados "hifas", cuyo conjunto forma el llamado "micelio" que puede ser coloreado o no. Los mohos pueden formar, sobre ciertos alimentos, toxinas, llamadas micotoxinas, mientras que las levaduras son hongos cuya forma de crecimiento habitual y predominante es unicelular, poseen una morfología muy variable: esférica, ovoidea, piriforme, cilíndrica, triangular o incluso alargada, en forma de micelio verdadero o falso. Su tamaño varía entre 5-20 μm superior al de las bacterias (Loja y Sanmartín, 2014).

3.1.6 Los insecticidas: características y clasificación

Los insecticidas son sustancias con propiedades biocidas para los insectos, su efecto sobre la fisiología de estos organismos es complejo y tiene una serie de reacciones físico-químicas que afectan a una especie de insecto en particular (Velásquez, 2007).

Según la FAO, un insecticida es cualquier sustancia o mezclas de sustancias, de carácter orgánico o inorgánico, destinada a combatir insectos, ácaros, roedores y otras especies indeseables de plantas y animales que son perjudiciales para el hombre o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización, producción de alimentos, productos agrícolas, también aquellos que se administre a los animales para combatir insectos arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos; éstos insecticidas pueden dividirse de acuerdo a sus componentes químicos y propiedades, en insecticidas: inorgánicos (origen mineral), orgánicos (origen natural como artificial), microbiales (constituidos por bacterias, virus u hongos; son altamente específicos como *Bacillus thuringiensis* Berliner, vegetales (derivados y extraídos directamente de plantas) (Velásquez, 2007).

3.1.6.1 Insecticidas (bioinsecticidas) de origen botánico.

Son insecticidas naturales, derivados de plantas (Camacho V., 2011). Las plantas consideradas insecticidas, desarrollaron sustancias llamadas aleloquímicos, como mecanismo de defensa contra insectos, regulando así la presencia de insectos fitófagos, que actúan como atractivos, estimulantes, repelentes o inhibidores de la alimentación o de la oviposición (Lizana R., 2005). Los insecticidas vegetales no deben ser considerados inocuos, por la gran cantidad de metabolitos tóxicos, porque una molécula se debe a la naturaleza de su estructura química y no al origen, en su totalidad, por ello, la diferencia entre lo que mata y lo que cura es la dosis (Ortuño, 2011).

3.1.6.1.1 *Formulación de bioinsecticidas.*

Cada producto formulado normalmente contiene sustancia con acción insecticida denominada principio o ingrediente activo (PA/IA), también muchas veces, se trata de

productos pesados y altamente viscosos por lo que este necesita diluirse con la ayuda de los ingredientes denominados inertes o sustancia auxiliares, ya que, no poseen una acción biocida, pero poseen una serie de funciones diferentes; estos ingredientes auxiliares ayudan a mejorar su efectividad al momento de su aplicación (Herzfeld D. y Sargent K., 2008). Entre ellos se puede mencionar:

- ✓ **Solventes:** agua
- ✓ **Humectantes:** permitir su dilución en agua.
- ✓ **Espesantes**
- ✓ **Tensioactivos:** permiten un mejor contacto de la gota pulverizada con el objetivo.
- ✓ **Adherentes.**

3.1.6.1.1.1 Propiedades de las sustancias auxiliares.

✓ **Aceite de eucalipto**

Es un aceite volátil obtenido por destilación al vapor de las hojas frescas de eucalipto (*Eucalyptus globulus L., Mirtáceas*), producto natural, destinado a formulación de cosmética o perfumería, suele diluirse en fase oleosa, grasas, o bien en alcohol de alta graduación; para añadirlo a fase acuosa, suele requerir de un solubilizante se puede utilizar según las necesidades del 0,5-5 % según necesidades. Entre sus propiedades se destaca atributos antisépticos, es un poderoso antimicrobiano y en ocasiones es utilizado como repelente ante insectos (La redoma creativa, 2019).

✓ **Ácido bórico**

Son partículas blancas sólidas, inodoras que tienen un pH de 3.7, que se derivan del bórax y usualmente se combina con un agente que no permite que se endurezca. Usualmente es aplicado en cucarachas las cuáles mueren por envenenamiento estomacal con acción lenta;

como el ácido bórico también absorbe la cera de la cutícula de la cucaracha, también pueden morir por deshidratación; es utilizado en los procesos industriales, de uso farmacéutico-cosmético, fertilizantes, bactericidas antisépticos, preservante e insecticidas. También se usa como agente tampón para regulación del pH, industria del vidrio, cosmética, farmacia y refinación de metales no ferrosos. Existe en forma cristalina (polvo de cristales blancos) que se disuelve fácilmente en agua, su fórmula química es H_3BO_3 y se solubiliza con agua a 21 °C: 50 g/l (Paredes, 2018).

✓ **Glicerina**

Se puede emplear en cosméticos y productos de cuidado personal, pinturas, perfumes, productos farmacéuticos y para tratamiento de textiles, también se puede utilizar como una sustancia auxiliar o ingrediente activo en una formulación plaguicida si tal uso está de acuerdo con buenas prácticas agrícolas o prácticas de fabricación (Acofarma Distribución, S.A 2011).

✓ **Tween 20**

Denominado Polisorbatos con 20 unidades de óxido de etileno son surfactantes no-iónicos hidrofílicos, utilizados agentes emulgentes no iónico debido a su poder emulgente y suspensor originando emulsiones de fase externa acuosa (O/W), estables y de textura fina. Se utilizan en farmacia para la preparación de cremas, pomadas lavables, y bases de supositorios. Se usan como surfactantes en sprays insecticidas y pesticidas (Acofarma Distribución, S.A 2011).

✓ Como emulsificantes y solubilizantes: 1 – 15 %.

✓ Como humectantes: 0,1 – 3 %.

3.1.6.2 Efecto tóxico de los bioinsecticidas.

La toxicidad de los insecticidas o de cualquier tóxico a un organismo, se expresa usualmente en términos de DL_{50} (dosis letal media); este valor representa la cantidad de tóxico

por unidad de peso que mata 50% de los animales empleados en la prueba, el DL_{50} comúnmente se expresa en mg/ kg y ocasionalmente en mg por animal. La evaluación de la toxicidad de los plaguicidas, puede hacerse en insectos y animales superiores, para inferir sus riesgos en el hombre. Hay muchas formas de administrar insecticidas para evaluar toxicidad. El método comúnmente empleado para insectos, es la aplicación tópica, en la que el insecticida se disuelve en un solvente volátil e inocuo, como acetona. En los insectos, se puede administrar con un inyectable en el abdomen a nivel intersegmentario evitando dañar el cordón nervioso abdominal. El método de contacto o de exposición residual, es otra forma de dejar al insecto expuesto al insecticida (Huamán, 2015).

3.1.7 Pulgones (*Myzus persicae*)

Son insectos chupadores poseen un cuerpo suave en forma de pera, miden alrededor de 3 mm y tienen en la parte dorsal posterior del abdomen dos prolongaciones denominadas cornículos. En general, la población de pulgones está compuesta por individuos sin alas, que se agrupan en colonias alrededor de una hembra madre, en algunas ocasiones se presentan con alas al momento de colonizar otras plantas o cultivos (González, 2015).

Por lo general, la acción nociva de los pulgones se ejerce sobre el follaje y, ocasionalmente sobre los tubérculos en germinación, aunque los daños a tener en cuenta económicamente se sitúan a nivel de tubérculos hijos. En efecto la propagación vegetativa tiene malas consecuencias cuando han sido transmitidas enfermedades de carácter sistémico (enfermedades viróticas), lo que ocurre en la mayor parte de los casos (González, 2015).

3.1.7.1 Clasificación taxonómica.

A continuación, se detalla la taxonomía del pulgón:

Tabla 3

Clasificación taxonómica de los "pulgones"

Descripción	Detalle
Clase	Insecta
Orden	Hemíptera
Suborden	Sternorrhyncha
Familia	Aphididae
Genero	Myzus
Especie	M. persicae
Nombres comunes	Afidos o pulgones

Fuente: Solís S. (2017).

3.1.7.2 Importancia y daño económico.

Los áfidos o pulgones son considerados como uno de los grupos de insectos de mayor importancia agrícola a nivel mundial, principalmente por su papel de transmisión de virus., el daño que ocasiona puede ser de manera directa al succionar la savia de las plantas inyectando un saliva toxica, esto provoca que las hojas se enrollen hacia abajo y se arrugan y posterior su marchitamiento y la decoloración de las mismas, debilitamiento de su vigor , deformación ,detección del crecimiento y con ello la cosecha: así como excreción de mielecilla la cual cubre la planta ocasionando la atracción de moscas y hormigas, hongos *Capnodium, sp.* (fumagina) que reduce la fotosíntesis y la calidad del fruto; el daño más importante que ocasiona en la papa es la diseminación de virus que enferman a las plantas, como el virus de la hoja enrollada de la papa transmitida por *M. persicae* (Solís, 2017).

3.1.8 Mosca blanca

En el Ecuador la mosca blanca, se ha convertido en los últimos años en la plaga de mayor importancia económica, por el difícil manejo y control debido a su habilidad de adquirir

resistencia a plaguicidas, obligando al productor a utilizar productos más fuertes como los organofosforados y los piretroides (Cabrera et al., 2016).

3.1.8.1 Taxonomía.

A continuación, se detalla la taxonomía de la mosca blanca

Tabla 4

Clasificación taxonómica de la "mosca blanca"

Descripción	Detalle
Clase	Insecta
Orden	Hemóptera
Familia	Aleyrodidae
Subfamilia	Aleyrodinae
Genero	Trialeurodes
Especie	vaporariorum (Westwood.)

Fuente: Kran *et.al.* (2015).

3.1.8.2 Daños.

El daño a los cultivos se debe a su alimentación directa en el floema, a los desórdenes fisiológicos causados por el biotipo B, y de modo indirecto, a la excreción de melaza que favorece el crecimiento de hongos y a la transmisión de virus, estos son factores que afectan el rendimiento de los cultivos en términos cuantitativos y cualitativos como la magnitud de la infestación, la especie y variedad de planta, la época del año, el sitio geográfico y el biotipo de *B. tabaci* determinan los daños causados sobre un cultivo, de igual manera, la magnitud del daño causado por virus, depende de este mismo tipo de factores (Padilla, 2017).

La alimentación de unas pocas ninfas por planta induce fitotoxicidad o desórdenes fisiológicos, el desorden más reportado es el plateado de las cucurbitáceas, otros desórdenes incluyen la madurez irregular en el tomate, también conocido como arco iris, la decoloración o albinismo de los tejidos jóvenes (Padilla, 2017).

3.1.9 Fundamentos de la constitución sobre seguridad alimentaria y ambiental

3.1.9.1 Constitución de la República del Ecuador.

Título II. Derechos

Capítulo segundo - Derechos del buen vivir. Sección segunda - Ambiente sano.

Art. 14.- Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*.

Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

Art. 15.- El Estado promoverá, en el sector público y privado, el uso de tecnologías ambientalmente limpias y de energías alternativas no contaminantes y de bajo impacto. La soberanía energética no se alcanzará en detrimento de la soberanía alimentaria, ni afectará el derecho al agua.

Se prohíbe el desarrollo, producción, tenencia, comercialización, importación, transporte, almacenamiento y uso de armas químicas, biológicas y nucleares, de contaminantes orgánicos persistentes altamente tóxicos, agroquímicos internacionalmente prohibidos, y las tecnologías y agentes biológicos experimentales nocivos y organismos genéticamente modificados perjudiciales para la salud humana o que atenten contra la soberanía alimentaria o los ecosistemas, así como la introducción de residuos nucleares y desechos tóxicos al territorio nacional.

Título VI. Régimen de Desarrollo

Capítulo primero - Principios generales

Art. 278.- Para la consecución del buen vivir, a las personas y a las colectividades, y sus diversas formas organizativas, les corresponde:

- Producir, intercambiar y consumir bienes y servicios con responsabilidad social y ambiental.

Capítulo tercero - Soberanía alimentaria

Art. 281.- La soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del Estado para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen la autosuficiencia de alimentos sanos y culturalmente apropiado de forma permanente. Para ello, será responsabilidad del Estado:

1. Fortalecer la diversificación y la introducción de tecnologías ecológicas y orgánicas en la producción agropecuaria.
2. Prevenir y proteger a la población del consumo de alimentos contaminados o que pongan en riesgo su salud o que la ciencia tenga incertidumbre sobre sus efectos.

Título VII. Régimen del buen vivir

Capítulo primero - Inclusión y Equidad. Sección octava - Ciencia, tecnología, innovación y saberes ancestrales.

Art. 396.- El Estado adoptará las políticas y medidas oportunas que eviten los impactos ambientales negativos, cuando exista certidumbre de daño. En caso de duda sobre el impacto ambiental de alguna acción u omisión, aunque no exista evidencia científica del daño, el Estado adoptará medidas protectoras eficaces y oportunas.

La responsabilidad por daños ambientales es objetiva. Todo daño al ambiente, además de las sanciones correspondientes, implicará también la obligación de restaurar integralmente los ecosistemas e indemnizar a las personas y comunidades afectadas.

Cada uno de los actores de los procesos de producción, distribución, comercialización y uso de bienes o servicios asumirá la responsabilidad directa de prevenir cualquier impacto ambiental, de mitigar y reparar los daños que ha causado, y de mantener un sistema de control ambiental permanente.

Capítulo segundo - Biodiversidad y recursos naturales. Sección séptima - Biosfera, ecología urbana y energías alternativas

Art. 413.- El Estado promoverá la eficiencia energética, el desarrollo y uso de prácticas y tecnologías ambientalmente limpias y sanas, así como de energías renovables, diversificadas, de bajo impacto y que no pongan en riesgo la soberanía alimentaria, el equilibrio ecológico de los ecosistemas ni el derecho al agua (CONSTITUCIÓN DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR, 2008).

CAPÍTULO IV

4.1 MARCO METODOLÓGICO

4.1.1 Localización de la investigación.

El trabajo de investigación propuesto se llevará a cabo en la empresa “laVerde”, según la localización que se detalla a continuación:

Provincia: Pichincha

Cantón: Mejía

Sector: Machachi

Dirección: Luis Cordero y El Hogar esquina.

4.1.2 Situación geográfica y climática

Parámetros de la situación geográfica y climática del lugar de la investigación.

Tabla 5

Parámetros de la situación geográfica y climática del lugar de la investigación

Descripción	Detalle
Altitud	3058 m
Latitud	00°22'S
Longitud	78.56972
Temperatura mínima	6,8 °C
Temperatura media anual	11,5 °C
Temperatura máxima	19 °C
Humedad	76,3 %

Fuente: Empresa” laVerde”, situación geográfica y climática, ubicada en la ciudad de Machachi (2022).

4.1.3 Zona de vida (zonificación ecológica)

Ubicación del lugar de desarrollo de la investigación correspondiente a la empresa “laVerde”, según el botánico climatólogo Leslie Holdridge, la zona de vida corresponde a bosque muy húmedo Montano (b.m.h.M).

4.1.4 Materiales

4.1.4.1 Material experimental.

Agua de cocción del chocho (*Lupinus Mutabilis Sweet*)

4.1.4.2 Sustancias auxiliares (aditivos).

Tween 20

Glicerina

Aceite esencial de eucalipto

4.1.5 Materiales de campo y oficina

Libreta de apuntes

Esferográfico

Silla

Escritorio

Carpetas

Impresora

Hojas de papel boom

Calculadora

Computadora

Flash Memory

4.1.6 Materiales de laboratorio

Recipientes plásticos

Tubos de ensayo

Tubos de centrifuga

Gradilla

Vasos de precipitación

Pipetas

Matraz Erlenmeyer

Embudos

Espátula

Crisoles

Desecador

Pinza

Papel filtro

Bisturí

Agitador magnético

Gotero

4.1.7 Equipos

Balanza analítica

Centrifuga

Plancha de agitación

Mufla

Estufa

Detector de grasa

Peachímetro

Turbidímetro

Conductímetro

4.1.8 Reactivos

Ácido sulfúrico 0.02 N

Ácido clorhídrico HCl

Hexano grado HPLC

Catalizador Kjeldahl

Ácido bórico

Hidróxido de sodio NaOH

4.1.9 Métodos

4.1.9.1 Factores en estudio.

Los factores considerados para la evaluación de la efectividad del bioinsecticida elaborado sobre los pulgones y la mosca blanca son las siguientes:

Tabla 6

Los factores considerados para determinar el porcentaje de mortalidad de los pulgones y la mosca blanca con el bioinsecticida

Factores	Códigos	Niveles
Dosis de aplicación	A	a1: 100 ml de bioinsecticida a2: 75 ml bioinsecticida + 25 ml de Agua destilada a3: 50 ml de bioinsecticida + 50 ml de Agua destilada a4: 25 ml bioinsecticida + 75 ml de Agua destilada
Tiempo de exposición (h)	B	b1: 24 Horas b2: 48 Horas b3: 72 Horas

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

4.1.9.2 Tratamientos.

Para la ejecución del experimento se utilizó el bioinsecticida a base del agua de cocción de chocho, misma que se obtuvo de la empresa “laVerde” ubicado en el cantón Mejía propiedad

del señor Mario Laverde, quien comercializa chochos listos para el consumo humano y dispone de un 1.5 m³/ día de este subproducto que es el resultado de la cocción.

A continuación, se presenta la combinación de los Factores A * B

Tabla 7

Tratamientos: Los factores considerados para el porcentaje de mortalidad del bioinsecticida en el control de los pulgones y mosca blanca.

Número	Código	Descripción (Nivel a)	Descripción (Nivel b)
1	a1b1	Dosis de aplicación (100 ml de bioinsecticida)	24h
2	a1b2	Dosis de aplicación (100 ml de bioinsecticida)	48h
3	a1b3	Dosis de aplicación (100 ml de bioinsecticida)	72h
4	a2b1	Dosis de aplicación (75 ml de bioinsecticida+ 25 ml de Agua destilada)	24h
5	a2b2	Dosis de aplicación (75 ml de bioinsecticida + 25 ml de Agua destilada)	48h
6	a2b3	Dosis de aplicación (75 ml de bioinsecticida + 25 ml de Agua destilada)	72h
7	a3b1	Dosis de aplicación (50 ml de agua de cocción de chocho + 50 ml de Agua destilada)	24h
8	a3b2	Dosis de aplicación (50 ml de bioinsecticida + 50 ml de Agua destilada)	48h
9	a3b3	Dosis de aplicación (50 ml de bioinsecticida + 50 ml de Agua destilada)	72h
10	a4b1	Dosis de aplicación (25 ml de bioinsecticida + 75 ml de Agua destilada)	24h
11	a4b2	Dosis de aplicación (25 ml de bioinsecticida +75 ml de Agua destilada)	48h
12	a4b3	Dosis de aplicación (25 ml bioinsecticida + 75 ml de Agua destilada)	72h

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

A continuación, se detalla las características del experimento:

Tabla 8

Características del experimento

Características	Detalle
Total	35
Repetición	2
Factor A	3
Factor B	2
Factor A*B	6
Unidad experimental	250 ml

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

4.1.9.3 Diseño experimental o estadístico.

Se aplicó un diseño A*B con arreglo factorial 4 x 3 con 3 repeticiones

Modelo matemático

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = Variable sujeta de medición

μ = Media General

A_i = Efecto del Factor

B_j = Efecto del Factor B

AB_{ij} = Efecto de la Interacción (A x B)

ϵ_{ijk} = Efecto del Error Experimental

4.1.9.4 Modelo de análisis de varianza.

A continuación, se muestra el análisis de varianza:

Tabla 9

Modelo de análisis de varianza

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F calculada	F tablas
Factor A	$\frac{\sum_{i=1}^a (\sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n Y_{ijk})^2}{bn}$	$a - 1$	$SC_A / (a - 1)$	CM_A / CM_E	GL_A / GL_E
Factor B	$\frac{\sum_{j=1}^b (\sum_{i=1}^a \sum_{k=1}^n Y_{ijk})^2}{an}$	$b - 1$	$SC_B / (b - 1)$	CM_B / CM_E	GL_B / GL_E
Efecto AB	$\frac{\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (\sum_{k=1}^n Y_{ijk})^2}{n} - SCA - SCB$	$(a - 1)(b - 1)$	$SC_{AB} / ((a - 1)(b - 1))$	CM_{AB} / CM_E	GL_{AB} / GL_E
Error	$SC_E = SC_T - SC_A - SC_B - SC_{AB}$	$ab(n - 1)$	$SC_E / ab(n - 1)$		
Total	$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n Y_{ijk}^2 - \frac{(\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n Y_{ijk})^2}{nab}$	$(nab - 1)$			

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

4.1.9.5 Pruebas de rangos múltiples.

Se aplicó la prueba de rangos múltiples para la comparación de medias mediante la ecuación:

Método LSD (diferencia mínima significativa)

$$LSD = t_{\alpha/2, N-k} \sqrt{2CM_E/n}$$

Ecuación 1. Cálculo Método LSD

4.1.10 Metodología experimental

4.1.10.1 Procedimiento.

Recepción del subproducto: el agua de cocción de chocho se recolectó en condiciones higiénicas como subproducto del proceso de cocción de la empresa “laVerde” que se encuentra

en la ciudad de Machachi mediante la utilización de recipientes plásticos, en la cual se realizó la medición del pH ya que es un parámetro importante.

Filtración: una vez receptada el agua de chocho se procedió a la filtración con la ayuda de una tela lienzo con la finalidad de separar restos de ceniza que se desprenden de la leña con la que se realiza la cocción.

4.1.10.2 Análisis físico-químicos y microbiológico.

A continuación, se detalla los análisis a realizarse del agua de cocción chocho:

Físicos

Conductividad

Se llevó a cabo empleando un conductímetro, en el cuál, la muestra de agua de cocción de chocho fue colocada en un vaso de precipitación, se colocó el electrodo, en la muestra y se tomó la lectura del equipo las cuáles se expresaron $\mu\text{S}/\text{cm}$ (APHA-AWWA).

Turbidez

Se determinó con la ayuda de un turbidímetro, se verificó que la muestra de agua de cocción alcance la temperatura ambiente y se agitó hasta que se homogenice, a continuación, se realizó la lectura correspondiente en el equipo (APHA 2130).

Sólidos totales

Se realizaron siguiendo el método APHA 2540, dónde se colocó 100 ml de muestra en una cápsula de evaporación previamente tarada, luego se procedió a poner en la placa calefactora y se evaporó la muestra hasta casi sequedad evitando ebullición y salpicaduras.

A continuación, se llevó la muestra evaporada a estufa a 105°C por 1 hora, se enfrió la cápsula en el desecador y se pesaron rápidamente para evitar cambios en el peso por exposición al aire, este calentamiento se repite por 1 hora más, hasta obtener un peso constante.

Alcalinidad

Se ajustó la temperatura del agua de cocción a temperatura ambiente, se procedió a pipetear 50 ml de agua de cocción en un Erlenmeyer, seguidamente se añadió 3 gotas de indicador mixto y se tituló con ácido sulfúrico 0.02 N hasta obtener un cambio en su coloración, luego se anotaron los ml de solución titulante consumidos y se realizaron los respectivos cálculos (APHA-AWWA).

Cálculos:

$$\text{Alcalinidad como mg CaCO}_3/\text{L} = \frac{A \times N \times 50 \times 1000}{\text{ml de muestra}}$$

Ecuación 2. Cálculo de alcalinidad

Donde:

A = ml de ácido sulfúrico gastados en la titulación

N = normalidad del ácido sulfúrico

Cálculos y presentación de resultados

$$\text{mg sólidos totales/L} = (B - A) \times 1000 / \text{volumen de muestra (en ml)}$$

Ecuación 3. Cálculo de los sólidos totales

Donde:

A = peso de la cápsula de evaporación vacía (en mg)

B = peso de la cápsula de evaporación + residuo seco (en mg)

Químicos

Determinación de grasa (AOAC 2003.06)

Se determinó el contenido de grasa para lo cual se trabajó con 1 ml de muestra, se añadió 100 ml de HCl y se esperó hasta su digestión por 1h con agitación constantemente. La solución fue filtrada y lavada 3 veces con agua caliente. Los residuos tuvieron un proceso de secado a 130°C por 40 min, después se colocó en un desecar por 40 min. Posteriormente los residuos se colocaron en el determinador de grasa con 40 ml de hexano grado HPLC. Luego los residuos

que se encuentran en los capsulas fueron llevados a la estufa para ser secados a una temperatura de 130°C por 40 min, seguidamente se colocó en un desecador por 40 min hasta tener un peso constante. Los ensayos fueron realizados por triplicado y expresados en porcentaje de pérdida de masa comparada con la masa original.

Cálculo

$$\%Grasa = \frac{\text{Peso del Balón vacío} - (\text{Peso del Balón} + \text{Grasa})}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

Ecuación 4. *Cálculo de % grasa*

Determinación de Proteína (AOAC 2001.11)

Se utilizó 1 ml de muestra homogeneizada y se introdujo en un tubo de digestión, al cual se añadió 5 g de catalizador Kjeldahl, 10 ml de ácido sulfúrico al 95-98%. Los tubos con muestra se colocaron dentro de las celdas del digestor cubriéndolos con una flauta de recolección de vapores; la digestión se realizó a una temperatura de 400°C por 30 min. Posteriormente se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente. Se dosificó lentamente 50 ml de agua destilada en cada tubo de muestra dejando caer el agua lentamente por las paredes del tubo y se volvió a dejar enfriar la muestra a temperatura ambiente durante 5 minutos.

Se añadió 25 ml de ácido bórico en un matraz Erlenmeyer de 250 ml con 3 gotas de indicador mixto, el mismo fue colocado en la alargadera del refrigerante teniendo en cuenta que esté sumergida dentro de la disolución de ácido bórico. Y se colocó el tubo con la muestra en el lado izquierdo del destilador, ya colocados el tubo de muestra y el Erlenmeyer con el ácido bórico se tuvo que dosificar unos 40 ml de NaOH e indicar en el equipo la cantidad de NaOH para iniciar la destilación, el tiempo debe ser suficiente para que se destilen un mínimo de 150 ml, aproximadamente de 5 a 10 minutos.

Se valoró con HCl 0,31N el destilado obtenido, hasta que la solución tenga una tonalidad de verde a violeta. Se calculó el % aplicando las siguientes ecuaciones:

$$\%Nitrógeno = \frac{1,4 \times (V_1 - V_0) \times N}{p}$$

Ecuación 5. *Cálculo % de nitrógeno*

$$\%Proteína = 6.25 \times Nitrógeno$$

Ecuación 6. *Cálculo de proteína*

Dónde:

V_1 =volumen de HCl consumido en la valoración (ml)

V_0 = volumen de HCl consumido en la valoración de un blanco (ml)

p =peso en g de la muestra

N =normalidad del HCl

Determinación de Carbohidratos

Para la determinación de carbohidratos se realizó mediante el siguiente cálculo:

$$\text{Determinación mediante cálculo: Diferencia } (100\% - \sum (\%humedad + \%proteína + \%grasa + \%ceniza))$$

Ecuación 7. *Cálculo de carbohidratos*

Determinación de pH (INEN-ISO 1842:2013)

La medición del pH se realizó mediante la norma INEN-ISO 1842:2013, en un vaso de precipitación se colocó una muestra de 30 ml de agua de cocción de chocho y se midió con un potenciómetro por inmersión de electrodos.

Microbiológicos

Recuento de aerobios mesófilos

Se realizó siguiendo el método AOAC 988.1, para lo cual, las muestras fueron diluidas y homogenizadas, se preparó las diluciones consecutivas de 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} en cajas Petri previamente esterilizadas, además se vertieron 15 ml de agar Plate Count fundido y mantenido a 45°C , se mezclaron y se dejaron solidificar y se incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ durante 48 horas.

Determinación de Mohos y levaduras según norma ISO 7954

La determinación se realizó por duplicado para cada muestra.

- Se diluyó la muestra de agua de cocción a 1/10; 1/100; 1/1000
- Se inoculó 1 ml de alícuotas en 20 ml de agar sal-levadura de Davis fundido y templado a $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Se mezcló 5 veces de un lado y 5 veces del lado contrario
- Se solidificó
- Se invirtió las pacas y se incubó entre 22° a 25°C por 5 días.

4.1.10.3 Cuantificación de los alcaloides del agua de cocción de chocho.

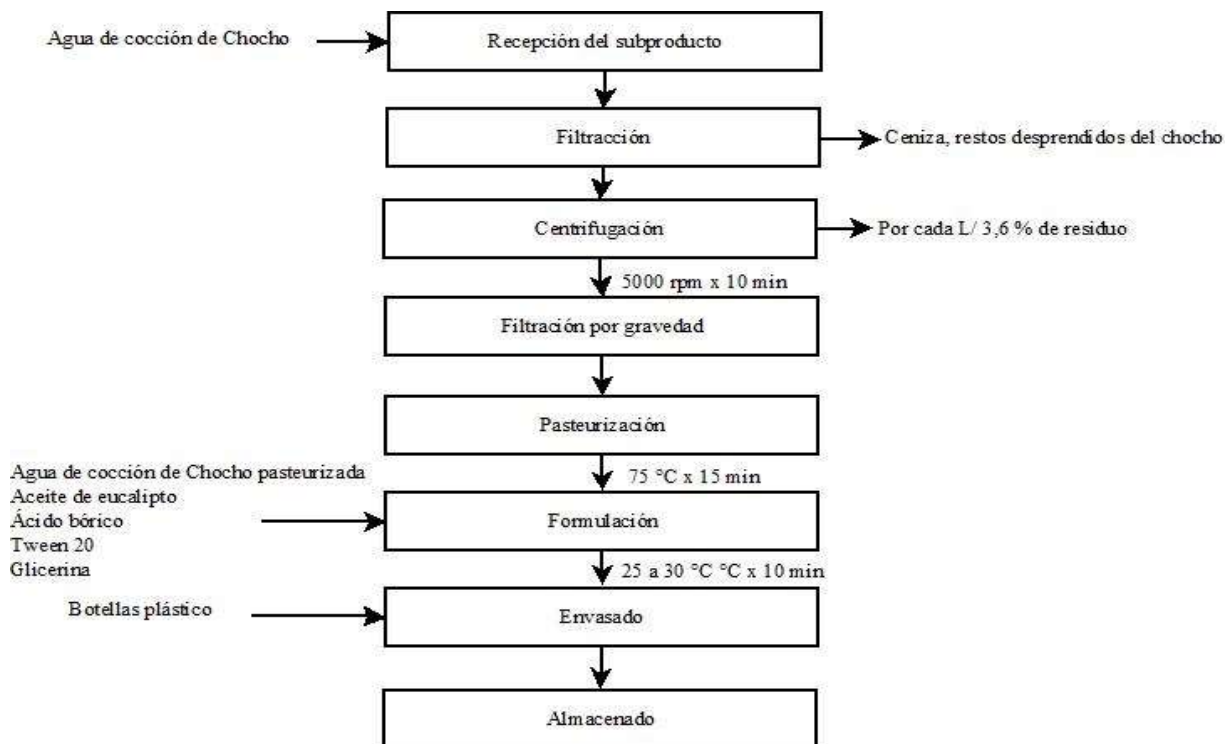
La cuantificación de los alcaloides se llevó a cabo en el laboratorio “Químicalabs”, realizado en un cromatógrafo de gases equipado con un detector FID a una temperatura de 280°C . Se utilizó una columna DB-1MS 1&W Scientific (30 m x 0,25 mm x DI 0,25 μm) y helio como gas de arrastre a una tasa de 1,0 ml/min (MS/CG MSD, 2021).

4.1.10.4 Desarrollo del bioinsecticida a partir el agua de cocción del chocho.

Según Flia M. (2008), un insecticida se formula por un ingrediente activo que va a depender de su poder de droga su porcentaje va desde 20% a 80 % y el resto se completa con

los ingredientes inertes o sustancias auxiliares (aditivos) como: adherentes, emulsificantes, penetrantes, dispersantes entre otros.

4.1.10.4.1 Diagrama de flujo del desarrollo del bioinsecticida.



Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

4.1.10.4.1.1 Descripción del proceso.

Recepción de la materia prima: El agua de cocción de chocho se recolecta en condiciones higiénicas como subproducto del proceso de cocción de la empresa “laVerde” que se encuentra en la ciudad de Machachi mediante la utilización de recipientes plásticos, en la cual se realizó la medición del pH ya que es un parámetro importante.

Filtración: una vez receptada el agua de chocho se procedió a la filtración con la ayuda de una tela lienzo con la finalidad de separar restos de ceniza que quedan en el agua después del proceso de cocción y otros componentes propios del chocho como proteína, azúcares y almidón.

Centrifugación: esta etapa se realizó en el laboratorio mediante una centrifuga refrigerada con los siguientes parámetros: a 5000 rpm por 10 minutos de la cual se obtuvo sedimentos que afecta a su vida útil.

Filtración por gravedad: luego se procedió a la filtración empleando un matraz Erlenmeyer, embudo y el papel filtro de 125mm de poro, para separar los restos que no se sedimentan con la centrifugación.

Pasteurización: se procedió a la pasteurizar a una temperatura de 75°C por 15 minutos para inactivar patógenos que pueden alterar su estabilidad.

Formulación: posteriormente se realizó el desarrollo del bioinsecticida con el agua de cocción de chocho pasteurizada como ingrediente activo y para mejorar su efectividad al momento de aplicarlo se empleó los siguientes aditivos o sustancias auxiliares. Para la formulación del bioinsecticida se tomó en consideración otras investigaciones para el uso de sustancias auxiliares como se observa en la siguiente tabla:

Tabla 10

Referencia bibliográfica de las aditivos o sustancias auxiliares para la formulación del bioinsecticida

Ingredientes	Porcentaje	Propiedad
Aceite esencial	10	Ejercer una acción insecticida
Glicerina	5	Adherente, soluble en agua, ayuda a la homogenización de los ingredientes
Ácido Bórico	5	Propiedades insecticidas.
Tween 20	0,3	Tensoactivo y emulsificante

Fuente: Garnica A. J. (2014).

Con la ayuda de una plancha y un agitador magnético se realizó la mezcla a 8-9 rpm a una temperatura de 25 a 30 °C por 10 minutos hasta obtener un líquido homogéneo, seguidamente se toma el pH.

Envasado: una vez obtenido la mezcla se realizó el envasado utilizando botellas plásticas PP (Polipropileno) de 250 ml, adecuados para este tipo de productos.

Almacenado: el producto obtenido se almacena a temperatura ambiente y se verifico su tiempo de vida útil mediante la toma del pH y sus características.

4.1.10.5 Evaluación de la efectividad del bioinsecticida mediante el control biológico en el pulgón y la mosca blanca.

4.1.10.5.1 Material biológico.

Se utilizaron insectos como el pulgón que fueron recolectados de la planta de tomate de árbol así mismo la mosca blanca se obtuvo del invernadero de tomate de riñón, en condiciones ambientales constantes donde no se haya aplicado insecticidas sintéticos previamente para el control de los mismos.

4.1.10.5.2 Recolección del pulgón y la mosca blanca.

- Se recolectaron 800 pulgones y 400 moscas blanca.
- Se colocó en recipientes plásticos con las mismas hojas infectadas que les serán de ayuda para su alimentación hasta realizar los ensayos correspondientes
- Se cubrió con una tapa acondicionada para que tenga una buena aireación, hasta ser trasladadas hasta el laboratorio.

4.1.10.5.3 Preparación de los tratamientos.

Una vez obtenida el bioinsecticida se trabajó con cuatro dosificaciones y un blanco.

4.1.10.5.3.1 Dosificación.

Se prepararon cuatro dosificaciones de acuerdo al factor A, presentándose a continuación:

- 100 ml de bioinsecticida
- 75 bioinsecticida + 25 ml de Agua destilada
- 50 ml de bioinsecticida + 50 ml de Agua destilada
- 25 ml bioinsecticida + 75 ml de Agua destilada

Para la preparación de las dosificaciones se utilizaron frascos de vidrio en la cual se colocaron cada dosificación preparada, posteriormente se sumergieron las hojas de tomate de árbol y riñón completamente sanas, adquiridas del mismo lugar de procedencia de los insectos, estas hojas fueron lavados, cortados y secados al ambiente, por un lapso de una hora aproximadamente con la finalidad de concentrar el bioinsecticida en las hojas, luego se procedió a secarlas. Seguidamente en recipientes plástico se colocaron papel filtro en su base previamente sumergida en el bioinsecticida y luego las hojas tratadas con cada una de las dosificaciones.

4.1.10.5.4 Evaluación de la efectividad del bioinsecticida.

Para cada unidad experimental se utilizó 10 pulgones y 5 moscas blancas, en las cuales se verifico su mortalidad a las 24, 48 y 72 horas de exposición al bioinsecticida dosificado. Los insectos se consideraron muertos si estaban inmóviles al tocarlos con un pincel fino.

Mediante la fórmula de Abbott:

$$M = \frac{m_e - m_b}{n - m_b} \times 100$$

Ecuación 8. fórmula de Abbott

Donde:

M= Mortalidad

m_e = Mortalidad en el bioinsecticida dosificado

m_b = Mortalidad en el blanco

n = Numero de insectos

4.1.11 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de rangos múltiples para la comparación de medias mediante el software Statgraphics.

CAPÍTULO V

5.1 RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1.1 Análisis físico-químico y microbiológico del agua de cocción del chocho

5.1.1.1 Análisis físico.

Se detalla los parámetros físicos del agua de cocción de chocho antes de su tratamiento para la elaboración del bioinsecticida

Tabla 11

Parámetros físicos del agua de cocción de chocho

Parámetro	Unidad	Resultado	Método
Conductividad	$\mu\text{s/cm}$	325,08	MQ-35/APHA-AWWA
Turbiedad	NTU	50,64	MQ-38/APHA 2130
Solidos totales	mg/L	1652,00	MQ-28/APHA 2540
Alcalinidad	mg/L	236,27	MQ-35/APHA-AWWA

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Los parámetros físicos realizados son los más relevantes como la conductividad, turbiedad, solidos totales y alcalinidad para análisis de aguas; las mismas que nos permitieron considerar el tratamiento para su posterior uso en la presente investigación.

La conductividad del agua de cocción del chocho es $325,08 \mu\text{s/cm}$ el mismo que se encuentra por debajo del obtenido por otros estudios como Haro (2008) encontrándose un valor de $1750 \mu\text{s/cm}$, así también Carrión (2006) reporta un valor de $1540 \mu\text{s/cm}$ y Huamán & Choccare (2017) obtuvo un valor de $765 \mu\text{s/cm}$ en sus investigaciones realizadas para el tratamiento de dicho efluente, los valores encontrados de la conductividad nos indica un bajo contenido de sales siendo favorable ya que altas concentraciones puede provocar alteraciones a la planta, en cuanto a la turbiedad se obtuvo un valor de 50,64 NTU siendo este inferior a lo

mencionado por Haro (2008) de 142 NTU y a Carrión (2006) de 149 FTU, el cual refleja bajo contenido de sustancias coloidales, minerales u orgánicas en el agua evitando su deterioro.

Los sólidos totales encontrados en el presente estudio fueron de 1652 mg/L encontrándose por encima del límite permisible que es de 1600 mg/L mencionado por el texto unificado de legislación secundaria de medio ambiente, por lo que, esta agua no puede ser descargado a un cuerpo de agua dulce sin un tratamiento previo.

En cuanto al parámetro de la alcalinidad se encontró un valor de 236,27 mg/L, el cual está dentro de las concentraciones permitidas por guías internacionales de va desde 200 mg/L hasta 1000 mg/L, ya que a mayores concentraciones se origina mal olor (Clair Sawyer et. al., 2008). Sin embargo, este parámetro sirve como regulador de pH permitiendo que haya cambios considerables del mismo.

5.1.1.2 Análisis químico.

A continuación, se detalla los valores en porcentaje de cada uno de los análisis químicos

Tabla 12

Parámetros químicos del agua de cocción del chocho

Parámetro	Unidad	Resultado	Método
Grasa	%	0,00	MQ-08/AOAC 2003,06
Proteína	%	3,07	MQ-09/AOAC 2001,11
Carbohidratos	%	1,60	CALCULO
pH		5,83	MQ-22/INEN ISO 1842

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Los análisis químicos se realizaron con el fin de conocer su composición entre los que se menciona a la grasa, proteína, carbohidratos y pH considerando estos parámetros como influyentes en el deterioro del agua ya que en los muestreos realizados a los pocos días presentaba fermentación, mal olor y precipitación de materia orgánica.

Los valores obtenidos del análisis químico del agua de cocción del chocho se encuentran por debajo de las aguas residuales, haciendo a lo mencionado por Carrión (2006), las características químicas de las aguas residuales se constituyen de la siguiente manera, para grasas y aceites se encuentra entre 8-12 %, la proteína 40-60% y carbohidratos 25-50% por lo que hace más factible su reutilización en la elaboración de un bioinsecticida para lo cual no se necesita de tratamientos complejos. El valor del pH encontrado en nuestro estudio es 5,83 siendo superior a la mencionada por (Carrión, 2006) 4,25, mientras que (Haro, 2008) reporta un valor para el pH de 6,41 y por (Huamán H. y Choccare A, 2017) de 6,72. El valor del pH obtenido está dentro del rango ya que no necesita de otras sustancias para su regulación considerando que no es muy acida para su posterior uso.

5.1.1.3 Análisis Microbiológico.

Los valores de los análisis microbiológicos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 13

Parámetros microbiológicos del agua de cocción del chocho

Parámetro	Unidad	Resultado	Método
Aerobios totales	UFC/ml	1.2×10^6	MMI-06/AOAC 988.18
Mohos	upm /ml	<10	MMI-06/AOAC 988.18
Levaduras	upl /ml	1.3×10^6	MMI-07/ISO 7954

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

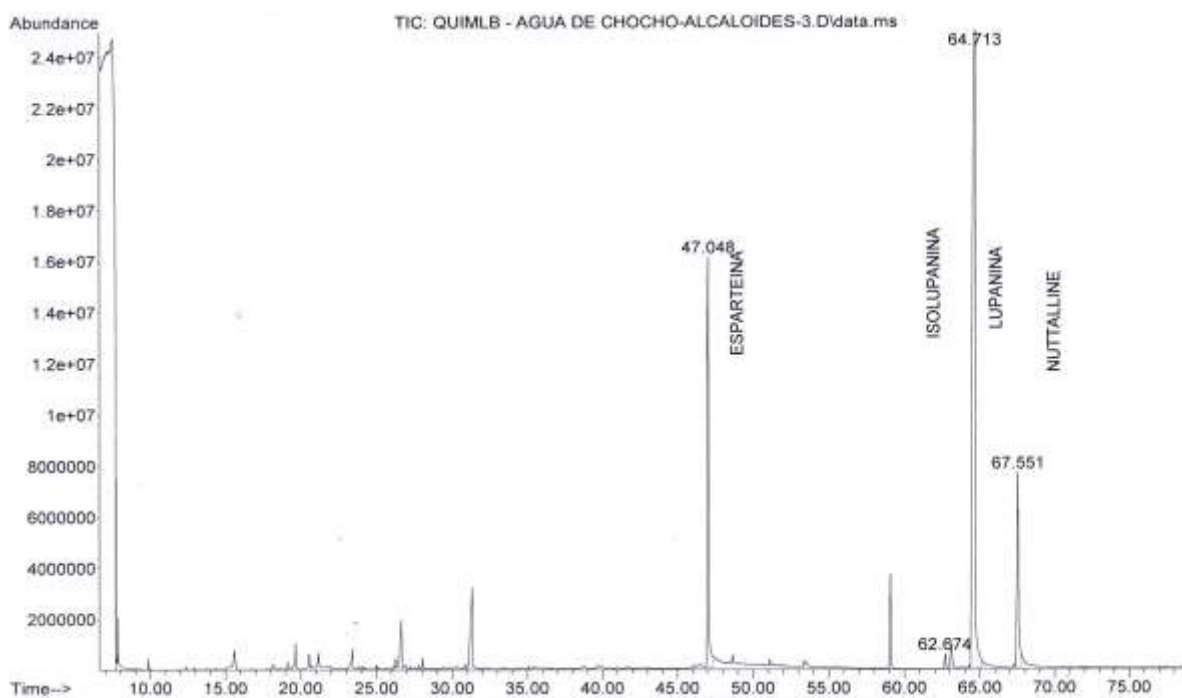
Con los análisis microbiológicos se pudo identificar la presencia de microorganismos y con ello determinar el proceso para eliminar los mismos. Dentro de los análisis realizados se puede apreciar que los valores de la tabla 13 son inferiores a los obtenidos por Carrión (2006), en su investigación “Reutilización del efluente del desamargado del chocho (*Lupinus Mutabilis Sweet*)” para aerobios mesófilos (4×10^8 UFC/ml), mohos (1×10^5 upm/ml) y levaduras (3×10^5 upl/ml). Por lo que el agua de cocción de chocho no presenta una contaminación elevada.

5.1.2 Cuantificación de los alcaloides del agua de cocción de chocho

Los alcaloides obtenidos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) mostró la presencia de alcaloides quinolizidínicos como lupanina, esparteína, isolupanina e hidroxilupanina, siendo de mayor importancia para el estudio la lupanina por su acción insecticida.

Figura 3

Alcaloides identificados en el cromatograma.



Fuente: QUIMICALABS (2022).

En la figura 3 se puede observar que a los 47,048 min se aprecia a la esparteína siendo este el primero en identificarse con una porción relativa de 18,17 %, seguidamente encontramos a la isolupanina a un tiempo de 62,674 min que representa el 0,56 %, luego se obtiene a la lupanina a los 64,713 min con un valor de 54,52%, finalmente se aprecia a la nuttalline (hidroxilupanina) a los 67,551 min el cuál presenta un 10,12%. Se evidencia que la lupanina se encuentra en mayor concentración en comparación con lo mencionado por Rodríguez (2009) en

su estudio “Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de los alcaloides del agua de cocción del proceso de desamargado del chocho (*Lupinus Mutabilis Sweet*)” obtuvo una concentración de 36 %, mientras que Fernández et al. (2015) en su investigación “Procedimiento de estabilización de las aguas de procesado de semilla de *lupinus spp*, extracción de alcaloides y su uso como biocida ecológico ” encontró una concentración de 67 % de este compuesto, esto debido a la especie de lupinus que fue utilizada. Los resultados obtenidos se asemejan a los estudios mencionados, por lo cual se empleó el agua de cocción de chocho en la elaboración del bioinsecticida.

5.1.2.1 Espectro de masas.

El espectro de masas de cada pico fue comparado con los espectros obtenidos de la biblioteca C:\Database\Wiley275.L. Usando para ello los picos de ion molecular, el patrón de fragmentación y el patrón de similitud de los alcaloides esparteína y la lupanina.

Figura 4

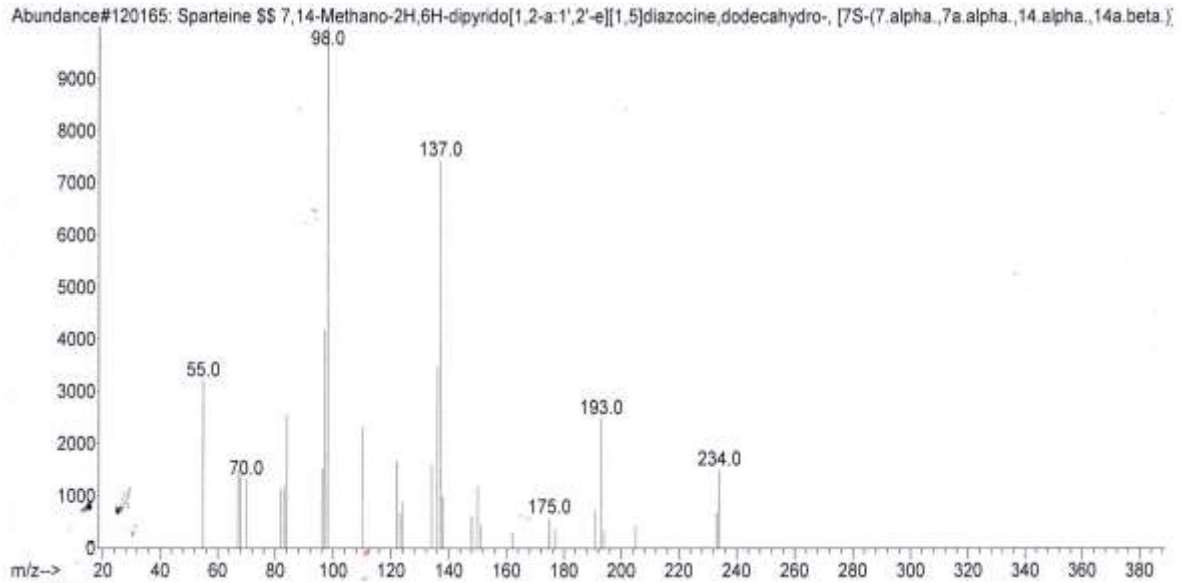
Espectro de masas de la esparteína.



Fuente: QUIMICALABS, (2022).

Figura 5

Espectro de masas de la biblioteca C:\Database\Wiley275.L de la esparteína.



Fuente: QUIMICALABS (2022).

Figura 6

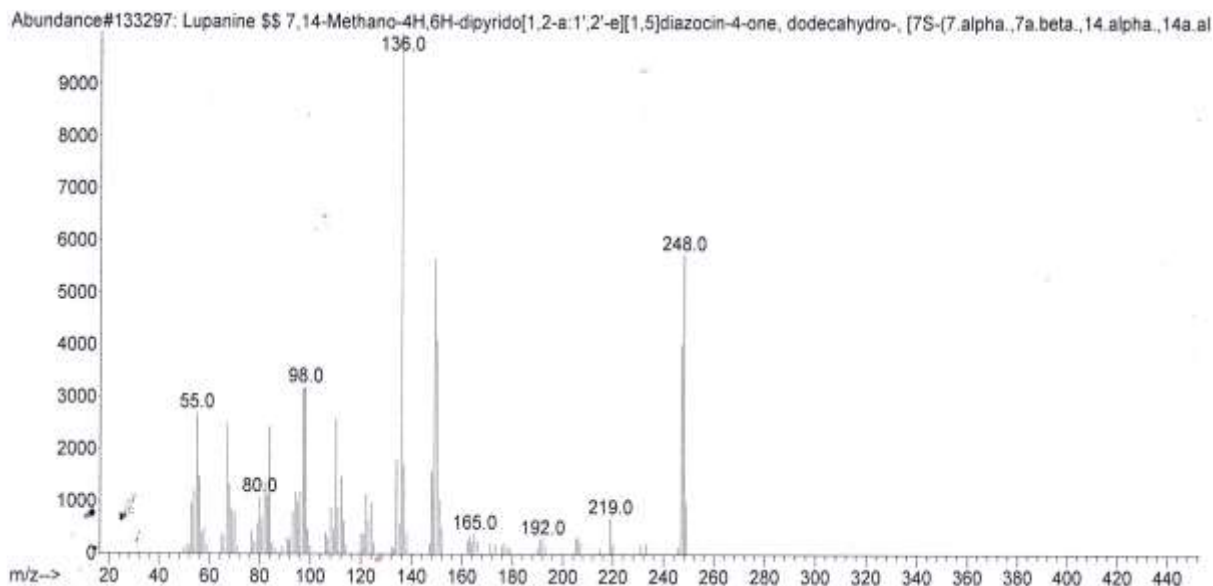
Espectro de masas de la lupanina.



Fuente: QUIMICALABS (2022).

Figura 7

Espectro de masas de la biblioteca C:\Database\Wiley275.L de la lupanina.



Fuente: QUIMICALABS (2022).

En el perfil de los alcaloides obtenidos por cromatografía de gases del agua de cocción del *lupinus* se encontró el ion molecular ($[M^+]$) en la que se presentó para la esparteína de 234 m/z, isolupanina 248 m/z, lupanina 248 m/z y para nuttalline (hidroxilupanina) 264 m/z: cada uno de estos espectros corresponden a los pesos moleculares.

5.1.3 Desarrollar el bioinsecticida a partir del agua de cocción de chocho

Mediante un balance de materia prima se determinó el rendimiento del agua de cocción del chocho como se puede apreciar a continuación:

Tabla 14*Rendimiento del agua de cocción de chocho*

Variable	Cantidad
Peso del grano Kg	253,72
Volumen de agua L	232,32
Volumen agua de cocción	126,96
Rendimiento relación grano Kg/ agua L	0,50
pH	5,24
Temperatura	65°C

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).**5.1.3.1 Residuos obtenidos en la centrifugación del agua de chocho.**

Para eliminar el residuo causante del deterioro del agua de cocción del chocho se procedió a realizar la centrifugación en el cual se obtuvo lo siguiente:

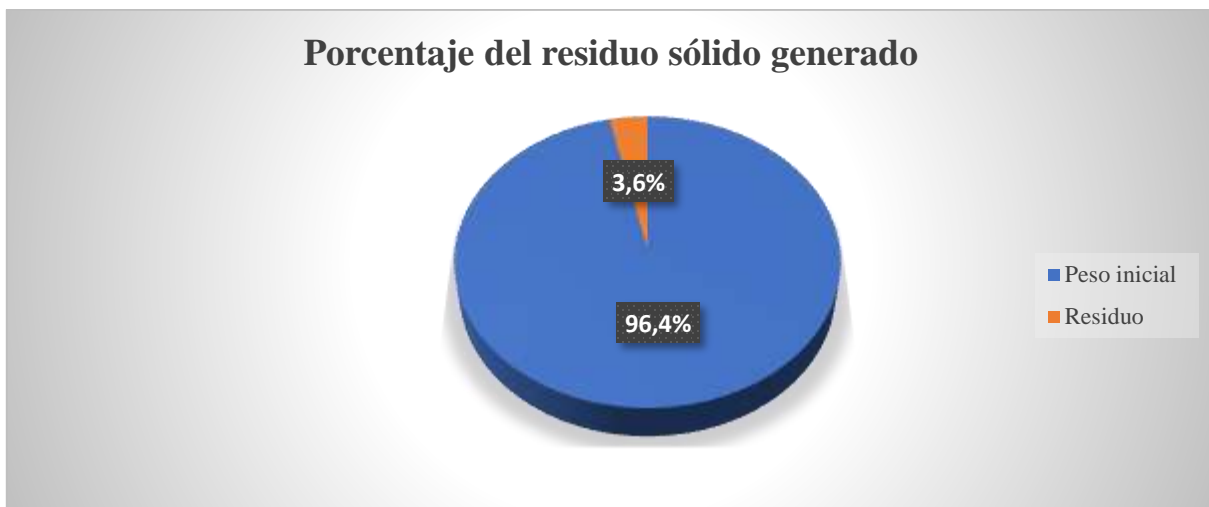
Tabla 15*Cálculo del residuo generado*

Detalle	Con recipiente	Sin recipiente	%
Peso inicial	1585,5	1071,5	100,0
Peso después de la centrifugación	1546,4	1032,4	96,4
Residuo	39,1	39,1	3,6

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Figura 8

Representación del residuo sólido en porcentaje del agua de cocción del chocho.







Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

5.1.3.2 Formulación.

Una vez realizada el tratamiento físico al agua de cocción de chocho se procedió al desarrollo del bioinsecticida, ya que ésta, se consideró como la base para las diferentes formulaciones realizadas, con diferentes ajustes de las sustancias auxiliares en su concentración hasta obtener un producto estable en sus características.

A continuación, se detalla los seis ensayos realizados con los respectivos resultados obtenidos para la obtención del bioinsecticida:

Tabla 16*Formulación a base de agua de chocho + ácido bórico 5%*

Día	pH	Características	Anexos
0	4,65		
5	4,82	Olor característico a chocho No presenta fermentación Color anaranjado característico Sin sedimentos	
12	4,89	Olor característico a chocho No presenta fermentación Color anaranjado característico Sedimentos de restos de ácido	
16	4,90	Olor característico a chocho No presenta fermentación Color anaranjado característico Sedimentos de restos de ácido bórico	
23	4,82	Olor característico a chocho No fermentado Color anaranjado Sedimentos de restos de ácido bórico	





Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

En este primer ensayo se basó en bibliografía para la adición de ácido bórico y verificar su comportamiento de manera individual con el agua de cocción del chocho, observando que la

concentración era demasiado alta ya que no se logró la disolución del compuesto precipitándose en el envase, mientras que sus características iniciales del agua se mantenían.

Tabla 17

Formulación a base de agua de chocho + 3,5 % ácido bórico





Día	pH	Características	Anexos
0	5,08		
5	5,14	Olor característico a chocho No hay fermentación Sin presencia de sedimentos Color anaranjado característico inicial	
12	5,15	Olor característico a chocho No hay fermentación Sin presencia de sedimentos Color anaranjado característico inicial	
16	5,07	Olor característico a chocho No hay fermentación Sin presencia de sedimentos Color anaranjado característico inicial	
23	5,09	Olor característico a chocho No hay fermentación Sin presencia de sedimentos Color anaranjado característico inicial	

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

En el segundo ensayo se disminuyó la concentración del ácido bórico a un 3,5 % en vista de que en el primer ensayo mantenía sus características, logrando obtener mejores resultados en cuanto a sus características y pH.

Tabla 18

Formulación a base de agua de chocho + 3,5 % ácido bórico + 5 % Glicerina





Día	pH	Características	Anexos
0	5,06		
5	5,06	<p>Olor característico a chocho Color anaranjado característico No presenta fermentación Sin sedimentos No hay presencia de espuma</p>	
12	5,06	<p>Olor característico a chocho Pérdida de coloración característica No presenta fermentación Sin presencia de sedimentos</p>	
16	5,06	<p>Olor característico a chocho Notable pérdida de su color Leve fermentación No se presenta sedimentos</p>	
23	5,06	<p>Olor característico a chocho Pérdida de color, presenta una coloración con tendencia amarilla Fermentación evidente No Sedimentos</p>	

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

El tercer ensayo consistió en la adición de glicerina a la concentración mencionado en bibliología conjuntamente con el ácido bórico al 3,5 % establecida en el segundo ensayo, determinado que el porcentaje de glicerina era alta ya que se evidencio una separación y sedimentación del mismo, además se produjo una leve fermentación y perdida del color del producto.

Tabla 19

Formulación a base de agua de chocho + 0,3% Tween 20 + 3 % Glicerina + 3,5% ácido bórico

Día	pH	Características	Anexos
0	4,97		
5	5,05	Color anaranjado No existe fermentación Sin presencia de sedimentos Olor característico a chocho Formación de espuma al colocar el contenido en un vaso de precipitación	
12	5,02	Color anaranjado No existe fermentación Sin sedimentos Olor característico a chocho Formación de espuma al colocar el contenido en un vaso de precipitación	
16	5,04	Color anaranjado No existe fermentación Leve presencia de sedimentos de glicerina Olor a chocho Formación de espuma al colocar el contenido en un vaso de precipitación	
23	5,03	Color anaranjado No existe fermentación Leve presencia de sedimentos de glicerina Olor a chocho Formación de espuma al colocar el contenido en un vaso de precipitación	





Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Para el cuarto ensayo se procedió a la adición de Tween 20 como emulsificante basándonos en bibliografía debido a que en el ensayo anterior la glicerina se separa de la mezcla, además se disminuyó el porcentaje a un 3%. El porcentaje de Tween 20 no fue el adecuado por lo que se originó una leve separación de la misma.

Tabla 20

Formulación a base de agua de chocho + 10% aceite de eucalipto + 4 % Tween 20 + 3 %

Glicerina + 3,5% ácido bórico

Día	pH	Características	Anexos
0	4,98		
5	5,04	Olor intenso a eucalipto Sin separación de los componentes Color blanco Sin fermentación	
12	5	Olor intenso a eucalipto Sin separación de los componentes Color blanco Sin fermentación	
16	5,01	Olor intenso a eucalipto Color blanco Sin fermentación Sin separación de los componentes	
23	5,01	Olor intenso a eucalipto Color blanco Sin fermentación Sin separación de los componentes	

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).






Para complementar el quinto ensayo se procedió a la adición de aceite de eucalipto según (Garnica, 2014). El aceite de eucalipto se añadió con la finalidad de mejorar el producto ya que este posee propiedades insecticidas y desinfectantes según (Castresan, Rosenbaum y González, 2013). Debido a la adición de este compuesto se necesitó aumentar la concentración Tween 20 a un 4% para lograr una mezcla homogénea.

La alta concentración del aceite de eucalipto produjo cambios no favorables al producto perdiendo características propias del agua de cocción del chocho, sin embargo no se evidenció separación de los componentes ni se presentó la fermentación.

Tabla 21

Formulación a base de agua de chocho + 1% aceite de eucalipto + 4% Tween 20 + 3 %

Glicerina+ 3,5% ácido bórico

Día	pH	Características	Anexos
0	5		
5	5,06	Color anaranjado Olor a eucalipto Sin fermentación No existe presencia de sedimentos	
12	5,09	Color anaranjado Olor a eucalipto Sin fermentación No existe presencia de sedimentos	
16	5,03	Color anaranjado Olor a eucalipto Sin fermentación No existe presencia de sedimentos	
23	5,06	Color anaranjado Olor a eucalipto Sin fermentación No existe presencia de sedimentos	
54	5,07	Color anaranjado Olor a eucalipto Sin fermentación No existe presencia de sedimentos	

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Con las características del ensayo anterior se procedió a realizar el sexto ensayo disminuyendo el porcentaje del aceite de eucalipto al 1%, consiguiendo establecer el bioinsecticida y por ende su conservación para su posterior aplicación.

A continuación, se detalla la formulación establecida mediante los ensayos realizados:

Tabla 22

Formulación establecida mediante los ensayos realizados

Componentes	Porcentaje	Función
Agua de cocción del chocho tratada	88,5	Ingrediente activo
Aceite de eucalipto	1	Conservante y desinfectante
Tween 20	4	Coadyuvante y emulsificante
Ácido bórico	3,5	Conservante y propiedades insecticidas
Glicerina	3	Adherente
Total	100	

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. 2022.

En la tabla 22 se presenta la formulación establecida mediante los ensayos previos realizados. Los porcentajes de las sustancias auxiliares utilizadas en la formulación del bioinsecticida se encuentran dentro de los parámetros de uso de cada componente, mencionando al aceite de eucalipto de 0,5 a 5 % según (La redoma creativa. 2019).

Según Acofarma Distribución, S.A (2011), el Tween 20 se usan como emulsificante en insecticidas y pesticidas entre el 1 a 15 %. Ácido bórico es soluble en agua a una concentración de un 4,7% a 20 °C, mediante bioensayo de laboratorio y dos experimentos de campo demostraron que el ácido bórico a concentraciones del 0.5 al 2% tuvo incremento aproximado del 20% en la mortalidad de la plaga tratada según (Cáceres Coello, 2008).

La glicerina es miscible en cualquier proporción según el uso al cual se ha destinado puede ir hasta un 80% según (Acofarma Distribución S.A, 2011).

Tabla 23*Costo de Producción del bioinsecticida*

Componentes	Cantida d	Unida d	Valor unitario (\$)	Valor total (\$)
Costo para tratar el agua de cocción de chocho	1	L	0,25	0,25
Aceite de eucalipto	10	ml	0,08	0,80
Tween 20	40	ml	0,01	0,40
Glicerina	30	ml	0,003	0,08
Ácido bórico	35	g	0,003	0,09
Botella PQ	1	L	0,56	0,56
Total (\$)				2,18

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Por cada litro de bioinsecticida a elaborar se tiene un costo de \$ 2,18 al cual se le suma un 30 % de mano de obra siendo un total de \$2,83, haciendo referencia a Vargas (2013), en su investigación sobre la Formulación, Caracterización Fotoquímica y Físicoquímica, y Dosificación de Insecticidas Orgánicos para el control de Mosca Blanca (*Bemisia tabaci*) en el cultivo de Fréjol (*Phaseolus vulgaris, L.*) para producir 100 ml de extracto vegetal tuvo un costo de \$3,88, por lo que podemos decir que resulta más factible para su elaboración.

5.1.3.3 Evaluar la efectividad del bioinsecticida mediante el control biológico en el pulgón y la mosca blanca.

Para la evaluación de los pulgones y la mosca blanca se trabajó con el bioinsecticida desarrollado y con el agua de chocho únicamente tratada con la finalidad de verificar su efectividad frente a estos insectos.

Se tomó en cuenta para las dosificaciones los valores de pH, ya que con un pH de 8 el control es de 20%, mientras que a un pH de 5 el control se eleva a 90% según (Leiva, 2017).

Tabla 24*pH de las dosificaciones*

Dosificación	pH
100 ml Bioinsecticida	5,25
75/25 ml de Bioinsecticida/ Agua destilada	5,30
50/50 ml de Bioinsecticida/ Agua destilada	5,36
25/75 ml de Bioinsecticida/ Agua destilada	5,39

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

La tabla 24, muestra valores de pH tanto del bioinsecticida como de las dosificaciones que fluctúan entre 5,25 y 5,39, encontrándose dentro de los límites adecuados para su aplicación en producción vegetal ya que las soluciones con pH menor a 4 o mayor a 9 no deben emplearse, porque son muy ácidas o muy alcalinas, respectivamente. Los pH indicados para la mayoría de cultivos están próximos a la neutralidad y admiten un rango de variación que depende de la sensibilidad del cultivo o la alcalinización o a la acidificación del medio siendo óptimo para la aplicación a un pH de 5 (Neira, 2010).

A continuación, se detalla los valores del porcentaje de mortalidad obtenidos:

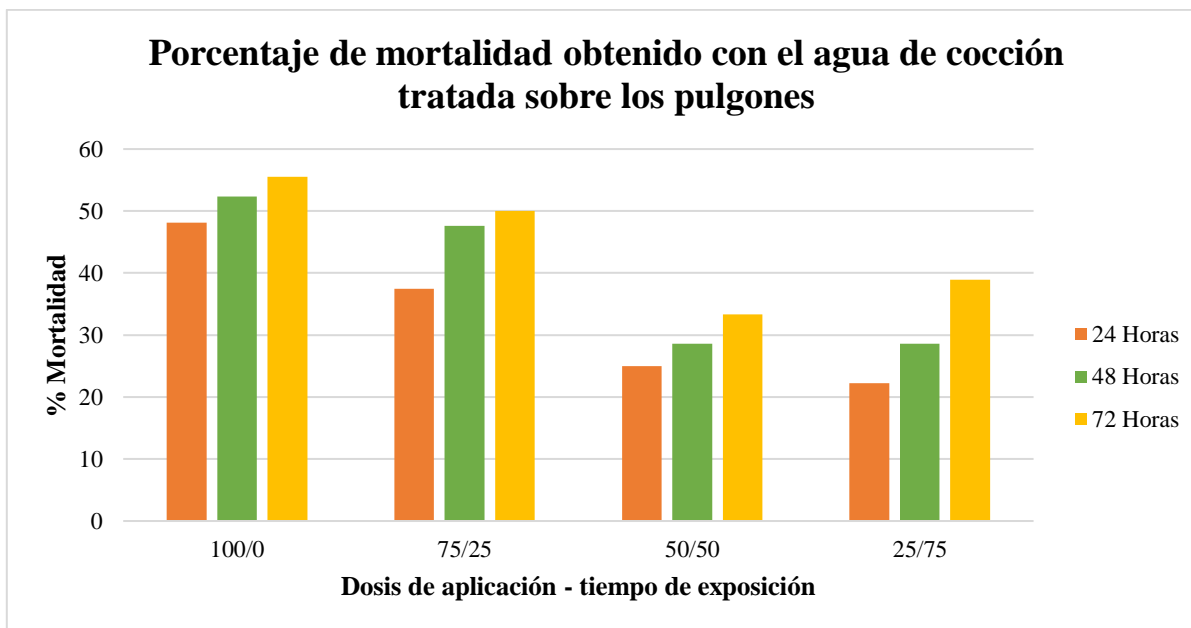
Tabla 25*Porcentaje de mortalidad de los pulgones con el agua de chocho tratada*

Agua de chocho tratada (ml)/Agua Destilada(ml)	Porcentaje de mortalidad		
	24 horas	48 horas	72 horas
100/0	48,15	52,38	55,56
75/25	37,50	47,62	50,00
50/50	25,00	28,57	33,33
25/75	22,22	28,57	38,89

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Figura 9

Representación del porcentaje de mortalidad sobre los pulgones.



Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Tabla 26

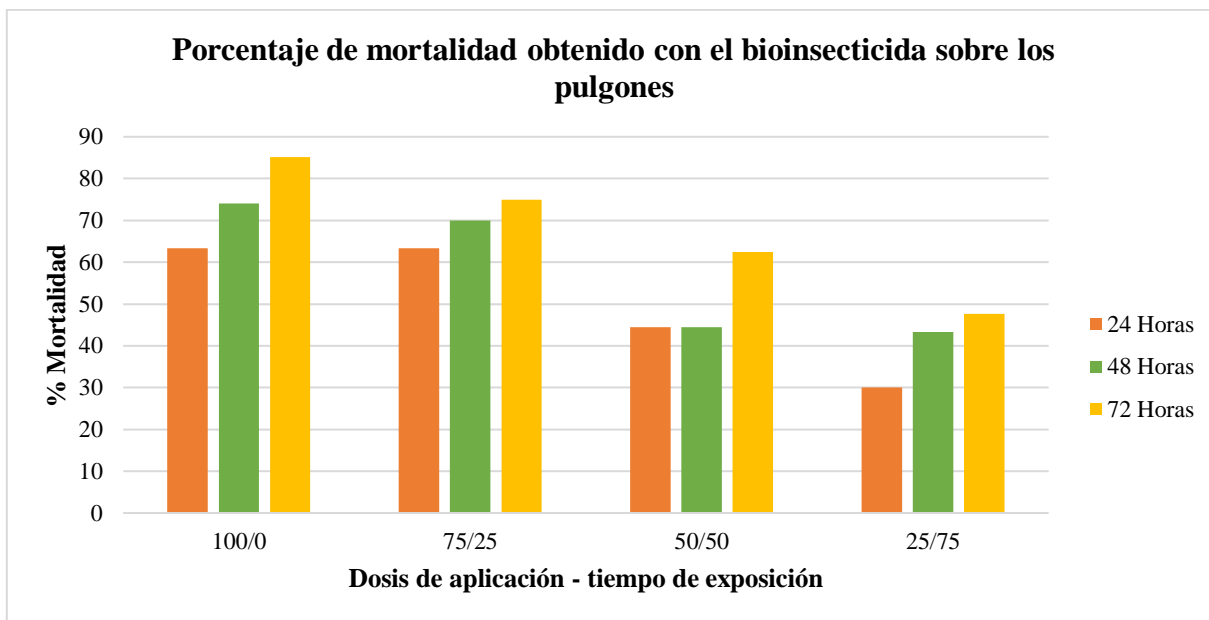
Porcentaje de mortalidad de los pulgones con el bioinsecticida formulado

Bioinsecticida(ml)/ destilada (ml)	agua	Porcentaje de mortalidad		
		24 horas	48 horas	72 horas
100/0		63,33	74,07	85,19
75/25		63,33	70,00	75,00
50/50		44,44	44,44	62,50
25/75		30,00	43,33	47,62

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Figura 10

Representación del porcentaje de mortalidad sobre los pulgones con el bioinsecticida.



Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

En tabla 25 se puede observar que las dosificaciones de 100 ml y 75 ml presenta mejores resultados de mortalidad ya que se aproxima al 50% después de las 48 horas de exposición, mientras que en la tabla 26 se evidencia una mortalidad mayor al 50% a las 24 horas de exposición, alcanzando un 85 % y 75% de efectividad a las 72 horas, para la dosificación de 50 ml muestra también un 62% de mortalidad a las 72 horas. En una dosis baja de agua de chocho únicamente tratada no se obtiene buenos resultados, pero en el bioinsecticida se llega a tener un 47,62% de muerte de los pulgones al tercer día de exposición como se aprecia en las figuras 9 y 10.

Según Neira M. (2010), en su estudio fitofarmacológico del manejo del oídio (*Oidium sp.*), trips (*Frankliniella occidentalis*) y pulgones (*Myzus sp.*), en rosas de exportación con la utilización de extractos vegetales. Nevado Ecuador S.A, presentaron mortalidades de los

pulgones de 56.95% en el extracto de ajo y 44.42%, en el extracto de hierba mora, estos resultados muestran que el agua de cocción del chocho tiene mayor efecto frente a los pulgones ya que en nuestra se tiene valores superiores de mortalidad.

Tabla 27

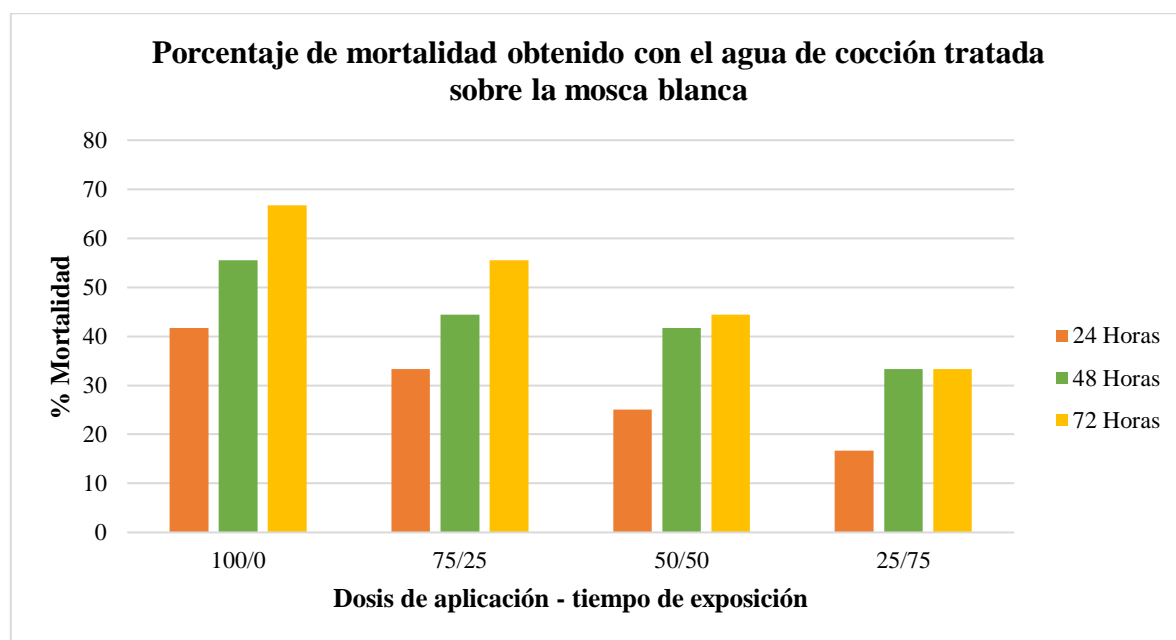
Porcentaje de mortalidad de las moscas blanca con el agua de chocho tratada

Agua de chocho tratada (ml)/Agua Destilada(ml)	Porcentaje de mortalidad		
	24 horas	48 horas	72 horas
100/0	41,67	55,56	66,67
75/25	33,33	44,44	55,56
50/50	25,00	41,67	44,44
25/75	16,67	33,33	33,33

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Figura 11

Representación del porcentaje de mortalidad sobre la mosca blanca.



Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Tabla 28

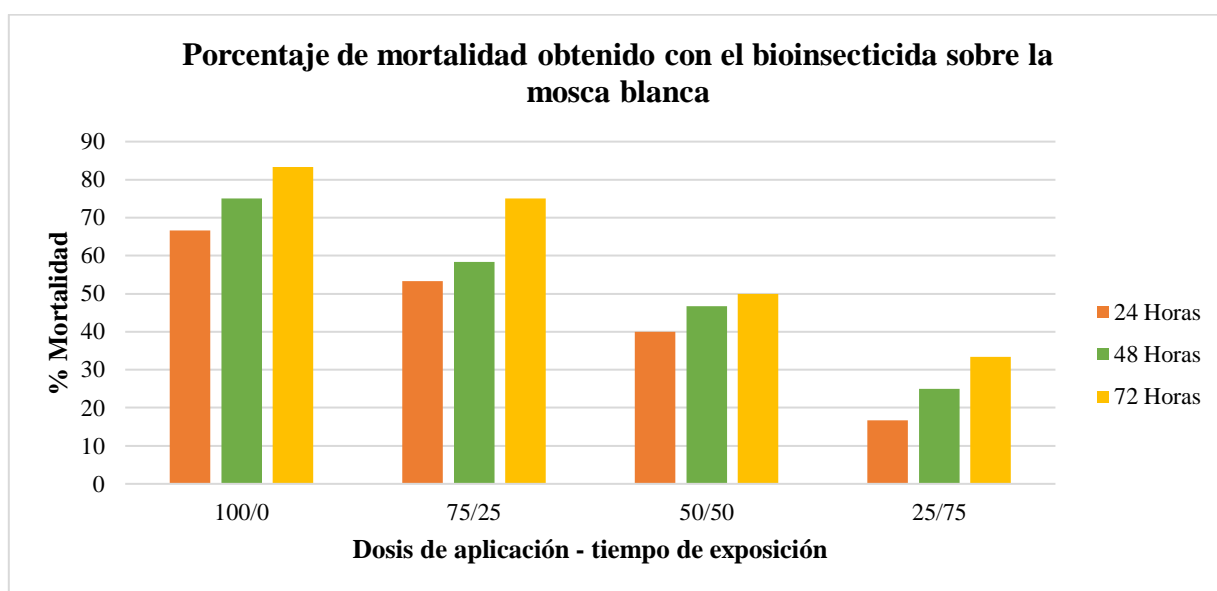
Porcentaje de mortalidad de la mosca blanca con el bioinsecticida formulado

Bioinsecticida(ml)/ destilada (ml)	agua	Porcentaje de mortalidad		
		24 horas	48 horas	72 horas
100/0		66,67	75,00	83,33
75/25		53,33	58,33	75,00
50/50		40,00	46,67	50,00
25/75		16,67	25,00	33,33

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Figura 12

Representación del porcentaje de mortalidad sobre la mosca blanca con el bioinsecticida.



Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

En tabla 27, se puede evidenciar que las dosificaciones de 100 ml y 75 ml presenta mejores resultados de mortalidad ya que se aproxima al 50% después de las 48 horas de exposición, mientras que en la tabla 28 se tiene una mortalidad mayor al 50% a las 24 horas de exposición, alcanzando 75 % y 83 % de efectividad a las 72 horas, para la dosificación de 50 ml muestra una mortalidad de 50% a las 72 horas. En la dosificación baja correspondiente al 25

ml no se obtiene buenos resultados en las dos pruebas llegando a tener un 33,33 % de mortalidad en la mosca blanca como se puede evidenciar en las figuras 11 y 12.

Los resultados obtenidos en el presente estudio para el control de la mosca blanca se diferencian de los encontrados por Vargas (2013), mortalidades 55 % a una dosis alta del extracto de eucalipto al igual que el extracto de romero a dosis alta arrojó un valor de 52.50 % determinado que el agua de chocho tanto tratada como formulada posee mayor efectividad.

5.1.4 *Análisis estadístico*

5.1.4.1 **Resultados del ANOVA del porcentaje de mortalidad en los pulgones.**

Variable dependiente: Porcentaje de mortalidad

Factores:

Dosificación bioinsecticida/agua destilada (ml)

Tiempo de exposición h

Número de casos completos: 12

Tabla 29

Análisis de Varianza para el porcentaje de Mortalidad

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón F	Valor-P
Efectos Principales					
A: Dosificación bioinsecticida/agua destilada ml	2263,0	3	754,33	47,89	0,0001
B: Tiempo de exposición	633,5	2	316,75	20,11	0,0022
Residuos	94,5	6	15,75		
Total (corregido)	2991,0	11			

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

La tabla 29 del ANOVA muestra el efecto que tiene la dosificación y tiempo de exposición sobre el porcentaje de mortalidad en los pulgones. Los valores-P prueban la

significancia estadística de la dosificación y el tiempo de exposición. Puesto que 2 valores-P son menores que 0,05, mostrando que dichos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de mortalidad en los pulgones con un 95,0% de nivel de confianza, por lo tanto, existe evidencia estadística significativa para rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna.

5.1.4.1.1 Pruebas de Múltiple Rangos para el porcentaje de mortalidad por Dosificación bioinsecticida/agua destilada ml.

Se realizó las pruebas de múltiples rangos que se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 30

Pruebas de Múltiple Rangos para el porcentaje de mortalidad por Dosificación

bioinsecticida/agua destilada ml: Método: 95,0 porcentaje LSD

Dosificación bioinsecticida /agua destilada ml	Casos	Media LS	Grupo homogéneos
25/75ml	3	40,33	X
50/50ml	3	50,33	X
75/25ml	3	69,33	X
100ml	3	74,0	X

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

En la tabla 30 se han identificado 3 grupos según la alineación de las X en columnas. Lo cual dice que no existen diferencias estadísticamente significativas entre la dosificación 100 ml y 75/25 ml ya que comparten una misma columna de X, mientras que para la dosificación 50/50 ml y 25/75 ml hay una diferencia estadística significativa con respecto al porcentaje de mortalidad.

Tabla 31

Contraste de las dosificaciones

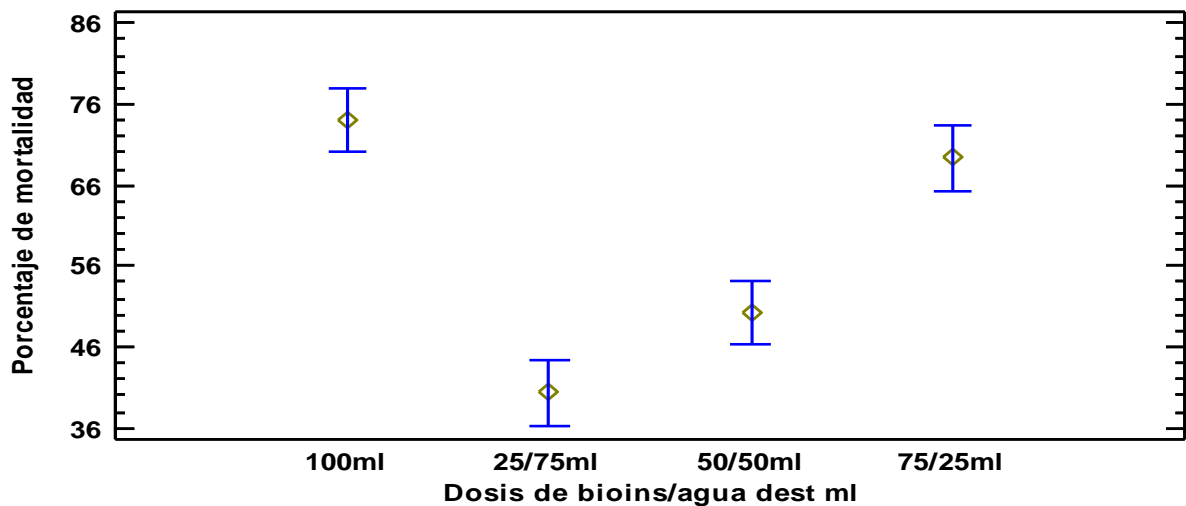
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Limite
100m - 25/75ml	*	33,67	7,93
100ml - 50/50ml	*	23,67	7,93
100ml - 75/25ml		4,67	7,93
25/75ml - 50/50ml	*	-10,0	7,93
25/75ml -75/25ml	*	-29,0	7,93
50/50ml -75/25ml	*	-19,0	7,93

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

En la tabla 31 el asterisco (*) que se encuentra al lado de los 5 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza, mientras que la dosificación 100 ml y 77/25 ml no muestra diferencia significativa.

Figura 13

Media y 95,0% de Fisher LSD.



Fuente: Trabajo experimental (2022).

Como se puede observar en la figura 13 cada una de las dosificaciones tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de mortalidad del pulgón con un nivel de confianza del 95 %.

5.1.4.1.2 Análisis de una muestra.

Se muestra a continuación el análisis de varianza:

Tabla 32

Análisis de una muestra del porcentaje de mortalidad del pulgón

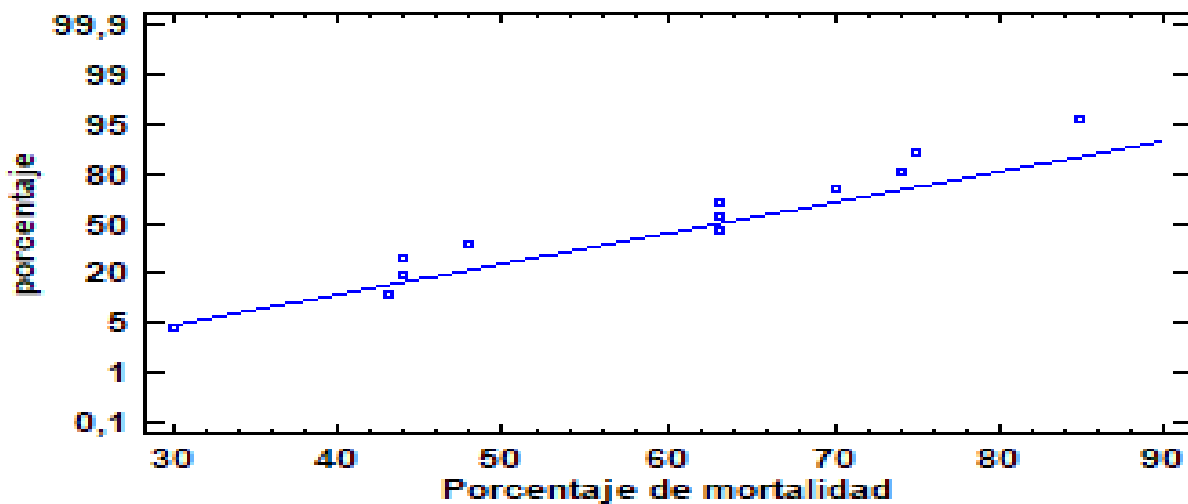
Datos/Variable	Porcentaje de Mortalidad
Recuento	12
Promedio	58,5
Desviación Estándar	16,49
Coefficiente de Variación	28,19 %
Mínimo	30,0
Máximo	85,0
Rango	55,0
Sesgo estandarizado	-0,19
Curtosis estandarizada	-0,65

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

En la tabla 32 se observa que el valor del sesgo estandarizado es -0,19 y de la curtosis estandarizada es -0,65, los cuáles se encuentran dentro del rango límite de -2 a +2, lo que indica que los datos son provenientes de una distribución normal como se observa en la figura 14.

Figura 14

Probabilidad normal.



Fuente: Trabajo experimental (2022).

5.1.4.2 Resultados del ANOVA del porcentaje de mortalidad en mosca blanca.

Variable dependiente: Porcentaje de mortalidad

Factores:

Dosificación bioinsecticida/agua destilada ml

Tiempo de exposición h

Número de casos completos: 12

Tabla 33

Análisis de Varianza para el porcentaje de mortalidad

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón F	Valor-P
Efectos Principales					
A: Dosificación bioinsecticida/agua destilada ml	4194,25	3	1398,08	139,81	0,0000
B: Tiempo de exposición	514,67	2	257,33	25,73	0,0011
Residuos	60,0	6	10,0		
Total (corregido)	4768,92	11			

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

La tabla 33 del ANOVA muestra el efecto que tiene la dosificación y tiempo de exposición sobre el porcentaje de mortalidad en la mosca blanca. Los valores-P prueban la significancia estadística de la dosificación y tiempo de exposición. Puesto que 2 valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de mortalidad en la mosca blanca con un 95,0% de nivel de confianza, por lo tanto, existe evidencia estadística significativa para rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna.

5.1.4.2.1 Pruebas de Múltiple Rangos para el porcentaje de mortalidad por Dosificación bioinsecticida/agua destilada ml.

Se presenta las pruebas de múltiples rangos para el porcentaje de mortalidad en la mosca blanca:

Tabla 34

Pruebas de Múltiple Rangos para el porcentaje de mortalidad por Dosificación

bioinsecticida/agua destilada ml: Método: 95,0 porcentaje LSD

Dosificación bioinsecticida /agua destilada ml	Casos	Media LS	Grupo homogéneos
25/75ml	3	25,0	X
50/50ml	3	45,67	X
75/25ml	3	62,0	X
100ml	3	75,0	X

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

En la parte superior de la tabla 34 se observa 4 grupos según la alineación de las X en columnas. Lo cual dice que existen diferencias estadísticamente significativas entre todas las dosificaciones con respecto al porcentaje de mortalidad en la mosca blanca.

Tabla 35

Contraste de las dosificaciones para el porcentaje de mortalidad de la mosca blanca

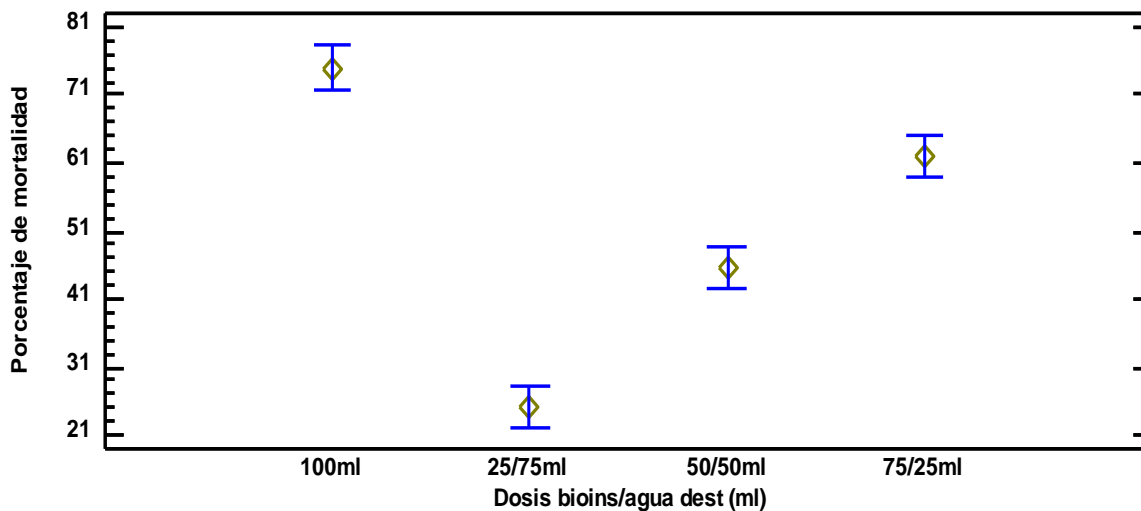
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Limite
	*	50,0	6,32
100ml - 50/50ml	*	29,33	6,32
100ml - 75/25ml	*	13,0	6,32
25/75ml - 50/50ml	*	-20,67	6,32
25/75ml -75/25ml	*	-37,0	6,32
50/50ml -75/25ml	*	-16,33	6,32

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

En la tabla 35 el asterisco (*) que se encuentra al lado de los 6 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza.

Figura 15

Media y 95,0% de Fisher LSD.



Fuente: Trabajo experimental (2022).

Como se puede apreciar en la figura 15 cada uno de las dosificaciones tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de mortalidad en la mosca blanca con un nivel de confianza del 95 %.

Tabla 36

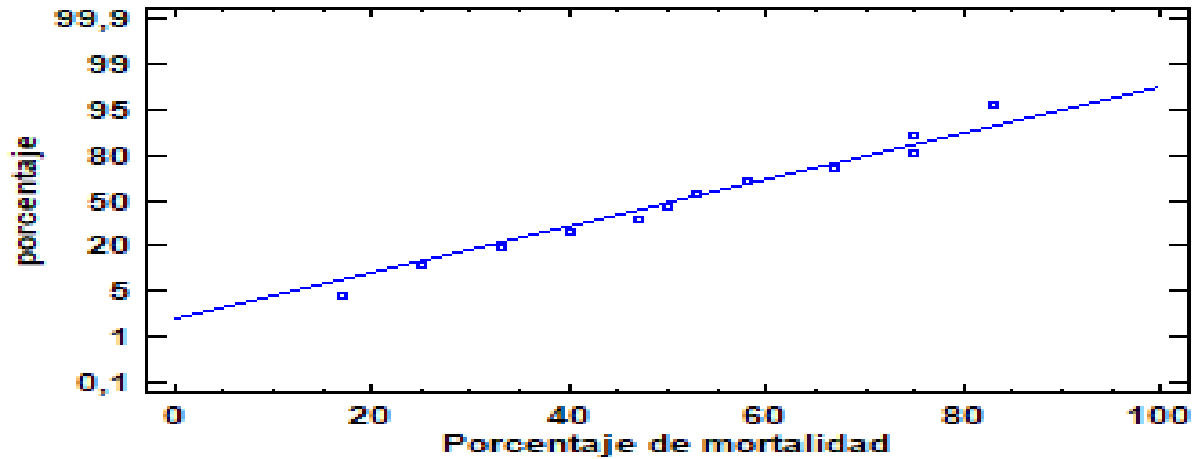
Análisis de una muestra para el porcentaje de mortalidad de la mosca blanca

Datos/Variable	Porcentaje de mortalidad
Recuento	12
Promedio	51,92
Desviación Estándar	20,82 %
Coficiente de Variación	40,11%
Mínimo	17,0
Máximo	83,0
Rango	66,0
Sesgo estandarizado	-0,21
Curtosis estandarizada	-0,65

Elaborado: Tandalla J. y Yugcha K. (2022).

Figura 16

Probabilidad normal.



Fuente: Trabajo experimental (2022).

En la tabla 36, se presenta el valor para el sesgo estandarizado siendo éste de -0,21 y para la curtosis estandarizada de -0,65, los mismos se encuentran dentro del rango límite de -2 a +2, lo que nos indica que los datos son provenientes de una distribución normal como se aprecia en la figura 16.

CAPÍTULO VI

6.1 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

6.1.1 *Hipótesis a verificar*

6.1.1.1 Hipótesis nula (H₀).

El bioinsecticida desarrollado no tiene efecto insecticida frente a pulgones y mosca blanca

$$T_1=T_2=T_3\dots\dots T_{12}$$

6.1.1.2 Hipótesis alterna (H_a).

El bioinsecticida desarrollado tiene efecto insecticida frente a pulgones y mosca blanca

$$T_1\neq T_2\neq T_3\dots\dots T_{12}$$

6.1.1.3 Verificación de la hipótesis.

La comprobación de la hipótesis se realizó mediante el análisis de varianza (ANOVA) para el porcentaje de mortalidades de los pulgones y mosca blanca. En base a su porcentaje de mortalidad se pudo evaluar su efecto como bioinsecticida. Puesto que los valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el porcentaje de Mortalidad con un 95,0% de nivel de confianza, por lo tanto, existe evidencia estadística significativa para rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna.

CAPÍTULO VII

7.1 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1.1 Conclusiones

- ✓ En este estudio se determinó la factibilidad de obtener un bioinsecticida a partir del residuo agroindustrial del proceso de cocción del chocho debido a las propiedades que posee este subproducto de esta manera dando una alternativa para su uso.
- ✓ Los análisis físicos (conductividad, sólidos totales, turbiedad y alcalinidad) realizados en la investigación son parámetros comunes utilizados para aguas y aguas residuales los mismos que nos permitieron efectuar un tratamiento adecuado mediante la centrifugación y filtración, las aguas residuales se constituyen de la siguiente manera, para grasas y aceites se encuentra entre 8-12 %, la proteína 40-60% y carbohidratos 25-50% , dentro de los parámetros químicos presentaron valores inferiores a esta referencia ya que no se necesitó de tratamientos complejos por lo que fue factible su reutilización en la elaboración de un bioinsecticida.
- ✓ Se evidenció la presencia de microorganismos como aerobios totales y levaduras que provocaban el deterioro de esta agua requiriendo de un proceso de pasteurización para su control.
- ✓ Los alcaloides obtenidos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) realizados en el laboratorio “Quimicalabs”, mostró la presencia de alcaloides quinolizidínicos como lupanina, esparteína, isolupanina e hidroxilupanina, siendo de mayor abundancia lupanina encontrándose un valor de 54,52%.
- ✓ Se desarrollaron 6 ensayos preliminares de los cuales se estableció la siguiente formulación: agua de chocho 88,5%, Tween 20 a 4%, ácido bórico 3,5%, glicerina 3% y aceite de

eucalipto 1% que nos permitió una mejor estabilidad del producto verificando mediante la toma de pH que a los 54 días presento un valor de 5,07 encontrándose dentro de los límites de pH de 4 a 9 para su aplicación en producción vegetal.

- ✓ Para la evaluación se utilizó 10 pulgones provenientes del cultivo de tomate de árbol y 5 moscas blancas del cultivo de tomate riñón todas en estado adulto para cada unidad experimental, a la dosificación de 100 ml y 75/25 ml se evidencio una mortalidad mayor al 50% a las 24 horas de exposición, alcanzando un 85 % y 75% de efectividad a las 72 horas para los pulgones, a las mismas dosificaciones se tiene una mortalidad mayor al 50% a las 24 horas de exposición, alcanzando 75 % y 83 % de efectividad a las 72 horas, demostrando con lo antes mencionado su efecto insecticida del producto elaborado.

7.1.2 Recomendaciones

- ✓ Se sugiere buscar alternativas para el aprovechamiento de los residuos de origen agroindustrial ya que muchas veces no se necesita de tratamientos complejos para obtener nuevos productos que contribuyan al ambiente, a la agricultura y a una seguridad alimentaria.
- ✓ Se recomienda realizar la cuantificación de los alcaloides del producto desarrollado con la finalidad de verificar si se conserva su composición inicial.
- ✓ El uso de sustancia auxiliares debe encontrarse dentro de los rangos permisibles ya que un exceso podría provocar daños a la planta en el caso de probar con otros cultivos.
- ✓ Se recomienda aplicar el bioinsecticida en campo ya que nuestro estudio solo se enfocó a nivel de laboratorio.
- ✓ Se debería realizar ensayos con otro tipo de insectos que existen para comprobar su efecto y su acción frente a estos.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, A., Manfredi, P., Jorrat, S. y Genta, M. (2007). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante en bebidas e infusiones elaboradas en Argentina. *Revista Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 16 (2), 161.
- Aguirre Pomacaja, E. K. (2018). *Propiedades biocidas del alcaloide del chocho en tunales infestados por la cochinilla de escudo en la asociación agroindustrial Llanavilla, Villa María del Triunfo*. [Tesis de Grado, Universidad César Vallejo].
- APHA, AWWA, WPCF. (1992). *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*.
- Leiva, P. D. (2017). *Calidad del agua para pulverización agrícola*.
pdleiva@pergamino.inta.gov.ar
- Arias, L. (2000). *Análisis Comparativos de Dos Métodos de Aislamiento y Determinación de Alcaloides de Lupinus mutabilis*. [Tesis de Grado, Universidad Nacional Agraria La Molina].
- Ávalos, A., Pérez Urria, E. (2010). Metabolismo secundario. *Reduca*, 1(2), 119-122.
- Acofarma Distribución, S.A. (2011). *Fichas de información técnica Tween*.
- Bunsupa, S; Saito, K; y Yamazaki, M. (2013). *Molecular Biology and biotechnology of Quinolizidine Alkaloid Biosynthesis in Leguminosae Plants*. In S. L, Chandra, H., Varma, A. (Ed.)
- Cabildo Miranda, M. P., Cornago Ramírez, M. P., Escolástico León, C., Esteban Santos, S., López García, C., Sanz del Castillo, D. (2009). *Bases Químicas del Medio Ambiente*.
- Castresan, J. E., Rosenbaum, J., y González, L. (2013). Estudio de la efectividad de tres aceites esenciales para el control de áfidos en pimiento, *Capsicum annum* L. *IDESIA*, 31(3), 49-58.

- Caicedo, C., Paralta, E., Murillo, A., Rivera, M., Pinzón, J. (2009). *Catálogo de Variedades Mejoradas de Granos Andinos: Chocho, Quinoa y Amaranto, para la sierra de Ecuador*. INIAP.
- Campos, N. C. (2015). *Biotoxicidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de Lupinus mutabilis “tarwi” sobre larvas de Culex quinquefasciatus*. [Tesis de grado, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga].
- Camacho Vilcacundo, D. P. (2011). *Determinación de la actividad insecticida del shampoo con extracto de Sambucus nigra L. Franseria artemisioides W, y Tagetes zipaquirensis H en Ctenocephalides canis*. [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo].
- Cáceres Coello, V. (2008). *Efecto del Ácido Bórico, Neem y Tinopal en la dieta de Spodoptera frugiperda sobre la Tasa de Infectividad por el Virus de la Poliedrosis Nuclear*. [Tesis de Grado, Zamorano].
- Cárdenas Castro, C., Lugo Vargas, L., Roza Bautista, A. (2010). Efecto tóxico del extracto acuoso de Ruta graveolens L. (Rutaceae) sobre larvas de Anopheles albimanus Wiedemann, 1820 y Culex quinquefasciatus Say, 1823 (Díptera: Culicidae), en condiciones experimentales. *ENTOMOTROPICA*, 25(1), 11-18.
- Carrión Jara, A. V., García Gómez, C. R. (2010). *Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica*. [Tesis de Grado, Universidad de Cuenca].
- Carrión Moreno, M. J. (2006). *Reutilización del efluente del desamargado de chocho (Lupinus mutabilis Sweet)*. [Tesis de Grado, Universidad Técnica de Ambato].
- Cabrera, R. et al. (2016). Evaluación de dos insecticidas naturales y un químico en el control de plagas en el cultivo de frejol en el litoral ecuatoriano. *IDESIA*, 34(5), 27-35.

- Cevallos Gallardo, G., Mantilla López, J. (2008). *Levantamiento de plagas insectiles de papa (Solanum tuberosum) en cuatro formaciones ecológicas de la Serranía Ecuatoriana*. [Tesis de Grado, Escuela Politécnica del Ejército].
- Clair Sawyer, N., Perry, L., Gene Parkin, F. (2008). *Química para ingeniería ambiental: parámetros fisicoquímicos*.
- Coloma Ramírez, J. M. (2009). *Evaluación in vitro de la Actividad Antifúngica de los Alcaloides del agua de cocción del proceso de desamargo del chocho (Lupinus mutabilis sweet)*. [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo].
- Cruz., E. (1987). *Las leguminosas y la Nutrición Humana Evento de Información y Difusión de Resultados de Investigación sobre el Chocho. Consejo Nacional de Ciencia y tecnología*.
- Cutipa Huarcaya, W. (2014). *Efecto de la adición de harina de tarwi (Lupinus Mutabilis Sweet) en sustitución parcial de harina de trigo (Triticum Aestivum) en la elaboración del pan*. [Tesis de Grado, Universidad Nacional del Altiplano].
- Fernández Cheza, E. (2017). *Determinación del contenido de antinutrientes en tres variedades de chocho (Andino INIAP 450, Guaranguito INIAP 451 y Criollo)*. [Tesis de Grado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador].
- Flia, M. (2008). *Formulaciones de plaguicidas Apunte 1 de Protección Forestal*.
- González Gamboa, J. R. (2015). *Evaluación agronómica de papa, variedad superchola (Solanum tuberosum), con el uso de semilla prebásica, bajo dos modalidades de fertilización edáfica, complementada con fertilización foliar Tabacundo - Pichincha*. [Tesis de Grado, Universidad Central del Ecuador].

- Guerrero, R., Valenzuela, L. (2011). Agroindustria y medio ambiente. Trilogía. *Ciencia Tecnología Sociedad*, 23(33), 63-83.
- Herzfeld, D., Sargent, K. (2008). *Private Pesticide Applicator Training Manual*.
- INIAP. (2001). *El cultivo de chocho Lupinus mutabilis Sweet: Fitonutrición, enfermedades y plagas, en el Ecuador. Estación Experimental " Santa Catalina" Quito-Ecuador*.
- INIAP. (2010). *Variedad de chocho (Lupinus mutabilis Sweet), en el Ecuador. Estación Experimental " Santa Catalina" Quito-Ecuador*.
- Irigoin Peralta, M. (2016). *Determinación del valor nutritivo y energético del tarwi (Lupinus mutabilis sweet) para cuyes*. [Tesis de grado, Universidad Privada Antenor Orrego].
- Jacobsen, S., Mujica, A. (2006). *El tarwi (Lupinus mutabilis Sweet.) y sus parientes silvestres. Botánica Económica de Los Andes Centrales*.
- Jarrín Harro, M. P. (2003). *Tratamiento del Agua de Desamargado del Chocho (Lupinus mutabilis Sweet) proveniente de la Planta Piloto de la Estación Santa Catalina INIAP*. [Tesis Doctoral, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo].
- Jiménez, A. (2000). Determinación de los parámetros físico-químicos de calidad de las aguas. *Gestión Ambiental*, 2(23), 12-19.
- La redoma creativa. (2019). *Aceite esencial de EUCALIPTO BIO (CAS N°. 8000-48-4 / 84625-32-1)*. [quimicsdalmauonline.com/pdfs/FICHA TECNICA AE EUCALIPTO BIO .pdf](http://quimicsdalmauonline.com/pdfs/FICHA%20TECNICA%20AE%20EUCALIPTO%20BIO.pdf)
- Laurente Flores, Y. R. (2016). *Obtención del concentrado proteico y determinación del perfil de aminoácidos de dos variedades de Tarwi (Lupinus mutabilis Sweet)*. [Tesis de Grado, Universidad Nacional del Altiplano].

- León Placencia, A. F., y Quesada Padrón, K. (2012). *Elaboración de una guía de control microbiológico para las micro y pequeñas empresas lácteas y cárnicas del cantón Cuenca*. [Tesis de Grado, Universidad del Azuay].
- Loja, C. R., y Sanmartín, L. M. (2014). *Evaluación de la calidad microbiológica del chocho desamargado para consumo en la ciudad de Cuenca*. [Tesis de Doctoral, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo].
- Lubell, M, Hillis, V., y Hoffman, M. (2011). Innovation, cooperation, and the perceived benefits and cost of sustainable agriculture practices. *Ecol Soc*, 6(4), 1-12. 10.5751/ES04389-160423.
- Mejías, N., Orozco, E., y Gala, N. (2016). Aprovechamiento de los residuos agroindustriales y su contribución al desarrollo sostenible de México. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*. 2(6), 27-41.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. (2014). *Zonificación Agroecológica Económica del Cultivo de Chocho (*Lupinus mutabilis*) En el Ecuador Continental a escala 1:250.000*.
- Morales Mendizábal, C. D. (2011). *Caracterización fitoquímica y evaluación biológica de *Solamun hartwegii* (Nombre común lavaplatos)*. [Tesis de Grado, Universidad de San Carlos De Guatemala].
- Murace, F. (2008). *Formulaciones de plaguicidas Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales*.
- Neira Rivera, M. C. (2010). *Estudio fitofarmacológico del manejo DEL OÍDIO (*Oidium* sp.), trips (*Frankliniella occidentalis*) y pulgones (*Myzus* sp.), en rosas de exportación con la utilización de extractos vegetales. Nevado Ecuador S.A.* [Tesis de Grado, Universidad Técnica de Ambato].

- Onmiya, S. (2007). Stereochemistry, syntheses and biological activity of lupine alkaloids-from studies on the leguminous plants growing mainly in Japan. *Yakugaku Zasshi*, 127(10), 1557-1577.
- Ortuño Torres, M. E. (2011). *Determinación de la actividad biológica del extracto acuoso de saúco Sambucus nigra L. como repelente y/o insecticida en Lasius niger L.* [Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo].
- Padilla Santana, V. A. (2017). *Evaluación de dos productos y tres dosis de verticillium Lecanii (Verticillium lecanii) para el control de mosca blanca (Bemisia tabaci) en tomate hortícola (Lycopersicon esculentum).* [Tesis de Grado, Universidad Técnica de Ambato].
- Peñaranda, L., Montenegro, S., y Giraldo, P. (2017). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia. *Investigación Agraria y Ambiental*, 8(2), 141-150.
- Quishpe Bárcena, Z. G. (2017). *Efecto biocida del extracto hidroalcohólico de semillas de Lupinus mutabilis Sweet "tarwi" sobre larvas de Culex quinquefasciatus Say "zancudo".* [Tesis de Grado, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga].
- Quishpe Sanca, D. (2015). *Composición nutricional de diez genotipos de Lupino (L. Mutabilis y L. Albus) desamargado por proceso acuoso.* [Tesis de Magister, Universidad Nacional Agraria La Molina].
- Constitución de la República del Ecuador [Const.]. 2008. Registro Oficial 449 de 20 de octubre (Ecuador).
- Rivadeneira Ruales, J. E. (1999). *Determinación de los niveles óptimos de fertilización química en el cultivo de chocho (Lupinus mutabilis Sweet), en tres localidades de la Sierra ecuatoriana.* [Tesis de Grado, Universidad Central del Ecuador].

- Restrepo, A., Rodríguez, E., y Manjarrés K. (2011). Cortezas de naranja comestibles: una aproximación al desarrollo de productos con valor agregado a partir de residuos agroindustriales. *Producción + limpia*, 6(2), 47-57.
- Restrepo, M. (2011). Producción más limpia en la industria alimentaria. *Producción + Limpia*, 1(1), 87-101.
- Reinhard, H., Rupp, H., Sager, F., Streule, M., y Zoller, O. (2006). Quinolizidine alkaloids and phomopsins in lupin seeds and lupin containing food. *Jornal of Chromatography A*, 11(12). 353–360.
- Rodríguez Basantes, A. I. (2009). *Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de los alcaloides del agua de cocción del proceso de desamargado del chocho (Lupinus mutabilis Sweet)*. [Tesis de grado, Escuela Politécnica Superior de Chimborazo].
- Rosas De Ortiz, H., Herrera, J., y Leyva, O. (2016). Revalorización de algunos residuos agroindustriales y su potencial de aplicación a suelos agrícolas. *Agroproductividad*, 9(8), 18-23.
- Reyes Paredes, C. T. (2018). *Evaluación de la estabilidad del ácido bórico por métodos fisicoquímicos y control con ft-ir en la planta de boratos*. [Tesis de Grado, Universidad Nacional de san Agustín].
- Suarez Ospina, D. (2018). Principios básicos de la cromatografía líquida de alto rendimiento para la separación y análisis de mezclas. *Formación Investigativa*. 4(1), 7.
- Solís Rodríguez, S. (2017). *Manejo integrado de organismos plaga de la papa Solanum tuberosum L; en la Región de Navidad, Galena, Nuevo León*. [Tesis de Grado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro].

- Tapia Núñez, M. E. (2015). *Tarwi, Tauri o Chocho (Lupinus mutabilis Sweet)*. “Mujeres Andinas en Camino: Promoción del producto tarwi de la Provincia de Huaylas hacia el mercado nacional e internacional en el marco rural del desarrollo sostenible” CF 019-2014-FIP.
- Urbina Calero, R. W. (2019). *Obtención de un extracto rico en carotenoides con capacidad antioxidante a escala de banco a partir de residuos agroindustriales del tomate de árbol (Solanum betaceum)*. [Tesis de Grado, Universidad Técnica de Ambato].
- Vargas, A., y Pérez, L. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales para el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Facultad de Ciencias Básicas*, 14 (1), 59-72.
- Vargas Guevara, S. V. (2013). *Formulación, Caracterización Fitoquímica y Fisicoquímica, y Dosificación de Insecticidas Orgánicos para el control de Mosca Blanca (Bemisia tabaci) en el cultivo de Fréjol (Phaseolus vulgaris, L.)*. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Ambato].
- Velásquez Aliaga, L. (2007). *Actividad antimicrobiana de extractos de Franseria artemisioides, Rumex palustris, Baccharis latifolia, Cestrum parqui y Piper asperifolium frente a Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa y Enterococcus faecalis*. [Tesis de Grado, Universidad Mayor de San Andrés].
- Villacrés, E., Rubio, A. (2008). *Chocho Alimento Andino Redes cubierto*.
- Villacrés, E. (2009). Propiedades y aplicaciones de los alcaloides del chocho (lupinus mutabilis Sweet). *INIAP-ESPOCH-SENESCYT*, 133(1), 6-18.
- Wolko, B. (2011). *Lupinus Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Springer Berlin Heidelberg, 153-206.

Yumi Mullo, J. N. (2011). *Determinación de la actividad insecticida de los aceites esenciales de Tagetes minuta, tagetes terniflora y Tagetes zipaquirensis en Brevicoryne brassicae.*
[Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo].

ANEXOS

Anexo 1. Mapa de ubicación de la investigación



Fuente: Google Mapa (2022).

Anexo 2. Certificado emitido por la empresa “laVerde”

CERTIFICADO

Yo, Mario Bladimir Laverde Jibaja,, portador de la C.I. 170921696-2 ,Representante Legal de la empresa PEPRONT- LAVERDE., por medio de la presente certifico que las Srtas. **JESSICA PAMELA TANDALLA PILLO**, portadora de la CI **0502640741-1** y **KARINA ROCIO YUGCHA CAPUZ**, portadora de la CI **185006088-8** egresadas de la Universidad Estatal de Bolívar, realizaron su trabajo de investigación dentro de nuestra empresa, la misma que lleva como título “ELABORACIÓN DE UN BIOINSECTICIDA A PARTIR DEL RESIDUO AGROINDUSTRIAL DEL PROCESO DE COCCIÓN DEL CHOCHO (*Lupinus Mutabilis Sweet*), EN LA EMPRESA LAVERDE DE LA CIUDAD MACHACHI, CANTÓN MEJÍA-PICHINCHA”, como parte de nuestro compromiso con el desarrollo de la comunidad.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, autorizando a las interesadas que hagan uso del presente certificado como crea conveniente.



Mario Bladimir Laverde Jibaja
C.I.:1709216962

Anexo 3. Análisis del agua de cocción del chocho



INFORME DE ENSAYO No. 220 e

Solicitado por: Srta. Karina Yugcha
 Dirección: Guaranda

Fecha y hora que ingresa al laboratorio: 20/9/2021 (17H:30) Fecha final de Análisis: 21-26/9/2021
 Muestreo: Srta. Karina Yugcha Fecha y Hora: 20/9/21 (10H:30)

Condiciones ambientales de análisis: T máx: 18°C T mín: 13°C
 Procedencia: Agua Residual procedente de la cocción de chocho

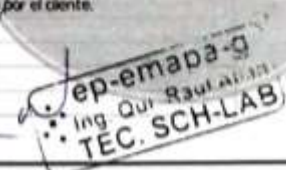
Resultados

Parámetros	Unidad	Método de Ensayo	Límite Máximo Permisible	Resultado	Incertidumbre (K=2)
Arsénico Total (As)	mg/L	AN-EMAPAG-36	0,1	0,01	± 24
Aluminio (Al ⁺⁺⁺)	mg/L	AN-EMAPAG-02	5,0	0,008	± 10
Alcalinidad	mg/L	AN-EMAPAG-45		236,27	± 5
Bario (Ba ⁺⁺)	mg/L	AN-EMAPAG-02	2,0	4,56	± 0,05
Boro (B)	mg/L	AN-EMAPAG-37	2,0	2,09	± 17
Cadmio (Cd)	mg/L	AN-EMAPAG-38	0,02	0,006	
Cianuro (CN ⁻)	mg/L	AN-EMAPAG-04	0,1	0,002	± 29
Cloro Activo (Cl)	mg/L	AN-EMAPAG-39	0,5	< 0,1	± 31
Cloruros (Cl ⁻)	mg/L	AN-EMAPAG-06	1000	40,23	± 20
Conductividad Eléctrica	us/cm	AN-EMAPAG-11		325,08	
Cobalto (Co)	mg/L	AN-EMAPAG-07	0,5	0,07	± 32
Cobre (Cu)	mg/L	AN-EMAPAG-08	1,0	0,006	± 30
Color	PtCo	AN-EMAPAG-10	1/20	95,00	± 22
Cromo (Cr ⁺⁺⁺)	mg/L	AN-EMAPAG-12	0,5	0,006	± 25
DQO	mg/L	AN-EMAPAG-44	200	46,21	± 10
DBO ₅	mg/L	AN-EMAPAG-45	100	22,08	± 28
Estaño (Sn)	mg/L	AN-EMAPAG-40	5,0	0,018	± 11
Escherichia Coli	Col/100 mL	AN-EMAPAG-15	2000	1	
Fluoruros (F)	mg/L	AN-EMAPAG-16	5,0	0,36	± 35
Fósforo Total (P-PO ₄ ³⁻)	mg/L	AN-EMAPAG-17	10,0	22,64	± 20
Hierro Total (Fe)	mg/L	AN-EMAPAG-18	10,0	20,60	± 16
Manganeso Total (Mn ⁺⁺)	mg/L	AN-EMAPAG-19	2,0	2,23	± 30
Níquel (Ni)	mg/L	AN-EMAPAG-21	2,0	0,004	± 26
Nitrógeno Total Kjeldahl	mg/L	AN-EMAPAG-41	50,0	12,35	± 25
Nitrógeno Amoniaco (NH ₃ -N)	mg/L	AN-EMAPAG-24	30,0	2,69	± 29
Plata (Ag ⁺)	mg/L	AN-EMAPAG-27	0,1	0,007	± 38
Piombo (Pb ⁺⁺)	mg/L	AN-EMAPAG-28	0,2	0,006	± 29
PH		AN-EMAPAG-26		5,83	
Sólidos Totales Disueltos (SDT)	mg/L	AN-EMAPAG-29	130	140,68	± 27
Sólidos Totales (ST)	mg/L	AN-EMAPAG-42	1600	1652,00	± 16
Sulfuros (S ²⁻)	mg/L	AN-EMAPAG-43	0,5	0,008	± 34
Sulfatos (SO ₄ ²⁻)	mg/L	AN-EMAPAG-30	1000	3,08	± 31
Temperatura	°C	AN-EMAPAG-31	± 3	13,96	
Tensoactivos	mg/L	AN-EMAPAG-32	0,5	3,63	± 17
Turbiedad	NTU	AN-EMAPAG-33		50,64	
Zinc (Zn ⁺⁺)	mg/L	AN-EMAPAG-34	5,0	0,01	± 5

FUENTE: Texto Unificado de legislación secundaria de medio ambiente, Tabla 9. Límites de descarga a un cuerpo de agua dulce
 El informe sólo afecta a la muestra sometida al ensayo, los datos están relacionados a la solicitud por el cliente.
 Prohibida la reproducción total o parcial sin autorización de la E.P. - EMAPA-G



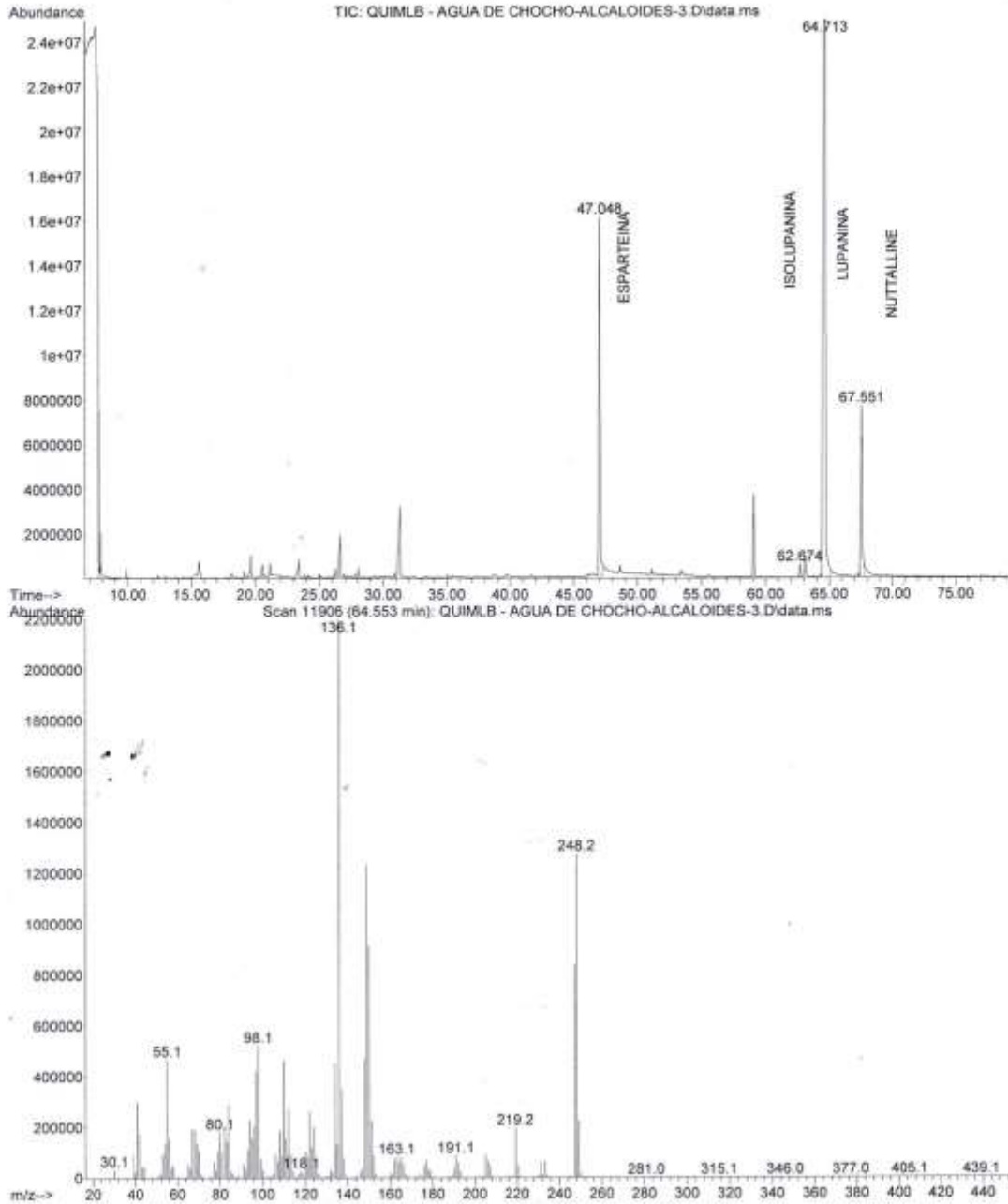
Ing. Qui. Raúl Aguirre
 TÉCNICO LABORATORIO



García Moreno y 7 de Mayo • Teléfono: 03 2 981 939 • Fax: 03 2 985 660

Anexo 4. Cromatogramas del perfil de los alcaloides “QUIMICALABS”

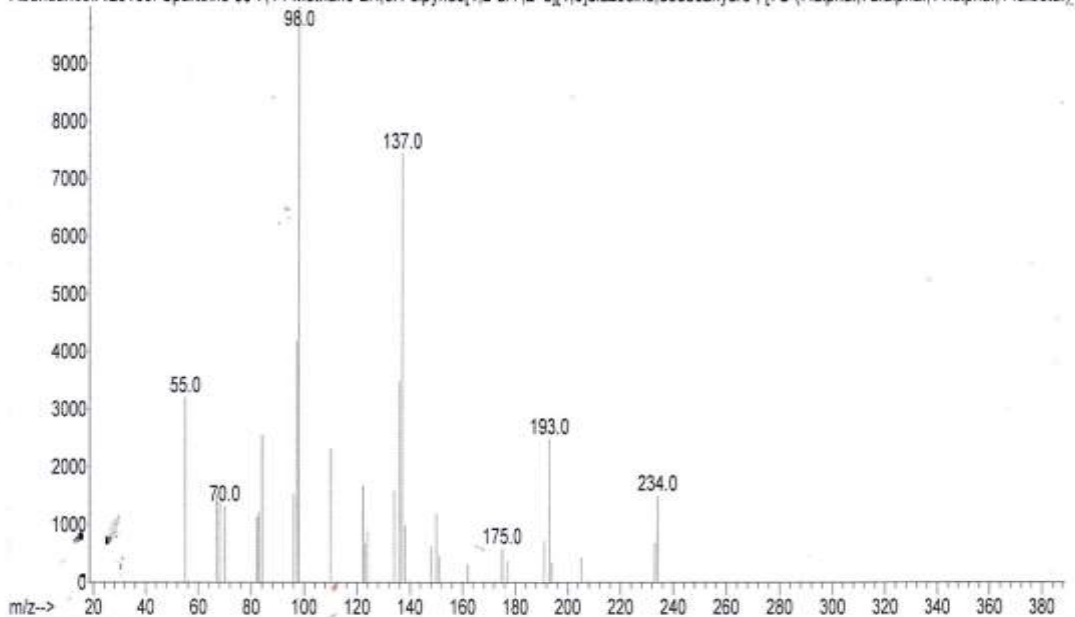
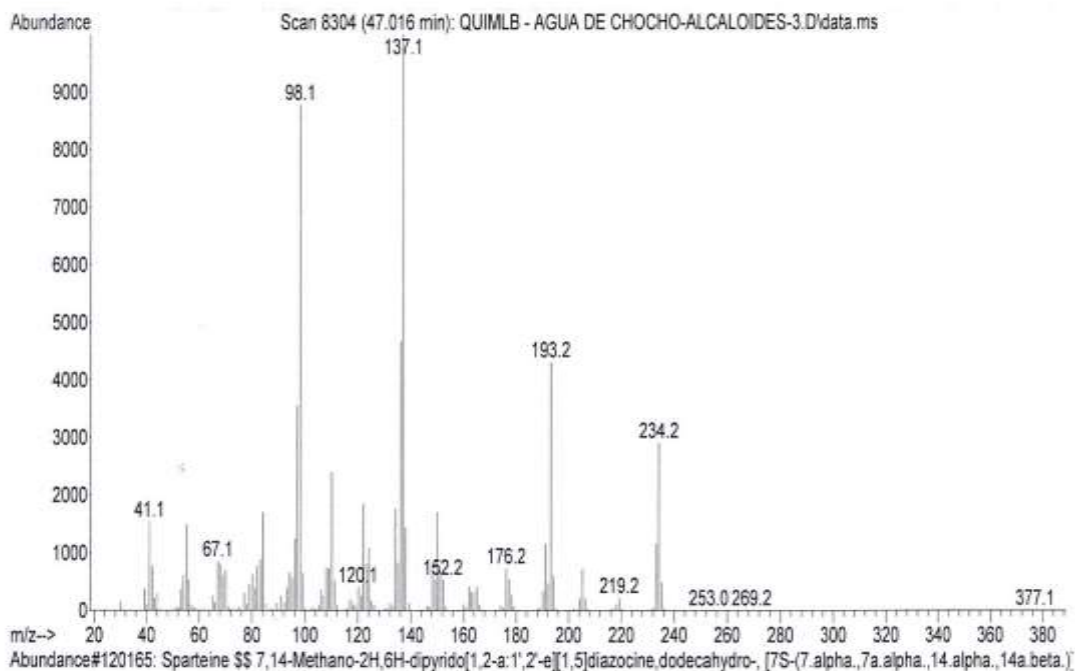
File :D:\DATOS msd\ACEITES ESENCIALES\ALCALOIDES 201206 QUIMLBS EX
... TR 3\QUIMLB - AGUA DE CHOCHO-ALCALOIDES-3.D
Operator : KP
Instrument : GC-MSD KP
Acquired : 6 Dec 2020 11:46 using AcqMethod ACEITES ESENCIALES DB-5.M
Sample Name: QUIMLB - AGUA DE CHOCHO-ALCALOIDES-3
Misc Info : ANALISIS DE ALCALOIDES EN EL EXTRACTO



Library Searched : C:\Database\Wiley275.L

Quality : 99

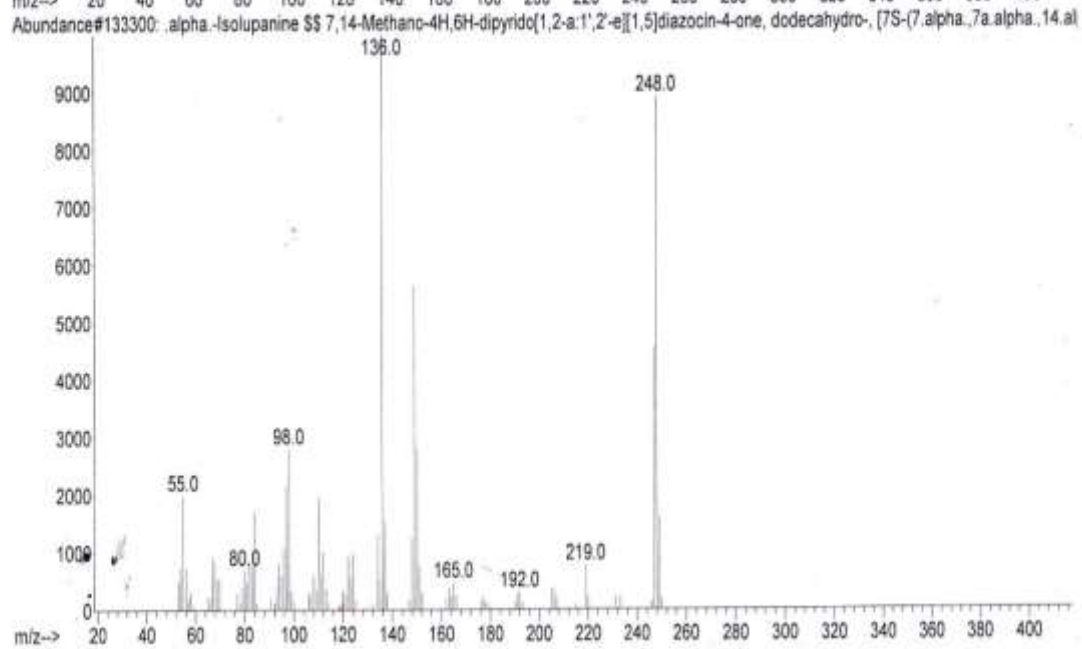
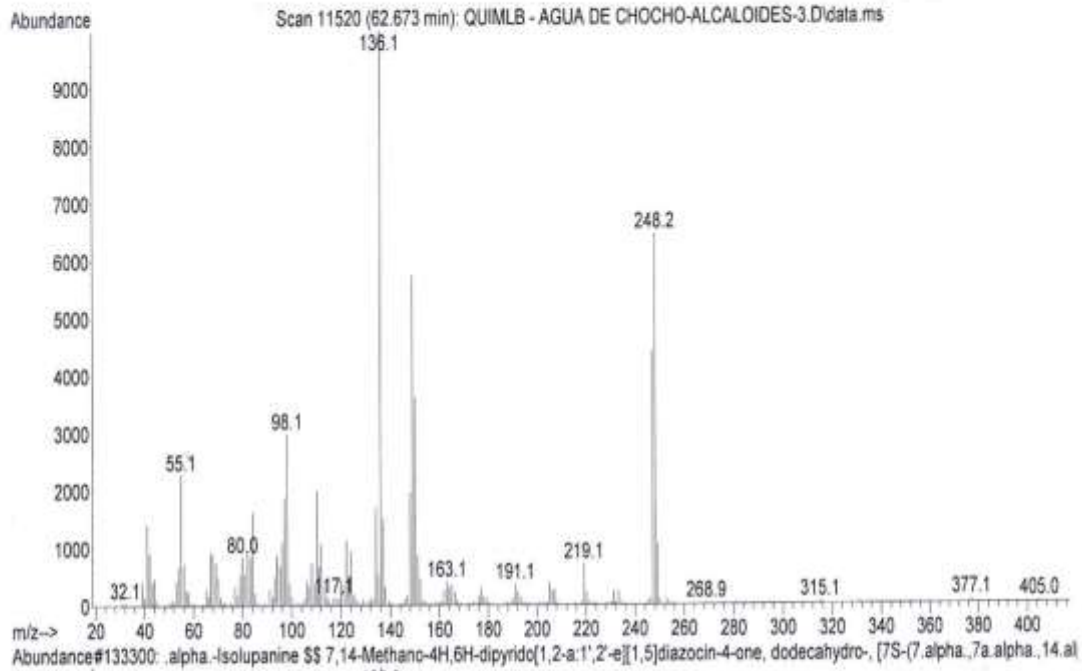
ID : Sparteine \$\$ 7,14-Methano-2H,6H-dipyrido[1,2-a:1',2'-e][1,5]diazocine,dodecahydro-, [7S-(7.alpha.,7a.alpha.,14.alpha.,14a.beta.)]- (CAS) \$\$ 1,9-DIAZATETRACYCLO[10.4.1(3,11).0(4,9)]HEPTADECANE \$\$ Spartein \$\$ Lupinidin \$\$ Lupinidine \$\$ I-Sparteine \$\$ (-)-Sp



Library Searched : C:\Database\Wiley275.L

Quality : 94

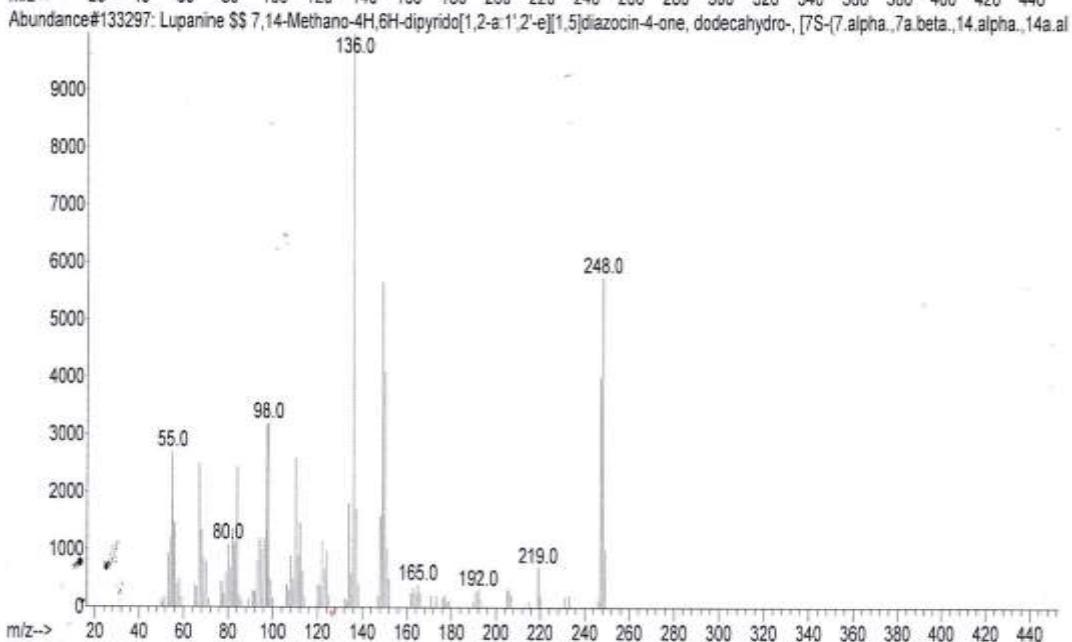
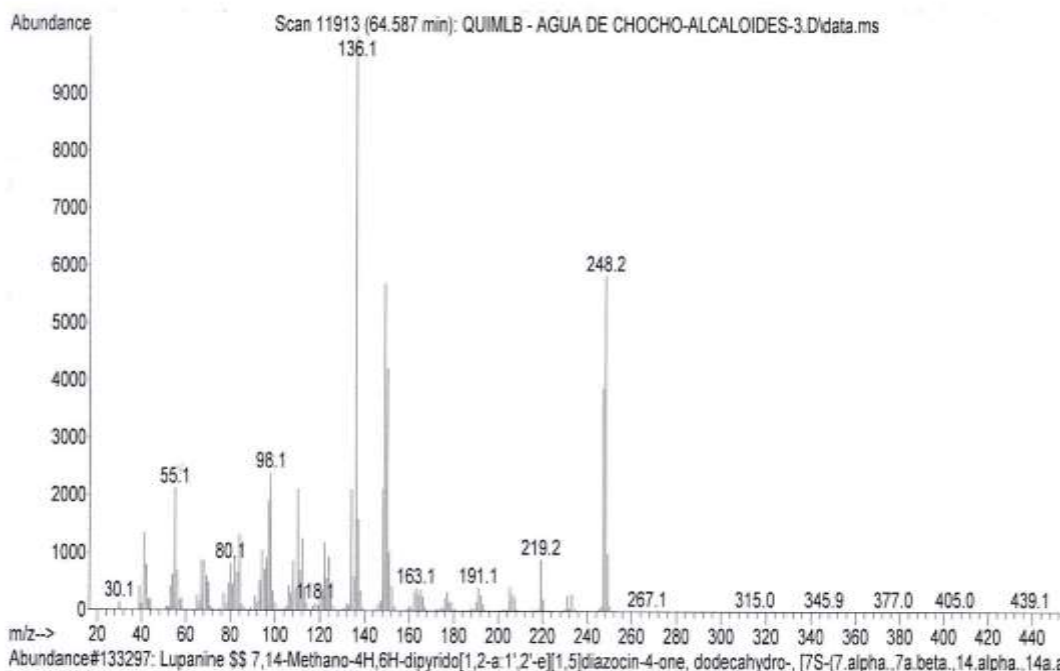
ID : .alpha.-Isolupanine \$\$ 7,14-Methano-4H,6H-dipyrido[1,2-a:1',2'-e][1,5]diazocin-4-one, dodecahydro-, [7S-(7.alpha.,7a.alpha.,14.alpha.,14a.alpha.)]- (CAS) \$\$ Isolupanine \$\$ 11-Isolupanine \$\$.alpha.-Isolupanin \$\$ 4-Oxo-2-isosparteine \$\$ 11-Isolupanine, (+)



Library Searched : C:\Database\Wiley275.L

Quality : 99

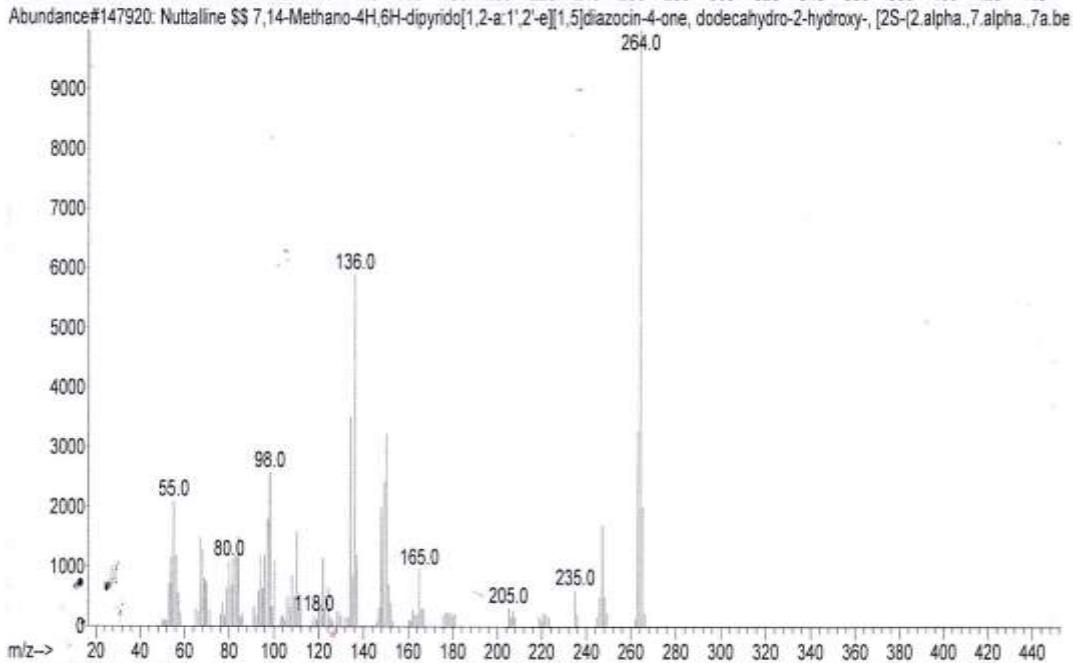
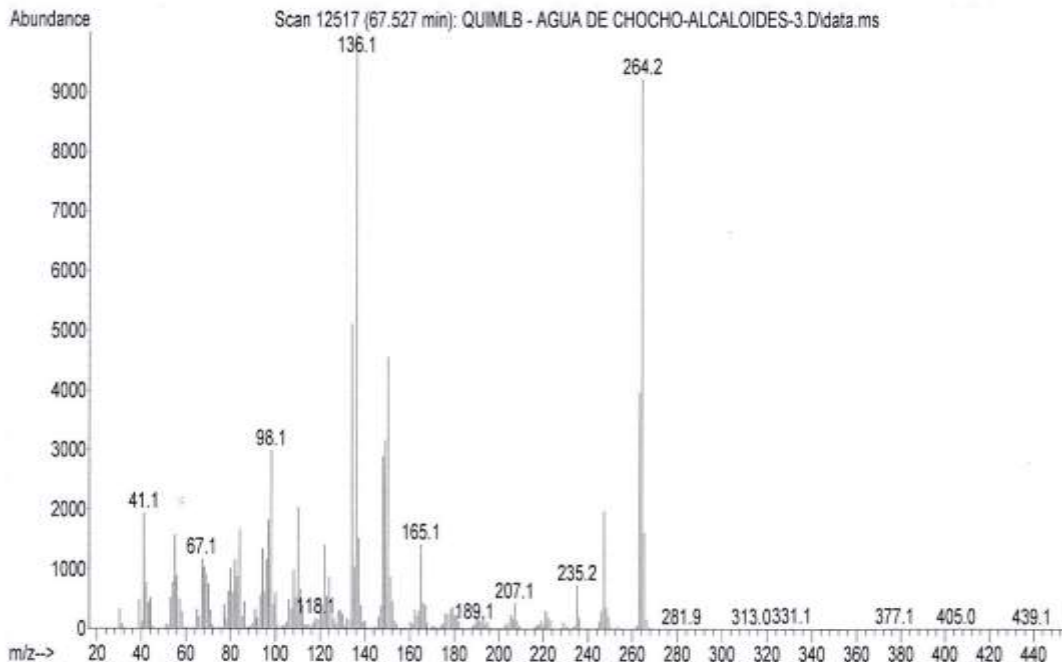
ID : Lupanine \$\$ 7,14-Methano-4H,6H-dipyrido[1,2-a:1',2'-e][1,5]diazocin-4-one, dodecahydro-, [7S-(7.alpha.,7a.beta.,14.alpha.,14a.alpha.)]- (CAS) \$\$ (+)-Lupanine \$\$ 2-Oxosparteine \$\$ Lupanin \$\$ d-Lupanine



Library Searched : C:\Database\Wiley275.L

Quality : 94

ID : Nuttalline \$\$ 7,14-Methano-4H,6H-dipyrido[1,2-a:1',2'-e][1,5]diazocin-4-one, dodecahydro-2-hydroxy-, [2S-(2.alpha.,7.alpha.,7a.beta.,14.alpha.,14a.alpha.)]- (CAS)



Anexo 5. Fotografías del trabajo experimental



Imagen 1. Toma de muestra



Imagen 2. Preparacion de la muestra



Imagen 3. Análisis físico-químicos y microbiológicos del agua de cocción de chocho



Imagen 4. Relación peso (grano /agua) para obtener el agua de cocción de chocho



Imagen 5. Centrifugación



Imagen 6. Filtración



Imagen 7. Pasteurización

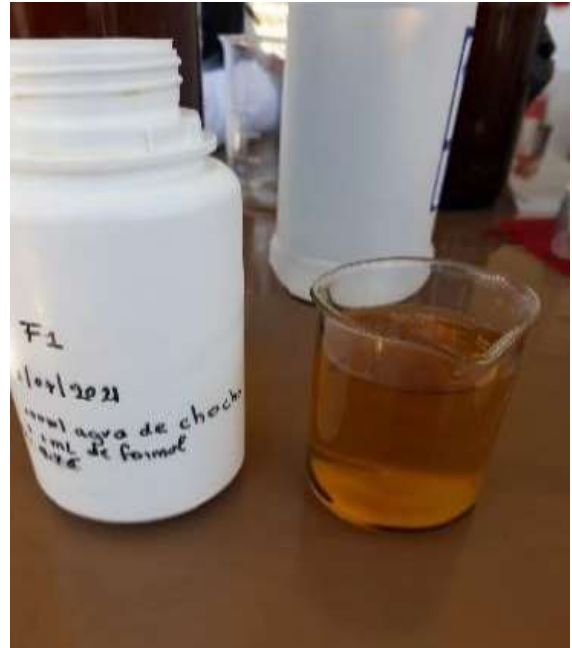


Imagen 8. Proceso de formulación



Imagen 9. Recolección de insectos



Imagen 10. Preparación de dosificaciones



Imagen 11. Colocación de los insectos en los tratamientos



Imagen 12. Conteo de los insectos muertos en cada unidad experimental



Imagen 13. Revisión del trabajo de investigación

GLOSARIO DE TÉRMINOS

- ✓ **Alcaloides:** Sustancias orgánicas nitrogenadas con carácter básico mayoritariamente de origen vegetal con una estructura química compleja que ejercen acciones farmacológicas diversas en pequeñas dosis y poseen, en general, una marcada toxicidad por lo que su rango terapéutico es muy estrecho.
- ✓ **Biopreparados:** son productos elaborados a partir de extractos vegetal o sustancias que ayudan a disminuir los problemas de plagas y enfermedades o mejorar el desarrollo de los cultivos, ya que, según la función, poseen propiedades nutritivas
- ✓ **Chocho:** conocido como lupino, chocho, tarwi (en quechua) o altramuz, es una leguminosa de origen americano, cultivada en los Andes. Su alto contenido de proteínas, similar al de la soja, lo hace una planta de interés para la nutrición humana.
- ✓ **Esparteína:** es un alcaloide aislado de varias plantas de la familia de las fabáceas, pertenecientes a los géneros *Lupinus*, *Cytisus*, *Baptisia*, *Genista*, *Pelargonium*, *Sophora* y *Ammodendron*.
- ✓ **Extracto:** Se obtienen de las diferentes partes de una planta, tienen efecto antimicrobiano, o bien insecticida y/o repelente para ciertas plagas. Son biodegradables, presentan escasa toxicidad y bajo riesgo de generación de resistencia en los organismos afectados.
- ✓ **Insecticida:** compuesto químico que suele utilizarse para eliminar cualquier insecto.
- ✓ **Lupanina:** es una quinolizidina alcaloide de sabor amargo presente en las especies de *lupinus* (altramuces), plantas de la familia *Fabaceae*.

- ✓ **Tratamiento:** Es una combinación de niveles del o los factores aplicados a las unidades experimentales, para poder observar el efecto que estos producen o no sobre la respuesta experimental.