

**DESARROLLO DE UNA PROPUESTA PARA LA PRODUCCIÓN DE UN
BIOCIDA PARTIENDO DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE HOJAS DE
TABACO (*Nicotiana tabacum*) EN EL CONTROL DE *Botrytis cinerea*
(*PILISBOECEA*).**

LAURA ROCIO RODRIGUEZ CHAVES

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2020**

**DESARROLLO DE UNA PROPUESTA PARA LA PRODUCCIÓN DE UN
BIOCIDA PARTIENDO DE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE HOJAS DE
TABACO (*Nicotiana tabacum*) EN EL CONTROL DE *Botrytis cinerea*
(*PILISBOECEA*).**

LAURA ROCIO RODRIGUEZ CHAVES

**Proyecto integral de grado para optar al título de:
INGENIERO QUÍMICO**

Director:

David Leonardo Sotelo Tobon. MSc.

Codirector:

Liliam Teresita Manrique Delgado

Ingeniera Química

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2020**

Nota de aceptación

Firma del jurado

Firma del jurado

Bogotá D.C, octubre 2020

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. MARIO POSADA GARCÍA-PEÑA

Consejero Institucional

Dr. MARIO POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. MARÍA CLAUDIA APONTE GONZÁLEZ

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. RICARDO ALFONSO PEÑARANDA CASTRO

Secretaria General

Dra. ALEXANDRA MEJÍA GUZMÁN

Decano de la Facultad de Ingenierías

Ing. JULIO CÉSAR FUENTES ARISMENDI

Director del Programa de Química

Ing. IVÁN RAMÍREZ MARÍN

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y los docentes no son responsables por las ideas y conceptos emitidos en el presente documento. Estos corresponden únicamente al autor.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	16
OBJETIVOS	17
1. GENERALIDADES	18
1.1 USO DE BIOCIDA	18
1.2 BIOCIDAS VEGETALES	20
1.3 HONGOS	20
1.3.1 Síntomas causados por hongos	21
1.4 <i>BOTRYTIS CINEREA</i>	22
1.4.1 Ciclo de infección de <i>Botrytis cinerea</i>	23
1.4.2 Moho gris o podredumbre gris	25
1.4.3 Métodos de control de <i>Botrytis cinerea</i>	26
1.4.3.1 Control con prácticas culturales	26
1.4.3.2 Control químico	27
1.4.3.3 Control alternativo	28
1.4.3.4 Concentración mínima inhibitoria (CMI)	28
1.4.3.5 Halos de inhibición	28
1.5 MATERIA PRIMA	29
1.5.1 Tabaco	29
2. SELECCIÓN CONDICIONES DE OPERACIÓN	32
2.1 METABOLITOS	32
2.1.1 Metabolismo secundario	32
2.1.2 Metabolito secundario	32
2.2 EXTRACTOS VEGETALES	34
2.2.1 Características de extractos	34
2.2.2 Grupos químicos con acción microbiana aislados de plantas	35

2.2.2.1 Alcoholes	35
2.2.2.2 Fenoles	35
2.2.2.3 Cumarinas	36
2.2.2.4 Alcaloides	36
2.2.2.5 Aldehídos.	36
2.2.3.6 Isoflavonoides	36
2.2.2.7 Quinonas	37
2.2.2.8 Tanoides	37
2.2.2.9 Saponinas	37
2.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE ARTÍCULOS Y ESTUDIOS INVESTIGATIVOS	37
2.3.1 Tipo de publicación	37
2.3.2 Contenido	37
2.4 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS CON PROPIEDADES BIOCIDAS	38
2.4.1 Hidrodestilación	39
2.4.2 Maceración en frío	40
2.4.3 Lixiviación en frío con recirculación	42
2.4.4 Lixiviación con rotavapor	44
2.4.5 Ultrasonido	47
2.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO DE HOJAS DE TABACO (N. TABACUM)	49
2.5.1 Fluidos supercríticos	50
2.5.2 Membranas líquidas de doble soporte	51
2.5.3 Extracción cromatográfica en columna	53
2.6 CRITERIOS DE EVALUACIÓN PARA SELECCIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN	55
2.6.1 Relación material vegetal/solvente	56
2.6.2 Rendimiento teórico de la extracción	56
2.6.3 Solvente	57
2.6.4 Tamaño partícula de la materia prima	57
2.6.5 Tiempo	57
2.6.6 Temperatura	57

3. DISEÑO CONCEPTUAL DE PLANTA PILOTO PARA LA PRODUCCION DEL BIOCIDA	63
3.1 DEFINICIÓN DE LAS ETAPAS DEL PROCESO ESCALA LABORATORIO	63
3.2 DEFINICIÓN DE LAS ETAPAS DEL PROCESO ESCALA PILOTO	64
3.2.1 Balance de materia	68
3.2.1.1 Balance global	68
3.2.1.2 Balance por equipo	70
4. ANÁLISIS DE COSTOS	78
4.1 COSTOS DE MATERIA PRIMA	78
4.2 COSTOS DE EQUIPOS	79
4.3 POSIBLES COSTOS POR GASTO ENERGÉTICO	80
5. CONCLUSIONES	83
6. RECOMENDACIONES	85
BIBLIOGRAFIA	83
ANEXOS	91

LISTA IMÁGENES

	pág.
Imagen 1. Factores necesarios para generar enfermedad.	22
Imagen 2. Ciclo de infección Botrytis.	24
Imagen 3. Ciclo de infección Botrytis cinerea en un viñedo según época del año.	25
Imagen 4. Podredumbre gris en fresa.	26
Imagen 5. Hoja de tabaco seca.	30
Imagen 6. Resultado cromatografía después de 24 horas de extracción.	52

LISTA TABLAS

	pág.
Tabla 1. Toxicidad intrínseca de fungicidas contra <i>Botrytis cinerea</i> y tasas de aplicación.	27
Tabla 2. Metabolitos secundarios producidos por especies vegetales.	33
Tabla 3. Parte de la planta y peso material vegetal.	40
Tabla 4. Marcha fitoquímica de <i>Ruta graveolens</i> , <i>Chrysanthemum morifolium</i> y <i>Nicotiana tabacum</i> .	47
Tabla 5. Contenido de nicotina en diferentes partes de la planta del tabaco, según diferentes autores.	50
Tabla 6. Reporte de compuestos obtenidos en extracciones por fluidos supercríticos.	51
Tabla 7. Comparación métodos de extracción.	58
Tabla 8. Tabla ponderación para selección método de extracción.	60
Tabla 9. Compuestos de las corrientes del diagrama de bloques escala piloto.	67
Tabla 10. Corrientes de entrada y salida para el proceso escala piloto.	69
Tabla 11. Balance de materia para el proceso escala piloto.	77
Tabla 12. Costos materias primas para producción de 63.809,2423 kg de biocida a partir de hojas de tabaco escala piloto.	78
Tabla 13. Costos de equipos para la producción de un biocida partiendo de un extracto etanólico de hojas de tabaco a escala piloto.	79
Tabla 14. Posibles costos por gasto energético para la producción de un biocida partiendo de un extracto etanólico de hojas de tabaco a escala piloto.	80

LISTA GRAFICAS

	pág.
Gráfica 1. Actividad antifúngica de aceites esenciales contra <i>Botrytis cinerea</i> .	39
Gráfica 2. Actividad antifúngica de extractos etanólicos contra <i>Alternaria sp.</i>	41
Gráfica 3. Actividad insecticida de extractos etanólicos contra <i>Haematobia irritans</i> .	43
Gráfica 4. Rendimiento de la extracción en mg de extracto seco/g masa fresca foliar de los exudados obtenidos en 500 mL de los diferentes solventes.	45
Gráfica 5. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de exudados foliares de tabaco (<i>Nicotiana tabacum</i>) contra <i>Xanthomonas campestris (Xc)</i> y <i>Pectobacterium carotovorum (Pc)</i> .	46
Gráfica 6. Actividad antifúngica de extractos obtenidos con diferentes solventes contra <i>Botrytis Cinerea</i> .	48
Gráfica 7. Porcentaje de nicotina obtenido de hojas de tabaco por membranas líquidas de doble soporte.	52
Gráfica 8. Porcentajes de nicotina obtenidos en diferentes proporciones de éter de petróleo y etanol.	53
Gráfica 9. Porcentajes de nicotina obtenidos en los diferentes intervalos de tiempo de extracción.	54
Gráfica 10. Análisis de resultados HPLC de nicotina en extractos obtenidos por extracción cromatográfica en columna.	54

LISTA ECUACIONES

	pág.
Ecuación 1. Ecuación rendimiento teórico en extracciones.	55
Ecuación 2. Ecuación rendimiento teórico escala laboratorio.	64
Ecuación 3. Ecuación rendimiento teórico escala piloto.	65
Ecuación 4. Ecuación balance de materia (Ley de la conservación de la materia).	68
Ecuación 5. Ecuación balance de materia global.	69
Ecuación 6. Ecuación balance de materia molienda.	70
Ecuación 7. Ecuación balance de materia maceración.	71
Ecuación 8. Ecuación balance de materia filtración.	72
Ecuación 9. Ecuación balance de materia evaporación.	73
Ecuación 10. Ecuación balance de materia mezclado.	74
Ecuación 11. Ecuación de la concentración de una disolución.	75
Ecuación 12. Ecuación volumen disolución.	75

LISTA FIGURAS

	pág.
Figura 1. Proceso de obtención de extracto a partir de hojas de tabaco escala laboratorio.	63
Figura 2. Proceso de obtención de extracto a partir de hojas de tabaco escala piloto.	67
Figura 3. Balance materia equipo molienda.	70
Figura 4. Balance materia equipo maceración.	70
Figura 5. Balance materia equipo filtración.	71
Figura 6. Balance materia equipo evaporación.	73
Figura 7. Balance materia equipo mezclado.	74

ABREVIATURAS Y UNIDADES

g Gramos

kg Kilogramos

mg Miligramos

µg Microgramos

L Litros

mL Mililitro

µL Microlitro

p/p Peso/peso

v/v Volumen/volumen

p/v Peso/volumen

mm Milímetro

µm Micrómetros

ha Hectárea

CMI Concentración mínima inhibitoria

h Horas

min Minutos

s Segundos

T Temperatura

kW Kilovatio

kWh Kilovatio hora

RESUMEN

El uso de plantas y frutos que detienen el avance de diferentes tipos de plagas ha sido ampliamente conocido en culturas tradicionales e incluso se mantiene vigente en algunos sectores agrícolas. Algunas de estas plantas como el ají, pimentón, lavanda, romero y orégano¹ son empleados para controlar hongos, ácaros e insectos, nematodos, y plantas del tipo maleza, entre otros. La metodología comercialmente empleada requiere de la aspersión de plaguicidas sintéticos como pesticidas organoclorados, organofosforados, fenólicos y carbamatos; que no solo controlan las plagas sino que también contaminan el producto en sí mismo, como los suelos y aguas aledañas al cultivo, generando riesgo de contacto con el consumidor final.

Por tanto, este proyecto tiene como propósito desarrollar una propuesta para la producción de un biocida de origen natural partiendo de extractos etanólicos de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) para el control de un hongo (*Botrytis cinerea*); dicho proyecto se lleva a cabo revisando material bibliográfico con el fin de identificar las variables que tienen mayor efecto sobre el proceso y así mismo lograr el desarrollo de una propuesta viable y efectiva.

Los estudios realizados se enfocarán en extractos vegetales eficaces que hayan tenido gran impacto biocida contra *Botrytis cinerea*, analizando factores tales como materias primas y cantidades necesarias de la misma, temperatura óptimas, solventes utilizados, operaciones y procesos unitarios, entre otros; permitiendo generar una idea para estructurar el proceso de manera adecuada, describirlo mediante diagramas de bloque, establecer las condiciones específicas de escalamiento a nivel piloto y estimar los costos del producto final.

Los estudios de este proyecto sentarán bases que podrían dar paso a trabajos posteriores aplicando los extractos etanólicos en pruebas *in vivo*.

Palabras clave: Extracto etanólico, Biocida, *Nicotiana tabacum*, *Botrytis cinerea*.

¹ SOYLU, Emine Mine; SOYLU, Soner y KURT, Şener. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. En: International Journal of Food Microbiology. vol. 143, no. 3, p. 183-189

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, Colombia destina aproximadamente el 40,3% de su territorio para la agricultura según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO, como consecuencia, ésta industria aporta el 6,5% de PIB en el país generando un 16,5% de empleo²; con estos datos se hace evidente que el trato de territorios cuya finalidad es obtener productos alimenticios es vital para la economía nacional y su vez, es clara la importancia del uso de plaguicidas para el cuidado y sostenimiento de la industria en juego. Los plaguicidas actualmente registrados en el Instituto Colombiano Agropecuario ICA se han duplicado en los últimos treinta años, pasando de 770 productos con base en 186 ingredientes activos, a 1.370 con base en 400 ingredientes activos; de los cuales se sabe que al menos una quinta parte de estos se encuentran prohibidos o restringidos en otras partes del mundo por razones de salud y/o ambientales³. En Latinoamérica, Brasil y Argentina encabezan la lista de países que más utilizan plaguicidas, causando el 15% de enfermedades según la Organización Panamericana de Salud con el uso de aproximadamente 1.000 millones de toneladas y 300 millones de litros por año, respectivamente, de estos compuestos químicos sobre sus alimentos⁴.

Frente al reto que tienen las empresas dedicadas a la producción de plaguicidas y la problemática en relación, se planteó una propuesta para la producción de un biocida a partir de extractos etanólicos de las hojas de tabaco sobre el hongo *B. Cinerea* y se estudiaron cada una de las variables que podían afectar el proceso. Finalmente se propuso el desarrollo de la creación un producto a escala piloto menos nocivo para la salud generando una nueva manera de tratar cultivos afectados por infecciones y enfermedades causadas por microorganismos.

Por lo anterior, el desarrollo de este proyecto presenta una oportunidad de investigación e innovación en el sector de la agricultura, ya que al diseñar un proceso de obtención de extractos y por consiguiente, un producto fabricado a partir extractos con compuestos activos de plantas que actúan como agentes biocidas, será posible disminuir los impactos sobre la salud humana y generar alternativas amigables con el medio ambiente en el país y probablemente, en el mundo.

² LOZANO GUILLÉN, Carlos A. Anuario Estadístico De La FAO. Primera edición ed. Bogotá: Teoría & Praxis, 2017. 9789585900271

³ ALONZO, German, et al. Semillas en la economía campesina. En: Semillas. vol. 21, p. 1-71

⁴ SACCONI, Valeria. América Latina, Un Continente Infestado Por Los Pesticidas . 2018.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una propuesta para la producción de un biocida partiendo de extractos etanólicos de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) en el control de *Botrytis cinerea* (*pilisboecea*).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer el estado del arte sobre extractos vegetales con propiedades biocidas enfocado en hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*).
2. Seleccionar las condiciones de extracción para la producción del biocida.
3. Establecer las especificaciones técnicas del proceso para la producción del biocida a escala planta piloto.
4. Realizar los costos de producción del biocida.

1. GENERALIDADES

Este capítulo es un análisis del término “biocida”, sustancia utilizada actualmente en la industria agrícola para evitar el crecimiento de microorganismos que afectan diferentes cultivos, muchos de ellos creados y producidos a partir de sustancias químicas altamente tóxicas y perjudiciales para la salud humana, se hace énfasis en los fungicidas puesto que el presente proyecto tiene como objetivo el tratamiento de un hongo. Por otro lado, se describe el microorganismo a tratar, *Botrytis Cinerea* agente causante de la enfermedad “moho gris” o también conocida como “podredumbre gris” en variedad de cultivos; se profundiza en características, efectos causados, mecanismo de acción, controles biológicos y químicos que se le han realizado, entre otros aspectos fundamentales para entender la biología del hongo patógeno a tratar. Así mismo, se brinda una mayor información sobre la materia prima del presente trabajo, hojas de tabaco.

1.1 USO DE BIOCIDA

Se denominan biocidas las sustancias químicas naturales o sintéticas, y métodos de naturaleza física o biológica, que tienen como fin la conservación integral de los alimentos con todas sus características respecto a cantidad, calidad y pureza⁵. Por esa razón se hace indispensable el control cualitativo y cuantitativo, tanto del biocida como del tipo de microorganismo al que se aplique. Su actividad busca destruir, contrarrestar, neutralizar e impedir la acción microbiana o ejercer el control de cualquier especie de organismo nocivo para el objetivo deseado, por medios físicos, químicos o biológicos actuando a nivel de la membrana celular del microorganismo, penetrándola y destruyendo los sistemas que le permiten vivir⁶.

Los biocidas químicos o sintéticos pueden provocar diferentes efectos adversos sobre la salud de las personas, animales o el medio ambiente, pues están diseñados para matar seres vivos, son veneno para la vida.

Sus características son:

- Cuentan con varios puntos de actividad.
- Erradican microorganismos, bacterias, virus y hongos, entre otros tipos de componentes.

⁵ Anónimo. Qué son los biocidas y para qué se utilizan en post-recolección. [Consultado el Apr 12,2020]. Disponible en: <https://www.deccoiberica.es/que-son-los-biocidas-y-para-que-se-utilizan-en-post-recoleccion/>

⁶ RIBAS OZONAS, Bartolomé. Biocidas: Datos Sobre Su Evaluación Para La Salud, Industria Alimentaria E Impacto Ambiental.

- Son muy efectivos aun en bajas concentraciones.
- Efectivos en un amplio rango de pH.
- Muchos de ellos solubles en agua.
- Compatible con otras especies químicas en el medio.
- Son de alta persistencia.
- Son fácil de neutralizar.

Tienen una clasificación según su tipo:

- Biocida físico: Fuentes de radiación de alta energía (luz UV) que oxidan la pared proteica y prácticamente queman el microorganismo.
- Biocida biológico: Sustancias creadas por organismos superiores para autodefensa, generalmente son de tipo proteico y se denominan enzimas.
- Biocida químico: Pueden ser a su vez, inorgánicos o de síntesis orgánica.⁷

Los biocidas se utilizan principalmente para controlar plagas de la agricultura. Las principales plagas o enfermedades agrícolas incluyen: (1) plantas no cultivadas o malezas; (2) insectos, artrópodos y vertebrados que se alimentan de los cultivos, y (3) agentes patógenos, que provocan enfermedades en los cultivos, entre ellos hongos, virus y bacterias. Los tipos más perjudiciales son las malezas, insectos y hongos. La magnitud de pérdidas de producción que pueden ocasionar depende de la plaga, del cultivo y de la región geográfica.

A su vez manejan una clasificación en función de su manera de aplicación, así pues existen:

- De contacto: se aplican en la superficie afectada, no son absorbidos y no tiene implicación en hojas o frutos.
- Sistémicos: a diferencia de los de contacto, estos si llegan al interior del cultivo afectado haciendo poco posible el desarrollo de la enfermedad⁸.

Los usos de este tipo de sustancias tienen gran importancia a nivel económico, pues son alrededor de 2.300 millones de kg de biocidas como fungicidas, insecticidas y herbicidas utilizados anualmente en cultivos alrededor del mundo, esto sin hablar de que es una cifra que al pasar de los años aumentará proporcionalmente con la cantidad de suelos cultivados. Cuando se habla especialmente de fungicidas son necesarios datos de humedad, temperatura, información sobre el nivel de resistencia de cultivos frente a estas sustancias, etc para indicar cuál de los muchos existentes hoy en día debe ser utilizado; la mayoría de ellos provienen de

⁷ Anónimo. ¿Qué es un biocida? Disponible en: https://www.quiminet.com/articulos/que-es-un-biocida-2654322.htm

⁸ Anónimo. Fungicidas. 2019]. Disponible en: <https://www.hablemosdelcampo.com/fungicidas/>

laboratorios reconocidos a nivel mundial y son: Aliette® 80 W, Consentó® 45 SC, Silvacur Combi 30 EC, Verita 71,1 WG, entre muchos otros con ingredientes activos de compuestos químicos de tipo fosfórico, carbamato, triazol y fosfórico, respectivamente⁹.

1.2 BIOCIDAS VEGETALES

En estudios recientes, se ha demostrado que los metabolitos secundarios, obtenidos en extractos de ciertas plantas con propiedades y sustancias antimicrobianas, funcionan como tratamiento inhibitorio sobre patógenos que afectan crecimiento, formación, comportamiento, frutos, hojas y demás características de variedad de cultivos¹⁰.

En la agricultura actual a pesar de no cesar en un cien por ciento el uso de plaguicidas de proveniencia sintética, son miles los estudios y ensayos novedosos con metabolitos secundarios de multiplicidad de plantas medicinales que en mezcla, ya sea con agua, aceite, infusiones y/o emulsiones, han demostrado eficacia a la hora de tratar cultivos con algún tipo de enfermedad causada, tales como: extracto acuoso de pireto, proveniente de flores secas de pireto (*Chrysanthemum cinerariaefolium*)¹¹ perjudicial para plaga de ácaros; extracto acuoso de hojas de tabaco (*Nicotina Tabacum*)¹² tóxico al contacto con insectos; rotenoides provenientes del barbasco (*Lonchocarpus Nicou*) para controlar variedad de plagas¹³; origanum (*Origanum syriacum L. var. bevanii*), lavanda (*Lavandula stoechas L. var. stoechas*) y romero (*Rosmarinus officinalis L.*) en mezcla con agua dispuesta para aspersión muestra control sobre hongos¹⁴, entre otros.

1.3 HONGOS

Son microorganismos productores de esporas, microscópicos, eucarióticos, ramificados y generalmente de carácter filamentosos con ausencia de clorofila y que tienen paredes celulares con quitina, celulosa, o ambos componentes. Son alrededor de 100.000 especies conocidas, la mayoría de ellos saprofitas y viven sobre la materia orgánica muerta que descomponen, son 50 de ellas las que

⁹ Anónimo. Bayer CropScience. Centro América y Caribe. Funguicidas. Disponible en: <https://www.bayercropscience-ca.com/Productos/Funguicidas/Verita.aspx>

¹⁰ SOLANO, Orlando y MOYA, Robinson. Plaguicidas orgánicos, plantas con acción insecticida. p. 1-24

¹¹ *Ibíd.*, p. 12.

¹² *Ibíd.*, p. 12.

¹³ *Ibíd.*, p. 12.

¹⁴ SOYLU, Emine Mine; SOYLU, Soner y KURT, Şener. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. En: International Journal of Food Microbiology. vol. 143, no. 3, p. 183-189

producen enfermedades en el hombre e igual número las que ocasionan enfermedades en los animales.

Sin embargo, 8.000 especies de hongos producen enfermedades en plantas, estas siendo atacadas por algún tipo de hongo, y cada uno de ellos ataca a uno o más tipos de plantas. Su manera de actuar generalmente es después de que encuentran un hospedante adecuado, y posteriormente se reproducen para llevar a cabo así todo su ciclo de vida, llamados “parásitos obligados” o existen aquellos que, solo necesitan un hospedante adecuado por cierto tiempo de su ciclo y bien pueden desarrollarse en materia orgánica muerta o viva, denominados “parásitos no obligados”¹⁵.

1.3.1 Síntomas causados por hongos. Estas pueden ser de tipo local o general causando muerte en el tejido del hospedante (necrosis), atrofia de plantas o de órganos (hipertrofia e hipoplasia) y crecimiento excesivo de alguno de sus órganos (hiperplasia). Entre ellas se encuentran:

- Manchas foliares: células muertas en las hojas.
- Muerte descendente: herida localizada.
- Pudrición de la raíz y/o tejidos: desintegración de la raíz o del tejido.
- Ahogamiento o secadera: colapso rápido de células.
- Pudrición basal del tallo: desintegración de la parte inferior del tallo.
- Pudriciones blandas y pudriciones secas: desintegración de frutos u órganos carnosos.
- Sarna: Apariencia costrosa.
- Decaimiento: crecimiento deficiente de la planta.

Los que se asocian a la hipertrofia o hiperplasia:

- Hernia de las raíces: raíces alargadas en forma de huso.
- Agallas: porciones alargadas de las plantas llenas de micelio.
- Verrugas: protuberancias formadas sobre los tallos o tubérculos.
- Enchinamiento foliar: deformación, engrosamiento de las hojas.
- Escobas de bruja: ramificación hacia arriba en ramas jóvenes.

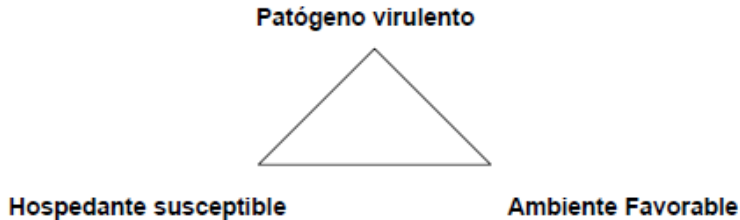
En las enfermedades, el organismo contagioso se desarrolla produciendo diferentes estructuras sobre la superficie de su hospedantes; dichas estructuras, que incluyen al micelio, cuerpos fructíferos y esporas, se les denomina signos y difieren de los síntomas, los cuales sólo se refieren a la apariencia que toman las plantas o sus tejidos cuando han sido infectados.

¹⁵ N. AGRIOS, George. Fitopatología. 2 ed. LIMUSA, 2005.

Para que ocurra una enfermedad se necesitan de tres factores:

Imagen 1. Factores necesarios para generar enfermedad.

Hospedante: Planta.
Patógeno: Agente causante de la enfermedad.
Ambiente: Entorno físico químico.



Fuente: CADENAS, ING. M Sc. Fitopatología general. p. 7.

1.4 *BOTRYTIS CINEREA*

Es un hongo fitopatógeno importante ya que infecta una amplia variedad de plantas haciendo uso de diferentes mecanismos de infección; es el agente causal de la "podredumbre gris". Causa la enfermedad en más de 200 especies vegetales distintas, determinando serias pérdidas económicas antes y después de la recolección de las cosechas y/o frutos. El patógeno puede atacar al cultivo en cualquier estado de desarrollo del mismo y puede infectar cualquier parte de la planta. Debido a la considerable incidencia del patógeno y a las repercusiones económicas que tiene en cultivos de importancia monetaria tales como vid, tomate, fresa, ornamentales y demás; son numerosos los estudios que se han realizado sobre la biología de *Botrytis cinerea*^{16 17}, como la manera de interactuar con los frutos y cultivos, los posibles métodos de control del patógeno, entre otros. La mayor parte de las estrategias de control utilizadas hasta el momento se han basado en el empleo de agentes químicos¹⁸; *Botrytis* puede darse en flores y frutos, particularmente al final de la floración o el momento de maduración del fruto, y, principalmente, en cosechas de exterior expuestas a la lluvia y a la humedad.

Además de ser un patógeno agresivo, *Botrytis cinerea* es un organismo versátil, capaz de crecer y reproducirse en tejidos dañados, senescentes y muertos de la

¹⁶ BENITO,Ernesto P.; ARRANZ,Mónica y ESLAVA,Arturo P. Pathogenicity factors in *Botrytis cinerea*. En: Revista Iberoamericana De Micología. Mar. vol. 17, no. 1, p. S43

¹⁷ GARCÉS DE GRANADA,Emira. Consideraciones sobre *Botrytis cinerea* pers., agente causal de la pudrición de las flores. En: Agronomía Colombiana. Dec 1,. vol. 9, no. 2, p. 196-201

¹⁸ BENITO,Ernesto P.; ARRANZ,Mónica y ESLAVA,Arturo P. Op. Cit., p. S46

fresa, vegetales, y otras plantas. Se reproduce principalmente por medio de esporas asexuales, o conidios¹⁹ generando la conocida enfermedad “podredumbre gris”, que como su nombre lo indica causa pudrición, dificultando la absorción de agua y nutrientes del suelo, estropeando su reproducción con infecciones en los frutos y entorpeciendo el almacenamiento de reservas alimenticias de su hospedador²⁰.

1.4.1 Ciclo de infección de *Botrytis cinerea*. Las esporas de *Botrytis cinerea* pueden ser producidas sobre cualquier material vegetal y transportadas a grandes distancias por corrientes de aire. Una vez que la espora ha alcanzado la superficie del huésped se inicia el ciclo de infección que, para facilitar su descripción y estudio, puede considerarse dividido en varias fases²¹:

1. Adhesión y germinación de esporas en superficie del huésped.
2. Penetración en el tejido vegetal, bien a través de heridas o de aberturas naturales,
3. establecimiento del patógeno en zona de penetración, dando muerte de las células adyacentes al punto de penetración y dando lugar a la formación de una lesión primaria como consecuencia de la expresión de los mecanismos de defensa de la planta, en varios casos se inicia entonces una fase de latencia durante la cual los mecanismos de defensa de la planta parecen controlar al patógeno en zona de necrosis (parte afectada).
4. transcurrido un tiempo, en algunas lesiones primarias el patógeno es capaz de vencer las barreras defensivas de la planta dando paso a la colonización del tejido infectado en un corto tiempo, paso que puede dar lugar a otro ciclo de infección.

Como todos los miembros del género *Botrytis*, la especie *cinerea* actúa como patógeno necrotrofo, infectando los tejidos del huésped e induciendo su necrosis siendo capaz de sobrevivir y formar estructuras de resistencia (esclerocios) en el tejido necrótico generado por la infección²². La *Imagen 2*, resume el ciclo del proceso de infección y algunas de las formas biológicas en las que se puede encontrar el agente fitopatógeno; por otro lado, la *Imagen 3*, resume el ciclo de infección en un viñedo, cultivo que suele afectar con frecuencia.

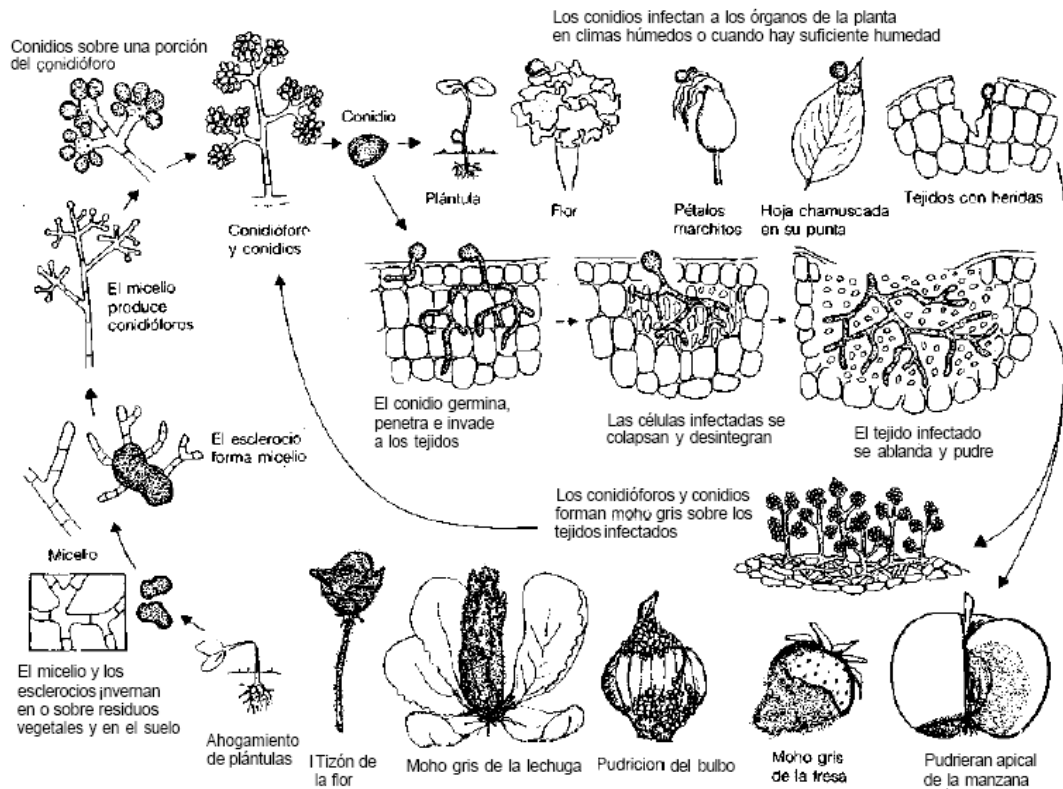
¹⁹ T. KOIKE, Steven y BOLDA, Mark. El moho gris o pudrición de fresa. no. 13,

²⁰ N. AGRIOS, George. Fitopatología. 2 ed. LIMUSA, 2005.

²¹ BENITO, Ernesto P.; ARRANZ, Mónica y ESLAVA, Arturo P. Op. Cit., p. S44

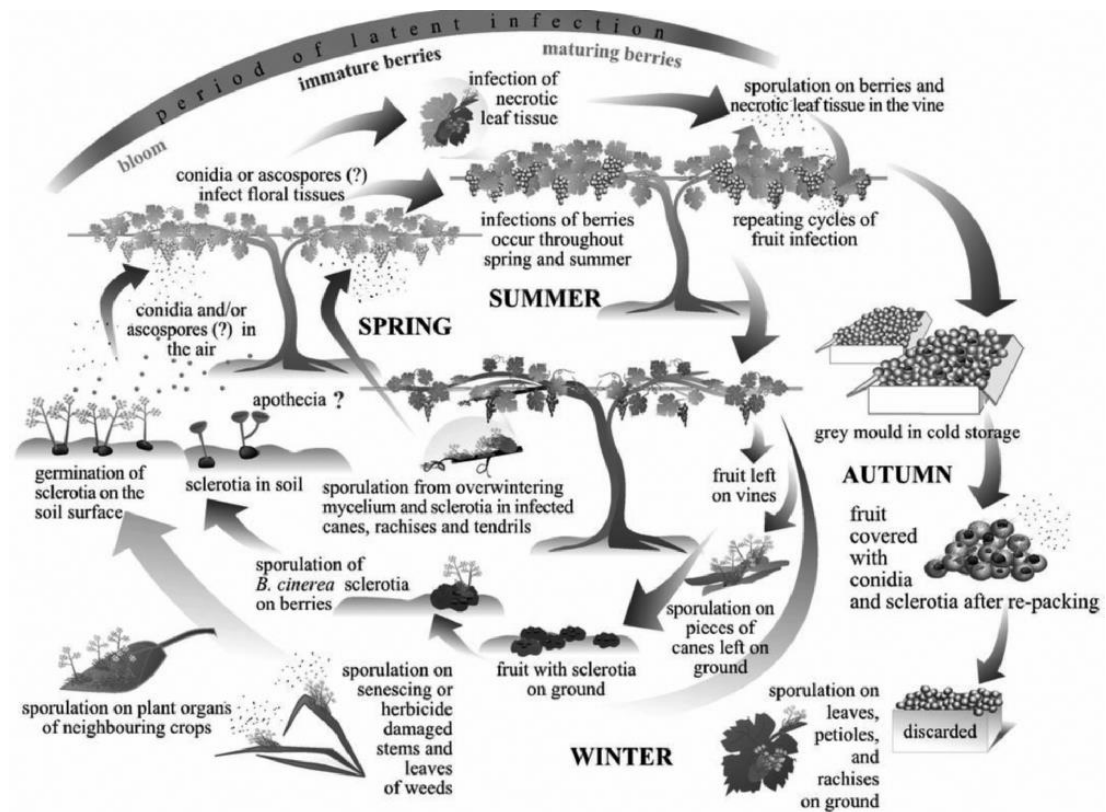
²² CALVO GARRIDO, Carlos, et al. Control De La Podredumbre Por Botrytis Cinerea Mediante La Aplicación De Candida Sake CPA-1 Y Otras Estrategias Alternativas a Los Fungicidas Químicos En Uva De Vinificación. Universitat de Lleida, 2013.

Imagen 2. Ciclo de infección *Botrytis*.



Fuente: CALVO GARRIDO, Carlos, et al. Control de la podredumbre por botrytis cinerea mediante la aplicación de candida sake cpa-1 y otras estrategias alternativas a los fungicidas químicos en uva de vinificación. Universitat de Lleida, 2013. p. 20

Imagen 3. Ciclo de infección *Botrytis cinerea* en un viñedo según época del año.



Fuente: PHILIP A. G, Elmer; THEMIS J, Michailides. Epidemiology of botrytis cinerea in orchard and vine crops. p. 245.

1.4.2 Moho gris o podredumbre gris. El "moho gris" ocasionado por el hongo *Botrytis cinerea*, es una enfermedad de la cual se desconocen muchos aspectos fundamentales. Sin embargo y a pesar de esta carencia de conocimientos, frecuentemente se aplican fungicidas que, muchas veces, no resultan efectivos para el control adecuado de la enfermedad e, incluso, se exagera en uso, lo cual significa un aumento de costos y un efecto en el ambiente.

Esta enfermedad es muy común en muchas flores de exportación, como rosa, clavel, crisantemo, estatices y *gypsophila* y en cultivos como fresa, vid y tomate. En la Sabana de Bogotá, la especie *B. cinerea* presenta una gran variabilidad, tanto morfológica como patogénica y se desarrolla tanto en el campo como en el almacenaje y en tránsito²³.

En cuanto a plantas, el moho gris se manifiesta diversamente dependiendo de la parte infectada y del estado fisiológico del tejido, por ejemplo en hojas nuevas, se

²³ GARCÉS DE GRANADA, Emira. Consideraciones sobre *Botrytis cinerea* pers., agente causal de la pudrición de las flores. En: Agronomía Colombiana. Dec 1, vol. 9, no. 2, p. 196-201

infectan sin mostrar síntomas debido a que el hongo permanece inactivo y/o latente en estos tejidos, cuando las hojas infectadas maduran, el hongo puede activarse y producir una cubierta gris en las partes muertas de la hoja. Por otro lado, la infección en una fruta puede fácilmente extenderse hacia otras frutas cercanas siendo especie de una “anidación” o secuencia pues resulta en agrupaciones o racimos de frutas infectadas. Si se deja en la planta, la fruta infectada se marchitará, volviéndose seca y dura. En la fruta ya cosechada y almacenada en frío, el moho gris puede aparecer más blanco²⁴.

Imagen 4. Podredumbre gris en fresa.



Fuente: INFOAGRO. [en línea]. Prensa InfoAgro, 2016. [Fecha de consulta: 01 julio 2020]
Disponible en línea:
<https://mexico.infoagro.com/podredumbre-gris-en-frutillas-botrytis-cinerea/>

1.4.3 Métodos de control de *Botrytis cinerea*. Con el fin de reducir los daños ocasionados por tal hongo en los cultivos de afectación, se dividen en: Control con prácticas culturales, control químico y control alternativos.

1.4.3.1 Control con prácticas culturales. Lo primordial para la infección siempre es la cantidad de inóculo primario presente, mientras que el factor más importante para el desarrollo del inóculo secundario son las condiciones ambientales. Por esta razón las prácticas culturales están enfocadas a: 1) la reducción inóculo primario, evitando así la formación de inóculo secundario y 2) reducción de la humedad presente. Para la eliminación de fuentes de inóculo secundario puede hacerse de forma manual, aunque por el costo del trabajo requerido, se puede hacer uso de acolchados (elevar temperatura del suelo), así mismo se han estudiado posibilidades de reducción de fuentes mediante la aplicación de chorros de aire

²⁴ T. KOIKE, Steven y BOLDA, Mark. El moho gris o pudrición de fresa. no. 13,

sobre tejidos muertos. Para la reducción de la humedad, las técnicas más utilizadas son el deshojado parcial y ventilación moderada²⁵.

1.4.3.2 Control químico. El control químico sobre *Botrytis cinerea* se centra en reducir la incidencia del moho gris con una de las maneras más comunes de intervención, fumigación aérea²⁶. Algunas de las sustancias químicas utilizadas son:

Tabla 1. Toxicidad intrínseca de fungicidas contra *Botrytis cinerea* y tasas de aplicación.

Fungicida		EC50 (mg/L)			Rango aplicación (g/ha)
Nombre Común	Nombre comercial	Geminación conidios	Crecimiento tubo germinal	Crecimiento micelio	
Diclofuanida	Elvaron, euparen	0,20	0,05	3,00	2.000,00
Folpet	Folpan	3,00	0,40	10,00	1.500,00
Thiram	Pomarsol o Thiram fungicida	1,00	0,10	10,00	2.000,00
Azoxistrobina	Amistar o heritage fungicida	10,00	2,50	10,00	200,00
Boscalid	Endura fungicida	0,50	0,10	0,40	600,00
Carbendazim	Bavistin o derosal fungicida	>10	0,04	0,03	500,00
Dietofencarb	Sumico fungicida (a)	>10	0,08	0,04	500,00
Iprodiona	Kidan o Rovral fungicida	2,00	0,80	0,15	750,00
Procymidona	Sumiclex o Sumilex fungicida	2,50	0,80	0,15	750,00
Fludioxonil	Geoxe o Switch (b) fungicida	0,06	0,015	0,004	500,00
Cyprodinil	Switch (b) o Unix fungicida	0,10	0,01	0,01	375,00
Procloraz	Octave o Sportak fungicida	10,00	0,03	0,10	250,00
Tebuconazol	Folicur o Horizo fungicida	10,00	0,20	0,30	250,00
Fenexamida	Teldor fungicida	10,00	0,05	0,01	750,00
(a) Mezcla de dietofencarb y carbendazim					
(b) Mezcla de fludioxonil y cyprodinil					

Fuente: elaboración propia, con base en PIERRE LEROUX. Chemical control of botrytis and its resistance to chemical fungicides. 2007

²⁵ NG Nair, et al. Significance of carry over inoculum, flower infection and latency on the incidence of in berries of grapevines at harvest in New South Wales. En: Animal Production Science. vol. 35, no. 8, p. 1177-1180

²⁶ LEROUX, Pierre y VIARD, Bruno. Chemical Control of Botrytis and its Resistance to Chemical Fungicides. Latresne: Le Bord de l'Eau, 2007. 9782915651690

Varias de los compuestos presentados en *Tabla 1* se vuelven con el tiempo resistente a *B. cinerea* y algunos otros están prohibidos en ciertos países por las percepciones de seguridad frente a la salud humana.

1.4.3.3 Control alternativo. Se hace necesario el uso de productos que puedan ser utilizados de forma complementaria a los funguicidas reduciendo el impacto tanto ambiental como en la salud. La variedad de métodos alternativos y en desarrollo actualmente proponen el uso de productos naturales o biológicos como estrategias viables con gran potencial y son el objeto de estudio del presente trabajo obteniendo extractos etanólicos de las hojas de tabaco para el posterior tratamiento de *B. cinerea*.

Los dos siguientes términos se definen para hacer más claros los estudios a nivel laboratorio que se tratan en capítulos siguientes:

1.4.3.4 Concentración mínima inhibitoria (CMI). La concentración mínima inhibitoria figura como la concentración de dilución más baja de antimicrobiano en la que no se observa crecimiento bacteriano o del microorganismo durante su incubación en µg/mL o mg/mL. La CMI generalmente es utilizada a nivel laboratorio para confirmar la resistencia, susceptibilidad y/o efectividad de nuevas sustancias antimicrobianas frente a diferentes microorganismos, también se les denomina "patrón oro".²⁷

1.4.3.5 Halos de inhibición. Los halos son un área donde los microbios no pueden crecer debido a la presencia de un fármaco que impide su crecimiento, son generalmente un área presentada en los discos donde se cultivan los microorganismos para posteriores estudios y valoraciones de su comportamiento frente a los antimicrobianos suministrados. De este modo, tras un período de incubación del microbio, el diámetro del halo formado está en relación con el grado de sensibilidad del microorganismo, de esta forma, los halos de inhibición permiten diferenciar los microorganismos sensibles de los resistentes y así se puede establecer una correlación con los valores de CMI: halos pequeños se relacionan con valores altos de CMI (resistentes) y halos grandes con CMI bajas (sensibles)²⁸.

²⁷ ANDREWS, Jennifer M. Determination of minimum inhibitory concentrations. En: Journal of Antimicrobial Chemotherapy. vol. 48, no. suppl_1, p. 5-16

²⁸ CERCENADO, Emilia y SAAVEDRA-LOZANO, Jesús. El antibiograma. Interpretación del antibiograma: conceptos generales (I). En: Anales De Pediatría Continuada. vol. 7, no. 4, p. 214-217

1.5 MATERIA PRIMA

La descripción que se hace de la materia prima utilizada en éste proyecto es con fin de entregar al lector mayor información sobre propiedades y características de la misma y dar razón de por qué la escogencia de ella.

1.5.1 Tabaco. El tabaco es una planta perteneciente a la familia de las solanáceas originaria de América. Su nombre científico es *Nicotiana tabacum* y es una planta anual, de gran tamaño, que llega a alcanzar una altura de aproximadamente de 2 a 3 metros. Generalmente la composición química de la hoja contiene: 90% de agua, y el resto en materia mineral y orgánica; los minerales se encuentran en su mayor parte en las cenizas, excepto el amoníaco y el nitrógeno que son volátiles; los compuestos orgánicos incluyen diversos ácidos: glúcidos, lípidos, resinas, aceites esenciales y amidas (alcaloides) con concentraciones aproximadamente de 0,6-6% de éste último compuesto^{29 30}.

En varias regiones del continente Americano, el tabaco se consideraba sagrado o con fines medicinales; similarmente, en Europa primero se cultivó como planta ornamental con fines medicinales y en el siglo XVI el tabaco se recetaba para numerosas enfermedades pues un médico hispalense llamado Nicolás Monardes (1.508-1.588) fue quien defendió las propiedades curativas de la planta del tabaco, haciendo énfasis en el dolor de cabeza y la curación de heridas; destacó, que aunque en un principio las plantas habían sido traídas para adornar jardines y huertos, poco a poco se fueron conociendo sus capacidades medicinales. En 1.667 aparecen cuatro variedades de los primeros tipos de tabaco cultivados en Norte América: *Betún verde*, *Tomgue*, *Amazón* y *Varinas*³¹.

Se considera materia prima de tipo industrial porque forma parte de un proceso de transformación desde que es cultivado hasta que es empleado en la industria. El tabaco es un cultivo intensivo en mano de obra debido a que requiere, por mínimo, 2.200 horas de trabajo por hectárea, más que cualquier otro tipo de cultivo. Después de su cosecha se realizan diferentes productos como lo son cigarrillos, cigarros, pipas, tabaco en polvo, y rapé³² así mismo tiene diferentes usos según productos procesados, entre esos: fumar, mascar, oler, sahumero, tizana, material para aglomerados, insecticida, bioreactor para la obtención de vacunas y metabolitos secundarios, fabricación de tintas, fabricación de perfumes, moneda y pago de

²⁹ TENA NUÑEZ,Guillermo. Estudios Sobre El Tabaco: Los Alcaloides. p. 1-4

³⁰ AWAD PARADA,Tamar. Arquitectura Industrial Tabacalera En La España Peninsular: Secaderos Y Fábricas. E.T.S. Arquitectura (UPM), 2015.

³¹ *Ibíd.*, p. 13

³² Anónimo. Tabaco . Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/tabaco>

impuestos, símbolo de cortesía, planta ornamental, dentífrico, alimento para caprinos³³.

Imagen 5. Hoja de tabaco seca.



Fuente: Tabacopedia.com [en línea]. Hojas de tabaco clasificación, 2015-2019. [Fecha de consulta: 01 julio 2020] Disponible en línea:

<https://tabacopedia.com/es/tratamientos-del-tabaco/clasificacion-de-las-hojas-del-tabaco/#>

Como todo cultivo, el tabaco depende de las condiciones del ambiente en el que se cultiva; el clima, el suelo, los abonos y la forma de cultivo influyen en la calidad y en factores importantes como: el sabor, el aroma, la combustibilidad, y la riqueza en nicotina. Los tipos de suelos más comunes en las zonas de cultivo de tabaco, son los francos y franco-arenosos, generalmente les falta oxigenación y capacidad de drenaje por eso no son suelos idóneos para cultivos exigentes en nutrientes³⁴.

Colombia produce dos tipos de tabaco: el rubio y el negro. Las características de estos prototipos se diferencian en el nivel de nicotina y en el procesamiento de curado o secado de la hoja de tabaco, pero coinciden en que el cultivo de las distintas hojas, son responsabilidad de mano de obra familiar casi con el 70% del proceso, lo que indica ayuda a generar empleo en el sector³⁵.

En Colombia han sido dos las empresas más importantes procesadoras de tabaco, se trata de Coltabaco, considerado líder del mercado, y Protabaco; su misión siempre se ha sido similar porque ambas tratan el tabaco desde la hoja hasta el cigarrillo; tras casi un siglo de producción han cesado varias de sus actividades

³³ SELLAMEN GARZÓN, Alexander; VERNAZZA PÁEZ, Álvaro y CASTELLANOS SUÁREZ, Caidia. Responsabilidad social empresarial en la industria del tabaco en Colombia. En: Revista CIFE: Lecturas De Economía Social. vol. 16, no. 24, p. 89-118

³⁴ AWAD PARADA, Tamar. Arquitectura Industrial Tabacalera En La España Peninsular: Secaderos Y Fábricas. E.T.S. Arquitectura (UPM), 2015. Op. Cit., p. 29

³⁵ SELLAMEN GARZÓN, Alexander; VERNAZZA PÁEZ, Álvaro y CASTELLANOS SUÁREZ, Caidia. Responsabilidad social empresarial en la industria del tabaco en Colombia. En: Revista CIFE: Lecturas De Economía Social. vol. 16, no. 24, Op. Cit., p. 92

industriales pero no han hecho el cierre total de sus plantas de producción pues están tratando de dejar en manos de reconocidas multinacionales tabacaleras (British American Tobacco y Philips Morris International) todo el proceso de tratamiento de tabaco en Colombia³⁶.

La nicotina si bien es una sustancia nociva para la salud, es un alcaloide que sirve como insecticida vegetal en las hojas de tabaco³⁷, por esta razón muchos de los actuales plaguicidas industriales contienen cierto porcentaje de este compuesto ya que logra combatir plagas y enfermedades en cultivos, siendo de mucha ayuda para llevar a cabo prácticas manufactureras en el campo agricultor. Recopilando tal información y analizando que tan importante puede llegar a ser el buen uso de un metabolito secundario como lo es la nicotina, se procede a indagar sobre el uso y efecto de este compuesto sobre diferentes microorganismos causantes de plagas y enfermedades sobre diferentes cultivos y en otros capítulos, realizar el planteamiento de producción de un biocida vegetal a partir de extractos de las hojas del tabaco.

³⁶ EL TIEMPO, Casa Editorial. El drama de las 2.500 familias afectadas por cierre de Coltabaco. -06-10. [Consultado el Aug 12,2020]. Disponible en: <https://www.eltiempo.com/colombia/otras-ciudades/cierre-de-coltabaco-y-despido-de-trabajadores-en-medellin-y-barranquilla-373394>

³⁷ Anónimo. La nicotina. Disponible en: https://www.pfizer.es/salud/dejar_de_fumar/nicotina.html

2. SELECCIÓN CONDICIONES DE OPERACIÓN

En este segmento del proyecto se aclaran distintos conceptos en relación y se destacan diferentes referencias bibliográficas con el fin de estudiar extractos vegetales que han sido eficaces para el tratamiento de plagas o enfermedades causadas por microorganismos, así mismo, se profundiza en los métodos para la obtención de dichos compuestos teniendo en cuenta los diferentes solventes manipulados en cada uno de ellos y la posible composición química de los extractos obtenidos.

2.1 METABOLITOS

Las rutas del metabolismo primario son similares en todos los organismos vivos pero los vegetales tienen otras vías metabólicas que llevan a la formación de compuestos característicos de un grupo taxonómico y cuya función no guarda relación con los procesos vitales de la célula que los biosintetiza. Estas vías constituyen el metabolismo secundario³⁸ y son las que definen las interacciones de las plantas con el medio ambiente en momentos de estrés o desarrollo (protección frente a depredadores, patógenos, estrés ambiental, atracción de insectos para la promoción de la polinización).

2.1.1 Metabolismo secundario. Son los procesos bioquímicos únicos y exclusivos para una planta en específico y no son universales, tal metabolismo es la química que conduce a la formación de un producto natural y varía de una planta a otra (así sean diferentes plantas o familia de plantas), pues sustancias químicas precursoras comunes pueden conducir a resultados totalmente diferentes³⁹.

2.1.2 Metabolito secundario. Son las moléculas activas generadas y sintetizadas por diversas especies vegetales. Cumplen con roles muy importantes en el reino vegetal pero no son necesarias para el crecimiento y la reproducción de las plantas en general⁴⁰. La *Tabla 2* da ciertos ejemplos de lo anteriormente mencionado.

³⁸ TREJO TAPIA, Gabriela y RODRÍGUEZ MONROY, Mario. La agregación celular en la producción de metabolitos secundarios en cultivos vegetales in vitro. En: *Interciencia*. vol. 32, no. 10, p. 669-674

³⁹ LIZCANO RAMÓN, Andrea Jimena y VERGARA GONZÁLEZ, Jenny Lisseth. Evaluación De La Actividad Antimicrobiana De Los Extractos Etanólicos Y/O Aceites Esenciales De Las Especies Vegetales Valeriana Pilosa, Hesperomeles Ferruginea, Myrcianthes Rhopaloides Y Passiflora Manicata Frente a Microorganismos Patógenos Y Fitopatógenos. 2008. p. 1-131

⁴⁰ *Ibíd.*, p. 26.

Tabla 2. Metabolitos secundarios producidos por especies vegetales.

Compuestos químicos	Producto	Especie vegetal
Alcaloides		
Indólicos	Catarantina, Ajmalicina Quinamina	<i>Catharanthus roseus</i> <i>Cinchona spp.</i>
Isoquinólicos	Berberinas	<i>Berberis spp.</i>
Piridínicos	Nicotina	<i>Nicotiana tabacum</i>
Tropánicos	Hyosciamina, Escopolamina	<i>Hyoscyamus tuberosum</i> <i>Duboisia, Atropa, Datura y Scopolia spp.</i>
Purínicos	Cafeína	<i>Coffea arabica</i>
Otros		
Monoterpenos	Anetol	<i>Pimpinella anisum</i>
Sesquiterpenos	Paniculina Artemisina	<i>Andrographis paniculata</i> <i>Lippia, Artemisia y Datura spp.</i>
Poliacetilenos	Tiofenos	<i>Coreopsis, Bidens y Tagetes spp.</i>
Esteroides	Diosgenina Ginsenósidos	<i>Dioscorea deltoidea</i> <i>Solanum y Panax spp.</i>
Flavonoides	Antocianinas	<i>Vitis vinifera</i>
Antraquinonas	Varios 7-metilpurpurina	<i>Galium mollugo</i> <i>Digitalis y Cassia spp.</i>
Naftoquinonas	Shikonina	<i>Lithospermum erythrorhizon</i>
Lignanós	Etoposido	<i>Podophyllum y Linum spp.</i>

Fuente: TREJO TAPIA, Gabriela y RODRÍGUEZ MONROY, Mario. La agregación celular en la producción de metabolitos secundarios en cultivos vegetales in vitro. En: Interciencia. vol. 32, no. 10, p. 669-674

2.2 EXTRACTOS VEGETALES

Según Ruiz & Susunaga, los extractos vegetales se han definido como un concentrado obtenido por el tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, tales como agua, etanol o éter, entre otros, de elementos solubles, constituido por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca⁴¹. Si bien estos dependen de la materia prima de la que proceden, esto no define su efectividad, pues para la preparación de un extracto hay que realizar dos procedimientos: la obtención y concentración del mismo.

2.2.1 Características de extractos: Dichas características están fundamentadas en estudios realizados por Corpas y Barreto, estos son:

- a. Los extractos bien preparados son de color más o menos oscuros; cuando han sido preparados al vacío, son ligeramente más claros.
- b. Algunos son de color café amarillento, otros rojizos; los extractos provenientes de hojas son verdosos debido a la clorofila.
- c. Su aspecto debe ser liso, fino y homogéneo.
- d. Su olor y sabor son propiedades características de la materia prima que les ha dado su origen. Cuando son mal preparados, adquieren olor a caramelo o confitura poco conocida.
- e. La solubilidad de los extractos es variable y está en relación directa con el tipo de preparación al cual fueron sometidos.
- f. Los extractos acuosos son completamente solubles en agua y producen una solución transparente, algunas veces ligeramente turbia, debido a que han sido preparados con mucha anterioridad.
- g. Los extractos alcohólicos son parcialmente solubles en agua y algunas veces son totalmente insolubles, especialmente los extractos que han sido preparados con alcohol fuerte tienen un excelente índice de disolución, en el mismo título alcoholimétrico del alcohol con el cual han sido preparados.
- h. Los extractos alcohólicos preparados con hojas, dan soluciones coloreadas de verde, pues la eliminación de la clorofila no puede ser total⁴².

⁴¹ RUIZ GIRALDO, Martha y SUSUNAGA SUSUNAGA, Clara. Actividad Antimicrobiana Presente En Partes Aereas De Las Especies *Bursera Simarouba* Y *Bursera Graveolens* (Burseraceas), Frente a Microorganismos Como: *Agrobacterium Tumefaciens*, *Erwinia Carotovora*, *Fusarium Oxysporum*, *Trichoderma Viride* Y *Botrytis Cinerea*. PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA,

⁴² BARRETO B. Juan Felipe. 1997. Efectos Antimicrobianos del diente de león (*Taxaxacum officinale*) y el gualanday (*Jacaranda obtusifolia*) sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* causantes de enfermedades de la piel. Carrera Bacteriología. Facultad Ciencias Básicas. Pontificia

2.2.2 Grupos químicos con acción microbiana aislados de plantas. Son alrededor de unos 1.2000 compuestos los que han sido aislados de plantas vegetales y se estima que, 10% de esta cantidad son metabolitos secundarios⁴³. Hay distintas teorías sobre su objetivo en realidad, pues pueden ser compuestos con variedad de funciones y accidentalmente aportan actividad antimicrobiana o quizá su primer y único objetivo es servir como agente antimicrobiano; si bien aún se desconoce el porqué de estos compuestos, un porcentaje representativo posee actividad antimicrobiana frente a microorganismos. Los grupos químicos que poseen estas características y provienen de plantas son:

2.2.2.1 Alcoholes. Se encuentran sobre todo en los aceites esenciales, por ejemplo, el mentol obtenido de la menta (*Menta piperita*) o la capsaicina proveniente del pimentón rojo o chile (*Capsicum annuum*); los alcoholes libres no están más que en forma de trazas en las plantas vivas y su olor característico les da gran aplicación en la perfumería o como aromatizante.

Los lugares y número de grupos OH están directamente relacionados con la toxicidad frente a los microorganismos, un aumento en la hidroxilación significa un nivel mayor de toxicidad⁴⁴.

2.2.2.2 Fenoles. Los fenoles tienen una actividad fisiológica marcada porque poseen propiedades antisépticas. Son compuestos simples y consisten en un anillo fenólico sustituido. Algunos ejemplos los constituyen el catecol, el pirogalol y los ácidos cinámicos y cafeico; las plantas productoras de compuestos como este son el tomillo, la manzanilla y la gayuba, cuyo principio activo, la arbutina, ha sido utilizada a lo largo de los años en diferentes tratamientos salubres⁴⁵.

Universidad Javeriana. Trabajo de Pregrado. Bogotá D.C. Pág 9, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29. Citado por: LIZCANO RAMÓN, Andrea Jimena y VERGARA GONZÁLEZ, Jenny Lisseth. Evaluación De La Actividad Antimicrobiana De Los Extractos Etanólicos Y/O Aceites Esenciales De Las Especies Vegetales Valeriana Pilosa, Hesperomeles Ferruginea, Myrcianthes Rhopaloides Y Passiflora Manicata Frente a Microorganismos Patógenos Y Fitopatógenos. 2008. p. 1-131

⁴³ LÓPEZ BREA, M. y DOMINGO, D. Plantas con acción antimicrobiana. En: Revista Española De Quimioterapia. vol. 16, no. 4, p. 385-393

⁴⁴ *Ibíd.*, p. 387

⁴⁵ *Ibíd.*, p. 387

2.2.2.3 Cumarinas. Son compuestos derivados de la benzo- α -pirona, como los son la cumarina, la esculetina, la umbeliferona y la escopoletina; presentes en plantas como las margaritas con propiedades antiinflamatorias, antitrombóticas y vasodilatadoras. Su mecanismo de acción antimicrobiano es la interacción con el ADN eucariota, lo que explica también su actividad antiviral⁴⁶

2.2.2.4 Alcaloides. Son sustancias de origen biológico y sobre todo de origen vegetal, siempre contienen carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno, excepcionalmente algunos alcaloides contienen azufre, así pues, reciben el nombre de nitrogenados heterocíclicos. Pertenecen a este grupo, entre otros, sustancias como la morfina, la heroína y la cocaína. El mecanismo de acción de los alcaloides parece ser mediante intercalación entre la pared celular y el DNA del microorganismo⁴⁷

2.2.2.5 Aldehídos. Son derivados de los alcoholes primarios por deshidrogenación. Muchos aldehídos son aromatizantes como la vainilla y el citral. Así mismo este grupo fitoquímico tiene propiedades antisépticas⁴⁸.

2.2.3.6 Isoflavonoides. Actúan como efectivas fitoalexinas, las cuales pueden ser definidas como compuestos antimicrobianos de pequeño peso molecular o metabolitos de estrés biológico, pueden ser constitutivos o también ser inducidos por ataque biológico o heridas. Los flavonoides inhiben la germinación de esporas de hongos y causan daño a los sistemas de membrana. El recubrimiento de algunas semillas y algunas resinas de árboles son particularmente ricas en flavonoides antimicrobianos⁴⁹.

⁴⁶ *Ibíd.*, p. 387

⁴⁷ *Ibíd.*, p. 388

⁴⁸ CAREY, F.A. 2003. *Organic Chemistry*, 5ª ed. McGraw-Hill. Citado por: LIZCANO RAMÓN, Andrea Jimena y VERGARA GONZÁLEZ, Jenny Lisseth. *Evaluación De La Actividad Antimicrobiana De Los Extractos Etanólicos Y/O Aceites Esenciales De Las Especies Vegetales Valeriana Pilosa, Hesperomeles Ferruginea, Myrcianthes Rhopaloides Y Passiflora Manicata Frente a Microorganismos Patógenos Y Fitopatógenos*. 2008. p. 1-131

⁴⁹ LIZCANO RAMÓN, Andrea Jimena y VERGARA GONZÁLEZ, Jenny Lisseth. *Evaluación De La Actividad Antimicrobiana De Los Extractos Etanólicos Y/O Aceites Esenciales De Las Especies Vegetales Valeriana Pilosa, Hesperomeles Ferruginea, Myrcianthes Rhopaloides Y Passiflora Manicata Frente a Microorganismos Patógenos Y Fitopatógenos*. 2008. p. 1-131. *Op. Cit.*, p. 34.

2.2.2.7 Quinonas. Las quinonas son anillos aromáticos, ubicuos en la naturaleza y causantes del color marrón que se produce en las frutas cuando son dañadas. Poseen una alta reactividad, formando complejos con los aminoácidos hidrofílicos de las proteínas, la mayoría de las veces inactivando la proteína y anulando su función. Debido a esto, el potencial antimicrobiano de este grupo es amplio⁵⁰

2.2.2.8 Tanoides. Son sustancias de origen vegetal, no nitrogenadas de estructura polifenólica, solubles en agua, alcohol y acetona. Se han descrito más de 30 taninos que pueden inhibir hongos y bacterias como por ejemplo un tanino presente en el eucalipto, *Eucalyptus globulus*⁵¹.

2.2.2.9 Saponinas. Son los componentes principales de varios extractos de plantas, tienen actividad antiprotozoaria. Las saponinas se unen al colesterol y otros esteroides de la membrana celular de los protozoos causando su inestabilidad, lisis y muerte celular⁵².

2.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN DE ARTÍCULOS Y ESTUDIOS INVESTIGATIVOS

Los criterios de selección de los artículos y estudios seleccionados para el presente proyecto se hicieron en base a los siguientes dos aspectos:

2.3.1 Tipo de publicación.

- Tesis universitarias: Estudios donde se llevaron a cabo prácticas experimentales para la obtención de extractos y se lograron resultados en relación con los objetivos de este proyecto.
- Artículos científicos: Enfocados en la utilización de material vegetal para la obtención de extractos a los que posteriormente se le evaluó actividad antimicrobiana sobre microorganismos.

2.3.2 Contenido.

- Metodología de extracción y obtención extractos: Se hace necesario tener información pertinente sobre métodos, materiales, tiempos, temperaturas, entre otros aspectos y variables.

⁵⁰ LÓPEZ BREA,M. y DOMINGO,D. Op. Cit., p. 387

⁵¹ LÓPEZ BREA,M. y DOMINGO,D. Op. Cit., p. 387

⁵² LÓPEZ BREA,M. y DOMINGO,D. Op. Cit., p. 387

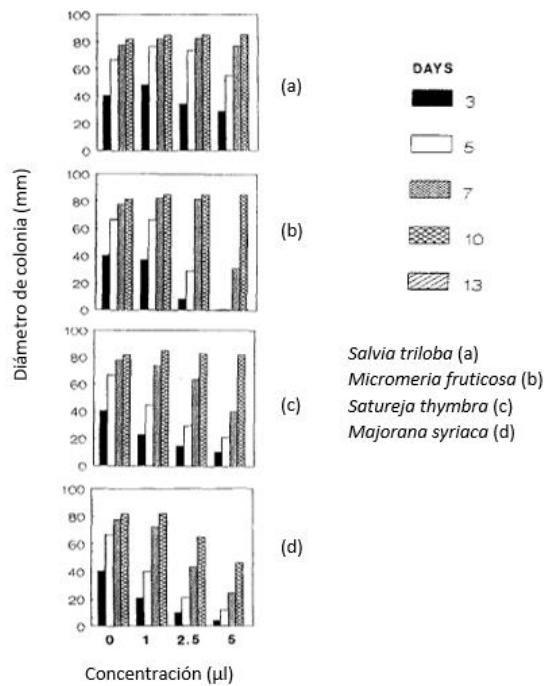
- Utilización de material vegetal: Con enfoque en la realización de un biocida, se estudian variedad de extracciones con diferentes tipos de material vegetal para posteriormente hacer un énfasis en extracciones con hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*).
- Cantidades de materia prima utilizada para realizar el proceso: variable de peso para el planteamiento de la propuesta a escala planta piloto.
- Solventes requeridos: Con el fin de cumplir con el objetivo general de este proyecto se seleccionan artículos donde se utilizó el Etanol, demostrando que las extracciones realizadas con éste solvente logran obtener metabolitos que tienen acción antimicrobiana sobre microorganismos.
- Resultados inhibitorios de extractos vegetales sobre microorganismos: Cada uno de los estudios presentados entrega resultados sobre porcentajes de inhibición sobre microorganismos, con sus respectivos valores para las diluciones o CMI.
- Composición química de los extractos obtenidos: Por cromatografías realizadas en los estudios presentados se evidencia la presencia de compuestos que generan acción antimicrobiana.

2.4 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS CON PROPIEDADES BIOCIDAS

A continuación diferentes extractos que han sido eficientes frente a hongos fitopatógenos u otro microorganismos, puntualizando cantidades de materia prima utilizada, solventes requeridos, métodos de extracción para cada uno de ellos y en general un estudio detallado buscando encontrar cuales serían los materiales y métodos adecuados para generar un biocida vegetal a partir de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) contra *Botrytis cinerea*, teniendo en cuenta qué compuestos químicos son los que tienen actividad microbiana, como se mencionaba anteriormente.

2.4.1 Hidrodestilación. A comienzos de 1.940 se comenzó apoyar a la agricultura con el descubrimiento de extractos con efecto antimicrobiano para la protección de cultivos con aceites esenciales; Shimoni, en su estudio obtuvo extractos de *Majorana syriaca*, *Satureja thymbra*, *Micromeria fruticosa* y *Salvia triloba* para evaluar su actividad microbiana sobre patógenos foliares *Exserohium Turcicum* y *Botrytis cinerea*. La hidrodestilación fue el método empleado por Shimoni para lograr la obtención de los aceites, las concentraciones de los aceites tuvieron valores de 0; 1; 2,5 y 5 μL y la inoculación de *Botrytis cinerea* fue *in vitro* de 3, 5, 7, 10, y 13 días⁵³.

Gráfica 1. Actividad antifúngica de aceites esenciales contra *Botrytis cinerea*.



Fuente: elaboración propia, con base en SHIMONI, M., et al. Antifungal activity of volatile fractions of essential oils from four aromatic wild plants in Israel. En: Journal of Chemical Ecology.

El efecto más significativo fue ejercido por el aceite esencial de *M. Syriaca*, el cual redujo el crecimiento de *B. cinerea* en un 44%⁵⁴ y se cuantificó según los diámetros generados por las colonias que crecieron *in vitro* como se evidencia en la Gráfica 1.

⁵³ SHIMONI, M., et al. Antifungal activity of volatile fractions of essential oils from four aromatic wild plants in Israel. En: Journal of Chemical Ecology. Jun. vol. 19, no. 6, p. 1129-1133

⁵⁴ *Ibid.*, p. 1131

La especie *Majorana syriaca* si bien presenta una actividad eficaz al momento de tratar con *Botrytis cinerea*, es posible que ésta pudiese aumentar, utilizando solventes que posean la capacidad de arrastrar una mayor cantidad de metabolitos secundarios al momento de realizar las extracciones como lo son éter de petróleo, éter dietílico, acetato de etilo o etanol, pues para el caso de éste último solvente, es capaz de extraer isoflavonas y compuestos fenólicos, esto dicho por cromatografías realizadas⁵⁵ y como anteriormente se mencionaba, son compuestos inhibidores de esporas generadas por hongos.

2.4.2 Maceración en frío. Ahora bien, Lizcano & Vergara, teniendo en cuenta la solubilidad de los diversos compuestos presentes en los vegetales utilizados en sus estudios, realizaron extracciones de *Myrcianthes rhopaloides*, *Passiflora manicata*, *Hesperomeles ferruginea* y *Valeriana pilosa* (especies vegetales de fácil acceso en Colombia que para dicho estudio fueron recolectadas en el municipio de Cundinamarca) empleando etanol al 90% de pureza⁵⁶. En principio, la materia prima se adecuó pasando por un lavado con agua, se secó a temperatura ambiente 25 °C y con cortes se disminuyó el tamaño de partícula de las hojas correspondientes para generar uniformidad, posteriormente y con las cantidades de materia prima indicadas en la *Tabla 3* se realizó una maceración fría con el solvente mencionado durante 48 horas, pasado este tiempo, la mezcla se llevó a reflujo a 60 °C durante 4 horas y para terminar, se concentró el extracto a presión reducida con ayuda de un rotavapor y se almacenaron a 4 °C.

Tabla 3. Parte de la planta y peso material vegetal.

Especie vegetal	Parte de la planta	Peso de material vegetal (g)
<i>Myrcianthes rhopaloides</i>	Hojas	220
<i>Passiflora manicata</i>	Hojas	200
<i>Hesperomeles ferruginea</i>	Hojas	200
<i>Valeriana pilosa</i>	Hojas	250

Fuente: LIZCANO RAMÓN, Andrea Jimena y VERGARA GONZÁLEZ, Jenny Lisseth. Evaluación De La Actividad Antimicrobiana De Los Extractos Etanólicos Y/O Aceites Esenciales De Las Especies Vegetales *Valeriana Pilosa*, *Hesperomeles Ferruginea*, *Myrcianthes Rhopaloides* Y *Passiflora Manicata* Frente a Microorganismos Patógenos Y Fitopatógenos. 2008. p. 1-131.

El microorganismo de estudio en este caso, no fue *Botrytis cinerea* pero si *Alternaria sp* que también es un hongo fitopatógeno con características similares al comportamiento de *Botrytis cinerea* sobre los hospedantes que afecta; así pues, se

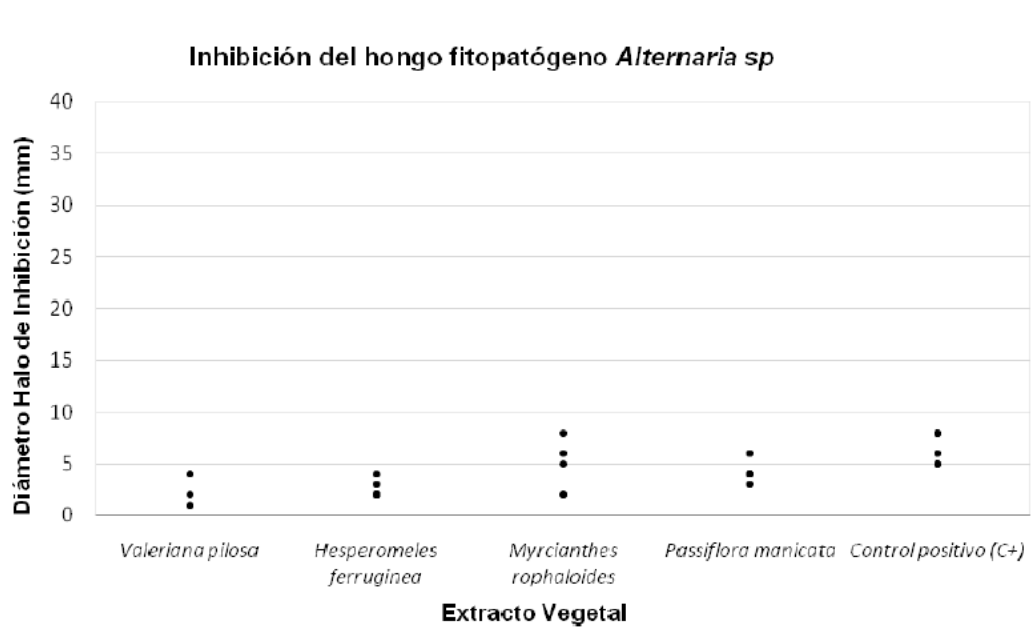
⁵⁵ AL BANDAK, Ghada y OREOPOULOU, Vassiliki. Antioxidant properties and composition of *Majorana syriaca* extracts. En: European Journal of Lipid Science and Technology. Mar 3, . vol. 109, no. 3, p. 247-255

⁵⁶ LIZCANO RAMÓN, Andrea Jimena y VERGARA GONZÁLEZ, Jenny Lisseth. Op. Cit., p 69

analiza la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos sobre *Alternaria sp* para relacionarlo con el comportamiento que quizá pueda tener nuestro microorganismo de interés.

Los ensayos microbiológicos se hicieron por el método de crecimiento radial sobre un medio de agar en caja Petri al igual que en nuestro caso de estudio anterior, esta vez se tomaron solo 10 µL de extracto etanólico hasta una concentración de 30 mg/mL en acetona para cada uno de los ensayos, que para cada materia prima fueron 5 réplicas y se utilizó Cloramfenicol (Cm) como control positivo, dado que es un antibiótico eficaz contra un gran número de microorganismos patógenos aplicado en técnicas *in vitro*. Los resultados de halos de inhibición para *Alternaria sp* se indican en la *Gráfica 2*.

Gráfica 2. Actividad antifúngica de extractos etanólicos contra *Alternaria sp*.



Fuente: LIZCANO RAMÓN, Andrea Jimena y VERGARA GONZÁLEZ, Jenny Lisseth. Evaluación De La Actividad Antimicrobiana De Los Extractos Etanólicos Y/O Aceites Esenciales De Las Especies Vegetales Valeriana Pilosa, Hesperomeles Ferruginea, Myrcianthes Rhopaloides Y Passiflora Manicata Frente a Microorganismos Patógenos Y Fitopatógenos. 2008. p. 1-131

Las cuatro especies vegetales evaluadas en este estudio presentaron actividad microbiana similar al control positivo pues cada una de ellas no supera los 10 mm de inhibición tal cual como lo hace el antibiótico empleado, lo que indica que los extractos etanólicos vegetales quizá necesiten una mayor concentración para inhibir un mayor porcentaje de del hongo fitopatógeno, así mismo se aconseja realizar proporciones extracto-acetona prudentes para realizar los ensayos microbiológicos, quizá eso pueda mejorar la actividad microbiana de los extractos etanólicos sobre

este tipo de microorganismo, estrechamente relacionado con el comportamiento de *Botrytis cinerea*.

Cabe resaltar que la especie *Myrcianthes rhopaloides*, que presentó actividad más cercana al control positivo; por múltiples estudios realizados por cromatógrafo de gases, tiene presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas, entre otros⁵⁷.

2.4.3 Lixiviación en frío con recirculación. En el siguiente caso de estudio se analizaran los extractos etanólicos de hojas de tabaco contra *Haematobia irritans* también conocida como la mosca de los cuernos, una plaga que afecta el ganado vacuno. Ramírez, Carrillo & Molano basados en el conocimiento popular acerca de la acción biocida que tienen las especies vegetales *Nicotiana tabacum*, *Brugmansia arborea*, *Sambucus nigra*, *Bidens pilosa* y *Ambrosia cumanenses* (especies vegetales de fácil acceso en Colombia que para dicho estudio fueron recolectadas en los municipio de Tunja y Rondón) decidieron determinar experimentalmente la actividad insecticida sobre tal microorganismo buscando generar un alternativa al uso de plaguicidas sintéticos⁵⁸.

El proceso comenzó adecuando la materia prima al igual que en el caso de estudio de Lizcano & Vergara, a diferencia de que esta vez el método de extracción fue lixiviación en frío y la hojas, se trituraron para lograr un tamaño de partícula uniforme dando paso a una mejor área de contacto hojas-solvente; para ello se empleó una columna de extracción de PVC con mangueras conectadas, conformando un circuito cerrado, que permitió re-utilizar el solvente; las cantidades de producto vegetal utilizadas fueron 200 g de cada una de las plantas, que se colocaron en la columna, ocupando las dos terceras partes de su capacidad; emplearon etanol al 20% y el flujo del solvente se mantuvo durante 24 horas, transcurrido este tiempo se evaporó el solvente con baño maría a 60 °C y se obtuvieron los extractos etanólicos brutos de las especies con compuestos antimicrobianos que posteriormente se conservaron a 4 °C⁵⁹.

Los ensayos insecticidas sobre las moscas se hicieron por aspersion utilizando un atomizador con diluciones proporcionadas de, extracto-agua destilada, para cada grupo de diez moscas; el porcentaje de mortalidad se evaluó por ausencia de

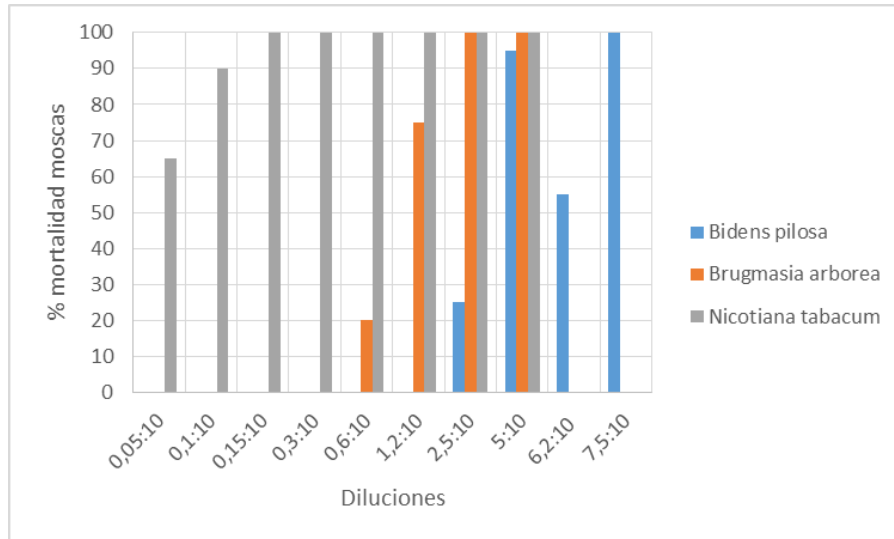
⁵⁷ MALDONADO, María Elena y DACARRO, Cesare. Análisis de la composición del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* (Kunth in H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae, y evaluación de su actividad biológica. En: La Granja. Oct 30,. vol. 6, no. 2, p. 17

⁵⁸ RAMÍREZ A, Mauricio; CRUZ CARRILLO, Anastasia y MOLANO, Carlos Rodríguez. Evaluación preliminar del efecto de los extractos etanólicos de cinco plantas medicinales sobre la mosca de los cuernos *haematobia irritans* L. (diptera: muscidae). En: Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica. Jan 1,. vol. 12, no. 1, p. 69-78

⁵⁹ *Ibíd.*, p. 71

movimiento de las patas y alas al ser tocadas una a una con un objeto de punta roma.

Gráfica 3. Actividad insecticida de extractos etanólicos contra *Haematobia irritans*.



Fuente: elaboración propia, con base en RAMÍREZ A, Mauricio; CRUZ CARRILLO, Anastasia y MOLANO, Carlos Rodríguez. Evaluación preliminar del efecto de los extractos etanólicos de cinco plantas medicinales sobre la mosca de los cuernos *haematobia irritans* I. (diptera: muscidae). En: Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica. Jan 1, . vol. 12, no. 1, p. 73

Según Ramírez, Carrillo & Molano estudios realizados por cromatografía en capa fina con lámina de sílica, por fluorescencia se observaron los compuestos diluidos en los extractos etanólicos obtenidos de hojas de tabaco, así pues, se confirmó poseen componentes activos como nicotina, cumarina, alontaína, pirrolidina, nicotelina, ácido nicotínico y nicotirina, que le confieren efectos narcóticos y alucinógenos, así como el efecto insecticida⁶⁰

Siendo las hojas de tabaco la materia prima de interés para la investigación de este proyecto, centraremos particular atención en los resultados dados para los extractos de la misma. En la *Gráfica 3* se evidencian los resultados de las tres especies vegetales que tuvieron mayor acción antimicrobiana contra *Haematobia irritans*, el tabaco en este caso presenta valores mucho más eficientes ya que para menores valores de dilución (extracto-agua destilada) sus porcentajes de mortalidad son altos con respecto a los demás; lo que nos indica que las demás materias primas necesitan una dilución más concentrada de extracto para lograr un porcentaje mayor de mortalidad.

⁶⁰ *Ibíd.*, p. 71.

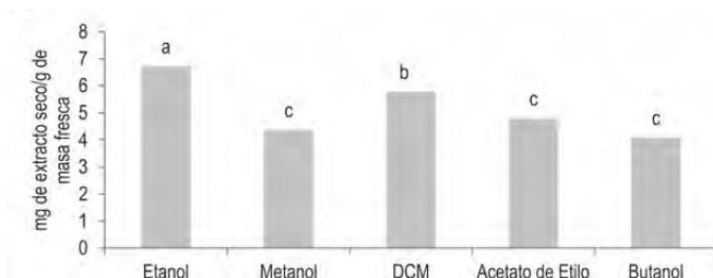
Gracias a este estudio se puede evidenciar el potencial antimicrobiano que poseen las hojas del tabaco debido los metabolitos secundarios que fueron posibles obtener empleando el etanol como solvente, así mismo se evidencia un método de extracción eficaz controlando variables importantes para la obtención de los extractos, sin embargo, se sugiere utilizar temperaturas altas (no mayores al punto de ebullición del solvente) para el proceso de extracción, quizá de esta manera las demás especies vegetales hubiesen presentado mejor porcentaje de mortalidad frente a *Haematobia irritans* extrayendo en una mayor cantidad metabolitos secundarios presentes en las hojas.

2.4.4 Lixiviación con rotavapor. Para Capdesuñer, et al. "las plantas seleccionadas que contengan metabolitos secundarios capaces de ser utilizados como plaguicidas naturales, deben ser de fácil cultivo y con metabolitos secundarios con potente actividad, alta estabilidad química y de óptima producción"⁶¹, este fue el argumento principal para realizar su estudio a partir de hojas de tabaco, pues a partir de sudoraciones y compuestos relacionados con secreción de éstas últimas, que identifica como las responsables de la actividad antimicrobiana; realizaron extractos para combatir dos bacterias fitopatógenos del suelo, *Xanthomonas campestris* y *Pectobacterium carotovorum*, que afectan cultivos de gran importancia como lo son tomate, papa, algodón, zanahoria, cebolla, pimiento, entre otros.

Aproximadamente 60 g de hojas de tabaco fueron remojadas en 500 mL de diclorometano, n-butanol, acetato de etilo, metanol y etanol 90% para su posterior filtración con papel y concentración con rotavapor hasta un volumen de 50 mL; con el fin de determinar la presencia de metabolitos secundarios en los extractos de exudados foliares (secreciones de la hoja) todo esto se corrió en cromatofolios de gel de sílice dando como resultado mayores rendimientos con el uso del etanol 90% (se determinó el rendimiento expresado en mg de masa seca del extracto/g de masa fresca foliar), como se evidencia en la *Gráfica 4*.

⁶¹ CAPDESUÑER, Yanelis Karina, et al. In vitro antibacterial effect of tobacco leaf exudates against two bacterial plant pathogens. En: Revista Colombiana De Biotecnología. Jan 1., vol. 17, no. 1, p. 91-100

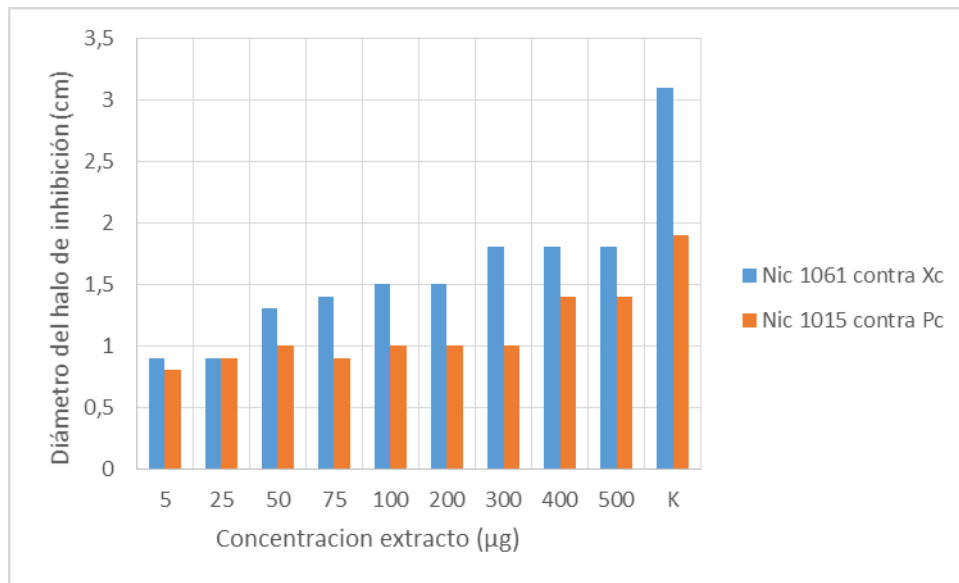
Gráfica 4. Rendimiento de la extracción en mg de extracto seco/g masa fresca foliar de los exudados obtenidos en 500 mL de los diferentes solventes.



Fuente: CAPDESUÑER, Yanelis Karina, et al. In vitro antibacterial effect of tobacco leaf exudates against two bacterial plant pathogens. En: Revista Colombiana De Biotecnología. Jan 1, vol. 17, no. 1, p. 91-100

Después de señalar que el Etanol 90% era el solvente adecuado para la obtención de un mayor porcentaje de extracto y con esto generar el aislamiento de los compuestos deseados (como diterpenos, ésteres de azúcares, ceras y un menor número de compuestos volátiles variados asociados a la actividad microbiana); se realizó el proceso de extracción anteriormente mencionado, con 10 especies de tabaco (CE, SNN, Nic 1017, Nic 1019, BHmN, Nic 1003, Nic 1061, Nic 1015, Nic 1016, Nic 1006 y por último un control positivo con kanamicina, K). Los ensayos microbiológicos se hicieron por el método de difusión en agar usando discos de papel de filtro; 2 de las 10 especies de tabaco presentaron mayor inhibición sobre las dos bacterias a distintas concentraciones de extracto, estas fueron Nic 1061 contra *Xanthomonas campestris* y Nic 1015 contra *Pectobacterium carotovorum*, los resultados medidos en halos de inhibición se muestra en la *Gráfica 5*.

Gráfica 5. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de exudados foliares de tabaco (*Nicotiana tabacum*) contra *Xanthomonas campestris* (Xc) y *Pectobacterium carotovorum* (Pc).



Fuente: elaboración propia, con base en CAPDESUÑER, Yanelis Karina, et al. In vitro antibacterial effect of tobacco leaf exudates against two bacterial plant pathogens. En: Revista Colombiana De Biotecnología. Jan 1, vol. 17, no. 1, p. 99

En la evaluación de los extractos se evidencia una actividad antimicrobiana eficaz, a pesar de ello se considera, tal como en el caso de estudio inmediatamente anterior, el aumento de la temperatura (no mayor al punto de ebullición del disolvente) al realizar las diferentes extracciones, integrar de esta manera las experimentaciones para obtención de los extractos posiblemente genere un mayor efecto sobre las bacterias en discusión; por otro lado, se sugiere el empleo de un vehículo líquido para dar paso a diferentes concentraciones del extracto y evaluaciones de las mismas sobre el microorganismo.

2.4.5 Ultrasonido. Jiménez P & Mosquera M, con el propósito de generar una alternativa para tratar enfermedades causadas por agentes fitopatógenos y a su vez una disminución de costos de producción con un menor impacto ambiental, realizaron un estudio en plantas con metabolitos secundarios que pudiesen tener actividad biológica sobre plagas o inclusive un fortalecimiento estructural en la planta afectada. En este caso obtuvieron extractos a partir de hojas de *R. graveolens*, *N. tabacum* y flores de *C. morifolium* por el método de sonicación con 3 solventes; hexano, diclorometano y etanol con el fin de combatir la enfermedad causada por *Botrytis Cinerea*⁶².

Las extracciones se hicieron con una relación sólido-líquido 1:10 a 20 °C en intervalos de 20 minutos para cada uno y posteriormente fueron llevados a rotavapor con baño térmico a 45 °C y 175 mbar para el etanol, terminado esto los extractos secos se llevaron a -4 °C para su conservación. Para comprobar la caracterización de los diferentes metabolitos se llevó a cabo el método CCD usando placas de sílice gel F254, el resumen de esta caracterización es presentado en la *Tabla 4*.

Tabla 4. Marcha fitoquímica de *Ruta graveolens*, *Chrysanthemum morifolium* y *Nicotiana tabacum*.

Nombre científico	Extracto	Metabolitos Secundarios								
		Alcaloides	Triterpenos y Esteroides	Fenoles	Flavonoides	Taninos	Cumarinas	Lactonas	Saponinas	Amidas
<i>Ruta graveolens</i>	N-Hexano	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	Diclorometano	++	++	+	++	++	++	+	-	+
	Etanol	+	+	-	++	++	++	+	-	-
<i>Chrysanthemum morifolium</i>	N-Hexano	-	++	+	+	+	+	+	++	-
	Diclorometano	+	++	+	+	+	-	-	++	-
	Etanol	-	+	-	++	+	+	-	+	-
<i>Nicotiana tabacum</i>	N-Hexano	++	++	+	-	-	-	++	++	-
	Diclorometano	++	+	-	++	-	+	++	+	+
	Etanol	+	+	-	-	-	+	+	-	-

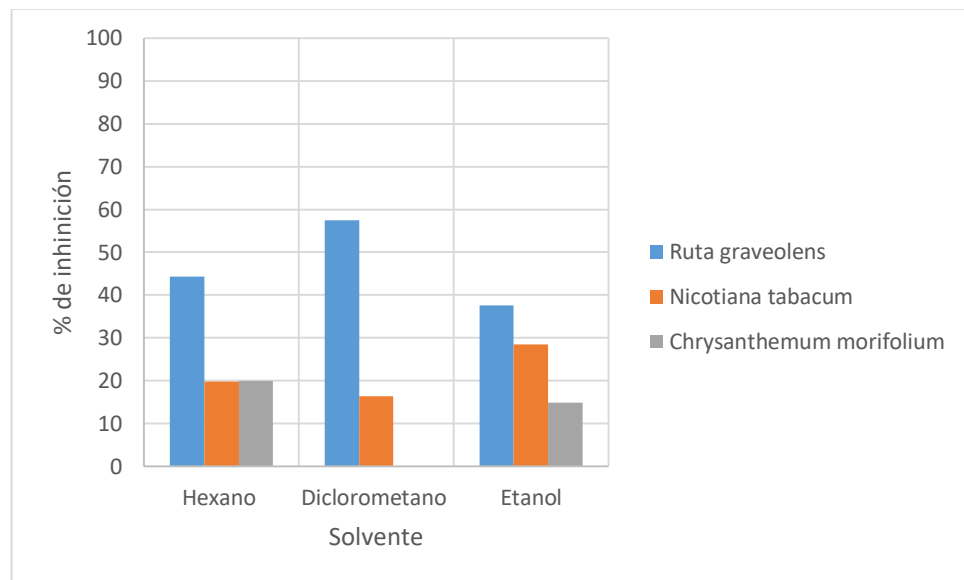
(++) Abundante, (+) Presente, (-) Ausente

Fuente: JIMÉNEZ P, Erika V. y MOSQUERA, Oscar M. Actividad Antifúngica in Vitro De Tres Extractos De Plantas Frente a *Botrytis Cinerea* (Moho Gris). 2014. p. 19.

⁶² JIMÉNEZ P, Erika V. y MOSQUERA, Oscar M. Actividad Antifúngica in Vitro De Tres Extractos De Plantas Frente a *Botrytis Cinerea* (Moho Gris). 2014.

En los ensayos con *N. tabacum* se verificó la abundancia de alcaloides y lactonas, presencia de triterpenos y esteroides, saponinas, cumarinas, flavonoides y amidas; metabolitos secundarios que anteriormente se han puesto en contacto con *Botrytis Cinerea* y han respondido positivamente con acción microbiana. Así pues, los ensayos de microdilución en caldo nutritivo realizados por Jiménez P & Mosquera M tuvieron seis diluciones por extracto, así: 250; 125; 62,5; 31,25; 15,6 y 7,8 µg/mL cada una por triplicado. El análisis de los datos se hizo de manera visual y sus porcentajes de inhibición fueron los representados en la *Gráfica 6*.

Gráfica 6. Actividad antifúngica de extractos obtenidos con diferentes solventes contra *Botrytis Cinerea*.



Fuente: elaboración propia, con base en JIMÉNEZ P,Erika V. y MOSQUERA,Oscar M. Actividad Antifúngica in Vitro De Tres Extractos De Plantas Frente a Botrytis Cinerea (Moho Gris). 2014. p. 19.

Si bien los porcentajes de inhibición son favorables para *Ruta graveolens* con el solvente diclorometano, cuando se hace uso del etanol la acción microbiana de cualquiera de las especies es próspera y para el caso de *N. Tabacum* la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos activos figura con un valor igual a 125 µg/mL.

Se sugiere empleo de otro método de extracción, si bien las extracciones ultrasonido implican un amplio gasto de energía, estas son mayormente utilizadas en extracciones líquido-líquido y quizá para la extracción de metabolitos secundarios provenientes de material vegetal una extracción sencilla sería viable; en suma, el uso del etanol sigue siendo ideal para el propósito del presente proyecto al igual que los componentes del tabaco (*N. tabacum*) para el tratamiento de *Botrytis cinerea*.

2.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO DE HOJAS DE TABACO (*N. TABACUM*)

Se procede a evaluar teóricamente, la posible composición química de extractos a partir de hojas de tabaco con otros estudios en relación y teniendo en cuenta su método de obtención.

Los compuestos bioactivos (metabolitos secundarios) extraídos de frutos, hojas y demás partes de material vegetal tienen diversas funciones biológicas en la prevención y tratamiento de diferentes enfermedades. Dichos compuestos tienen variedad de efectos beneficiosos como lo son: reducción del estrés oxidativo celular, reducción en el desarrollo de tumores, efectos antiinflamatorios y reducción de lipoproteínas de baja densidad. En el caso del tabaco, la nicotina es una 3-(1-metil-2-pirrolidinil) piridina y representa un alcaloide y metabolito secundario principal que se acumula durante el crecimiento de las hojas⁶³.

Según varios autores, el contenido de nicotina en diferentes partes de la planta del tabaco se encuentra como se evidencia en *Tabla 5*.

⁶³ BANOŽIĆ, Marija; BABIĆ, Jurislav y JOKIĆ, Stela. Recent advances in extraction of bioactive compounds from tobacco industrial waste-a review. En: *Industrial Crops and Products*. Feb. vol. 144, p. 112009

Tabla 5. Contenido de nicotina en diferentes partes de la planta del tabaco, según diferentes autores.

Parte planta	Contenido nicotina	Técnica de determinación
Hojas	3 -6,7% ⁶⁴	LC/MS/MS
Residuos de tabaco	2,4–4,3% ⁶⁵	UV/VIS espectrofotometría
Hojas y tallo	0,9–3,6% ⁶⁶	GC/MS
Hojas	2,53% ⁶⁷	HPLC-UV
Hojas	3,26% ⁶⁸	HPLC-UV

Fuente: elaboración propia, con base en BANOŽIĆ, Marija; BABIĆ, Jurislav y JOKIĆ, Stela. Recent advances in extraction of bioactive compounds from tobacco industrial waste-a review. En: Industrial Crops and Products. Feb. vol. 144, p. 112009

2.5.1 Fluidos supercríticos. Partiendo de residuos de la industria del tabaco, el presente estudio pretende hacer un uso alterno e innovador de estos para la obtención de nicotina debido a sus propiedades como antioxidante, antiinflamatorio y antifúngico. Reúne tres métodos de extracción, los cuales son: extracción asistida por ultrasonido, extracción con CO₂ supercrítico y extracción asistida por microondas; en este apartado haremos énfasis en la extracción por fluido supercrítico debido a que es el método que por estudios reportados presenta mejor extracción de nicotina.

Las extracciones con fluidos supercríticos son altamente usadas en la industria debido a que su aplicación ha sido reconocida como “amigable con el medio ambiente” pues reduce la utilización de solventes tóxicos de los procesos, permite una fácil separación de productos y minimiza la producción de subproductos⁶⁹.

En la *Tabla 6* se reportan compuestos obtenidos a partir del método de extracción en juego, así:

⁶⁴ TAYOUB, Ghaleb; SULAIMAN, Huda y ALORFI, Malik. Determination of nicotine levels in the leaves of some *Nicotiana tabacum* varieties cultivated in Syria. En: *Herba Polonica*. vol. 61, no. 4, p. 23-30

⁶⁵ RINCÓN, J., et al. Preliminary Study on the Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Nicotine from Tobacco Wastes. En: *Separation Science and Technology*. Jan 1, vol. 33, no. 3, p. 411-423

⁶⁶ HOSSAIN, Amzad M. y SALEHUDDIN, Syed M. Analytical determination of nicotine in tobacco leaves by gas chromatography–mass spectrometry. En: *Arabian Journal of Chemistry*. Jul. vol. 6, no. 3, p. 275-278

⁶⁷ SVOB TROJE, Z.; FRÖBE, Z. y PEROVIĆ, Đ. Analysis of selected alkaloids and sugars in tobacco extract. En: *Journal of Chromatography A*. vol. 775, no. 1-2, p. 101-107

⁶⁸ RAHARDJO, Andhika Priotomo; FAUZANTORO, Ahmad y GOZAN, Misri. Fractionation and characterization of semi polar and polar compounds from leaf extract *Nicotiana tabacum* L. reflux ethanol extraction results. En: *AIP Conference Proceedings*. Feb 13, vol. 1933, no. 1,

⁶⁹ BANOŽIĆ, Marija; BABIĆ, Jurislav y JOKIĆ, Stela. Op. Cit., p 8

Tabla 6. Reporte de compuestos obtenidos en extracciones por fluidos supercríticos.

Material	Condiciones extracción		Compuesto obtenido
	Tiempo (m)	Temperatura (°C)	
Hojas de tabaco	-	40	Alcaloides, Nicotina
Hojas de tabaco ⁷⁰	-	70	Nicotina
Hojas de tabaco ⁷¹	60	25-60	Solanesol, Nicotina
Residuo hojas de tabaco ⁷²	180-300	50-70	Nicotina

Fuente: elaboración propia, con base en BANOŽIĆ, Marija; BABIĆ, Jurislav y JOKIĆ, Stela. Recent advances in extraction of bioactive compounds from tobacco industrial waste-a review. En: Industrial Crops and Products. Feb. vol. 144, p. 112009

Actualmente el concepto de residuo, como material no útil o desecho, se ha transformado comenzándose a considerar como fuente de materias primas de alto valor material para el desarrollo de nuevos productos, así pues se confirma con este estudio que la obtención de metabolitos de interés con propiedades biocidas es muy posible a partir de la materia prima utilizada en el presente estudio presentándose la extracción por fluidos supercríticos con CO₂ como una alternativa realmente valiosa.

2.5.2 Membranas líquidas de doble soporte. Con el fin de modificar el método tradicional de membrana líquida soportada para mejorar el tiempo de extracción y evitar la evaporación del solvente orgánico utilizado; el sistema de membrana líquida con doble soporte logra resolver el problema al incluir el disolvente orgánico entre dos membranas, sistema que se ha aplicado con éxito a la extracción de nicotina del tabaco⁷³.

El proceso se llevó a cabo con triclorometano como solvente dispuesto en la doble membrana durante 2,5; 6; 12; 18 y 24 horas, para después ser analizados por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) como se evidencia en la *Imagen 6*; del mismo modo, el comportamiento y porcentaje de la nicotina cedida al solvente durante el tiempo mencionado es indicado en la *Gráfica 7*.

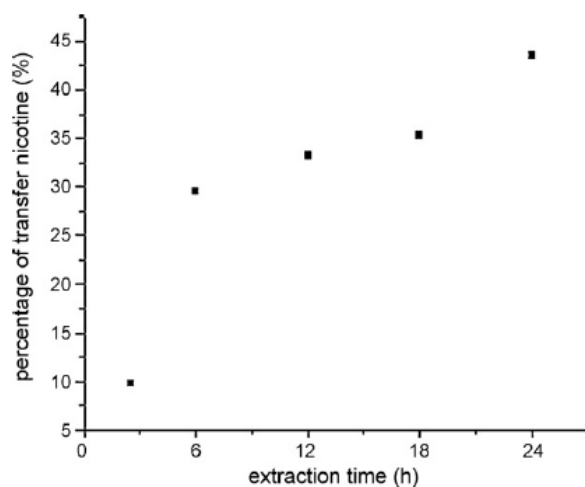
⁷⁰ COFFA, Bonnie G., et al. Chemical, physical, and in vitro characterization of research cigarettes containing denicotinized tobacco. En: Regulatory Toxicology and Pharmacology.

⁷¹ RUIZ RODRIGUEZ, Alejandro; BRONZE, Maria Rosário y PONTE, Manuel Nunes da. Supercritical fluid extraction of tobacco leaves: A preliminary study on the extraction of solanesol. En: The Journal of Supercritical Fluids. vol. 45, no. 2, p. 171-176

⁷² RINCÓN, J., et al. Op. Cit., p 420

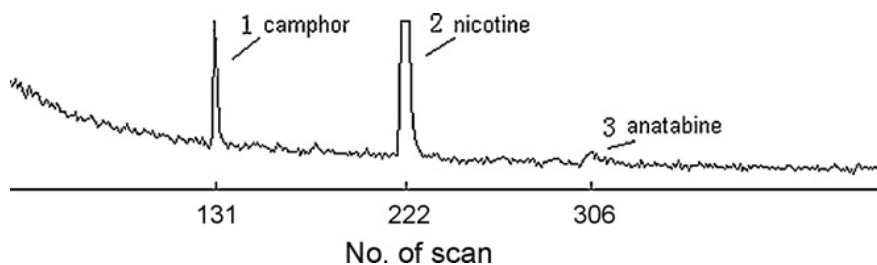
⁷³ GUO, Zhifeng, et al. Extraction of nicotine from local tobacco using double-supported liquid membranes technique. En: Journal of Membrane Science. vol. 356, no. 1, p. 105-109

Gráfica 7. Porcentaje de nicotina obtenido de hojas de tabaco por membranas líquidas de doble soporte.



Fuente: GUO,Zhifeng, et al. Extraction of nicotine from local tobacco using double-supported liquid membranes technique. En: Journal of Membrane Science. vol. 356, no. 1, p. 105-109

Imagen 6. Resultado cromatografía después de 24 horas de extracción.

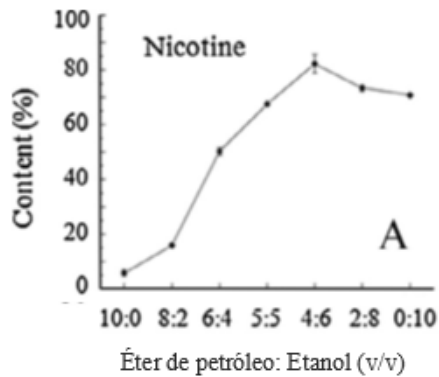


Fuente: GUO,Zhifeng, et al. Extraction of nicotine from local tobacco using double-supported liquid membranes technique. En: Journal of Membrane Science. vol. 356, no. 1, p. 105-109

Así pues el método de extracción de membrana con doble soporte puede proporcionar más estabilidad de extracción junto con un mayor tiempo para la obtención de metabolitos de interés, en este caso nicotina a partir de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*).

2.5.3 Extracción cromatográfica en columna. Al igual que en estudios anteriormente mencionados, a partir de residuos de la industria del tabaco se procede a realizar una extracción cromatográfica en columna seguido de una separación y purificación de nicotina y solanesol. El proceso se llevó a cabo con éter de petróleo y etanol en diferentes diluciones, en una columna de extracción disolviendo los compuestos de interés del material vegetal a temperatura ambiente con tiempos de duración entre 1 a 5 horas, se informó que existe algo de nicotina y solanesol de forma directa en los residuos del tabaco⁷⁴, como se indica en *Gráfica 8* y *Gráfica 9*.

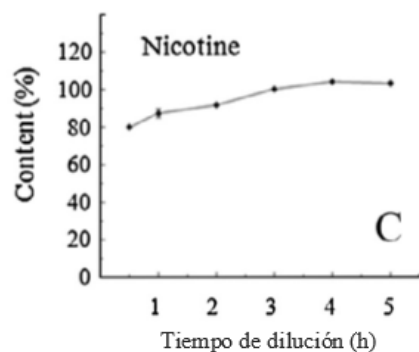
Gráfica 8. Porcentajes de nicotina obtenidos en diferentes proporciones de éter de petróleo y etanol.



Fuente: GUO,Zhifeng, et al. Extraction of nicotine from local tobacco using double-supported liquid membranes technique. En: Journal of Membrane Science. vol. 356, no. 1, p. 105-109

⁷⁴ GUO,Zhifeng, et al. Extraction of nicotine from local tobacco using double-supported liquid membranes technique. En: Journal of Membrane Science. vol. 356, no. 1, p. 105-109

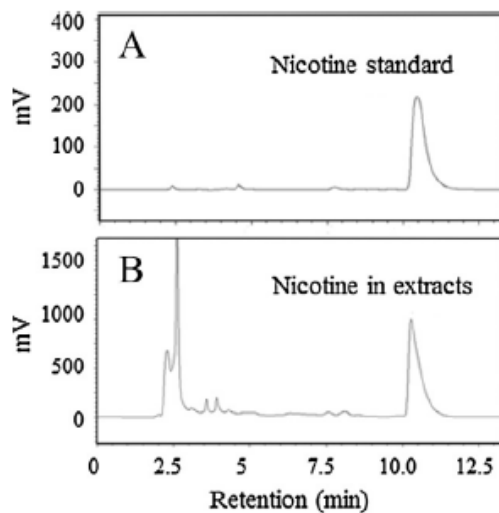
Gráfica 9. Porcentajes de nicotina obtenidos en los diferentes intervalos de tiempo de extracción.



Fuente: GUO,Zhifeng, et al. Extraction of nicotine from local tobacco using double-supported liquid membranes technique. En: Journal of Membrane Science. vol. 356, no. 1, p. 105-109

Así mismo el análisis por cromatografía (HPLC) a partir del patrón estándar de nicotina y los extractos obtenidos se visualizan en Gráfica 10

Gráfica 10. Análisis de resultados HPLC de nicotina en extractos obtenidos por extracción cromatográfica en columna.



Fuente: GUO,Zhifeng, et al. Extraction of nicotine from local tobacco using double-supported liquid membranes technique. En: Journal of Membrane Science. vol. 356, no. 1, p. 105-109

El porcentaje de nicotina presente en los extractos puede variar drásticamente por varios factores o variables presentes en cada uno de los métodos de extracción; los artículos e investigaciones anteriormente presentadas nos hablan de la idealidad del uso de material vegetal, en este caso las hojas de tabaco, como materia prima para generar extractos con efecto biocida sobre microorganismos con un enfoque en el tratamiento del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*; así mismo, recalcan el uso de solventes y proporciones entre los mismos, temperaturas de proceso, cantidades de materia prima, entre muchas otras variables que influyen notoriamente en la obtención de los mismos, así pues, con el fin de seleccionar el método más adecuado para obtención del extracto, en el siguiente apartado se hará énfasis en ciertos criterios para la evaluación de los métodos de extracción, con el fin de seleccionar el más adecuado.

2.6 CRITERIOS DE EVALUACIÓN PARA SELECCIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN

El rendimiento es un factor importante cuando se habla de cualquier proceso, pues indica que tan beneficioso puede ser el realizar cualquier actividad en función de lo que se invierte y obtiene; cuando se habla de extracciones la mayoría de veces la relación es la representada en la Ecuación 1⁷⁵ 76, ésta se profundizará de acuerdo a los procesos mencionados en la sección anterior, pues los ocho expuestos son capaces de extraer metabolitos secundarios de material vegetal, esto evidenciado con estudios por cromatografía antes analizados.

Ecuación 1. Ecuación rendimiento teórico en extracciones.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Cantidad extracto obtenido}}{\text{Cantidad materia prima inicial}} * 100$$

Fuente: elaboración propia, con base en GUARIN LIZARAZO, Laura Katerine. Extracción De Pigmento Rojo De Achiote (Bixa Orellana) Y Oleorresina Roja De Paprika (Capsicum Annum) En La Formulación De Pinturas Para Juguetes De Madera. Fundación Universidad de América, 2019. p. 1-175 y DUEÑAS FLOREZ, Jessica Tatiana. Desarrollo De Un Producto Bioactivo Partiendo De Extractos Vegetales De Especies Alto Andinas. Fundación Universidad de América, 2017. p. 154

⁷⁵ GUARIN LIZARAZO, Laura Katerine. Extracción De Pigmento Rojo De Achiote (Bixa Orellana) Y Oleorresina Roja De Paprika (Capsicum Annum) En La Formulación De Pinturas Para Juguetes De Madera. Fundación Universidad de América, 2019. p. 1-175

⁷⁶ DUEÑAS FLOREZ, Jessica Tatiana. Desarrollo De Un Producto Bioactivo Partiendo De Extractos Vegetales De Especies Alto Andinas. Fundación Universidad de América, 2017. p. 154

La hidrodestilación se analizó con el fin de dar viabilidad a los extractos obtenidos de material vegetal y su eficacia frente al tratamiento de patógenos sin embargo se descartará puesto que es un método de extracción que comúnmente se utiliza para obtención de aceites, no obstante es de gran importancia pues indica que los aceites obtenidos presentan metabolitos de interés y estos a su vez, actividad antimicrobiana. De igual modo, según la literatura en dos ocasiones se hace uso de la lixiviación por lo que se analizará su proceso como uno solo permitiendo abarcar posibilidades de extracción globalmente pero con detalle a la hora de analizar su rendimiento.

Con el objetivo de realizar una selección pertinente del método que será propuesto para la extracción de metabolitos de interés de las hojas de tabaco para su posterior uso contra *Botrytis cinerea*, los métodos de extracción mencionados son sometidos a un proceso comparativo mediante el desarrollo de una tabla teniendo en cuenta seis criterios de selección, estas comparaciones se hacen a partir de fuentes bibliográficas enfocadas en las variables que posiblemente tengan mayor impacto sobre el proceso de extracción relacionándolo con información brindada con anterioridad.

A continuación, la importancia de los criterios en el proceso comparativo:

2.6.1 Relación material vegetal/solvente. Es un indicador del volumen a utilizar del solvente de acuerdo con la cantidad de vegetal disponible; permite visualizar el volumen del solvente requerido para el proceso de extracción y así mismo los costos que este acarrea.

2.6.2 Rendimiento teórico de la extracción. Permite una aproximación del comportamiento del proceso de extracción, asegurando, de cierta manera la obtención del compuesto de interés.

2.6.3 Solvente. Brinda de cierto modo seguridad en el producto final, muchos de los productos utilizados actualmente en la industria son peligrosos y causan graves problemas de salud; de este modo se busca la manera de encontrar uno capaz de estar a fin con los compuestos de interés y que a su vez tenga un impacto positivo con el medio ambiente, siendo estable en condiciones ordinarias de uso y almacenamiento, con biodegradabilidad y evaporación rápida cuando tiene contacto con el suelo, cuando este en contacto con agua se pueda evaporar en un grado moderado y finalmente, cuando se encuentre en la atmosfera, se degrade fácilmente con los radicales hidroxílicos producidos fotoquímicamente esperando su vida media sea de 1 a 10 días.

2.6.4 Tamaño partícula de la materia prima. Facilita el contacto entre el solvente y el soluto, permitiendo así una transferencia de masa eficaz.

2.6.5 Tiempo. Los tiempos de extracción suelen afectar de manera directa la liberación de los compuestos bioactivos, por lo que es necesario la contemplación de tiempos prolongados o cortos.

2.6.6 Temperatura. Se está tratando material vegetal que por lo general se desnaturaliza o pierde sus propiedades a temperaturas mayores de 60°C, igualmente el manejo de solventes implica conocer su punto de fusión y ebullición para evitar pérdidas o mal manejo del mismo.

Tabla 7. Comparación métodos de extracción.

Método	Criterio					
	Relación material vegetal/solvente	Rendimiento teórico de la extracción	Solvente	Tamaño partícula de la materia prima	Tiempo	Temperatura (°C)
Maceración ⁷⁷						
A 500rpm	1:1 (p/p)	37-37,6%	Etanol 98%	Molida	48 horas	35-40
Sin agitación	1:1 (p/p)	32,00%	Etanol 98%	Molida	48 horas	35-40
Lixiviación ⁷⁸						
A 200rpm	1:7 (p/p)	18-20%	Agua	Molida	>5 segundos	37
Ultrasonido ⁷⁹						
150 W -60kHz	1:50 (p/p)	29,50%	n-Hexano	Molida	1 hora y 30 minutos	Ambiente
Fluidos supercríticos ⁸⁰						
Sin agitación	-	-	Etanol	-	60 - 300 minutos	25 - 70
Membranas líquidas ⁸¹						
Sin agitación	1:1 (v/v)	-	Triclorometano	-	24 horas	Ambiente
Extracción cromatográfica en columna ⁸²						
Sin agitación	1:2 (p/v)	-	Éter de petróleo, etanol	Trozos	1 - 5 horas	Ambiente

Fuente: elaboración propia.

⁷⁷ BENÍTEZ BENÍTEZ, Ricardo, et al. Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. En: Revista Facultad De Ciencias Básicas. Mar 24,. vol. 15, no. 1, p. 31-40

⁷⁸ GARCIA MOGOLLON, Carlos; SALCEDO MENDOZA, Jairo y ALVIS BERMUDEZ, Armando. Condiciones óptimas de la etapa de lixiviación en la extracción de almidón de yuca. En: Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial. Jun 1,. vol. 16, no. 1, p. 62-67

⁷⁹ ACOSTA ESQUIJAROSA, Jhoany, et al. Empleo del ultrasonido para la extracción de fracción apolar en hojas de Mangifera indica L. (árbol del mango). En: Revista Cubana De Plantas Medicinales. Sep 1,. p. 261-271

⁸⁰ BANOŽIĆ, Marija; BABIĆ, Jurislav y JOKIĆ, Stela. Op. Cit., p 8

⁸¹ GUO, Zhifeng, et al. Op. Cit., p 108

⁸² GUO, Zhifeng, et al. Op. Cit., p 3

A partir de la información recopilada, los criterios comparados en la *Tabla 7* son evaluados por ponderación con el fin de seleccionar el método adecuado para la obtención de un extracto a partir de las hojas de tabaco que posiblemente tenga efecto inhibitor sobre el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*.

Los criterios tienen un peso entre 1 y 5 puntos, siendo 1 valor para un criterio no tan importante y 5, valor para un criterio de gran influencia en el proceso. Por otro lado y teniendo en cuenta los valores indicador en la *Tabla 7*, cada uno de los criterios es calificado entre 1 y 10 puntos, siendo 10 la calificación máxima y 1, calificación mínima; después de ser calificado cada uno de los aspectos se procede a hacer una ponderación obteniendo un porcentaje alcanzado por cada uno de los métodos de extracción y así, se realiza la escogencia del mismo para obtención del extracto. Dichos resultados se visualizan en *Tabla 8*.

Tabla 8. Tabla ponderación para selección método de extracción.

Criterios		Métodos de extracción						
Descripción	Peso	Maceración		Lixiviación	Ultrasonido	Fluidos supercríticos	Membranas líquidas	Cromatográfica en columna
		A 500 rpm	Sin agitación	A 200 rpm	150 W -60kHz	Sin agitación	Sin agitación	Sin agitación
Relación material vegetal/solvente	4	10	10	7	2	1	10	9
Rendimiento teórico de la extracción	5	10	8	4	7	1	1	1
Solvente	5	10	10	5	7	10	5	8
Tamaño partícula de la materia prima	3	6	6	6	6	1	1	5
Tiempo	3	3	3	8	8	8	5	8
Temperatura	4	10	10	10	10	8	7	7
Total puntos		207	197	155	160	118	116	148
Porcentaje alcanzado		86,25%	82,08%	64,58%	66,67%	49,17%	48,33%	61,67%

Fuente: elaboración propia.

Se propone como método de extracción la maceración con agitación por una ponderación igual a 86,25% sobresaliente con respecto a los demás métodos; en primera instancia, se tiene el criterio de rendimiento que a partir de los valores presentados por distintos autores y la tabla de comparación, se indica con un valor igual a 37%, se presenta como la mejor alternativa de extracción con diferencias de un 8% hasta un 19% frente a los otros métodos.

En consecuencia con los otros criterios apreciados y los valores presentados por los autores en relación con material vegetal/solvente, cinco de los métodos son muy similares exceptuando el baño ultrasonido; sin embargo, como se evidencia, para un rendimiento del 37% de acuerdo con la maceración, ésta debe ser 1:1 (p/p). Así pues se considera viable debido a que cuenta con la menor relación, lo que implica un menor gasto de solvente durante el proceso.

En cuanto a los solventes empleados y los estudios implicados en obtención de extractos, se encuentran: agua⁸³, hexano^{84 85}, etanol^{86 87 88}, diclorometano⁸⁹, n-butanol⁹⁰, acetato de etilo⁹¹, metanol⁹² y éter de petróleo⁹³. Sin dejar de lado la idea de realizar extracciones amigables con el medio ambiente y teniendo en cuenta que, es el solvente menos tóxico empleado después del agua que logra arrastrar consigo metabolitos de interés que tienen efecto inhibitor sobre hongos; se opta por utilización del etanol. Para la maceración se empleó al 98% de pureza, sin embargo, evidenciando el fácil acceso al etanol al 96%, su asequible costo en la industria y su práctico uso para realizar extracciones de sustancias de interés sin alteración alguna⁹⁴, se hará uso de este último.

Por otra parte, se decide tratar el material vegetal con molienda puesto que la maceración así lo indica, reduce el tamaño de partícula para generar una mayor área de contacto entre el vegetal y el solvente; del mismo modo es posible que la agitación igual a 500rpm influya de manera significativa en el incremento del rendimiento de la extracción, de esta manera, se procede a seleccionar estas dos condiciones que beneficiarán el proceso.

⁸³ SHIMONI,M., et al. Op. Cit., p. 1130

⁸⁴ JIMÉNEZ P,Erika V. y MOSQUERA,Oscar M. Op. Cit., p. 18

⁸⁵ ACOSTA ESQUIJAROSA,Jhoany, et al. Op. Cit., p. 266

⁸⁶ LIZCANO RAMÓN,Andrea Jimena y VERGARA GONZÁLEZ,Jenny Lisseth. Op. Cit., p 69

⁸⁷ MALDONADO,María Elena y DACARRO,Cesare. Op. Cit., p. 20

⁸⁸ BENÍTEZ BENÍTEZ,Ricardo, et al. Op. Cit., p. 34

⁸⁹ CAPDESUÑER,Yanelis Karina, et al. . Op. Cit., p. 103

⁹⁰ *Ibíd.*, p. 103

⁹¹ *Ibíd.*, p. 103

⁹² *Ibíd.*, p. 103

⁹³ GUO,Zhifeng, et al. Op. Cit., p 3

⁹⁴ BLOCK,Melissa y RUEDA CEPPI,Claudia. Antioxidantes Naturales. ES: Nowtilus, 2008. 9788497634465

Por último, el tiempo, la temperatura y la presión a la que se planteará la propuesta de extracción por maceración con agitación, será de 48 horas a temperatura promedio entre 35° y 40° C, que son los valores de temperaturas reportados por los autores; es decir, el método de extracción se llevará a cabo a 37,5 ° C; en cuanto a la presión, las referencias bibliográficas no registran valores sobre esta variable lo que supone el proceso se realiza a presión atmosférica para no presentar variaciones en la textura del extracto, 1 atmósfera. Adoptando estas condiciones de operación para la maceración que fue el método de extracción seleccionado, se da paso a la propuesta de extracción piloto con las diferentes etapas del proceso.

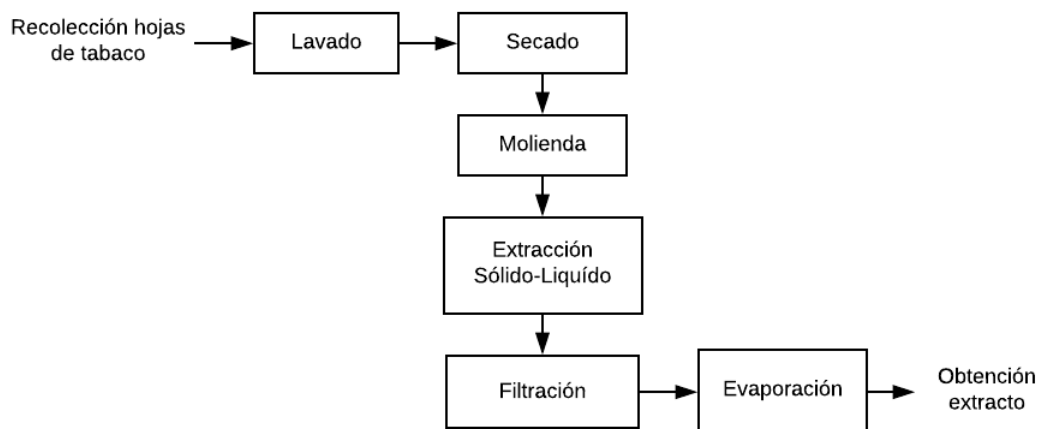
3. DISEÑO CONCEPTUAL DE PLANTA PILOTO PARA LA PRODUCCION DEL BIOCIDA

Debido a la selección del método más apropiado de extracción en capítulos anteriores, en éste se establecen las condiciones y los equipos necesarios para el proceso, realizando la descripción a nivel laboratorio y escala piloto para la obtención de un extracto etanólico de hojas de tabaco y posteriormente con ayuda de un vehículo líquido se lleve a cabo la producción de un biocida vegetal con posibles efectos inhibidores sobre el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*.

3.1 DEFINICIÓN DE LAS ETAPAS DEL PROCESO ESCALA LABORATORIO

Con base en la información analizada a nivel laboratorio por diferentes investigaciones, se definen las etapas que conforman el proceso de obtención del extracto con hojas de tabaco.

Figura 1. Proceso de obtención de extracto a partir de hojas de tabaco escala laboratorio.



Fuente: elaboración propia.

El diagrama de bloques representado en la *Figura 1* muestra un orden detallado de cada operación necesaria en el laboratorio para la obtención de un extracto vegetal

utilizando una relación 1:1 (p/p), 220g de material vegetal⁹⁵ por cada 220g de etanol al 96% (273mL utilizando densidad 0,805g/mL).

Con el rendimiento de extracción de maceración analizado en capítulos anteriores y teniendo en cuenta *la Ecuación 1*, se hace la relación de obtención de extracto con la cantidad de materia prima inicial para el proceso de extracción, así:

Ecuación 2. Ecuación rendimiento teórico escala laboratorio.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Cantidad extracto etanólico obtenido}}{\text{Cantidad materia prima inicial}} * 100$$

Fuente: elaboración propia, con base en Ecuación 1

$$37\% = \frac{\text{Cantidad extracto etanólico obtenido}}{220g \text{ hojas de tabaco}} * 100$$

$$\text{Cantidad de extracto etanólico obtenido} = 81,40g$$

Análogamente se procede a modelar el proceso a escala piloto, teniendo en cuenta cantidades y equipos requeridos.

3.2 DEFINICIÓN DE LAS ETAPAS DEL PROCESO ESCALA PILOTO

Según el modelo presentado anteriormente con el diagrama de bloques a nivel laboratorio se procede a conformar el diagrama de bloques para el proceso a escala piloto visionando una posible mejora en la extracción etanólica y considerando el proceso por lotes como se muestra en la *Figura 2*.

Con el objetivo de determinar las cantidades requeridas de materia prima para producir 8 kg del producto, obtenido al finalizar la evaporación, se realizaron los balances de masa en cada una de las unidades de proceso.

La cantidad de extracto obtenido a nivel laboratorio figura con un valor teórico igual a 81,40 g con 220 g de materia prima inicial, en este capítulo se tomará como referencia el rendimiento de una maceración a nivel piloto con valor de 63,58%

⁹⁵ LIZCANO RAMÓN, Andrea Jimena y VERGARA GONZÁLEZ, Jenny Lisseth. Op. Cit., p 69

donde se utilizaron 12,5 kg distribuidos en maíz de jora 80% y malta de cebada 20% como cantidad inicial de materia prima⁹⁶ y así, plantear un proceso cercano a esta escala; con estos datos y la *Ecuación 1* se elaboran cálculos similares a los realizados en nivel laboratorio, así:

Ecuación 3. Ecuación rendimiento teórico escala piloto.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Cantidad de extracto o mosto obtenido}}{\text{Cantidad materia prima inicial}} * 100$$

Fuente: elaboración propia, con base en Ecuación 1

$$63,58\% = \frac{\text{Cantidad de extracto o mosto obtenido}}{10 \text{ kg Jora} + 2,5 \text{ kg malta de cebada}} * 100$$

$$\text{Cantidad de extracto o mosto obtenido} = 7,9475 \text{ kg}$$

Partiendo de la relación anterior con el rendimiento de maceración y la obtención de un extracto etanólico a partir de hojas de tabaco por medio de este método de extracción, con ayuda del cálculo inmediatamente anterior, se propone la producción de un lote de 8kg con relación 1:1 de material vegetal/solvente (p/p) y se realizan los siguientes cálculos, suponiendo se desea tener el mismo valor de rendimiento al llevar a cabo la maceración piloto:

Para material vegetal, hojas de tabaco:

$$\frac{12,5 \text{ kg hojas de tabaco}}{7,9475 \text{ kg extracto}} * 8 \text{ kg extracto} = 12,5825 \text{ kg hojas de tabaco}$$

Para solvente, etanol 96% utilizando densidad 0,805g/mL:

$$12,5825 \text{ kg} * \frac{1000 \text{ g}}{1 \text{ kg}} * \frac{1 \text{ mL}}{0,805 \text{ g}} = 15630,4347 \text{ mL} * \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 15,6304 \text{ L etanol 96\%}$$

⁹⁶ DE FLORIO R, Enrique. Elaboración de chicha de jora a nivel de planta piloto, utilizando tecnología cervecera. En: Ciencia & Desarrollo. Apr 15, . no. 5, p. 13-22

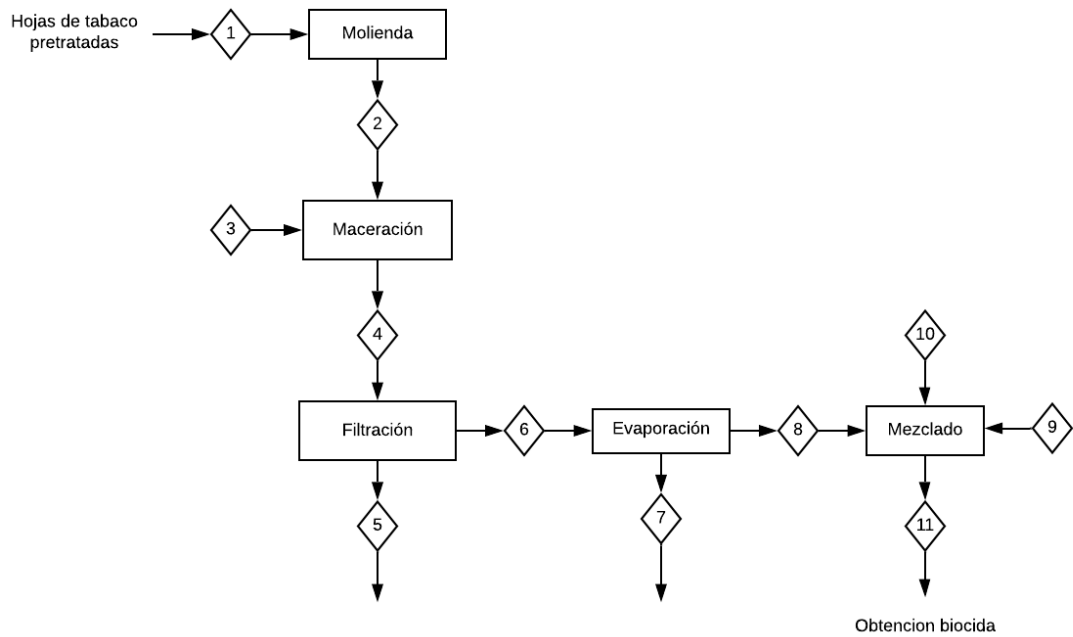
La *Figura 2* busca aclarar el proceso de extracción presentando corrientes de entrada y salida de materias primas, principales unidades de proceso y operaciones unitarias, condiciones de operación del proceso y balances de materia. Con lo anterior, posiblemente los equipos necesarios son:

- Molienda: Molino de martillos.
- Maceración: Tanque maceración agitado.
- Filtración: Centrifuga de cesta.
- Evaporación: Rotavapor.
- Mezclado: Tanque de mezclado.

Se toma como pretratamiento el lavado y el secado de la materia prima (hoja de tabaco), debido a que no son considerados procesos rigurosos, como son los representados en el diagrama de bloques de la planta piloto; pues el lavado es la manera más sencilla de suministrar las hojas de tabaco limpias al proceso y por otro lado, el secado podría hacerse a temperatura ambiente (este procedimiento está sujeto a muchos cambios puesto que en varias ocasiones el curado del tabaco puede afectar la cantidad de metabolitos secundarios presentes en las hojas, como por ejemplo la nicotina, metabolito de gran peso en el presente proyecto).⁹⁷

⁹⁷ LIZCANO RAMÓN, Andrea Jimena y VERGARA GONZÁLEZ, Jenny Lisseth. Op. Cit., p 68

Figura 2. Proceso de obtención de extracto a partir de hojas de tabaco escala piloto.



Fuente: elaboración propia.

En la *Tabla 9*, se presentan los compuestos de las corrientes de la *Figura 2*.

Tabla 9. Compuestos de las corrientes del diagrama de bloques escala piloto.

Corriente	Componente
1	Hojas de tabaco pre tratadas
2	Hojas de tabaco molidas
3	Etanol (96%)
4	Extracto etanólico de hojas de tabaco
5	Bagazo hojas de tabaco
6	Extracto etanólico de hojas de tabaco filtrado
7	Etanol (96%) recuperado
8	Extracto etanólico de hojas de tabaco seco
9	Agua
10	Emulsificante
11	Biocida

Fuente: elaboración propia.

3.2.1 Balance de materia. La *Ecuación 4*⁹⁸ describe de manera general lo que representa el balance de materia según la ley de la conservación de la masa, en ésta se basará el balance global y por equipos del proceso de extracción del presente proyecto.

Ecuación 4. Ecuación balance de materia (Ley de la conservación de la materia).

$$\text{Entrada} + \text{Generación} - \text{Salida} - \text{Consumo} = \text{Acumulación}$$

Fuente: DUEÑAS FLOREZ, Jessica Tatiana. Desarrollo De Un Producto Bioactivo Partiendo De Extractos Vegetales De Especies Alto Andinas. Fundación Universidad de América, 2017. P. 154.

3.2.1.1 Balance global

Molienda: después del pretratamiento de la materia prima ésta ingresa a un molino de martillos con 3.600 rpm, un equipo ideal para procesar un gran número de especias, hierbas secas y cualquier tipo de material o fibra^{99 100} con el fin de reducir y homogenizar el tamaño de partícula para generar un mejor contacto entre el material vegetal y el solvente, generalmente el tamaño de partícula obtenido por este tipo de molinos es intermedio-fino con valores entre 125 – 355 μm ¹⁰¹.

Maceración: el material vegetal molido es llevado al tanque de maceración al que entra etanol al 96%, el tiempo de contacto entre las fases es de 48 horas con una relación material vegetal/solvente 1:1 (p/p) como se definió en revisión de trabajos anteriores y de acuerdo a *Tabla 8*, el tanque tendrá agitación de 500rpm con temperatura igual a 37,5 °C.

Filtración: el extracto etanólico es filtrado utilizando una centrífuga de cesta a 900 rpm, un tipo frecuente de centrifuga discontinua donde la alimentación entra en la cesta giratoria a través de un tubo o vertedero y el líquido escurre a través del medio filtrante hasta la carcasa y sale por una tubería de descarga, los sólidos separados de la mezcla forman una torta en el interior de la cesta que después es retirada. El tamaño de poro del medio filtrante utilizado debe ser de 8-100 μm ya que se está tratando con una filtración fina¹⁰².

⁹⁸ DUEÑAS FLOREZ, Jessica Tatiana. Op. Cit., p 155

⁹⁹ Anónimo. Schutte hammermill. [Consultado el 07/08/2020]. Disponible en: <https://www.hammermills.com/es/agricultural-products/herbs-spices/>

¹⁰⁰ RAMOS PEÑA, Fernando Santiago. Diseño Y Construcción De Una Máquina Trituradora De Hojas Secas De Guayusa Con Una Capacidad De 6.5 Quintales Por Hora. 2015.

¹⁰¹ P.J. Fellows. Size Reduction of Solids Crushing and Grinding Equipment. En: [Anónimo] Food Processing Technology. Fourth Edition ed. Elsevier Ltd, 2017. p. 291-328.

¹⁰² Q.B.P. SÁNCHEZ, Dionisio. Conceptos básicos de filtración. p. 1-92

Evaporación: Se lleva a cabo en un rotavapor a escala a 110 rpm con temperatura 40 °C¹⁰³ y presión menor a 101,3 kPa¹⁰⁴ con el objetivo de no descomponer las sustancias extraídas de las hojas de tabaco y lograr el 100% de recuperación de etanol que ingresó al equipo.

Mezclado: Será el procedimiento final para la obtención del biocida a partir de hojas de tabaco con posible actividad antimicrobiana contra *Botrytis cinerea*, el vehículo líquido para la producción del mismo será agua como se llevó a cabo en los ensayos microbiológicos frente a *Haematobia irritans* con extractos de *N. tabacum*¹⁰⁵ y se le adicionará un emulsificante para mejor estabilidad del producto final; por otro lado, la concentración objetivo será de 125 µg/mL valor que figura como concentración mínima inhibitoria (CMI) en otro estudio realizado para el control de *Botrytis Cinerea*¹⁰⁶, el equipo estará a 150 rpm.

Para el balance global del proceso solo se tienen en cuenta las corrientes de entrada y de salida, como se describe en la *Tabla 10*.

Tabla 10. Corrientes de entrada y salida para el proceso escala piloto.

Corrientes entrada	Corrientes salida
1,3,9,10	5,7,11

Fuente: elaboración propia.

Por tanto, el balance global queda según la *Ecuación 5*.

Ecuación 5. Ecuación balance de materia global.

$$m1 + m3 + m9 + m10 = m5 + m7 + m11$$

Fuente: elaboración propia.

¹⁰³ Anónimo. Ethanol Recovery: 2L RotoVap from Best Value Vacs. -02-16. [Consultado el Sep 16,2020]. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=952guUQcPAC>

¹⁰⁴ OROZCO,William. Destilación al vacío de etanol usando bomba chorro. En: Tecno - Lógicas (Instituto Tecnológico Metropolitano). Dec 15,. no. 25, p. 77

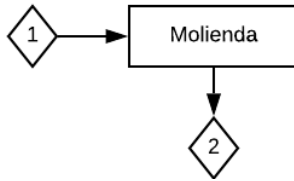
¹⁰⁵ RAMÍREZ A,Mauricio; CRUZ CARRILLO,Anastasia y MOLANO,Carlos Rodríguez. Evaluación preliminar del efecto de los extractos etanólicos de cinco plantas medicinales sobre la mosca de los cuernos haematobia irritans l. (diptera: muscidae). En: Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica. Jan 1,. vol. 12, no. 1, Op. Cit., p 70

¹⁰⁶ JIMÉNEZ P,Erika V. y MOSQUERA,Oscar M. Actividad Antifúngica in Vitro De Tres Extractos De Plantas Frente a Botrytis Cinerea (Moho Gris). 2014. Op. Cit., p 19

3.2.1.2 Balance por equipo.

Molienda

Figura 3. Balance materia equipo molienda.



Fuente: elaboración propia.

Según el cálculo realizado previamente la cantidad de materia prima requerida al inicio del proceso para obtener 8 kg de extracto al finalizar la evaporación, es igual a 12,5825 kg hojas de tabaco, así pues:

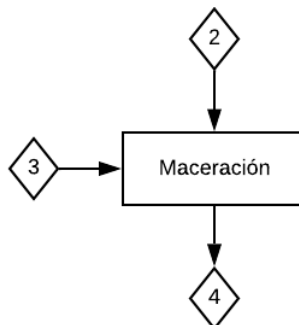
Ecuación 6. Ecuación balance de materia molienda.

$$m_1 = m_2 = 12,5825 \text{ kg hojas de tabaco}$$

Fuente: elaboración propia.

Maceración

Figura 4. Balance materia equipo maceración.



Fuente: elaboración propia.

A este equipo se le suministra la misma cantidad en peso de hojas de tabaco y etanol 96%, de la siguiente manera:

Ecuación 7. Ecuación balance de materia maceración.

$$m4 = m2 + m3$$

Fuente: elaboración propia.

$$m3 = 12,5825 \text{ kg} = 15,6304 \text{ L etanol (96\%)}$$

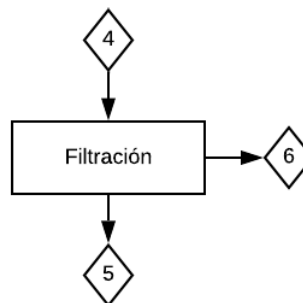
Por balance en molienda, se tiene m2, entonces:

$$m4 = ((m2 * \text{rendimiento extracción}) + (m2 * (1 - \text{rendimiento de extracción}))) + m3$$

$$m4 = ((12,5825 \text{ kg} * 0,6358) + (12,5825 \text{ kg} * 0,3642)) + 12,5825 \text{ kg} \\ = 25,1650 \text{ kg Extracto etanólico de hojas de tabaco}$$

Filtración

Figura 5. Balance materia equipo filtración.



Fuente: elaboración propia.

Para realizar el balance en este equipo se deben tener en cuenta dos aspectos, el rendimiento de extracción obtenido en la maceración piloto citado anteriormente y el porcentaje de etanol retenido en los poros del bagazo de las hojas de tabaco que salen por la corriente 5 con valor de 29%¹⁰⁷, éste calculado a partir de un promedio entre el 8 y 50%, valores de la humedad libre superficial y la retenida en los poros de la biomasa vegetal¹⁰⁸.

Ecuación 8. Ecuación balance de materia filtración.

$$m4 = m5 + m6$$

Fuente: elaboración propia.

Entonces, para calcular m5:

$$m5 = (m2 * (1 - \text{Rendimiento extracción})) + (m3 * \% \text{ de alcohol retenido})$$

$$m5 = (12,5825 \text{ kg} * 0,3642) + (12,5825 \text{ kg} * 0,29)$$

$$m5 = 8,2314 \text{ kg bagazo hojas de tabaco}$$

Después de calcular m5 y teniendo m4 de balance en maceración:

$$m6 = m4 - m5$$

$$m6 = 25,1650 \text{ kg} - 8,2314 \text{ kg}$$

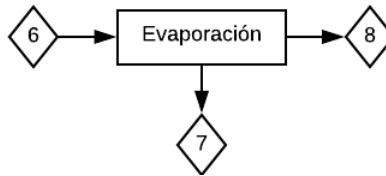
$$= 16,9336 \text{ kg extracto etanólico de hojas de tabaco filtrado}$$

¹⁰⁷ MUÑOZ MUÑOZ, Deyanira; PANTOJA MATTA, Alvaro Javier y CUATIN GUARIN, Milton fernando. Aprovechamiento de residuos agroindustriales como biocombustible y biorefinería. En: Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial. Dec 1., vol. 12, no. 2, p. 10-19

¹⁰⁸ *Ibid.*, p. 64

Evaporación

Figura 6. Balance materia equipo evaporación.



Fuente: elaboración propia.

Debido a la base de cálculo estipulada desde el principio para el planteamiento de la planta piloto, la corriente m8 tiene un valor igual a 8 kg de extracto etanólico de hojas de tabaco seco, de esta manera y teniendo el valor de m6 del balance en filtración:

Ecuación 9. Ecuación balance de materia evaporación.

$$m6 = m7 + m8$$

Fuente: elaboración propia.

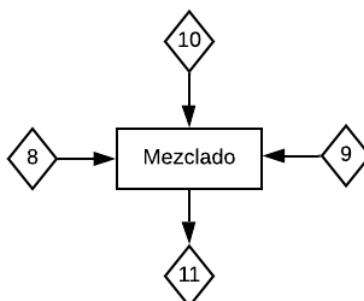
El cálculo de m7, sería:

$$m7 = m6 - m8$$

$$m7 = 16,9336 \text{ kg} - 8 \text{ kg} = 8,9336 \text{ kg etanol (96\% recuperado)}$$

Mezclado

Figura 7. Balance materia equipo mezclado.



Fuente: elaboración propia.

Al igual que en la filtración, para realizar el balance de este equipo se toman dos datos importantes de referencia, primero, la densidad de un extracto etanólico obtenido de hojas de *Annona muricata* L, ya que no se encuentra un valor exacto de esta propiedad para un extracto etanólico de hojas de tabaco, con valor igual a 0,8054 g/mL¹⁰⁹; segundo, la concentración a la que se desea obtener el biocida que posiblemente tenga efecto inhibitor sobre *Botrytis cinerea*, su valor es 125 µg/mL¹¹⁰.

Ecuación 10. Ecuación balance de materia mezclado.

$$m_{11} = m_8 + m_9 + m_{10}$$

Fuente: elaboración propia.

Con ayuda de la Ecuación 11¹¹¹ se procede a realizar el balance:

¹⁰⁹ VERGARA SOTOMAYOR, Abel, et al. Obtención de extractos de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) inducidos por su efecto inhibitor de la corrosión. En: Revista De La Sociedad Química Del Perú. Mar 31,. vol. 84, no. 1, p. 119-132

¹¹⁰ JIMÉNEZ P, Erika V. y MOSQUERA, Oscar M. Actividad Antifúngica in Vitro De Tres Extractos De Plantas Frente a *Botrytis Cinerea* (Moho Gris). 2014. Op. Cit., p 19

¹¹¹ Universidad Carlos de Madrid. Disoluciones. Disponible en: http://163.117.136.247/quimica-fisica/quimica-i/material-de-clase-1/TEMA_10-Disoluciones.pdf

Ecuación 11. Ecuación de la concentración de una disolución.

$$\text{Concentración disolución} = \frac{\text{Masa soluto}}{\text{Volumen disolución}}$$

Fuente: Universidad Carlos de Madrid [en línea].

Disoluciones, 2016. [Fecha de consulta: 26 agosto 2020]

Disponible en: http://163.117.136.247/quimica-fisica/quimica-i/material-de-clase-1/TEMA_10-Disoluciones.pdf

Con m8 que es el extracto etanólico de hojas de tabaco seco y en este caso, el soluto, hallamos el volumen de la disolución, así:

$$m8 = 8 \text{ kg} * \frac{1 \times 10^9 \mu\text{g}}{1 \text{ kg}} = 8 \times 10^9 \mu\text{g extracto etanólico de hojas de tabaco seco}$$

$$125 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \frac{8 \times 10^9 \mu\text{g}}{V_{\text{disolución}}}$$

$$V_{\text{disolución}} = 64 \times 10^6 \text{ mL} * \frac{1 \text{ L}}{1.000 \text{ mL}} = 64.000 \text{ L disolución}$$

Con la cantidad de extracto y la densidad de referencia, se halla el volumen del extracto:

$$m8 = 8 \text{ kg} * \frac{1.000 \text{ g}}{1 \text{ kg}} * \frac{1 \text{ mL}}{0,8054 \text{ g}} = 9932,9525 \text{ mL} * \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} = 9,9329 \text{ L extracto}$$

Ecuación 12. Ecuación volumen disolución.

$$V_{\text{disolución}} = V_{\text{solvente}} + V_{\text{soluto}}$$

Fuente: Universidad Carlos de Madrid [en línea].

Disoluciones, 2016. [Fecha de consulta: 26 agosto 2020]

Disponible en: http://163.117.136.247/quimica-fisica/quimica-i/material-de-clase-1/TEMA_10-Disoluciones.pdf

Con la *Ecuación 12* se halla el volumen del solvente, en este caso agua, requerida para obtener la concentración deseada:

$$V_{\text{solvente}} = V_{\text{disolución}} - V_{\text{soluto}}$$

$$V_{\text{solvente}} = 64.000 \text{ L} - 9,9329 \text{ L} = 63.990,0674 \text{ L agua}$$

Lo que quiere decir que m9 es igual a:

$$m9 = 63.990,0674 \text{ L} * \frac{1 \text{ m}^3}{1.000 \text{ L}} * \frac{997,0479 \text{ kg}}{1 \text{ m}^3} = 63.801,1623 \text{ kg agua}$$

Para la corriente 10, el emulsificante o tensoactivo que se sugiere suministrar debe ser de tipo catiónico, esta propiedad tiene numerosas aplicaciones especializadas, entre ellas inhibir el crecimiento de organismos moleculares como las bacterias, las algas, o diferentes microorganismos¹¹²; de esta manera se sugiere suministrar aproximadamente un 1%¹¹³ (con respecto al peso del extracto obtenido) de éste para lograr la emulsión deseada y obtener el biocida que tiene como objetivo este proyecto.

Así pues, m10 sería igual a:

$$m10 = 8 \text{ kg extracto} * 0,01 = 0,08 \text{ kg emulsificante}$$

Y con *Ecuación 10*, m11 da como resultado:

$$\begin{aligned} m11 &= 8 \text{ kg extracto} + 63801,1623 \text{ kg agua} + 0,08 \text{ kg emulsificante} \\ &= 63809,2423 \text{ kg BIOCIDA} \end{aligned}$$

La corriente 11 es el objetivo de este proyecto, son 8 kg de extracto diluidos en 63801,1623 kg agua, disolución propuesta para la producción de un biocida a partir

¹¹² I,Aranberri, et al. Elaboracion Y Caracterización De Emulsiones Estabilizadas Por Polimeros Y Agentes Tensioactivos. 2006.

¹¹³ American Petroleum Co. Inc. Aceite Agrícola American BVA 15 Con Emulsificante.

de extractos etanólicos de hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) para el posible control de *Botrytis cinerea*.

Para culminar, se rectifica que el balance global se cumpla con la *Ecuación 5*:

$$m1 = 12,5825 \text{ kg hojas de tabaco}$$

$$m3 = 12,5825 \text{ kg etanol (96\%)}$$

$$m9 = 63.801,1623 \text{ kg agua}$$

$$m10 = 0,08 \text{ kg emulsificante}$$

$$m5 = 8,2314 \text{ kg bagazo hojas de tabaco}$$

$$m7 = 8,9336 \text{ kg etanol (96\%) recuperado}$$

$$m11 = 63.809,2423 \text{ kg BIOCIDA}$$

$$m1 + m3 + m9 = m5 + m7 + m10$$

$$63.826,4073 \text{ kg materia} = 63.826,4073 \text{ kg materia}$$

Se resume el balance de materia calculado anteriormente en la *Tabla 11*, así:

Tabla 11. Balance de materia para el proceso escala piloto.

Corriente	Hojas (kg)	Etanol 96% (kg)	Agua (kg)	Extracto (kg)	Emulsificante (kg)
1	12,5825	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
2	12,5825	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
3	0,0000	12,5825	0,0000	0,0000	0,0000
4	4,5825	12,5825	0,0000	7,9999	0,0000
5	4,5825	3,6489	0,0000	0,0000	0,0000
6	0,0000	8,9336	0,0000	7,9999	0,0000
7	0,0000	8,9336	0,0000	0,0000	0,0000
8	0,0000	0,0000	0,0000	8,0000	0,0000
9	0,0000	0,0000	63.801,1623	0,0000	0,0000
10	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0800
11	0,0000	0,0000	63.801,1623	8,0000	0,0800

Fuente: elaboración propia.

4. ANÁLISIS DE COSTOS

Los costos del proceso de obtención de un extracto etanólico a partir de hojas de tabaco para la producción de un biocida vegetal con efectos inhibidores sobre el hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea* se definen como los gastos económicos asociados a la obtención del producto, para esto se realiza una cotización de acuerdo a las cantidades, presentaciones de productos, materias primas, equipos necesarios y consumo energético de los mismos para la realización de este.

4.1 COSTOS DE MATERIA PRIMA

Para producir 63.809,2423 kg de biocida a partir de un extracto etanólico de hojas de tabaco se requieren las cantidades encontradas en la *Tabla 12*, el cálculo se efectuó teniendo en cuenta el precio estipulado por uno de los proveedores de dichas materias primas, investigando valores de tabaco nacional y valor del metro cúbico industrial en Bogotá, Colombia; de esta manera se tiene:

Tabla 12. Costos materias primas para producción de 63.809,2423 kg de biocida a partir de hojas de tabaco escala piloto.

Materia prima/ Presentación producto		Costo (\$COP)	Costo unitario (\$COP)	Cantidad requerida		Conversión cantidad requerida		Costo (\$COP)
Etanol 96%	5 gal	100.002,00 ¹¹⁴	20.000,40	15,6304	L	4,1291	gal	82.583,93
Hojas tabaco	1 kg	5.574,00 ¹¹⁵	5.574,00	12,5825	kg	NA	NA	70.134,86
Agua	1 m3	7.504,76 ¹¹⁶	7.504,76	63801,1623	kg	63,8012	m3	478.812,41
Emulsifi cante	1 kg	75.572,95	75.572,95	0,08	kg	NA	NA	75.572,95
Costo total materias primas LOTE								\$707.104,15

Fuente: elaboración propia.

El costo total de materias primas corresponde a la suma de los valores individuales de cada una de estas en las cantidades requeridas; a partir del cálculo efectuado se obtuvo un costo total equivalente a \$707.104,15 COP/lote de producción.

¹¹⁴ Inquimicol SAS, industria química colombiana. Cotización Etanol 96%. Agosto 15,.

¹¹⁵ Minagricultura, Dirección de Cadenas Agrícolas y Forestales. Cadena De Tabaco. 2019.

¹¹⁶ ACUEDUCTO. Tarifas Acueducto Y Alcantarillado Bogotá Año 2019.

4.2 COSTOS DE EQUIPOS

Los posibles costos de inversión en equipos utilizados en el proceso se ven representados en la *Tabla 13*.

Tabla 13. Costos de equipos para la producción de un biocida partiendo de un extracto etanólico de hojas de tabaco a escala piloto.

Costo equipos			
Operación	Equipo	Modelo/ Referencia	Costo aprox. (\$COP)
Molienda	Molino de martillos ¹¹⁷	PD-JR – Eléctrica	1.650.000,00
Maceración	Tanque maceración ¹¹⁸	Planta de un solo tanque - 80 L	5.500.000,00
Filtración	Centrifuga de cesta ¹¹⁹	PU 1200 – MAUSA	11.335.942,00 ¹²⁰
Evaporación	Rotavapor ¹²¹	Rotary Evaporator R-1050	18.855.000,00 ¹²²
Mezclado	Tanque de mezclado ¹²³	LNT-1000	6.801.000,00
Costo total equipos			\$44.141.942,00

Fuente: elaboración propia.

El posible costo total de inversión en los equipos requeridos para el proceso corresponde a la suma de los valores individuales de cada uno de ellos; a partir del cálculo efectuado se obtuvo un costo total equivalente a \$ 44.141.942,00 COP.

¹¹⁷ Anónimo. Picadora molino PD-junior con martillos. [Consultado el Aug 16,2020]. Disponible en: <https://suplagro.company.site/PICADORA-MOLINO-PD-JUNIOR-CON-MARTILLOS-p193188875>

¹¹⁸ Prosbier cervceros. INSUMOS Y EQUIPOS. [Consultado el Aug 16,2020]. Disponible en: <http://www.prostbiermedellin.com/insumos-y-equipos/equipos/>

¹¹⁹ Camargo, gestión de activos industriales. Centrifuga de cesta industrial Mause - Camargo Industrial - Las máquinas usadas. [Consultado el Aug 16,2020]. Disponible en: https://es.camargoindustrial.com/maquina-usada/?e=Centrifuga+de+cesta+industrial+Mause_161-603

¹²⁰ Alibaba.com. Centrifugadora de cesta. [Consultado el Aug 16,2020]. Disponible en: http://www.alibaba.com/product-detail/PSS300-lab-filter-centrifuge-with-filter_62487269556.html

¹²¹ Zhengzhou greatwall, Scientific industrial and trade Co Ltd. 50L Rotary Evaporator R-1050. [Consultado el 16/08/2020]. Disponible en: <https://www.greatwall-online.com/products/showproduct.php?lang=en&id=58>

¹²² Alibaba.com. Rotavapor 50 L. [Consultado el Aug 16,2020]. Disponible en: http://www.alibaba.com/product-detail/50l-alcohol-distillation-rotary-vacuum-evaporator_62504736756.html

¹²³ Alibaba.com. Tanque mezclador homogeneizador emulsionante. [Consultado el Aug 16,2020]. Disponible en: http://www.alibaba.com/product-detail/Best-Price-Liquid-emulsifying-homogenizer-tank_62011807723.html

4.3 POSIBLES COSTOS POR GASTO ENERGÉTICO

El cálculo de los costos de gasto energético para el proceso se calcula a partir de la potencia utilizada por cada equipo y tiempo de uso aproximado:

Tabla 14. Posibles costos por gasto energético para la producción de un biocida partiendo de un extracto etanólico de hojas de tabaco a escala piloto.

Consumo energía					
Operación	Equipo	Consumo (kW)	Tiempo de uso aprox. (h)*	Costo COP/kWh	Costo operación (\$COP)
Molienda	Molino de martillos (3600rpm-ajustable)	1,1185	0,671 ¹²⁴	528,20 ¹²⁵ 126	396,42
Maceración	Tanque maceración agitado (500rpm)	0,7457	48 ¹²⁷		18.906,18
Filtración	Centrifuga de cesta(900rpm-ajustable)	1,1	0,0425 ¹²⁸		246,93
Evaporación	Rotavapor (110 rpm-ajustable)	0,25	0,3333 ¹²⁹		44,01
	Bomba de vacío	0,18	0,3333		31,69
	Chiller	14,59	0,3333		2.568,56
Mezclado	Tanque de mezclado (150rpm-ajustable)	1,5	0,2 ¹³⁰		158,46
Costo total energía proceso					\$22.352,25

Fuente: elaboración propia.

El posible costo por gasto energético para el proceso, corresponde al producto de los kW necesarios para el funcionamiento de cada uno de equipos, la cantidad de

¹²⁴ PALLASCO VIZUETE, Luis Francisco y JAMI JAMI, Alex Paul. Diseño Y Construcción De Un Molino Para Triturar Hojas Disecadas De Plantas Medicinales Para Ingrediente Del Té Sachet, Con Capacidad De 25 kg/H Para “la Fundación Familia Salesiana Salinas”. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO, 2018.

¹²⁵ DELGADO SÁNCHEZ, Lina maría y MALLAMA DÍAZ, Carolina. Evaluación Del Extracto De Licopeno Partiendo De Residuos De Diferentes Frutas Y Hortalizas, Aplicado En Un Producto Cosmético. Fundación Universidad de América,

¹²⁶ ENEL, Codensa. Tarifas De Energía Eléctrica (\$/kWh) - Reguladas Por La Comisión De La Regulación De Energía Y Gas (Creg) ENERO 2020.

¹²⁷ LIZCANO RAMÓN, Andrea Jimena y VERGARA GONZÁLEZ, Jenny Liseth. Op. Cit., p 69

¹²⁸ SANDOVAL TORRES, Sadoth; VALAT, Marc y GINISTY, Pascal. Análisis De La Filtración Centrífuga De Una Suspensión. Instituto politécnico Nacional CIIDIR Unidad Oaxaca,

¹²⁹ SUÁREZ CERQUERA, Aidé y CASTILLO ACOSTA, Camilo Andrés. Separación de una mezcla binaria etanol-agua en columna de destilación de platos UDCC. En: Revista Ontare. May 11, . vol. 3, no. 2, p. 161

¹³⁰ CARDOSO UGARTE, G. A., et al. Efecto De Los Parámetros De Homogeneización Mecánica Sobre El Tamaño De Gota De Emulsiones Agua En Aceite (W/O) De Aceite Esencial De Orégano.

tiempo en uso de los mismos y el precio de kWh en Colombia; a partir del cálculo efectuado se obtuvo un costo total equivalente a \$22.352,25 COP/lote de producción.

*Los tiempos de uso aproximado se hicieron en base a artículos en relación de la siguiente manera:

- 1) Molienda, se trituraron 500g de hojas secas en un tiempo promedio de 1.6 minutos así pues para la cantidad requerida de este proyecto sería:

$$12,5825kg * \frac{1,6 \text{ min}}{0,5 \text{ kg}} * \frac{1 \text{ h}}{60 \text{ min}} = 0,6710 \text{ h}$$

- 2) Maceración, este dato viene dado desde la investigación de inhibición en el capítulo 2.2 Extractos vegetales, donde el tiempo óptimo para la maceración fue de 48 horas para la extracción por maceración.

- 3) Filtración, se hace analizando un artículo donde se estudia el tiempo de filtración en una centrífuga para una suspensión, en que cual a 3.000rpm se obtiene una torta de filtrado 0,017m en 510 segundos, de esta manera se hace una relación posible así:

$$900 \text{ rpm} * \frac{510 \text{ s}}{3.000 \text{ rpm}} * \frac{1 \text{ h}}{3.600 \text{ s}} = 0.0425 \text{ h}$$

- 4) Evaporación, se estudia la concentración del etanol en un calderín después de ebullición en intervalos de 10 minutos, se registra mayor concentración del mismo después de 20 minutos de la mezcla en ebullición.

$$20 \text{ min} * \frac{1 \text{ h}}{60 \text{ min}} = 0,3333 \text{ h}$$

- 5) Mezclado, se reporta un valor igual a 12 minutos para homogenización y producción de una emulsión líquido-líquido al igual que en el presente proyecto, se toma de referencia este tiempo.

$$12 \text{ min} * \frac{1 \text{ h}}{60 \text{ min}} = 0,2 \text{ h}$$

Así pues para la producción de 63.809,2423 kg de biocida se hace necesario una inversión total de \$44.141.942,00 COP en equipos requeridos y \$729.456,40 COP/lote de producción en materia prima y costo por gasto energético.

5. CONCLUSIONES

- Son varios los estudios enfocados en tratar enfermedades o plagas causadas por microorganismos con extractos obtenidos de plantas medicinales, flores y diferentes partes de vegetales con el fin de buscar soluciones más amigables con el ambiente y generar reducción en el empleo de biocidas sintéticos; por otra parte, se hace evidente el beneficioso uso de las hojas de tabaco (*Nicotiana tabacum*) debido a los metabolitos secundarios que poseen dichas hojas como lo son los alcaloides, terpenos, fenoles, flavonoides, cumarinas, saponinas y demás compuestos a los que se les otorga diferentes propiedades antimicrobianas.
- Se presentan diversos métodos de extracción para la obtención de un extracto a partir de hojas de tabaco; sin embargo, considerando criterios como la relación material vegetal/ solvente, el rendimiento teórico de extracción, solvente empleado, tamaño adecuado de partícula, tiempo, temperatura y presión, el método adecuado figura ser la extracción por maceración ya que gracias a una comparación y ponderación, sobresale con un porcentaje igual a 86,25% superior a todos los demás métodos, llevándose a cabo bajo las siguientes condiciones de operación: una relación material vegetal/solvente = 1:1 (p/p) con agitación de 500 rpm, con disolvente de extracción etanol al 96% por su asequible costo en la industria, su práctico uso para realizar extracciones de sustancias de interés sin alteración alguna, estabilidad en condiciones ordinarias de uso y almacenamiento con biodegradabilidad rápida; el material vegetal se trató con molienda hasta un tamaño de partícula intermedio-fino, es decir, con valores entre 125 – 355 μm ; en cuanto a tiempo, temperatura y presión se realizó a 48 h, 37,5 $^{\circ}\text{C}$ y 1 atm, respectivamente.
- Tomando como pretratamiento el lavado y el secado de la materia prima (hoja de tabaco), debido a que no son considerados procesos rigurosos como lo son la molienda, la maceración, filtración, evaporación y mezclado para la producción del biocida, las especificaciones técnicas del proceso se hacen desde el proceso de molienda; considerando los respectivos equipos necesarios para la producción, los balances de materia en cada uno de los equipos y asignación de un valor para cada una de las variables requeridas para la obtención del biocida basados en estudios en relación o cálculos realizados.

- Los posibles costos para la producción de 63.809,2423 kg de biocida son: una inversión total de \$44.141.942,00 COP en equipos requeridos y \$729.456,40 COP/lote de producción en materia prima y costo por gasto energético.

6. RECOMENDACIONES

- Reafirmar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del biocida por un método alternativo.
- Realizar una investigación en la que se realicen pruebas como: Viscosidad final del extracto y del producto, pH, solubilidad del extracto en otro vehículo líquido; entre otros parámetros finales del producto para la producción del mismo a escala industrial.
- Realizar estudios sobre el proceso de secado y curado del tabaco para la producción del biocida y así, incluir esta operación en el diagrama de bloques del proceso escala piloto.
- Hacer un estudio económico del producto (TIR, VPN, tasa de rentabilidad, etc.) proyectando el comportamiento del producto en mercados similares y así determinar posibles ventas y rentabilidad del producto.
- Realizar estudios *in vivo* con el fin de determinar la estabilidad del extracto obtenido frente a agentes físicos y químicos que puedan interferir en la actividad y eficiencia antimicrobiana de la solución biocida descrita en el presente proyecto.

BIBLIOGRAFIA

ACOSTA ESQUIJAROSA, Jhoany, et al. Empleo del ultrasonido para la extracción de fracción apolar en hojas de *Mangifera indica* L. (árbol del mango). En: REVISTA CUBANA DE PLANTAS MEDICINALES. Sep 1, p. 261-271

ACUEDUCTO. Tarifas Acueducto y Alcantarillado Bogotá año 2019.

AL BANDAK, Ghada and OREOPOULOU, Vassiliki. Antioxidant properties and composition of *Majorana syriaca* extracts. En: EUROPEAN JOURNAL OF LIPID SCIENCE AND TECHNOLOGY. Mar 3, vol. 109, no. 3, p. 247-255

Alibaba.com. Centrifugadora de cesta. [Consultado el 16/08/2020]. Disponible en: [//www.alibaba.com/product-detail/PSS300-lab-filter-centrifuge-with-filter_62487269556.html](http://www.alibaba.com/product-detail/PSS300-lab-filter-centrifuge-with-filter_62487269556.html)

Alibaba.com. Rotavapor 50 L. [Consultado el 16/08/2020]. Disponible en: [//www.alibaba.com/product-detail/50l-alcohol-distillation-rotary-vacuum-evaporator_62504736756.html](http://www.alibaba.com/product-detail/50l-alcohol-distillation-rotary-vacuum-evaporator_62504736756.html)

Alibaba.com. Tanque mezclador homogeneizador emulsionante. [Consultado el 16/08/2020]. Disponible en: [//www.alibaba.com/product-detail/Best-Price-Liquid-emulsifying-homogenizer-tank_62011807723.html](http://www.alibaba.com/product-detail/Best-Price-Liquid-emulsifying-homogenizer-tank_62011807723.html)

ALONZO, German, et al. Semillas en la economía campesina. En: SEMILLAS. vol. 21, p. 1-71

American Petroleum Co. Inc. Aceite Agrícola American BVA 15 con emulsificante .

ANDREWS, Jennifer M. Determination of minimum inhibitory concentrations. En: JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY. vol. 48, no. suppl_1, p. 5-16

La nicotina [Consultado el 29/07/2020]. Disponible en: https://www.pfizer.es/salud/dejar_de_fumar/nicotina.html

Picadora molino PD-junior con martillos. [Consultado el 20/07/2020]. Disponible en: <https://suplagro.company.site/PICADORA-MOLINO-PD-JUNIOR-CON-MARTILLOS-p193188875>

Schutte hammermill [Consultado el 07/08/2020]. Disponible en: <https://www.hammermills.com/es/agricultural-products/herbs-spices/>

Tabaco [Consultado el 07/08/2020]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/tabaco>

Ethanol Recovery: 2L RotoVap from Best Value Vacs. -02-16. [Consultado el Sep 16,2020]. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=952guUQcPAc>

Qué son los biocidas y para qué se utilizan en post-recolección. [Consultado el 16/04/2020] Disponible en: <https://www.deccoiberica.es/que-son-los-biocidas-y-para-que-se-utilizan-en-post-recoleccion/>

BAYER CROPSCIENCE. Centro américa y caribe. Fungicidas [Consultado el 26/07/2020]. Disponible en: <https://www.bayercropscience-ca.com/Productos/Fungicidas/Verita.aspx>

AWAD PARADA,Tamar. Arquitectura industrial tabacalera en la España peninsular: secaderos y fábricas. E.T.S. Arquitectura (UPM), 2015.

BANOŽIĆ,Marija; BABIĆ,Jurislav andJOKIĆ,Stela. Recent advances in extraction of bioactive compounds from tobacco industrial waste-a review. En: INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS. Feb.vol. 144, p. 112009

BENÍTEZ BENÍTEZ,Ricardo, et al. Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. En: REVISTA FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS. Mar 24,.vol. 15, no. 1, p. 31-40

BENITO,Ernesto P.; ARRANZ,Mónica andESLAVA,Arturo P. Pathogenicity factors in Botrytis cinerea. En: REVISTA IBEROAMERICANA DE MICOLOGIA. Mar.vol. 17, no. 1, p. S43

BLOCK,Melissa andRUEDA CEPPI,Claudia. Antioxidantes naturales. ES: Nowtilus, 2008. ISBN 9788497634465

CALVO GARRIDO,Carlos, et al. Control de la podredumbre por Botrytis cinerea mediante la aplicación de Candida sake CPA-1 y otras estrategias alternativas a los fungicidas químicos en uva de vinificación. Universitat de Lleida, 2013.

CAMARGO, Felipe.; Gestión de activos industriales. Centrifuga de cesta industrial Mause - Camargo Industrial - Las máquinas usadas. [Consultado el 16/08/2020] Disponible en: https://es.camargoindustrial.com/maquina-usada/?e=Centrifuga+de+cesta+industrial+Mause_161-603

CAPDESUÑER,Yanelis Karina, et al. In vitro antibacterial effect of tobacco leaf exudates against two bacterial plant pathogens. En: REVISTA COLOMBIANA DE BIOTECNOLOGÍA. Jan 1,.vol. 17, no. 1, p. 91-100

CARDOSO UGARTE,G. A., *et al.* Efecto de los parámetros de homogeneización mecánica sobre el tamaño de gota de emulsiones agua en aceite (w/o) de aceite esencial de orégano.

CERCENADO,Emilia and SAAVEDRA-LOZANO,Jesús. El antibiograma. Interpretación del antibiograma: conceptos generales (I). En: ANALES DE PEDIATRÍA CONTINUADA. vol. 7, no. 4, p. 214-217

COFFA,Bonnie G., *et al.* Chemical, physical, and in vitro characterization of research cigarettes containing denicotinized tobacco. En: REGULATORY TOXICOLOGY AND PHARMACOLOGY.

DE FLORIO R,Enrique. Elaboración de chicha de jora a nivel de planta piloto, utilizando tecnología cervecera. En: CIENCIA & DESARROLLO. Apr 15,.no. 5, p. 13-22

DELGADO SÁNCHEZ,Lina maría and MALLAMA DÍAZ,Carolina. Evaluación del extracto de licopeno partiendo de residuos de diferentes frutas y hortalizas, aplicado en un producto cosmético. Fundación Universidad de América,

DUEÑAS FLOREZ,Jessica Tatiana. Desarrollo de un producto bioactivo partiendo de extractos vegetales de especies alto andinas. Fundación Universidad de América, 2017. p. 154.

EL TIEMPO,Casa Editorial. El drama de las 2.500 familias afectadas por cierre de Coltabaco. -06-10. [Consultado el 12/08/2020] Disponible en: <https://www.eltiempo.com/colombia/otras-ciudades/cierre-de-coltabaco-y-despido-de-trabajadores-en-medellin-y-barranquilla-373394>

ENEL,Codensa. Tarifas de energía eléctrica (\$/kWh) - Reguladas por la comisión de la regulación de energía y gas (creg) ENERO 2020.

GARCÉS DE GRANADA,Emira. Consideraciones sobre Botrytis cinerea pers., agente causal de la pudrición de las flores. En: AGRONOMÍA COLOMBIANA. Dec 1,.vol. 9, no. 2, p. 196-201

GARCIA MOGOLLON,Carlos; SALCEDO MENDOZA,Jairo and ALVIS BERMUDEZ,Armando. Condiciones óptimas de la etapa de lixiviación en la extracción de almidón de yuca. En: BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL. Jun 1,.vol. 16, no. 1, p. 62-67

GUARIN LIZARAZO,Laura Katerine. Extracción de pigmento rojo de achiote (bixa orellana) y oleorresina roja de paprika (capsicum annum) en la formulación de

pinturas para juguetes de madera. Fundacion Universidad de América, 2019. p. 1-175.

GUO,Zhifeng, et al. Extraction of nicotine from local tobacco using double-supported liquid membranes technique. En: JOURNAL OF MEMBRANE SCIENCE. vol. 356, no. 1, p. 105-109

HOSSAIN,Amzad M. andSALEHUDDIN,Syed M. Analytical determination of nicotine in tobacco leaves by gas chromatography–mass spectrometry. En: ARABIAN JOURNAL OF CHEMISTRY. Jul.vol. 6, no. 3, p. 275-278

I,Aranberri, *et al.* ELABORACION Y CARACTERIZACIÓN DE EMULSIONES ESTABILIZADAS POR POLIMEROS Y AGENTES TENSIOACTIVOS. 2006.

Inquimicol SAS, industria química colombiana. Cotización Etanol 96%. Agosto 15,.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Compendio de normas para trabajos escritos. NTC-1486-6166. Bogotá D.C. El instituto, 2018 ISBN 9789588585673 153 p.

JIMÉNEZ P,Erika V. andMOSQUERA,Oscar M. Actividad antifúngica In vitro de tres extractos de plantas frente a Botrytis cinerea (Moho gris). 2014.

LEROUX,Pierre andVIARD,Bruno. Chemical control of botrytis and its resistance to chemical fungicides. Latresne: Le Bord de l'Eau, 2007. ISBN 9782915651690

LIZCANO RAMÓN,Andrea Jimena andVERGARA GONZÁLEZ,Jenny Lisseth. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales valeriana pilosa, hesperomeles ferruginea, myrcianthes rhopaloides y passiflora manicata frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. 2008. p. 1-131.

LÓPEZ BREA,M. andDOMINGO,D. Plantas con acción antimicrobiana. En: REVISTA ESPAÑOLA DE QUIMIOTERAPIA. vol. 16, no. 4, p. 385-393

LOZANO GUILLÉN,Carlos A. Anuario estadístico de la FAO. Primera edición ed. Bogotá: Teoría & Praxis, 2017. ISBN 9789585900271

MALDONADO,María Elena andDACARRO,Cesare. Análisis de la composición del aceite esencial de Myrcianthes rhopaloides (Kunth in H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae, y evaluación de su actividad biológica. En: LA GRANJA. Oct 30, vol. 6, no. 2, p. 17

Minagricultura, Dirección de Cadenas Agrícolas y Forestales. Cadena de tabaco. 2019.

MUÑOZ MUÑOZ, Deyanira; PANTOJA MATTA, Alvaro Javier and CUATIN GUARIN, Milton fernando. Aprovechamiento de residuos agroindustriales como biocombustible y biorefinería. En: BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL. Dec 1, .vol. 12, no. 2, p. 10-19

N. AGRIOS, George. Fitopatología. 2nd ed. LIMUSA, 2005.

NG Nair, et al. Significance of carry over inoculum, flower infection and latency on the incidence of in berries of grapevines at harvest in New South Wales. En: ANIMAL PRODUCTION SCIENCE. vol. 35, no. 8, p. 1177-1180

OROZCO, William. Destilación al vacío de etanol usando bomba chorro. En: TECNO - LÓGICAS (INSTITUTO TECNOLÓGICO METROPOLITANO). Dec 15, .no. 25, p. 77

P.J. Fellows. Size Reduction of Solids Crushing and Grinding Equipment. En: Anonymous Food Processing Technology. Fourth Edition ed. Elsevier Ltd, 2017. 291-328 p.

PALLASCO VIZUETE, Luis Francisco and JAMI JAMI, Alex Paul. Diseño y construcción de un molino para triturar hojas disecadas de plantas medicinales para ingrediente del té sachet, con capacidad de 25 kg/h para "la fundación familia salesiana salinas". UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO, 2018.

Prosbier cerveceros. INSUMOS Y EQUIPOS. [Consultado el 16/08/2020]
Disponible en: <http://www.prosbiermedellin.com/insumos-y-equipos/equipos/>

Q.B.P. SÁNCHEZ, Dionisio. Conceptos básicos de filtración. p. 1-92

RAHARDJO, Andhika Priotomo; FAUZANTORO, Ahmad and GOZAN, Misri. Fractionation and characterization of semi polar and polar compounds from leaf extract *Nicotiana tabacum* L. reflux ethanol extraction results. En: AIP CONFERENCE PROCEEDINGS. Feb 13, .vol. 1933, no. 1,

RAMÍREZ A, Mauricio; CRUZ CARRILLO, Anastasia and MOLANO, Carlos Rodríguez. Evaluación preliminar del efecto de los extractos etanólicos de cinco plantas medicinales sobre la mosca de los cuernos *haematobia irritans* L. (diptera: muscidae). En: REVISTA U.D.C.A ACTUALIDAD & DIVULGACIÓN CIENTÍFICA. Jan 1, .vol. 12, no. 1, p. 69-78

RAMOS PEÑA, Fernando Santiago. Diseño y construcción de una máquina trituradora de hojas secas de Guayusa con una capacidad de 6.5 quintales por hora. 2015.

RIBAS OZONAS, Bartolomé. Biocidas: Datos sobre su evaluación para la salud, industria alimentaria e impacto ambiental.

RINCÓN, J., et al. Preliminary Study on the Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Nicotine from Tobacco Wastes. En: SEPARATION SCIENCE AND TECHNOLOGY. Jan 1, .vol. 33, no. 3, p. 411-423

RUIZ GIRALDO, Martha and SUSUNAGA SUSUNAGA, Clara. Actividad antimicrobiana presente en partes aéreas de las especies bursera simarouba y bursera graveolens (burseraceas), frente a microorganismos como: agrobacterium tumefaciens, erwinia carotovora, fusarium oxysporum, trichoderma viride y botrytis cinerea. PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA,

RUIZ RODRIGUEZ, Alejandro; BRONZE, Maria Rosário and PONTE, Manuel Nunes da. Supercritical fluid extraction of tobacco leaves: A preliminary study on the extraction of solanesol. En: THE JOURNAL OF SUPERCRITICAL FLUIDS. vol. 45, no. 2, p. 171-176

SACCONI, Valeria. América Latina, un continente infestado por los pesticidas . 2018.

SANDOVAL TORRES, Sadoth; VALAT, Marc and GINISTY, Pascal. Análisis de la filtración centrífuga de una suspensión. Instituto politécnico Nacional CIIDIR Unidad Oaxaca,

SELLAMEN GARZÓN, Alexander; VERNAZZA PÁEZ, Álvaro and CASTELLANOS SUÁREZ, Caidia. Responsabilidad social empresarial en la industria del tabaco en Colombia. En: REVISTA CIFE: LECTURAS DE ECONOMÍA SOCIAL. vol. 16, no. 24, p. 89-118

SHIMONI, M., et al. Antifungal activity of volatile fractions of essential oils from four aromatic wild plants in Israel. En: JOURNAL OF CHEMICAL ECOLOGY. Jun. vol. 19, no. 6, p. 1129-1133

SOLANO, Orlando and MOYA, Robinson. Plaguicidas orgánicos, plantas con acción insecticida. p. 1-24

SOYLU, Emine Mine; SOYLU, Soner and KURT, Şener. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent Botrytis cinerea. En: INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD MICROBIOLOGY. vol. 143, no. 3, p. 183-189

SUÁREZ CERQUERA,Aidé andCASTILLO ACOSTA,Camilo Andrés. Separación de una mezcla binaria etanol-agua en columna de destilación de platos UDCC . En: REVISTA ONTARE. May 11, .vol. 3, no. 2, p. 161

ŠVOB TROJE,Z.; FRÖBE,Z. andPEROVIĆ,Đ. Analysis of selected alkaloids and sugars in tobacco extract. En: JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A. vol. 775, no. 1-2, p. 101-107

T. KOIKE,Steven andBOLDA,Mark. El moho gris o pudrición de fresa. no. 13,

TAYOUB,Ghaleb; SULAIMAN,Huda andALORFI,Malik. Determination of nicotine levels in the leaves of some Nicotiana tabacum varieties cultivated in Syria. En: HERBA POLONICA. vol. 61, no. 4, p. 23-30

TENA NUÑEZ,Guillermo. Estudios sobre el tabaco: los alcaloides. 1-4 p.

TREJO TAPIA,Gabriela andRODRÍGUEZ MONROY,Mario. La agregación celular en la producción de metabolitos secundarios en cultivos vegetales in vitro. En: INTERCIENCIA. vol. 32, no. 10, p. 669-674

Universidad Carlos de madrid. Disoluciones. Disponible en:

http://163.117.136.247/quimica-fisica/quimica-i/material-de-clase-1/TEMA_10-Disoluciones.pdf

VERGARA SOTOMAYOR,Abel, et al. Obtención de extractos de hojas de Annona muricata L. (guanábana) inducidos por su efecto inhibidor de la corrosión. En: REVISTA DE LA SOCIEDAD QUÍMICA DEL PERÚ. Mar 31, .vol. 84, no. 1, p. 119-132

ANEXOS

ANEXO A. COTIZACIÓN ETANOL 96%



NIT. 830.023.850-4
 +57(1) 405 8080 | +57 321 234 9483
 info@inquimicol.com
 www.inquimicol.com
 Calle 9 No 41 B 30 Bogotá D.C., COL

Bogotá, Agosto 15 de 2020

Señora
Laura Rocio Rodriguez
 La Ciudad

Respetado(a) señor(a):
 Este con el fin de cotizarle el (los) siguiente(s) producto (s):


DESCRIPCION	PRESENTACION	UNIDAD DE	VALOR POR UNIDAD	VALOR POR PRESENTACION	CANTIDAD	SUBTOTAL	IVA 19%	VALOR TOTAL
ETANOL DESNATURALIZADO AL 96% GRADO INDUSTRIAL NO INCLUYE ENVASE	TAMBOR x 200 LTS	LTS	3.300	700.000	1	700.000	133.000	833.000
ETANOL DESNATURALIZADO AL 96% GRADO INDUSTRIAL	GARRAFA x 3 GLS	GLS	16.807	84.035	1	84.035	15.967	100.002
ETANOL DESNATURALIZADO AL 96% GRADO INDUSTRIAL	GALON x 3,75 LTS	GLS	21.008	21.008	1	21.008	3.992	25.000
ENVASE TAMBOR METALICO	-	UND	40.000	40.000	1	40.000	7.600	47.600

Tiempo de entrega: 1 día hábil
 Ciudad de entrega: Bogotá
 Domicilio: Sin Costo
 Cantidad mínima domicilio: Ordenes superiores a 100.000
 Forma de pago: Contado
 Documentos: RUT, Orden de compra

Quedamos en espera de sus gratas ordenes,

Cordialmente,
 Juan Haya

ANEXO B.
FICHA TÉCNICA ETANOL 96%

	HOJA DE SEGURIDAD	Código: GT-F-41
		Fecha: 07/07/2017
	Versión: 04	Página: 1 de 11

TÍTULO: ALCOHOL ETÍLICO 96%

1. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO
<p>1.1 Identificación del Producto: Alcohol etílico 96%</p> <p>1.2 Otros medios de identificación: Etanol, acetato de Hidratación, etil hidróxido.</p> <p>1.3 Usos recomendados y restricciones: Sustancia Química para la síntesis y/o formulación de productos industriales. El etanol se utiliza industrialmente para la obtención de acetaldehído, vinagre, butadieno, cloruro de etilo y nitrocelulosa, entre otros. Es muy utilizado como disolvente en síntesis de fármacos, plásticos, lacas, perfumes, cosméticos, etc. También se utiliza en mezclas anticongelantes, como combustible, como antiséptico en cirugía, como materia prima en síntesis y en la preservación de especímenes fisiológicos y patológicos.</p> <p>1.4 Datos sobre el proveedor: PROTOKIMICA S.A.S. Carrera 52 # 6 Sur – 35 Medellín, (Antioquia) Colombia. Teléfono: (+57) 4-4448787.</p> <p>1.5 Número de teléfono para emergencias: (+57) 4-4448787</p>
2. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS
<p>2.1 Clasificación de la Sustancia o de la mezcla Elementos de la etiqueta Etiquetado según el Reglamento (CE) no 1272/2008 (CLP)</p> <p>Clasificación</p> <p>2.2 Elementos de la Etiqueta</p> <p>Pictograma de Peligro</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>Palabra de Advertencia: PELIGRO</p> <p>Indicación (es)de Peligro</p> <p>H226 Líquidos y vapores inflamables.</p> <p>H336 Puede provocar somnolencia o mareos.</p> <p>Consejos de Prudencia</p> <p>P233: Mantener el recipiente bien cerrado.</p>


Productos Químicos al por Mayor y al Detal – Artículos para Laboratorio y Reactivos
 Implementos de Protección Personal – Fragancias y Sabores – Productos para el Aseo y Limpieza
 Dirección: Cra. 52 No 6 Sur 35 |Medellín – Colombia PBX: (+57) (4) 444-8787
 E-mail: servicioalcliente@protokimica.com Web: www.protokimica.com

	HOJA DE SEGURIDAD	Código: GT-F-41
		Fecha: 07/07/2017
	Versión: 04	Página: 1 de 11

TÍTULO: ALCOHOL ETÍLICO 96%

<p>3.2 Mezcla</p> <p>Aplicable.</p>
4. PRIMEROS AUXILIOS
<p>4.1 Descripción de los Primeros auxilios</p> <p>Tomar precauciones adecuadas para asegurar su propia salud y seguridad antes de intentar un rescate y proveer primeros auxilios. Para obtener información específica referirse a la Reseña de Emergencias en la Sección 3 de esta MSDS.</p> <p><u>Ingestión:</u> NO provocar el vómito. Si la víctima está consciente y alerta, de 2-4 tazas de leche o agua. No dar nada por la boca a una persona inconsciente. Acudir a un médico.</p> <p><u>Inhalación:</u> Remueva de la exposición y mueva al aire fresco inmediatamente. Si no respira, hacer la respiración artificial. Si la respiración es difícil, darle oxígeno. Acudir a un médico. NO use resucitación boca a boca.</p> <p><u>Contacto con la piel:</u> Acudir a un médico. Lave la piel con abundante agua durante al menos 15 minutos mientras se quita la ropa y zapatos contaminados. Lave la ropa antes de usarla nuevamente. Lave la piel con abundante agua y jabón.</p> <p><u>Contacto con los ojos:</u> Enjuagar los ojos inmediatamente con abundante agua durante al menos 15 minutos, levantando ocasionalmente los párpados superior e inferior. Acudir a un médico. Levante suavemente los párpados y lavar continuamente con agua.</p> <p>4.2 Principales Síntomas y efectos, agudos o retardados</p> <p>Ojo: Provoca irritación ocular grave. Posibilidad de sensibilización dolorosa a la luz. Puede causar conjuntivitis química y daño de la córnea.</p> <p>Piel: Causa irritación moderada de la piel. Puede causar cianosis de las extremidades.</p> <p>Ingestión: Puede causar irritación gastrointestinal con náuseas, vómitos y diarrea. Puede causar toxicidad sistémica con acidosis. Puede causar depresión del sistema nervioso central, caracterizada por la excitación, seguido de dolor de cabeza, mareos, somnolencia y náuseas. Las etapas avanzadas pueden causar colapso, inconsciencia, coma y posible muerte por insuficiencia respiratoria.</p> <p>Inhalación: La inhalación de altas concentraciones puede causar efectos del sistema nervioso central caracterizado por náuseas, dolor de cabeza, mareos, pérdida del conocimiento y coma. Causa irritación del tracto respiratorio. Puede causar efectos narcóticos en alta concentración. Los vapores pueden causar mareos o sofocación.</p> <p>Crónica: Puede causar efectos reproductivos y fetales. Los experimentos de laboratorio han producido efectos mutagénicos. Los estudios en animales han reportado el desarrollo de tumores. La exposición prolongada puede causar daño al hígado, los riñones y daño al corazón.</p> <p>4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse.</p> <p><u>Nota al médico:</u> Tratamiento sintomático y de apoyo. Las personas con trastornos de la piel o de los ojos o el hígado, los riñones, enfermedades respiratorias crónicas o enfermedades del sistema nervioso central y periférico, pueden correr mayor riesgo de la exposición a esta sustancia.</p> <p><u>Antídoto:</u> Reemplaza el líquido y electrolitos</p>


Productos Químicos al por Mayor y al Detal – Artículos para Laboratorio y Reactivos
 Implementos de Protección Personal – Fragancias y Sabores – Productos para el Aseo y Limpieza
 Dirección: Cra. 52 No 6 Sur 35 | Medellín – Colombia PBX: (+57) (4) 444-8787
 E-mail: servicioalcliente@protokimica.com Web: www.protokimica.com

	HOJA DE SEGURIDAD	Código: GT-F-41
		Fecha: 07/07/2017
	Versión: 04	Página: 1 de 11

TÍTULO: ALCOHOL ETÍLICO 96%


5. MEDIDAS DE LUCHA CONTRA INCENDIO
<p>5.1 Medios de extinción</p> <p>Medios De Extinción Recomendados: Para pequeños incendios, use polvo químico seco, dióxido de carbono, agua pulverizada o espuma resistente al alcohol. Para grandes incendios, use agua pulverizada, niebla o espuma resistente al alcohol. Utilizar pulverización de agua para enfriar los envases expuestos al fuego. El agua puede ser ineficaz. NO utilice Chorros directos de agua.</p> <p>5.2 Peligros específicos derivados de la mezcla.</p> <p>Riesgos especiales: El fuego puede producir un espeso humo negro. Como consecuencia de la descomposición térmica, pueden formarse productos peligrosos: monóxido de carbono, dióxido de carbono. La exposición a los productos de combustión o descomposición es perjudicial para la salud.</p> <p>5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios.</p> <p>Instrucciones para extinción de incendio: Enfriar los contenedores cerrados expuestos al fuego con agua pulverizada. Impedir la contaminación de las aguas superficiales o subterráneas por el agua que ha servido a la extinción de incendios. Reprimir los gases/vapores/neblinas con agua pulverizada.</p> <p>Equipo de protección contra incendios: Según la magnitud del incendio, puede ser necesario el uso de trajes de protección contra el calor, equipo respiratorio autónomo, guantes, gafas protectoras o máscaras faciales y botas.</p> <p>Productos de descomposición peligrosos en caso de incendio: En caso de incendio pueden formarse: monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO₂).</p>
6. MEDIDAS A TOMAR EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL
<p>6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia.</p> <p>Utilícese equipo de protección individual. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Contenga y recupere el líquido cuando sea posible. Recoja el líquido en un recipiente apropiado o absorba con un material inerte (ej. vermiculita, arena seca, tierra) y colóquelo en un contenedor para desechos químicos. No use materiales combustibles como el serrín. No echar a la alcantarilla. Evacuar el personal a zonas seguras. Equipo de protección individual.</p> <p>6.2 Precauciones relativas al medio ambiente.</p> <p>Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado. La descarga en el ambiente debe ser evitada.</p> <p>6.3 Métodos para la contención y limpieza de vertidos.</p> <p>Contener y recoger el derrame con un aspirador aislado de la electricidad o cepillándolo, y meterlo en un envase Para su eliminación de acuerdo con las reglamentaciones locales.</p>
7. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO
<p>7.1 Precauciones para una manipulación segura.</p>

Productos Químicos al por Mayor y al Detal – Artículos para Laboratorio y Reactivos
 Implementos de Protección Personal – Fragancias y Sabores – Productos para el Aseo y Limpieza
 Dirección: Cra. 52 No 6 Sur 35 | Medellín – Colombia PBX: (+57) (4) 444-8787
 E-mail: servicioalcliente@protokimica.com Web: www.protokimica.com

	HOJA DE SEGURIDAD	Código: GT-F-41
		Fecha: 07/07/2017
	Versión: 04	Página: 1 de 11

TÍTULO: ALCOHOL ETÍLICO 96%

<p>Los vapores son más pesados que el aire y pueden extenderse por el suelo. Pueden formar mezclas explosivas con el aire. Evitar la creación de concentraciones de los vapores en el aire, inflamables o explosivos; evitar concentraciones del vapor superiores a los límites de exposición durante el trabajo. El alcohol sólo debe utilizarse en zonas en las cuales se hayan eliminado toda llama desprotegida y otros puntos de ignición. El equipo eléctrico ha de estar protegido según las normas adecuadas.</p> <p>El alcohol puede cargarse electrostáticamente: Utilizar siempre tomas de tierra cuando se trasvase el producto. Los operarios deben llevar calzado y ropa antiestáticos, y los suelos deben ser conductores. Mantener el envase bien cerrado, aislado de fuentes de calor, chispas y fuego. No se emplearán herramientas que puedan producir chispas.</p> <p>En la zona de aplicación debe estar prohibido fumar, comer y beber.</p> <p>7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades.</p> <p>Almacenar los envases entre 5 y 35° C, en un lugar seco y bien ventilado, lejos de fuentes de calor y de la luz solar directa. Mantener lejos de puntos de ignición. Mantener lejos de agentes oxidantes y de materiales fuertemente ácidos o alcalinos. No fumar. Evitar la entrada a personas no autorizadas. Una vez abiertos los envases, han de volverse a cerrar cuidadosamente y colocarlos verticalmente para evitar derrames.</p> <p>7.3 Usos específicos finales.</p> <p>Sin información disponible.</p>
8. CONTROLES DE EXPOSICIÓN – EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL
<p>8.1 Parámetros de control.</p> <p>Nombre químico ACGIH NIOSH OSHA - PEL Finales Alcohol etílico 1.000 ppm TWA 1000 ppm TWA; 1900 mg / m 3 TWA 3300 ppm IDLH 1000 ppm TWA; 1900 mg / m 3 TWA OSHA PEL Vacated: 1000 ppm TWA; 1900 mg / m3</p> <p>8.2 Controles de la exposición.</p> <p><u>Medidas de Protección individual, como equipo de protección personal:</u></p> <p><u>Medidas de orden técnico:</u> Proveer una ventilación adecuada, lo cual puede conseguirse mediante una buena extracción ventilación local y un buen sistema general de extracción. Si esto no fuese suficiente para mantener las concentraciones de vapores del disolvente por debajo del límite de exposición durante el trabajo, debe llevarse un equipo de respiración adecuado.</p> <p><u>Protección respiratoria:</u> En caso de formarse vapores/aerosoles, usar equipo respiratorio adecuado. Filtro P. Filtro A.</p> <p><u>Protección de los ojos:</u> Utilizar gafas protectoras, especialmente diseñadas para proteger contra las salpicaduras de líquidos. Instalar lavajos de emergencia en las proximidades de la zona de utilización.</p>

	HOJA DE SEGURIDAD	Código: GT-F-41
	Versión: 04	Página: 1 de 11

TÍTULO: ALCOHOL ETÍLICO 96%

<p><u>Protección cutánea:</u> El personal debe llevar ropas antiestáticas de fibra natural o de fibras sintéticas resistentes a altas temperaturas. Debe lavarse todas las partes del cuerpo que hayan estado en contacto con el preparado.</p>
9. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS
<p>9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas</p> <ul style="list-style-type: none"> - Estado físico: Líquido. - Color: Incoloro. - Olor: Olor ligero de alcohol. - Punto de ebullición o punto de ebullición inicial e intervalo de ebullición: 78.5°C - Punto de fusión/punto de congelación: -144.1°C - Inflamabilidad: No relevante. - Límite inferior y superior de explosión/inflamabilidad: 3.3%-19% - Punto de inflamación: 13°C - Temperatura de ignición espontánea: 363°C - Temperatura de descomposición: Información no disponible. - Viscosidad cinemática: 1.20 cP - Solubilidad: Soluble en agua, alcohol metílico, éter, cloroformo, acetona y benceno. - Coefficiente de reparto n-octanol/agua (valor logarítmico): -0.31 - Presión de vapor: 44.0 mmHg. - Densidad y/o densidad relativa: Información no disponible. - Densidad de vapor relativa: Información no disponible - Características de las partículas: Información no disponible <p>9.2 Otras características de seguridad</p> <p>No reporta.</p>
10. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD
<p>10.1 Reactividad. riesgo de ignición, Vapores pueden formar con aire una mezcla explosiva, Vapores pueden formar con aire una mezcla explosiva.</p> <p>10.2 Estabilidad química. El material es estable bajo condiciones ambientales normales y en condiciones previsibles de temperatura y presión durante su almacenamiento y manipulación.</p> <p>10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas. Reacciones fuertes con: Metales alcalinos, Metal alcalinotérreo, Anhídrido acético, Peróxidos, Óxido de fósforo, Muy comburente, Ácido nítrico, Nitrate, Percloratos, => Propiedades explosivas.</p> <p>10.4 Condiciones que deben evitarse. Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.</p> <p>10.5 Materiales incompatibles. Reacciona violentamente con agentes oxidantes fuertes, ácido nítrico, ácido sulfúrico, nitrato de plata, nitrato mercurio, perclorato de magnesio, cromatos, peróxidos. Reacciona ligeramente con hipoclorito de calcio, óxido de plata y amoníaco.</p>