



**BENEMÉRITA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

FACULTAD DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

**“APROVECHAMIENTO DEL LIXIVIADO DEL
RESIDUO EN EL PROCESAMIENTO DE *ALOE*
VERA”**

TESIS PROFESIONAL

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIATURA EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

PRESENTA:

MARTHA XHARENI GARCÍA MARTÍNEZ

DIRECTORES DE TESIS:

Dra. JUANA DEISY SANTAMARÍA JUÁREZ

Dra. MA. DOLORES CASTAÑEDA ANTONIO

Puebla, Pue. Diciembre 2021



BUAP

Oficio No. FIQ/AC/183/2021
Asunto: Registro de Tema de Tesis

C. MARTHA XHARENI GARCÍA MARTÍNEZ
PASANTE DE LA LICENCIATURA EN
INGENIERÍA EN ALIMENTOS
P R E S E N T E:

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería en Alimentos cuyo título es el siguiente:

“Aprovechamiento del lixiviado del residuo en el procesamiento de Aloe vera”

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	ANTECEDENTES
CAPÍTULO 2	METODOLOGÍA
CAPÍTULO 3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA

Directora de Tesis: Dra. Juana Deisy Santamaría Juárez.
Co-Asesora de Tesis: Dra. María Dolores Castañeda Antonio.

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **UNICAMENTE POR UN AÑO**.

Atentamente
“Pensar Bien, Para Vivir Mejor”
H. Puebla de Z., a 9 de junio de 2021


Dra. Valeria Jordana González Coronel
Secretaria Académica



C.c.p. Directora de Tesis: Dra. Juana Deisy Santamaría Juárez.
Co-Asesor de Tesis: Dra. María Dolores Castañeda Antonio
C.c.p. Archivo.

Facultad
de Ingeniería
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San
Manuel, Ciudad Universitaria,
Puebla, Pue. C. P. 72590
01 (222) 229 55 00
Exts. 7250 y 7251

CTAI01



**Benemérita Universidad
Autónoma de Puebla
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**



CIUDAD UNIVERSITARIA

**Mtro. Vladimir Maldonado Guzmán
Director de la Administración Escolar
De la BUAP.
Presente**

**ASUNTO:
AUTORIZACIÓN
IMPRESIÓN DE TESIS**

Por este conducto me permito presentar a Ud. al C. pasante de la carrera de Ingeniería en Alimentos:

Martha Xharení García Martínez

Quién presenta como tema de tesis:

Aprovechamiento del lixiviado del residuo en el procesamiento de Aloe vera

La cual ha sido debidamente revisada y se autoriza para su impresión correspondiente.

Sin otro particular y para los fines que se estimen conducentes reitero mi distinción.

ATENTAMENTE

“Pensar Bien, para Vivir Mejor”

H. Puebla de Z., a 7 de diciembre de 2021

Director de Tesis
Dra. Juana Deisy Santamaría Juárez

Índice

Introducción	6
Planteamiento del problema.....	7
Justificación	8
Objetivo general	9
Objetivos específicos	9
Hipótesis.....	9
Capítulo I Marco teórico	10
1.1 Estructura de la planta de <i>Aloe vera</i>	12
1.2 Composición química de <i>Aloe barbadensis</i> Miller	14
1.3 Antecedentes de biocidas naturales	16
1.4 Marco legal para biocidas	18
1.5 Obtención de extractos de muestras	19
1.6 Técnicas analíticas para la caracterización del lixiviado del residuo de <i>Aloe vera</i>	19
1.6.1 pH	20
1.6.2 Densidad	20
1.6.3 Índice de refracción	20
1.6.4 Espectroscopía infrarroja (IR)	20
1.6.5 Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-EM).....	20
1.7 Evaluación del potencial inhibitorio y toxicidad a través de bioensayos.....	21
1.7.1 Prueba de sensibilidad antimicrobiana (Técnica de Kirby- Bauer)	21
1.7.2 OECD 183. 5-Ensayos para probar la eficacia de los cebos contra las cucarachas (Serie de Pruebas y Evaluación No. 183, Serie de Biocidas No. 5)	22
1.7.3 Prueba de toxicidad aguda sobre lombriz de tierra (<i>Eisenia Foetida</i>) (Earthworm, Acute Toxicity test) (OCDE 207:198)	22
2. Capítulo II Metodología.....	23
2.1 Muestreo.....	23
2.2 Preparación y obtención de muestras.....	24
2.2.1 Lixiviado de pulpa (LP).....	25

2.2.2 Extracto de pulpa residual (EPR)	25
2.2.3 Extracto de la corteza residual (ECR)	27
2.3 Caracterización del lixiviado del residuo de <i>Aloe vera</i> mediante técnicas analíticas	31
2.3.1 Determinación de pH.....	31
2.3.2 Determinación de la densidad.....	31
2.3.3 Medición del índice de refracción.....	32
2.3.4 Obtención del espectro infrarrojo	32
2.3.5 Identificación de compuestos presentes en las muestras por CG-EM	33
2.4 Evaluación del potencial inhibitorio y toxicidad de las muestras a través de bioensayos	34
2.4.1 Medios de cultivo.....	34
2.4.2 Material biológico	34
2.4.3 Ensayo de actividad antimicrobiana por el método de Kirby- Bauer	34
2.4.4 Bio-control de plagas.....	35
2.4.5 Prueba de Toxicidad aguda sobre Lombriz de tierra (<i>Eisenia Foetida</i>).....	37
Capítulo III Resultados y discusión.....	39
3.1 Resultados de la medición de pH, densidad e índice de refracción	39
3.2 Identificación de compuestos por Espectroscopía Infrarroja del lixiviado del residuo de <i>Aloe vera</i>	41
3.3 Identificación de compuestos presentes en las muestras por CG-EM	42
3.3.1 Identificación de compuestos por Cromatografía de gases/Espectrometría de masas en el lixiviado de pulpa (LP)	42
3.3.2 Identificación de compuestos por Cromatografía de gases/Espectrometría de masas en el extracto pulpa residual (EPR).....	46
3.3.3 Identificación de compuestos por Cromatografía de gases/Espectrometría de masas en el extracto de la corteza residual (ECR).....	50
3.4 Resultados del potencial inhibitorio y toxicidad a través de bioensayos	54
3.4.1 Resultados de la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión en agar (Kirby-Bauer).....	54
3.4.2 Resultados del bio control de plagas mediante la evaluación de cebos atrayentes.....	56
3.4.3 Resultados de la prueba de toxicidad aguda de la lombriz de tierra (<i>Eisenia foetida</i>)	60

Conclusión.....	66
Referencias bibliográficas	67

Índice de figuras

Figura 1. Estructura de <i>Aloe barbadensis</i> Miller	12
Figura 2. Estructura de la hoja de <i>Aloe vera</i>	13
Figura 3. Zona geográfica de donde se obtuvo la muestra de <i>Aloe vera</i>	23
Figura 4. Hoja entera de <i>Aloe vera</i>	25
Figura 5. Maceración en etanol/agua (1:1) del lixiviado a partir de la hoja entera de <i>Aloe vera</i>	25
Figura 6. Despulpamiento manual de la hoja de <i>Aloe vera</i>	26
Figura 7. Pulpa residual de <i>Aloe vera</i>	26
Figura 8. Maceración en etanol/agua (1:1) de la pulpa residual de <i>Aloe vera</i>	26
Figura 9. Corteza residual de <i>Aloe vera</i>	27
Figura 10. Secado de la corteza residual de <i>Aloe vera</i>	27
Figura 11. Disminución de partícula de la corteza residual de <i>Aloe vera</i>	28
Figura 12. Maceración en etanol/agua (1:1) del pulverizado de la corteza residual de <i>Aloe vera</i> ...	28
Figura 13. Filtración para la eliminación de partículas solidas	29
Figura 14. Uso de rotavapor para la eliminación del solvente	29
Figura 15. Filtración con microfibra poro 22 µm.....	29
Figura 16. Muestras obtenidas (LP, EPR y ECR)	30
Figura 17. Lectura de pH del lixiviado de <i>Aloe vera</i>	31
Figura 18. Refractómetro Abbe	32
Figura 19. Espectrofotómetro de infrarrojo/ Modelo Spectrum one	33
Figura 20. Equipo Agilent 7890/masas, utilizado para el análisis cromatográfico	33
Figura 21. Crecimiento y reproducción de la lombriz <i>Eisenia Foetida</i>	37
Figura 22. Limpieza de intestinos de la lombriz <i>Eisenia Foetida</i>	37
Figura 23. Halos de inhibición en el hongo <i>Trichoderma</i> con el extracto corteza residual (ECR) ...	54
Figura 24. Lombrices expuestas al lixiviado de pulpa (LP) a las 24 horas	61
Figura 25. Lombrices expuestas al extracto pulpa residual (EPR) a las 24 horas	61

Figura 26. Lombrices expuestas al extracto corteza residual (ECR) a las 24 horas	62
--	----

Índice de tablas

Tabla 1. Composición química de <i>Aloe vera</i>	15
Tabla 2. Investigaciones científicas acerca del potencial inhibitorio de <i>Aloe vera</i>	17
Tabla 3. Parámetros obtenidos en el lixiviado del residuo de <i>Aloe vera</i>	39
Tabla 4. Parámetros reportados en <i>Aloe vera</i>	39
Tabla 5. Tiempos de retención de los principales compuestos identificados en el lixiviado de pulpa (LP).....	43
Tabla 6. Compuestos reportados en el análisis CG/EM del lixiviado de pulpa (LP).....	44
Tabla 7. Tiempos de retención de los principales compuestos identificados en el extracto pulpa residual (EPR)	47
Tabla 8. Compuestos reportados en el análisis CG/EM del extracto pulpa residual (EPR)	48
Tabla 9. Tiempos de retención de los principales compuestos identificados en el extracto de la corteza residual (ECR)	51
Tabla 10. Compuestos reportados en el análisis CG/EM del extracto corteza residual (ECR)	52
Tabla 11. Resultados del potencial inhibitorio del extracto corteza residual (ECR)	54
Tabla 12. Criterios de interpretación para determinar la sensibilidad al extracto corteza residual (ECR).....	55
Tabla 13. Mortalidad de las cucarachas	57
Tabla 14: Categorías de la CL ₅₀ para las cucarachas	59
Tabla 15. Mortalidad de las lombrices	63
Tabla 16: Categorías de la CL ₅₀ para las lombrices.....	65

Índice de gráficas

Gráfico 1. Espectro Infrarrojo del lixiviado del residuo de <i>Aloe vera</i>	41
Gráfico 2. Cromatograma del extracto lixiviado de pulpa (LP)	42
Gráfico 3. Composición porcentual química presente en el lixiviado de pulpa (LP).....	45
Gráfico 4. Cromatograma del extracto pulpa residual (EPR).....	46
Gráfico 5. Composición porcentual química presente en el extracto pulpa residual (EPR)	49

Gráfico 6. Cromatograma del extracto corteza residual (ECR)	50
Gráfico 7. Composición porcentual química presente en el extracto corteza residual (ECR)	53
Gráfica 8. Resultados de los porcentajes de mortalidad de las cucarachas frente a los extractos..	56
Gráfico 9. CL ₅₀ de los cebos atrayentes en el bio control de la plaga de cucaracha	58
Gráfico 10. Resultados de los porcentajes de mortalidad de la lombriz de tierra (<i>Eisenia foetida</i>) .	63
Gráfico 11. CL ₅₀ para determinar la toxicidad aguda de la lombriz <i>Eisenia foetida</i>	65

Índice de diagramas

Diagrama 1. Preparación y obtención de las muestras	24
Diagrama 2. Metodología para la obtención de cebos atrayentes.....	36

Introducción

La cantidad de desperdicio agroindustrial que surge del procesamiento de toda la hoja de *Aloe vera*, que se considera desperdicio, se puede utilizar de manera racional para la extracción de materias primas (Peralta, 1995) con miras a integrarlos al proceso productivo y así ayudar al medio ambiente.

Los compuestos de origen botánico ocupan un lugar especialmente destacado debido a su gran diversidad y abundancia también por su evolución natural como mecanismo de defensa de numerosas especies vegetales contra depredadores, parásitos y plagas de diversa índole (Gañan, 2014).

Asimismo, los efectos nocivos de los extractos de plantas o sus compuestos puros contra los insectos pueden manifestarse de diversas formas, entre las que se incluyen la toxicidad, la mortalidad, el retraso del crecimiento, la supresión del comportamiento reproductivo y la reducción de la fertilidad. (Nava y col., 2012).

Uno de los métodos clave en la investigación son los bioensayos. Estos bioensayos se utilizan para examinar las propiedades biocidas de las diferentes partes de la planta (raíces, corteza, hojas, frutos, flores, entre otros) así como la eficacia de los extractos obtenidos, las formulaciones y el mecanismo de acción del ingrediente activo (Iannacone y Murrugarra, 2000).

El objetivo de esta investigación está dirigida a la obtención, caracterización y aplicación del lixiviado residual de *Aloe vera* proponiendo minimizar el impacto ambiental generado por el residuo producido en el procesamiento de la pulpa.

Planteamiento del problema

El *Aloe vera* es una especie de gran importancia a nivel mundial y México es uno de los principales países productores y exportadores con una superficie de 5,538.63 hectáreas (Rubio y col., 2018).

La ciudad de Puebla tiene 217 municipios que por su ubicación geográfica son aptos para el cultivo constante de la planta de *Aloe vera*. En varios municipios se procesa y comercializan productos que provienen de la extracción del *Aloe vera* debido a estas actividades cada semana una sola empresa procesa alrededor de 15 toneladas de *Aloe vera*. De esta manera por cada tonelada se tienen aproximadamente 200 litros de jugo de *Aloe vera* que se desechan.

Dentro de este mismo contexto la cantidad de residuos agroindustriales generados por el procesamiento de toda la hoja de *Aloe vera* permanecen en los campos de cultivo los cuales se ven afectados por los lixiviados además de representar una fuente de contaminación debido a su bajo índice de degradación en el medio ambiente (Borges y Rodríguez, 2014).

Por lo tanto, estos residuos no están siendo utilizados para obtener productos de valor agregado en la propia industria y por el contrario presenta un problema ambiental de contaminación al descomponerse y generar aspecto antiestético y mal olor (Curbelo y col., 2017).

Por lo que proponer un posible uso a este residuo es muy importante y una propuesta es un biocida natural debido a que el uso de plaguicidas de origen químico deriva en varios problemas para la agricultura, el desequilibrio del ecosistema y muchas otras consecuencias que su uso indiscriminado ocasionan (Tarqui, 2007).

Justificación

Los residuos generados tras el procesamiento de *Aloe vera* entrarían de nuevo en el ciclo productivo al ser utilizados en el desarrollo de un nuevo producto y aprovechados como fuente de materia prima mejorando así la eficiencia de los recursos y el desarrollo sostenible generando un valor agregado a la propia industria (Hernández y col., 2017).

Por lo cual se propone un biocida de carácter natural lo que contribuiría a la reducción del impacto ambiental puesto que se han utilizado desde la antigüedad debido a varias ventajas, entre ellas: alta disponibilidad de la materia prima, fácil extracción de ingredientes activos, bajos costos de producción y baja toxicidad e inocuidad (Borrego, 2015).

Asimismo, los biocidas tienen un gran campo de aplicación dado que pueden dirigirse contra organismos microscópicos como virus, bacterias, mohos o fermentos u organismos más grandes como insectos, pequeños roedores (incluidas ratas, ratones, entre otros), moluscos, algas e incluso determinadas aves (García, 2010).

Objetivo general

Identificar el potencial inhibitorio y toxicidad del lixiviado del residuo en el procesamiento de *Aloe vera* y proponer una aplicación amigable al ambiente para su aprovechamiento.

Objetivos específicos

- Obtener el lixiviado del residuo de *Aloe vera* a partir del proceso de despulpamiento de la penca.
- Caracterizar el lixiviado del residuo de *Aloe vera*, mediante diversas técnicas analíticas, instrumentales y microbiológicas.
- Evaluar el potencial inhibitorio y toxicidad del lixiviado del residuo de *Aloe vera* a través de bioensayos.
- Proponer un biocida como una aplicación a partir del lixiviado del residuo de *Aloe vera* para su aprovechamiento.

Hipótesis

El lixiviado de *Aloe vera* contiene compuestos activos con potencial inhibitorio que pueden ser aplicados en la formación de un biocida amigable con el medio ambiente.

Capítulo I Marco teórico

Aloe barbadensis Miller comúnmente conocido como *Aloe vera* es una planta medicinal que se ha utilizado como tal durante más de 3000 años. Es una de las aproximadamente 420 especies de *Aloe* que pertenecen a la familia de las liliáceas que se originó en Sudáfrica pero que ahora es autóctona de sub-climas tropicales. Pocas especies de *Aloe* son comercialmente importantes; sin embargo, *Aloe vera* se considera el más potente y por lo tanto el más popular (Boudreau y Beland, 2006).

La primera categorización de los *Aloes* ha sido desarrollada por el botánico Miller quien reporta que *Aloe barbadensis* Miller es oriundo de la isla de Barbados y ha sido introducida al mundo como producto del negocio marítimo en el caribe. Las primeras plantaciones de trascendencia poseen su origen en 1870 no obstante ha sido hasta 1920 una vez que se cultivó a más grande escala (Castro, 2014).

Los científicos han estudiado las propiedades de *Aloe vera* exhaustivamente puesto que las más importantes civilizaciones y culturas catalogaron su uso en pro de la salud y bienestar (Ahmed y Hussain, 2013).

Actualmente *Aloe vera* se utiliza en industria farmacéutica por sus propiedades como la estimulación inmunológica, antiinflamatoria, cicatrización de heridas, promoción de la reparación de daños por radiación, antibacteriano, antivírico, antifúngico y antioxidante. De igual manera se ha comprobado un efecto en el sistema nervioso central encontrándose importantes cambios morfológicos. Por otro lado, se ha observado un papel bastante fundamental en el decrecimiento de los niveles de colesterol (Domínguez y col., 2012).

También es usada para purgar, tratamiento de heridas, infecciones bucales, laxante natural, indicado en caso de estreñimiento de cualquier origen o causa, para el tratamiento de procesos inflamatorios del tracto gastrointestinal, en enfermedades gastrointestinales crónicas como úlceras, gastritis y hemorroides; en enfermedades respiratorias como asma bronquial, bronquitis crónica y coadyuvante en la fluidización de las secreciones bronquiales (Saavedra y col., 2012).

Por otra parte, *Aloe vera* se utiliza para la creación de alimentos funcionales puesto que la investigación en el campo de la nutrición humana se centra actualmente en aquellos componentes de los alimentos que no solo son nutritivos, sino que también promueven y mejoran la salud humana. (Vega y col., 2005). Por esta razón se ha utilizado como estabilizante de grasas, aditivos para el desarrollo de revestimientos comestibles en frutas, generar estabilidad en emulsiones, espumas y suspensiones además de contribuir a la formación de geles (Bautista, 2019).

En la industria de los cosméticos hechos a base de *Aloe vera* los productos protegen a corto y a largo plazo la piel puesto que es un activo cosmético muy importante por sus múltiples beneficios dermatológicos entre los que destacan su poder hidratante, emolencia, anestésico local, filtro solar de acción parcial, rejuvenecedor, antienvjecimiento, blanqueamiento, antioxidante y regenerador de las células dañadas de la piel (Antury y col., 2021).

1.1 Estructura de la planta de *Aloe vera*

Como se puede ver en la Figura 1, la planta de *Aloe vera* consta de tallo, hojas y flores en la temporada de floración. Las hojas crecen alrededor del tallo al nivel del suelo en forma de roseta desde el centro hacia arriba y el tallo al florecer forma densos racimos de flores tubulares amarillas o rojas. Las hojas tienen formas lanceoladas y dentadas con espigas que sirven de protección a la planta. La estructura de las hojas está formada por el exocarpio o corteza que se cubre con una fina cutícula. La corteza representa alrededor del 20-30 % del peso de toda la planta y esta estructura es verde o verde azulada dependiendo de varios factores como la ubicación, el clima o la nutrición de la planta (Bonilla y herrera, 2016).



Figura 1. Estructura de *Aloe barbadensis* Miller

La figura 2 muestra las partes exterior e interior de los componentes de la hoja. Como puede observarse, el parénquima, comúnmente conocido como pulpa o gel, se ubica en la parte central de la hoja y representa de 65 a 80 % del peso total de la planta. Entre la corteza y la pulpa, que ocupan toda la superficie interna de la hoja, se encuentran los conductos de aloína, una sustancia amarilla que segrega la planta con olor y sabor desagradable para ahuyentar a posibles depredadores. También parece intervenir en el proceso de control de la evapotranspiración en condiciones de alta radiación solar y sequía. Esta antraquinona es un veneno,

laxante y agente abortivo utilizado en preparaciones farmacéuticas que en ocasiones provoca alergias en personas sensibles y un máximo de 0,1% está permitido en la legislación europea. La presencia de aloína en los alimentos está completamente prohibida (Domínguez et al., 2012).

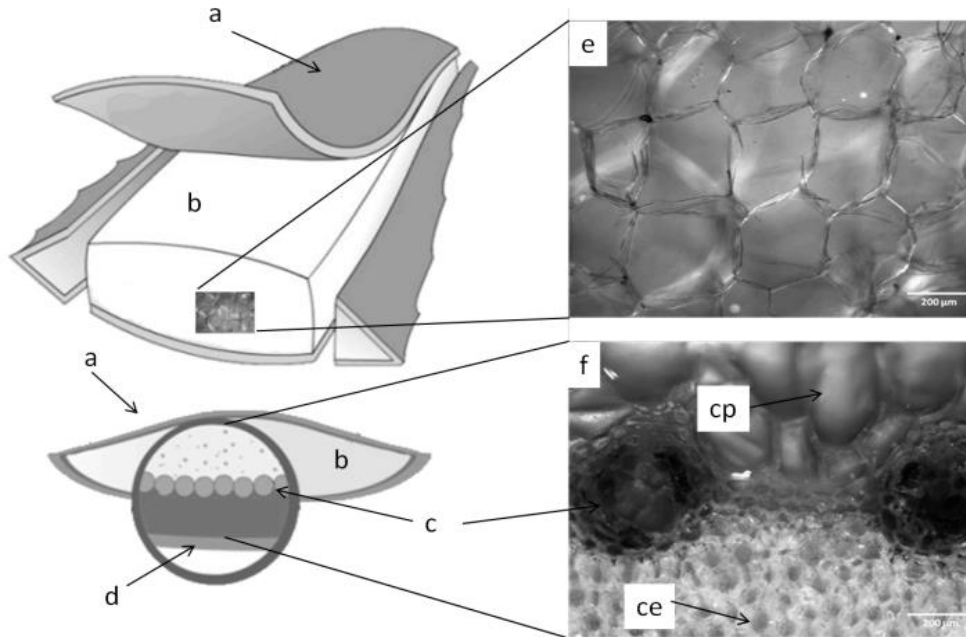


Figura 2. Estructura de la hoja de *Aloe vera*: corteza (a), pulpa o tejido parenquimático (b), conductos de aloína (c), cutícula (d), magnificación de 5x de las células del parénquima (e), corte seccional de la hoja de *Aloe vera* (f), células internas de la corteza (ce), células de parénquima (cp) (Domínguez *et al.*, 2012).

1.2 Composición química de *Aloe barbadensis* Miller

Se reconocen alrededor de 75 sustancias activas en la planta de *Aloe vera* que diferencian entre fenoles como las cromonas (aloesina), antraquinonas (barbaloína, isobarbaloína y aloemodina) y polisacáridos (León y col., 2015).

En la pulpa o gel se encuentran proteínas, lípidos, aminoácidos, vitaminas, enzimas, compuestos orgánicos e inorgánicos y diferentes hidratos de carbono (Navarro, 2013). Está constituido por el 98.5% de agua además de una gran cantidad de mucilagos formados por ácidos galacturónicos, glucorónicos, unidos a azúcares como glucosa, galactosa y arabinosa sin embargo estudios han determinado que el azúcar más importante es la manosa. (Yagi y col., 1984).

En cuanto a la composición de la aloína encontramos que varía en función del *Aloe* de donde proviene y la manera de recolección. Contiene 6-10% de agua, 2% de cenizas, 40-80% de resinas, 20% de aloínas A y B, aloemicina y aloeuricina. Además de una gran cantidad de aminoácidos (valina, metionina, fenilalanina, lisina y leucina), polisacáridos (lignina), carbohidratos (pentosa, galactosa), glicoproteína (aloetina A), ácidos urónicos, ácido cinámico, ácido succínico, ácido fólico, ácido salicílico ácido, lupeol y fenol. También tiene: yodo, cobre, hierro, zinc, fósforo, sodio, potasio, manganeso, azufre, magnesio, germanio y una gran cantidad de calcio; algunos tipos contienen vitaminas A, B1, B2, B6, B12 (Ramírez, 2003).

En la tabla 1, se muestran detalladamente las sustancias presentes en *Aloe vera*

Tabla 1. Composición química de *Aloe vera* (Hamman, 2008; Serna, 2013)

COMPOSICIÓN		COMPUESTOS
Agua/humedad		98.5-99.5%
Compuestos fenólicos	Derivados antraquinónicos	Aloína A y B (conocidos conjuntamente como barbaloína), aloemodina, aloinosidos, hidroxialoína, isobarbaloína.
	Derivados cromónicos	Aloesina, aloeninas y aloeresina.
Cromonas		8-C-glucosil-(2'-O-cinamoil)-7-O-metilaloediol A, 8-C-glucosil-(S)-aloesol, 8-C-glucosil-7-O-metil-(S)-aloesol, 8-C-glucosil-7-O-metilaloediol, 8-C-glucosil-noreugenina, isoaloeresina D, isorabaicromona, neoaloesina A. 4-Hidroxialoína, 5-hidroxialoína.
Carbohidratos		Mannan, Acemannan, glucomannan acetilado, glucogalactomannan, galactano, galactogalacturano, arabinogalactano, galactoglucoarabinomannan, sustancias pécticas, xilano, celulosa. 0.25% (25-50% en peso seco)
Enzimas		Fosfatasa alcalina, amilasa, carboxipeptidasa, catalasa, ciclo-oxidase, ciclooxigenasa, lipasa, oxidasa, fosfoenolpiruvato carboxilasa, superóxido dismutasa, proteasa, celulosa, nucleótidos.
Lípidos y compuestos orgánicos		Ácido arachidónico, ácido γ -linolenic, esteroides (campesterol, colesterol, β -sitosterol), triglicéridos, triterpenos, gibberilinas, ligninas, sorbato de potasio, ácido salicílico.

Compuestos inorgánicos		Calcio, cromo, cobre, hierro, magnesio, manganeso, potasio, fósforo, sodio, zinc.
Aminoácidos esenciales y no esenciales		Alanina, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico, ácido aspártico, glicina, histidina, hidroxiprolina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, treonina, tirosina, valina, treonina, metionina, isoleucina, triptófano, serina, glicerina, cistina.
Proteínas		Lectinas y sustancias similares.
Azúcares	Polisacáridos	Fructosa, aloérido, celulosa, glucomanano neutros, galactogalacturonanos, glucogalactomananos, arabinosa, acemanano.
	Monosacáridos	Glucosa, manosa, xilosa, galactosa, ramosa, arabinosa y ácidos urónicos.
Vitaminas		A, B1tiamina, B2, B6, C, E β -caroteno, ácido fólico, α -tocoferol.

1.3 Antecedentes de biocidas naturales

En la tabla 2, se presentan investigaciones de carácter científico utilizando *Aloe vera* para la comprobación de su potencial inhibitorio.

Tabla 2. Investigaciones científicas acerca del potencial inhibitorio de *Aloe vera*

AUTOR	TÍTULO	APLICACIÓN	RESULTADOS
(Reyes y col., 2014)	Actividad antimicrobiana in vitro del extracto foliar de sábila (<i>Aloe vera</i> L.) en microorganismos de interés clínico	<i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Cándida albicans</i>	A las 24 horas, la CMI fue 35, 40 y 55% y la CMB fue 40, 45 y 60% CMI y CMF 55 y 60%
(Rivero y col., 2002)	Obtención y caracterización preliminar de un extracto de <i>Aloe vera</i> con actividad antiviral	Virus <i>Herpes simplex</i> tipo 1 (HSV-1)	Toxicidad media de $3,8 \pm 0,3$ mg/mL y dosis efectiva de $0,80 \pm 0,05$ mg/mL
(Martínez y col., 1996)	Ausencia de actividad antimicrobiana de un extracto acuoso liofilizado de <i>Aloe vera</i> (sábila)	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ligera actividad inhibitoria
(Villalobos y col., 2001)	Efecto de un enjuague bucal compuesto de <i>Aloe vera</i> en la placa bacteriana e inflamación gingival	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Citrobacter species</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>S. pyogenes</i> y <i>Streptococcus agalactiae</i>	Las concentraciones a un 60% tuvieron actividad bactericida

1.4 Marco legal para biocidas

En esta investigación se emplearon algunas normas que permiten llevar a cabo un trabajo que presente el respaldo legal, así como la validación necesaria para la correcta ejecución de las actividades a desarrollar siendo el marco legal el siguiente:

La Norma Mexicana NMX-AA-087-1995-SCFI Indica como debe realizarse la evaluación de toxicidad en lixiviados a través del método Probit, también conocido como "Método de Unidades probabilísticas" el cual es utilizado para evaluar la relación dosis respuesta de un contaminante sobre un organismo, medida en términos de la concentración letal media (CL_{50}) y la precisión o intervalo de confianza a considerar (NMX-AA-087-1995-SCFI).

Instituto Colombiano Agropecuario-ICA. Resolución No. 00375 Considera los bioensayos, características químicas, método(s) analítico(s) utilizado(s) y microbiológicas en un extracto vegetal además de la categoría toxicológica en el control de plagas (Resolución No. 00375).

Reglamento Unión Europea (UE) No. 528/2012 Indica que los biocidas no presenten efectos nocivos en la salud humana o animal ni efectos inaceptables en el medio ambiente. Los requisitos de información para la aprobación incluyen propiedades fisicoquímicas, eficacia, propiedades toxicológicas y eco toxicológicas (Reglamento 528/2012).

Decreto 1443 del 7 de mayo de 2004 Cuyo propósito es definir medidas ambientales para el manejo de plaguicidas y para evitar y eliminar en forma segura los desechos o sus residuos peligrosos con el fin de proteger la salud humana y el medio ambiente (Decreto 1443 de 2004).

1.5 Obtención de extractos de muestras

Las técnicas clásicas de extracción permiten la obtención de compuestos bioactivos mediante la utilización de solventes orgánicos (Azmir *et al.*, 2013). En donde el material vegetal debe ser previamente tratado como es el corte, secado, molienda, maceración y filtración del líquido para tener rendimientos de extracción razonables (Starmans y Nijhuis, 1996; Arciniegas, 2020).

Asimismo, el tiempo de extracción es largo en las técnicas convencionales, como en el caso de la recuperación de fenoles libres, donde la extracción puede tardar hasta 24 horas. Sin embargo, la extracción durante un largo período de tiempo y a altas temperaturas puede conducir no solo a una pérdida de bioactividad, sino también a la degradación de ciertos compuestos fenólicos como las antocianinas (Belwal *et al.*, 2018).

El uso de disolventes no tóxicos es útil para mejorar el rendimiento y la calidad de los compuestos bioactivos recuperados como el agua y el etanol, e incluso una mezcla de ambos para reemplazar formas más tóxicas como metanol, cloroformo y diclorometano (Arciniegas, 2020). El etanol también es el disolvente más utilizado a nivel de laboratorio porque se recupera fácilmente (Eslava y Fajardo, 2020).

Dentro de las técnicas más usadas por su facilidad, accesibilidad y costo es la maceración en los diversos solventes, que serán elegidos por la naturaleza química de los compuestos a obtener.

1.6 Técnicas analíticas para la caracterización del lixiviado del residuo de *Aloe vera*

Las técnicas analíticas se utilizan para la cuantificación de los principios activos (Díaz y col., 1998) por lo que son indispensables en múltiples áreas de investigación como lo es el análisis ambiental (Talero y col., 2014).

Dentro de las principales técnicas usadas para la caracterización de lixiviados se encuentran pH, densidad, índice de refracción, Espectroscopía Infrarroja (IR) y Cromatografía de gases acoplada a Espectrofotometría de masas (GC-EM).

1.6.1 pH

Escala de acidez de un medio determinado. Un pH de 7 indica que es neutro mientras que un pH de 0 a 7 indica que ácido y de 7 a 14 es básico (Basáez, 2009).

1.6.2 Densidad

La densidad es una propiedad intensiva de la materia, es decir, no depende de la cantidad de sustancia, sino de la temperatura. La densidad de una sustancia se define como la relación entre su masa y cada unidad de volumen. Entonces, si conocemos la masa y el volumen de una sustancia (sólida, líquida o gaseosa), podemos determinar su densidad (Vázquez, 2019).

1.6.3 Índice de refracción

El índice de refracción es un parámetro muy útil de los medios homogéneos, está estrechamente relacionado con las fuerzas intermoleculares debido a su dependencia de la densidad. Se usa ampliamente en la determinación de la concentración de numerosas soluciones, también es un medio simple y económico de caracterizar compuestos simples en cooperación con otras técnicas (Mujica, 2013).

1.6.4 Espectroscopía infrarroja (IR)

La técnica de Espectroscopía de Infrarrojo permite identificar sustancias químicas o grupos funcionales. Esto se debe a que cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, la vibración intramolecular a una frecuencia igual a la radiación aumenta en intensidad, creando señales a frecuencias que corresponden a la vibración de un enlace particular. El rango de infrarrojos se divide en tres áreas llamadas infrarrojo cercano (NIR), infrarrojo medio (MIR) e infrarrojo lejano (Triana, 2019).

1.6.5 Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-EM)

La cromatografía de gases es una técnica que tiene la cualidad de obtener la separación de mezclas muy complejas. Pero una vez separados, detectados e incluso cuantificados todos los componentes individuales de una muestra de ensayo, el único dato que tenemos para identificar cada uno de ellos es el tiempo de retención de los picos cromatográficos correspondientes. Por otro lado, la

espectrometría de masas puede identificar casi inequívocamente cualquier sustancia pura, pero normalmente es incapaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar primero sus componentes, debido a la extrema complejidad del espectro obtenido al superponer los espectros particulares de cada uno. componente. Por tanto, la combinación de las dos técnicas, GC ("Cromatografía de gases") y MS ("Espectrometría de masas") da lugar a una técnica GCMS combinada que permite la separación e identificación de mezclas complejas (Gutiérrez y Droguet, 2002).

1.7 Evaluación del potencial inhibitorio y toxicidad a través de bioensayos

Los bioensayos son herramientas muy utilizadas en el campo de la ecotoxicología que establecen relaciones concentración-efecto en condiciones controladas en el laboratorio. Los bioensayos de toxicidad poseen múltiples beneficios: son rápidos, se pueden controlar las condiciones, los resultados se pueden repetir y son comparables además muestran el riesgo potencial de un compuesto al medio ambiente y la concentración en la que el impacto adverso produce (Castañedo y col., 2019; Reglamento 528/2012).

1.7.1 Prueba de sensibilidad antimicrobiana (Técnica de Kirby- Bauer)

Esta prueba determina la sensibilidad de un microorganismo a los agentes antimicrobianos cuando se expone a una concentración estandarizada. Se pueden realizar pruebas de susceptibilidad para bacterias, hongos o virus. La técnica de difusión en agar es cualitativa y sus resultados solo pueden interpretarse como sensibles, intermedios o resistentes, y ha sido especialmente desarrollada para bacterias de rápido crecimiento (Herrera, 1999; Castañeda y col., 2018).

La interpretación del antibiograma tiene la propiedad de determinar la probabilidad de éxito o fracaso resultante del uso de antibióticos contra los microorganismos que causan una infección y que fueron examinados en el antibiograma. Además de la generación, en base al conocimiento microbiológico, se genera la correlación entre el antibiograma y el éxito terapéutico (Resolución No. 00375; Hernández, 2013).

1.7.2 OECD 183. 5-Ensayos para probar la eficacia de los cebos contra las cucarachas (Serie de Pruebas y Evaluación No. 183, Serie de Biocidas No. 5)

Esta prueba de laboratorio está destinada a evaluar la eficacia de las sustancias de prueba y/o la eficacia de los productos de prueba utilizados como cebos para el control de especies de cucarachas.

Los cebos contienen uno o más ingredientes insecticidas activos combinados con un alimento o compuesto atrayente no activo para cucarachas.

Las siguientes especies son candidatas para las pruebas en Europa, América del Norte, Australia y Asia debido a su importancia para la salud pública en estas regiones: *Blatella germanica* (cucaracha alemana), *Blatta orientalis* (cucaracha oriental), *Periplaneta americana* (cucaracha americana), *Supella longipalpa* (cucaracha marrón o de dormitorios) o *Periplaneta australasie* (cucaracha australiana, hawaiana y sureste de EE. UU).

Las cucarachas que se utilizan en las pruebas se crían en el laboratorio y se utilizan adultos o ninfas de etapas tempranas, medias o tardías. La mortalidad se evalúa los días 1 y 2 y cada 24 horas.

1.7.3 Prueba de toxicidad aguda sobre lombriz de tierra (*Eisenia Foetida*) (Earthworm, Acute Toxicity test) (OCDE 207:198)

La especie recomendada de lombriz de tierra es *Eisenia foetida*, aunque el estándar permite utilizar otras especies. La prueba de contacto con papel de filtro es una prueba de selección inicial opcional para identificar sustancias químicas potencialmente tóxicas para las lombrices de tierra.

Los efectos tóxicos para evaluar pueden incluir mortalidad, inmovilidad, inhibición del crecimiento de la población, cambios en el comportamiento y el peso. Se determinan diferentes variables como por ejemplo la concentración letal 50 (CL₅₀), es decir, la concentración determinada estadísticamente de una sustancia que se espera que conduzca a la muerte durante o en un período definido posterior, el 50% de los animales expuestos a esta sustancia durante un cierto período de tiempo (Alcívar *et al.*, 2016).

2. Capítulo II Metodología

2.1 Muestreo

El *Aloe vera* usado como materia prima para su caracterización, fue proporcionado por la empresa ubicada en la comunidad de San Bernardino Tlaxcalancingo en San Andrés Cholula, Puebla, México. En la figura 3, se observa la zona geográfica, donde fueron recolectadas aleatoriamente las muestras de *Aloe vera*.

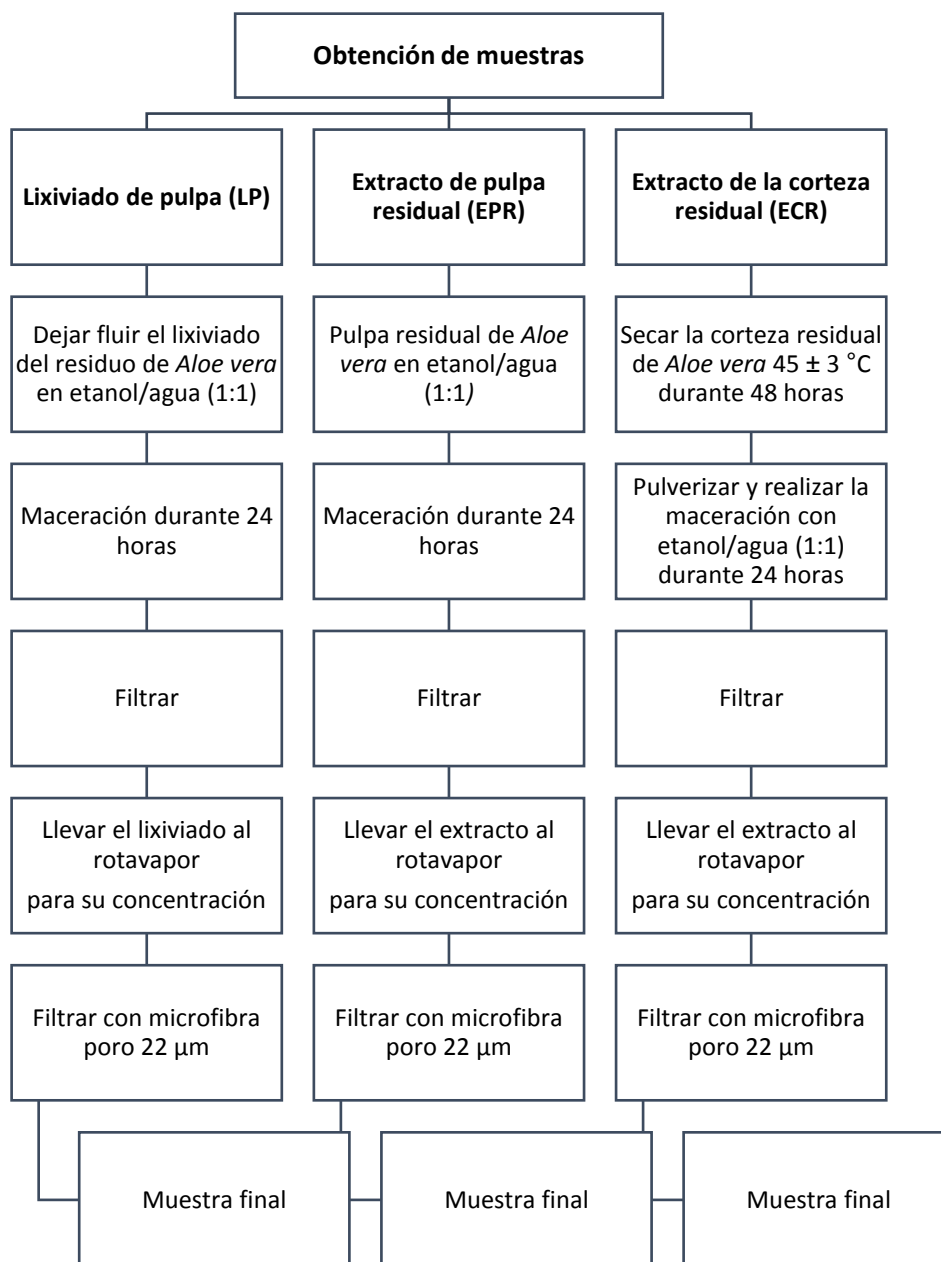


Figura 3. Zona geográfica de donde se obtuvo la muestra de *Aloe vera*

2.2 Preparación y obtención de muestras

Para la obtención de los compuestos bioactivos del residuo del *Aloe vera* se emplearon tres modalidades, las cuales fueron: lixiviación de hojas de *A. vera* sobre agua/etanol (1:1), la maceración de la pulpa residual en etanol/agua (1:1) y la maceración del residuo de hoja seco en etanol/agua (1:1) siendo estos procedimientos sugeridos por Rivero y col. (2002)

Diagrama 1. Preparación y obtención de las muestras



2.2.1 Lixiviado de pulpa (LP)

A partir de la hoja entera de *Aloe vera* como se observa en la figura 4, se realizó la maceración para lo cual se dejó fluir el lixiviado en etanol grado farmacéutico y agua (1:1), como se muestra en la figura 5, durante 24 horas.



Figura 4. Hoja entera de *Aloe vera*



Figura 5. Maceración en etanol/agua (1:1) del lixiviado a partir de la hoja entera de *Aloe vera*

2.2.2 Extracto de pulpa residual (EPR)

Se obtuvo despulpando manualmente la hoja de *Aloe vera* como se observa en la figura 6. La pulpa residual obtenida como se muestra en la figura 7, se dejó macerar con etanol grado farmacéutico y agua (1:1) durante 24 horas como se observa en la figura 8.



Figura 6. Despulpamiento manual de la hoja de *Aloe vera*



Figura 7. Pulpa residual de *Aloe vera*



Figura 8. Maceración en etanol/agua (1:1) de la pulpa residual de *Aloe vera*

2.2.3 Extracto de la corteza residual (ECR)

Se preparó a partir de la corteza residual de *Aloe vera* como se observa en la figura 9. Se comenzó con el secado por lo cual se metió a la estufa a 45 ± 3 °C durante 48 horas como se muestra en la figura 10. Posteriormente se realizó la disminución de partículas por lo que se molió en cuchillas hasta obtener un pulverizado como se muestra en la figura 11, continuando con la maceración en etanol grado farmacéutico y agua (1:1) como se observa en la figura 12, durante 24 horas.



Figura 9. Corteza residual de *Aloe vera*



Figura 10. Secado de la corteza residual de *Aloe vera*



Figura 11. Disminución de partícula de la corteza residual de *Aloe vera*

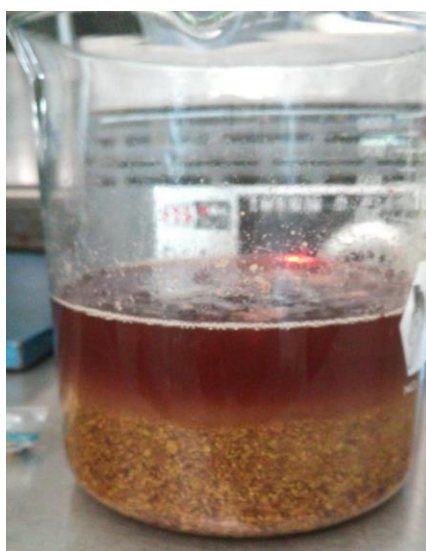


Figura 12. Maceración en etanol/agua (1:1) del pulverizado de la corteza residual de *Aloe vera*

Cada extracto se filtró de forma individual para la eliminación de cualquier tipo de partícula sólida como se observa en la figura 13. Seguidamente se eliminó el solvente excedente para lo cual se utilizó un sistema de rotavapor (Buchi 461) como se muestra en la figura 14. Se continuó a una segunda filtración con microfibras de 22 μm como se observa en la figura 15, obteniendo así las muestras finales como se observa en la figura 16.

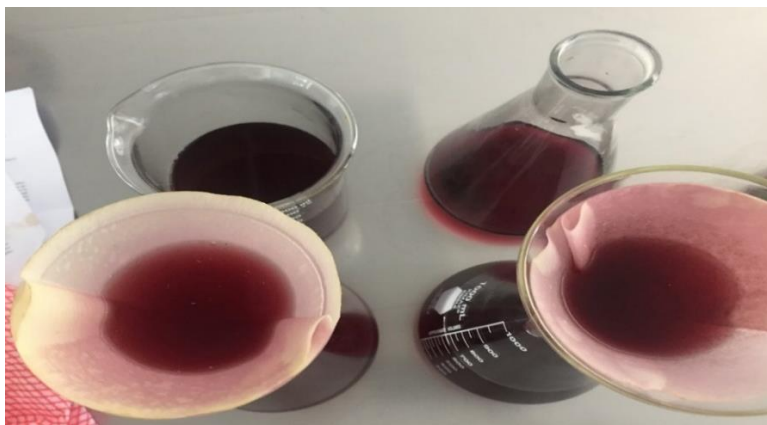


Figura 13. Filtración para la eliminación de partículas solidas

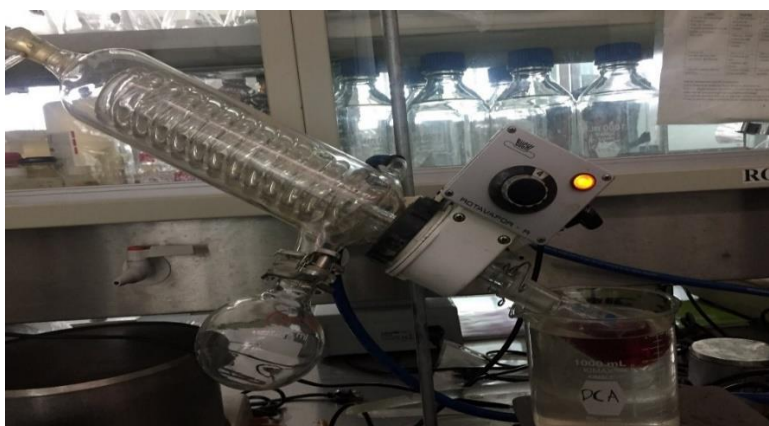


Figura 14. Uso de rotavapor para la eliminación del solvente



Figura 15. Filtración con microfibra poro 22 μm

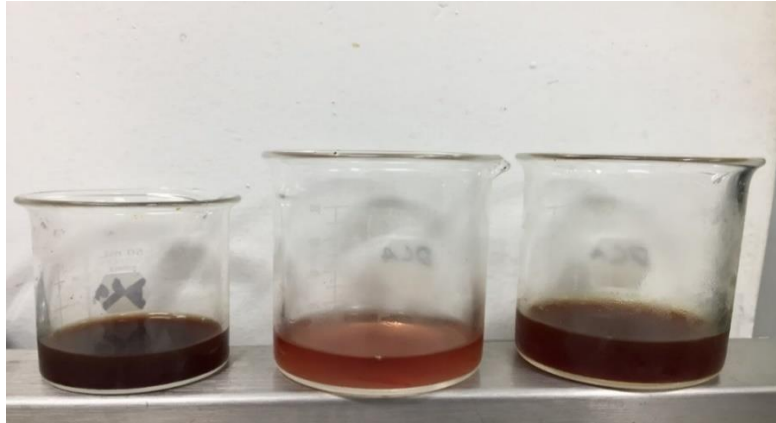


Figura 16. Muestras obtenidas (LP, EPR y ECR)

El diagrama 1, muestra de manera detallada el proceso que se siguió en la preparación y obtención de las muestras.

2.3 Caracterización del lixiviado del residuo de *Aloe vera* mediante técnicas analíticas

La utilización de métodos analíticos es indispensable en un nuevo proyecto para el desarrollo de su formulación además de permitir cuantificar el producto en forma de materia prima o como principio activo. (Díaz y col., 1998).

2.3.1 Determinación de pH

Para conocer el grado de acidez del lixiviado del residuo se utilizó un potenciómetro como se muestra en la figura 17, la calibración se realizó con soluciones buffer una de pH 7 para la zona neutra y otra de pH 4 para la zona ácida. El procedimiento se realizó por triplicado para tener un resultado preciso.

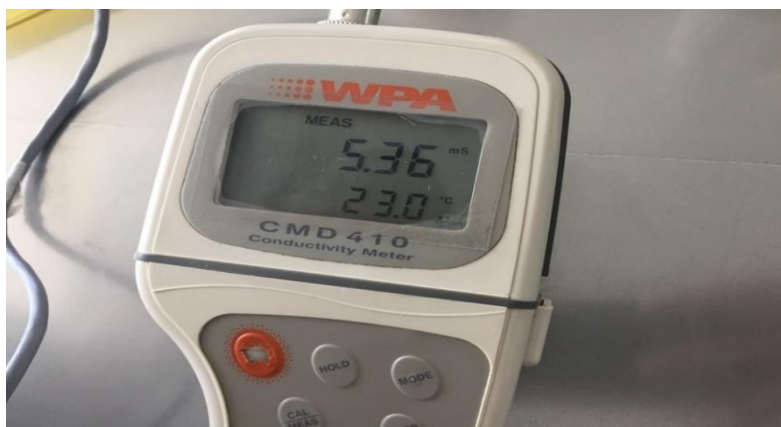


Figura 17. Lectura de pH del lixiviado de *Aloe vera*

2.3.2 Determinación de la densidad

La densidad fue determinada por el método gravimétrico con uso de picnómetro. Por lo cual se comenzó por limpiar perfectamente el picnómetro con agua y alcohol, se verificó que quedara completamente seco para colocarlo en la balanza registrando el resultado del pesaje. Se continuo a llenar el picnómetro con el lixiviado del residuo evitando la introducción de burbujas de aire donde el nivel de llenado fue después del ajuste definitivo del tapón. Se continuo a limpiar el exceso de producto con un pañuelo y seguidamente el picnómetro fue pesado con la muestra y se calculó la densidad.

2.3.3 Medición del índice de refracción

La estandarización del lixiviado por naturaleza de los compuestos contenidos se realizó por refractometría para determinar su índice de refracción y grados Brix por lo que se utilizó el refractómetro Abbe mostrado en la figura 18. Se tomó el lixiviado del residuo con ayuda de una pipeta, se colocaron de 2 a 3 gotas en el prisma de refracción previamente limpio con agua destilada. Utilizando el ajuste de la dispersión y observando por el ocular se manipulo hasta observar que la sombra quedara en el centro.



Figura 18. Refractómetro Abbe

2.3.4 Obtención del espectro infrarrojo

Se uso la espectroscopía Infrarroja (IR) para determinar la naturaleza química del lixiviado del residuo en un rango de $4000-650\text{ cm}^{-1}$. El modelo de espectrofotómetro utilizado fue Spectrum one como se muestra en la figura 19, se verificó que estuviera limpio y que el brazo no esté sobre el cristal seguidamente con una pipeta de goteo se agregó una pequeña cantidad de lixiviado del residuo a la placa de modo que el cristal quedara cubierto por la muestra.

Se continuo a mover el brazo girando la manija en el sentido de las agujas del reloj hasta que la punta metálica estuviera cerca de la placa. Paralelamente se utilizó el programa UV Winlab en computadora para el análisis en donde se establecieron los parámetros y se dio clic en escanear para obtener una vista previa del espectro.



Figura 19. Espectrofotómetro de infrarrojo/ Modelo Spectrum one

2.3.5 Identificación de compuestos presentes en las muestras por CG-EM

Para conocer los componentes de las muestras, la identificación de estas y si es posible la cuantificación de las sustancias se realizó la cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas (GC-EM).

La caracterización se realizó utilizando un cromatógrafo de gases 7890 Agilent Technologies, acoplado a un espectrómetro de masas observado en la figura 20. Se inyectó 1 μ L de cada muestra bajo las siguientes condiciones cromatográficas: uso de una columna DB-5MS, de 0.5 μ m*30m*0.25 μ m DI, temperatura del inyector 180°C, temperatura del detector 220°C, con una rampa que inicia 56°C/1min, 10°C/min, 196°C/1 min, 20°C/1min, 260°C/5 min.



Figura 20. Equipo Agilent 7890/masas, utilizado para el análisis cromatográfico

2.4 Evaluación del potencial inhibitorio y toxicidad de las muestras a través de bioensayos

2.4.1 Medios de cultivo

Los medios de cultivo utilizados fueron Agar cuenta estándar (BD Bioxon) y Agar papa dextrosa (APD). El primero se preparó con 23.5 gramos del polvo y el segundo con 39 gramos del polvo disueltos en un litro de agua purificada de forma individual.

Ambos se calentaron con agitación frecuente y se dejaron hervir durante un minuto hasta que se obtuvo la disolución completa. Posteriormente se esterilizaron a 121 °C durante 15 minutos.

2.4.2 Material biológico

Los hongos y las bacterias afectan a los sembradíos de *Aloe vera* por lo cual las cepas utilizadas en el ensayo de actividad antimicrobiana son: hongo *Trichoderma*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Asimismo, la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión en agar (Técnica de Kirby- Bauer) está diseñada específicamente para bacterias de crecimiento rápido (Herrera, 1999).

2.4.3 Ensayo de actividad antimicrobiana por el método de Kirby- Bauer

Se utilizó un asa bacteriológica estéril la cual se sumergió en el tubo que contenía el hongo *Trichoderma* y se roto contra las paredes del tubo para remover el exceso del inóculo. Seguidamente en el medio de cultivo Agar papa dextrosa se realizó un sembrado masivo. Este método se realizó por triplicado.

Después se colocaron 30 µL de cada una de las muestras (lixiviado de pulpa, extracto pulpa residual y extracto corteza residual) en las cajas Petri, además de etanol, un antimicótico y diluciones al 50% de las muestras.

Para las diluciones se utilizó una placa multipozos, en donde se colocaron 50 µL de cada una de las muestras (lixiviado de pulpa, extracto pulpa residual y extracto corteza residual) en 3 diferentes pozos, posteriormente a cada pozo se le agregaron 50 µL de agua estéril y se homogenizaron con ayuda de la micropipeta.

Posteriormente cada caja Petri se colocó en un cuarto de incubación a 25 ± 5 °C para el crecimiento de la cepa durante 24 horas

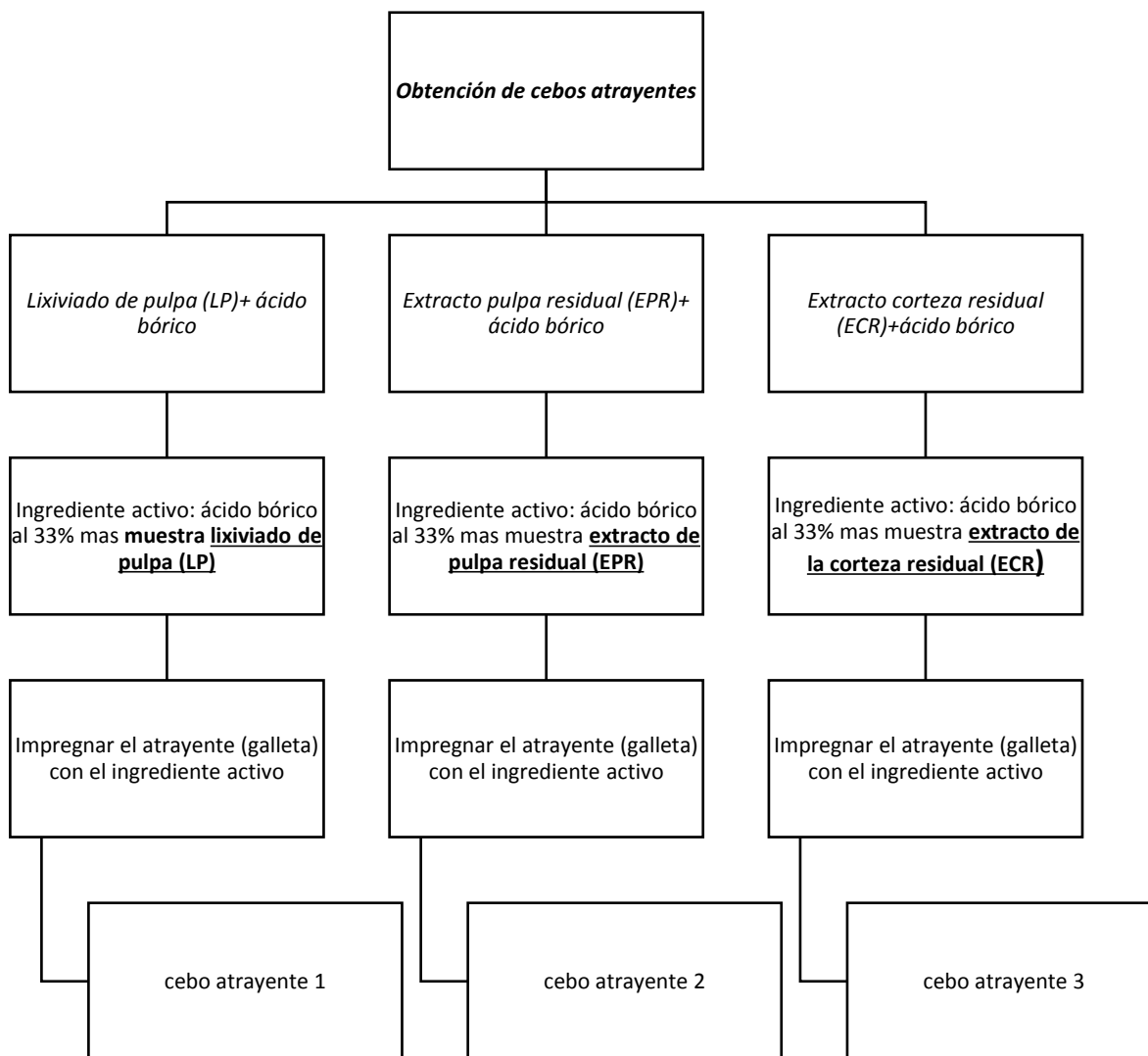
Se siguió el mismo procedimiento para *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* en Agar cuenta estándar sin embargo se utilizó un antibiótico en pastilla previamente diluido con agua estéril en estas cepas.

2.4.4 Bio-control de plagas

Se tomó como referencia la investigación de Duran y col., 2012 donde obtuvieron una formulación en forma de cebo que contenía como ingrediente activo ácido bórico además de harina, azúcar y grasa como atrayente. Obteniendo aceptabilidad, palatabilidad y efectividad en el control de cucaracha (*Blattella germanica* y *Periplaneta americana*) a bajo costo y sin impacto negativo ambiental.

Tomando en consideración lo anterior, para esta prueba se utilizaron cebos atrayentes para el control de cucaracha con cada una de las muestras obtenidas de *Aloe vera* para el control de la plaga. En el diagrama 2, se describe el proceso llevado a cabo para la obtención de cebos atrayentes.

Diagrama 2. Metodología para la obtención de cebos atrayentes



La realización de esta prueba consistió en distribuir los cebos atrayentes en tres diferentes cajas de vidrio de 30 cm por 15 cm para tener una buena visibilidad de las cucarachas. Las tapas de los recipientes consistieron en una malla mosquitera para evitar que los ejemplares se salieran posteriormente los recipientes fueron puestos en un lugar oscuro para evitar el paso de la luz y por lo tanto hubiera una mayor actividad de los insectos (Ramírez, 2000; Guerreo y Cadena, 2016).

2.4.5 Prueba de Toxicidad aguda sobre Lombriz de tierra (*Eisenia Foetida*)

Se realizó la prueba de toxicidad por contacto en papel por lo cual se utilizaron lombrices de la especie *Eisenia foetida* que presentaron clitelo y un peso promedio de 0.30 gramos. En el laboratorio fueron mantenidas en contenedores plásticos para su crecimiento y reproducción como se muestra en la figura 21. Antes de iniciar la prueba las lombrices deben vaciar sus intestinos para lo cual se depositan en cajas Petri sobre papel filtro humedecido con agua desionizada como se observa en la figura 22 y puestas en un lugar oscuro durante 24 horas (Alejo, 2012).



Figura 21. Crecimiento y reproducción de la lombriz *Eisenia Foetida*



Figura 22. Limpieza de intestinos de la lombriz *Eisenia Foetida*

Después de este tiempo fueron seleccionadas las lombrices de igual tamaño en 3 diferentes grupos llevándolas a una báscula digital para verificar el peso al iniciar la prueba de toxicidad aguda.

El bioensayo consiste en poner en contacto a las lombrices de tierra a las sustancias evaluadas en papales filtros humedecidos colocados en viales por lo cual a la caja Petri uno de peso 5.4 gramos se le agrego un papel filtro humedecido con el extracto denominado lixiviado de pulpa (LP) mientras que a la caja Petri dos de peso 9.38 gramos se le agrego un papel filtro humedecido con el extracto pulpa residual (EPR) y finalmente, a la caja Petri número tres de peso 9.65 gramos se le coloco un papel filtro humedecido con el extracto corteza residual (ECR). Posteriormente para determinar la mortalidad de las lombrices las cajas Petri fueron puestas en la oscuridad a 20 ± 2 °C durante 48 horas.

Después de la prueba, se determinaron los datos de mortalidad además de cualquier cambio fisiológico o de comportamiento observado y la concentración letal media (CL₅₀), definida como la concentración de la sustancia probada que mató al 50% de las lombrices de tierra durante el período del bioensayo (OECD 207:1984) (Earthworm, Acute Toxicity test).

Capítulo III Resultados y discusión

3.1 Resultados de la medición de pH, densidad e índice de refracción

Los parámetros obtenidos en el lixiviado del residuo de *Aloe vera* son mostrados en la tabla 3, los cuales fueron comparados con los parámetros de *Aloe vera* reportados en la literatura como se observa en la tabla 4.

Tabla 3. Parámetros obtenidos en el lixiviado del residuo de *Aloe vera*

Parámetros	Rango	Temperatura °C
pH	4.16	24.1
Densidad	1.02 g/mL	24.4
Índice de refracción	1.336 brix mass %	24.4

Tabla 4. Parámetros reportados en *Aloe vera* (*Aloe Science Council*; Organización Mundial de la Salud).

Parámetros	Rango	Temperatura °C
pH	3.5-6.5	20
Densidad	0.99-1.02 g/mL	25
Índice de refracción	1.3320-1.3380 brix mass %	20

Al realizar la comparación el lixiviado del residuo de *Aloe vera* está dentro de los parámetros del control de calidad para *Aloe vera* según la ASC (*Aloe Science Council*) y OMS (Organización Mundial de la Salud).

Mediante la caracterización del lixiviado del residuo de *Aloe vera* se obtuvo un pH de 4.16 considerándose ligeramente ácido, por lo cual se comprobó que se encuentra dentro del rango de calidad establecido entre 3.5 a 6.5. Por otra parte, se obtuvo una densidad de 1.02 g/mL y un índice de refracción de 1.336 brix mass% concordando estos resultados con los reportados en la literatura.

Nardo (2018), menciona que el índice de refracción se reporta a una temperatura de 20 °C ya que en la mayoría de los líquidos el valor disminuye aproximadamente 0.00045 al aumentar 1 °C. Aunque el lixiviado del residuo de *Aloe vera* se tomó a

una temperatura de 24.4 °C para su caracterización se encuentra dentro de los parámetros de calidad reportados en la literatura.

Cabe señalar que en algunas investigaciones previas los parámetros analizados dan diferentes resultados esto es debido a que el jugo de *Aloe vera* es adicionado con algún otro componente. Como es el caso de la investigación de Alvarado y col. (2012), donde obtuvieron un índice de refracción 1.53 debido a interacciones químicas entre *Aloe vera* y la goma gelano.

3.2 Identificación de compuestos por Espectroscopía Infrarroja del lixiviado del residuo de *Aloe vera*

El espectro infrarrojo del lixiviado del residuo de *Aloe vera* se presenta en el gráfico 1.

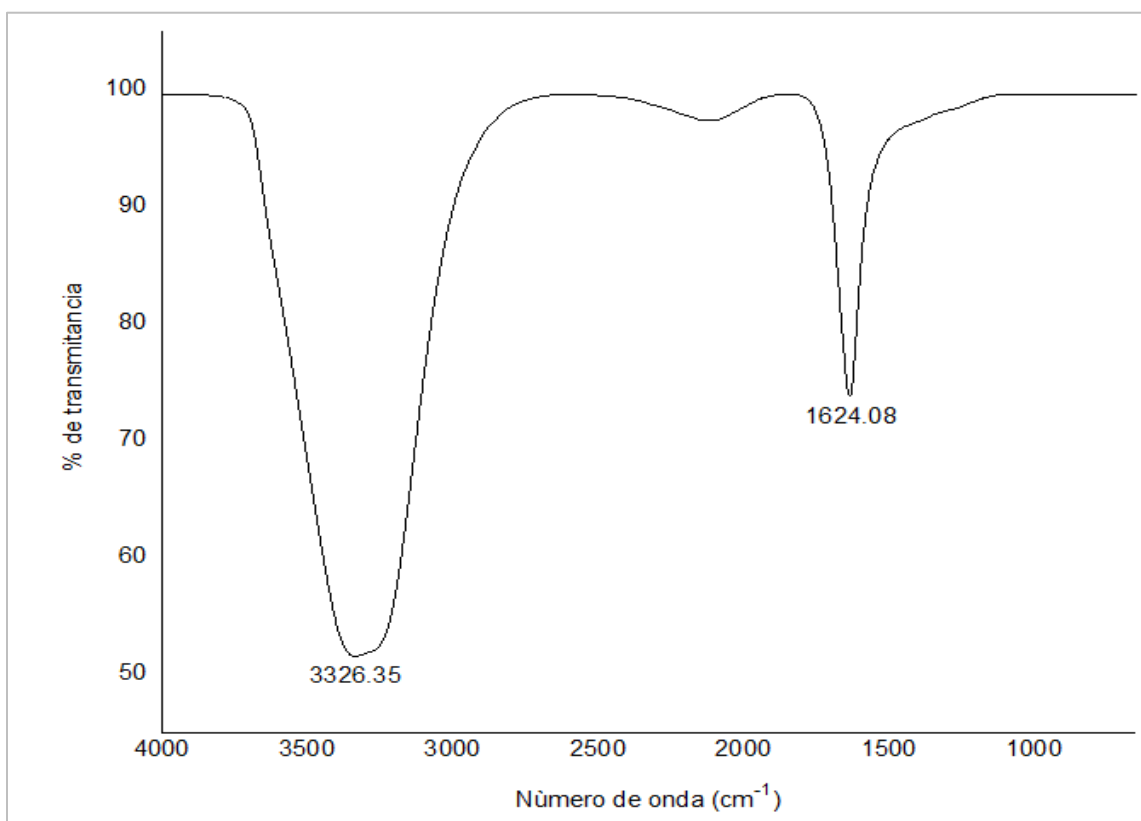


Gráfico 1. Espectro Infrarrojo del lixiviado del residuo de *Aloe vera*

La banda en 3326.35 cm^{-1} corresponde a la vibración de tensión de los grupos -OH de los compuestos fenólicos mientras que banda en 1624.08 cm^{-1} está asignada al grupo α, β -insaturado de $\nu\text{C}=\text{C}$ en la forma *s-cis* conjugados al grupo $\text{C}=\text{O}$.

Prato y col, 2008 caracterizaron el compuesto 1,8 dihidroxiantraquinona en donde obtuvieron -OH fenólicos y cetonas con posibles equilibrios cetoenólicos. Esta estructura concuerda con los grupos observados en el espectro obtenido por lo que el lixiviado de *Aloe vera* contiene el compuesto 1,8-dihidroxiantraquinona. Sugiriendo que los compuestos químicos presentes en el lixiviado residual de *Aloe vera* tiene compuestos antraquinónicos (Saavedra y col., 2012).

3.3 Identificación de compuestos presentes en las muestras por CG-EM

3.3.1 Identificación de compuestos por Cromatografía de gases/Espectrometría de masas en el lixiviado de pulpa (LP)

Se obtuvo el cromatograma del lixiviado de pulpa mostrado en el gráfico 2.

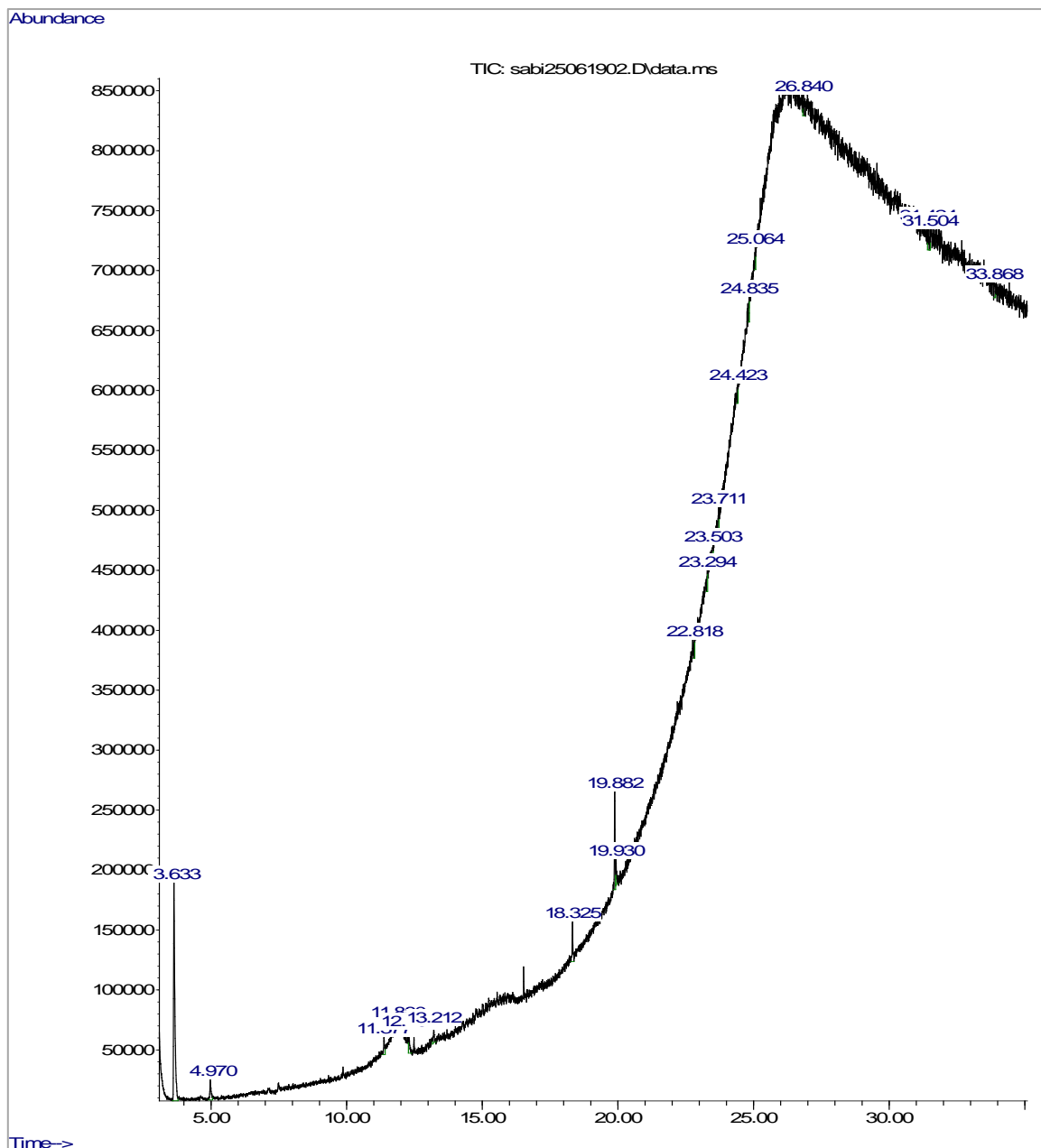


Gráfico 2. Cromatograma del extracto lixiviado de pulpa (LP)

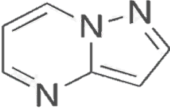
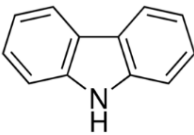
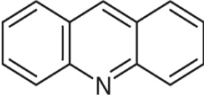
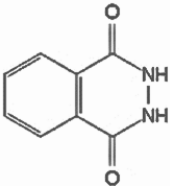
En la siguiente tabla 5, se muestran los tiempos de retención de los principales componentes obtenidos del análisis por CG/EM del lixiviado de pulpa.

Tabla 5. Tiempos de retención de los principales compuestos identificados en el lixiviado de pulpa (LP)

TIEMPO DE RETENCIÓN (min)	% ÁREA	COMPUESTO
11.38	2.46	2,5,7-trimetil-3-fenil-Pirazolo [1,5-a] pirimidina
11.88	2.33	
12.29	3.24	pentametil-Carbazol
19.93	2.74	2-etilacridina
23.29	2.55	2,3-dihidro-6-nitro-1,4-ftalazindiona
23.71	2.65	
24.42	2.26	

En la tabla 6, se presentan los resultados obtenidos del análisis por CG/EM para el lixiviado de pulpa (LP), se mencionan los componentes en el orden en que fueron encontrados.

Tabla 6. Compuestos reportados en el análisis CG/EM del lixiviado de pulpa (LP)

TIPO DE COMPUESTO	NOMBRE DE LA MOLÉCULA	ESTRUCTURA	USOS	FUENTE
Alcaloide	Pirazolo [1,5-a] pirimidina		Antimicrobiano, antifúngico, antiviral, antibacterial, antiinflamatorio, anticancerígeno, tintes orgánicos	(Cherukupalli y col., 2017)
Alcaloide	Carbazol		Actividades antifúngicas, antibacterianas y antimicrobianas	(Zhang <i>et al.</i> , 2010)
Alcaloide	Acridina		Derivados actúan como antibacterianos y anti protozoarios	(Denny, 2002)
Quinona heterocíclica	Ftalazina-1,4-diona		Actividad antibacteriana, antifúngica y antimicrobiana	(Sakka y col., 2009)

En el gráfico 3, se muestran los porcentajes de existencia de los compuestos reportados en el análisis cromatográfico.

PORCENTAJE DE COMPUESTOS EN EL LIXIVIADO DE PULPA

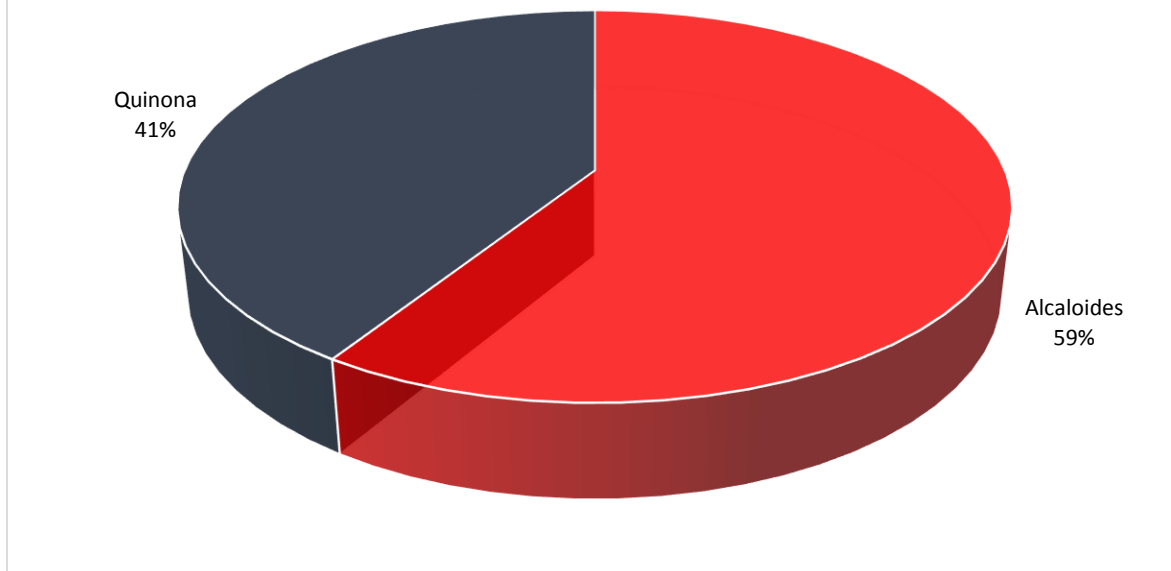


Gráfico 3. Composición porcentual química presente en el lixiviado de pulpa (LP)

Composición química del lixiviado de pulpa

El análisis por CG-EM del lixiviado de pulpa reportó alcaloides resultado que concuerda con anteriores estudios de *Aloe vera* (Domínguez y col., 2012). Con el 59% en este grupo se encuentran las moléculas de pirazolo [1,5-a] pirimidina y carbazol identificándose como componentes de acción antimicrobiana, antifúngicas y antibacterianas (Arunkumar y col., 2010; Cherukupalli y col., 2017; Zhang *et al.*, 2010). Dentro de este grupo también se encuentra el compuesto acridina y sus derivados actúan como anti protozoarios y antibacterianos (Denny, 2002).

Por otra parte, se reporta la presencia de quinona en el lixiviado de pulpa representando el 41% mediante la molécula ftalazina-1,4-diona la cual presenta actividad antibacteriana, antifúngica y antimicrobiana (Sakka y col., 2009).

3.3.2 Identificación de compuestos por Cromatografía de gases/Espectrometría de masas en el extracto pulpa residual (EPR)

Se obtuvo el cromatograma del extracto pulpa residual mostrado en el gráfico 4.

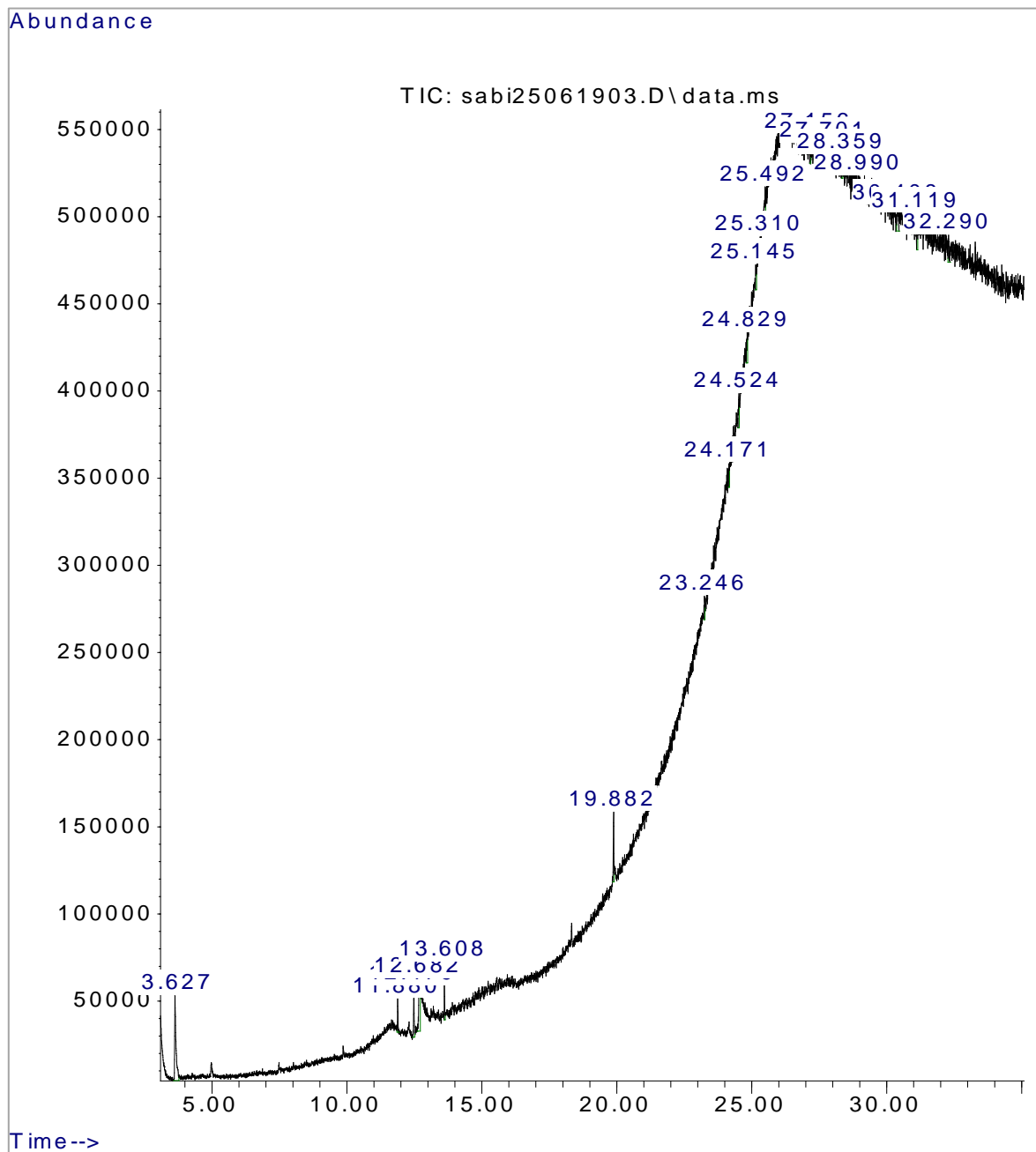


Gráfico 4. Cromatograma del extracto pulpa residual (EPR)


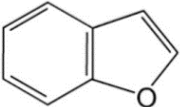
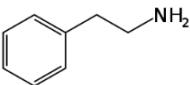
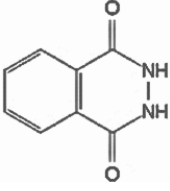
En la siguiente tabla 7, se muestran los tiempos de retención de los principales componentes obtenidos del análisis por CG/EM del extracto pulpa residual.

Tabla 7. Tiempos de retención de los principales compuestos identificados en el extracto pulpa residual (EPR)

TIEMPO DE RETENCIÓN (min)	% ÁREA	COMPUESTO
11.880	2.79	4,5-dihidro-3- (4-metil fenil) -5-fenilo Isoxazol
12.479	4.94	2,3-dihidro-2,2,4,6-tetrametil- Benzofurano
13.608	3.25	p-metoxi- Fenetilamina
24.171	3.01	2,3-dihidro-6-nitro 1,4-ftalazinediona

En la tabla 8, se presentan los resultados obtenidos del análisis por CG/EM para el extracto pulpa residual (EPR), se mencionan los componentes en el orden en que fueron encontrados.

Tabla 8. Compuestos reportados en el análisis CG/EM del extracto pulpa residual (EPR)

TIPO DE COMPUESTO	NOMBRE DE LA MOLÉCULA	ESTRUCTURA	USOS	FUENTE
Alcaloide	Isoxazol		Antibacterial, analgésico, antifúngico, antiinflamatorio, antimicrobiano y antiviral.	(Zhu y col., 2018)
Compuesto fenólico	Benzofurano		Agentes antimicrobianos, antiviral, antiinflamatorio, analgésico	(Khanam, 2015)
Alcaloide	Feniletilamina		Precursor de droga natural	(Rosan, 2005)
Quinona heterocíclica	Ftalazina-1,4-diona		Actividad antibacteriana, antifúngica y antimicrobiana	(Sakka y col., 2009)

En el gráfico 5, se muestran los porcentajes de existencia de los compuestos reportados en el análisis cromatográfico.

PORCENTAJE DE COMPUESTOS EN EL EXTRACTO PULPA RESIDUAL

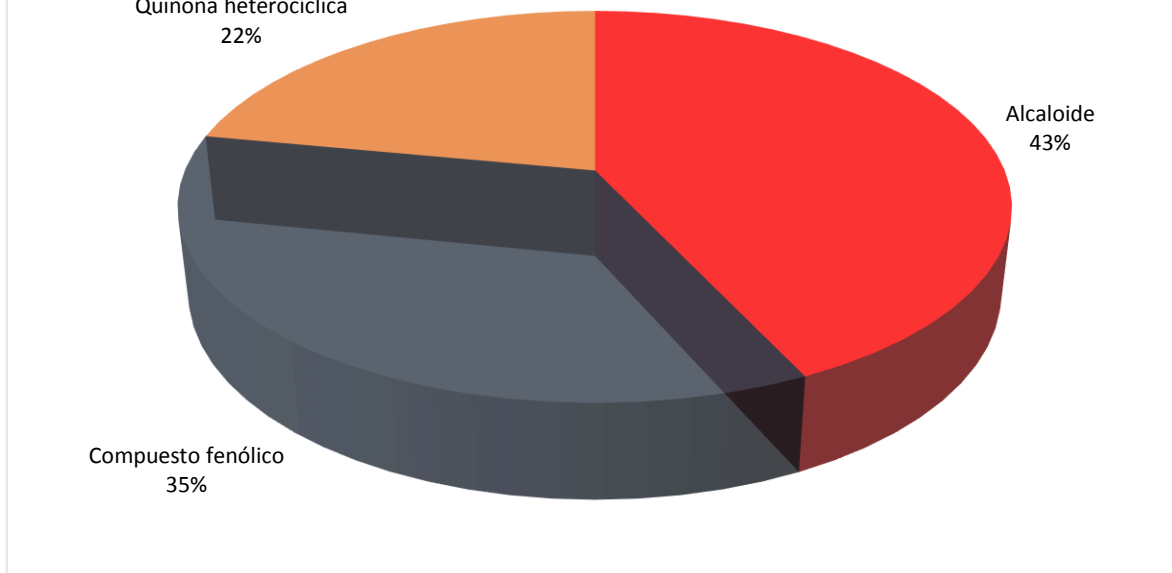


Gráfico 5. Composición porcentual química presente en el extracto pulpa residual (EPR)

Composición química del extracto pulpa residual

El análisis por CG-EM del extracto de pulpa residual reportó alcaloides, compuestos fenólicos y quinona. Este resultado que concuerda con estudios anteriores de *Aloe vera* (Rivero y col., 2002; Sing y Oiga., 2006; Domínguez y col., 2012).

Con el 43% se encontraron alcaloides en donde la molécula de isoxazol presenta actividad antimicrobiana, antiviral, antiinflamatoria, analgésica, antibacteriana y antifúngica (Zhu y col., 2018). Mientras que la feniletilamina es un precursor de droga natural (Rosan, 2005).

Por otra parte, con el 35 % se reporta el compuesto fenólico benzofurano el cual actúa como agente antimicrobiano, antiviral, antiinflamatorio y analgésico (Khanam, 2015). Posteriormente con el 22% se encuentra la quinona ftalazina-1,4-diona la cual reporta actividad antibacteriana, antifúngica y antimicrobiana (Sakka y col., 2009).

3.3.3 Identificación de compuestos por Cromatografía de gases/Espectrometría de masas en el extracto de la corteza residual (ECR)

Se obtuvo el cromatograma del extracto de la corteza residual mostrado en el gráfico 6.

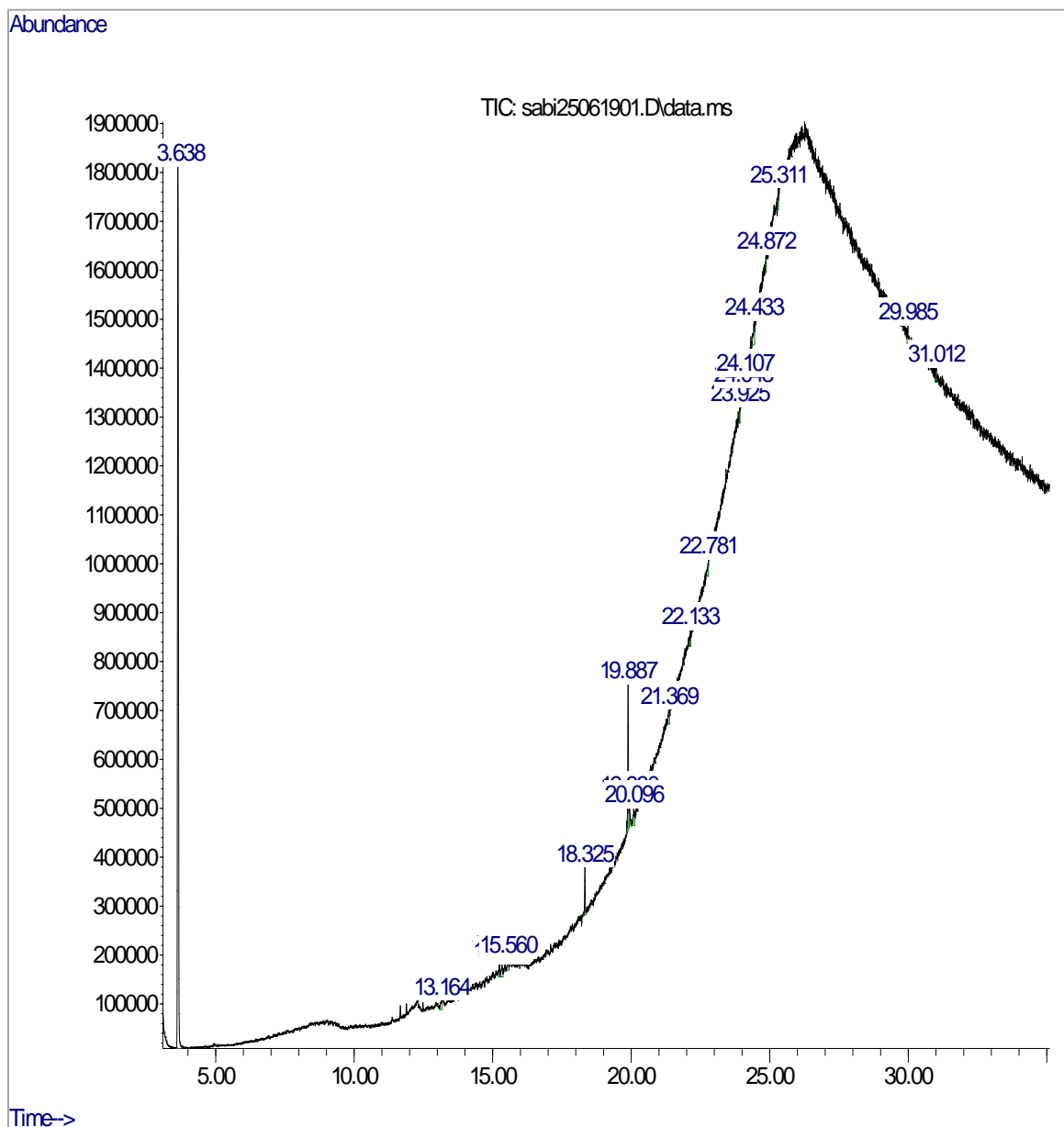


Gráfico 6. Cromatograma del extracto corteza residual (ECR)

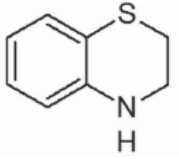
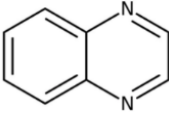
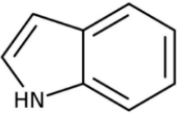
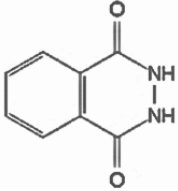
En la siguiente tabla 9, se muestran los tiempos de retención de los principales componentes obtenidos del análisis por CG/EM del extracto de la corteza residual.

Tabla 9. Tiempos de retención de los principales compuestos identificados en el extracto de la corteza residual (ECR)

TIEMPO DE RETENCIÓN (min)	% ÁREA	COMPUESTO
15.239	1.08	[4,3-E] [1,4] thiazin-6-one 6,12-Dihydrobenzo[b]chromeno
15.335	1.25	9-cloro-6-metil-6H-Indolo [2,3-b] quinoxalina
24.048	1.02	1-metil-3-fenilindol
24.107	1.13	
29.985	1.02	2,3-dihidro-6-nitro-1,4-ftalazindiona

En la tabla 10, se presentan los resultados obtenidos del análisis por CG/EM para el extracto corteza residual (ECR), se mencionan los componentes en el orden en que fueron encontrados.

Tabla 10. Compuestos reportados en el análisis CG/EM del extracto corteza residual (ECR)

TIPO DE COMPUESTO	NOMBRE DE LA MOLÉCULA	ESTRUCTURA	USOS	FUENTE
Amina heterocíclica	1,4 Benzotiazina		Actividad antifúngica	(Guarraci., 1996)
Alcaloide	Quinoxalina		Actividad antibacteriana	(González., 2019)
Alcaloide	Indol		Actividad antiviral, citotóxico, antimicrobiano, antiparasitario y antiinflamatorio	(Sachdeva y col., 2020)
Quinona heterocíclica	Ftalazina-1,4-diona		Actividad antibacteriana, antifúngica y antimicrobiana	(Sakka y col., 2009)

En el gráfico 7, se muestran los porcentajes de existencia de los compuestos reportados en el análisis cromatográfico.

PORCENTAJE DE COMPUESTOS EN EL EXTRACTO CORTEZA RESIDUAL

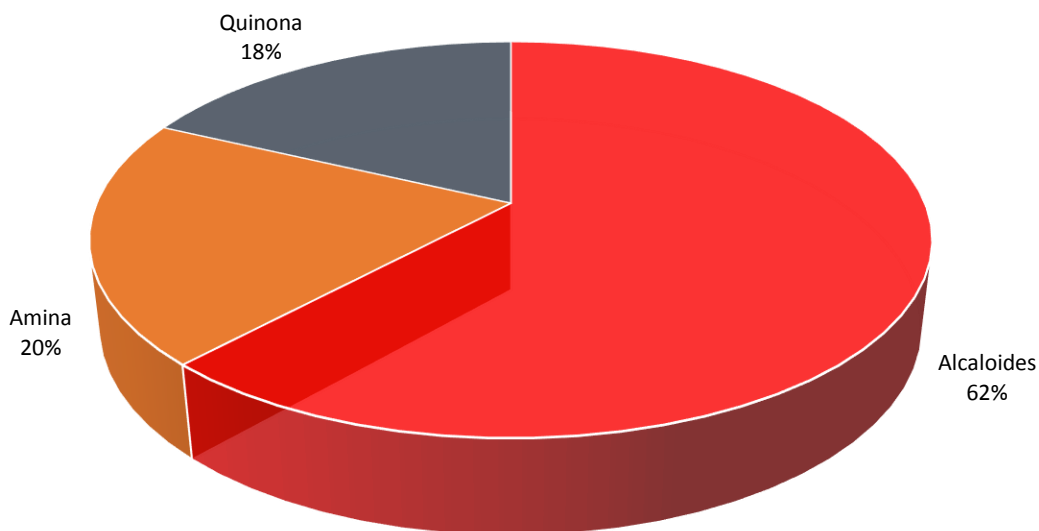


Gráfico 7. Composición porcentual química presente en el extracto corteza residual (ECR)

Composición química del extracto corteza residual

El análisis por CG-EM del extracto corteza residual reportó alcaloides resultado que concuerda con los informes anteriores en estudios con *Aloe vera* (Domínguez y col., 2012). Con el 62% se encuentra la molécula quinoxalina la cual reporta actividad antibacteriana (Gonzalez, 2019). Mientras que la molécula de indol reporta diversas actividades biológicas como citotóxico, antiviral, antimicrobiano, antiparasitario y antiinflamatorio (Sachdeva y col., 2020).

Por otra parte, se encontraron los compuestos de amina y quinona concordando con investigaciones previas en la caracterización de *Aloe vera* (Rivero y col., 2002).

Con el 20% la molécula 1,4 benzotiazina reporta actividad antifúngica (Guarraci., 1996) y finalmente, con el 18% se encuentra la quinona ftalazina-1,4-diona la cual reporta actividad antibacteriana, antifúngica y antimicrobiana (Sakka y col., 2009).

3.4 Resultados del potencial inhibitorio y toxicidad a través de bioensayos

3.4.1 Resultados de la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión en agar (Kirby-Bauer)

En la tabla 11, se muestran los resultados obtenidos en la valoración del potencial inhibitorio del extracto corteza residual.

Tabla 11. Resultados del potencial inhibitorio del extracto corteza residual (ECR)

Extracto corteza residual (ECR)			
Halo de inhibición a las 24 horas			
Cepa	Concentración mg/mL	# Diámetro	Halo de inhibición (mm)
<i>Trichoderma</i>	125	D1	18
	250	D2	20

En la figura 23, se observan los halos de inhibición en el hongo *Trichoderma* con el extracto corteza residual (ECR) a la concentración de 125 y 250 mg/mL.

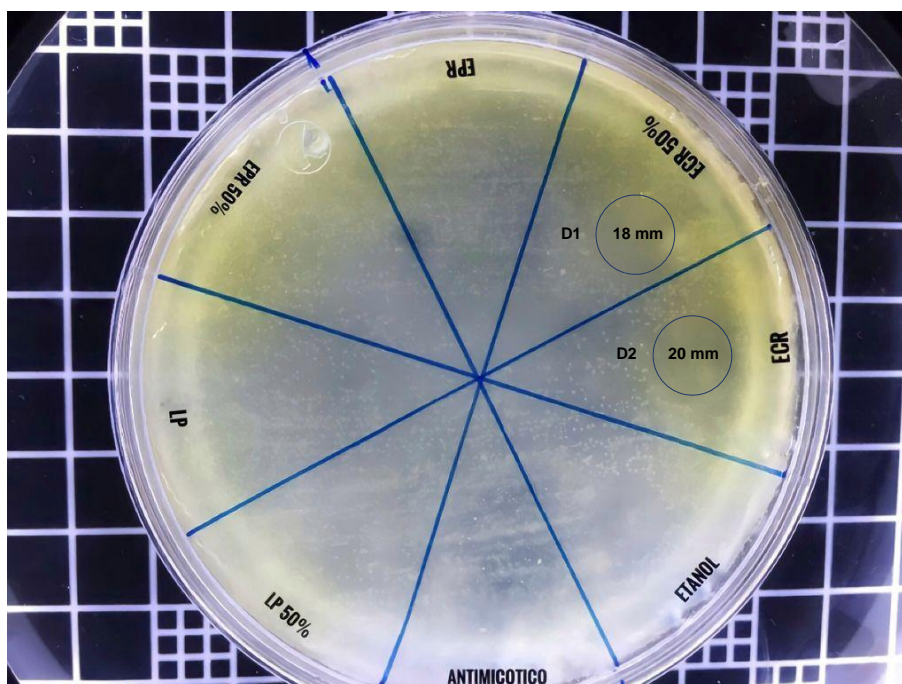


Figura 23. Halos de inhibición en el hongo *Trichoderma* con el extracto corteza residual (ECR)

En la tabla 12, se presentan las categorías de interpretación de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos (Malbran, 2012).

Tabla 12. Criterios de interpretación para determinar la sensibilidad al extracto corteza residual (ECR)

Halo de inhibición (mm)	Sensible	Intermedio	Resistente
	≥ 20	15-19	≤ 14

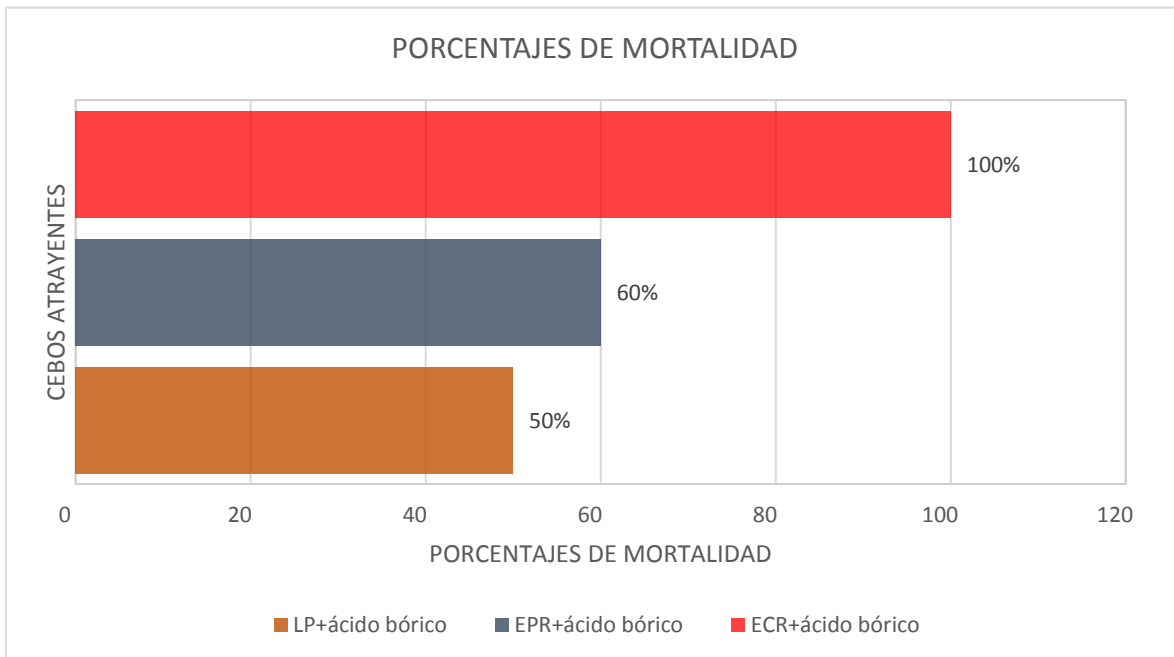
En base a los resultados obtenidos el extracto corteza residual es medianamente resistente por lo que se determina que es factible su uso en el control del hongo *Trichoderma* actuando como fungistático.

Este resultado concuerda con la investigación de Pintos y col., 2014 en donde muestran que el extracto fenólico de *Aloe vera* obtenido de residuos industriales (corteza de hoja) tiene un fuerte efecto inhibidor sobre el crecimiento micelial presentando actividad fungicida, fungistática y/o antifúngica.

3.4.2 Resultados del bio control de plagas mediante la evaluación de cebos atrayentes

En el gráfico 8, se presentan los resultados obtenidos en porcentajes de mortalidad de la evaluación de los tres diferentes cebos atrayentes los cuales son: lixiviado de pulpa (LP)+ácido bórico, extracto de pulpa residual (EPR)+ácido bórico y extracto de la corteza residual (ECR)+ ácido bórico; para el control de plagas a las 36 horas de realizar el bioensayo.

Gráfica 8. Resultados de los porcentajes de mortalidad de las cucarachas frente a los extractos



Guerrero y Cadena 2016, en su investigación para el control de plagas adicionaron ácido bórico a la comida de las cucarachas en donde obtuvieron el 100% de mortalidad en 72 horas, identificando ser el mejor tratamiento para realizar el bio control de la cucaracha *Periplaneta americana*.

Tomando como base estos resultados en la presente investigación se evidenció la acción del extracto corteza residual (ECR)+ácido bórico con el 100% de mortalidad en la mitad del tiempo que en la investigación anteriormente mencionada; mientras que con el extracto pulpa residual (EPR)+ ácido bórico la mortalidad fue del 60% y para el lixiviado de pulpa (LP)+ ácido bórico fue del 50% en 36 horas.

En la tabla 13, se muestran los resultados obtenidos en porcentajes de mortalidad de las cucarachas y en base a estos resultados se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparación Tukey al nivel del 0.05 de significancia (Pérez y Vertel., 2010).

Tabla 13. Mortalidad de las cucarachas

TIEMPO (h)	CEBOS ATRAYENTES - % MORTALIDAD		
	LP+ÁCIDO BÓRICO	EPR+ÁCIDO BÓRICO	ECR+ÁCIDO BÓRICO
12	10 ^a	30 ^a	70 ^b
24	30 ^a	40 ^a	90 ^b
36	50 ^a	60 ^a	100 ^b

Letras iguales indican que no hay una diferencia significativa entre los tratamientos a un $p < 0.05$, letras diferentes indican que si existe una diferencia significativa entre los tratamientos. (LP) lixiviado de pulpa, (EPR) extracto corteza residual, (ECR) extracto corteza residual.

Al realizar el análisis ANOVA se obtuvo un valor de p (0.01) menor que el valor alfa de 0.05 por lo que se concluye que si existe diferencia significativa (Artero., 1996) es decir que los cebos atrayentes son distintos.

Al comparar los cebos atrayentes mediante la prueba Tukey se observó que entre el lixiviado de pulpa (LP)+ ácido bórico y el extracto pulpa residual (EPR)+ ácido bórico no existe diferencia. Mientras que entre el LP+ ácido bórico y el extracto corteza residual (ECR)+ ácido bórico y entre el EPR + ácido bórico y ECR + ácido bórico si existe diferencia.

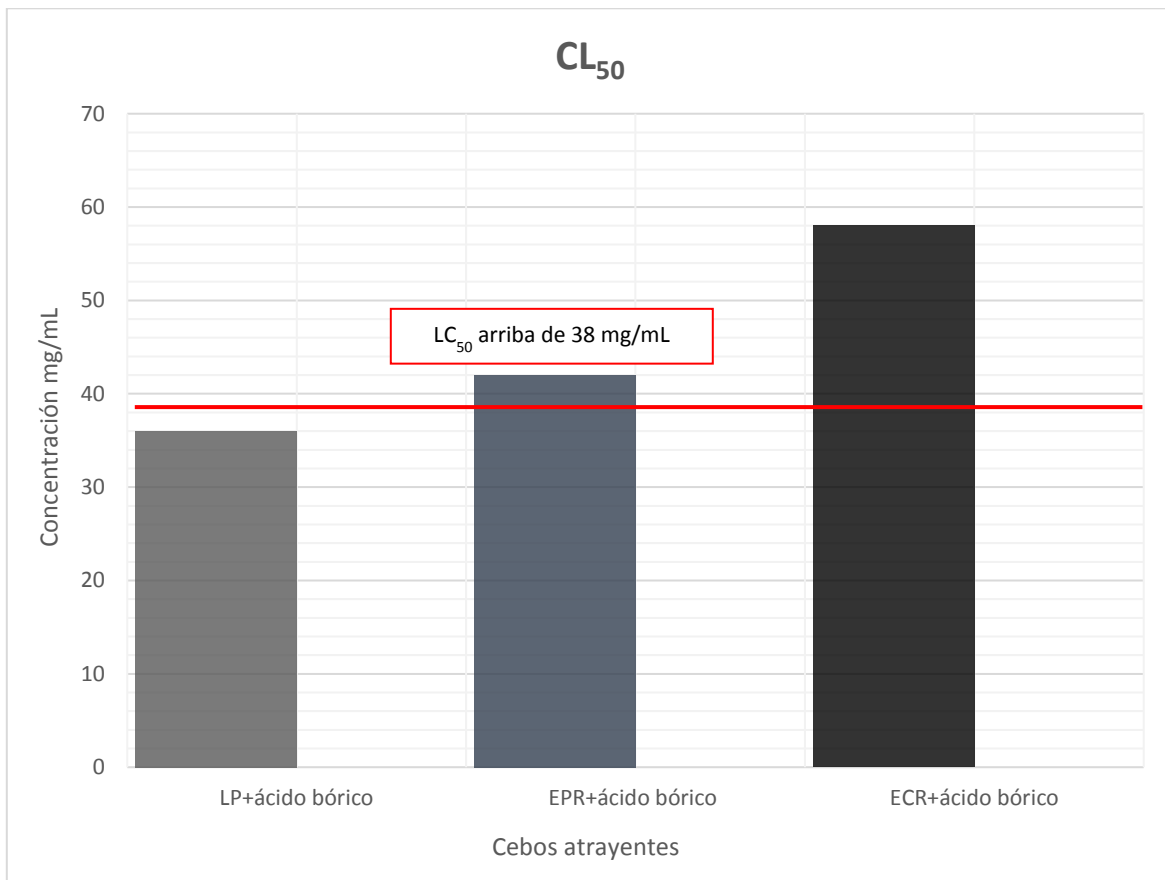
Se concluye que el cebo atrayente que presenta una mayor significancia es el extracto corteza residual (ECR) +ácido bórico con el cual se obtuvo un mayor control de la plaga de cucarachas a diferencia del lixiviado de pulpa (LP)+ ácido bórico y el extracto pulpa residual (EPR)+ ácido bórico.

El resultado obtenido se comparó con la investigación de Duran y col. (2012), de la cual se reportó 80.2% de mortalidad a nivel laboratorio de la plaga de cucarachas; mientras que el cebo atrayente a base del extracto corteza residual (ECR)+ ácido bórico en la presente investigación presentó el 87% de mortalidad por lo que se tienen mejores resultados con dicha formulación.

Seguidamente se utilizó el método Probit en la determinación de la CL_{50} en el bio control de la plaga de cucaracha (Peraza y Delgado., 2012; Morteza., 2006; NMX-AA-087-1995-SCFI), por lo que al realizar el análisis correspondiente se obtuvo una CL_{50} de 38.01 mg/mL.

En el gráfico 9, se indica donde se encuentra la CL_{50} calculada, en el bio control de plagas mediante la evaluación de cebos atrayentes (Peraza y Delgado, 2012).

Gráfico 9. CL_{50} de los cebos atrayentes en el bio control de la plaga de cucaracha



En la tabla 14, se observan los valores de la CL_{50} de acuerdo con las siguientes categorías: (Cantillo y col., 2007; Fernández y col., 2009; Vega y col., 2013).

Tabla 14: Categorías de la CL₅₀ para las cucarachas

Extremadamente tóxico	CL ₅₀ < 10 mg/mL
Tóxico	10 < CL ₅₀ < 100
Moderadamente tóxico	100 < CL ₅₀ < 1000
No tóxico	CL ₅₀ > 1000 mg/mL

Como resultado se obtuvo que la CL₅₀ a la concentración de 38 mg/mL es tóxico, sin embargo, se concluye que el extracto pulpa residual (EPR)+ ácido bórico y el extracto corteza residual (ECR)+ ácido bórico son tóxicos, lo que permite que se puedan manejar concentraciones aún más bajas, y disminuir el riesgo al ambiente ya que se encuentran por arriba de la CL₅₀ obtenida.

3.4.3 Resultados de la prueba de toxicidad aguda de la lombriz de tierra (*Eisenia foetida*)

En la figura 24, se muestra que las lombrices expuestas al lixiviado de pulpa (LP) presentaron una mortalidad del 20%. Su peso inicial fue de 5.4 gramos y al término de la prueba se obtuvo un peso de 5.0 gramos por lo que no presentaron una diferencia significativa en el peso antes y después de la prueba. Las lombrices que sobrevivieron presentaban alteración en el movimiento puesto que se encontraban poco activas sin embargo no presentaban inflamación, ulceración, desaparición o reducción del clitelo y no presentaron cambio de color.

Por otro lado, como se observa en la figura 25, las lombrices expuestas al extracto pulpa residual (EPR) presentaron el 40% de mortalidad. Su peso inicial fue de 9.38 gramos y al término de la prueba se obtuvo un peso de 8.54 gramos por lo que se presentó una disminución de la masa corporal promedio del 11.8%. Las lombrices que sobrevivieron presentaban alteración en el movimiento puesto que se encontraban poco activas sin embargo no presentaban inflamación, ulceración, desaparición o reducción del clitelo, pero si un ligero cambio de color a un tono amarillo.

En la figura 26, se observa que las lombrices expuestas al extracto corteza residual (ECR) presentaron el 100% de mortalidad. Su peso inicial fue de 9.65 gramos y al término de la prueba se obtuvo un peso de 8.34 gramos por lo que se presentó una disminución de la masa corporal promedio del 13.6 %. Las lombrices presentaban notables cambios fisiológicos como úlceras, reducción del clitelo, abultamientos anormales y cambio de color a un tono amarillo notable.



Figura 24. Lombrices expuestas al lixiviado de pulpa (LP) a las 24 horas



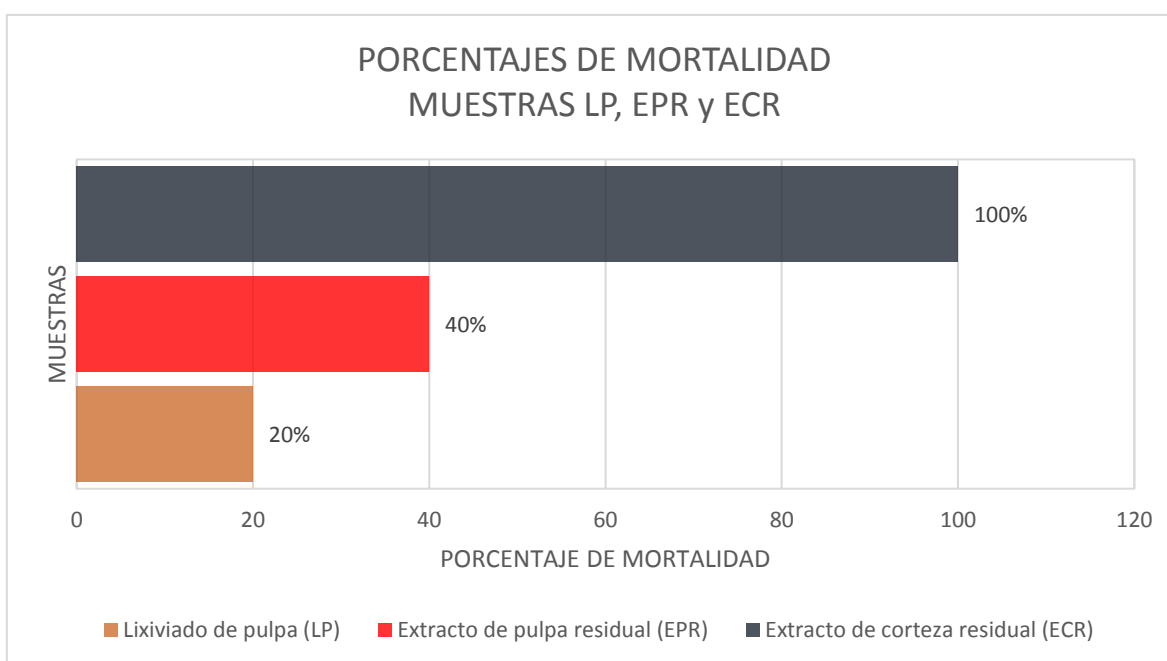
Figura 25. Lombrices expuestas al extracto pulpa residual (EPR) a las 24 horas



Figura 26. Lombrices expuestas al extracto corteza residual (ECR) a las 24 horas

En el gráfico 10, se presentan los resultados de la toxicidad aguda de la lombriz de tierra (*Eisenia foetida*) en porcentajes de mortalidad obtenidos de la evaluación de las muestras (LP, EPR, ECR) a las 24 horas de realizar el bioensayo.

Gráfico 10. Resultados de los porcentajes de mortalidad de la lombriz de tierra (*Eisenia foetida*)



En la tabla 15, se muestran los resultados obtenidos de los porcentajes de mortalidad en las lombrices al estar en contacto con las muestras (LP, EPR y ECR). En base a estos resultados se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparación Tukey al nivel del 0.05 de significancia (Pérez y Vertel., 2010).

Tabla 15. Mortalidad de las lombrices

TIEMPO (h)	MUESTRAS - % MORTALIDAD		
	LP	EPR	ECR
12	10 ^a	30 ^a	80 ^b
24	20 ^a	40 ^a	100 ^b

Letras iguales indican que no hay una diferencia significativa entre los tratamientos a un $p < 0.05$, letras diferentes indican que si existe una diferencia significativa entre los tratamientos. (LP) lixiviado de pulpa, (EPR) extracto corteza residual, (ECR) extracto corteza residual.

Al realizar el análisis ANOVA se obtuvo un valor de p (0.01) menor que el valor alfa de 0.05 por lo que se concluye que si existe diferencia significativa (Artero, 1996) es decir que las muestras son distintas.

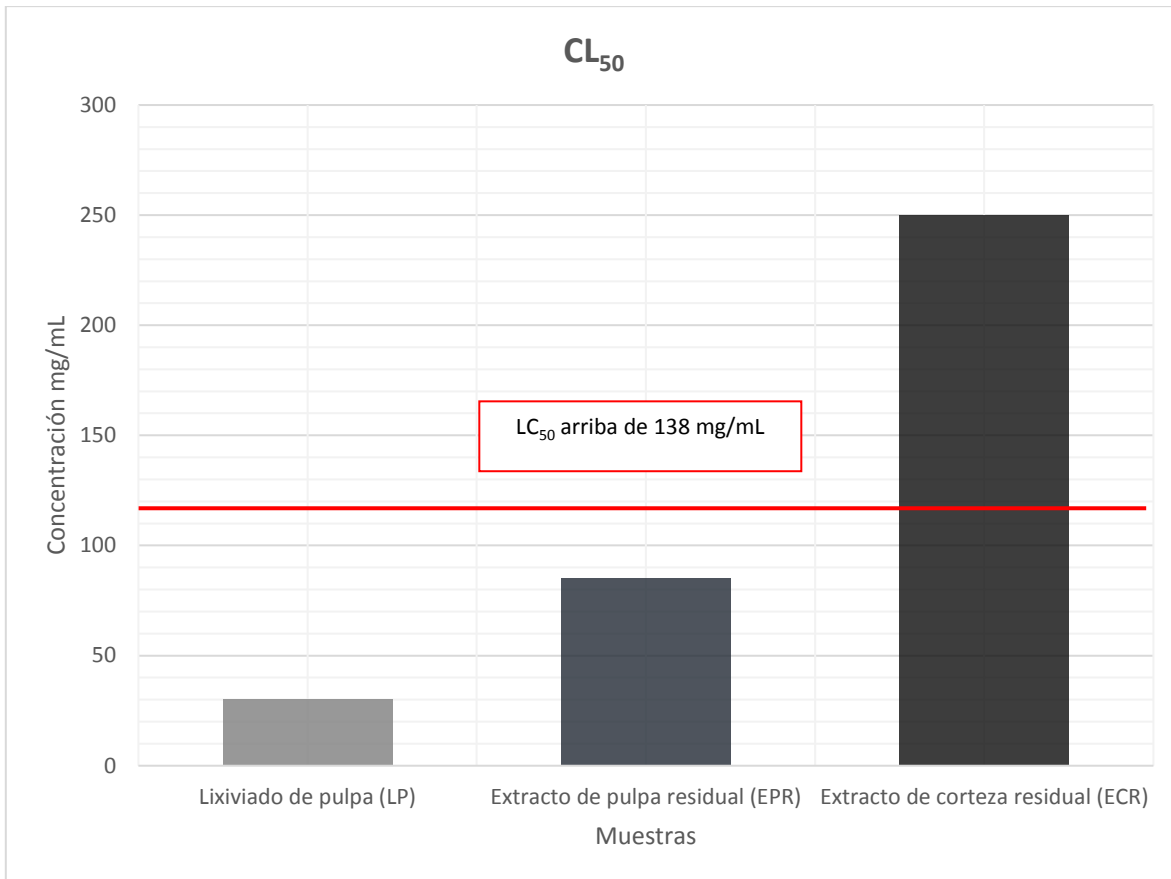
Al comparar las muestras mediante la prueba Tukey se observó que entre la muestra LP (lixiviado de pulpa) y la muestra EPR (extracto pulpa residual) no existe diferencia. Mientras que entre la muestra LP y ECR (extracto corteza residual) y entre EPR y ECR si existe diferencia.

Por lo que se afirma que la muestra que presenta una mayor significancia es ECR con la cual se obtuvo mayor toxicidad en la lombriz *Eisenia foetida* que con la muestra LP y EPR.

Seguidamente se utilizó el método Probit en la determinación de la CL₅₀ para la toxicidad aguda de la lombriz *Eisenia foetida* (Peraza y Delgado., 2012; Morteza., 2006; NMX-AA-087-1995-SCFI), por lo que al realizar el análisis correspondiente se obtuvo una CL₅₀ de 138 mg/mL.

En el gráfico 11, se indica donde se encuentra la CL₅₀ calculada, para determinar la toxicidad aguda de la lombriz *Eisenia foetida*

Gráfico 11. CL₅₀ para determinar la toxicidad aguda de la lombriz *Eisenia foetida*



En la tabla 16, se observan los valores de la CL₅₀ para determinar la toxicidad de las muestras en las lombrices de acuerdo con las siguientes categorías: (Cantillo y col., 2007; Fernández y col., 2009; Vega y col., 2013).

Tabla 16: Categorías de la CL₅₀ para las lombrices

Extremadamente tóxico	CL ₅₀ < 10 mg/mL
Tóxico	10 < CL ₅₀ < 100
Moderadamente tóxico	100 < CL ₅₀ < 1000
No tóxico	CL ₅₀ > 1000 mg/mL

Como resultado del cálculo de la CL₅₀ se concluye que la muestra ECR rebasa la prueba de toxicidad por lo que es riesgoso para el medio ambiente.

Conclusión

El extracto corteza residual es efectivo en el control del hongo *Trichoderma* por lo que se puede utilizar como fungistático.

La muestra que presenta mayor eficiencia como plaguicida es el extracto corteza residual (ECR) y con menor efecto fue el extracto pulpa residual (EPR) y el lixiviado de pulpa (LP), aun cuando estos en la prueba de toxicidad se encuentran por arriba del valor CL_{50} , lo que indica que es toxico, razón por lo cual se propone como cucarachicida, se recomienda manejarlo a menores concentraciones para no causar daños al ambiente. En el caso de manejarse en zonas urbanas, tener cuidado con las mascotas ya que podría ser irritable al contacto. Preferentemente usar en interiores de hogar, cocinas, zonas donde se desee eliminar las plagas.

La mortalidad al 100% del extracto corteza residual se presenta en 250 mg/ mL. La recomendación para su uso fuera de casas es rebajarlo de la siguiente manera: 125 ml de agua más 125 ml del extracto corteza residual para que no tenga impacto de la biota presente en el suelo. Se recomienda no desechar el plaguicida en suelo o en todo caso rebajarlo antes de desechar.

Referencias bibliográficas

Ahmed, M., & Hussain, F. (2013). Composición química y actividad bioquímica de las hojas de *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller). *Int. J. Chem. Biochem. Sci*, 3, 29-33.

Alcívar-Cedeño, U., Dueñas-Rivadeneira, A., Sacon-Vera, E., Villanueva-Ramos, G., & Bravo-Sánchez, L. (2016). Análisis de los residuos en la producción de harina de Lombriz Roja californiana (*Eisenia fetida*) en la planta piloto de la Universidad Técnica de Manabí. Ecuador. *Tecnología Química*, 36(3), 281-295.

Alejo, A. P., Romero, Á. H. H., Luna, J. L., & Díaz, M. D. C. C. (2012). Evaluación de la toxicidad de los suelos mediante bioensayos con lombrices. *Métodos ecotoxicológicos para la evaluación de suelos contaminados con hidrocarburos*, 1- 47.

Alvarado-González, J. S., Chanona-Pérez, J. J., Welte-Chanes, J. S., Calderón Domínguez, G., Arzate Vázquez, I., Pacheco-Alcalá, S. U., ... & Gutiérrez López, G. F. (2012). Propiedades ópticas, microestructurales, funcionales y nanomecánicas de películas comestibles de gel de *Aloe vera*/goma gelano. *Revista mexicana de ingeniería química*, 11(2), 193-210.

Antury, K. L. A., Rojas, D. A. V., & Bermeo, O. M. B. (2021). Conservación de las propiedades nutraceuticas del *Aloe Vera* (*Aloe Barbadensis Miller*), mediante técnicas de secado. *Ingeniería y Región*, 25, 6-21.

Arciniegas Cabrera, V. (2020). Recuperación de compuestos bioactivos de subproductos de la industria alimentaria mediante el empleo de mezclas etanol/aguas presurizadas. Departamento de Biotecnología y Ciencia de los Alimentos Universidad de Burgos, 1-28.

Artero, C. C. (1996). Interpretaciones erróneas de los valores de p. Atención primaria: Publicación oficial de la Sociedad Española de Familia y Comunitaria, *Revista el Silver* 17(3), 221-224.

Arunkumar, S., Muthuselvam, M., & Rajasekaran, R. (2010). Análisis de componentes fitoquímicos y actividad antimicrobiana de algunas plantas

medicinales del sur de la India. *Revista de investigación farmacéutica*, 3 (8), 1841-1843.

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Técnicas para la extracción de compuestos bioactivos de materiales vegetales: una revisión. *Revista de Ingeniería de Alimentos*, 117 (4), 426 - 436.

Basáez, R. L., (2009). ¿Qué es el pH?: Formas de medirlo. *Revista Ciencia Ahora*, 1-23.

Bautista, E. J. C. (2019). Desarrollo de una mantequilla de almendras adicionada con mucílago de *Aloe vera*. Universidad Autónoma de Querétaro, 1-125.

Belwal, T., Ezzat, S. M., Rastrelli, L., Bhatt, I. D., Daglia, M., Baldi, A., Devkota, H. P., Orhan, I. E., Patra, J. K., Das, G., Nabavi, S. M., & Atanasov, A. G. (2018). Un análisis crítico de las técnicas de extracción utilizadas para los botánicos: tendencias, prioridades, usos industriales y estrategias de optimización. *Tendencias en química analítica*, 100, 82– 102.

Bonilla, M. J. B., & Herrera, L. G. J. (2016). Potencial industrial del *Aloe vera*. *Revista Cubana de Farmacia*, 50(1), 139-150.

Borges Argáez, R. & Rodríguez Martínez, T. (2014). Las bondades terapéuticas de la Sábila. *Ciencia y desarrollo*, 14-18.

Borrego Alonso, S. (2015). Los biocidas vegetales en el control del biodeterioro del patrimonio documental. Perspectivas e impacto. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 46(3), 259-269.

Boudreau, M. D., & Beland, F. A. (2006). Una evaluación de las propiedades biológicas y toxicológicas de *Aloe barbadensis* (molinero), *Aloe vera*. *Revista de Ciencias Ambientales y Salud Parte C*, 24 (1), 103-154.

Cantillo, J., Güette, J., Baldiris, R., Jaramillo, B., & Olivero, J. (2007). Evaluación de la toxicidad aguda (CL₅₀) frente a *Artemia franciscana* y la actividad hemolítica de los extractos acuosos, en diclorometano y metanólico parcial de Justicia secunda

(Vahl.). *Ciencia y Tecnología*, 13(33), 257-258. Castañeda-Antonio, D., Rivera-Tapia, A., Choy-Flores, E., Munguía-Pérez, R., Portillo-Reyes, R., & Muñoz, J. (2018). Antimicrobial activity evaluation of residual orange oil. *Cuadernos de Investigación UNED*, 10(2), 469-474.

Castañeda-Antonio, D., Rivera-Tapia, A., Choy Flores, E., Munguía-Pérez, R., Portillo-Reyes, R., & Muñoz, J. (2018). Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite de naranja residual. *Cuadernos de Investigación UNED*, 10(2), 469-474.

Castañedo, Z. A., Águila, E., Marrero, O., Meneses-Marcel, A., Sifontes, S., Seijo, M., & Santana, A. (2019). Bioensayo de toxicidad aguda en tres bio modelos utilizando compuestos de referencia. *Revista de Toxicología*, 36(2), 128-133.

Castro García, M. R. (2014). Estudio para la conservación de arilos de rambután (*Nephelium lappaceum*) aplicando recubrimientos comestibles a base de quitosano y *Aloe vera*. Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, 1-33.

Cherukupalli, S., Karpoormath, R., Chandrasekaran, B., Hampannavar, G. A., Thapliyal, N., & Palakollu, V. N. (2017). Información sobre los aspectos sintéticos y medicinales del andamio de pirazolo [1, 5-a] pirimidina. *Revista europea de química médica*, 126, 298-352.

Curbelo Hernández, C., Quintero, M., Eugenia, M., Ramírez Hernández, D., & Crespo Zafra, L. M. (2017). Hidrólisis ácida del bagazo de *Aloe vera* para la obtención de pectina. *Centro azúcar*, 44(2), 18-26.

Decreto 1443 (07/05/2004). Por el cual se reglamenta parcialmente el Decreto-ley 2811 de 1974, la Ley 253 de 1996, y la Ley 430 de 1998 en relación con la prevención y control de la contaminación ambiental por el manejo de plaguicidas y desechos o residuos peligrosos provenientes de los mismos, y se toman otras determinaciones. Presidencia de la República – Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo territorial. Consultado noviembre 2021.

Denny, W. A. (2002). Derivados de acridina como agentes quimioterápicos. *Química medicinal actual*, 9 (18), 1655-1665.

Díaz de Armas, M., Hernández Oramas, I., Martínez de Santelices Cuervo, M., Licea Tornés, M., Gómez Bañobre, L., Louro González, G., ... & González Hernández, E. (1998). Validación de técnicas analíticas utilizadas en el control de la calidad. *Revista Cubana de Farmacia*, 32(2), 106-112.

Domínguez-Fernández, R. N., Arzate-Vázquez, I., Chanona-Pérez, J. J., Welti-Chanes, J. S., Alvarado-González, J. S., Calderón Domínguez, G., ... & Gutiérrez López, G. F. (2012). El gel de *Aloe vera*: estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. *Revista mexicana de ingeniería química*, 11(1), 23-43.

Durán Romero, Yerennis, & Martínez Castillo, Cecilia, & Montero Lago, Grisel, & Baró Bandera, Reinaldo, & Torres Hidalgo, Luis Sandalio (2012). Efectividad de una formulación con ácido bórico como ingrediente activo para el control de blátidos (*Blattella germanica* y *Periplaneta americana*). *Revista Electrónica de Veterinaria*, 13(5).

Eslava González, L. A., & Fajardo Romero, E. D. (2020). Obtención de un aceite esencial a partir de la semilla del mango utilizando el método de extracción con solventes. Universidad de América programa de ingeniería química, 1-78.

Fernández-Calienes Valdés, A., Mendiola Martínez, J., Monzote Fidalgo, L., García Parra, M., Sariago Ramos, I., Acuña Rodríguez, D., ... & Gutiérrez Gaitén, Y. (2009). Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61(3), 254-258.

Gañán, N. A. (2014). Extracción y fraccionamiento de biocidas de origen natural mediante el uso de fluidos supercríticos. Universidad Nacional del Sur, 1-283.

García Martín, S. (2010). Los biocidas: incidencia normativa y social: situación en la Comunidad de Madrid. Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones, 1-1150.

González Morales, A. C. (2019). Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana de derivados de quinoxalina. Universidad Autónoma de Nuevo León, 1-101.

Guarraci, A. (1996). Derivados azólicos de 1,4-benzotiazina como agentes antifúngicos. Universidad de Perugia, 1-45.

Guerrero García, L. Y., & Cadena Fernández, L. Á. (2016). Evaluación del control biológico de *Periplaneta americana* (Blattidae, Linnaeus) por ingestión del hongo *Metarhizium anisopliae* (Clavicipitaceae, Metchnikoff) y ácido bórico. Universidad Distrital Francisco José de Caldas, 1-92.

Gutiérrez Bouzán, M., & Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. Gutiérrez, MC; Droguet, M." La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor". Boletín Intexter, julio 2002, núm. 122, p. 35-41.

Hamman, J. H. (2008). Composición y aplicaciones del gel de hoja de *Aloe vera*. Moléculas, 13(8), 1599-1616

Hernández, C. C., Quintero, M. E. M., Hernández, D. R., & Zafra, L. M. C. (2017). Hidrólisis ácida del bagazo de *Aloe vera* para la obtención de pectina. Revista Centro Azúcar, 44(2), 9-9.

Hernández, R. N. (2013). Lectura interpretada del antibiograma. Revista cubana de medicina militar, 42(4), 502-506.

Herrera, M. L. (1999). Pruebas de sensibilidad antimicrobiana: metodología de laboratorio. Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera, 34, 33-41.

Iannacone, J., & Murrugarra, Y. (2000). Fluctuación poblacional del predador *Metacanthus tenellus* Stal (*Heteroptera: Berytidae*) por los insecticidas botánicos rotenona en el cultivo de tomate en el Perú. Rev. Col. Entomol, 26, 89-97.

Instituto Colombiano Agropecuario-ICA. Resolución No. 00375 (27 de febrero de 2004). Por la cual se dictan las disposiciones sobre Registro y control de los bio insumos y extractos vegetales de uso agrícola en Colombia. 2004. 78 p. Consultado noviembre 2021.

- Khanam, H. (2015). Derivados bioactivos de benzofurano: una revisión. *Revista europea de química medicinal*, 97, 483-504.
- León, E. A. V., Ibarra, J. R. V., Rosas, J. C., Mayorga, M. E. J., & Aldapa, C. A. G. (2015). Estudio de los extractos polares de *Aloe vera* con fines de microencapsulación. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, 1(1)
- Malbran, C. (2012). Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. *MIC testing*, 32(2), 1-48
- Martínez, M. J., Betancourt Badell, J., & Alonso González, N. (1996). Ausencia de actividad antimicrobiana de un extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 1(3), 18-20.
- Morteza, S. (2006). Actividad antiinflamatoria, analgésica, toxicidad aguda y contenido de hipericinas del *Hypericum perforatum iraní*. *Revista de la Universidad de Ciencias Médicas de Babol*. 2006; 8 (4): 7-14.
- Mujica, F. J. C. (2013). Método teórico para la predicción del índice de refracción en refractometría. *Boletín Científico Técnico INIMET*, (2), 1-18.
- Nardo, O. (2018). La refractometria como método para determinar la concentración de las soluciones. *Boletines, Industria alimenticia*, 1-32.
- Nava Pérez, E., García Gutiérrez, C., Camacho Báez, J., & Vázquez Montoya, E. (2012). Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*, 17-29.
- Navarro Martínez, D. M. (2013). Efecto de los tratamientos de gel de *Aloe*, aplicados en pre-o post recolección sobre la calidad de frutos de hueso y uva mesa. *Universidad Miguel Hernández de Elche*, 1-225.
- Norma Mexicana 087 (NMX-AA-087-1995-SCFI). Análisis de agua-evaluación de toxicidad aguda con *Daphnia magna* Straus (crustacea-cladocera)- Método de prueba. Consultado noviembre 2021.

OECD 183. 5-Ensayos para probar la eficacia de los cebos contra las cucarachas (Serie de Pruebas y Evaluación No. 183, Serie de Biocidas No. 5)

OECD, T. N. (1984). 207: Lombrices de tierra, pruebas de toxicidad aguda. Directrices de la OCDE para el ensayo de sustancias químicas, 1 (2), 1-9.

Peralta, A. P., & Rodríguez, G. P. (1995). Obtención y caracterización de pectina a partir de desechos industriales del mango (cáscara). *Revista colombiana de ciencias químico-farmacéuticas*, 24(1), 29-34.

Peraza, R. G., & Delgado-Blas, V. H. (2012). Determinación de la concentración letal media (CL₅₀) de cuatro detergentes domésticos biodegradables en *Laonereis culveri*. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 28(2), 137-144.

Pérez, A., & Vertel, M. (2010). Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) A. *Revista MVZ Córdoba*, 15(3).

Pintos B., Gómez A., Carrasco A., Calvarro L. & Pérez-Urria. (2014) Utilización de extracto fenólico de residuo de *Aloe vera* en el control de hongos fitopatógenos. Universidad Complutense de Madrid, 1-25.

Prato, M., Ávila, R., Donquis, C., Medina, E., & Reyes- R. (2008). Antraquinonas en *Aloe Vera Barbadosensis* de zonas semiáridas de Falcón, Venezuela, como inhibidores de la corrosión. *Multiciencias*, 8(2), 148-154.

Ramírez, G. (2003). Sábila (*Aloe vera*). *Natura Medicatrix: Revista médica para el estudio y difusión de las medicinas alternativas*, 21(1), 26-33.

Ramírez, L. F. (2000). Producción de abono de lombriz, control de la calidad, almacén y aplicación. *Lumbricultura y sostenibilidad*. México. DF, 155-162.

Reglamento Unión Europea (UE) No. 528/2012, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de mayo de 2012, relativo a la comercialización y el uso de los biocidas. Consultado noviembre 2021.

Reyes de Fuentes, D., & Fernández Da Silva, R. (2014). Actividad antimicrobiana in vitro del extracto foliar de Sábila (*Aloe vera* L.) en microorganismos de interés clínico. *Salus*, 18(3), 27-32.

Rivero Martínez, R., Rodríguez Leyes, E. A., Menéndez Castillo, R., Fernández Romero, J. A., Barrio Alonso, G. D., & González Sanabria, M. L. (2002). Obtención y caracterización preliminar de un extracto de *Aloe vera* L. con actividad antiviral. *Revista Cubana de plantas medicinales*, 7(1), 32-38.

Rosan, T. A. 2005 Feniletilamina como “marcador de respuesta” en la terapéutica de la depresión. *Revista Argentina de clínica neuropsiquiatra*, 409-422.

Rubio-Tinajero, S., Osorio-Hernández, E., Rodríguez-Mejía, M. L., López-Santillán, J. A., & Estrada Drouaillet, B. (2018). Principales enfermedades del cultivo de la Sábila (*Aloe vera*). *AGRO Productividad*, 11(7).

Saavedra, Oswaldo, Rondón, Carlos, Galignani, Máximo, Ayala, Carlos, & Nicola, Margarelli. (2012). Obtención de Antraquinona contenida en el exudado de *Aloe Vera*. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 43(1), 025-034.

Sachdeva, H., Mathur, J., & Guleria, A. (2020). Derivados de indol como posibles agentes anticancerígenos: una revisión. *Revista de la Sociedad Química de Chile*, 65 (3), 4900-4907.

Sakka, S., Soliman, A. H., & Imam, A. (2009). Síntesis, actividad antimicrobiana e impacto electrónico de los espectros de masa de derivados de ftalazina-1, 4-diona. *Afinidad*, 66 (540).

Serna, M. F. V. (2013). Identificación y cuantificación de antraquinonas y cromonas en plantas de *Aloe vera* cultivadas en municipios de Risaralda por cromatografía líquida de alta eficiencia, Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnologías. *Química Industrial*, 1-72.

Sing, L., & Oiga, R. (2006). Diversidad química el género werneria. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 72(1), 32-48.

Starmans, D. A. J., & Nijhuis, H. H. (1996). Extracción de metabolitos secundarios de material vegetal: una revisión. *Tendencias en ciencia y tecnología de los alimentos*, 7 (6), 191–197.

Talero-Pérez, Y. V., Medina, O. J., & Rozo-Núñez, W. (2014). Técnicas analíticas contemporáneas para la identificación de residuos de sulfonamidas, quinolonas y cloranfenicol. *Universidad de Ciencias*, 19(1), 11-28.

Tarqui Velásquez, J. C. (2007). Efecto de tres Bioplaguicidas para el control del pulgón (*Aphis* sp.) en el cultivo de lechuga en ambientes protegidos en la ciudad de el alto. *Universidad Mayor de San Andrés- Facultad de Agronomía*, 1-38.

Triana Cruz, L. (2019). Espectroscopía de Infrarrojo/ATR. *Medicina Interna de México*, 28(4), 366.

Vázquez, A. (2019). Determinación de la densidad de un líquido. *Universidad Autónoma de México*, 1-10.

Vega G, Antonio, Ampuero C, Nevenka, Díaz N, Luis, & Lemus M, Roberto. (2005). El *Aloe vera* (*Aloe Barbadensis Miller*) como componente de alimentos funcionales. *Revista chilena de nutrición*, 32(3), 208-214.

Vega-Menchaca, María del Carmen, Verde-Star, Julia, Oranday-Cárdenas, Azucena, Morales-Rubio, María Eufemia, Núñez-González, María Adriana, Rivera-Guillén, Mario Alberto, Serrano-Gallardo, Luis Benjamín, & Rivas-Morales, Catalina. (2013). Actividad antibacteriana y citotóxica de *Leucophyllum frutescens* del Norte de México contra *Staphylococcus aureus* de aislados clínicos. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 44(2), 24-30.

Villalobos, O. J., Salazar, C. R., & Ramírez de Sánchez, G. (2001). Efecto de un enjuague bucal compuesto de *Aloe vera* en la placa bacteriana e inflamación gingival. *Acta odontológica venezolana*, 39(2), 16-24.

Yagi A, Hamada K, Mihashi K, Harada N, Nishioka I. (1984). Determinación de la estructura de polisacáridos en *Aloe* *J Pharmacol Sciencs*; 73: 62-65.

Zhang, F. F., Gan, L. L., & Zhou, C. H. (2010). Síntesis, actividades antibacterianas y antifúngicas de algunos derivados de carbazol. *Cartas de química bio orgánica y medicinal*, 20 (6), 1881-1884.

Zhu, J., Mo, J., Lin, H. Z., Chen, Y., & Sun, H. P. (2018). El reciente progreso del isoxazol en la química médica. *Química bio orgánica y medicinal*, 26 (12), 3065-3075.