

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE:**

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

TEMA:

**“VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE EXTRACTOS DE
SOLANINA OBTENIDOS A PARTIR DE RESIDUOS DE *Solanum
lycopersicum* L.”**

AUTOR:

Diego Andrés Viera Armijos

DIRECTOR DEL PROYECTO:

Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez

PUYO-ECUADOR

2020

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, Viera Armijos Diego Andrés, con cédula de identidad N° 180440844-9, declaro que las actividades realizadas para la realización y culminación del presente proyecto de investigación, que tiene como tema “**VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE EXTRACTOS DE SOLANINA OBTENIDOS A PARTIR DE RESIDUOS DE *Solanum lycopersicum* L.**”, se basaron en la investigación, búsqueda de información, ideas, análisis, conclusiones y recomendaciones, que me guiaron para estructurar mi trabajo y que sea considerado para posibles investigaciones futuras, basándose en los resultados obtenidos; además que me responsabilizo de forma legal y académicamente como el autor del presente trabajo previo a la obtención del título como Ingeniero Agroindustrial.

Viera Armijos Diego Andrés

CI. 180440844-9

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Certifico que el presente proyecto investigación con el tema **“VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE EXTRACTOS DE SOLANINA OBTENIDOS A PARTIR DE RESIDUOS DE *Solanum lycopersicum* L.”**, previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial ha sido desarrollado por el Sr. Diego Andrés Viera Armijos bajo mi tutoría y dirección, cumpliendo con todos los requisitos y disponibilidades legales establecidos por la Universidad Estatal Amazónica “UEA”, por lo que autorizo su presentación.

Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez
DIRECTOR DEL PROYECTO



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND



Oficio No. 88-SAU-UEA-2020

Puyo, 29 de enero de 2020

Por medio del presente **CERTIFICO** que:

El Proyecto de Investigación correspondiente al egresado VIERA ARMIJOS DIEGO ANDRÉS con C.I. 1804408449; con el Tema: **“VALORACION DE ACTIVIDAD LARVICIDA DE EXTRACTOS DE SOLANINA OBTENIDOS A PARTIR DE RESIDUOS DE *Solanum lycopersicum* L.”**, de la carrera, Ingeniería Agroindustrial. Director del proyecto Dr. Bravo Sánchez Luis Ramón, PhD. ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 0%, Informe generado con fecha 28 de enero de 2020 por parte del director, conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,

Ing. Italo Marcelo Lara Pilco MSc.

ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .

Urkund Analysis Result

Analysed Document: VALORACIÓN DE ACTIVIDAD LARVICIDA DE EXTRACTOS DE SOLANINA OBTENIDOS A PARTIR DE RESIDUOS DE *Solanum lycopersicum* L.docx (D63110822)
Submitted: 1/28/2020 5:12:00 PM
Submitted By: `#{Xml.Encode(Model.Document.Submitter.Email)}`
Significance: 0 %

Sources included in the report:

Instances where selected sources appear:

0

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El Tribunal de sustentación del proyecto de investigación aprueba el proyecto de investigación titulado: **“VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD LARVICIDA DE EXTRACTOS DE SOLANINA OBTENIDOS A PARTIR DE RESIDUOS DE *Solanum lycopersicum* L.”**

Dr. Matteo Radice

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Yasiel Arteaga

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

M.Sc. Sandra Soria

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a mi familia que ha sido la motivación principal para seguir adelante cada uno con sus palabras de aliento, consejos gracias a ellos por aportarme y ser una ayuda para esta formación mis hermanas, cuñado y sobre todo a mis padres que han sido mi apoyo en toda ocasión, quiero dar las gracias a esta institución académica Universidad Estatal Amazónica por haberme aportado con excelentes profesionales, como los son los docentes que dispone en cada uno de sus niveles académicos, y sobre todo unas excelentes personas en el aporte académico como también personal, en especial a los que fueron participes de este proyecto de investigación que los llevare presente y agradecido todo un siempre docentes: Luis Bravo, Yasiel Arteaga, Yamila Lazo, Andrea Tapuy. Como no agradecer a mis amigos y sus padres por el apoyo que han prestado en mí, gracias por creer en mí. Gracias a Dios por darme la valentía de seguir adelante día a día para afrontar todo desnivel y no decaer en mi crecimiento profesional.

DEDICATORIA

Quiero dedicar a cada una de las personas que confiaron en mí, que me apoyaron para poder seguir en esta etapa de mi vida académica, a cada uno de ellos: padres, hermanos, tíos, primos, profesores, y amigos cada uno con sus consejos, por las dudas que fueron despejadas por su interés y en busca de soluciones, por la distancia que se mantuvo, por un sueño que cumplir y reconocimiento para cada uno de ustedes.

RESUMEN EJECUTIVO Y PALABRAS CLAVES

RESUMEN

Se realizó la optimización de extracción de alcaloides en *Solanum lycopersicum* L. aprovechando los desechos de la poda. El diseño experimental tuvo como variantes un mínimo, un medio y un máximo. Los factores que fueron tomados en cuenta en el diseño experimental fueron la temperatura, tiempo, el porcentaje de alcohol, la relación sólido/líquido, el porcentaje de ácido acético y el tipo de alcohol (metanol-etanol), determinando la cantidad de extracción de sólidos solubles totales en los extractos. Se encontraron las mejores condiciones de extracción que fueron el metanol a una concentración del 8.28% de alcohol, en la relación sólido/líquido fue de 1 gramo/11.48 mililitros, la cantidad de ácido acético al 1.11%, mediante la ayuda de extracción asistida por ultrasonido a una temperatura de 31 grados Celsius y a un tiempo de 14 minutos con 41 segundos, para posteriormente encontrar su efecto larvicida natural, tomando 0.5 mL de extracto, usando en tres disoluciones de 2 mL, 4 mL y 6 mL de agua con cinco larvas en cada disolución, para el cual fue comprobado su efecto de mortalidad en larvas *Culex* spp., que estuvo por un tiempo de 2 horas, 4 horas, y 6 horas, posteriormente. La utilización de los desechos de la poda de *Solanum lycopersicum* L. debe ser investigada, comprobando los beneficios que puede obtener este residuo, aislando los compuestos alcaloides presentes.

PALABRAS CLAVES

Solanum lycopersicum L., alcaloides, extracción, larvicida, *Culex* spp.

ABSTRACT AND KEYWORDS

ABSTRACT

Optimization of alkaloid extraction was carried out in *Solanum lycopersicum* L. taking advantage of pruning waste. The experimental design had as variants a minimum, a medium and a maximum. The factors that were taken into account in the experimental design were temperature, time, percentage of alcohol, solid/liquid ratio, percentage of acetic acid and type of alcohol (methanol-ethanol) determining the amount of extraction of total soluble solids in the extracts, finding the best extraction conditions which were methanol at a concentration of 8.28% alcohol, in the solid/liquid ratio was 1 gram/11.48 milliliter, the amount of acetic acid to 1.11%. by means of ultrasonic assisted extraction at a temperature of 31 degrees Celsius and at a time of 14 minutes with 41 seconds, and subsequently finding its natural larvicide effect, taking 0.5 ml of extract using in three solutions of 2 ml, 4 ml and 6 ml of water with 5 larvae in each solution which was proven its mortality effect in *Culex* spp larvae. which was for a period of 2 hours, 4 hours, and 6 hours later. The use of pruning waste from *Solanum lycopersicum* L. should be investigated by checking its benefits from this residue, isolating the alkaloid compounds present.

KEYWORDS

Solanum lycopersicum L., alkaloids, extraction, larvicide, *Culex* spp.

Tabla de contenido

CAPÍTULO I	1
1.- INTRODUCCIÓN	1
1.1.- PROBLEMA	2
1.2.- FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	2
1.3.- OBJETIVOS:	3
1.3.1.- Objetivo General:	3
1.3.2.- Objetivos Específicos:	3
CAPÍTULO II	4
2.- FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	4
2.1.- ANTECEDENTES	6
CAPÍTULO III	8
3.- METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	8
3.1.- LOCALIZACIÓN	8
3.2.- TIPO DE INVESTIGACIÓN	8
3.3.- MÉTODO DE INVESTIGACIÓN	8
3.3.1.- Desarrollo	8
3.4.- DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	10
CAPÍTULO IV	14
4.- RESULTADOS	14
4.3.- VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA	21
4.4.- OBTENCIÓN DE SOLANINA A PARTIR DE <i>Solanum lycopersicum</i> L.	22
CAPÍTULO V	23
5.1.- CONCLUSIONES	23
5.2.- RECOMENDACIONES	23
CAPÍTULO VI	24
6. - BIBLIOGRAFÍA:	24
CAPÍTULO VII	27
7. - ANEXOS	27

CAPÍTULO I

1.- INTRODUCCIÓN

La solanina es un glicoalcaloide esteroideal derivado de las plantas del género *Solanum*. Es una sustancia tóxica en concentraciones de 2 mg/kg. Se encuentran presentes en plantas, hojas, frutos y tubérculos. La solanina es un compuesto que ha demostrado tener actividad antiproliferativa y efectos anticancerígenos. Esta sustancia es parte del mecanismo de defensa natural de la planta (Vélez, 2014).

La solanina tiene un gran poder curativo como un gran contenido proteínico, es un potente alcaloide que es muy toxico el cual se debe tener precauciones en su uso, este compuesto es efectivo cuando es soluble (Realpe, 2014).

Actualmente el *Solanum lycopersicum* L. es una de las hortalizas más cultivadas en el mundo, esto se debe al gran valor nutricional que provee como también a su consumo masivo en la dieta diaria. Este cultivo se lo puede realizar en un campo abierto en zonas trópicas y valles, y en zonas andinas se lo realiza en condiciones de invernadero. Los invernaderos para este cultivo deben ubicarse a un nivel hasta los 3200 msnm. El cultivo de tomate requiere una temperatura de entre 18 a 30°C, esta temperatura puede ser controlada mediante un termómetro y con el manejo apropiado de las cortinas del invernadero (Asociación de Agrónomos Indígenas de Cañar, 2004).

En Ecuador existe una gran riqueza como una diversidad agrícola muy variada, el tomate que es producido con las mejores características está situado en la sierra centro del país, en las ciudades de Latacunga y Ambato. Esto se debe a las condiciones agro-ambientales que posee Ecuador, este cultivo de tomate riñón no es estacional es por ello que la cosecha se da continuamente durante todo el año. El consumo de tomate riñón ha tenido un gran incremento en los últimos años en varios países y principalmente en países como: Ecuador y Colombia.

En el cultivo de tomate es de gran importancia las podas; esta acción se la realiza de varias formas como son: poda de formación, poda de mantenimiento, poda de hojas, poda de flores y aclareo de frutos.

La poda del tomate se realiza de acuerdo al hábito de crecimiento de la variedad y el potencial productivo del cultivo. El propósito de este manejo es maximizar la eficiencia del uso de la luz (EUL) por parte de la planta, para que todas las hojas reciban luz a lo largo de la estructura vegetal (Martínez y Salinas, 2017).

La poda se requiere realizar en diferentes partes de la planta, como tallos, hojas, flores y frutos, con el fin de proporcionarle mejores condiciones microambientales para aquellas partes que quedan y que tienen que ver con la producción; a la vez, se busca eliminar las partes que no tienen incidencia con la cosecha y que pueden consumir la energía potencialmente necesaria para lograr frutos de mayor tamaño y calidad (Jaramillo, Rodruíguez, Guzmán, Zapata, y Renfigo, 2007).

Los residuos generados por esta labor (poda) forman una gran cantidad de desechos que no son utilizados en la parroquia de Izamba provincia de Tungurahua. Los desechos no son manejados de ninguna forma; después de la actividad de la poda los desechos quedan dentro del mismo invernadero por lo que la recolección de este desecho no es manejada ya que genera un gasto económico adicional para los agricultores.

El aumento del uso de productos naturales es una tendencia en los últimos años en las áreas alimentarias, farmacéuticas, cosméticas, como agentes antioxidantes, conservantes, microbicidas e industrialmente en general. La mayoría de los insecticidas que existen en el mercado nacional son productos sintéticos, los cuales en el país se utilizan para la erradicación de mosquitos (Castro y Villamar, 2015).

1.1.- PROBLEMA

Las grandes cantidades de residuos vegetales generadas por la poda de *Solanum lycopersicum* L. (tomate riñón), ricos en alcaloides, como el metabolito solanina, con potencial antifúngico e insecticida, no son aprovechadas por falta de investigación, provocando una pérdida económica como recursos de los agricultores.

1.2.- FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Los residuos vegetales generados por la poda de *Solanum lycopersicum* L. (tomate riñón) pueden ser aprovechados para la obtención de extractos ricos en alcaloides y con actividad larvicida?

1.3.- OBJETIVOS:

1.3.1.- Objetivo General:

Valorar el uso de un extracto rico en solanina a partir de los residuos de ramas juveniles podadas de *Solanum lycopersicum* L. como larvicida natural.

1.3.2.- Objetivos Específicos:

- Optimizar los extractos ricos en alcaloides totales sobre la base de solanina presentes en las ramas juveniles podadas de *Solanum lycopersicum* L. mediante un diseño experimental determinando la cantidad de sólidos solubles totales.
- Evaluar la actividad larvicida de los extractos óptimos ricos en alcaloides determinados por el diseño experimental.

CAPÍTULO II

2.- FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

En varias partes del mundo se usan los extractos de alcaloides ricos en solanina provenientes las hojas y los tallos de la planta de tomate como bacteriostáticos y antifúngicos pues contienen alcaloides esteroidales que ejercen esta acción (Salinas, 2012).

Los frutos verdes del tomate pueden presentar toxicidad análoga a la de *Solanum tuberosum* L. (papa), siendo el principal glicoalcaloide la tomatina, alcaloide muy próximo a la solasodina. Los tallos y las hojas presentan los principios más perjudiciales, solanina y solaneína, insolubles en agua y que se mantienen activos aun después de la cocción. Posiblemente las plantas contienen alérgenos estables y lábiles al calor (Salinas, 2012).

Los tallos y hojas de tomate presentan los principios tóxicos más perjudiciales: solanina y solaneína, poco solubles en agua y solubles en medio ácido y etanol, que se mantienen activos aun después de la cocción. En diversas regiones del mundo se utilizan las hojas y los tallos, como bacteriostático y antifúngico (Fregoso y Del Toro, 1995).

Los glicoalcaloides, son compuestos que se encuentran en las plantas de tomate, que incluyen otras plantas como: la papa, el tomate, la berenjena, el pimiento y el tabaco. Diversos glicoalcaloides son tóxicos para varias especies, es por ello que realiza una acción protectora para la planta frente a los insectos. Estas sustancias son una clase definida de los alcaloides, un grupo más grande al cual pertenecen los compuestos como: la morfina, la cocaína, la cafeína y/o la nicotina.

El incremento de los niveles de flavonoles con la altura de la planta está relacionado a la cantidad de radiación incidente. Este comportamiento se ha descrito en trabajos recientes, en los que se observaron altos valores de compuestos fenólicos totales en la parte superior de la planta de tomate (hojas, pecíolos y tallos) (Coyago, 2017).

La solanina es un glicoalcaloide tóxico y amargo que se lo encuentra naturalmente varias hojas, o frutos de las solanáceas, este compuesto tiene propiedades insecticidas y fungicidas naturales.

La presencia de solanina confiere a las plantas un mecanismo de defensa natural la solanina se ha utilizado en agricultura como forma alternativa y natural de combatir las enfermedades de los cultivos (Beier, 1990).

La solanina (Figura 1) es un alcaloide extraído de todas las partes de la planta o frutos inmaduros, contiene solasonina, solamargina. Hasta la fecha se han extraído y se han determinado solanina en varias plantas como: la papa (*S. tuberosum*), el tomate (*S. lycopersicum*), la berenjena (*Solanum melongena*). La solanina tiene funciones anticancerígenas, cardiotónicas fuertes, antialérgicas y antimicrobianas. Pocos estudios han existido enfocados en la extracción y separación simultáneas de solanina y polisacáridos de *Solanum nigrum*. (Zhu, Lu, Sun, & Tan, 2019).

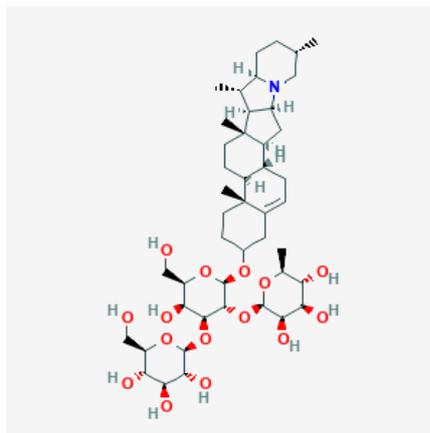


Figura 1. Estructura química de solanina

Los glicoalcaloides son glucósidos vegetales naturales que contienen nitrógeno en una estructura esteroideal (aglicona) y una cadena lateral de carbohidratos en la posición 3-OH. Los aglicones alcaloides hexacíclicos se derivan del colesterol. El contenido de glicoalcaloides varía entre diferentes cultivos dependiendo de las condiciones posteriores a la cosecha (luz, lesión, mecánica, almacenamiento). En el tomate la tomatidina es la aglicona básica para los glicoalcaloides, r-tomatine y dehidrotomatina, en la planta de tomate. Estos alcaloides probablemente son lo que ayudan a la defensa de la planta de tomate contra bacterias, hongos, virus e insectos (Barceloux, 2009).

2.1.- ANTECEDENTES

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de riñón es una de las especies de mayor interés dentro del grupo de las hortalizas de fruto, es cultivada en países tropicales y subtropicales, como también bajo invernaderos. Sus sistemas de producción son sencillos, se puede producir en cualquier época del año, siempre y cuando se disponga de agua de riego y la infraestructura necesaria. Este cultivo es consumido por todo tipo de entorno social por cual existe una elevada demanda (Barahona, 2000).

Según la FAO (2010) el *S. lycopersicum* se ha mantenido tenido estable durante los últimos años, con un promedio anual de 123.79 millones de toneladas, poniéndolo en un alimento de alto consumo, ya que es una hortaliza de masivo consumo (Alemán, Domínguez, Rodríguez, Yoel, y Soria, 2016).

El cultivo de tomate se produce a nivel nacional en el país, como en los valles cálidos de la serranía como también en el litoral. Las provincias en donde se cultiva esta hortaliza son: Guayas, Carchi, Loja, Imbabura, Manabí, Chimborazo, Azuay, El Oro, Tungurahua y Pichincha (Mancheno y Tapia, 2011).

Los efectos tóxicos e inhibidores que producen los glicoalcaloides esteroides a los patógenos fúngicos de las plantas han sido reportados en varias investigaciones. Las bases no asociadas de la tomatina y los alcaloides son probablemente la forma toxica presente. Mientras que estos alcaloides son tóxicos e inhibidores para ciertos hongos por otra parte el sodio y potasio tienen un incremento de toxicidad en los alcaloides para los hongos, mientras cuando el potasio es sustituido por el sodio, la actividad de la nistatina se incrementa (Costa y Gaugler, 1989).

La solanina derivada de los brotes de patata (*Solanum tuberosum* L.), de tomates (*S. lycopersicum*), teniendo propiedades narcóticas eran utilizados en los tratamientos de epilepsia. Habitualmente se derivan de los aminoácidos, cumplen funciones en las plantas como lo son la defensa natural contra: animales, hongos y suelen producir algunos efectos fisiológicos en animales. Pueden ser analgésicos, anestésicos o curativos de varias enfermedades, como también se producir la muerte son empleados como insecticidas, pesticidas o armas letales, también pueden producir adicciones leves y graves (Mora, 2009).

Varias investigaciones se han encaminado a la búsqueda de nuevos productos naturales, con actividad larvicida e insecticida, que puedan controlar las proliferaciones de mosquitos, sin presentar riesgos al ser humano (Sanabria, Segovia, González, Alcaraz, y Vera de Bilbao, 2009).

La mayoría de las investigaciones que se realizan se han enfocado en buscar el uso de sustancias vegetales que ayuden al control de mosquitos, encaminadas a encontrar especies de origen vegetal con un alto potencial para la eliminación de larvas de mosquitos para poder implementar tácticas para el manejo y control de los mosquitos, encontrando la optimización y el uso correcto de los recursos naturales que se disponen, tratando tener una baja presencia de toxicidad, reduciendo el uso de productos insecticidas organosintéticos (Sanabria, 2009).

CAPÍTULO III

3.- METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.- LOCALIZACIÓN

El estudio se realizó a cabo en los laboratorios de Química y Biología de la Universidad Estatal Amazónica, ubicada en el kilómetro 2 1/2 de la vía Puyo - Tena de la ciudad de Puyo, provincia de Pastaza.

3.2.- TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación fue aplicada y fundamentada en la experimentación que busca encontrar el diseño más factible económicamente como accesible dentro del país para la optimización de recursos disponibles.

3.3.- MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

En la investigación aplicada se utilizaron métodos cualitativos y cuantitativos y procedimientos estadísticos de optimización. Además, se llevaron a cabo estudios de actividad larvicida *in vitro*. En los laboratorios de Química y Biología de la Universidad Estatal Amazónica (campus-Puyo).

3.3.1.- Desarrollo

3.3.1.1.- Preparación de Material vegetal

El material vegetal se receptó en los invernaderos que se encuentran ubicados en la parroquia de Izamba provincia de Tungurahua, en costales protegiéndolos de la luz solar, la recolecta se la realizó en el interior de los invernaderos donde se cultivó tomate, posterior a la poda realizada por los agricultores.

El material vegetal se lo dejó reposar en bandejas colocadas proporcionadamente a una temperatura ambiente por 24 horas sin contacto con la luz solar, para su posterior secado. Como método de secado se utilizó el secado en estufa ingresando la muestra vegetal a 60 °C por 24 horas.

3.3.1.2.- Método de extracción

Se utilizó el baño de ultrasonido para acelerar el proceso de extracción de los compuestos alcaloides.

Se ensayaron diferentes extractos obtenidos con diferentes combinaciones de: temperatura, tiempo, concentración, tipo de alcohol y pesos de material vegetal seco. Posteriormente se realizó una filtración con papel filtro para envasar el extracto en frasco ámbar y se los almacenó en refrigeración hasta su análisis.

3.3.1.3.- Determinación cuantitativa de sólidos solubles totales

Se determinó con ayuda de una termobalanza (OHRUS-MB35), agregando una porción del extracto menor a 1000 mg y mayor a 500 mg y en bandejas de aluminio en el interior de la termobalanza, a una temperatura de 105°C, durante 5 minutos, en donde el equipo determinó el porcentaje de humedad perdida y la diferencia al 100% fue la cantidad de sólidos solubles totales obtenidos en cada uno de los extractos.

3.3.1.4.- Valoración de la actividad biológica

Las larvas se las reprodujeron mediante la recolección de agua de vertiente natural para su reproducción natural, en tarrinas de 500 mL, llenándolas con 350 mL de agua de vertiente, las tarrinas se las colocó junto a un plantario al aire libre tapándolas con platos y se las dejó durante 13 días para la obtención de las larvas.

La identificación de larvas, se la realizó con la ayuda de un estereomicroscopio, realizando evaluaciones comparativas con la literatura en donde cada una de las especies tienen sus características diferentes, identificando que estas larvas son *Culex* spp. Por tanto, la valoración de la actividad larvicida se evaluó sobre larvas de mosquito *Culex* spp; midiendo la mortalidad efectiva del extracto, en donde se determinó durante las 2, 4 y 6 horas posteriores a la aplicación en agua natural, agregándolo en diferentes concentraciones del extracto: 0.5mL en 2mL de agua, posteriormente 0.5mL en 4mL de agua y finalmente 0.5mL en 6mL de agua. Se comprobó la mortalidad de las larvas cuando no mostraron ningún movimiento alguno al tacto. Se utilizaron tres tubos de ensayo cada uno a diferentes volúmenes de agua natural, en donde se colocaron cinco larvas de *Culex* spp.

Para eliminar los alcoholes del extracto, dado que estos tienen actividad biológica, se evaporaron hasta sequedad en la estufa a 75°C por 15 minutos, después se les restituyó el disolvente con tween 20 al 0.01% en agua destilada.

3.3.1.5.- Método de Extracción de solanina de *Solanum lycopersicum* L.

Se pesaron 10 gramos de muestra seca, se colocó en un frasco ámbar la muestra más 50 mL de metanol absoluto, se lo agitó con ayuda de agitador magnético por durante 24 horas. El extracto se lo sometió a un baño maría a 50°C por durante 3 horas y 30 minutos. Se lo llevo a baño ultrasonido por 30 minutos a 60°C. Se lo dejó enfriar a temperatura ambiente, posteriormente se filtró y se lavó el papel filtro con tres porciones de metanol absoluto cada una de 5 mL. La solución obtenida se evaporó hasta obtener un volumen 3 mL aproximadamente y se adicionaron 5 mL de ácido clorhídrico al 1%, se mezcló y filtro. Se lavó el papel filtro con 5 mL de ácido clorhídrico al 1%, posteriormente se lavó 5 veces con cloroformo cada porción de 5 mL, se adicionaron 10 gotas de hidróxido de sodio (NaOH) al 10 N. Se filtró y se hizo un lavado al papel filtro con agua destilada. El papel filtro se lo llevo a secar en la estufa a 40°C por 2 horas.

3.4.- DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Los factores que se tomaron en cuenta para optimizar la obtención de extractos ricos en alcaloides fueron seis: temperatura, tiempo, porcentaje alcohol, relación: sólido/líquido, porcentaje ácido acético, y tipo de alcohol (metanol-etanol) en cada extracto de *Solanum lycopersicum* L.

Las variantes para el diseño tuvieron un mínimo, un medio y un máximo en cada uno de los factores que difieren directamente con estas variantes (tabla 1).

Tabla 1. Diseño experimental utilizado para la optimización de los extractos ricos en alcaloides a partir de *Solanum lycopersicum* L.

No. Exp.	Factor 1 A: Temperatura	Factor 2 B: Tiempo	Factor 3 C: % Alcohol	Factor 4 D: S/L	Factor 5 E: AcOH	Factor 6 F: Tipo Alc.
1	30	25	40	8	1	Metanol
2	60	5	40	8	1	Etanol
3	60	25	40	8	1	Etanol
4	60	25	40	8	1	Metanol

5	60	5	40	8	1	Metanol
6	30	5	40	8	1	Etanol
7	30	5	40	8	1	Metanol
8	30	25	40	8	1	Etanol
9	30	25	80	8	1	Etanol
10	60	5	80	8	1	Metanol
11	60	25	80	8	1	Metanol
12	60	5	80	8	1	Etanol
13	30	5	80	8	1	Etanol
14	30	25	80	8	1	Metanol
15	60	25	80	8	1	Etanol
16	30	5	80	8	1	Metanol
17	45	15	60	10	1	Metanol
18	45	15	60	10	1	Etanol
19	30	5	40	12	1	Etanol
20	30	25	40	12	1	Metanol
21	60	25	40	12	1	Etanol
22	60	5	40	12	1	Etanol
23	60	5	40	12	1	Metanol
24	30	25	40	12	1	Etanol
25	30	5	40	12	1	Metanol
26	60	25	40	12	1	Metanol
27	60	25	80	12	1	Metanol
28	30	25	80	12	1	Etanol
29	30	5	80	12	1	Metanol
30	60	25	80	12	1	Etanol
31	60	5	80	12	1	Etanol
32	60	5	80	12	1	Metanol
33	30	5	80	12	1	Etanol
34	30	25	80	12	1	Metanol
35	45	15	60	8	3	Etanol
36	45	15	60	8	3	Metanol
37	45	15	40	10	3	Etanol

38	45	15	40	10	3	Metanol
39	45	15	60	10	3	Metanol
40	45	15	60	10	3	Metanol
41	45	15	60	10	3	Metanol
42	60	15	60	10	3	Metanol
43	45	25	60	10	3	Metanol
44	45	15	60	10	3	Etanol
45	30	15	60	10	3	Metanol
46	45	15	60	10	3	Etanol
47	45	15	60	10	3	Metanol
48	60	15	60	10	3	Etanol
49	45	5	60	10	3	Metanol
50	45	15	60	10	3	Metanol
51	30	15	60	10	3	Etanol
52	45	5	60	10	3	Etanol
53	45	15	60	10	3	Metanol
54	45	15	60	10	3	Metanol
55	45	25	60	10	3	Etanol
56	45	15	60	10	3	Etanol
57	45	15	60	10	3	Etanol
58	45	15	60	10	3	Etanol
59	45	15	60	10	3	Etanol
60	45	15	60	10	3	Etanol
61	45	15	60	10	3	Etanol
62	45	15	60	10	3	Metanol
63	45	15	80	10	3	Etanol
64	45	15	80	10	3	Metanol
65	45	15	60	12	3	Metanol
66	45	15	60	12	3	Etanol
67	30	25	40	8	5	Metanol
68	60	5	40	8	5	Metanol
69	30	5	40	8	5	Metanol
70	60	5	40	8	5	Etanol

71	60	25	40	8	5	Metanol
72	30	25	40	8	5	Etanol
73	60	25	40	8	5	Etanol
74	30	5	40	8	5	Etanol
75	60	5	80	8	5	Etanol
76	60	25	80	8	5	Metanol
77	30	25	80	8	5	Etanol
78	60	25	80	8	5	Etanol
79	30	5	80	8	5	Metanol
80	30	5	80	8	5	Etanol
81	60	5	80	8	5	Metanol
82	30	25	80	8	5	Metanol
83	45	15	60	10	5	Metanol
84	45	15	60	10	5	Etanol
85	30	5	40	12	5	Metanol
86	60	5	40	12	5	Metanol
87	60	5	40	12	5	Etanol
88	30	25	40	12	5	Metanol
89	30	5	40	12	5	Etanol
90	60	25	40	12	5	Metanol
91	60	25	40	12	5	Etanol
92	30	25	40	12	5	Etanol
93	60	25	80	12	5	Etanol
94	30	5	80	12	5	Metanol
95	60	5	80	12	5	Etanol
96	30	25	80	12	5	Metanol
97	60	5	80	12	5	Metanol
98	30	25	80	12	5	Etanol
99	60	25	80	12	5	Metanol
100	30	5	80	12	5	Etanol

Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO IV

4.- RESULTADOS

4.1.- PREPARACIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DEL MATERIAL VEGETAL

Primeramente, se preparó y acondicionó el material vegetal a ser utilizado para la obtención de los extractos. El rendimiento del material vegetal fue de 13.41%.

4.2.- OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN

Luego del procesamiento estadístico se evidenció que se obtuvo un modelo matemático de tipo cuadrático. En la figura 2 se puede observar que existió una muy buena correlación entre los resultados de sólidos solubles totales experimentales y los predichos por el modelo experimental encontrado.

El valor del coeficiente de determinación del modelo fue 0.9555. El coeficiente ajustado 0.9240 y el predicho 0.8597 valores que no difirieron en más de 0.2.

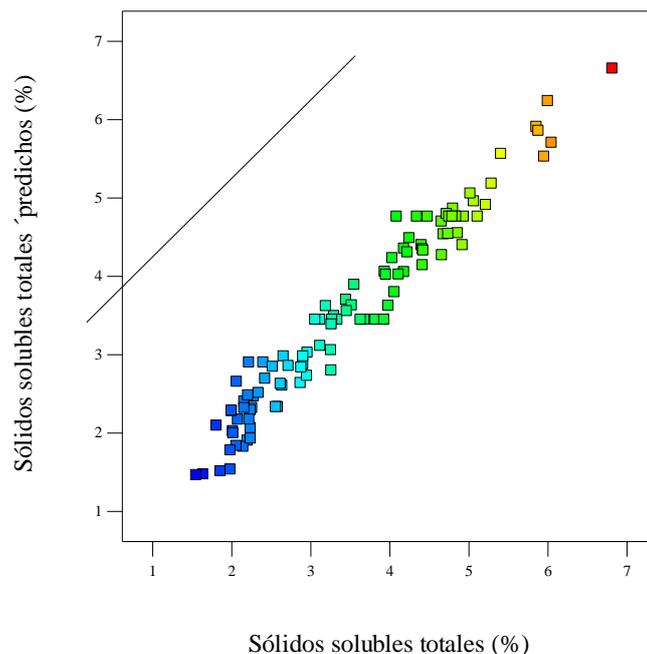


Figura 2. Relación entre los resultados experimentales y los predichos por el modelo matemático.

En la tabla 2 se observan los datos que permiten afirmar que dicho modelo es significativo.

Tabla 2. Resultados estadísticos de significación del modelo matemático.

Fuente	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Probabilidad	Significación
Modelo	144.83	3.53	30.35	< 0.0001	significativo
A-Temperatura	5.18	5.18	44.49	< 0.0001	**
B-Tiempo	4.74	4.74	40.68	< 0.0001	**
C-% Alcohol	3.60	3.60	30.95	< 0.0001	**
D-S/L	4.68	4.68	40.19	< 0.0001	**
E-AcOH	0.082	0.082	0.70	0.4058	NS
F-Alcohol	12.38	12.38	106.40	< 0.0001	**
AB	0.76	0.76	6.50	0.0135	**
AC	4.830x10 ⁻³	4.830 x10 ⁻³	0.042	0.8393	NS
AD	0.36	0.36	3.11	0.0832	NS
AE	11.05	11.05	94.90	< 0.0001	**
AF	1.00	1.00	8.59	0.0048	**
BC	15.52	15.52	133.34	< 0.0001	**
BD	0.22	0.22	1.88	0.1759	NS
BE	7.73	7.73	66.42	< 0.0001	**
BF	1.31	1.31	11.26	0.0014	**
CD	0.53	0.53	4.56	0.0370	**
CE	9.27	9.27	79.64	< 0.0001	**
CF	0.34	0.34	2.95	0.0915	NS
DE	1.10	1.10	9.43	0.0033	**
DF	0.58	0.58	5.00	0.0292	**
EF	0.091	0.091	0.78	0.3794	NS
A ²	0.33	0.33	2.87	0.0954	NS
B ²	6.39	6.39	54.94	< 0.0001	**
C ²	1.03	1.03	8.84	0.0043	**
D ²	0.010	0.010	0.090	0.7655	NS
E ²	1.36	1.36	11.67	0.0012	**

ABF	7.31×10^{-3}	7.31×10^{-3}	0.063	0.8030	NS
ACF	1.05	1.05	9.00	0.0040	**
ADF	1.40	1.40	11.99	0.0010	**
AEF	0.015	0.015	0.13	0.7208	NS
BCF	0.62	0.62	5.33	0.0246	**
BDF	0.093	0.093	0.80	0.3742	NS
BEF	1.59	1.59	13.65	0.0005	**
CDF	0.43	0.43	3.69	0.0596	NS
CEF	0.25	0.25	2.14	0.1494	NS
DEF	3.78	3.78	32.45	< 0.0001	**
A ² F	7.52	7.52	64.58	< 0.0001	**
B ² F	14.44	14.44	124.04	< 0.0001	**
C ² F	13.72	13.72	117.87	< 0.0001	**
D ² F	6.73	6.73	57.85	< 0.0001	**
E ² F	0.60	0.60	5.17	0.0268	**
Residual	6.75	0.12			
Falta de ajuste	5.20	0.12	1.07	0.4712	no significativa
Error Puro	1.55	0.11			
Cor. Total	151.58				

Fuente: Elaboración propia

** : Valores < 0.05 significativo

NS: Valores >0.05 no significativos

Para cada alcohol (etanol-metanol) utilizado se obtuvo un modelo matemático independiente, los cuales se pueden apreciar en las tablas 3 y 4.

Tabla 3. Modelo matemático en términos de factores reales para el etanol

R1	=
-22.46642	
+0.45227	* Temperatura
-0.42444	* Tiempo
-0.43263	* % Alcohol
+6.70387	* S/L
-0.97074	* AcOH
-7.95833E-004	* Temperatura * Tiempo
-4.55417E-004	* Temperatura * % Alcohol
-7.42917E-003	* Temperatura * S/L
+0.013337	* Temperatura * AcOH
+2.95438E-003	* Tiempo * % Alcohol
+4.83125E-003	* Tiempo * S/L
+0.025256	* Tiempo * AcOH
-2.28125E-004	* % Alcohol * S/L
+0.011072	* % Alcohol * AcOH
-0.093469	* S/L * AcOH
-4.32271E-003	* Temperatura ²
+5.71390E-003	* Tiempo ²
+3.02347E-003	* % Alcohol ²
-0.30315	* S/L ²
+0.043847	* AcOH ²

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4. Modelo matemático en términos de factores reales para el metanol

R1	=
+27.76836	
-0.70485	* Temperatura
+0.76644	* Tiempo
+0.60038	* % Alcohol
-5.37447	* S/L

-2.89068	* AcOH
-6.53333E-004	* Temperatura * Tiempo
+3.97500E-004	* Temperatura * % Alcohol
+2.41667E-003	* Temperatura * S/L
+0.014358	* Temperatura * AcOH
+1.97000E-003	* Tiempo * % Alcohol
+1.01250E-003	* Tiempo * S/L
+9.50000E-003	* Tiempo * AcOH
-4.32500E-003	* % Alcohol * S/L
+7.95625E-003	* % Alcohol * AcOH
+0.028000	* S/L * AcOH
+6.63418E-003	* Temperatura ²
-0.028453	* Tiempo ²
-5.30328E-003	* % Alcohol ²
+0.28017	* S/L ²
+0.21817	* AcOH ²

Fuente: Elaboración propia

Las variables con coeficientes positivos influyeron de manera importante sobre la variable respuesta, en este caso los sólidos totales solubles.

En las figuras 3 – 9 se muestran los gráficos tri y bidimensionales de la interacción de cada uno de los factores involucrados que resultaron significativos en el diseño experimental.

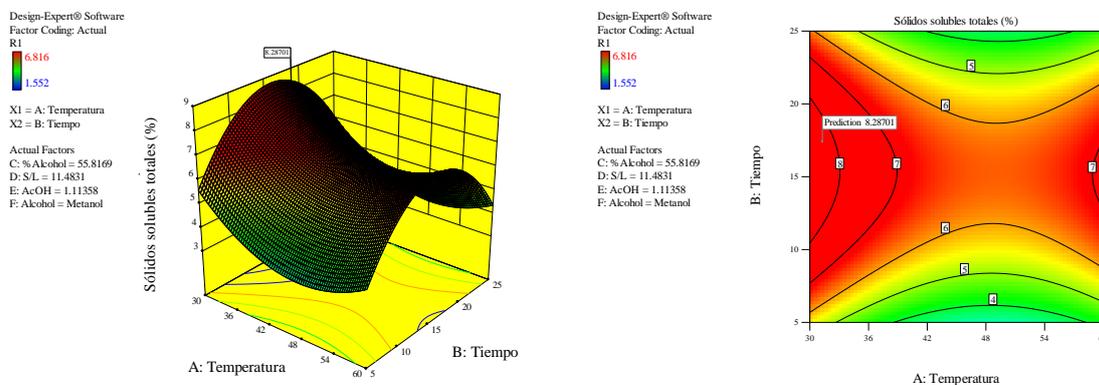


Figura 3. Influencia de la temperatura y el tiempo sobre los sólidos totales solubles para el metanol.

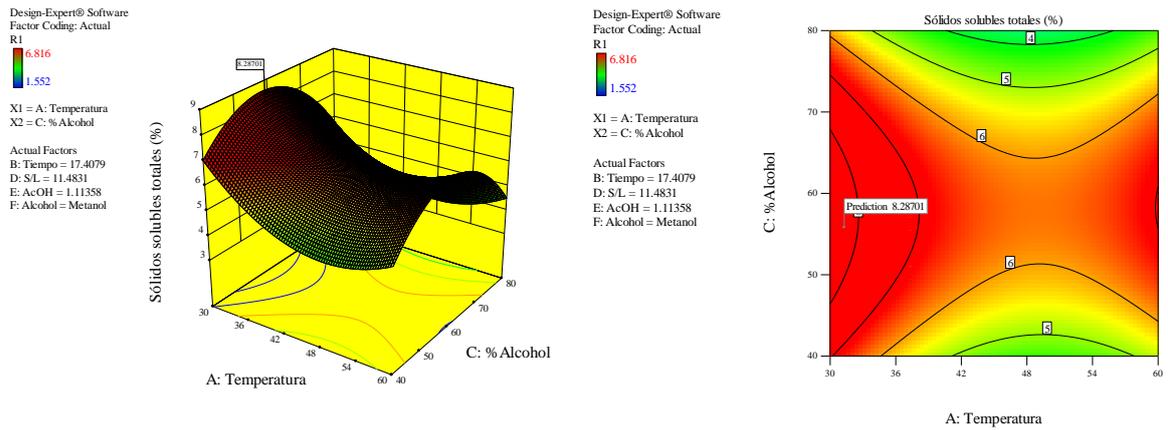


Figura 4. Influencia de la temperatura y el porcentaje de alcohol sobre los sólidos totales solubles para el metanol.

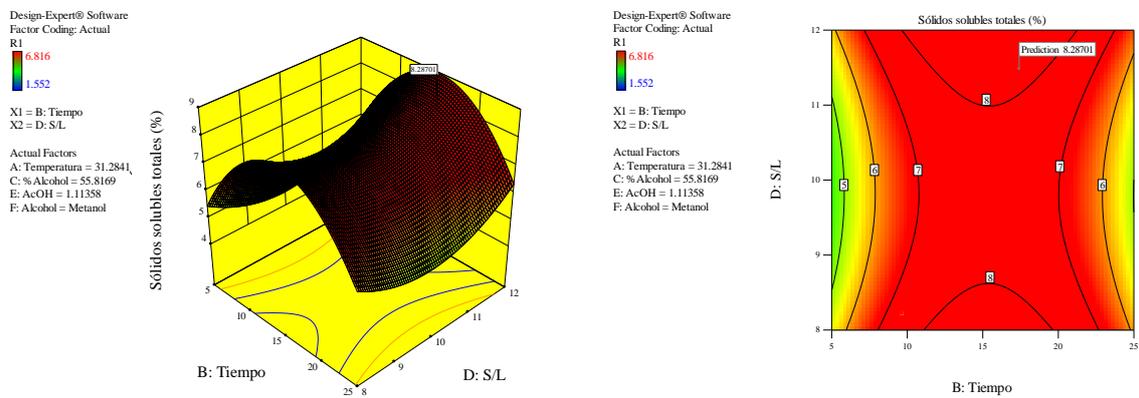


Figura 5. Influencia del tiempo y la relación sólido líquido sobre los sólidos totales solubles para el metanol.

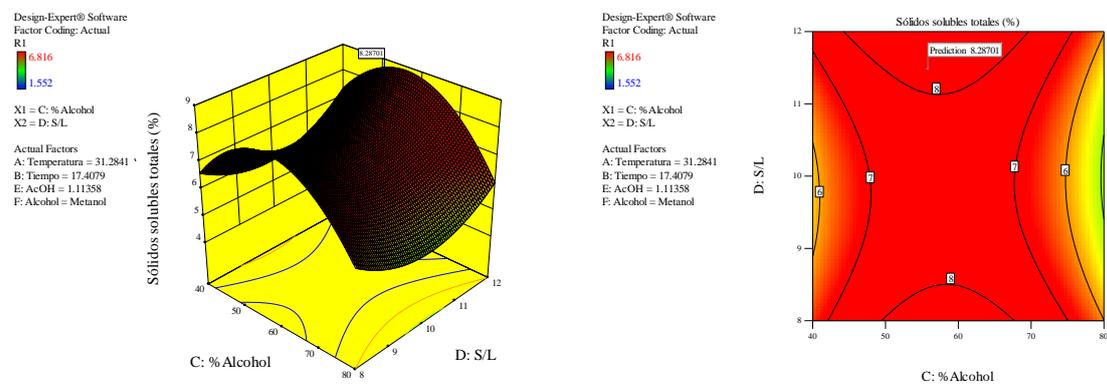


Figura 6. Influencia del porcentaje de alcohol y la relación sólido líquido sobre los sólidos totales solubles para el metanol.

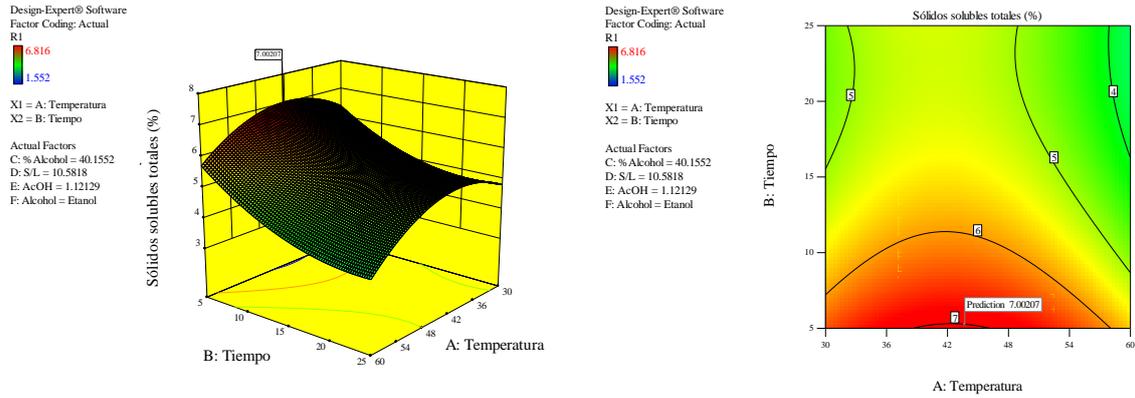


Figura 7. Influencia del tiempo y la temperatura sobre los sólidos totales solubles para el etanol.

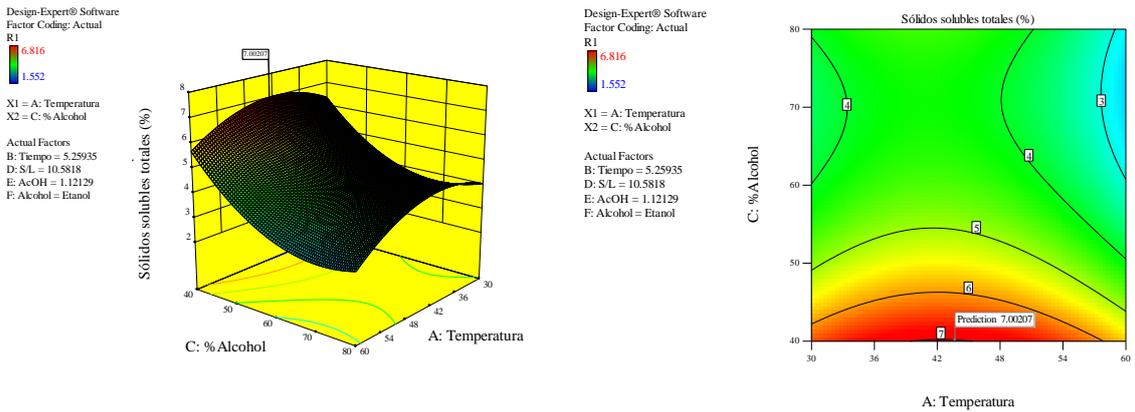


Figura 8. Influencia del porcentaje de alcohol y la temperatura sobre los sólidos totales solubles para el etanol.

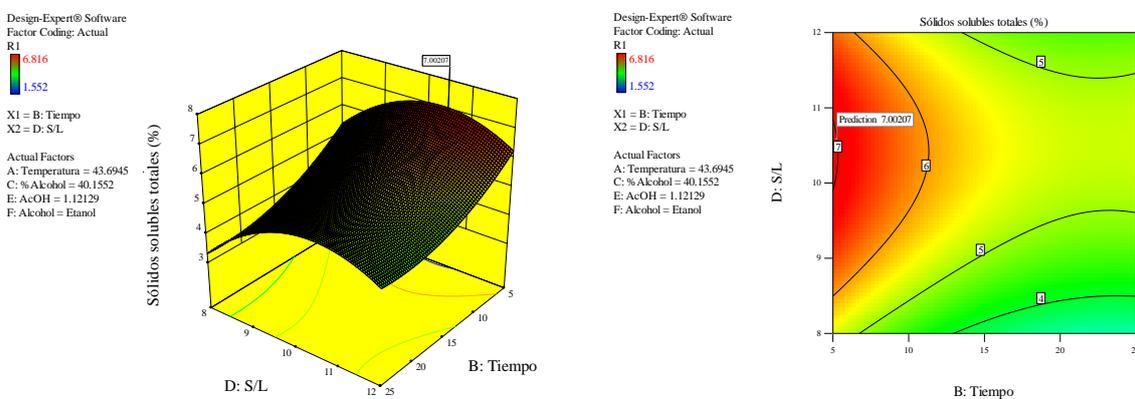


Figura 9. Influencia de la relación sólido líquido y el tiempo sobre los sólidos totales solubles para el etanol.

Finalmente, es importante señalar las condiciones más adecuadas de parámetros de extracción para cada uno de los alcoholes (tabla 5).

Tabla 5. Condiciones óptimas de extracción para cada uno de los alcoholes.

Temperatura	Tiempo	%Alcohol	S/L	AcOH	Alcohol	R1
31.284	17.408	55.817	11.483	1.114	Metanol	8.287
43.695	5.259	40.155	10.582	1.121	Etanol	7.002

Fuente: Elaboración propia

Los dos extractos obtenidos bajo estas condiciones fueron utilizados para el ensayo biológico.

4.3.- VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Con el extracto optimizado para las condiciones de extracción establecidas en el diseño, se comprobó la alta mortalidad de las larvas durante un corto tiempo (tabla 6).

Tabla 6. Resultados de la actividad larvicida del extracto optimizado para disolvente metanol.

CANTIDAD LARVAS	EXTRACTO (ml)	H₂O (ml)	MORTALIDAD (horas)
5	0.5	2	2
5	0.5	4	4
5	0.5	6	6

Fuente: Elaboración propia

Como una alternativa para la industria se comprobó que la extracción se la puede realizar de igual manera con etanol.

Tabla 7. Resultados de la actividad larvicida del extracto optimizado para disolvente etanol.

CANTIDAD LARVAS	EXTRACTO (ml)	H₂O (ml)	MORTALIDAD (horas)
5	0.5	2	2:25
5	0.5	4	4:15
5	0.5	6	6:30

Fuente: Elaboración propia

4.4.- OBTENCIÓN DE SOLANINA A PARTIR DE *Solanum lycopersicum* L.

El rendimiento de la solanina fue de 4.22 %, como lo cual indica que de cada 100 gramos de *Solanum lycopersicum* L. se obtiene 4.22 gramos de solanina, lo cual puede permitir en el futuro obtener los patrones analíticos propios para la realización de análisis más específicos.

CAPÍTULO V

5.1.- CONCLUSIONES

Del total de las 100 extracciones realizadas con diferentes factores como fueron temperatura, tiempo, porcentaje de alcohol, relación: solido/liquido, porcentaje de ácido acético y el tipo de alcohol, los factores que influyeron en la extracción de solidos solubles totales fueron el tipo de alcohol y el porcentaje de alcohol.

La mortalidad de las larvas de *Culex* spp. fue elevada, en corto tiempo demostrándose la efectividad del extracto optimizado, con alto contenido de solidos solubles totales, ricos en alcaloides.

5.2.- RECOMENDACIONES

Es de gran importancia informar a los agricultores que el uso excesivo de productos sintéticos es un gran problema mundial de forma ambiental como en la salud, que deteriora poco a poco nuestros recursos naturales dejándolos en una limitación de su producción con el transcurso del tiempo.

El estado con ayuda de las universidades podría ayudar a generar y producir productos naturales derivados de la biodiversidad del Ecuador, para tener un control de la proliferación de mosquitos en las zonas vulnerables.

La inversión de empresas públicas y privadas en proyectos que con lleven a la reutilización de desechos orgánicos producto del cultivo de especies de importancia económica, favoreciendo al proceso de economía circular, para evitar la importación de agroquímicos que generan contaminación en el entorno.

Continuar con la investigación, para comprobar su efectividad larvicida en la agricultura, para que pueda ser optado como un insecticida natural en los cultivos, analizando su efectividad con los productos sintéticos que se encuentran en el mercado.

CAPÍTULO VI

6. - BIBLIOGRAFÍA:

- Alemán, R., Domínguez, J., Rodríguez, Yoel, y Soria, S. (2016). Indicadores morfológicos y productivos del cultivo del tomate en invernadero con manejo agroecológico en las condiciones de la amazonía ecuatoriana. Puyo-Ecuador, Centro Agrícola, 43(1), 71-76. (ISSN papel: 2072-2001 ISSN on line: 0253-5785).
- Asociación de Agrónomos Indígenas de Cañar. (2004). Cartilla de cultivo de tomate riñón en invernadero. Quito-Ecuador, Abya Yala, 9-41.
- Barahona, M. (2000). Manual manejo de hortalizas. Quito-Ecuador, Facultad De Ciencias Agropecuarias, 60-65.
- Barceloux, D. (2009). Potatoes, tomatoes, and solanine toxicity (*Solanum tuberosum* L., *Solanum lycopersicum* L.). Disease-A-Month: DM, 55(6), 391.
- Beier, R. (1990). Natural pesticides and bioactive components in foods. In reviews of environmental contamination and toxicology. New York, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology (Continuation of Residue Reviews), 113, 47-137.
- Castro, A., y Villamar, J. (2015). Estudio de la acción larvicida del extracto etanólico de la azadirachta índica a. juss. contra el *Aedes aegypti*. (Bachelor's thesis, Universidad de Guayaquil. Facultad Ciencias Químicas), 5-7. Recuperado a partir de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/9003>
- Costa, S., & Gaugler, R. (1989). Sensitivity of *beauveria bassiana* to solanine and tomatine: plant defensive chemicals inhibit an insect pathogen. *Journal of Chemical Ecology*, 15(2), 697-700.
- Coyago, E. D. (2017). Estudio sobre el contenido en carotenoides y compuestos fenólicos de tomates y flores en el contexto de la alimentación funcional. (Tesis Doctoral Inédita), Universidad de Sevilla. Departamento de Ciencias Agroforestales, 2-137. Recuperado a partir de <https://hdl.handle.net/11441/77389>.

- Fregoso, E., y Del Toro, D. (1995). Distribucion y conocimiento de las plantas tóxicas del Estado de Jalisco. Tesis, Universidad de Guadalajara, 1-20. Recuperado a partir de http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/237/Del_Toro_Lopez_David_Humberto.pdf?sequence=1.
- Jaramillo, J., Rodruíguez, V., Guzmán, M., Zapata, M., y Renfigo, T. (2007). Manual técnico: buenas prácticas agrícolas (BPA) en la producción de tomate bajo condiciones protegidas. (No. Doc. 22213) CO-BAC, Bogotá).
- Levinson, H. (1976). The defensive role of alkaloids in insects and plants. *Seewieser-Germany, Expertia*, 32(4), 408-411.
- Mancheno, A., y Tapia, T. (2011). Determinación de la capacidad biocida y fungicida que tiene el agua activada frente a 6 microorganismos fitopatógenos presentes en el tomate de mesa (*Solanum lycopersicum*. V. *Nemmo Netta*). Tesis, Cuenca, Universidad Politécnica Salesiana, 9-19. Recuperado a partir de <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/1516>.
- Martínez, J., y Salinas, L. (2017). Manual de cultivo del tomate bajo invernadero. Santiago-Chile, Instituto de Desarrollo Agropecuario-Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA, N° 11, 80. (ISSN 0717-4829).
- Mora, Y. (2009). Potencialidad del *Solanum Americanum* MILL “Hierba Mora” como enjuague oral eficaz para eliminar: infección, dolor e inflamación en lacavidad oral. (Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista), Costa Rica, Universidad Latinoamericana de Ciencia y Tecnología. Recuperado a partir de http://www.ulacit.ac.cr/files/proyectosestudiantiles/243_enjuague%20eliminar%20infeccion,%20perio,%20ruth.pdf
- Realpe, V. (2014). “Estudio de factibilidad para la producción y comercialización de la hierba mora (*Solanum Nigrum*). Para usos medicinales utilizando el principio activo (solanina), en la parroquia de Santa Bárbara–cantón Sucumbíos”. Tesis, Ibarra: Universidad Técnica Del Norte, 32-54. Recuperado a partir de <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/2997>.

- Salinas, P. (2012). Plantas tóxicas comunes en el estado Mérida, Venezuela. 3ª Parte. MedULA, Mérida-Venezuela, Revista de Facultad de Medicina, Universidad De Los Andes. Vol. 21. N° 2., 98.
- Sanabria, L., Segovia, E., González, N., Alcaraz, P., y Vera De Bilbao, N. (2009). Actividad larvicida de extractos vegetales acuosos en larvas de *Aedes aegypti* (primeros ensayos). Asunción, Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, 7(2)., 26-31. Recuperado a partir de <https://revistascientificas.una.py/index.php/RIIC/article/view/252/183>.
- Vélez, P. (2014). Aislamiento y caracterización de solanina por espectroscopía de infrarrojos en berenjena (*Solanum melongena* L.). Tesis, Quito-Ecuador, Pontificia Universidad Católica, 4-12. Recuperado a partir de <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/8559>.
- Zhu, L., Lu, Y., Sun, Z. H., & Tan, Z. (2019). The application of an aqueous two-phase system combined with ultrasonic cell disruption extraction and HPLC in the simultaneous separation and analysis of solanine and Solanum nigrum polysaccharide from Solanum nigrum unripe fruit. Food Chemistry. 304(2020) 125383, 1-9.

CAPÍTULO VII

7. - ANEXOS

Material Vegetal Fresco= 968.93 gramos

Material Vegetal Seco= 129.94 gramos

$$R = \frac{129.94 \text{ g}}{968.93 \text{ g}} \times 100 = 13.41\%$$

Cálculo del rendimiento del material vegetal

Peso muestra seca + papel filtro= 1.1738 g

Peso de la muestra húmeda + papel filtro= 6.9014 g

Peso del papel filtro= 0.9212 g

P. Solanina= 0,2526 g obtenido

$$R = \frac{1.1738 \text{ g} - 0.9212 \text{ g}}{6.9014 \text{ g} - 0.9212 \text{ g}} \times 100 = 4.22\%$$

Cálculo del rendimiento de solanina



Cultivo de *Solanum lycopersicum* L.



Desechos de la poda



Preparación de la muestra (24h)



Secado



Extracción



Filtración



Refrigeración



Producción de larvas



Larvas con vida en el extracto



Muerte de larvas



Identificación de larvas en el estereomicroscopio