



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Tlajomulco



TESIS

CON EL TEMA:

“Formulación y Evaluación de Bioherbicidas Orgánicos como alternativas al uso del Glifosato”

QUE PRESENTA:

MARIA LORETO SOZA BARRAGAN

ASESOR:

MC. OSVALDO AMADOR CAMACHO

REVISORES:

**DRA. MARIA DE JESUS RAMIREZ RAMIREZ
MC. JORGE ARMANDO PERALTA NAVA**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERA EN AGRONOMIA**

Instituto Tecnológico de Tlajomulco
Dirección
Subdirección Académica

Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, **12/septiembre/2022**

No. DE OFICIO: D.SA/783/2022
ASUNTO: Autorización de impresión
definitiva y digitalización

**C. MARIA LORETO SOZA BARRAGAN
PASANTE DE LA CARRERA DE INGENIERIA EN AGRONOMIA
P R E S E N T E**

Dado que el Comité dictaminó como **APROBADA** su TITULACIÓN INTEGRAL OPCIÓN I (TESIS), con el tema **“Formulación y Evaluación de Bioherbicidas Orgánicos como alternativas al uso del Glifosato”** y determinó que da cumplimiento con los requisitos establecidos, se le notifica que tiene la autorización para su impresión definitiva y digitalización.

Sin otro particular quedo de usted.

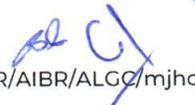
ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica®
Educando para la Sociedad Actual y los Retos del Futuro*

**C. MARÍA ISABEL BECERRA RODRÍGUEZ
DIRECTORA DEL PLANTEL**



C.c.p.- Coordinación de Apoyo a la Titulación. - Edificio
C.c.p.- Minutario. -


MIBR/AIBR/ALGC/mjhc



Km. 10 Carretera Tlajomulco-San Miguel Cuyutlán Tlajomulco de Zúñiga Jalisco.
Código Postal 45640, Tels. 3329021130 al 37 tecnm.mx | www.tlajomulco.tecnm.mx



Tlajomulco de Zúñiga, Jalisco, **07/septiembre/2022**

No. DE OFICIO: D.SA/DCA/230/2022
ASUNTO: Liberación de proyecto para
la titulación integral.

ICE. ANA LUISA GARCIA CORRALEJO
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES
P R E S E N T E

Por este medio informo que ha sido liberado el siguiente proyecto para la titulación integral:

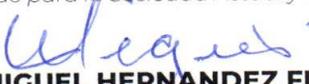
NOMBRE DEL ESTUDIANTE Y/O EGRESADO:	MARIA LORETO SOZA BARRAGAN
NO. DE CONTROL:	18940053
PRODUCTO:	OPCIÓN I (TESIS)
CARRERA:	INGENIERÍA EN AGRONOMIA
NOMBRE DEL PROYECTO:	" Formulación y Evaluación de Bioherbicidas Orgánicos como alternativas al uso del Glifosato "

Agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de nuestros egresados.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®

Educando para la Sociedad Actual y los Retos del Futuro


ING. MIGUEL HERNANDEZ FLORES
RESPONSABLE DEL DEPARTAMENTO
DE CIENCIAS AGROPECUARIAS


S.E.P.
TECNM
14DIT0003B
IT TLAJOMULCO
DEPARTAMENTO
CIENCIAS
AGROPECUARIAS

 MC. OSVALDO AMADOR CAMACHO Nombre y firma del asesor	 DRA. MARIA DE JESUS RAMIREZ RAMIREZ Nombre y firma del revisor	 MC. JORGE ARMANDO PERALTA NAVA Nombre y firma del revisor
---	---	--

C.c.p.- Expediente.
PYC/mjhc*



Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia, por apoyarme aun cuando mis ánimos decaían. En especial, quiero hacer mención de mis padres Efrén y Maria Luisa, a mis hermanos Miguel, Güero, Eliza, Jorge, Gaby, Estela, Rosa, Chepe, a mi esposo Ricardo y a mis hijos Julieta y Alan, que siempre estuvieron ahí para darme palabras de apoyo y un abrazo reconfortante para renovar energías, eso me dio ánimos para poder lograr y estar más cerca de mi meta, sin duda mi mejor ejemplo de amor y trabajo duro, gracias por estar conmigo los amo.

También quiero agradecer a mi asesor M.C. Osvaldo Amador Camacho, a mis revisores la Dra. Maria De Jesús Ramírez Ramírez a M.C. Jorge Armando Peralta Nava. Quienes con sus conocimientos y apoyo me guiaron a través de cada una de las etapas de este proyecto para alcanzar los resultados que buscaba.

Por último, agradecer al Instituto Tecnológico y a todos los maestros por brindarme todos los recursos y herramientas que fueron necesarios para llevar a cabo el proceso de investigación.

Muchas gracias a todos.

Resumen

El presente proyecto Formulación y evaluación de bioherbicidas orgánicos como alternativa al uso de Glifosato, se realizó en las instalaciones del Instituto Tecnológico de Tlajomulco de Zúñiga Jalisco. En el Laboratorio de Suelos y Aguas y en el invernadero 6. El objetivo fue evaluar diferentes formulaciones con propiedades de herbicida con productos de origen ecológico como alternativas al uso del glifosato, determinando el porcentaje de efectividad y de toxicidad en cuatro malezas, dos monocotiledóneas (*Sorghum*, y *Cenchrus echinatus*). y dos dicotiledóneas (*Tithonia diversifolia* *Amaranthus spinosus*,)

Se estableció un ensayo bajo un diseño de bloques completamente al azar, conformados por 5 bloques con 5 repeticiones y un testigo en malezas de 30 días bajo invernadero, teniendo un resultado positivo con el compuesto de saponinas y limoneno, que ha sido reportado como bioherbicida natural. Se realizó un análisis de clorofila mediante equipo SPAD® y un % de daño de mortalidad en los cinco bloques y se comparó con el testigo, De las diferentes concentraciones las más afectadas fue el zacate milpilla *Sorghum spp* Bustos, A., Caicedo, D. R., & Cantor, F. (2008).

Los tratamientos fueron: Emulsiones y Nano Emulsiones 25%, 35% y 30% y el testigo que se le aplico agua. El muestreo se realizó a las 2, 24, 48 horas después de la aplicación. Las variables fueron, efecto de las formulaciones. Se realizó un análisis estadístico demostrando diferencia significativa entre las formulaciones. En el grupo de las hojas angostas la muerte ocurre entre las 24 y 30 horas después de la aplicación. Para el grupo de las hojas anchas la muerte ocurre entre 42 y 48 horas después de la aplicación con un efecto de % de daño en las plantas. Se recomienda evaluar la frecuencia de aplicación de las formulaciones a base de Limoneno y Saponinas mediante la utilización de nuevas técnicas y productos, que permitan bajar los costos de producción del bioherbicida.

Índice

Tabla	de	contenido
PORTADA.....		1
AUTORIZACION DE IMPRESIÓN.....		2
LIBERACION DEL PROYECTO.....		3
AGRADECIMIENTOS		4
RESUMEN		5
INDICE		6
INDICE DE TABLAS.....		8
INDICE DE FIGURAS.....		9
1. INTRODUCCIÓN.....		11
2. OBJETIVOS (GENERAL Y ESPECÍFICOS)		13
2.1 OBJETIVO GENERAL.....		13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS		13
3. HIPOTESIS		14
4. JUSTIFICACION		15
5. REVISION DE LITERATURA... ..		17
5.1 BIOHERVICIDAS... ..		17
5.2 CLASIFICACION		17
5.3 TAXONOMIA DE MALEZAS... ..		18
5.3.1 <i>AMARANTHUS SPINOSUS</i>		18
5.3.2 <i>SORGHUM HALEPENSE</i>		19
5.3.3 <i>TITHONIA DIVERSIFOLIA</i>		19
5.3.4 <i>CENCHRUS ECHINATUS</i>		20
5.4 LIMONENO... ..		21
5.5 SAPONINAS.....		21
5.6 MICROORGANISMOS.....		23
5.7 NANOEMULSIONES... ..		24
5.8 POLISORBATO.....		24
5.9 LECITINA DE SOYA... ..		25

5.10 ACIDO ACETICO...	25
5.11 ALCOHOL LAURICO.....	25
5.12 ACIDO CARBOXILICO.....	25
5.13 EMULSION	26
5.14 ANTECEDENTES... ..	26
5.14.1 MUCILAGO DE SEMILLAS DE CACAO	26
5.14.2 ACIDO ACETICO DEL VINAGRE.....	26
5.14.3 EFECTOS ALEOPATICOS DE EXTRACTOS ACUOSOS... ..	27
5.14.4 METABOLITOS... ..	28
5.14.5 EXTRACCION DE SAPONINAS.....	28
6. MATERIALES Y METODOS.....	29
6.1 LOCALIZACION.....	29
6.2 MATERIAL BIOLOGICO.....	29
6.3 FORMULACION.....	30
6.4 EXTABLECIAMIENTO DEL EXPERIMENTO.....	30
6.4.1 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	30
6.4.2 PREPARACION DEL SUSTRATO.....	33
6.4.3 SIEMBRA DE MALEZAS.....	33
6.4.4 RIEGO.....	34
6.4.5 APLICACIÓN DE BIOHERBICIDA	34
7. RESULTADOS... ..	35
7.1 FORMULACION DE BIOHERBICIDAS.....	35
7.2 RESULTADOS DEL INDICE DE SEVERIDAD	43
7.3 INDICE DE CLOROFILA... ..	44
8. CONCLUSIONES... ..	48
9. LITERATURA CONSULTADA... ..	49
10. ANEXOS... ..	52

Índice de Tablas

Tabla 1 Transformación de la escala mundial EWRS a escala proporcional.....	31
Tabla 2 Diseño de tratamientos para evaluación bioherbicida en invernadero	31
Tabla 3 Lista de tratamientos	32
Tabla.4 Formulas desarrolladas.....	37
Tabla.5 Formula para preparar la nanoemulsion.....	43
Tabla 6 Índice de severidad de daño	44
Tabla 5. Análisis de varianza	44

Índice de Figuras

Figura.1 <i>Amaranthus spinosus</i>	18
Figura. 2 <i>Sorghum halepense</i>	19
Figura.3 <i>Tithonia diversifolia</i>	20
Figura.4. <i>Cenchrus echinatus</i>	20
Figura 5. Estructura de una saponina monodesmosídica: (a) furcreastatina y dos saponinas bidesmosídicas; (B) cantalasaponina-1; y (C) timosaponina BII	22
Figura 6 Croquis del departamento	29
Figura 7 Formulación	30
Figura 8 Nanoemulsiones	30
Figura 9 Preparado	30
Figura 10 Desinfectar el invernadero.....	32
Figura.11 Preparación de maceta	32
Figura.12 Composta.....	33
Figura.13. Malezas sembradas... ..	33
Figura 14. Macetas tapadas con periódico	34
Figura 15 Aplicación del bioherbicida.....	34
Figura 16 Frascos de Nanoemulsion	35
Figura 17 Imagen testigo sin aplicación	36
Figura 18 Imagen con aplicación concentrada	36
Figura.19 Tamaño ideal para la investigación	36
Figura.20 Índice de severidad y porcentaje de daño	43

Figura 21 Prueba de comparación de medidas.....	45
Figura 22 Contenido de clorofila unidades spad	46
Figura 23 Prueba de comparación de medidas Tukey para especie de maleza..	46
Figura 24 Unidades spad de clorofila.....	47
Figura.25. Ficha Técnica del Limoneno.....	52
Figura.26. Ficha Técnica de Lecitina de Soya	53
Figura. 27 Ficha Técnica de Ácido Acético.....	54

1. Introducción

El propósito de esta investigación es evaluar concentraciones de limoneno que responda a la problemática de diferentes malezas y disminuya la competencia interespecífica que se presenta entre estas y el cultivo, buscando el equilibrio ecológico, evitando el abuso de los herbicidas sintéticos, con la intención de dar una alternativa al manejo del uso constante del glifosato. Con respecto al control de malezas desde la aparición de la agricultura, el hombre ha intentado con los medios disponibles, reducir su presencia para mejorar el rendimiento de su actividad agrícola.

Durante miles de años, las prácticas agrícolas se basaron en la rotación de cultivos o en la siembra de cultivos mixtos. Por otro lado, en la actualidad el principal método de control de las malezas en la agricultura tecnificada, se realiza a base de productos químicos con la consecuente contaminación ambiental (aire, agua y suelo) así como del ser humano (salud) ya que la mayoría de los herbicidas tienen propiedades tanto cancerígenas como teratogénicas, por lo que se busca reducir el impacto ambiental tal es el caso de Paraquat, Glifosato, Atrazina, 2,4-D, (Reyes et al 2019).

Es necesario recalcar los efectos perjudiciales de sustancias tóxicas en el medio ambiente, la sociedad está tomando conciencia de que se deben emplear técnicas, que además de ser efectivas, sean respetuosas con el medio ambiente y propicias al desarrollo de una agricultura sostenible. Sin embargo, existen hoy varias razones bien fundamentadas para usar métodos Orgánicos o Ecológicos. Gamboa, W., & Pohlen, J. (1997).

En países subdesarrollados, donde la mano de obra y la tierra son los factores más disponibles de la producción, la agricultura ecológica representa una importante alternativa para el desarrollo y progreso del campo agropecuario, así como la principal vía para lograr productos más sanos y con una mejor demanda comercial. Por tal razón en las investigaciones recientes se está buscando nuevas alternativas en la agricultura en manejo de control de malezas, utilizando las saponinas y el

limoneno. A partir de lo antes expuesto, en esta investigación, se propone el aprovechamiento de las hojas del agave extrayendo las saponinas como herbicida natural, para controlar diferentes especies de malezas, ya que dichas saponinas no tienen ningún uso dentro de la industria. Esto permitirá darle valor agregado al líquido, que en la actualidad está siendo desperdiciado. Kolmans, E., & Vásquez, D. (1996).

La agricultura desde finales del del siglo pasado ha tomado un nuevo giro, con enfoque conservacionista donde la utilización de biopesticidas juega un papel importante en el manejo de los cultivos, el equilibrio que mantienen entre los microorganismos y el ambiente. Hay que agregar otra alternativa de manejo como el uso de bioherbicida por su poder de control, así como por su poca o ninguna influencia en los microorganismos que se encuentran en el lugar de aplicación. Remmers, G. (1993)

2. Objetivos General y Específicos

2.1 Objetivo General

- Desarrollar diferentes formulaciones de bioherbicidas dentro del laboratorio como alternativas al uso del Glifosato en malezas

2.2 Objetivos Específicos

- Elaborar diferentes fórmulas con ingredientes naturales con propiedad Bioherbicida en laboratorio.
- Evaluar el efecto de las diferentes formulaciones de bioherbicidas en el control de cuatro especies de maleza.
- Determinar la mejor formulación de bioherbicida en función del índice de clorofila y mortandad de maleza.

3. HIPÒTESIS

La aplicación de bioherbicidas orgánicos, afecta el desarrollo y el índice de clorofila de cuatro especies de maleza.

4. Justificación

Las malezas son plantas indeseables que crecen como organismos macroscópicos junto con las plantas cultivadas, a las cuales les interfieren su normal desarrollo. Son una de las principales causas de la disminución de rendimientos en los cultivos, debido a que compiten por agua, luz solar, nutrientes y bióxido de carbono; segregan sustancias alelopáticas; son albergue de plagas de insectos y patógenos, dificultando su combate y, finalmente, obstaculizan la cosecha, bien sea ésta manual o mecanizada. Se considera que una maleza puede ser definida de diferente manera según la ciencia que la estudie. El criterio agronómico define las malezas como plantas no deseables, que crecen en competencia con el cultivo. Es importante recordar que el glifosato es el herbicida más usado en el mundo para el control de las malezas. Gómez, A. (1990).

En México, el 50% del glifosato importado se aplica en cultivos de maíz, planta nativa mexicana y principal sustento alimentario de nuestro pueblo, así como en cítricos. Tanto la Organización Mundial de la Salud, como el Departamento de Salud de los Estados Unidos y otras organizaciones internacionales, han alertado sobre los potenciales efectos cancerígenos del glifosato, dada su alta genotoxicidad. Existe suficiente literatura científica que demuestra que este herbicida es un disruptor endocrino; provoca alteraciones metabólicas; detona el estrés oxidativo celular y está asociado con el desarrollo de enfermedades neurológicas y crónico-degenerativas. Asimismo, se ha constatado que el glifosato contamina la atmósfera, el agua y los suelos, inhibiendo la reproducción de microorganismos benéficos para la fertilización de la tierra. Por si fuera poco, el agrotóxico ha sido correlacionado con el fenómeno de reducción de la población de insectos y polinizadores. Esto último es factor de alto riesgo para la soberanía alimentaria mexicana, dado que el 19% de la producción agrícola nacional depende directamente de la polinización de las abejas.

Finalmente, el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología informa que se han puesto en marcha investigaciones científicas y tecnológicas para establecer planes que permitan disminuir paulatinamente el uso de glifosato y otros químicos en México. Asimismo, el grupo de científicos del Conacyt ha identificado al menos 12 prácticas agroecológicas, utilizadas por comunidades campesinas y productores mexicanos, para el control y aprovechamiento de las plantas arvenses. Estas prácticas, incluso, han demostrado aumentar la rentabilidad de los cultivos y repercuten de manera positiva en el ambiente, con beneficios claros para la salud humana y animal. Marzocca, A., Mársico, O. J., & Puerto, O. D. (1976).

5. Revisión de literatura

5.1 Bioherbicidas

Los bioherbicidas son extractos de diferentes plantas, como los geranios o la ortiga, ya que producen alelopatía a otros cultivos. Ventajas: Reducen el riesgo a daños al medio que pueden provocar los herbicidas sintéticos, Podemos aprovechar nuestra biodiversidad para encontrar estos enemigos naturales de nuestras malezas Y reducción de las dosis de herbicidas sintéticos, al mezclar con bioherbicidas. Las desventajas: al igual que los sintéticos se deben reaplicar, son muy específicos a profundidad su mecanismo de acción y posibles implicaciones en la salud humana. Fernández, C., & Juncosa, R. (2002).

El Bioherbicida apenas llega, se posa en el tejido de la planta y empieza a actuar alas tres o cuatro horas y la planta va tornando su color a café. Mientras que, con el glifosato, empieza a verse el efecto en la planta a los diez días porque la planta debe tomarlo por la savia, subirlo por el xilema hasta que penetre en toda la planta”.Días, L. S., & Días, A. S. (2007).

5.2 Clasificación

Se clasifica como la base para entender las interacciones bioherbicida-planta, incluyendo el manejo de la resistencia herbicida. Se examinará el sistema de clasificación de los bioherbicidas y se proveerá un resumen del agrupamiento de los bioherbicidas por su modo de acción. Los cuales actúan cumpliendo las mismas funciones de los herbicidas convencionales, salvo que no tienen efectos secundarios ni en los cultivos ni en el medio ambiente. La erradicación de las malezas y la preparación de la tierra en la agricultura siguen siendo la hoja de ruta de los bioherbicidas, así que expertos apuntan que estas sustancias ecológicas son una alternativa eficaz. Cabe resaltar que, en 2015, como resultado del estudio de un informe de la Organización Mundial para la Salud (OMS), fueron suspendidas las aspersiones con glifosato para la erradicación de cultivos de malezas, pues en el informe la OMS calificó el glifosato como “probablemente cancerígeno para los humanos”.

5.3 Taxonomía de malezas

5.3.1 *Amaranthus spinosus*

Su tallo es rojizo, ramificado, erecto y espinoso, de 0,5 a 2 m de altura. Sus hojas son alternas ovaladas de 8 a 32 cm de largo con pecíolo de 14 cm de longitud, con espinas en la base (axila). Inflorescencia, axilar en ovillo y en laterminación de las ramas densa en panículas con flores pequeñas amarillas, verdosas o crema. Produce miles de semillas brillantes de color café oscuro, mediante las cuales se propaga fácilmente.

Amaranthus spinosus fue descrito por Carlos Linneo y publicado en *Species Plantarum* 2: 991. 1753. Etimología *Amaranthus*: nombre genérico que procede del griego ἀμαραντος *amaranthos*, que significa "flor que no se marchita". *spinosus*: epíteto latino que significa "con espinas". Nombre común Quelite de puerco, bledo blanco, quelite cenizo, quelite de puerco, quelite de puerco ciego recio, quelite recio.



Figura.1 *Amaranthus spinosus*

5.3.2 *Sorghum halepense*

Pertenece a la familia Poaceae. Rizoma: El sorghum es un pasto perenne que presenta un sistema radical profusamente ramificado o fibroso. Los rizomas son vigorosos, resistentes y penetrantes. En ocasiones presentan manchas púrpuras y escamas en sus nudos, síntoma inequívoco de la actividad de un herbicida sistémico tras algunos días de su pulverización en la fracción aérea. Anatómicamente, los rizomas están constituidos por una gran cantidad de parénquima y ampliamente vascularizados. Existe una sola yema en cada nudo, cubierta por una catáfila parda que se prolonga hacia el entrenudo. Los tallos son erectos, en forma de caña. Huecos glabros o finamente pubescentes en los nudos, vigorosos con una altura variable de 0.5 a 2 m, Su grosor puede alcanzar de los 1.5 a los 2 cm. A partir del cuello del tallo se originan los nuevos brotes o vástagos vegetativos (macollas).



Figura. 2 *Sorghum halepense*

5.3.3 *Tithonia diversifolia*

Conocido como botón de oro, es una especie de plantas con flores de la familia Asteraceae que comúnmente es conocida como árbol maravilla, falso girasol, quil amargo, tornasol mexicano, girasol mexicano, margaritona, árnica de la tierra, girasol japonés o crisantemo de Nitobe. Son hierbas perennes, erectas, 1-4 m de alto; tallos evidentemente acostillados y canaliculados, casi glabros. Hojas superiores reducidas y sin lobos, las restantes 3-lobadas, 15 (-20) cm de largo y hasta 12 cm de ancho; pecíolos inferiores auriculado-abrazadores en la base, los superiores cortos y poco definidos. Pedúnculos

10-15 cm de largo; filarias en ca 4 series, todas o la mayoría ampliamente redondeadas, estriadas, casi completamente glabras; páleas 10-13 mm de largo, ápice terminando en una punta fuerte, no conspicuamente exertas; flósculos del radio 7-14, las lígulas lineares, 40 (69) mm de largo, amarillas; flósculos del disco 80-120. Aquenios 5-6 mm de largo, puberulentos; vilano de escamitas fimbriadas fusionadas y 2 escamas aristadas en los ángulos marginales



Figura.3 *Tithonia diversifolia*

5.3.4 *Cenchrus echinatus*

Tiene culmos erectos y finos de 1-6 dm de altura; plantas erectas de hasta 15 cm de largo, inflorescencia pistilada y ocasionalmente más corta que la inflorescencia estaminada. La inflorescencia pistilada es verde pálida, y de 1-6 cm de largo, 8-36 herringbones aglomeradas; herringbones 5 a 9-flosculadas de 1 cm de largo y 4 mm de ancho. La raíz tiene tallos subterráneos (rizomas) midiendo varios metros de largo.



Figura.4. *Cenchrus echinatus*

5.4 LIMONENO

Es un producto natural que se extrae del aceite de la piel de las frutas cítricas (limón, naranja, etc.). Su fórmula molecular es $C_{10}H_{16}$ y masa molecular de $136.238 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Es un líquido incoloro o amarillo pálido. Su nombre IUPAC es el 1-metil-4-(prop-1-en-2-il)-ciclohexeno. Presenta el olor característico de las naranjas y limones. Es un compuesto orgánico de la familia de los terpenos. Es utilizado como insecticida para repeler o matar hormigas, pulgones, cochinillas, moscas, ácaros, cucarachas, avispas, rosales, plantas ornamentales... ya que no es tóxico para los seres humanos y animales domésticos, ni perjudicial para la jardinería, plantas de interior ni para el medio ambiente, por lo que se puede usar en hogares, oficinas y colegios. Morales, 2015.

El limoneno es una sustancia natural que se extrae del aceite de las cáscaras de los cítricos y que da el olor característico a los mismos. Pertenece al grupo de los terpenos, en concreto a de los limonoides, que constituyen una de las más amplias clases de alimentos funcionales y fitonutrientes, funcionando como antioxidantes. Su principal aplicación hoy día es como disolvente industrial biodegradable. Se utiliza también en síntesis orgánica para obtener otros compuestos químicos. En la Industria alimentaria (saborizante), farmacéutica, cosmética y además como disolvente de resinas, tintas, pigmentos, fabricación de adhesivos, Chávez Melo, D. B. (2017).

5.5. Las saponinas

Las saponinas esteroidales presentes en los agaves son metabolitos secundarios involucrados en los mecanismos de defensa de las plantas contra el ataque de hongos, bacterias, levaduras y algunos insectos. En los procesos de fermentación de las bebidas de agave, las saponinas inhiben el crecimiento de algunas levaduras, ocasionando una reducción en los rendimientos de producción. Estos mecanismos de inhibición no están del todo entendidos, sólo algunos estudios se han realizado con los esteroides de la membrana celular. Su presencia ha sido reportada en más de 100 familias de plantas. Martínez, M. A. (2001).

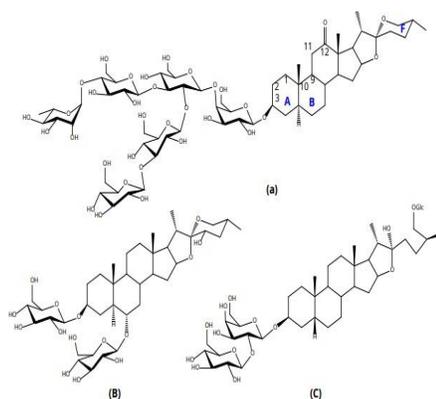


Figura 5. Estructura de una saponina monodesmosídica: (a) furcreastatina y dos saponinas bidesmosídicas; (B) cantalasaponina-1; y (C) timosaponina BII.

Dependiendo de su estructura de aglicona, se pueden clasificar en dos grupos principales: saponinas esteroidales (C27) y triterpenoides (C30). Las saponinas exhiben propiedades antimicrobianas, antifúngicas, insecticidas y antialimentarias, lo que les permite actuar como una barrera química contra patógenos potenciales y, por lo tanto, representan un recurso valioso para el desarrollo prospectivo de nuevas formas de agroquímicos.

Las saponinas esteroidales se encuentran principalmente en monocotiledóneas, mientras que las saponinas terpénicas se encuentran especialmente en dicotiledóneas.

Si se observan con el microscopio electrónico preparados de membranas lipídicas artificiales en presencia de saponinas, las membranas muestran grandes poros. Por lo tanto, se cree que la saponina forma complejos con los esteroides de las membranas celulares y produce grandes poros en las mismas que alteran su permeabilidad y la célula se lisa. Los poros no se forman cuando una o más azúcares de la cadena de la saponina se eliminan. No obstante, el descubrimiento de que las saponinas poseen un amplio rango de actividad bioactiva, como lo es su actividad anti-insectos, anti-hongos, antiviral, anti-levadura, anti-cáncer, antitumoral, entre otras. No solo limitó su uso tradicional, sino que se comenzó a buscar aplicaciones principalmente en la industria farmacéutica. Los jugos de las hojas de los agaves (*Agave difformis*, *A. lechuguilla*, *A. toumeyana*, *A. vilmoriniana*, *A. schott*, *A. durangensis*, *A. salmiana*, *A. tequilana*, *A. angustifolia*, *A. cupreata*, por ejemplo) presentan saponinas de carácter esteroideal, Dueñas, A. C. (2016).

La extracción se realiza por dos métodos diferentes, con la finalidad de determinar el más eficiente. Uno de los métodos desengrasa la muestra con cloroformo y luego extrae la saponina con etanol en el Soxhlet, mientras que el otro método realiza una maceración con etanol.

En los métodos de extracción de las saponinas esteroidales, usualmente se obtiene un extracto en polvo seco, que posteriormente es diluido en metanol, etanol o en una solución con 50% de etanol o metanol a temperatura ambiente. Existen técnicas ~~convencionales~~ de extracción como la maceración, Soxhlet, extracción por reflujo, y técnicas no convencionales, amigables con el ambiente, como la extracción por ultrasonido, microondas y extracción acelerada de solventes (ACE). Usualmente el extracto es concentrado, y fraccionado con acetato de etilo y n-butanol.

En los procesos de fermentación de las bebidas de agave, las saponinas inhiben el crecimiento de algunas levaduras, ocasionando una reducción en los rendimientos de producción. Estos mecanismos de inhibición no están del todo entendidos, sólo algunos estudios se han realizado con los esteroides de la membrana celular. Además, existe poca información acerca del efecto de las saponinas en los polisacáridos de la pared celular y los fosfolípidos de la membrana celular de las levaduras.

5.6 Microorganismo

También llamado microbio (del griego científico μικρόβιος [*microbios*]; de μικρός [*micrós*], "pequeño", y βίος [*bíos*], 'vida' *ser vivo diminuto*) o microbionte, es un ser vivo o un sistema biológico que solo puede visualizarse con el microscopio. Son organismos dotados de individualidad (unicelulares) que presentan, a diferencia de las plantas y los animales, una organización biológica elemental. La disciplina científica que estudia los microorganismos es la microbiología. Soriano, E. V., Salgado-Miranda, C., Suárez-Güemes, F., & Tavera, F. J. T. (2006).

El concepto de microorganismo es operativo y carece de cualquier implicación

taxonómica o filogenética, dado que engloba organismos unicelulares heterogéneos, que no están relacionados evolutivamente entre sí, tales como bacterias, arqueas (procariotas), protozoos, algas microscópicas y hongos microscópicos (eucariotas). Cano, M. A. (2011).

5.7 Nanoemulsiones

Son Emulsiones con gotas cuyo tamaño entra en la escala nanométrica, en la que tanto las gotas de aceite como las de agua están finamente dispersas en la fase opuesta, con ayuda de un surfactante apropiado, que es una molécula capaz de estabilizar el sistema. Las moléculas de surfactante contienen grupos hidrofílicos e hidrofóbicos (la lecitina de soja y sustratos oleaginosos son los más usuales). Típicamente el tamaño de las gotas se sitúa entre 0.1 y 500 nanómetros. El tamaño concreto varía debido a la partícula concreta (medicamento), la energía mecánica, la composición y la cantidad relativa de surfactante, etc. Las emulsiones pueden ser de agua en aceite o aceite en agua. En el caso de aceite en agua, las nano emulsiones varían entre un 5% y un 20% en peso. A veces se emplean nano emulsiones de mezcla de aceites para mejorar la solubilización en la fase aceite. Bonilla, P., & Bonilla, M. (2021).

5.8 Polisorbatos

Son una clase de emulsionantes utilizados en la industria farmacéutica, agrícola, alimentaria. A menudo se utilizan en cosmética para solubilizar los aceites esenciales en productos a base de agua. Los polisorbatos son líquidos aceitosos derivados del sorbitano. A partir del sorbitano, por etoxilación y esterificación con ácidos grasos se obtienen los distintos polisorbatos comerciales. Medina, E., López, C. A., Pérez, N. O., & Ferlan, I. (2008).

5.9 Lecitina de soya

Es de las grasas vegetales más saludables y recomendables para mantener la salud, por lo que es aliado en una buena dieta. Acerca de su origen, este nutriente natural se obtiene a partir del aceite de los granos de soja. Cala Calviño, L., Sánchez Hechavarria, M. E., & García Torres, D. S. (2017).

5.10 El ácido acético

(También llamado ácido metilcarboxílico o ácido etanoico) puede encontrarse en forma de ion acetato. Se encuentra en el vinagre, y es el principal responsable de su sabor y olor agrios. Su fórmula es $\text{CH}_3\text{-COOH}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2)$. De acuerdo con la IUPAC, se denomina sistemáticamente ácido etanoico. Benassatti, H. E., Marfil, L. M., & Occhionero, M. (1994).

5.11 Alcohol Láurico

Son generalmente de alto peso molecular, alcoholes primarios de cadena lineal, pero también pueden variar desde tan poco como 4-6 átomos de carbono a tantos como 22-26, derivados de grasas y aceites naturales. La longitud exacta de la cadena alifática varía con la fuente. Los alcoholes grasos generalmente tienen un número par de átomos de carbono y un solo grupo de alcohol (-OH) unido al carbono terminal. Algunos son insaturados y algunos están ramificados. Son ampliamente utilizados en la industria. Noboa, G., Márquez, L., López, J.C., & Shah, D. (2019).

5.12 Ácidos Carboxílicos

Constituyen un grupo de compuestos, caracterizados porque poseen un grupo funcional llamado grupo carboxilo o grupo carboxi (-COOH). Guerrero, B., Velandia, M., Fischer, G., & Montenegro, H. (2007).

5.13 Emulsión

Es una mezcla heterogénea, de dos líquidos inmiscibles. Un líquido (la fase dispersa) es dispersado en otro (la fase continua o fase dispersante). Muchas emulsiones son de aceite/agua, con grasas alimenticias como uno de los tipos más comunes de aceites encontrados en la vida diaria. La emulsión ocurre cuando unimos dos líquidos que en principio se dispersan. Kale, SN y Deore, SL (2017).

5.14 Antecedentes

5.14.1 Mucilago de cacao

Hipo et al 2017, evaluo el mucilago de cacao bajo proceso de fermentación anaeróbica por un lapso de 30 días y el efecto de fitotoxicidad del mucilago o baba de cacao + biol de hojas como herbicidas naturales, sobre las diferentes especies en post-emergencia en malezas de 30 días, la composición fisicoquímica del mucílago de cacao tiene resultados positivos está compuesto por alcaloides, taninos, flavonoides, cumarinas y esteroides que ha sido reportado como bioherbicidas naturales.

5.14.2 Acido Acético del vinagre

El ácido acético del vinagre es desecante y absorbe la humedad de las hierbas, ocasionando progresivamente la muerte de los tejidos vegetales. Las concentraciones de ácido acético del 5 - 10% eliminan las pequeñas y mediana malezas, especialmente las de "hoja ancha", con efectividad del 88 al 100% (Lerner,2006). Asimismo (Pujisiswanto, H. et al., 2009). Menciona que no es selectivo, ya que ocasiona secamiento de cualquier tipo de tejido vegetal, y dependiendo de su modo de uso puede dañar el cultivo el ácido acético puede ser utilizado en la producción de cultivos orgánicos como bioherbicida de contacto, cuya acción sobre las plantas es similar al paraquat. En función de ello, el vinagre puede utilizarse como una alternativa de bio herbicida natural para plantas de

jardín.

Que formulas usaron La combinación de vinagre con sal de mesa aumenta el efecto desecante (Arce, G., 2001). Si se añadiese jabón se obtiene un producto aún más letal para las hierbas, porque sus componentes destruyen la superficie cerosa de la planta y la expone más rápidamente a su desecación. Una fórmula básica para un bioherbicida natural a base de vinagre, sal y jabón es la siguiente: 1/4 de galón (946 ml) de vinagre, 1/4 de libra (0,1 kg) de sal y 2 cucharadas (30 g) de detergente líquido sin lejía. No se incluye agua. La solución se aplica con atomizador manual directamente sobre las hojas de las plantas, procurando que éstas no sean demasiado grandes para que el producto pueda actuar y eliminarlas. En cuanto a la eficacia en el modo de acción, la desecación de las malezas empieza a notarse a las 24 horas (80.4 %), aumentando a las 48 y 72 horas después de aplicación, hasta un máximo de 85.2 % de desecación en la mayoría de las especies de malezas expuestas al ácido acético del vinagre

El vinagre actúa como bioherbicida natural de contacto para el control de especies de malezas poáceas, ciperáceas y de hoja ancha, siendo estas últimas donde más se ejerce una acción desecante debida a que la posición horizontal de las hojas facilita su adhesión a los tejidos vegetales.

5.14.3 Efectos alelopáticos de extractos acuosos y etanolicos

Aro, M. H. (2016). evaluo los efectos alelopáticos de extractos acuosos y etanolicos de boniato obtenidos de diferentes partes de la planta (hojas, tallos, inflorescencias y raíces) a la concentración de 0.01 g mL⁻¹, sobre la germinación y el crecimiento de *Portulaca oleracea L.* y *Amaranthus spinosus* donde exhibieron mayores efectos inhibitorios en la germinación comparado con el testigo y control, ya que retardaron la velocidad de germinación y mostraron los menores porcentajes de germinación a los 3 días después del inicio del ensayo. No obstante, los extractos acuosos y alcohólicos de I. batatas a esta concentración estimularon el crecimiento de la radícula e hipocótilo de ambas especies. También se comprobó que al incrementar la concentración a 0.05 g mL⁻¹ y 0.1 g mL⁻¹ del extracto acuoso y alcohólico de tallos (la parte que mostró

el mayor efecto inhibitorio) el efecto inhibitorio era mayor.

5.14.4 Metabolitos

Hernández Pérez, R., Torres García, S., & Hernández Aro, M. (2010) identificaron una mayor presencia cualitativa de metabolitos en el extracto acuoso de todos los órganos, comparado con el extracto alcohólico, principalmente taninos, flavonoides y alcaloides, y también se encontraron saponinas en las hojas de *Hipomea spp.*

5.14.5 Extracción de saponinas

Velazco, 2012 utilizó el método de extracción de saponinas las hojas de la planta que se cortaron entozos transversales de 4 a 7 cm de largo, y se deshidrataron a 70 °C, y las hojas fueron molidas. Para la extracción de saponinas se tomó una cantidad determinada (5 g) de material biológico, La mezcla lechuguilla se mantuvo en agitación constante durante 5 h. Posteriormente se continuó con agitación durante 1 h más, al concluir este tiempo la mezcla se filtró y se decantó en un embudo de separación.

6. Materiales y Métodos

6.1 Localización

El experimento se realizó en el laboratorio de usos de suelos y en el invernadero 5 en las Instalaciones del Instituto Tecnológico de Tlajomulco de Zúñiga Jalisco, ubicado en el Km.10 Carretera Tlajomulco – San Miguel Cuyutlán, RFC TNM140723GFA, Correo electrónico: DIR_TLAJOMULCO@TECNM.MX Tel: 3329021130



Figura.6 Croquis del departamento

6.2 Material biológico

Se comparo diferentes especies de jugo de agave provenientes de Tapalpa Jalisco de Agave pulquero *Agave salmiana* y las hojas de *Agave valenciana* se colectaron en el estado de Jalisco se identificó en el herbario del ITTJ con esta especie obtenida en la comunidad de Quila Jalisco en el municipio de Tecolotlan Jalisco en vegetación silvestre y en bosque de pino encino a 2000 metros de altitud, se procedieron a cortar las hojas , se cocieron a las brasas; posteriormente se obtuvo el jugo de las hojas en una máquina de jugo de caña, se obtuvo un rendimiento de 20 litros de jugo de 20 hojas de agave , se llevaron a el laboratorio de suelos del Instituto Tecnológico de Tlajomulco de Zúñiga. Se realizaron diferentes formulaciones de obtención de saponinas de agave, precipitación con etanol al 40%, precipitación con acido sulfúrico a pH1, precipitación con cloruro de

aluminio 5%, refrigeración a 6 grados centígrados.

6.3 Formulación

Para elaborar las formulaciones de bioherbicidas se utilizó metodología utilizada por Mezcla heterogénea, de dos líquidos inmiscibles. Un líquido (la fase dispersa) es dispersado en otro (la fase continua o fase dispersante). un PH de 7.5 La emulsión ocurre cuando unimos dos líquidos que en principio se dispersan, es decir, lo que ocurre cuando mezclamos agua y aceite, que no permiten que se junten. Kale, SNy Deore, SL (2017).



Figura 7 Formulaciones



Figura 8 Nonoemulsiones



Figura 9 Preparado

6.4 Establecimiento del experimento

6.4.1 Diseño experimental

Para la prueba de evaluación del bioherbicidas en invernadero se realizó un diseño estadístico en bloques al azar utilizando 12 macetas de plástico, sembradas manualmente usando suelo con composta como sustrato. A estas cuatro especies de maleza que fueron analizadas como bloque a *Amaranthus spinosus*, *Sorghum*, *Tithonia diversifolia* y *Cenchrus echinatus*). Se evaluo el porcentaje de daño utilizando la escala propuesta por EWRS y se hizo un análisis de clorofila utilizando medidor de clorofila SPAD marca Minolta. Se analizará prueba de comparación de medias Tukey y análisis de varianza evaluando el contenido de clorofila utilizando medidor portátil Minolta y el %de daño en escala de 1 a 9. Para la evaluación visual se empleará la escala de control

visual propuesta por la EWRS (European Weed Research Society) (anexo) tomando como referencia el testigo limpio y el testigo sin control (enhierbado). (Cuadro 1)

Valor	Efecto sobre el cultivo	Control de maleza (%)	Toxicidad en el cultivo (%)
1	Sin efecto	99.0 - 100	0.0 - 1.0
2	Síntomas muy ligeros	96.5 - 99.0	1.0 - 3.5
3	Síntomas ligeros	93.0 - 96.5	3.5 - 7.0
4	Síntomas que no se reflejan en el rendimiento	87.5 - 93.0	7.0 - 12.5
5	Daño medio	80.0 - 87.5	12.5 - 20.0
6	Daños elevados	70.0 - 80.0	20.0 - 30.0
7	Daños muy elevados	50.0 - 70.0	30.0 - 50.0
8	Daños severos	1.0 - 70.0	50.0 - 99.0
9	Muerte completa	0.0 - 1.0	99.0 - 100

Tabla 1. Transformación de la escala mundial EWRS a escala proporcional

BLOQUE	maleza
1	Tithonia
2	Aceitilla
3	Zacate huizapol
4	Milpilla

Tabla 2 Diseño de tratamientos para evaluación bioherbicida en invernadero.

Tratamiento	Limoneno	Dosis ml/100 ml agua
T1 Nano emulsión	25 %	4ml
T2 Nano emulsión	35 %	3ml
T3 Emulsión	25%	4ml
T4 Emulsión	30%	4ml
T5 Emulsión	35%	4ml
T6 testigo	Testigo	adherente

Tabla 3 Lista de tratamientos



Figura 10 Desinfectando el invernadero



Figura 11 Preparación de macetas

6.4.2 Preparación del sustrato

Revoltura del sustrato a utilizar: se hizo una mezcla con un 60% de tezontle, 30% de composta y 10% de zeolita, esto se mezcló y se uniformizó la mezcla para homogenizar el sustrato. Se fertiliza con 3 gramos por maceta de fertilizante de lenta liberación osmocote.



Figura 12 Composta

6.4.3 Siembra de malezas

Se realizó la siembra utilizando cuatro especies: *Amaranthus spinosus*, *Sorghum*, *Tithonia diversifolia* y *Cenchrus echinatus*. Se recolectaron semillas de campos de cultivo, utilizando 25 semillas por maceta, se sembraron a una profundidad de 2 milímetros tapándola con composta finamente y posteriormente se regó y se sometió a sombra con papel periódico. Se regó diario hasta la emergencia.



Figura.13. Malezas sembradas

6.4.4 Riego

Durante una semana la humedad es muy importante a la hora de la germinación por eso estuvimos regando por encima del papel periódico por una semana consecutiva, posterior a esto el riego es cada tercer día, al cuarto día ya que empezó a germinar le retiramos el periódico.



Figura 14 Macetas tapadas con periódico

6.4.5 Aplicación de Bioherbicida

Se realizó la aplicación de bioherbicida utilizando una dosis de 30 ml por litro de agua, se utilizó un atomizador para su aplicación en el follaje. Se aplicó a las 10 de la mañana fechas de aplicación.

Se utilizó agua destilada para su aplicación.



Figura 15. Aplicación de Bioherbicida, se aplicaron de una por una en diferentes, malezas, tiempos y en diferente concentración.

7 RESULTADOS

7.1 Formulación de bioherbicidas

Los resultados obtenidos del trabajo de la formulación, en la primera etapa lo primero que observamos fue que se separaban los componentes el limoneno se separaba de los demás componentes, esa problemática se resolvió agregando 10% de ácidos carboxílicos y estos ayudaron a estabilizar la solución, así que ya no se separaron las partículas oleosas. Los ácidos carboxílicos mejoraron la estabilidad de la formulación

En la primera etapa de formulaciones la mejora que hicimos fue donde mezclamos el limoneno con el polisorbato y le agregamos los 10% de ácido carboxílico, y el ácido acético. Así ya eliminamos la sedimentación porque se separaban los ingredientes y no quemaban.

En la segunda etapa de formulaciones la mejora fue cuando agregamos un alcohol tridecílico y manitol, al agregar el alcohol tridecílico y manitol se hizo más eficiente la formulación. Entonces también descubrimos que el orden es muy importante, en este caso la solución A se agrega a la solución B. y la solución C se agrega a la B.

En base a los resultados obtenidos se pudo obtener una formulación a base de limoneno en nano emulsión al 35% a una dosis de 3ml/100 ml de agua, fue la que mejor resultado se obtuvo en prueba de invernadero.



Figura. 16 Frascos de Nanoemulsión



Figura 17. Imagen testigo sin aplicación



Figura 18. Imagen con la aplicación concentrada

Se recomienda este tipo de bioherbicida para las plantas jóvenes que no hayan conseguido alturas mayores a 10 cm como recomienda la literatura.



Figura 19. Imagen del tamaño ideal para la investigación

Tabla 4 Formulas desarrolladas

Formula	Ingredientes	Cantidad	Aplicación	Observaciones
1	Saponinas de Agave pulquero Adherente polisorbato Alcohol	80ml 20ml 10ml 10ml	Aplicar puro	Se forma gran cantidad de espuma, dificulta su 
2	Trietalodamina Agave lechuguilla Trietalodamina Alcohol Limoneno	25ml 5ml 5ml 25ml	25ml x 1 l de Agua	Se precipita 
3	Saponina fermentada Trietalodamina Alcohol Limoneno Polisorbato	25ml 5ml 5ml 25ml 5ml	30ml x 1 l de agua	No se calentó, se agita por 10 min. 

*

Formula	Ingredientes	Cantidad	Aplicación	Observaciones
4	Saponinas Trietalodamina Alcohol	25ml 5ml 5ml	Agitar por 10 min 25ml x	A las 48 hrs 
	Limoneno	25ml	500ml de agua	
5	Saponinas Trietalodamina	25ml 5ml	Agitar por 10 min.	Se corto 
	Alcohol Nano emulsión	5ml 40ml	20ml x 1l de agua	
6	Nano emulsión	100ml	2.5ml x 100ml de agua	Se cuaja 
7	Fermento de Agave	80ml 20ml	30ml x 1l de agua	Se corta 
	Acido carboxílico Alcohol Micro emulsión Lauril sulfato Aceite mineral	10ml 30ml 10ml 5ml	25ml x 800ml de agua	

8	Solución A Alcohol Limoneno Polisorbato	10ml 30ml 20ml	30ml x 1l de agua 25ml x 850ml de agua 15ml x 400ml de agua	La solución A se aplica a la solución B 
	Solución B Trietilamina Ácido acético Lauril sulfato	10ml 5ml 5ml		

9	Solución A Polisorbato Limoneno	20ml 25ml	25ml x 1l de agua	Centrifugar a 4000 revoluciones x min 
	Solución B Polisorbato Limoneno Alcohol	20ml 25ml 10ml		
10	Polisorbato Alcohol Limoneno Lecitina	20ml 30ml 25ml 8ml	25ml x 1l de agua	Se corta 

Formula	Ingredientes	Cantidad	Aplicación	Observaciones
11	Solución A Agua Alcohol Limoneno Polisorbato Lecitina de soya Solución B Trietalodamina Ácido acético Lauril sulfato de sodio solución C Agua destilada Alcohol	10ml 25ml 40ml 12ml 7.5ml 10ml 5ml 5ml 30ml 10ml	35ml x 1 de agua	PH 7.6 La solución A se le aplicó a la solución B. La solución C se le aplicó a la solución B. Queda una textura ideal para la aplicación
12	Solución A Alcohol Limoneno Polisorbato Lecitina de soya solución B Trietalodamina Ácido acético Lauril sulfato	10ml 25ml 20ml 5ml 10ml 5ml 5ml	30ml x 1 de agua	Se calentó a 50° c 
13	Alcohol Limoneno Polisorbato Lecitina de soya Trietalodamina Ácido acético Lauril sulfato Jugo de agave	20ml 45ml 30ml 10ml 10ml 5ml 30ml	2ml x 70ml de agua	Calentar a 70° y dejar enfriar. Volver a calentar y dejar enfriar 
14	Jugo de agave Alcohol Trietalodamina Ácido acético Lauril sulfato	30ml 10ml 10ml 5ml 7ml	2ml x 50ml de agua	SE SEPARO 

15	<p>Solución A Alcohol Limoneno Polisorbato Lecitina desoya</p> <p>Solución B Trietanolamina Ácido acético Lauril sulfato</p>	<p>20ml 45ml 33ml 10ml</p> <p>10ml 5ml 5ml</p>	<p>100ml de agua x 1ml de jugo de agave y 2ml de la emulsión</p> <p>100ml de agua x 1ml de</p>	<p>Se espesa muy rápidamente, se tendría que aplicar antes de las dos horas de preparado.}</p> <p>SOLIDIFICA</p> 
----	--	--	--	--

	Solución C Agua Alcohol	15ml 10ml	jugo de agave y 4ml de la emulsión 100ml de agua x 1ml de jugo de agave y 5ml de la emulsión	
16	Solución A Metanol de arcilla Limoneno Polisorbato Lecitina desoya Calentarlo a 50°C después agregarle Solución B Trietanolamina Ácido acético Lauril Solución C Ya mezclado todo Ponerle Agua Alcohol	20ml 45ml 33ml 10ml 10ml 5ml 5ml 15ml 10ml	5ml x 100ml de agua 10ml x 100ml de agua 2.5ml x 50ml de agua	Calentar la solución A a 50°C, esta integrarla a la solución B y mezclar. Ya mezclado se le agrega la solución C. Se cuaja
17	Alcohol etoxilado limoneno Polisorbato carboxílico	10ml 45ml 33ml 20ml	30ml x 1 l de agua	Si quemo

Para preparar la NANOEMULSION A 12,000 RPM 2	POR 100 ML
SOLUCIÓN A 7.5 ML ISOPROPILICO 33.7 ML LIMONENO 24.75 ML POLISOLBATO 15 ML CARBOXILICOS	SOLUCION B 11.25 ML H2O 7.5 ISOPROPILICO

Tabla 5 Formula para preparar la nanoemulsion

7.2 Resultados Índice de Severidad

Como se puede apreciar en la tabla 6 el tratamiento T2 fue el que presento mayor índice de severidad el cual mostro mayores daños visibles a las plantas



Figura 20 Índice de severidad y porcentaje de daño

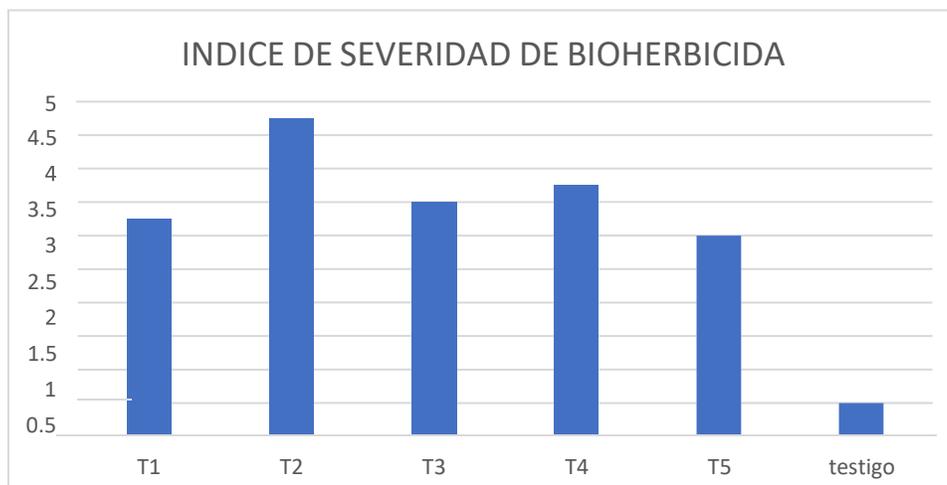


Tabla.6 Índice de severidad de daño

7.3 INDICE DE CLOROFILA

Variable dependiente: CLOR

Origen	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	Valor F	Pr > F
Modelo	23	11395.02722	495.43597	4.03	<.0001
Error	211	25920.90813	122.84791		
Total, corregido	234	37315.93535			
R-cuadrado	Var Coef.	Raíz MSE	Media de CLOR		
0.305366	23.24	11.08368	25.62919		

Tabla 7 Análisis de Varianza

Como se puede apreciar en la Tabla 7 se encontró diferencias altamente significativas por efecto de los tratamientos en el contenido de clorofila.

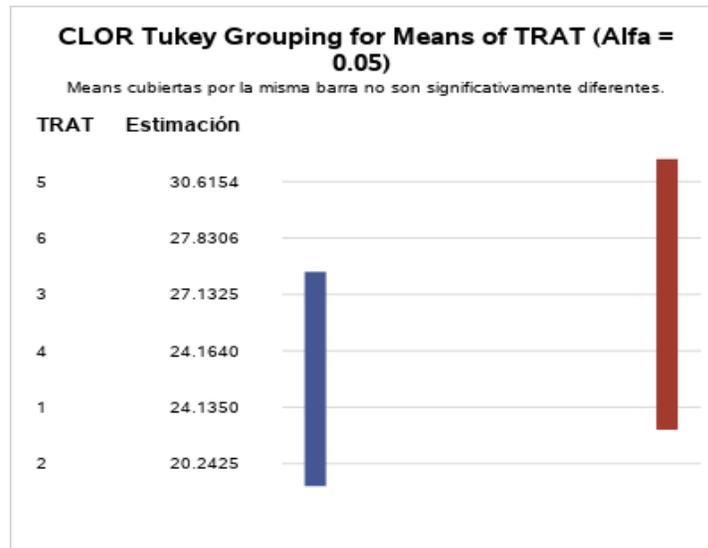


Figura.21 Prueba de comparación de medias de Tukey

Como se aprecia en la Figura 21 el mejor tratamiento fue el T2 y en base a los resultados obtenidos se pudo obtener una formulación a base de limoneno en nano emulsión al 35% a una dosis de 3ml/100 ml de agua, fue la que mejor resultado se obtuvo en prueba de invernadero.

En la figura 22 se puede apreciar el mejor tratamiento es el 2 siendo estadísticamente diferente a los demás tratamientos.

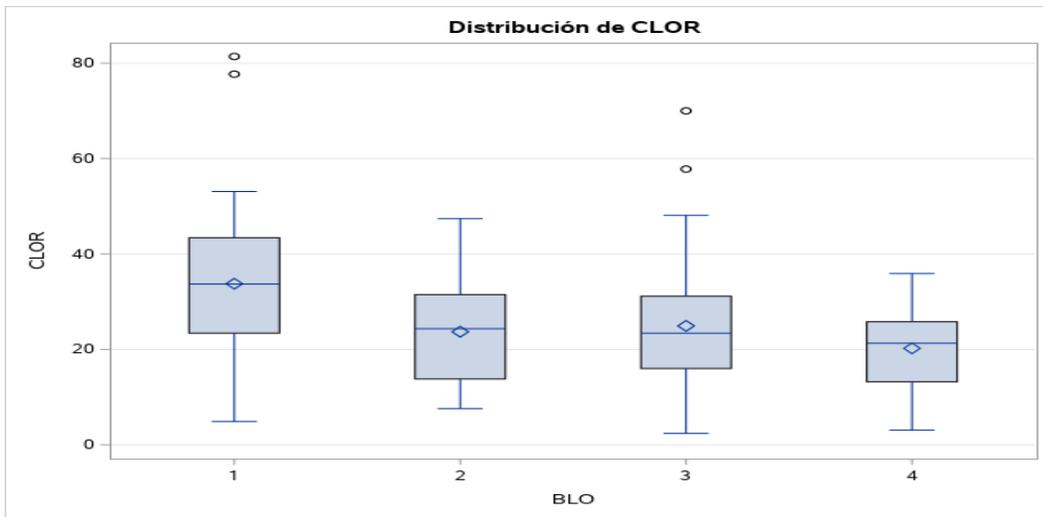


Figura.22 Contenido de clorofila unidades spad por especie

En la figura 22 se puede apreciar la maleza *Thithonia* obtuvo mayor contenido de clorofila mientras la especie 4 el sorgo le afecto más el bioherbicida al obtener menor contenido de clorofila.

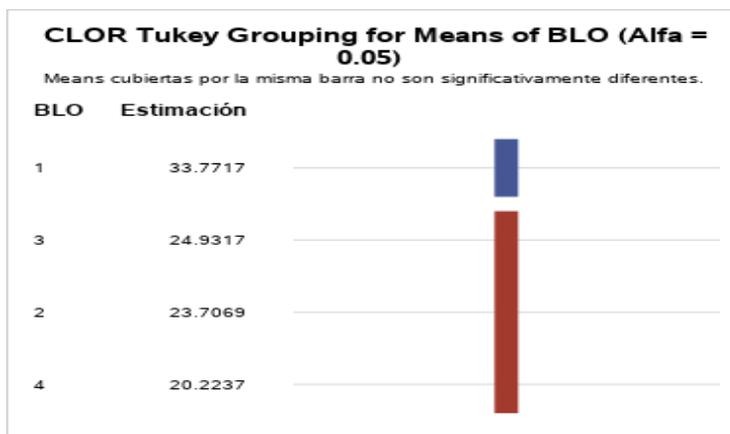


Figura. 23 Prueba de comparación de medias Tukey para especie de maleza.

Procedimiento ANOVA

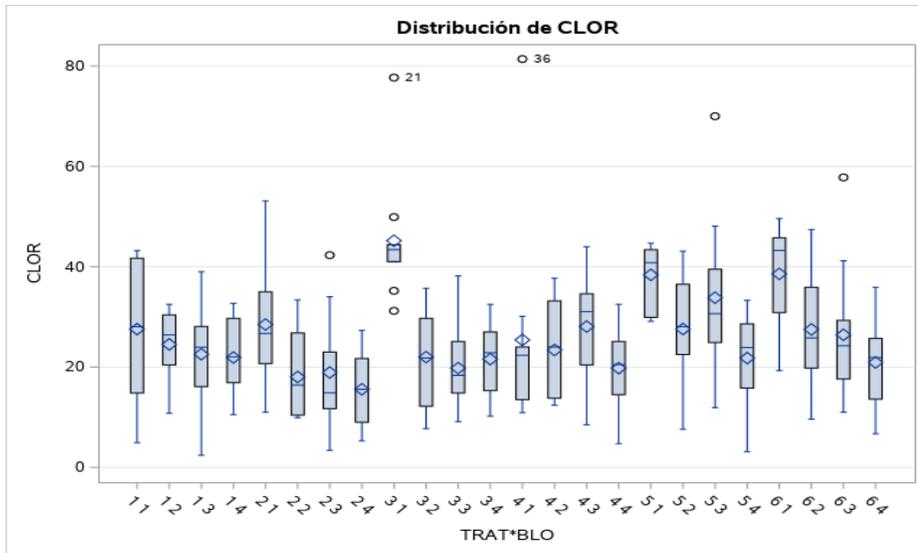


Figura.24 Unidades spad de clorofila obtenidos en los tratamientos

Como se puede apreciar en la Figura 24, se observa en el tratamiento 2 los índices más bajos de clorofila y siendo el bloque 4 el que más bajos contenidos de clorofila.

CONCLUSIONES

De las formulaciones realizadas se logró estabilizar conforme a pruebas de estabilidad y compatibilidad donde se agregó ácidos carboxílicos se logró la mayor solubilidad.

En base a los resultados obtenidos se pudo obtener una formulación a base de limoneno en nanoemulsión al 33% a una dosis de 3ml/100 ml de agua, fue la que mejor resultado al obtener mayor índice de daño y menor contenido de clorofila se obtuvo en prueba de invernadero.

La especie más resistente a el bioherbicida fue *Thithonia* la cual requiere mayor dosis de aplicación presento menor contenido de clorofila y la más afectada fue el *Sorgum halepense*

9 Literatura consultada

Arce, G. (2001). Evaluación técnica del vinagre para el manejo de malezas. Honduras, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana.

Aro, M. H. (2016). Potencial alelopático de *Phyla strigulosa* (M. Mart. & Gal.) Mold., *Sphagneticola trilobata* L. Pruski e *Ipomoea batatas* (L.) Lam sobre arvenses y cultivos (Doctoral dissertation, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas).

Benassatti, H. E., Marfil, L. M., & Occhionero, M. (1994). Acido acético: su capacidad desinfectante. *Acta bioquím. clín. latinoam*, 411-9.

Bonilla, P., & Bonilla, M. (2021). La Nanoemulsion de liberación controlada de ibuprofeno con lecitina de soya. *Química Central*, 7(2), 44-49.

Cala Calviño, L., Sánchez Hechavarria, M. E., & García Torres, D. S. (2017). Aspectos farmacológicos de la lecitina de soya y sus posibles aplicaciones médicas. *MediSan*, 21(1), 83-95.

Cano, M. A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. Una revisión. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 15-31

Chávez Melo, D. B. (2017). Obtención de limoneno a partir del aceite esencial de naranja mediante destilación (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

Días, L. S., & Días, A. S. (2007). Metabolitos secundários como fontes de bioherbicidas: situação actual e perspectivas.

Dueñas, A. C. (2016). Presencia de saponinas en *Agave* spp. de México. *BIOZ Revista de Divulgación UACB*, 1(1.)

Fernández, C., & Juncosa, R. (2002). Biopesticidas: la agricultura del futuro. *Phytoma*, 141, 14-19.

Gamboa, W., & Pohlan, J. (1997). La importancia de las malezas en una agricultura sostenible del trópico. *Der Tropenlandwirt-Journal of Agriculture in the Tropics and Subtropics*, 98(1), 117-123.

Guerrero, B., Velandia, M., Fischer, G., & Montenegro, H. (2007). Los ácidos carboxílicos de extractos vegetales y la humedad del suelo influyen en la producción

y el rajado del fruto de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 1(1), 9-20.

Gómez, A. (1990). *Las malezas nobles previenen la erosión*. Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé).

Hernández Pérez, R., Torres García, S., & Hernández Aro, M. (2010). Alelopatía de residuos de *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. e *Ipomoea batatas* (L.) Lam. sobre malezas y cultivos hortícolas.

Hipo Hipo, M. R. (2017). Aplicación de mucilago de semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el control de malezas (Bachelor's thesis).

Kale, SN y Deore, SL (2017). Emulsión microemulsión y nanoemulsión: una revisión. *Revisiones sistemáticas en farmacia*, 8 (1), 39.

Kolmans, E., & Vásquez, D. (1996). Manual de agricultura ecológica. *Una introducción a los principios básicos y su aplicación*. MAELA-SIMAS. Nicaragua, 59-222

erner, R. (2006). ¿Conquistar hierbas con vinagre? Indiana: Extensión de Universidad de Purdue

Martínez M.A. (2001). Saponinas esteroides. Rev. Universidad de Antioquia, [online] Junio:2001. amart@muiscas.udea.edu.co

Marzocca, A., Mársico, O. J., & Puerto, O. D. (1976). Manual de malezas; plantas indeseables, perjudiciales o cuyos frutos o semillas son impurezas de los granos de 3cereales, oleaginosos y forrajeras, y que crecen principalmente en la región pampeana de Argentina y en el Uruguay-3.

Medina, E., López, C. A., Pérez, N. O., & Ferlan, I. (2008). Determinación de Tween-20 en AgsHB por un método espectrofotométrico. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 39(2), 11-15.

MORALES, G. M. G. (2015). EXTRACCIÓN ENZIMÁTICA DE LIMONENO EN CÁSCARA DE LIMÓN.

Noboa, G., Márquez, L., López, JC, & Shah, D. (2019). Estudio factorial sobre la interacción del grupo OH-en medio acuoso y el grupo EO de un surfactante no iónico, durante la etapa de clarificación de la emulsión

Pujiswanto, H. et al. (2009). Effect of acetic acid as pre-plant herbicide on Maize germination. Pakistán: ARPJ Journal of Agricultural and Biological Science.

Remmers, G. (1993). Agricultura tradicional y agricultura ecológica: vecinos distantes. *Agricultura y sociedad*, 66, 201-220.

Reyes Rosas, S., Vallejo Cantú, N. A., & Méndez Contreras, J. M. (2019). *Influencia del D-limoneno como inhibidor del proceso de digestión anaerobia para producir un bioenergético* (Doctoral dissertation, TecNM campus Orizaba).

Soriano, E. V., Salgado-Miranda, C., Suárez-Güemes, F., & Tavera, F. J. T. (2006). Patogenia microbiana: Conceptos básicos en la interacción hospedero-microorganismo. *Veterinaria México*, 37(4), 457-465..

10 ANEXOS

	FICHA TÉCNICA	Código: GT-F-40
	Versión: 02	Fecha: 27/09/2014
Número de Revisión:001 Declaración de Fecha de Revisión: 18/09/2018		Página: 1 de 1
TÍTULO: LIMONENO		

1. DESCRIPCIÓN GENERAL

Nombre químico: dl-limoneno; dipenteno. **Calidad:** cosmético

CAS: 68647-72-3 **UN:** 2319

Descripción: Líquido incoloro a ligeramente amarillo, olor a naranja. El limoneno toma su nombre del limón, por su relación con el limón, que al igual que muchos cítricos, contiene cantidades considerables de éste, el cual contribuye a su olor. Es una molécula quiral, y fuente biológica para producir un antiómero: la principal fuente industrial, del citrus fruit, que contiene D-limoneno ((+)-limoneno), el cual es (R)-enantiómero, (CAS 5989-27-5). El limoneno racémico es conocido como dipentano. D-Limoneno es obtenido comercialmente desde las frutas cítricas a través de dos métodos: separación centrífuga o arrastre con vapor.

Vencimiento: 2 años.

2. APLICACIONES GENERALES

Es usado principalmente en cosméticos, como fragancia en perfumería, en alimentos como saborizante. Es usado como insecticida en botánica. Se adiciona a productos de limpieza, tales como limpiadores de manos, para dar una fragancia limón naranja.

3. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS

PARAMETRO	UNIDAD	ESPECIFICACIÓN
Apariencia	N. A.	Líquido Claro, ligeramente amarilloso
Olor	N. A.	A naranja, cítrico
Punto de Ebullición	°C	175,5-178,0
Densidad	g/mL	0,8350-0,8438
Índice de Refracción, a 20 °C	n	1,469-1,475
Rotación Óptica, a 20 °C		97 a 100
D-limone, (%p/p)	g/100gM	93,0 %, mín.
Aldehído, como (%p/p)decanal	g/100gM	1.0 %, máx.

4. ALMACENAMIENTO

Debe almacenarse a temperatura ambiente. Almacenar herméticamente cerrado, protegido de la luz, en un área seca, y lejos de fuentes de calor, llama y agentes oxidantes fuertes. Asegurarse de la circulación adecuada de humo y aire, por almacenamiento y trabajo en el área, con extractores para emanaciones de humo, evitando el riesgo de combustión espontánea.

5. PRECAUCIONES

Irritante para la piel y las vías respiratorias. Mantener alejado de fuentes de ignición.

Nota: El uso final del producto es responsabilidad directa del cliente, la información consignada en este documento es sólo de carácter ilustrativo y fue tomada de distintas fuentes bibliográficas por nuestro departamento técnico. Estos datos no representan responsabilidad legal alguna y no eximen al comprador de hacer sus propios análisis e investigaciones.

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

Figura.25. Ficha Técnica del Limoneno

	FICHA TÉCNICA	Código: GT-F-40
	Versión: 02	Fecha: 27/09/2014
		Página: 1 de 1
Número de Revisión: 001 Declaración de Fecha de Revisión: 18/09/2018		
TÍTULO: LECITINA DE SOYA		

1. DESCRIPCIÓN GENERAL

Formula: $CH_2(R)CH(R')CH_2OPO(OH)O(CH_2)_2N(OH)(CH_3)_3$ (Fosfátidos, Fosfolípidos, Fosfatidilcolina)

Descripción: La lecitina comercial es una mezcla de fosfátidos insolubles en acetona. Se presenta como un Semilíquido viscoso de color pardo claro a oscuro, de olor característico. Insoluble en acetona, parcialmente soluble en agua; soluble en cloroformo y benceno. No tóxico. Como antioxidante y como emulsificante.

Vencimiento: 1 año.

2. APLICACION Y ASPECTOS GENERALES

En la industria de alimentos, como emulsionante, dispersante, humectante, penetrante y antioxidante; y también en margarinas, chocolates y caramelos.

* En la industria de los cosméticos como emulsificante para la fabricación de cremas y jabones.

* En pinturas, piensos y tintas de imprenta. Agente de mezclado en aceites y resinas, y como lubricante en fibras textiles.

* En las industrias del plástico (desmoldante), caucho, petróleo (perforación, gasolina de plomo).

3. PROPIEDADES Y CARACTERÍSTICAS

ANÁLISIS	ESTÁNDAR	UNIDAD
Color	Marrón	---
Aspecto	Líquido viscoso	---
Insoluble en acetona	60.00 – 100.00	%
Insoluble en hexano	1.00 máx.	%
Peróxido	5.0 máx.	mEq/kg
Plomo (Pb)	≤ 2.0	mg/kg
Humedad	< 1.0	%
Color Gardner	< 10.00	Gardner
Viscosidad 26° C	< 120.00	P
Densidad	0.98 – 1.10	g/ml
Recuento total en placa	3000	CFU/g
Coliformes fecales a 36 °C	≤ 1	NPM/g
Coliformes fecales a 45 °C	≤ 1	NPM/g
Mohos y Levaduras	≤ 100	UFC/g
Staphylococcus Aureus	≤ 100	UFC/g
Reductor de sulfito de Clostridium	≤ 1	UFC/g
Salmonella	Ausente	---
Índice de acidez	< 20.00	mEq/kg

Nota: El uso final del producto es responsabilidad directa del cliente, la información consignada en este documento es sólo de carácter ilustrativo y fue tomada de distintas fuentes bibliográficas por nuestro departamento técnico. Estos datos no representan responsabilidad legal alguna y no eximen al comprador de hacer sus propios análisis e investigaciones.

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

Figura 26. Ficha Técnica de Lecitina de Soya

FICHA TÉCNICA

ACIDO ACÉTICO

1. IDENTIFICACIÓN DEL PRODUCTO

Nombre Químico	Ácido Acético
Formula Química	CH ₃ COOH
Peso molecular	60.053 g/mol.
Sinónimos	Ácido acético glacial catalítico Ácido del vinagre Ácido metanocarboxílico, Ácido etanoico

2. DESCRIPCIÓN

Líquido incoloro con olor acre (penetrante, picante).
La sustancia es moderadamente ácida, volátil y cristaliza a baja temperatura.
Es completamente soluble en agua, alcohol, éter glicerina y benceno; e insoluble en sulfuro de carbono

3. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS

Pureza	99.5 % mín.
Sulfatos	0.0003 % max
Acido fórmico	0.05 % max
Acetaldehído	0.05 % max
Hierro	10 ppm max
Otras	
Plomo	1.0 ppm max
Cloruros	1 ppm max
Material no volátil	0.003 % max

4. PROPIEDADES

Apariencia: [líquido incoloro, transparente

FECHA REALIZACION	REALIZO	ACTUALIZO	I.Q. Iván Darío Ospina
2010/05/03	I.Q. Iván Darío Ospina	Mayo 05- 2020	

Camera 50C No. 10 Sur - 18 PBX: 361 07 11 Ext 109 iospina@dqisa.com Medellín Colombia

Figura 27 Ficha Técnica del Acido Acético