

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA



**“FORMULACIÓN DE UN INSECTICIDA NATURAL A BASE DE
CONCENTRADO DE ALCALOIDES DEL *Lupinus mutabilis* (TARWI)”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO QUÍMICO

AUTOR

EDWIN RIVELINO ORTEGA SILVA

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Edwin S.", on a light green background.

ASESOR

Ing. CARMEN MABEL LUNA CHÁVEZ

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Carmen M. Luna Chávez", on a light green background.

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA

Callao, 2022

PERÚ



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
IX CICLO DE TESIS
JURADO DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

ACTA N° 100 DE SUSTENTACIÓN DE TESIS CON CICLO DE TESIS
PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO QUÍMICO

LIBRO 01 FOLIO N° 101 ACTA N° 100 DE SUSTENTACIÓN DE TESIS CON CICLO DE TESIS
PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO QUÍMICO

A los 05 días del mes de noviembre del año 2022, siendo las 08:40 horas, se reunieron, en la sala meet: <https://meet.google.com/bpv-xvfd-mxu>, el JURADO DE SUSTENTACION DE TESIS para la obtención del TÍTULO profesional de Ingeniero Químico de la Facultad de Ingeniería Química, conformado por los siguientes docentes ordinarios de la Universidad Nacional del Callao:

Ing. CARRASCO VENEGAS LUIS AMERICO	PRESIDENTE
Ing. ANGELES QUEIROLO CARLOS ERNESTO	SECRETARIO
Ing. RANGEL MORALES FABIO MANUEL	VOCAL
Ing. LUNA CHAVEZ CARMEN MABEL	ASESORA

Se dio inicio al acto de sustentación de la tesis del bachiller **ORTEGA SILVA EDWIN RIVELINO**, quien habiendo cumplido con los requisitos para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico, sustenta la tesis titulada "**FORMULACIÓN DE UN INSECTICIDA NATURAL A BASE DE CONCENTRADO DE ALCALOIDES DEL *Lupinus mutabilis* (TARWI)**", cumpliendo con la sustentación en acto público, de manera no presencial a través de la Plataforma Virtual, en cumplimiento de la declaración de emergencia adoptada por el Poder Ejecutivo para afrontar la pandemia del Covid-19, a través del D.S. N° 044-2020-PCM y lo dispuesto en el DU N° 026-2020 y en concordancia con la Resolución del Consejo Directivo N° 039-2020-SUNEDU-CD y la Resolución Viceministerial N° 085-2020-MINEDU, que aprueba las "Orientaciones para la continuidad del servicio educativo superior universitario";

Con el quórum reglamentario de ley, se dio inicio a la sustentación de conformidad con lo establecido por el Reglamento de Grados y Títulos vigente. Luego de la exposición, y la absolución de las preguntas formuladas por el Jurado de Sustentación y efectuadas las deliberaciones pertinentes, acordó: Dar por **APROBADO** con la escala de calificación cualitativa **MUY BUENO** y calificación cuantitativa **DIECISÉIS (16)**, la presente Tesis, conforme a lo dispuesto en el Art. 27 del Reglamento de Grados y Títulos de la UNAC, aprobado por Resolución de Consejo Universitario N° 099-2021-CU del 30 de junio de 2021.

Se dio por concluida la sustentación a las 09:15 horas del día 05 de noviembre del año en curso.

Ing. CARRASCO VENEGAS LUIS AMERICO
PRESIDENTE DE JURADO DE SUSTENTACIÓN

Ing. ANGELES QUEIROLO CARLOS ERNESTO
SECRETARIO DE JURADO DE SUSTENTACIÓN

Ing. RANGEL MORALES FABIO MANUEL
VOCAL DE JURADO DE SUSTENTACIÓN

Ing. LUNA CHAVEZ CARMEN MABEL
ASESORA DE JURADO DE SUSTENTACIÓN

INFORMACIÓN BÁSICA

FACULTAD:

Facultad de Ingeniería Química

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN:

Facultad de Ingeniería Química

TÍTULO:

“Formulación de un insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi)”

AUTOR:

Edwin Rivelino Ortega Silva / Código ORCID (0000-0003-0522-3273) / DNI (47563179)

ASESOR:

Mg. Carmen Mabel Luna Chávez / Código ORCID (0000-0002-8019-8760) / DNI (08796929)

LUGAR DE EJECUCIÓN:

Laboratorio de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de Callao.

UNIDAD DE ANÁLISIS:

Insecticida natural.

TIPO:

Investigación aplicada / Enfoque cuantitativo / Diseño experimental / Causa – efecto.

TEMA OCDE:

Ingeniería de proceso.

HOJA DE REFERENCIA DEL JURADO Y APROBACIÓN

Miembros del jurado

Ing. Carrasco Venegas, Luis Americio	Presidente
Ing. Angeles Queirolo, Carlos Ernesto	Secretario
Ing. Rangel Morales, Fabio Manuel	Vocal
Lic. Alvarado Bravo, Nestor Marcial	Suplente
Ing. Luna Chávez, Carmen Mabel	Asesor

DEDICATORIA

Dedico este gran esfuerzo a Dios por guiar siempre mis pasos, acompañarme en congojas, alegrías y grandes batallas.

A mi madre y hermanos que han sido el motor y la motivación constante para seguir desarrollándome constantemente en este gran reto que es la vida.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	4
ÍNDICE DE FIGURAS.....	5
RESUMEN	7
ABSTRACT.....	8
INTRODUCCIÓN	9
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
1.1. Descripción de la realidad problemática	11
1.2. Formulación del problema.....	11
1.2.1. Problema general.....	11
1.2.2. Problemas específicos	12
1.3. Objetivos	12
1.3.1. Objetivo general	12
1.3.2. Objetivos específicos	12
1.4. Justificación	12
1.5. Delimitantes de la investigación.....	13
1.5.1. Teórico	13
1.5.2. Temporal.....	13
1.5.3. Espacial	13
II. MARCO TEÓRICO	14
2.1. Antecedentes	14
2.1.1. Antecedentes internacionales	14
2.1.2 Antecedentes nacionales	15
2.2. Bases teóricas	18

2.2.1. <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi)	18
2.2.2 Composición química del tarwi o chocho	20
2.2.3 Alcaloides quinolizidínicos (AQ) del <i>Lupinus mutabilis</i>	20
2.2.4. Propiedades de los alcaloides	23
2.2.5 Insecticidas	24
2.2.6. Insecticida natural	26
2.3 Marco conceptual.....	28
2.3.1 Alcaloide	28
2.3.2 Concentrado de alcaloides del agua residual del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi).....	28
2.3.3 Extracción de alcaloides del tarwi	28
2.3.4 Cuantificación de alcaloides.....	30
2.3.5 Formulación de insecticida natural.....	31
2.3.6 Plaga de áfidos <i>Schizaphis graminum</i>	32
2.3.7 Efecto biocida del insecticida formulado	33
2.4 Definición de términos básicos	34
III. HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	36
3.1 Hipótesis	36
1.1.1 Operacionalización de variables	36
IV. METODOLOGÍA DEL PROYECTO	38
4.1 Diseño metodológico	38
4.2 Método de investigación	39
4.3 Población y muestra	45
4.4 Lugar de estudio y periodo desarrollado.....	45

4.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	45
4.5.1 Equipos y materiales.....	46
4.6 Análisis y procesamiento de datos.....	47
4.7 Aspectos éticos en investigación	48
V. RESULTADOS	49
5.1 Resultados descriptivos	49
5.2 Resultados inferenciales	52
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	57
6.1 Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados	57
6.2 Contrastación de los resultados con otros estudios similares.....	58
6.3 Responsabilidad ética de acuerdo a los reglamentos vigentes.....	58
VII. CONCLUSIONES	59
VIII. RECOMENDACIONES.....	60
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
ANEXOS	67
Anexo 1. Matriz de consistencia	68

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica del tarwi	19
Tabla 2 Producción de tarwi en el Perú	19
Tabla 3 Principales regiones productoras de tarwi en el Perú	20
Tabla 4 Composición de AQ en la semilla del tarwi	23
Tabla 5 Contenido de alcaloides en diferentes especies de <i>Lupinus</i>	23
Tabla 6 Clasificación de insecticidas	25
Tabla 7 Clasificación según la formulación líquida	26
Tabla 8 Composición para formulación de biocida.	27
Tabla 9 Métodos para cuantificar alcaloides.....	30
Tabla 10 Operacionalización de variable	37
Tabla 11 Diseño experimental	38
Tabla 12 Formulación A, 10 % (v/v).....	42
Tabla 13 Formulación B, 20 % (v/v).....	42
Tabla 14 Formulación C, 30 % (v/v).....	43
Tabla 15 Efecto biocida de las formulaciones.....	44
Tabla 16 Características del agua residual del tarwi.....	49
Tabla 17 Densidad del concentrado de alcaloides.....	49
Tabla 18 pH del concentrado de alcaloides	50
Tabla 19 Alcaloides en el concentrado de tarwi.....	50
Tabla 20 Formulaciones para el insecticida natural	51
Tabla 21 Efecto biocida de formulaciones	51
Tabla 22 Tabla cruzada de áfidos no sobrevivientes vs formulaciones A, B y C	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Variedad de flores y semillas del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi).....	18
Figura 2 Estructura molecular de la lupanina.....	21
Figura 3 Estructura molecular de la esparteína	22
Figura 4 Estructura molecular de los isómeros de hidroxilupanina	22
Figura 5 Áfidos <i>Schizaphis graminum</i> o pulgón verde	32
Figura 6 Plaga de áfidos en hortaliza.....	33
Figura 7 Diagrama de proceso para la extracción y cuantificación de alcaloides totales del tarwi	40
Figura 8 Prueba de signos para mediana: densidad.....	52
Figura 9 Prueba de signos para mediana: pH	52
Figura 10 Prueba de signos para mediana: % alcaloides	53
Figura 11 Prueba de chi-cuadrado.....	54
Figura 12 Tabla cruzada de formulación vs n° áfidos muertos	55
Figura 13 Prueba de chi-cuadrado de Pearson para hipótesis general .	56

ABREVIATURAS

AQ: Alcaloide quinolizidínico.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación.

INIAP: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

MIDAGRI: Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

ONU: Organización de las Naciones Unidas.

SENASA: Servicio Nacional de Sanidad Agraria.

UNA: Universidad Nacional de Costa Rica.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo la formulación de un insecticida natural a base de un concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) a nivel de laboratorio. Se evaluaron las características del concentrado de alcaloides; densidad, pH y contenido de alcaloides expresados en % de lupanina por ser el alcaloide mayoritario del tarwi mediante titulación ácido-base. Se propuso tres formulaciones A, B y C de insecticida natural elaborados al 10 % (v/v), 20 % (v/v) y 30 % (v/v) respectivamente. Para la evaluación del efecto biocida, cada una de las formulaciones, fueron aplicadas sobre una plaga de áfidos *Schizaphis graminum* después de 24 horas y 48 horas mediante el conteo de placas con el porcentaje de mortandad. Los resultados mostraron que el concentrado de alcaloides tiene 8.71 de pH, densidad igual a 1.18 g/mL y 2.90 % de alcaloides totales expresados en % de lupanina como alcaloide mayoritario. El insecticida natural formulado a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi), presenta efecto biocida en cualquiera de las formulaciones propuestas. Concluyendo así que la formulación C de mayor concentración con un 30 % (v/v) de alcaloides totales tiene un mejor efecto biocida después de 48 horas de su aplicación.

Palabras clave: Formulación, insecticida natural, alcaloides, tarwi.

ABSTRACT

The objective of this research work was the formulation of a natural insecticide based on a concentrate of alkaloids from *Lupinus mutabilis* (tarwi) at the laboratory level. The characteristics of the alkaloid concentrate were evaluated; density, pH and alkaloid content expressed in % lupanine for being the majority alkaloid of tarwi by acid-base titration. Three formulations A, B and C of natural insecticide made at 10 % (v/v), 20 % (v/v) and 30 % (v/v) respectively should be selected. For the evaluation of the biocidal effect, each one of the formulations was applied on a pest of *Schizaphis graminum* aphids after 24 hours and 48 hours by counting plates with the percentage of mortality. The results showed that the alkaloid concentrate has a pH of 8.71, a density equal to 1.18 g/mL and 2.90 % of total alkaloids expressed as % lupanine as the major alkaloid. The natural insecticide formulated based on concentrated alkaloids from *Lupinus mutabilis* (tarwi), has a biocidal effect in any of the proposed formulations. Thus concluding that the highest concentration formulation C with 30 % (v/v) of total alkaloids has a better biocide effect after 48 hours of its application.

Keywords: Formulation, natural insecticide, alkaloids, tarwi.

INTRODUCCIÓN

La tendencia actual, en pleno siglo XXI, es apostar por la elaboración de productos naturales a base del aprovechamiento máximo de los residuos generados en las distintas actividades económicas, entre las cuales tenemos a la agricultura (1). El excesivo uso de insecticidas químicos en esta actividad económica ha generado problemas de residualidad, contaminación, resistencia y efectos agudos a largo plazo sobre la salud humana, medio ambiental incluido los suelos, aguas superficiales y subterráneas. Si bien es cierto, estos plaguicidas son efectivos y comercialmente muy conocidos por su fácil accesibilidad, bajo costo y alta letalidad; estos también generan efectos colaterales en las abejas y los enemigos naturales de las plagas, poblaciones de aves, organismos acuáticos y en la biodiversidad en general (2).

Los productos naturales con propiedades biocidas representan una alternativa prometedora para el control integrado de plagas ya que alargan el intervalo de aplicación de los productos sintéticos, reduciendo su uso y el gasto invertido en ellos, al tiempo que prolongan la vida útil de dichos plaguicidas en los casos de mayor impacto. En consecuencia, existen los alcaloides; metabolitos secundarios de las plantas domesticadas o silvestres presentes en el grano andino comúnmente llamado chocho o tarwi (3).

Esta leguminosa andina es mayormente conocida por sus propiedades nutricionales; es decir, solo es aprovechado el grano como tal, mas no se le da importancia a los alcaloides presentes. Si bien es cierto, se han desarrollado y modificado muchos sistemas para el proceso de su desamargado, éstos generan agua residual de cada operación las que se encuentran cargadas de alcaloides que irán a parar al cuerpo de agua receptor o simplemente al alcantarillado desaprovechando el potencial biocida a mayor escala (4).

En ese sentido, ha reportado la existencia de diferentes tipos de alcaloides quinolizidínicos (AQ) presentes en granos de *Lupinus mutabilis* (tarwi), entre los que destacan mayormente la esparteína, lupanina e hidroxilupanina los mismos que le proporcionan cierto grado de toxicidad y el sabor amargo característico (5). El amargor del tarwi ha sido usado por pequeños agricultores de algunas comunidades andinas para eliminar las garrapatas y otros ácaros en el ganado de ovino y en camélidos, de la misma manera se utilizan como protector y regulador del crecimiento en los cultivos de maíz, trigo, soja y papa (6).

Ante esta problemática el objetivo de este trabajo de investigación es la formulación de un insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) el cual tiene efectos biocidas sobre plagas que impactan negativamente a la agricultura.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

En la actualidad a nivel mundial hay un excesivo uso de insecticidas químicos comerciales o también llamados agroquímicos; distribuidos y comercializados en todos los continentes, y su uso indiscriminado se debe a que estos productos son de bajo costo y muy letales ya que atacan a las plagas en general, no obstante, están generando efectos colaterales al medio ambiente en general como: problemas de residualidad, contaminación y resistencia por su alto grado de toxicidad (7).

Los productos naturales con propiedades biocidas representan una alternativa prometedora para el control integrado de plagas ya que al ser productos naturales aportan beneficios a la salud medioambiental y humana; generando así impactos positivos. Es por ello que algunos países están tomando en serio la conciencia ambiental positiva de optar por productos biodegradables y ecoamigables que poco a poco a nivel región esta medida ha sido replicada como buena práctica (2).

Los alcaloides quinolizidínicos presentan gran concentración de lupanina, esparteína y lupinina (5). Estos han sido usados en comunidades de agricultores como protector y regulador del crecimiento en los cultivos y por sus efectos nematocidas (6).

Aun cuando la tendencia es elaborar productos naturales, no se ha reportado la formulación de un insecticida a base de concentrados de alcaloides de este grano andino, el tarwi.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es la formulación para el insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi)?

1.2.2. Problemas específicos

- a. ¿Cuáles son las características del concentrado de alcaloides que se utilizará como base para la formulación del insecticida natural?
- b. ¿Cuál es el efecto biocida del insecticida natural formulado a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi)?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Formular un insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi).

1.3.2. Objetivos específicos

- a. Evaluar las características del concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) que debe contener el insecticida natural.
- b. Evaluar el efecto biocida del insecticida natural formulado a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi).

1.4. Justificación

El resultado de esta investigación aportará a la reducción del impacto ambiental negativo producido por los plaguicidas sintéticos comercializados actualmente ya que al ser natural será amigable con el medio ambiente; la elaboración de este insecticida natural será para el control de las plagas que afectan a la agricultura nacional.

Desde el punto de vista económico el aporte resultante de este trabajo es beneficioso ya que se dará un valor agregado a los residuos generados en los procesos relacionados al tarwi.

Desde hace décadas y actualmente el uso de plaguicidas químicos en las actividades de agricultura para el control de plagas es de uso común. Si bien protegen los cultivos y productos agropecuarios, no obstante, por su naturaleza tóxica de la misma implican riesgos para la salud humana, el medio ambiente y animal ya que este último incluye a los distintos insectos polinizadores benéficos que son parte del equilibrio natural (2).

Por ser un producto nuevo, la competitividad con los demás plaguicidas de uso comercial no será un problema ya que según la Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos del Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego - MIDAGRI la perspectiva del sector agropecuario para los próximos años es positiva y de crecimiento. Este incremento se encuentra sustentado en las proyecciones de la demanda interna y de la mejora de la actividad económica mundial para el caso de las agroexportaciones (8).

1.5. Delimitantes de la investigación

1.5.1. Teórico

La presente investigación abarcó las pruebas de extracción y cuantificación de los alcaloides además la realización de las formulaciones del insecticida natural hasta las pruebas del efecto biocida del insecticida natural a base concentrado de alcaloides del tarwi.

1.5.2. Temporal

El desarrollo de las formulaciones del insecticida natural y las correspondientes pruebas se realizó en el periodo de julio hasta octubre del presente año.

1.5.3. Espacial

La formulación del insecticida natural se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Callao. Los análisis fisicoquímicos, cuantificación de alcaloides y efecto biocida fueron realizados en un laboratorio externo.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

En el trabajo de investigación “Determination of quinolizidine alkaloids in different *Lupinus* species by NACE using UV and MS detection”, los autores demuestran mediante la técnica instrumental de cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC-MS) que el contenido de alcaloides totales del grano de tarwi varía entre el 0,43 % al 5,13 %. Los alcaloides quinilizidínicos (AQ) alteran los receptores de acetilcolina que son responsables de la sinapsis en el sistema nervioso central de los seres vivos conllevando así a la degeneración neuronal y muerte (5).

En el trabajo de investigación “Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican *Lupinus* against the lepidopteran crop pest *Spodoptera frugiperda*”, los investigadores demostraron mediante la cromatografía de gases capilar-espectrometría de masas la cuantificación de AQ de tres especies mexicanas de *Lupinus* (Fabaceae): *L. montanus* (HBK), *L. stipulatus* (Agardh) y *L. aschenbornii* (Schauer), así mismo definen que sus extractos pueden tener usos alternativos como fuentes potenciales de insecticidas naturales (para controlar poblaciones de plagas), el efecto insecticida fue evaluado usando larvas del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (Smith) como plaga modelo (9).

En el trabajo de investigación “Propiedades y aplicaciones de los alcaloides del chocho (*Lupinus mutabilis* sweet)”, concluyeron que al mezclar extractos de chocho con 2 % de alcaloides y los extractos de mashua (*Tropaeolum tuberosum* R. y P.) con 4.12 % de isotiocianatos; el producto tiene propiedades nematocidas, provocando la mortalidad del 93.3 % y 96.7 % de larvas expuestas, respectivamente, comparado con el

principio químico carbofurán presente en los agroquímicos comerciales produciendo la muerte del 30 % de la población objetivo (10).

En el trabajo de investigación “Actividad antifúngica in vitro del extracto acuoso y alcaloideo de *Lupinus spp.* sobre *Moniliophthora roreri*”, los autores concluyeron que en condiciones de laboratorio los alcaloides presentes en las semillas de *L. montanus* y hojas más tallos de *L. campestris* y *L. montanus* presentan un efecto fungicida sobre *M. roreri*, tanto en extractos acuosos como en alcaloideos. El bioensayo realizado muestra un 83.6 % de porcentaje de inhibición de esporas de *M. roreri* con el extracto alcaloideo a partir de semillas de *L. montanus*, con la mayor concentración de 10 mg/mL de extracto (11).

En el trabajo de investigación “El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) y sus parientes silvestres”, concluyeron que el agua de tarwi es un excelente repelente de insectos, que controla pulgones, trips y la pulguilla saltana de la papa (*Epitrix subcrinita*), así como al gorgojo de los Andes en el cultivo de papa (*Premnotripes solani*). Con la ayuda de un atomizador aplicaron en los rastros de los cultivos para evitar la puesta de huevos por gorgojos adultos y de esta manera evitar su ataque desde estadios iniciales del cultivo de papa (12).

2.1.2 Antecedentes nacionales

En el trabajo de investigación “Efecto antifúngico del extracto acuoso de semillas del chocho, *Lupinus mutabilis* sobre *Alternaria solani* y *Fusarium solani*”, los autores concluyeron que el porcentaje de inhibición del crecimiento de los dos tipos de hongos que posee el extracto acuoso de semillas de *Lupinus mutabilis*, chocho o tarwi fue de 14,66 % a 74,2 % para *Alternaria solani*, mientras que en *Fusarium solani*, hallaron desde los 10,13 % hasta los 66,86 % a la concentración 1 y 13 mL de extracto acuoso en 100 mL de medio de cultivo, respectivamente; para ambos

casos obtuvieron que a mayor concentración de extracto acuoso aumenta el porcentaje de inhibición de crecimiento de los hongos (13).

En el trabajo de investigación “Determinación del efecto biocida del extracto acuoso de semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi) sobre *Thrips tabaci Lindeman (Trips)* en cultivos de cebolla”, el autor obtuvo como resultado de su investigación que el extracto acuoso de alcaloides con mayor eficiencia en el control de la plaga de insectos adultos de *Thrips tabaci L.* fue el de una concentración de 40 % (m/v) de las semillas de *Lupinus mutabilis sweet* (tarwi) que originó una mortandad de 96.67 % de estos insectos después de 48 horas de aplicación. En el control de larvas de *Thrips tabaci L.*, fue el de una concentración de 40 % (m/v) con un 100 % de mortandad, el que tuvo mayor eficacia después de 48 horas de aplicación a escala de laboratorio, demostrando así la característica nematicida de los alcaloides quinolizidínicos del tarwi (14).

En el trabajo de investigación “Actividad deterrente y acaricida de principios activos de quinuas amargas, aceites esenciales y tarwi”, el autor concluye que los productos naturales representan una alternativa muy innovadora y de alto potencial para el control integrado de plagas, es por ello que su investigación evaluó la actividad deterrente y acaricida de extractos de variedades de quinuas amargas (42.1 %) y tarwi (94.3 %) sobre la especie *E. paemulata*. La actividad acaricida fue confrontada frente al pesticida sintético Amitraz (15).

En el trabajo de investigación “Evaluación del efecto escabicida del extracto *Lupinus mutabilis sweet* (Tarwi), para el tratamiento de la escabiosis, “sarna humana”, en pacientes del Hospital Regional Honorio Delgado”, el autor realiza el proceso de elaboración de un producto para tratar una enfermedad; concentró extractos rico en alcaloides del tarwi expresado en % de lupanina mediante la maceración de 24 horas y posterior extracción a reflujo de 2 horas, empleando la mezcla

hidroalcohólica agua-etanol (70:30) se obtiene la mayor extracción de los alcaloides totales (2.98 %), seguido por el agua (2.48 %); los cuáles se expresan en contenido de lupanina por ser el alcaloide predominante en el *Lupinus mutabilis sweet* (tarwi), posteriormente es cuantificado mediante titulación ácido-base (16).

En el trabajo de investigación “Obtención de un biocida natural a partir de la planta *Ipomea carnea* (Borrachera) para el control del *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero)”, para la elaboración de un biocida el autor evaluó parámetros del extracto acuoso a partir de tallos, hojas y flores de la planta llamada borrachera (*I. carnea*) resultó con las siguientes características fisicoquímicas: conductividad eléctrica, 3.08 mS/cm; sólidos totales disueltos, mayor a 2000 ppm; pH, 6.5; el tiempo óptimo de extracción cuatro horas, controla a la plaga del gusano cogollero (*S. frugiperda*) con un porcentaje de mortalidad del 90 % y una dosis letal de 36 horas, es decir que a las 36 horas ha matado el 50 % de las larvas; demostrando así el poder nematicida (17).

2.2. Bases teóricas

2.2.1. *Lupinus mutabilis* (tarwi)

El tarwi o chocho es una leguminosa (Ver figura 1) cultivada por los antiguos pobladores de la región andina central desde épocas prehispánicas, teniendo como principales regiones de los Andes: Bolivia, Ecuador y Perú, se cultiva en altitudes entre los 2500 y 3400 m.s.n.m., en climas templados y fríos, siendo susceptible al exceso de humedad. Un factor que limita el consumo humano y en la industria alimentaria es el pronunciado sabor amargo; caracterizado debido a su alto contenido de alcaloides; metabolitos secundarios que le da la característica amarga (3).

Figura 1

Variedad de flores y semillas del Lupinus mutabilis (tarwi)



Fuente: Gulisano et al. (2019)

En la tabla 1 (p. 19), se observa la clasificación taxonómica del grano andino:

Tabla 1*Clasificación taxonómica del tarwi*

Clasificación	Descripción
División	Embriofitas
Sub División	Angiosperma
Clase	Dicotiledoneas
Sub Clase	Arquiclamideas
Orden	Rosales
Familia	Leguminosas
Sub Familia	Papilionaceas
Género	<i>Lupinus</i>
Especie	<i>mutabilis</i>
Nombre científico	<i>Lupinus mutabilis</i>
Nombre Común	Tarwi, Chocho

Fuente: Rodríguez (2009)

El Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego - MIDAGRI (8), reportó un incremento de 3,2 % en promedio anual la producción del grano andino, tarwi; en los últimos cinco años desde el período 2015 al 2020; siendo muy positivos esos resultados tal como se indica en la tabla 2.

Tabla 2*Producción de tarwi en el Perú*

Indicadores	2015	2016	2017	2018	2019	2020	% Var. Prom.
Producción (tn)	13050	14,246	13,886	16,432	16,087	15,809	3.2
Superficie cosechada (ha)	9,851	11,275	10,504	11,716	11,747	11,307	2.3
Rendimiento (kg/ha)	1,325	1,264	1,322	1,403	1,369	1,398	0.9
Precio promedio en chacra	3,88	3,32	3,12	3,34	3,38	4,09	0.9

Fuente: MIDAGRI (2021)

La tabla 3 muestra las regiones más productoras del lupino andino en el Perú, siendo La Libertad, Cusco, Apurímac, Puno y Huánuco las de mayor producción; juntos representan cerca del 85 % de la producción total. Del mismo modo, Apurímac es la región que más ha crecido en los últimos cinco años; esto es muy positivo ya que las proyecciones para los siguientes años serán mucho más favorables.

Tabla 3

Principales regiones productoras de tarwi en el Perú

Región	Producción (Toneladas métricas)						% Var.	% Participación 2020
	2015	2016	2017	2018	2019	2020		
Total	13050	14,246	13,886	16,432	16,087	15,809	3.2	
La Libertad	5,053	4,107	4,681	6,083	5,803	5,132	0.3	32.5
Cusco	2,163	3,052	3,050	3,067	2,576	3,050	5.9	19.3
Apurímac	937	1,581	1,727	2,333	2,212	2,491	17.7	15.8
Puno	1,782	1,737	1,447	1,401	1,411	1,428	-3.6	9.0
Huánuco	1,129	1,011	1,079	1,024	1,251	1,346	3	8.5
Cajamarca	370	420	315	415	445	448	3.2	2.8
Junín	247	523	562	595	651	732	19.9	4.6
Áncash		642	159	368	577	430	-7.7	2.7
Huancavelica	826	573	272	485	692	582	-5.7	3.7
Ayacucho	459	478	219	555	399	109	-21.3	0.7
Amazonas	71	76	66	89	70	62	-2.2	0.4
Pasco	13	46	8				-13.5	0.0

Fuente: MIDAGRI (2021)

2.2.2 Composición química del tarwi o chocho

Los granos de tarwi contienen proteína (44 %), grasa (16.5 %), con contenido de ácido linoleico (omega 6), carbohidratos (28 %), alcaloides principalmente: esparteína, lupanina y otros que en su conjunto varían entre 0.3 % a 3.5 % en función a la variedad de la misma (18).

2.2.3 Alcaloides quinolizidínicos (AQ) del *Lupinus mutabilis*

Un alcaloide es un compuesto orgánico de origen natural (generalmente vegetal), que en su estructura contiene nitrógeno que se encuentra generalmente intracíclico, que al ser sintetizados forman aminoácidos. Adicionalmente, respecto a la característica fisicoquímica los alcaloides por ser químicamente sustancias nitrogenadas conformado por anillos

heterocíclicos de quinolizidina (AQ) con inclusiones de dos moléculas de nitrógeno dándole un carácter básico en la escala del pH (19).

Los alcaloides de mayor presencia en esta leguminosa son la lupanina y la esparteína. El tarwi muestra la siguiente composición de alcaloides: Lupanina 46 %, esparteína 14 %, 4- hidroxilupanina 10 %, isolupanina 3 %, n-metilangustifolina 3 %. 13-hidroxilupanina 1 % (18).

Lupanina. Es el alcaloide que se encuentra en mayor concentración en el tarwi, tiene actividad antibacteriana, nematicida y que puede utilizarse como insecticida sobre lepidópteros y coleópteros (20).

Fórmula estructural: $C_{15}H_{24}N_2O$

Peso molecular : 248 g/mol

Punto de ebullición : 190 a 193 °C

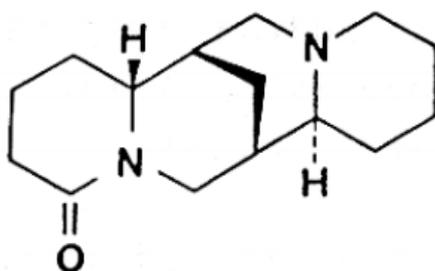
Índice de refracción: 1.544

Densidad : 0.98 g/mL

Soluble en : Agua, cloroformo, diclorometano y alcohol

Figura 2

Estructura molecular de la lupanina



Fuente: Jarrín (2003)

Esparteína. Es el alcaloide que le da al tarwi la característica del sabor amargo (20).

Fórmula estructural : $C_{15}H_{26}N_2$

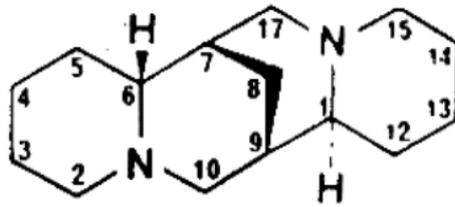
Peso molecular : 234 g/mol

Punto de ebullición : 311 °C

Densidad : 1.02 g/mL
Insoluble en : Agua, cloroformo, éter y alcohol

Figura 3

Estructura molecular de la esparteína



Fuente: Jarrín (2003)

Hidroxilupanina. Este compuesto tiene dos formas isómeras que depende de la localización del grupo hidroxilo (OH) en su estructura básica, siendo estas 4-hidroxilupanina y 13-hidroxilupanina (20).

Fórmula estructural : $C_{15}H_{24}N_2O_2$

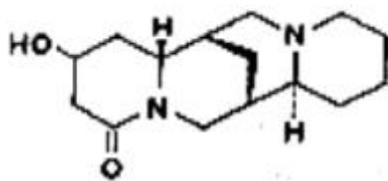
Peso molecular : 264 g/mol

Punto de ebullición : 311 °C

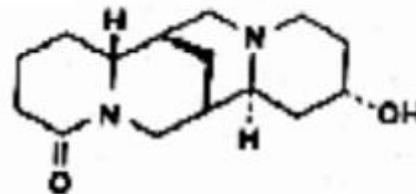
Densidad : 1.25 g/mL

Figura 4

Estructura molecular de los isómeros de hidroxilupanina



4-hidroxlupanina



13-hidroxlupanina.

Fuente: Jarrín (2003)

En la tabla 4 se presenta la composición de los AQ de la semilla de tarwi donde se observa que la lupanina es el alcaloide mayoritario.

Tabla 4*Composición de AQ en la semilla del tarwi*

Alcaloides	AQ (g/100 g semilla)
Lupanina	0.7305
Esparteína	0.2673
1-3 Hidroxilupanina	0.1472
4-Hidroxilupanina	0.0281
Hidroxiesparteína	0.0078
Amodendrina	0.0046

Fuente: Ortega-David et al. (2010)

Como se ha descrito, el contenido de AQ varía notablemente entre las distintas especies de *Lupinus*; se puede observar en la tabla 5 el contenido de alcaloides en las diferentes especies de lupinus, donde el *Lupinus mutabilis* presenta la mayor cantidad de alcaloides en base seca (21).

Tabla 5*Contenido de alcaloides en diferentes especies de Lupinus*

Contenido, g/100 g base seca	<i>Lupinus albus</i> (altramuz blanco)	<i>Lupinus angustifolius</i> (lupinu azul)	<i>Lupinus luteus</i> (lupinu amarillo)	<i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi o chocho)
Alcaloides	0,4	1,4	1,5	2,8

Fuente: Carvajal-Larenas et al. (2016)

2.2.4. Propiedades de los alcaloides

Los alcaloides presentes en el tarwi muestran una actividad antibacteriana, actividad antifúngica y una actividad nematicida. Adicionalmente, los AQ como la lupanina y la esparteína inhiben los canales Na⁺ y K⁺, por lo que bloquean la transducción de señales en las células nerviosas generando así la muerte del individuo (22).

Actividad antibacteriana. El extracto alcaloidal obtenido a partir de agua de cocción de tarwi con una concentración de 10 mg/mL presenta una actividad antibacteriana contra las siguientes cepas: *Escherichia coli*, *Salmonella gallinarum*, *Sandida albicans*, *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Mycobacterium smegmatis* (10).

Actividad antifúngica. El extracto de alcaloide actúa como un agente antifúngico o antimicótico produciendo una alteración de las estructuras de las células fúngicas, el extracto crudo de alcaloides obtenidos a partir del grano resulto efectivo en el control de *Mycrosporium canis* y *Trichophytom rubrum* (10).

Actividad fungistática. Los estudios experimentales realizados muestran que el extracto acuoso de alcaloide al 7 % retarda el crecimiento del hongo *Penicillium digitatum* en condiciones ambientales (10) .

Actividad nematocida. Estudios realizados por INIAP muestran que los extractos acuosos de alcaloide al 2 % con 4.12 % de isotiocianatos de mashua presentaron propiedades nematocidas, provocando la mortalidad del 96.7% de larvas expuestas (10).

2.2.5 Insecticidas

Según la FAO (23) un insecticida o plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de sustancias desarrolladas para prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, todo tipo de plantas indeseables o animales que puedan causar daños o que interfieren de cualquier forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, producción agrícola, maderas y sus derivados o alimentos para animales, o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos".

El Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), explica que todo plaguicida es de naturaleza tóxica por lo que su manipulación representa un riesgo, más si se realiza en condiciones no apropiadas. Como medida de control en el Perú, este organismo ha establecido la prohibición e importación plaguicidas que contengan el ingrediente activo carbofurán, forato, dicofol, methamidophos y paraquat (24).

Según la clasificatoria de la peligrosidad de la Organización Mundial de la salud (OMS), el carbofurán es un plaguicida considerado altamente

peligroso; contiene alto riesgo en el ambiente acuático, así como alta exposición y toxicidad en especies de aves y abejas; que como se explicó líneas arriba estos insectos benéficos son responsables de la polinización de las plantas de manera natural. Este plaguicida se encuentra ya restringido y prohibido en diversos países, precisamente por sus riesgos a las personas y al ambiente (24).

El uso de ciclodienos, carbamatos y organofosforados más antiguos y más tóxicos está disminuyendo poco a poco y en muchos países se han prohibido su uso y comercialización (25).

Otras opciones de insecticidas, de los cuales muchos tienen actividad específica sobre la plaga han sido introducidas en los últimos quince años a nivel mundial como consecuencia de una conciencia ambiental y con perfiles toxicológicos más bajos y con resultados más favorables. Pero estas medidas son adaptadas en países con alto poder adquisitivo como los países de Europa, Asia y EE.UU. Sin embargo, otra es la realidad de los países en vías de desarrollo que aún siguen usando plaguicidas altamente tóxicos (25).

Los plaguicidas o insecticidas se pueden clasificar según la actividad biológica, según la ruta de ingreso (referido a la plaga), según su naturaleza química y según la toxicidad respectivamente (Ver tabla 6).

Tabla 6

Clasificación de insecticidas

Actividad biológica	Ruta de ingreso	Naturaleza química	Toxicidad
Insecticidas	Por ingestión	Inorgánicos	Extremadamente tóxico
Nematicidas	Por contacto	Orgánicos (botánicos, organofosforados, carbamatos,	Altamente tóxico
Fungicidas	Por inhalación	reguladores de crecimiento)	Moderadamente tóxico
Herbicidas			Ligeramente tóxico
Acaricidas			

Fuente: <https://www.anasaccontrol.cl/normativa/plaguicidas/>

Los plaguicidas también se clasifican según su formulación en gránulos, pellets, fumigantes y líquidos. En la tabla 7 se muestra la clasificatoria en función a la formulación líquida.

Tabla 7

Clasificación según la formulación líquida

Formulaciones líquidas
Concentrado soluble (CS)
Emulsión concentrada (EC)
Emulsión en agua (EA)
Suspensión concentrada (SC)
suspensión emulsionante (SE)
Aceites
Aerosoles

Fuente: <https://www.anasaccontrol.cl/normativa/plaguicidas/>

Cabe mencionar que para el desarrollo de la formulación del insecticida natural del presente trabajo de investigación se desarrolló un CS (concentrado soluble).

2.2.6. Insecticida natural

Un insecticida natural es aquel producto que ha sido elaborado a partir de biomasa residual o subproductos de alimentos, como es el caso del tarwi o chocho y también de la quinua donde se aprovecha ese amargor que no es otra cosa que como se explicó líneas arriba; sustancias químicas naturales ricos en alcaloides con propiedades insecticida, nematicidas y fungicida.

El producto actúa por contacto e ingestión, es efectivo, para insectos masticadores, picadores chupadores que atacan diferentes cultivos. actúa inhibiendo la enzima acetilcolinesterasa la cual regula la acción de la acetilcolina que transmite el impulso nervioso del insecto y continúa haciéndolo repetidamente causando alteraciones sensoriales y de

comportamiento, incoordinación y depresión de la función motora, hasta que el insecto muere (26).

Existen reducidas patentes donde indican las proporciones de los componentes que debe tener un insecticida en forma general entre ellas tenemos formulaciones con propiedades fungicida con fin agrícola y hortícola. Donde exponen que tiene un excelente efecto de control contra las enfermedades de las plantas incluso a una dosis baja y no plantea problemas de fitotoxicidad (27).

En la tabla 8 se muestra la formulación base para un insecticida con presentación en suspensión debe contener.

Tabla 8

Composición para formulación de biocida.

Componentes	Proporción, %
Principio activo	10
Disolvente	4
Dispersante	2
Humectante	10
Espesante	0,2
Agua desionizada	73,8

Fuente: Satoshi y Takayuki (2021)

Donde, cada componente representa y cumple una función específica en el producto elaborado:

Principio activo, es el producto que hará la función de eliminar la plaga.

Disolvente, el que ayudará a disolver.

Dispersante, dispersará los componentes de la formulación.

Humectante, mantendrá hidratado el producto.

Espesante, proporciona viscosidad.

Agua desionizada, es el medio acuoso.

2.3 Marco conceptual

2.3.1 Alcaloide

Los alcaloides son metabolitos secundarios, estos compuestos químicos son usados como mecanismo de defensa de las plantas contra insectos u otra amenaza, su consumo en dosis elevadas produce intoxicaciones en mamíferos provocando hasta inclusive la muerte. Dentro de esta gama de alcaloides están los alcaloides quinolizidínicos específicamente presentes en la familia de las *Leguminosae* como es el caso del género *Lupinus* (28).

En consecuencia, el chocho o tarwi contiene altas concentraciones de AQ, entre las cuales destacan la esparteína, hidroxilupaninas y lupanina siendo esta última la de mayor cantidad que confieren propiedades de insecticida, fungicida y nematocida; los cuales serán aprovechados como propuesta de solución para la formulación del insecticida natural.

2.3.2 Concentrado de alcaloides del agua residual del *Lupinus mutabilis* (tarwi)

Un concentrado de alcaloides es una mezcla líquida (agua y alcaloide) proveniente del proceso de desamargado del tarwi que ha sido concentrado haciendo uso de equipos sofisticados como el rotavapor en vacío. Este concentrado de alcaloides contiene al principio activo; del alcaloide quinolizidínico (AQ) que está constituido principalmente de lupanina y esparteína. La lupanina presente en el tawi tiene actividad insecticida, antibacteriana y nematocida por lo que puede ser aprovechado como base para elaborar plaguicidas naturales (22).

2.3.3 Extracción de alcaloides del tarwi

Extracción mediante solventes orgánicos. Muchos autores realizan la extracción mediante distintos métodos, entre ellos tenemos la extracción mediante solventes orgánicos como el diclorometano, se recupera la fase orgánica empleando peras de decantación y concentrando en rotavapor a temperaturas de baño maría (40 °C) menores al punto ebullición del agua con el objetivo

de no alterar las propiedades de los AQ presentes en la leguminosa andina. Una vez extraído los alcaloides se diluye en metanol o se conservan directamente en frascos que aíslan la luz y se refrigeran a temperaturas bajas (2 °C a 5 °C) para seguir preservando sus propiedades para su posterior tratamiento o incluso la realización de la cuantificación del principio activo. Los extractos obtenidos presentan coloración anaranjada que se intensifica a mayor tiempo de extracción y temperatura, con viscosidad mayor a la del agua y con valores de pH alcalino característico de los AQ (29).

Extracción mediante fluidos supercríticos. Por otro lado (30), hace uso de fluidos supercríticos para realizar la extracción de alcaloides mediante el uso dióxido de carbono en estado supercrítico y co-solventes y la condición de operación donde relaciona presión y temperatura en la remoción de alcaloides temperatura igual a 323 K, presión de 27.10 MPa, y haciendo uso de una solución etanólica diluida como co-solvente y finalmente cuantifica el extracto obtenido una concentración de alcaloides igual a 3.94% de alcaloides totales expresado como lupanina.

Extracción mediante técnica de microondas. Mediante esta técnica se maximiza los tiempos de operación y para tal motivo se evalúan otras variables como el tamaño de partícula, el tiempo y la potencia del microondas (31).

Para la obtención del concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) el presente trabajo de investigación usó el método de extracción empleados por (29), (14) y (16) con una modificación ya que se emplea el agua residual del desamargado del tarwi. Se hace uso de un rotavapor para concentrar los alcaloides y solvente cloroformo para preparar la muestra para la cuantificación de los alcaloides totales. Posteriormente se conserva el extracto de alcaloides en refrigeración.

2.3.4 Cuantificación de alcaloides

Existe una variedad de métodos para cuantificar los alcaloides, que a modo de resumen se muestra en la tabla 9.

Tabla 9

Métodos para cuantificar alcaloides

Métodos			
Volumétricos	Gravimétricos	Ópticos	Cromatográficos
-Volumetría de neutralización	-Gravimetría directa	Colorimetría	Cromatografía de alta resolución - HPLC
En medio acuoso: -Valoración directa. -Valoración por retroceso.	-Gravimetría por adición de agente precipitante	Espectrometría UV y IR	Cromatografía de alta resolución acoplado a un detector de masas (HPLC-MS)
-Volumetría bifásica -Volumetría de precipitación			

Fuente: Caisapanta (2019)

Para la cuantificación de alcaloides totales expresados en porcentaje de lupanina, el presente trabajo de investigación usó el método volumétrico de neutralización o titulación ácido-base empleado por (16) y (14). El porcentaje de alcaloides totales (% alcaloides totales) se reporta en porcentaje de lupanina por ser este el alcaloide mayoritario.

$$\% \text{ Alcaloides totales} = \frac{V_{H_2SO_4} \text{ gastado} * N_{H_2SO_4} * 24.8 * f_c}{m} \quad (1)$$

Donde:

$V_{H_2SO_4}$ gastado: Volumen del titulante gastado en mililitros (mL)

24.8: Masa equivalente de lupanina (alcaloide mayoritario del tarwi)

f_c: Factor de corrección del H_2SO_4 0.02 N

m: Masa de alcaloide en gramos (g)

2.3.5 Formulación de insecticida natural

La empresa Anasac control (7) explica que aparentemente existe una infinidad de variedades de productos pesticidas disponibles en el mercado, tanto para el uso forestal, agrícola y urbano en todo el control de las plagas de casas y jardines. Existe una gran variedad de presentaciones de estos productos incluso cuando se trata de un mismo tipo de ingrediente activo. A continuación, se describen las características que deben de tener por lo general un insecticida.

- El porcentaje de ingrediente activo en la formulación.
- Que facilite su manipulación y mezcla.
- Que disminuya el riesgo de intoxicación a las personas que puedan verse expuestas al producto.
- Al tipo de ambiente, si la aplicación debe realizarse al aire libre o al interior de una construcción. Si se aplicará en la agricultura, en plantas forestales o en ambientes urbanos, etc.
- Conocer los hábitos de las plagas.
- Que sea lo menos dañino posible y efectivo para las cosechas.
- Que sea compatible con el tipo de maquinaria o implementos con los que contamos.
- Considerar el peligro de contaminación de ambientes, suelos, cursos de agua.
- Considerar el costo.

De las características mencionadas para el desarrollo de la tesis es de suma importancia el % de ingrediente activo que deberá tener la formulación y la facilidad de manipulación y mezcla.

2.3.6 Plaga de áfidos *Schizaphis graminum*

Los áfidos (Ver figura 5) o comúnmente llamados pulgones verdes constituyen un grupo de pequeños insectos (1 a 4 mm) muy bien adaptados a su actividad fitófaga, ocupando un lugar destacado entre las plagas principales de una gran variedad de cultivos, entre los cuales están los vegetales como la espinaca, lechuga, pimientos, tomates, albahaca (hortalizas) y cereales como el trigo (32).

Estos insectos son categorizados como plagas generando daño directo a la planta debido a que succionan el floema de las plantas introduciendo un estilete que le permite perforar el tejido epidérmico del tallo de las plantas.

Figura 5

Áfidos Schizaphis graminum o pulgón verde



Fuente: Andorno et al. (2014)

Además, incorporan saliva tóxica y extraen grandes cantidades de savia lo que provoca clorosis, manchas y muerte de hojas. Tanto las ninfas como los adultos sacan nutrientes de la planta (Ver figura 6, p. 33) y alteran el balance de las hormonas del crecimiento; esto debilita las plantas y detiene el crecimiento y en consecuencia perjudica la producción de los campos de cultivo generando así un grave impacto negativo a la agricultura (32).

Figura 6

Plaga de áfidos en hortaliza



Nota. Se observa la invasión de áfidos en una col de huerto.

2.3.7 Efecto biocida del insecticida formulado

Los biocidas son sustancias o mezclas (en el proyecto de investigación es el producto formulado) que están compuestas una o más sustancias activas (también llamados principios activos) cuyo objetivo es destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier organismo nocivo por cualquier medio que no sea una mera acción física o mecánica. Este producto debe ser evaluado, autorizado el uso y registrado según normativa nacional o internacional (33).

Para evaluar el efecto biocida se realizan pruebas de bioensayos sobre plagas específicas en consecuencia, se emplea distintos métodos como por ejemplo tenemos el método de porcentaje de inhibición (% inhibición) empleado por (34) y el empleado por (14) donde este último hace uso de la siguiente relación matemática de la regla de tres simples, el cual fue modificado para este trabajo de investigación ya que se usó la plaga de áfidos *Schizaphis graminum* o pulgón verde descrita líneas arriba como plaga objetivo para la evaluación del % de mortandad con la Ecuación 2:

$$\% \text{ Mortandad} = \frac{\text{N}^\circ \text{ áfidos muertos} * 100}{\text{N}^\circ \text{ Total de áfidos al inicio}} \quad (2)$$

Donde:

Nº de áfidos muertos: Es el número de áfidos muertos después de 24 y 48 horas.

Nº total de áfidos al inicio: Es el número de insectos al inicio en las placas.

Cabe resaltar que los tiempos de exposición del insecticida natural u otro producto que se aplicará y el número de áfidos u otra plaga objetivo dependerá de los objetivos de cada investigación.

El % de mortandad, fue por el conteo de áfidos muertos en placas Petri.

2.4 Definición de términos básicos

Alcaloides: Compuestos orgánicos de origen generalmente vegetal, nitrogenado, derivados generalmente de aminoácidos, de carácter más o menos básico con propiedades farmacológicas importantes a dosis bajas (35).

Alcaloide quinolizidínico (AQ): Los AQ como la lupanina o la esparteína, se producen por muchos miembros de las *Leguminosae* como el *Lupinus mutabilis*, tiene característica amarga al gusto y exhibe un alto nivel de toxicidad (22).

Biocida: Producto o sustancia que destruye seres vivos, particularmente los perjudiciales para el ser humano (36).

Concentrado de alcaloides: Solución concentrada de alcaloides proveniente del proceso de desamargado del *Lupinus mutabilis* (tarwi).

Dosis letal: Dosis necesaria para provocar la muerte de un determinado porcentaje de individuos (37).

Insecticida: Que sirve para matar insectos adultos o en diferentes estadios (36).

Plaga: Aparición masiva y repentina de seres vivos de la misma especie que causan graves daños a poblaciones animales o vegetales (36).

Tarwi: Planta leguminosa conocida comúnmente como ullush, talwish, tauri, tarwi, chocho, lupino o ccquilla (38).

Toxicidad: Capacidad inherente de una sustancia química de producir efectos adversos en los organismos vivos (39).

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1 Hipótesis

Hipótesis general

Se puede formular un insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) en medio acuoso.

Hipótesis específicas

El concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) tiene densidad mayor a 1.0 g/mL, pH mayor a 8.0 y una concentración mayor a 2.0 % de alcaloide total expresados en % de lupanina.

El insecticida natural formulado a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) tiene efecto biocida.

1.1.1 Operacionalización de variables

VARIABLES INDEPENDIENTES

X_1 : Concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi).

X_2 : Insecticida natural

VARIABLE DEPENDIENTE

Y : Formulación del insecticida natural

Tabla 10

Operacionalización de variable

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Método	Técnica
Variables independientes						
X ₁ : Concentrado de alcaloides del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi)	Solución concentrada de alcaloides proveniente de la concentración al vacío en un rotavapor, presenta alcaloides expresados en % de lupanina, pH y densidad	Para la concentración se hace uso del rotavapor, para la cuantificación de alcaloides se hace uso de la titulación ácido-base, para medir el pH se realiza con el potenciómetro y la densidad se obtendrá por diferencia de masa.	% Alcaloides totales	> 2.0 %	Volumetría	Titulación ácido-base
			pH	> 8.0	Potenciométrico	Potenciométrico
			Densidad	> 1.0 g/mL	Diferencia de masas	Densidad
X ₂ : Insecticida natural	Producto tipo concentrado soluble formulado con propiedad biocida.	Se realiza mediante la evaluación del % de mortandad de la plaga de áfidos <i>Schizaphis graminum</i> .	Efecto biocida	% Mortandad	Método directo de recuento de placas	% de Mortandad
Variable dependiente						
Y: Formulación del insecticida natural	Formulación a base de alcaloides quinolizidínicos del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi), disolvente, dispersante, humectante y espesante en medio acuoso.	Se realiza mediante mezclas con las proporciones especificadas en base a una patente de insecticida.	Dosis	10 % (v/v) 20 % (v/v) 30 % (v/v)	Formulaciones	Mezclas

IV. METODOLOGÍA DEL PROYECTO

4.1 Diseño metodológico

La presente es una investigación aplicada, porque se va a cubrir una necesidad a través del conocimiento científico (40). Por el diseño es experimental porque se va a realizar una acción y luego observar las consecuencias (41). Por el enfoque es cuantitativo porque usa la recolección de datos para probar una hipótesis con base en la medición numérica y el análisis estadístico (42).

El diseño experimental será como el que se indica en la tabla 11.

Formulación con 3 niveles.

La variable respuesta (insecticida natural) requerirá de la evaluación de 2 indicadores.

La materia prima (concentrado de alcaloides) será caracterizada con 3 indicadores.

El experimento básico está constituido por 3x(3x2) tratamientos con 3 réplicas cada uno, teniendo un total de 18 unidades experimentales.

Tabla 11

Diseño experimental

Formulación	% Mortandad en 24 H.	% Mortandad en 48 H.
A, 10% (v/v)	X _{A1}	X _{AA1}
	X _{A2}	X _{AA2}
	X _{A3}	X _{AA3}
B, 20% (v/v)	X _{B1}	X _{BB1}
	X _{B2}	X _{BB2}
	X _{B3}	X _{BB3}
C, 30% (v/v)	X _{C1}	X _{CC1}
	X _{C2}	X _{CC2}
	X _{C3}	X _{CC3}

4.2 Método de investigación

La investigación se realizó en cinco etapas:

Etapas I: Acopio del agua residual del proceso de desamargado del *Lupinus mutabilis* (tarwi)

Para los ensayos se hizo uso del agua residual del proceso de desamargado del *Lupinus mutabilis* (tarwi) proveniente de una planta piloto donde realizan el desamargamiento del chocho, se tomaron las muestras de las etapas de cocción y lavado; ya que en estas etapas es donde se obtiene el mayor grado de amargor del tarwi disuelto en el agua.

Las muestras son compositadas en frascos ámbar de 1 L obteniendo un volumen de trabajo de 5 L las cuales son refrigeradas de inmediato para preservar las propiedades del alcaloide. Inmediatamente es llevado al laboratorio donde se realizaron la concentración de los alcaloides y su cuantificación respectivamente.

Etapas II: Obtención del concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi)

- Se procedió a filtrar un volumen de 100 mL la muestra de agua de desamargado del tarwi (Ver Anexo 2), en un balón de fondo plano de 250 mL, este líquido tiene un color amarillo.
- Para esta etapa se usó un rotavapor de marca IKA RB 10 basic con baño calefactorio a 60°C con agua desionizada, velocidad de rotación de 105 rpm y para generar el vacío se acopla una bomba de vacío marca Rocker 811 por un tiempo de 40 minutos (Ver Anexo 3).
- Se concentró hasta obtener 25 mL aproximadamente, el concentrado es viscoso y un color pardo, ya que cuanto más se concentra más oscuro es el resultado (Ver Anexo 4).
- Se realizó esta operación hasta concentrar, almacenar y conservar en refrigeración un volumen de 50 mL como mínimo, ya que este concentrado de alcaloides será usado para las formulaciones A, B y C.

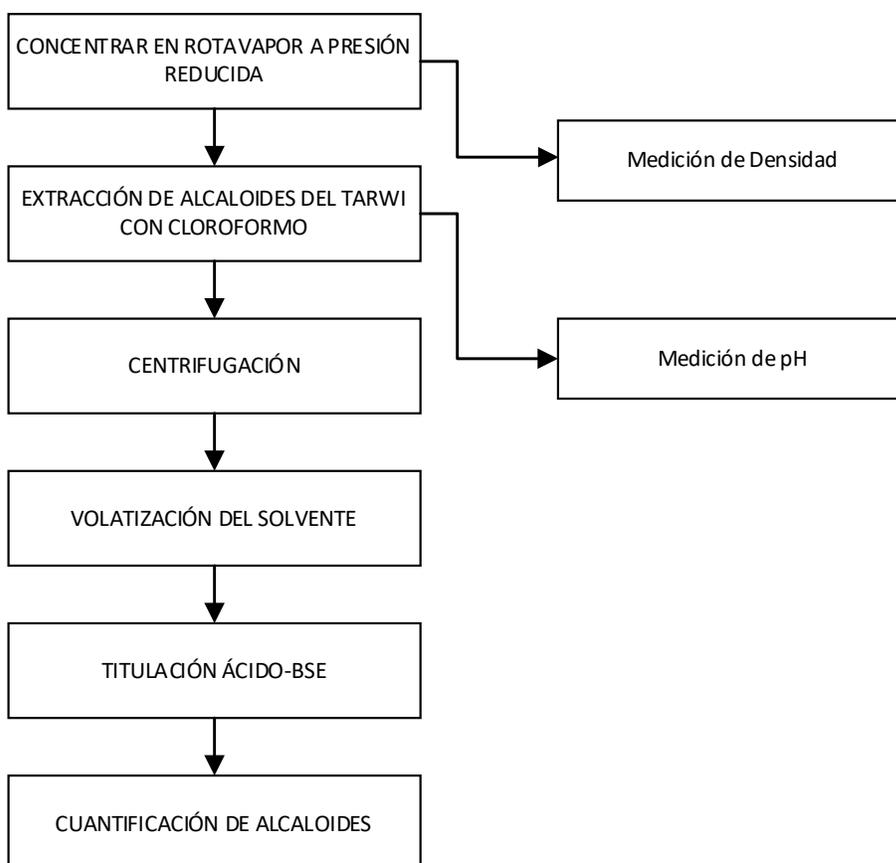
- Se realizó la medición de la densidad del concentrado de alcaloides, para este fin se usó una fiola verificada de 5 mL y por diferencia de masas se obtuvo por triplicado el valor de la densidad expresados en g/mL (Ver Anexo 5).
- Inmediatamente se conservó en frascos aislados de la luz y en refrigeración para la siguiente etapa de cuantificación del alcaloide.

Etapa III: Cuantificación de alcaloides totales del tarwi por método de titulación ácido-base

La cuantificación se realizó por el método volumétrico de titulación ácido-base realizado por (16). En la figura 7 se aprecia en resumen las Etapas II y III.

Figura 7

Diagrama de proceso para la extracción y cuantificación de alcaloides totales del tarwi



- En una pera de decantación de 100 mL se vierte 5 mL del concentrado de alcaloides obtenidos en la Etapa II, se añadió H_2SO_4 al 2 % (v/v) y se mueve suavemente. En seguida, se añade 10 mL de cloroformo y con movimientos suaves se obtiene la separación de fases (Ver Anexo 6).
- Se separó la fase clorofórmica (fase donde está disuelto los alcaloides del tarwi) de la fase acuosa. La operación se realiza 2 veces más para maximizar la extracción del alcaloide.
- En tubos de prueba de 10 mL se centrifuga a 3500 rpm para maximizar su separación de los remanentes de la fase acuosa (Ver Anexo 7).
- En un vaso de precipitado de 100 mL se juntan todas las fases clorofórmicas de las extracciones para obtener un volumen representativo. A continuación, se procedió a evaporar el solvente (cloroformo) y para este fin se usó gas nitrógeno para acelerar su volatilización y conservar las propiedades de los alcaloides del *Lupinus mutabilis* hasta obtener un residuo de color ámbar (Ver Anexo 8).
- El residuo se disolvió con 5 mL de metanol y transferido en una fiola de 100 mL aforado con agua desionizada.
- Antes de la titulación se midió el pH de la solución alcaloidea en un potenciómetro previamente calibrado con soluciones buffer certificados (Ver Anexos 24, 25 y 26), el cual se obtuvo valores mayores a 8 de pH (Ver Anexo 9) para lo cual se realizó tres réplicas y se determinó un promedio.
- Se realizó la medición y registro de las masas (por diferencia de masas) del alcaloide mediante una serie de tres réplicas para obtener un promedio.
- Se procede a titular con ácido sulfúrico 0.02 N, el cual ha sido corregido, se vierte el contenido de la fiola en un matraz y se añadió 3 gotas de rojo de metilo al 0.2 % (m/v) para la observación del viraje de color (cambió de amarillo a rojo) indicando así el fin de la reacción ácido-base (Ver Anexo 10).
- El resultado de % de alcaloides totales se expresa en (% de lupanina) por ser el alcaloide mayoritario. Se empleó la Ecuación 1.

Etapa IV. Formulación del insecticida natural

Se elaboró tres formulaciones de insecticidas natural a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) en función a la patente base de (27) pero con una modificación, se obviará el disolvente (la patente usa un solvente orgánico), será reemplazado por el agua desionizada como medio disolvente. Se representa en las siguientes tablas con sus respectivas proporciones de los aditivos y principio activo (alcaloides del tarwi).

Las formulaciones son como indica las siguientes tablas 12, 13 y 14 respectivamente.

Tabla 12

Formulación A, 10 % (v/v)

Componentes	Proporción, % (v/v)
Principio activo	10
Dispersante	2
Humectante	10
Espesante	0.2
Disolvente	77.8

Tabla 13

Formulación B, 20 % (v/v)

Componentes	Proporción, % (v/v)
Principio activo	20
Dispersante	2
Humectante	10
Espesante	0.2
Disolvente	67.8

Tabla 14*Formulación C, 30 % (v/v)*

Componentes	Proporción, % (v/v)
Principio activo	30
Dispersante	2
Humectante	10
Espesante	0.2
Disolvente	57.8

Tener en cuenta que se mantendrá constante la proporción de los siguientes aditivos: agente dispersante (policarboxilato de sodio), humectante (glicerina) y espesante (goma xantana) y el principio activo que en este caso es el concentrado de alcaloides del tarwi proveniente de la Etapa II y el disolvente (agua desionizada) serán variables para un volumen de 100 mL de formulación. Cabe mencionar que los aditivos están en base líquida.

- Los aditivos: agente dispersante (policarboxilato de sodio), agente humectante (glicerina) y agente espesante (goma xantana) se vertieron con las cantidades proporcionadas según las formulaciones.
- El principio activo para la formulación A, B y C se toma alícuotas de 10 mL, 20 mL y 30 mL de concentrado de alcaloides del tarwi en base a 100 mL del volumen total.
- Se mezclaron cada componente (sobre agitador magnético) en vasos de precipitado de 500 mL y con ayuda de una pastilla magnética hasta obtener una mezcla homogénea. (Ver Anexo 11).
- Se procedió a verter en sus respectivos frascos no transparentes rotulados y almacenar. Finalmente se refrigeró para conservarlos para la siguiente etapa de prueba de efecto biocida (Ver Anexo 12).

Etapas V. Aplicación del insecticida natural de las tres formulaciones sobre las plagas de áfidos para la evaluación del efecto biocida

Para esta etapa se recolectó en placas Petri 360 áfidos de *Schizaphis graminum* o comúnmente llamados pulgones verdes (Ver Anexo 13). Los cuales se recolectaron de un huerto con plantas infestadas de este tipo de insecto invasor. Se toma como base el proceso desarrollado por (14).

- El tratamiento consistió en aplicar las formulaciones A, B y C incluido un control negativo (solamente es agua desionizada) cada uno por triplicado.
- Para cada tratamiento se tomaron 20 áfidos en placas Petri de 9 cm de diámetro (Ver Anexo 14).
- Se aplicó con un aspersor (Ver Anexo 15) cada formulación 2 veces y se evaluó la formulación más efectiva con el % de mortalidad de áfidos en función a 2 tiempos (24 y 48 horas) después de su aplicación. Se registran los resultados en la tabla 15.

Tabla 15

Efecto biocida de las formulaciones

Formulación	% Mortandad en 24 H.	% Mortandad en 48 H.
A, 10% (v/v)	X _{A1}	X _{AA1}
	X _{A2}	X _{AA2}
	X _{A3}	X _{AA3}
B, 20% (v/v)	X _{B1}	X _{BB1}
	X _{B2}	X _{BB2}
	X _{B3}	X _{BB3}
C, 30% (v/v)	X _{C1}	X _{CC1}
	X _{C2}	X _{CC2}
	X _{C3}	X _{CC3}

- Para el porcentaje de mortandad (% mortandad) se realizará por regla de tres simples mediante la Ecuación 2.

4.3 Población y muestra

Dado que se trata de una investigación experimental no se requiere de población y el tamaño de la muestra quedará determinado en función la cantidad agua residual disponible provenientes de una planta piloto de desamargado de tarwi en la región Huaraz, Áncash.

La muestra para las pruebas fue de 5 L de agua residual de desamargado del tarwi.

4.4 Lugar de estudio y periodo desarrollado

La concentración de alcaloides, desarrollo de las formulaciones, las pruebas del efecto biocida se realizaron en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Callao. El periodo de la investigación se realizó desde julio hasta septiembre del año 2022.

4.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Para la evaluación de los alcaloides

Para la medición de la densidad del concentrado de alcaloides se hizo uso de fiola verificada mediante la técnica de diferencia de masas.

Para la medición del pH se empleó la técnica potenciométrica haciendo uso de un potenciómetro calibrado (781 pH/ Ion Meter - marca Metrohm).

Para la cuantificación de los alcaloides totales se evaluó por la técnica de titulación ácido-base, haciendo uso de una bureta de 10 mL (Clase A, marca BRAND) verificado.

Para la formulación del insecticida natural

Se tomó una fórmula base partiendo de una concentración del principio activo (alcaloides totales expresados en % de lupanina) tomado de la patente (27) para un insecticida comercial con tres formulaciones A, B y C al 10 %, 20 % y 30 % en (v/v) de principio activo respectivamente.

Para la evaluación de las propiedades del insecticida formulado

El efecto biocida se evaluó mediante el método de % de mortalidad con el conteo de placas de las plagas de áfidos muertos con el programa SPSS 25.

4.5.1 Equipos y materiales

Para la concentración de alcaloides, formulación y pruebas del insecticida natural se usaron:

Equipos

- Balanza analítica (OHAUS, calibrado, capacidad 210 g, sensibilidad 0.1 mg) y (Calibrado por LO JUSTO).
- Centrífuga (marca JP SELECTA, hasta 5000 RPM) y verificado por (LO JUSTO)
- Rotavapor (IKA RB 10 basic, baño calefactorio de 20 °C a 180 °C, velocidad de rotación de 20 rpm a 300 rpm, ángulo de inclinación de 30°, matraz de 50 mL a 1000 mL acoplado a una bomba de vacío marca Rocker 811.
- Potenciómetro calibrado (781 pH/ Ion Meter - marca Metrohm) que tiene un electrodo para medir pH.
- Agitador magnético (marca Thermolyne verificado por LO JUSTO)

Materiales

- Vasos de precipitado de 100 mL, 250 mL y 500 mL
- Balón de fondo plano de 250 mL marca ISOLAB.
- Matraz aforado fiola de 5 mL, 50 mL y 100 mL marca ISOLAB.
- Matraz Erlenmeyer de 250 mL marca ISOLAB
- Pera de decantación de 100 mL marca ISOLAB.
- Bureta de 10 mL (+/- 0.02 mL) Clase A, marca (BRAND) verificado.
- Probetas de 100 mL marca ISOLAB.
- Placas Petri de 9 cm de diámetro marca ANUMBRA
- Pipetas volumétricas de 5 mL y 10 mL marca ISOLAB.
- Micropipeta de 1 mL (100 a 1000µL) y de 10 mL (1 a 10 mL) marca BRAND (Calibrado por LO JUSTO)

- Embudos de plástico y vidrio.
- Tubos de prueba de 10 mL
- Papel filtro Whatman N°40
- Frascos ámbar o aislados de luz (500 mL y 1L)
- Pastilla magnética
- Atomizador

Insumos

- Concentrado de alcaloides del tarwi (principio activo)
- Disolvente (agua desionizada)
- Dispersante (policarboxilato de sodio)
- Humectante (glicerina)
- Espesante (goma xantana)

Reactivos

- Agua desionizada
- Metanol (MERCK, 99.9 % de pureza)
- Cloroformo (MERCK, ≥ 99.5 % pureza)
- Ácido sulfúrico (MERCK, 95.0-97.0 % de pureza)
- Ácido sulfúrico 0.02 N
- Rojo de metilo 0.2 % (m/v)
- Soluciones buffer de pH 4, 7 y 10 (MERCK-Supelco)

4.6 Análisis y procesamiento de datos

Se hizo uso del programa Excel 2019 para recopilar la data, reporte de resultados y para la comprobación de las hipótesis se hizo uso de los programas Minitab 19 y SPSS 25.

4.7 Aspectos éticos en investigación

El autor de la investigación se responsabiliza por la información emitida en el presente informe final de investigación, de acuerdo al Reglamento del Código de Ética de investigación de la UNAC, Resolución del Consejo Universitario N° 260-2019-CU.

V. RESULTADOS

5.1 Resultados descriptivos

Etapa I: Acopio del agua residual del proceso de desamargado del *Lupinus mutabilis* (tarwi)

En la tabla 16 se resume las siguientes características del agua residual del desamargado del tarwi.

Tabla 16

Características del agua residual del tarwi

Características	
Color	Líquido amarillento
Apariencia	Turbio
Sabor	Amargo
Olor	Característico

Etapa II: Obtención del concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi)

En esta etapa se obtuvo los siguientes resultados (Ver tabla 17) obtenido por triplicado.

Tabla 17

Densidad del concentrado de alcaloides

N° de réplica	Masa inicial	Masa final	Densidad, g/mL	Densidad promedio, g/mL
1	9.8885	15.7995	1.182	
2	9.5558	15.4796	1.185	1.18
3	9.7568	15.6754	1.184	

El resultado promedio de la densidad del concentrado de alcaloides del tarwi es de 1.18 g/mL.

Los resultados de pH del concentrado de alcaloides se observan en la tabla 18.

Tabla 18

pH del concentrado de alcaloides

Réplica N°	pH	Promedio, pH
1	8.74	
2	8.68	8.71
3	8.71	

Dando un valor promedio de pH 8.71

Etapa III: Cuantificación de alcaloides totales del tarwi por método de titulación ácido-base

Para la cuantificación se empleó la ecuación (1) y el % de alcaloides totales se expresan en % de lupanina como alcaloide mayoritario. A continuación, se presenta los resultados en la tabla 19.

Tabla 19

Alcaloides en el concentrado de tarwi

Réplica N°	Volumen de gasto, mL	% Alcaloides (% Lupanina)	Promedio, % (m/m)
1	3.08	2.88	
2	3.10	2.90	2.90
3	3.20	2.91	

Obteniendo un valor promedio de 2.90 % expresados en % de lupanina.

Etapa IV. Formulación del insecticida natural.

Se realizaron 3 formulaciones de insecticidas, cada una por triplicado. Las formulaciones utilizadas (Ver tabla 20, p. 51)

Tabla 20*Formulaciones para el insecticida natural*

Componentes	Proporción, % (v/v)		
	Formulación A	Formulación B	Formulación C
Principio activo	10	20	30
Dispersante	2	2	2
Humectante	10	10	10
Espesante	0.2	0.2	0.2
Disolvente	77.8	67.8	57.8

Etapa V. Aplicación del insecticida natural de las tres formulaciones sobre las plagas de áfidos para la evaluación del efecto biocida

Luego del conteo de placas, que contenían 20 áfidos cada una, después de 24 y 48 horas de la aplicación, se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 21. El porcentaje de mortandad (% de mortandad) se determinó con la ecuación (2). Estas pruebas se realizaron por triplicado.

Tabla 21*Efecto biocida de formulaciones*

Tiempo de Conteo (h)	N° de áfidos no sobrevivientes en placas			
	Control negativo	Formulación A	Formulación B	Formulación C
24	0	12	15	18
24	0	11	14	17
24	0	11	15	17
% mortandad	0	56.67	73.33	86.67
48	0	13	16	19
48	0	14	17	19
48	0	14	16	19
% mortandad	0	68.33	81.67	95.00

De acuerdo al análisis estadístico descriptivo, la formulación más eficiente fue la C con un 95.00% de mortandad de áfidos, seguido de la formulación B con un 81.67% y finalmente la A con un 68.33% de mortandad en comparación al control negativo de 0 % a las 48 horas de su aplicación.

5.2 Resultados inferenciales

Hipótesis específica 1. “El concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) tiene densidad mayor a 1.0 g/mL, pH mayor a 8.0 y una concentración mayor a 2.0 % de alcaloide total expresados en % de lupanina”.

Resultados para la densidad

Figura 8

Prueba de signos para mediana: densidad

Prueba				
Hipótesis nula	$H_0: \eta = 1$			
Hipótesis alterna	$H_1: \eta > 1$			
Muestra	Número < 1	Número = 1	Número > 1	Valor p
Densidad	0	0	3	0.125

Nota. Resultados obtenidos utilizando el programa Minitab 19.

Como el p valor es $0.125 > 0.05$; a un 95 % de confianza, no se rechaza la hipótesis nula, es decir no existe evidencia estadística para afirmar que la mediana de la distribución de los valores de la densidad sea mayor que 1.0 g/mL.

Resultados para el pH

Figura 9

Prueba de signos para mediana: pH

Prueba				
Hipótesis nula	$H_0: \eta = 8$			
Hipótesis alterna	$H_1: \eta > 8$			
Muestra	Número < 8	Número = 8	Número > 8	Valor p
pH	0	0	3	0.125

Nota. Resultados obtenidos utilizando el programa Minitab 19.

Como el p valor es $0.125 > 0.05$; a un 95 % de confianza, no se rechaza la hipótesis nula, es decir no existe evidencia estadística para afirmar que la mediana de la distribución de los valores del pH sea mayor que 8.0.

Resultados para el porcentaje de alcaloides

Figura 10

Prueba de signos para mediana: % alcaloides

Prueba				
Hipótesis nula	$H_0: \eta = 2$			
Hipótesis alterna	$H_1: \eta > 2$			
Muestra	Número < 2	Número = 2	Número > 2	Valor p
% Alcaloides	0	0	3	0.125

Nota. Resultados obtenidos utilizando el programa Minitab 19.

Como el p valor es $0.125 > 0.05$; a un 95 % de confianza, no se rechaza la hipótesis nula, es decir no existe evidencia estadística para afirmar que la mediana de la distribución de los valores del porcentaje de alcaloides sea mayor que 2.0.

Resultados para el efecto biocida

Hipótesis específica 2. “El insecticida natural formulado a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) tiene efecto biocida”.

Hipótesis nula. H_0 : Las formulaciones propuestas no presentan porcentaje de mortandad.

Hipótesis alterna. H_1 : Las formulaciones propuestas presentan porcentaje de mortandad. (Ver tabla 22, p. 54)

Tabla 22*Tabla cruzada de áfidos no sobrevivientes vs formulaciones A, B y C*

			N° áfidos no sobrevivientes									
			11	12	13	14	15	16	17	18	19	total
Formulación	A, 10 % (v/v)	Recuento	2	1	1	2	0	0	0	0	0	6
	B, 20 % (v/v)	Recuento	0	0	0	1	2	2	1	0	0	6
	C, 30 % (v/v)	Recuento	0	0	0	0	0	0	2	1	3	6
Total		Recuento	2	1	1	3	2	2	3	1	3	18

Nota. Resultados obtenidos utilizando el programa SPSS 25.

Donde la tabla cruzada procesada relaciona formulaciones con el número de áfidos no sobrevivientes, para evaluar el efecto de ambas variables se puede observar que las 3 formulaciones presentan porcentaje de mortandad.

Para evaluación de la correlación de las tres formulaciones con el efecto biocida (Ver figura 11).

Figura 11*Prueba de chi-cuadrado*

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	28,000 ^a	16	,032
Razón de verosimilitud	31,912	16	,010
N de casos válidos	18		

a. 27 casillas (100,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,33.

Nota. Resultados obtenidos utilizando el programa SPSS 25.

Como el p valor es menor a 0.05; (p valor = 0.032) se rechaza Ho, es decir a un nivel de significancia del 5%, existen evidencias estadísticas suficientes para afirmar

que existe relación entre la aplicación de las 3 formulaciones (A, B y C) de insecticida natural y el % de mortandad.

Hipótesis general. “Se puede formular un insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) en medio acuoso”.

Hipótesis nula. Ho: Las formulaciones propuestas presentan número de áfidos muertos = 0

Hipótesis alterna. H1: Las formulaciones propuestas presentan número de áfidos muertos > 0

Figura 12

Tabla cruzada de formulación vs. n° áfidos muertos

		áfidos muertos										Total
		0	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
formulación 0	Recuento	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
	% dentro de formulación	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
10	Recuento	0	2	1	1	2	0	0	0	0	0	6
	% dentro de formulación	0,0%	33,3%	16,7%	16,7%	33,3%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
20	Recuento	0	0	0	0	1	2	2	1	0	0	6
	% dentro de formulación	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	16,7%	33,3%	33,3%	16,7%	0,0%	0,0%	100,0%
30	Recuento	0	0	0	0	0	0	0	2	1	3	6
	% dentro de formulación	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	33,3%	16,7%	50,0%	100,0%
Total	Recuento	6	2	1	1	3	2	2	3	1	3	24
	% dentro de formulación	25,0%	8,3%	4,2%	4,2%	12,5%	8,3%	8,3%	12,5%	4,2%	12,5%	100,0%

Nota. Resultados obtenidos utilizando el programa SPSS 25.

La figura 12 se analiza con la prueba de chi-cuadrado (Ver figura 13, p. 56).

Figura 13

Prueba de chi-cuadrado de Pearson para hipótesis general

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	61,333 ^a	27	,000
Razón de verosimilitud	58,904	27	,000
N de casos válidos	24		

a. 40 casillas (100,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es ,25.

Nota. Resultados obtenidos utilizando el programa SPSS 25.

La prueba de chi-cuadrado de Pearson = 0.000, es menor que 0.05. Se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados

Hipótesis específica 1: El concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) tiene densidad mayor a 1.0 g/mL, pH mayor a 8.0 y una concentración mayor a 2.0 % de alcaloide total expresados en % de lupanina.

De acuerdo a las figuras 8 (p. 52), 9 (p. 52) y 10 (p. 53) no existe evidencia suficiente al 95 % de confianza para rechazar o aceptar esta hipótesis. De los resultados descriptivos, en cambio se obtienen: que el valor de la densidad, pH y % de alcaloides del concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) son 1.18 g/mL, 8.71 y 2.90 % respectivamente, por lo que coincide con la hipótesis propuesta.

Hipótesis específica 2: El insecticida natural formulado a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) tiene efecto biocida.

De acuerdo a la figura 11 (p. 54) y tabla 22 (p. 54), las tres formulaciones propuestas como insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) presentan efecto biocida evaluado como porcentaje de mortandad después de 24 y 48 horas de aplicación. La formulación A presenta menor porcentaje que la formulación B y ésta menor que la formulación C, por lo que se cumple en todos los casos con la hipótesis propuesta.

Hipótesis general: Se puede formular un insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) en medio acuoso.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la figura 12 (p. 55) y figura 13 (p.56) se observa que todas las formulaciones presentan efecto biocida, característica de los insecticidas; por lo que se comprueba que es posible formular un insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) en medio acuoso con las tres formulaciones propuestas. Esto queda confirmado con los resultados obtenidos en el análisis de la hipótesis específica 2.

6.2 Contrastación de los resultados con otros estudios similares

De acuerdo con los resultados obtenidos la densidad del concentrado de alcaloides es de 1.18 g/mL, no existiendo dato reportado al respecto. El valor de pH es 8.71 coincide con los obtenidos por (5). El valor del % de alcaloides es de 2.90 % coincidiendo con (10), (16) y (17).

De acuerdo con los resultados obtenidos insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) presentan efecto biocida evaluadas después de 24 y 48 horas de aplicación. La formulación C con un 30% (v/v) presentó mejor efecto biocida evaluado sobre la plaga de áfidos con el % de mortandad después de las 48 horas de aplicación. Este valor se aproxima mucho a los reportados por (14) y (17).

6.3 Responsabilidad ética de acuerdo a los reglamentos vigentes

El autor de la investigación se responsabiliza por la información emitida en el presente informe final de investigación, de acuerdo al Reglamento del Código de Ética de investigación de la UNAC, Resolución del Consejo Universitario N° 260-2019-CU.

VII. CONCLUSIONES

1. El concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) obtenido presentó las siguientes características: 8.71 de pH, densidad igual a 1.18 g/mL y 2.90 % de alcaloides totales expresados en % de lupanina como alcaloide mayoritario.
2. El insecticida natural formulado a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi), presenta efecto biocida en cualquiera de las formulaciones propuestas. Presentando mayor efecto biocida la formulación C con 30 % (v/v) que fue la de mayor concentración de alcaloides.
3. Elaborar un insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del *Lupinus mutabilis* (tarwi) es posible teniendo como relaciones 10 % (v/v), 20 % (v/v) y 30 % (v/v) de concentrado de alcaloides con respecto a los otros componentes de la formulación.

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas toxicológicas sobre abejas para demostrar que el producto no genera un peligro sobre los insectos benéficos para la agricultura.
- Realizar la aplicación de las formulaciones sobre otras plagas que afectan a la agricultura nacional contrastando sus otras propiedades que tiene los AQ del *Lupinus mutabilis* (tarwi) como el efecto fungicida y nematocida.
- Difundir la importancia de los insecticidas naturales en la comunidad e incentivar el uso de productos naturales para preservar el medio ambiente y a las abejas.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INDESOL. Manual para la elaboración de insecticidas botánicos y repelentes naturales. *Centro de desarrollo económico, ecológico y social A.C.* [En línea] 2014. <https://es.scribd.com/document/504841631/Manual-para-la-elaboracion-de-insecticidas-botanicos-y-repelentes-naturales>.
2. ONU. Programa para el medio ambiente. *Efectos de plaguicidas y fertilizantes sobre el medio ambiente y la salud y formas de reducirlos.* [En línea] 2022. https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/34463/JSUNEPPF_Sp.pdf
3. ZAVALETA, A. *Lupinus mutabilis (tarwi). Leguminosa andina con gran potencial industrial.* 1.a ed. . Lima : Fondo Editorial de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 20189. pág. 168.
4. GUTIÉRREZ et al. *Evaluación del efecto insecticida de las aguas residuales de tarwi (Lupinus mutabilis) sobre larvas de Spodoptera eridania (Lep.: Noctuidae) bajo condiciones de laboratorio.* [En línea] 10 de Junio de 2016. DOI: <https://doi.org/10.17268/agroind.science.2016.01.18>.
5. GANZERA, M., KRUGER, A. y WINK, M. *Determination of quinolizidine alkaloids in different Lupinus species by NACE using UV and MS detection.* [En línea] 8 de Junio de 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.05.030>.
6. RODRIGUEZ, A. *Evaluación in vitro de la Actividad Antimicrobiana de los Alcaloides del Agua de Cocción del Proceso de Desamargado del Chocho (Lupinus mutabilis Sweet).* <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/219> : s.n., 2009.
7. ANASAC CONTROL. <https://www.anasaccontrol.cl/normativa/plaguicidas/>. [En línea] 2022.
8. MINISTERIO DE DESARROLLO AGRARIO Y RIEGO-MIDAGRI. *Análisis de Mercado del Tarwi 2021.* Lima : Unidad de Inteligencia Comercial - Sierra exportadora, 2021.
9. BERMÚDEZ-TORRES et al. *Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican Lupinus against the lepidopteran crop pest Spodoptera frugiperda.* 2009, págs. <https://DOI.10.1007/s10526-008-9180-y>.

10. VILLACRES et al. *Propiedades y aplicaciones de los alcaloides del chocho (Lupinus mutabilis sweet)*. [En línea] 2009.
<http://repositorio.iniap.gob.ec/jspui/handle/41000/453>.
11. DE LA CRUZ-RICARDEZ et al. *Actividad antifúngica in vitro del extracto acuoso y alcaloideo de Lupinus spp. Sobre Moniliophthora roreri*. 12, Cárdenas, Tabasco : s.n., 2016, Vol. 9.
<https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/853>.
12. JACOBSEN et al. *El tarwi (Lupinus mutabilis Sweet.) y sus parientes silvestres*. 2006, pág.
<https://beisa.au.dk/Publications/BEISA%20Book%20pdfer/Capitulo%2028.pdf>.
13. YEPES et al. *Efecto antifúngico del extracto acuoso de semillas del chocho, Lupinus mutabilis sobre Alternaria solani y Fusarium solani*. 2009, págs.
<https://docplayer.es/31076250-Efecto-antifungico-del-extracto-acuoso-de-semillas-del-chocho-lupinus-mutabilis-sobre-alternaria-solani-y-fusarium-solani.html>.
14. AÑAMURO, C. *Determinación del efecto biocida del extracto acuoso de semillas de Lupinus mutabilis sweet (Tarwi) sobre Thrips tabaci Lindeman (Trips) en cultivos de cebolla*. 2016, pág. <http://hdl.handle.net/20.500.12390/115>.
15. ZEGARRA, G. *Actividad deterrente y acaricida de principios activos de quinuas amargas, aceites esenciales y tarwi*. 2010. pág.
<http://hdl.handle.net/20.500.12404/685>.
16. ZIRENA, S. *Evaluación del efecto escabicida del extracto Lupinus mutabilis sweet (Tarwi), para el tratamiento de la escabiosis, "sarna humana", en pacientes del "Hospital Regional Honorio Delgado"*. Arequipa, Universidad Católica de Santa María. Arequipa : s.n., 2014. pág. 77.
17. RECABARREN, M. *Obtención de un biocida natural a partir de la planta Ipomea carnea (Borrachera) para el control del spodoptera frugiperda (gusano cogollero)*. Universidad Nacional de Piura. Piura : s.n., 2019.
18. BALDEÓN, P. *Procesamiento del Chocho (Lupinus Mutabilis Sweet) para la obtención de leche y yogurt como alimentos alternativos de consumo humano*. Guayaquil : Universidad de Guayaquil, 2012, Universidad de Guayaquil, pág. 268.

19. QUISPE, D. *Composición nutricional de diez genotipos de lupino (L. mutabilis y L. albus) desamargados por proceso acuoso*. Lima : Universidad Nacional Agraria La Molina, 2015.
20. JARRIN, M. *Tratamiento del agua de desamargado de chocho (Lupinus mutabilis Sweet), proveniente de la planta piloto de la Estacion Santa Catalina INIAP*. Chimborazo : Riobamba, EC: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, 2003.
21. CARVAJAL-LARENAS et al. *Lupinus mutabilis: Composition, Uses, Toxicology, and Debittering*. [En línea] 31 de Mayo de 2016.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2013.772089>.
22. WINK et al. *Alkaloids: Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications*. Nueva York : Springer Science+Business Media, LLC, 1998.
23. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y ALIMENTACIÓN- FAO.
<https://www.fao.org/emergencias/tipos-de-peligros-y-de-emergencias/plagas-y-enfermedades-de-las-plantas/es/> : s.n., 2017.
24. SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGRARIA. SENASA prohíbe el uso de plaguicidas agrícolas que contengan como ingrediente activo carbofuran. [En línea] SENASA, 2021.
<https://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/senasa-prohibe-el-uso-de-plaguicidas-agricolas-que-contengan-carbofuran/>.
25. DEVINE et al. *Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas*. 2000.
26. AGRO PLAZA, FERTILIZANTES Y LÍNEAS FOLIARES.
<https://www.agroplaza.pe/producto/fenkil/>. [En línea] 202.
<https://www.agroplaza.pe/>.
27. NISHIMURA, S. Y FUJII, T. *Composición fungicida para uso agrícola y hortícola*.
https://consultas2.oepm.es/pdf/ES/0000/000/02/81/70/ES-2817081_T3.pdf : s.n., 2021.
28. FRICK et al. Characterisation of the genetic factors affecting quinolizidine alkaloid biosynthesis and its response to abiotic stress in narrow-leafed lupin

(*Lupinus angustifolius* L.). [En línea] 23 de Febrero de 2018.
<https://doi.org/10.1111/pce.13172>.

29. ZAMORA et al. *Composición de alcaloides en semillas de Lupinus mexicanus (fabaceae) y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo*. [En línea] 2 de febrero-marzo de 2008.

https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952008000200006.

30. ROSAS, Y. *Eliminación de los alcaloides del Lupinus mutabilis sweet (tarwi) por fluidos supercríticos (CO₂) con co-solventes*. [En línea] 2019.

<http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/11068>.

31. SEGUIL, C. *Extracción de alcaloides quinolizidínicos del tarwi asistido por microondas, para aplicación como bioinsecticida de la polilla de la quinua*. [En línea] 2021.

<http://hdl.handle.net/20.500.12894/7432>.

32. ANDORNO et al. *Control biológico de áfidos por métodos conservativos en cultivos hortícolas y aromáticas*. Buenos Aires : INTA, 2014, pág. 48.

33. MINISTERIO PARA LA TRANSICIÓN ECOLÓGICA Y EL RETO DEMOGRÁFICO. [En línea] Vicepresidencia Tercera del Gobierno de España, 2022. [Citado el: 15 de Septiembre de 2022.]

<https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/biocidas/>.

34. ZAMORA et al. *Perfil de alcaloides de semillas de Lupinus exaltatus Zucc. (Fabaceae) y la evaluación antifúngica del extracto alcaloideo y Lupanina contra fitopatógenos*. México : Revista Mexicana de Fitopatología 23:124-129., 2005.

35. ARANGO, G. *Alcaloides y compuestos nitrogenados*. 2008, pág.

<http://dica.minec.gob.sv/inventa/attachments/article/856/alcaloides.pdf>.

36. RAE. *Diccionario de la Lengua Española*. 2022, pág.

<https://dle.rae.es/diccionario>.

37. DICCIONARIO MÉDICO. *Clínica Universidad de Navarra*. 2022, págs.

<https://www.cun.es/diccionario-medico>.

38. CHIRINOS-ARIAS, M. *Tarwi (Lupinus mutabilis Sweet) una planta con potencial nutritivo y medicina*. 2015, pág.
[http://DOI 10.15741/revbio.03.03.03](http://DOI.10.15741/revbio.03.03.03).
39. UNIVERSIDAD NACIONAL DE COSTA RICA - UNA. *Manual de plaguicidas de centroamérica*. 2022, Características generales y agronómicas, págs.
<http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/index.php/caracteristicas-generales-y-agronomicas>.
40. EL PERUANO. Ley N° 30806. *Ley que modifica diversos artículos de la Ley 28303, Ley marco de ciencia, tecnología e innovación tecnológica; y de la Ley 28613, Ley del consejo nacional de ciencia, tecnología e innovación tecnológica (CONCYTEC)*. junio de 2022, págs.
<https://busquedas.elperuano.pe/normaslegales/ley-que-modifica-diversos-articulos-de-la-ley-28303-ley-mar-ley-n-30806-1666491-1/>.
41. HERNÁNDEZ et al. *Metodología de la Investigación. Metodología de la Investigación*. México : Interamericana editores. 6ta Ed., 2014, pág. 634.
42. MONJE, C. *Metodología de la investigación cuantitativa y cualitativa - Guía didáctica*.
<https://www.uv.mx/rmipe/files/2017/02/Guia-didactica-metodologia-de-la-investigacion.pdf> : s.n., 2011.
43. EGUSQUIZA, R. *Manejo integrado de plagas y enfermedades en el cultivo de papa*. 2013, Guia Tecnica UNALM, págs. 24-25.
44. BALDEÓN, P. *Procesamiento del Chocho (Lupinus Mutabilis Sweet) para la obtención de leche y yogurt como alimentos alternativos de consumo humano*. Guayaquil : s.n., 2012.
45. CAICEDO et al. *Poscosecha y Mercadeo de Chocho (Lupinus mutabilis Sweet)*. 2000, Boletín Técnico N° 89, pág. 38.
46. DUKE et al. *Natural products as source for new mechanisms of herbicidal action*. 2000, pág.
https://www.academia.edu/4478168/Natural_products_as_sources_for_new_mechanisms_of_herbicidal_action.

47. GUERRERO, M. *Alcaloides del Chocho (Lupinus mutabilis Sweet)*. Evento de Información y Difusión de Resultados de Investigación sobre el chocho. 1987, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, pág. pp.7.
48. GROSS, R. *El cultivo y la utilización del tarwi (Lupinus mutabilis Sweet.)*. 1982, Estudio FAO.
49. SIAVICHAY, G. *Evaluación agronómica de quince ecotipos de chocho (Lupinus mutabilis Sweet) y aspectos relacionados al mejoramiento genético de estas especies*. Chimborazo : Escuela Superior Politécnica de Chimborazo , 1986.
50. TAPIA, M. *Tarwi, Tauri o Chocho (Lupinus mutabilis Sweet)*. 2015, págs. <http://fadvamerica.org/wp-content/uploads/2017/04/TARWI-espanol.pdf>.
51. MONTORO et al. *Características de uso de plaguicidas químicos y riesgos para la salud en agricultores de la sierra central del Perú*. 2009, pág. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=36318974009>.
52. GULISANO et al. *Genetics and Breeding of Lupinus mutabilis: An emerging protein crop*. 2019, Frontiers in plant science, pág. 13.
53. ORTEGA-DAVID et al. *Caracterización de semillas de lupino (Lupinus mutabilis) sembrado en los Andes de Colombia*. s.l. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169916223012>, 2010.
54. MINISTERIO DE DESARROLLO AGRARIO Y RIEGO - MIDAGRI. *Análisis de mercado del tarwi*. s.l. : <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2194218/An%C3%A1lisis%20de%20Mercado%20-%20Tarwi%202021.pdf>, 2021.
56. CAISAPANTA, B. *Comparación del efecto antioxidante del extracto total y la fracción alcaloidea de diferentes partes aéreas de Brugmansia suaveolens y Solanum interandinum*. Quito : Universidad Central del Ecuador, 2019. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/18691>

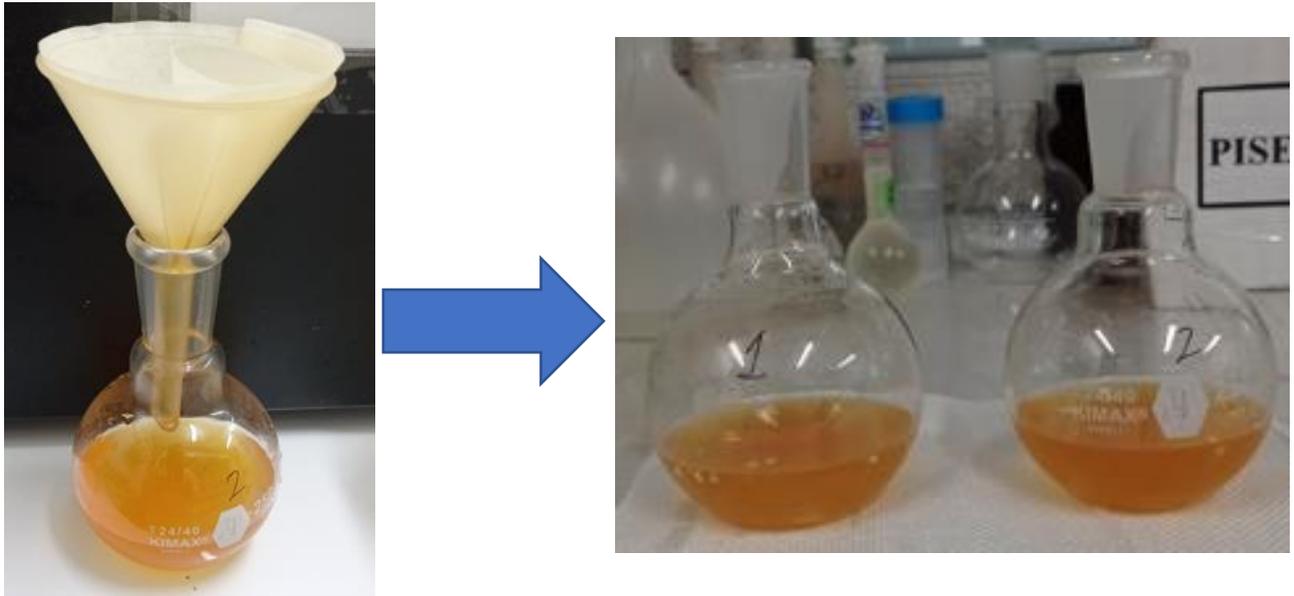
ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
¿Cuál es la formulación para el insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi)?	Formular un insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi).	Se puede formular un insecticida natural a base de concentrado de alcaloides del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi) en medio acuoso.	Y: Formulación del insecticida natural	Composición porcentual de alcaloide, disolvente, dispersante, humectante, espesante y agua desionizada	10 % (v/v) 20 % (v/v) 30 % (v/v)	
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICOS	VARIABLES INDEPENDIENTES	DIMENSIONES	INDICADORES	
1. ¿Cuáles son las características del concentrado de alcaloides que se utilizará como base para la formulación del insecticida natural?	Evaluar las características del concentrado de alcaloides del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi) que debe contener el insecticida natural.	El concentrado de alcaloides del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi) tiene densidad >1.0 g/mL, pH > 8.0 y concentración de alcaloides de >2.0 %	X ₁ : Concentrado de alcaloides del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi)	-Densidad -pH -% concentrado de alcaloides	>1.0 g/mL >8.0 >2.0 %	Investigación aplicada, cuantitativa, experimental, causa-efecto.
2. ¿Cuál es el efecto biocida del insecticida natural formulado a base de concentrado de alcaloides del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi)?	Evaluar el efecto biocida del insecticida natural formulado a base de concentrado de alcaloides del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi).	El insecticida natural formulado a base de alcaloides del <i>Lupinus mutabilis</i> (tarwi) tiene efecto biocida	X ₂ : Insecticida natural	Efecto biocida	% Mortandad	

Anexo 2

Acopio y filtrado del agua residual del desamargado del tarwi



Anexo 3

Concentración de los alcaloides con Rotavapor al vacío



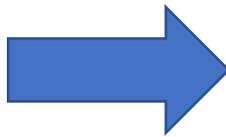
Anexo 4

Alcaloide concentrado



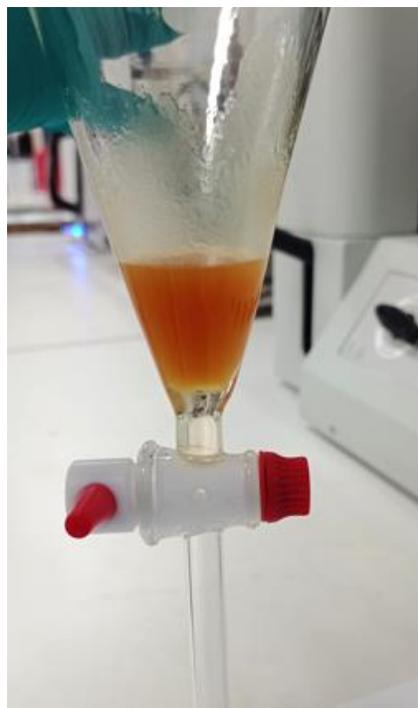
Anexo 5

Medición de la densidad por diferencia de masa del concentrado de alcaloides



Anexo 6

Extracción líquido-líquido del alcaloide (AQ) en pera de decantación



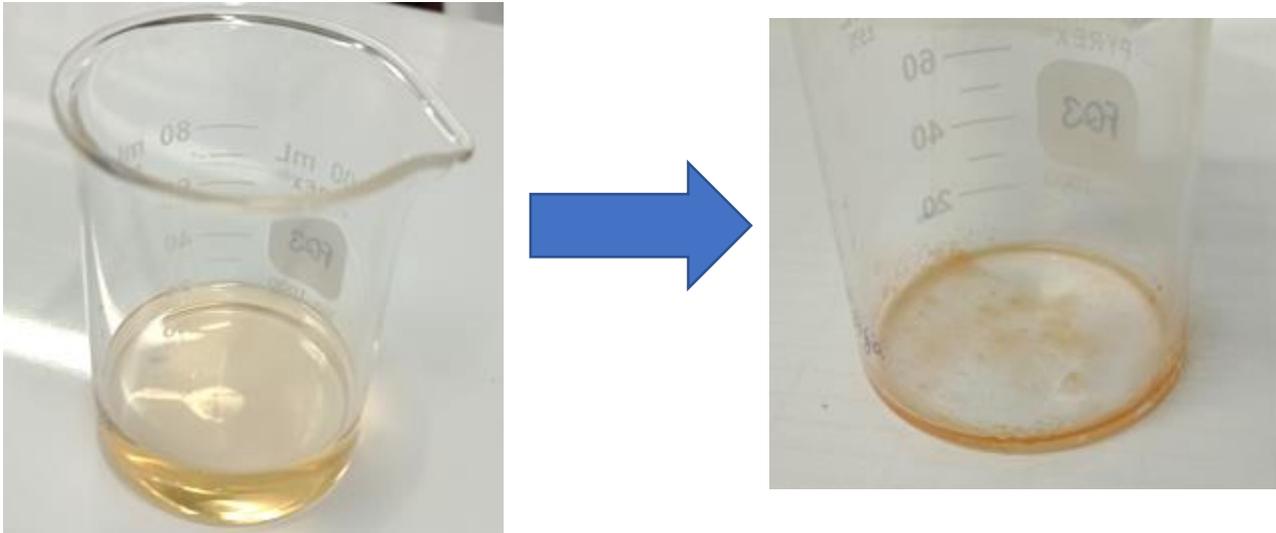
Anexo 7

Fase orgánica centrifugada para acelerar la operación



Anexo 8

Recopilado de fase orgánica y volatilización del cloroformo con $N_2(g)$



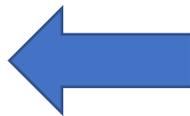
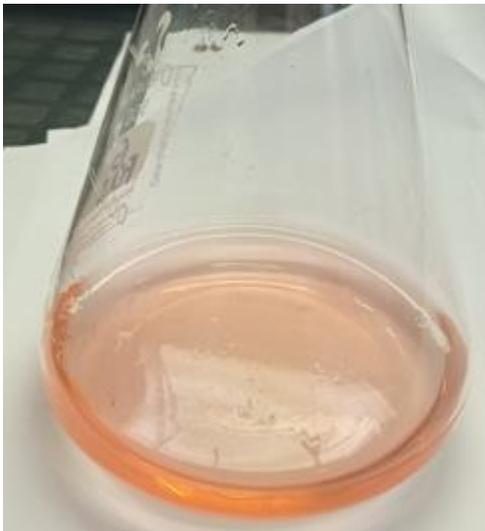
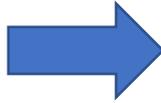
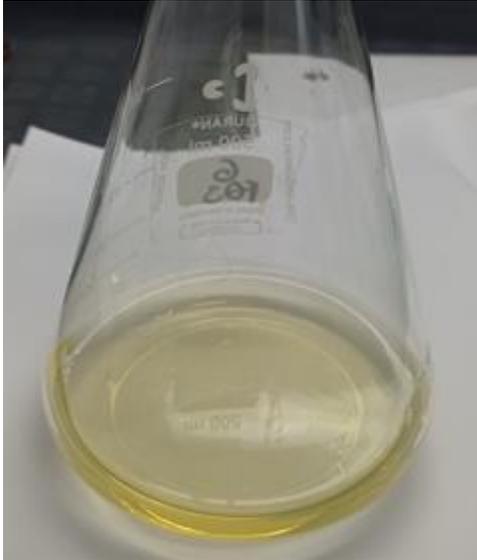
Anexo 9

Medición de pH de solución alcaloidea en potenciómetro



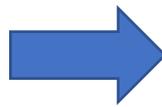
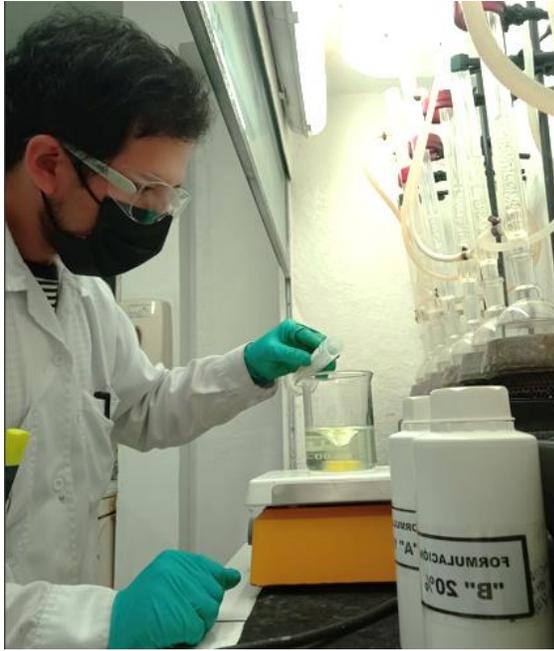
Anexo 10

Titulación ácido-base para cuantificar el % de alcaloides totales



Anexo 11

Preparación de las formulaciones A, B y C con sus respectivas proporciones



Anexo 12

Etiquetado y preservación de las formulaciones A, B y C



Formulación A, 10 % (v/v)



Formulación B, 20 % (v/v)



Formulación C, 30 % (v/v)



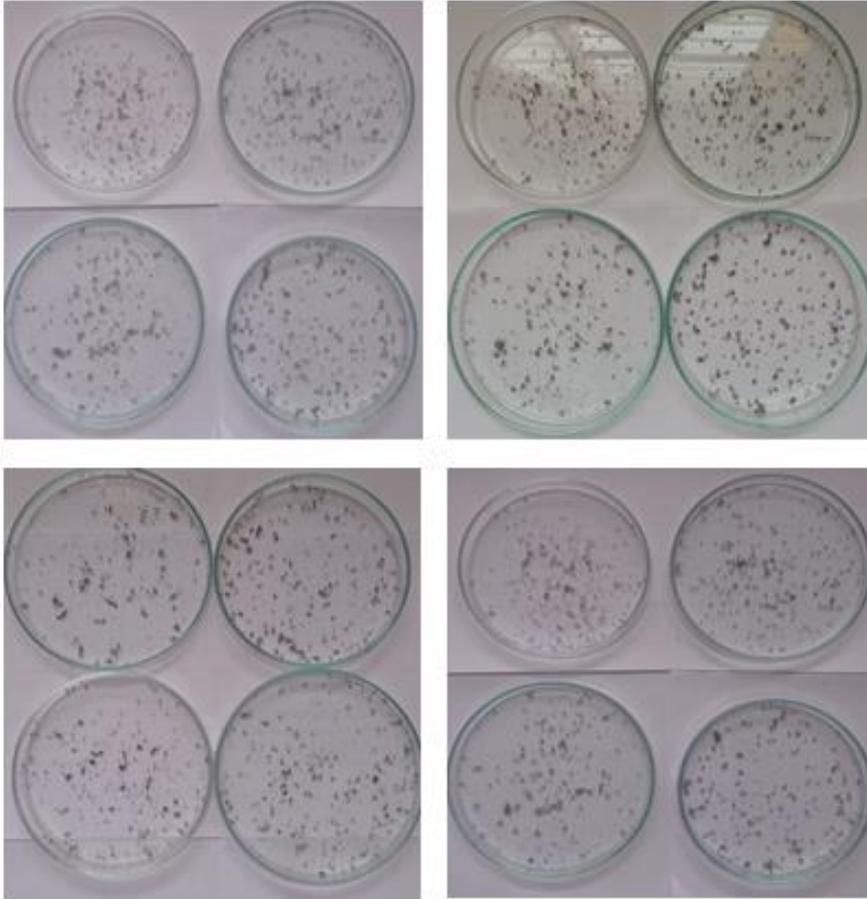
Anexo 13

Recolecta en placas Petri de 360 áfidos de *Schizaphis graminum*



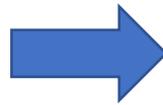
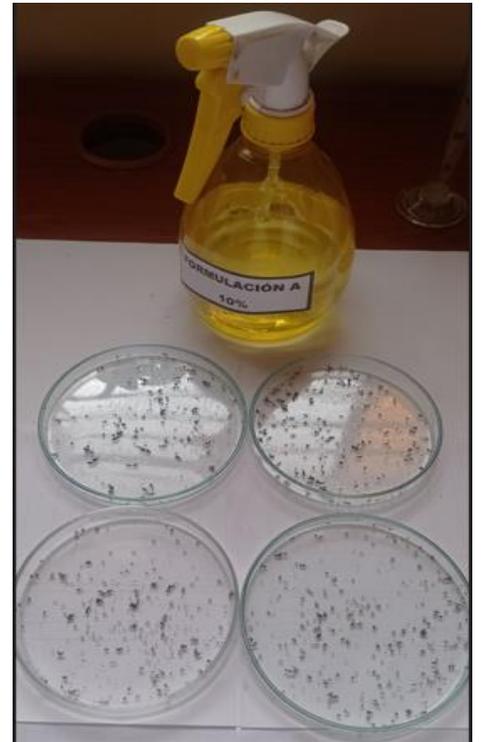
Anexo 14

Distribución de 20 áfidos por placa Petri para 2 tiempos (24 y 48 horas) de aplicación



Anexo 15

Aplicación del insecticida natural de las formulaciones A, B y C para evaluar el efecto biocida sobre las plagas de áfidos en 24 y 48 horas.



Anexo 16

Certificado de verificación de bureta de 10 mL usado para la titulación

INFORME DE VERIFICACIÓN N° IV-097-2021

N° Solicitud : LC-018-2021

Fecha de emisión:

- 2021-02-27
Pág. 1 de 2
- SOLICITANTE** : Inspectorate Servicos Perú S.A.C.
Dirección : Av. Elmer Faucett N° 444 - Callao
 - INSTRUMENTO** : BURETA
Marca : BRAND
Serie : No Indica
Tipo : EX
Material : Vidrio
Temp. de referencia : 20 °C
Resolución : 0,02 mL

Identificación	Capacidad del Instrumento	Error máximo permisible	Clase de exactitud	Procedencia
CV-5437 (*)	10 mL	0,020 mL	AS	Alemania

Ubicación : LABORATORIO DE ORGÁNICA

3. **FECHA Y LUGAR DE LA VERIFICACIÓN**

Verificado el 2021-02-24 en el Laboratorio de Calibración de Inspectorate Servicos Perú S.A.C.

4. **MÉTODO DE VERIFICACIÓN**

La verificación se realizó utilizando el método gravimétrico, tomando como referencia el PC-015 "Procedimiento para la Calibración de Material Volumétrico de Vidrio y Plástico", Quinta edición 2017, INACAL.

5. **TRAZABILIDAD**

Realizado por	Patrón utilizado	Certificado de calibración
METROIL S.A.C.	Una balanza con código de identificación ELAB-817	MC-1254-2019
INACAL	Un termómetro patrón con código de identificación ELAB-777	LT-088-2020
METROIL S.A.C.	Un barómetro con código de identificación ELAB-2919	P-1098-2021
METROIL S.A.C.	Un Termohigrómetro con código de identificación ELAB-3482	T-0848-2021

6. **CONDICIONES DE AMBIENTALES**

	Inicio	Final
Temperatura	20,1 °C	20,0 °C
Humedad relativa	75 %	74 %
Presión atmosférica	1010,6 mbar	1011,1 mbar

Anexo 17

Certificado de verificación de balanza analítica de 210 g.



INFORME DE VERIFICACIÓN

Laboratorio MASA Código: E319-405A-2021.37-135a

ISO / IEC 17025

- a. Solicitante: INSPECTORATE SERVICES PERU S.A.C.
- b. Dirección solicitante: Av. Elmer Faucett N° 444, Callao - Prov. Const. Del Callao
- c. Instrumento de medida: Instrumento de pesaje de funcionamiento no automático
- d. Marca: Ohaus
- e. Modelo: AR2140
- f. Numero de serie: K272 1227330051 P
- g. Identificación: ELAB-1278
- h. Lugar de la verificación: Laboratorio de Orgánica
- i. Fecha de ejecución: 2021-12-02
- j. Supervisor de Laboratorio: Gian Carlos, Malca Correa
Supervisor de Laboratorio

k. Signatario autorizado:



Juan Luis Rosales Saavedra
LO JUSTO S.A.C.
CONTROL OPERACIONES
controloperaciones@lojusto.com
Fecha: 14/12/2021 15:50
Firmado con www.totopu.pe

Este informe de verificación solo puede ser difundido completamente y sin modificaciones. Los extractos o modificaciones requieren la autorización de la Dirección de LO JUSTO S.A.C.

ISO / IEC

1 Información del instrumento

Capacidad máxima	Tipo	Clase de exactitud	División de escala	División escala verificación
210 g	Electrónica	No indica	0,1 mg	No indica

2 Trazabilidad :

- La U_95 fue calculada considerando el certificado de calibración: E319-403A-2021.20-115a.
- Juego de pesas patrones de clase de exactitud E2: PE21-C-1242.

Anexo 20

Certificado análisis del cloroformo usado para extracción de alcaloides

 Avantor™



Cloroformo
Baker Analyzed ACS Reactivo

No. de Producto : 9180
No. de Lote : B33W61
Fecha de Manufactura:
2020/08/11

Certificado de Análisis

PRUEBAS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
Cumple Especificaciones ACS		
Acetona, aldehidos como (CH ₃) ₂ CO	Pasa prueba	Pasa prueba
Ensayo (CHCl ₃) (por CG corregido por Agua)	Mín. 99.8%	99.99000 %
Etanol	0.7 - 1.0 %	0.81000 %
Ácido y Cloruro	Pasa prueba	Pasa prueba
Cloro Libre	Pasa prueba	Pasa prueba
Color (APHA)	Máx. 10	5.0
Plomo (Pb)	Max. 0.05 ppm	0.005 ppm
Residuo Después de Evaporación	Max. 2.00 ppm	2.000 ppm
Sustancias Obscurecidas por H ₂ SO ₄	Pasa prueba	Pasa prueba
Adecuado para Uso en Prueba de Ditzona	Pasa prueba	Pasa prueba
Agua (H ₂ O)	Max. 0.01 %	0.01000 %

País de Origen: USA
Fecha de Caducidad: 2025/08/11


Jamie Ethier
Vice President Global Quality

Avantor Performance Materials S.A. de C.V. Plomo No. 2 Esfuerzo Nacional, Xalostoc, 55320 Ecatepec, Edo. de México
Phone. 5699-0250 01-800-70-01800

Anexo 21

Certificado análisis del ácido sulfúrico 95-97 %



Certificate of Analysis

1.00731.2500 Sulfuric acid 95-97% for analysis EMSURE® ISO
Batch K54295231

	Spec. Values		Batch Values	
Assay (alkalimetric)	95.0 - 97.0	%	96.1	%
Color	≤ 10	Hazen	< 10	Hazen
Chloride (Cl)	≤ 0.1	ppm	< 0.1	ppm
Nitrate (NO ₃)	≤ 0.2	ppm	< 0.2	ppm
Phosphate (PO ₄)	≤ 0.5	ppm	< 0.3	ppm
Ag (Silver)	≤ 0.010	ppm	< 0.002	ppm
Al (Aluminium)	≤ 0.050	ppm	< 0.010	ppm
As (Arsenic)	≤ 0.010	ppm	< 0.005	ppm
Au (Gold)	≤ 0.050	ppm	< 0.005	ppm
B (Boron)	≤ 0.050	ppm	< 0.010	ppm
Ba (Barium)	≤ 0.050	ppm	< 0.010	ppm
Be (Beryllium)	≤ 0.010	ppm	< 0.005	ppm
Bi (Bismuth)	≤ 0.050	ppm	< 0.010	ppm
Ca (Calcium)	≤ 0.100	ppm	< 0.010	ppm
Cd (Cadmium)	≤ 0.010	ppm	< 0.005	ppm
Co (Cobalt)	≤ 0.010	ppm	< 0.005	ppm
Cr (Chromium)	≤ 0.020	ppm	< 0.020	ppm
Cu (Copper)	≤ 0.010	ppm	< 0.005	ppm
Fe (Iron)	≤ 0.100	ppm	< 0.010	ppm
Ga (Gallium)	≤ 0.050	ppm	< 0.010	ppm
Ge (Germanium)	≤ 0.020	ppm	< 0.010	ppm
In (Indium)	≤ 0.050	ppm	< 0.010	ppm
K (Potassium)	≤ 0.100	ppm	< 0.010	ppm
Li (Lithium)	≤ 0.010	ppm	< 0.005	ppm
Mg (Magnesium)	≤ 0.050	ppm	< 0.010	ppm
Mn (Manganese)	≤ 0.010	ppm	< 0.005	ppm
Mo (Molybdenum)	≤ 0.020	ppm	< 0.010	ppm
Na (Sodium)	≤ 0.300	ppm	< 0.010	ppm
NH ₄ (Ammonium)	≤ 1	ppm	< 1	ppm

Anexo 22

Certificado análisis de metanol usado para disolver el alcaloide para titular



Metanol
 Solvente HPLC BAKER ANALIZED
 Para uso en Cromatografía de Líquidos
 (incluyendo HPLC y UHPLC) y
 Espectrofotometría

No. de Producto : 9093
 No. de Lote : C24W31
 Fecha de Manufactura:
 2021/06/16

Certificado de Análisis

PRUEBAS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
Ensayo (CH ₃ OH) (corregido por agua)	Min. 99.9 %	99.96000 %
Absorbancia Ultravioleta (celda de 1.00 cm vs agua)		
400-254 nm	Máx. 0.01	0.010000
225 nm	Máx. 0.15	0.110000
Corte UV, nm	Máx. 205.0	204.200000
Gradiente de Elución (u.a.)		
Pico más largo a 254 nm (ua)	Max. 0.002	0.000200
Imp. por Fluorescencias (ppb) Medida como base Quínina		
a 450 nm de Emisión	Máx. 0.3	0.100000
a Máxima Emisión de Impurezas	Máx. 1.0	0.100000
Acetona	Max. 0.001 %	0.00050 %
Residuo Después de Evaporación	Max. 1.0 ppm	1.000 ppm
Ácido Titulable (µeq/g)	Máx. 0.3	0.300000
Base Titulable (µeq/g)	Máx. 0.1	0.050000
Agua (H ₂ O) (por KF) (por Coulometría)	Máx. 0.05%	0.03000 %

País de Origen: México
 Fecha de caducidad: 2026/06/16

James Ethier
 Jamie Ethier
 Vice President Global Quality

Avantor Performance Materials S.A. de C.V. Plomo No. 2 Esfuerzo Nacional, Xalostoc, 55320 Ecatepec, Edo. de México
 Phone. 5699-0250 01-800-70-01800

Anexo 23

Certificado análisis del rojo de metilo para viraje de color en la titulación

26/3/2019

성적서



Certificate of Analysis

Methyl Red

[493-52-7] (C15H15N3O2) FW:269.31

Product code. 1505

Indicator Grade
Lot-129107

TESTS	UNIT	SPECIFICATION	RESULTS
Appearance	-	Red Purple--dark purple crystals or crystalline powder.	pass
Identification	-	IR Spectrometry.	pass
Solubility in Ethanol	-	To pass test	pass
Solubility in NaOH Solution	-	To pass test	pass
Absorbance (5mg/L, pH 6.6)	-	Max. 0.35	0.36
Loss on drying (at 105°C, 4hr)	%	Max. 1.0	0.2
Ignition residue (as Sulfate)	%	Max. 0.2	0.1
pH range	-	4.2(Purple) ~ 6.2(Yellow)	pass

Mfg. Date : 2018-02-09
 Exp. Date : 5 years after Mfg. Date
 Test Method : JIS K 8896
 Tested by : Min-Jung, Kim

Anexo 24

Certificado de solución buffer pH 4.00



Certificate of Analysis – Certified Reference Material

Certipur® Buffer solution pH 4.00 (20°C)

Certified Reference Material for pH measurement

Product no.: 1.09435.1000
Lot no.: HC02910835
Description of CRM: Certipur® Buffer solution pH 4.00 (20°C)
Certified Reference Material for pH measurement
Expiry date: 2023/04/30
Storage: +15°C to +25°C tightly closed in the original container
Composition: citric acid / sodium hydroxide / hydrogen chloride



Certified value	Associated uncertainty, $U=k \cdot u$ ($k=2$)
pH value 4.01	± 0.02 (20°C)

Metrological traceability: The pH value of this certified buffer solution is directly traceable to primary certified reference materials characterised by PTB and verified by SRMs from NIST.
NIST 189c, 188, 185i, 186 Ig, 186 IIg, 187f
PTB OX-405/18, TA-442/19, PHT-340/16, PHO-346/16, BO-373/17
PTB: *Physikalisch Technische Bundesanstalt, Braunschweig, Germany*
NIST: *National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA.*

Measurement method: pH value is measured with a combined glass electrode after 5-point calibration according to DIN 19268 with reference buffer solutions according to DIN 19266, IUPAC, NIST, Ph.Eur. and USP.

Accreditation: Merck KGaA, Darmstadt, Germany is accredited by the German accreditation authority DAkkS as registered reference material producer D-RM-15185-01-00 in accordance with ISO 17034 and registered calibration laboratory D-K-15185-01-00 according to DIN EN ISO/IEC 17025.

Certificate issue date: 2020/04/24

Anexo 25

Certificado de solución buffer pH 7.00



Certificate of Analysis – Certified Reference Material

Certipur® Buffer solution pH 7.00 (20°C)

Certified Reference Material for pH measurement

Product no.: 1.09439.1000
Lot no.: HC02388039
Description of CRM: Certipur® Buffer solution pH 7.00 (20°C)
Certified Reference Material for pH measurement
2023/05/31
Expiry date: 2023/05/31
Storage: +15°C to +25°C tightly closed in the original container
Composition: di-sodium hydrogen phosphate / potassium dihydrogen phosphate



Certified value	Associated uncertainty, $U = k \cdot u$ ($k=2$)
pH value 7.00	± 0.02 (20°C)

Metrological traceability: The pH value of this certified buffer solution is directly traceable to primary certified reference materials characterised by PTB and verified by SRMs from NIST.
NIST 189c, 188, 185i, 186 Ig, 186 IIg, 187f
PTB OX-405/18, TA-442/19, PHT-340/16, PHO-346/16, BO-373/17
PTB: *Physikalisch Technische Bundesanstalt, Braunschweig, Germany*
NIST: *National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA.*

Measurement method: pH value is measured with a combined glass electrode after 5-point calibration according to DIN 19268 with reference buffer solutions according to DIN 19266, IUPAC, NIST, Ph.Eur. and USP.

Accreditation: Merck KGaA, Darmstadt, Germany is accredited by the German accreditation authority DAkkS as registered reference material producer D-RM-15185-01-00 in accordance with ISO 17034 and registered calibration laboratory D-K-15185-01-00 according to DIN EN ISO/IEC 17025.

Certificate issue date: 2020/05/25

Anexo 26

Certificado de solución buffer pH 10.00



Certificate of Analysis – Certified Reference Material

Certipur® Buffer solution pH 10.00 (20°C)

Certified Reference Material for pH measurement

Product no.: 1.09438.1000
Lot no.: HC01501438
Description of CRM: Certipur® Buffer solution pH 10.00 (20°C)
Certified Reference Material for pH measurement
Expiry date: 2023/03/31
Storage: +15°C to +25°C tightly closed in the original container
Composition: boric acid / potassium chloride / sodium hydroxide



Certified value	Associated uncertainty, $U=k \cdot u$ ($k=2$)
pH value 10.01	± 0.03 (20°C)

Metrological traceability: The pH value of this certified buffer solution is directly traceable to primary certified reference materials characterised by PTB and verified by SRMs from NIST.
NIST 189c, 188, 185i, 186 Ig, 186 IIg, 187f
PTB OX-405/18, TA-442/19, PHT-340/16, PHO-346/16, BO-373/17
PTB: *Physikalisch Technische Bundesanstalt, Braunschweig, Germany*
NIST: *National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA.*

Measurement method: pH value is measured with a combined glass electrode after 5-point calibration according to DIN 19268 with reference buffer solutions according to DIN 19266, IUPAC, NIST, Ph.Eur. and USP.

Accreditation: Merck KGaA, Darmstadt, Germany is accredited by the German accreditation authority DAkkS as registered reference material producer D-RM-15185-01-00 in accordance with ISO 17034 and registered calibration laboratory D-K-15185-01-00 according to DIN EN ISO/IEC 17025.

Certificate issue date: 2020/03/27

Anexo 27

Resultados descriptivos analizados en Minitab 19

Análisis de la densidad

H₀: La densidad =1.0 g/mL

H₁: La densidad >1.0 g/mL

Estadísticas descriptivas		
Muestra	N	Mediana
Densidad	3	1.184

Análisis del pH

H₀: El pH =8.0

H₁: El pH >8.0

Estadísticas descriptivas		
Muestra	N	Mediana
pH	3	8.71

Análisis del % de alcaloides totales

H₀: El % alcaloide =2.0

H₁: El % alcaloide >2.0

Estadísticas descriptivas		
Muestra	N	Mediana
% Alcaloides	3	2.9

Formulaciones vs ácidos muertos analizados en SPSS 25

Resumen de procesamiento de casos

	Válido		Casos Perdido		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
formulación * ácidos muertos	24	96,0%	1	4,0%	25	100,0%