

## ÍNDICE

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>2</b>
<b>II.</b>	<b>PROPÓSITO DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>3</b>
	2.1 Marco Político .....	3
	2.2 Justificación .....	4
<b>III.</b>	<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>4</b>
<b>IV.</b>	<b>METODOLOGÍA EMPLEADA EN LA INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>5</b>
	4.1 Recolección y Extracción.....	5
	4.2 Bioensayo.....	6
<b>V.</b>	<b>EXPERIENCIAS REALIZADAS</b> .....	<b>8</b>
<b>VI.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>8</b>
	6.1 Capacidad larvicida de las semillas .....	8
	6.2 Composición química.....	9
<b>VII.</b>	<b>ANÁLIS DE LOS RESULTADOS</b> .....	<b>11</b>
	7.1 Estudio de los Órganos de <i>Clibadium peruvianum</i> .....	11
	7.2 Efectividad Insecticida.....	12
	7.2.1 Actividad Insecticida vs. Concentración .....	12
	7.3 Evidencias Fisiológicas del Efecto Insecticida .....	13
	7.3.1 Inhibición del Crecimiento Larval .....	13
	7.3.2 Tipos de Deformaciones .....	13
	7.4 Determinación de la Composición Química .....	14
	7.4.1 Composición Química vs. Actividad Insecticida .....	18
<b>VIII.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>18</b>
<b>IX.</b>	<b>POSIBILIDADES DE APLICACIÓN: UNA PROPUESTA TECNOLÓGICA SOBRE BASES CIENTÍFICAS</b> .....	<b>19</b>
	9.1 Procesos Unitarios de la industrialización .....	19
<b>X.</b>	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>22</b>
	<b>ANEXO Nº 1 PLANTA DE PRODUCCIÓN</b>	
	<b>ANEXO Nº 2 PUBLICACIONES DE LA INVESTIGACIÓN</b>	

# PERSPECTIVAS DE APLICACIÓN AGROPECUARIA DE UN INSECTICIDA NATURAL DE ORIGEN PERUANO

## I. INTRODUCCIÓN

El control de plagas y vectores utilizando sustancias químicas de origen sintético se ha vuelto una problemática que se ha registrado en el mundo y sobre todo en países en vías de desarrollo. El uso indiscriminado de plaguicidas químicos en los cultivos y en otros sectores agropecuarios han originado en nuestro país un gran riesgo para la salud de los agricultores, sus familias y también a personas que consumen alimentos provenientes de zonas donde utilizan dichos productos; con la consecuente liberación de diferentes tipos de residuos que producen contaminación en el ambiente.

En el Perú, el control de plagas y vectores es muy importante ya que estos insectos provocan grandes pérdidas económicas en diferentes sectores de la industria agrícola y agropecuaria. Sin embargo, muchas especies de insectos logran desarrollar resistencia a potentes químicos, provocando mayores costos en la obtención de estos insumos y perjudicando a corto y mediano plazo la salud; un ejemplo en particular es el control de la mosca común, responsable de la transmisión de más de 65 enfermedades, que han afectado y siguen afectando nuestro país como el cólera y la tuberculosis.

El propósito de este proyecto es desarrollar un insecticida natural proveniente de componentes activos de una planta amazónica conocida con el nombre común de huaca (*Clibadium peruvianum* Poepp ex. DC) para el control de la mosca común y con la finalidad, que sea seguro para la salud de las personas y biodegradable.

## **II. PROPÓSITO DE LA INVESTIGACIÓN**

### **2.1 Marco Político**

En junio del año 2008 el Congreso de la República pone en vigencia el Decreto Legislativo N°1059 que aprueba la Ley General de Sanidad Agraria con el fin de mejorar la competitividad de la producción agropecuaria nacional, fomentando el manejo integrado de plagas y priorizando los métodos de control más amigables con el ambiente, que garanticen la inocuidad alimentaria y preserven la salud del agricultor.

Por otro parte, en el año 2011 se aprueba el Programa Nacional de Monitoreo de Contaminantes en Alimentos Agropecuarios Primarios y Piensos (Resolución Jefatural No 141-2011-AG-SENASA) y un Plan Anual de Monitoreo de Contaminantes Químicos en Alimentos Agropecuarios Primarios y Piensos de Producción Nacional o Extranjera para el período 2011 (Resolución Directoral No 107-2011-AG-SENASA-DIAIA). Esta legislación está orientada a fiscalizar los residuos de plaguicidas en alimentos de origen vegetal, animal y piensos comercializados en el país, ya que existen sospechas acerca de la presencia de residuos de plaguicidas en los alimentos por encima de las tolerancias internacionales, debido al uso indiscriminado de estas sustancias durante el proceso productivo.

En enero del 2012 se publica el Decreto Supremo No 001-2012-AG, mediante el cual se aprueban las Normas Complementarias para el Desarrollo de la Actividad Agraria. Este Decreto, contrario a la legislación antes mencionada, promueve la importación de plaguicidas químicos por parte de los agricultores, sin realizarse los estudios toxicológicos necesarios para medir los riesgos de estos productos a la salud humana y el ambiente, como lo establece el código de conducta de la FAO y la Decisión 436 de la Comunidad Andina, Norma Andina para el Registro y Control de Plaguicidas Químicos de Uso Agrícola, y su Manual Técnico aprobado por la Resolución 630 de la Secretaría General de la Comunidad Andina.

En este sentido, constituye una clara tendencia a nivel mundial; la obtención de alimentos seguros para el consumidor y el desarrollo de procesos productivos amigables con el ambiente; capaces de generar bienestar social y calidad de vida en general. Este es justamente uno de los tantos motivos de la existencia de las normas de Buenas Prácticas Agrícolas, conocido por sus siglas en inglés GLOBALGAP, cuyo cumplimiento es obligatorio si el destino del alimento es el mercado internacional.

## 2.2 Justificación

Los insecticidas de origen sintético son utilizados en nuestro país de manera indiscriminada provocando un alto riesgo ambiental, ya que generan la evolución de la resistencia de los insectos, contaminación permanente en el ambiente y daños irreversibles a la salud humana, debido a los residuos que permanecen en los alimentos. Por tales motivos, es de vital importancia la búsqueda de moléculas específicas que logren controlar las poblaciones de insectos y que al mismo tiempo no signifiquen un riesgo a la salud humana por el manejo inadecuado y sobretodo se por el grado de permanencia que generan de los residuos tóxicos que afectan a los seres humanos y el medio ambiente.

Esta problemática ha sido el catalizador que ha estimulado la búsqueda de alternativas de origen natural capaces de disminuir drásticamente los daños a la salud y el medio ambiente, demostrándose científicamente la existencia de múltiples metabolitos secundarios provenientes de las plantas con la actividad biológica y la capacidad de controlar la proliferación de organismos nocivos para el hombre.

En este sentido, el estudio de los metabolitos secundarios constituye una alternativa para el desarrollo de nuevas moléculas cuya actividad biológica es relativamente específica en su modo de acción, para ser utilizados en la sanidad agraria nacional, y así evitar trágicos sucesos de intoxicaciones por residuos químicos que contaminan los alimentos de los pobladores y sus familias en comunidades altoandinas, cuyos casos se han presentado con frecuencia durante estos últimos dos años y que por sobre todas las cosas, generan nefastos daños irreversibles a la salud.

Por tal motivo, el desarrollo de un insecticida a partir de los componentes activos de la planta huaca (*Clibadium peruvianum* Poepp ex DC.) para el control de la mosca común (*Musca domestica*), a nivel industrial constituye una oportunidad viable para la producción de un insecticida natural producto de la biodiversidad peruana y para el uso y beneficio de la industria agropecuaria del país.

## III. HIPÓTESIS

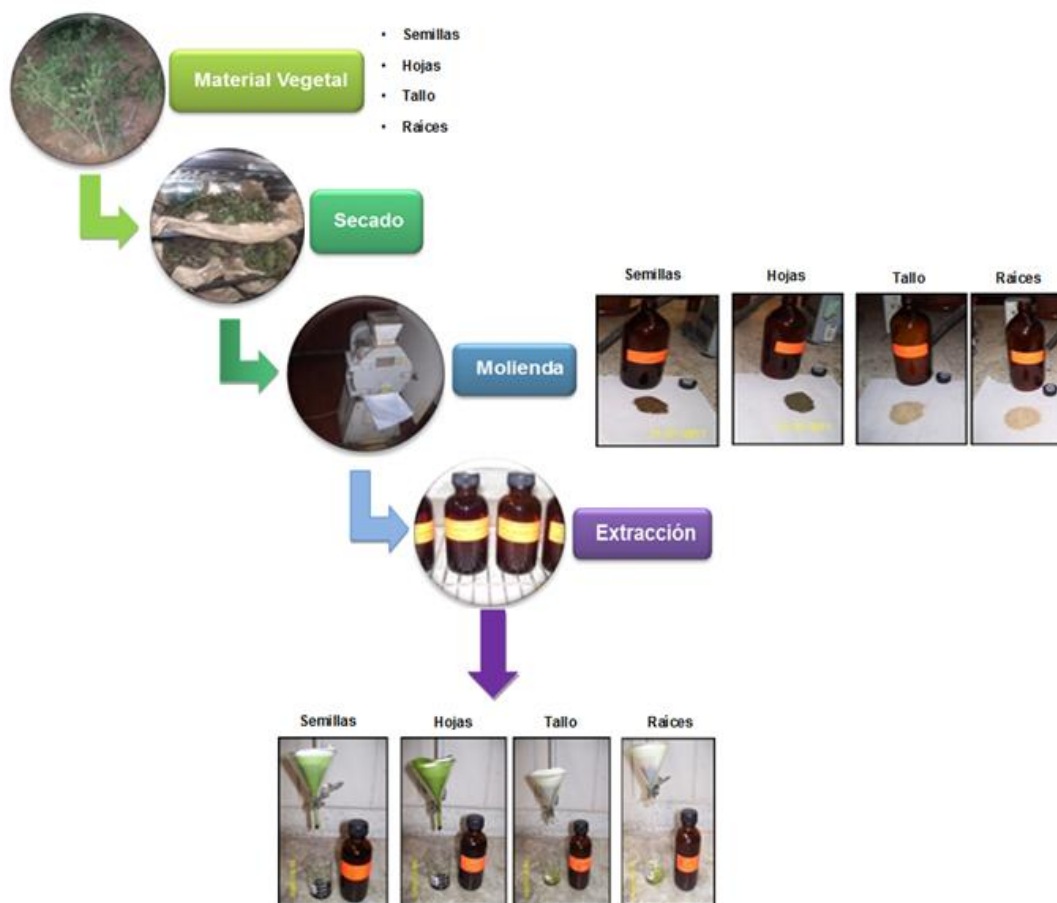
El empleo de extractos hidroalcohólicos obtenidos a partir de los órganos de la planta huaca (*Clibadium peruvianum*) pueden actuar como un insecticida natural al enfrentarse a larvas de la mosca común, permitiendo el control de este vector.

## IV. METODOLOGÍA EMPLEADA EN LA INVESTIGACIÓN

### Recolección y Extracción

La recolección del material vegetal de la planta huaca (*Clibadium peruvianum*) se realizó en el distrito de Wayku, provincia de Lamas perteneciente al Departamento de San Martín. Se extrajo una biomasa aproximada de 15 kg, compuesta por los órganos requeridos para el estudio (semillas, hojas, tallos y raíces). El material vegetal fue trasladado vía aérea a Lima a los laboratorios de química y toxicología de la Universidad Nacional Agraria La Molina para el desarrollo de las investigaciones de acuerdo a la metodología que se presenta a continuación en las Figuras 1 y 2.

**Figura 1. Metodología para la Obtención de los Extractos Hidroalcohólicos.**



A partir de la Figura 1 se puede verificar que el desarrollo de la metodología utilizada para la obtención de los extractos hidroalcohólicos a partir de los órganos de la planta en estudio estuvo conformado por varias etapas de trabajo.

Una vez recolectada la planta y trasladada hasta el laboratorio con sede en Lima, se separaron sus órganos, se seleccionaron adecuadamente y fueron sometidos a un proceso de secado en una estufa a una temperatura de 38 °C durante 48 h. Posteriormente, cada uno de los órganos de la planta fueron pulverizados con la ayuda de un molino de cuchillas y tamizados hasta obtener un pulverizado fino, seco y homogéneo.

El pulverizado (droga seca) fue envasado en frascos de vidrio de color ámbar y almacenados a temperatura de refrigeración (4 °C). Las drogas secas obtenidas, fueron sometidas a un proceso de maceración utilizando solución hidroalcohólica de 96° durante 15 días, agitándolo en la mañana y en la tarde durante 30 min.

Finalmente, el macerado fue decantado y filtrado con la ayuda de un sistema de filtración a presión reducida, obteniéndose los extractos hidroalcohólicos de cada uno de los órganos de la planta. Los extractos fueron envasados en frascos de color ámbar y almacenados alejados de la luz a temperatura de refrigeración para su posterior estudio de actividad biológica.

## **Bioensayos**

Los extractos hidroalcohólicos obtenidos fueron sometidos al desarrollo de bioensayos enfrentándolos a larvas del tercer estadio de la mosca común en dos etapas. La primera etapa consistió en la identificación del extracto con mayor capacidad insecticida y por ende la identificación del órgano con mayor capacidad insecticida.

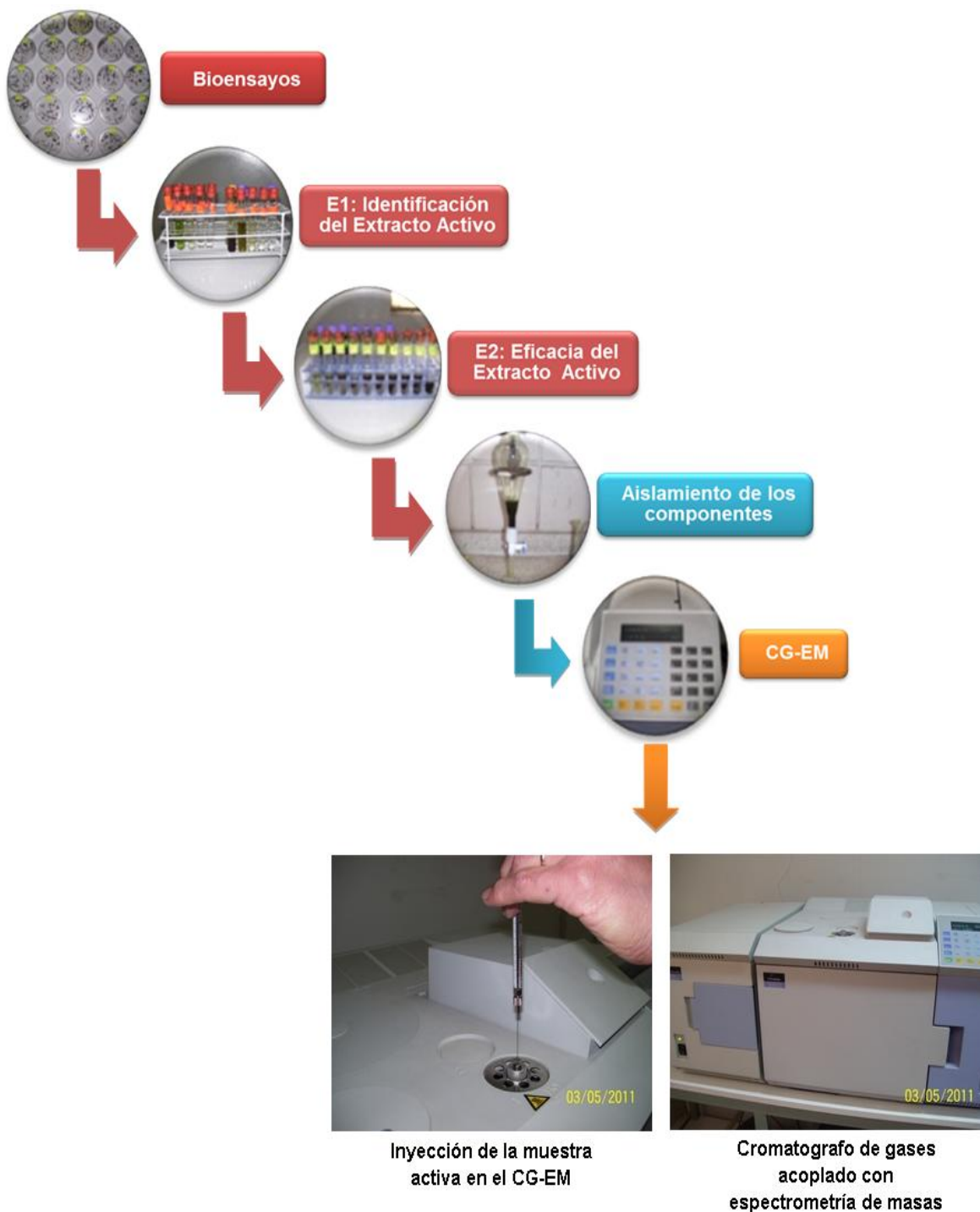
La segunda etapa consistió en evaluar la eficiencia del extracto con mayor actividad biológica a diferentes concentraciones, empleando en cada uno de los bioensayos placas Petri, en las que fueron colocadas 60 larvas, y puestas en contacto con el extracto activo a diferentes concentraciones. La solución alcohólica a 96° fue utilizada como control o testigo. Cada uno de los bioensayos fue realizado por triplicado.

Una vez establecido estadísticamente tanto el órgano como la concentración con mayor efectividad para inhibir el crecimiento de las larvas de mosca común, se procedió al aislamiento de sus metabolitos secundarios responsable de la actividad insecticida.

El extracto con mayor actividad biológica fue sometido a una extracción a una extracción líquido-líquido con hexano. El extracto hexánico fue sometido a un estudio de composición química utilizando Cromatografía Gaseosa acoplado a Espectrometría de Masas (CG-EM). Esta herramienta analítica de punta nos permitió acceder a la elucidación estructural fina y detallada de los componentes

que posee el extracto activo, o sea a los metabolitos secundarios presentes en el extracto de la planta *Clibadium peruvianum* responsables de la actividad biológica, capaz de provocar alteraciones morfológicas e inhibir el crecimiento de las larvas de tercer estadio de la mosca común (Ver Figura 2).

**Figura 2. Metodología de los Bioensayos y la Caracterización Química**



## **V. EXPERIENCIAS REALIZADAS**

**1º.DOMINIO DE LA TÉCNICA DE REPRODUCCIÓN DE LARVAS HOMOGÉNEAS DE LA MOSCA COMÚN EN CONDICIONES CONTROLADAS.**

**2º.DETERMINACIÓN DEL TIEMPO ADECUANDO PARA REALIZAR EL PROCESO DE MACERACIÓN QUE PERMITA OBTENR EL MÁXIMO DE CONCENTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS.**

**3º.DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN DISOLVENTE DE EXTRACCIÓN-MATERIA PRIMA MÁS ADECUADA.**

## **VI. RESULTADOS**

### **6.1 Capacidad Larvicida de las Semillas**

Los extractos etanólicos o hidroalcohólicos de las semillas de la planta huaca mostraron el efecto insecticida más potente, provocando una reducción considerable de la emergencia de adultos durante el desarrollo de los bioensayos. Este resultado fue claramente establecido, ya que al aplicar el extracto etanólico de las semillas enfrentándolo dentro de las placas Petri con las larvas de mosca común, al igual que el testigo (Etanol 96°); se pudo constatar el avanzado grado de mortalidad que causaba el extracto a diferencia del control (Etanol 96°). Además este resultado se pudo verificar estadísticamente. En términos visuales también es muy evidente y se puede verificar con la simple comparación de las fotos presentes en la Figura 3, que muestra unos de los resultados que se presentaron en forma continua a lo largo de todas las placas Petri utilizadas repetitivamente para establecer la reproducibilidad estadística (Ver Figura 3).



**Figura 3. Resultados de la Capacidad Larvicida al enfrentar el Extracto de Semillas y el Control (Etanol 96°) vs. las Larvas de Mosca Común**



El análisis de la Figura 3 evidencia claramente que el Extracto Etanólico de las Semillas produjo una drástica disminución en la metamorfosis de las larvas de tercer estadio de la moca común, evitando consecuentemente la emergencia de adultos (Ver Foto a la derecha de la Figura 3); a diferencia de los ocurrido al enfrentar el control (Etanol 96°) con las larvas (Ver Foto a la izquierda de la Figura 3), confirmándose de esta forma la capacidad larvicida que poseen los extractos de semillas, o sea el órgano de la semilla de *Clibadium peruvianum*.

## **6.2 Composición Química**

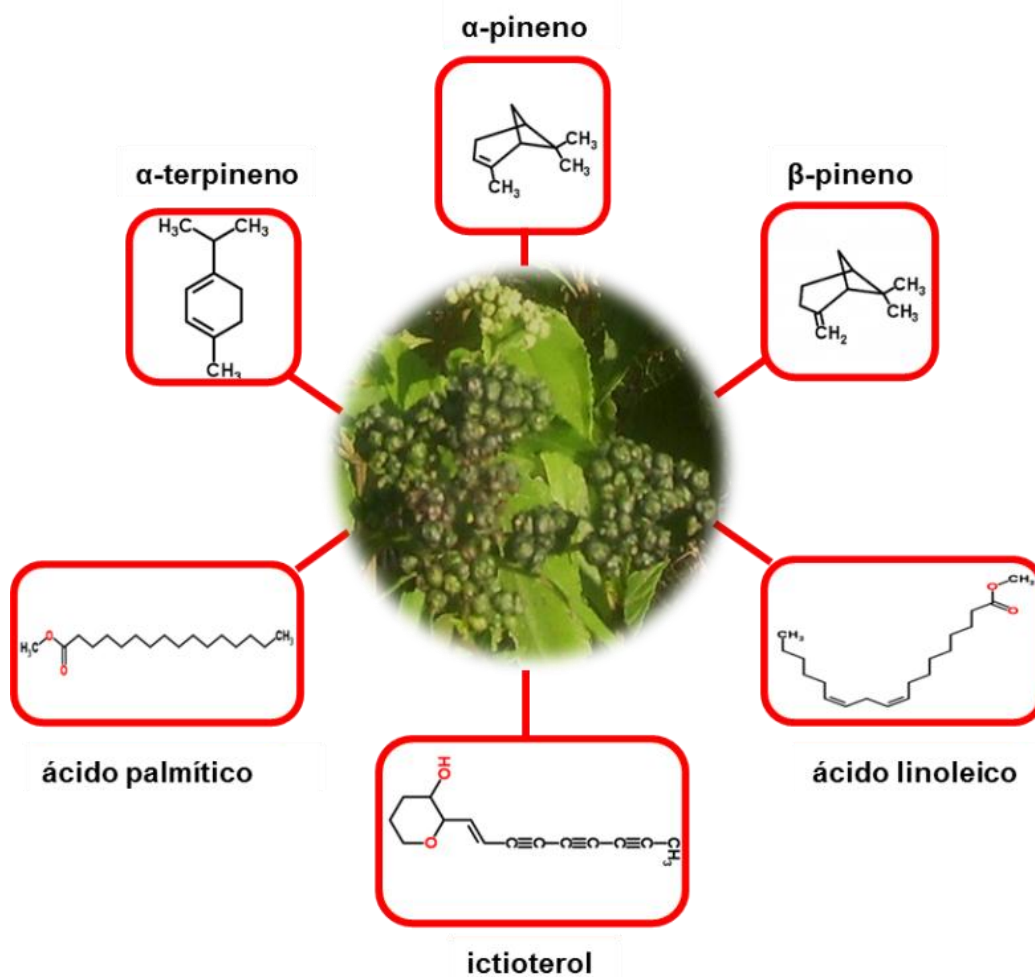
La causa de tan marcada e intensa actividad **Insecticida** en términos generales y el extracto de la planta de ciertos metabolitos secundarios, motivo de infinidad de patentes en diversas partes del mundo. Sin embargo, esta es una planta nueva, nunca antes estudiada con este grado de profundidad por lo que se debe ser muy cauto y conservadores hasta tener resultados químicos concretos.

Por tal motivo, se empleo la técnica más potente que existe en la actualidad para la elucidación estructural de mezclas complejas; o sea la Cromatografía de Gases Acoplado a Espectrometría de Masas (CG-EM).

Teniendo en cuenta la literatura internacional los componentes activos de sonde naturaleza Lipofílica, razón por la cual todos los estudios requieren de extracciones con disolvente apolar, que generalmente resulta ser el hexano.

En este sentido, y teniendo en cuenta los antecedentes se realizó la extracción líquido-líquido con hexano, se secó debidamente en contacto con sulfato de sodio anhidro a bajas temperaturas y se sometió al estudio mediante CG-EM, identificándose con total exactitud una rica composición química de metabolitos secundarios, cuyas estructuras químicas han sido identificadas en otras plantas de diversas latitudes del mundo (Ver Figura 4).

**Figura 4. Metabolitos secundarios identificados en el extracto hexánico obtenido a partir del Extracto Activo de semillas del *Clibadium peruvianum*.**



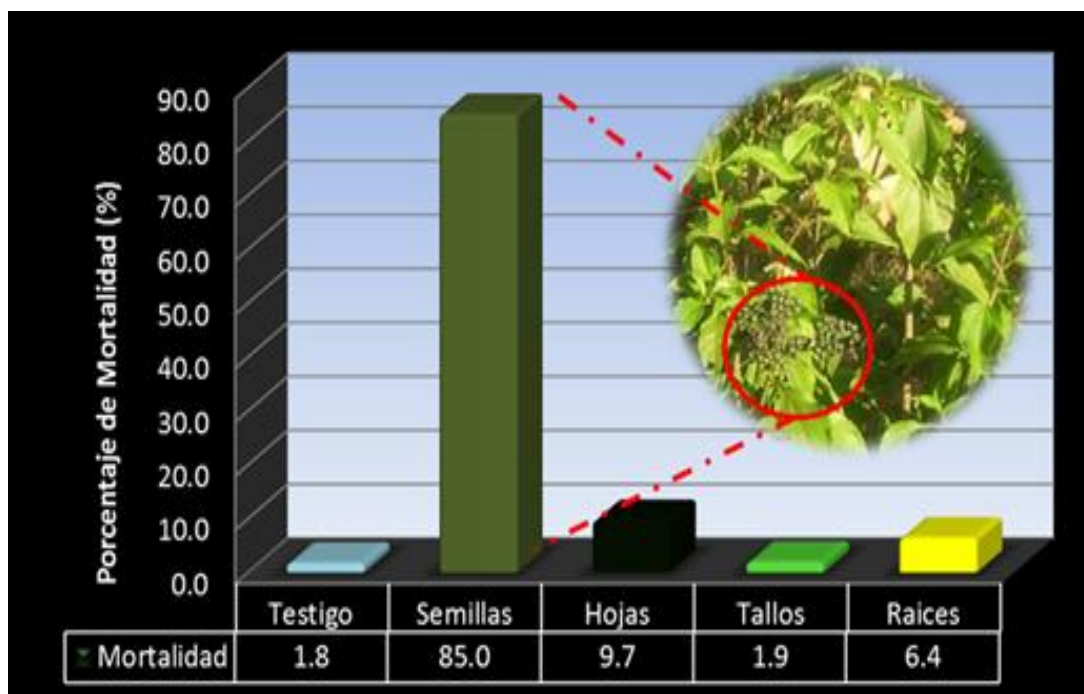
Los metabolitos secundarios son moléculas de bajo peso moléculas, conocidos como **monoterpenes**( $\alpha$ -terpineno,  $\alpha$ -pineno y  $\beta$ -pineno), **constituyentes de los aceites esenciales del reino vegetal**; **ácidos grasos** y sus respectivos **ésteres metílicos**(**ácido palmítico** y **ácido linoleico u omega 6**) y un **poliacetileno** conocido con el nombre de **ictioterol** que le otorga el poder piscicida (insecticida de peces) al *Clibadium peruvianum*; de donde se deriva el uso ancestral de la planta por parte de los nativos en la selva peruana para pescar.

## VII. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

### 7.1 Estudio de los Órganos de *Clibadium peruvianum*

Al analizar la Capacidad Larvicida de cada uno de órganos de la planta huaca se pudo apreciar que el extracto de semillas provocó el mayor porcentaje de mortalidad de larvas con un 92% a comparación de los demás órganos que no sobrepasan ni siquiera el 10%, incluyendo el control, que consistió en etanol de 96° y que solo presentó un porcentaje de mortalidad de 1.8%. La Figura 5 muestra los resultados de dicho estudio y evidencia sin lugar a dudas la mayor efectividad de las semillas respecto al resto de órganos de la planta estudiada.

**Figura 5. Porcentaje de mortalidad de los órganos de la planta huaca.**



## 7.2 Efectividad Insecticida

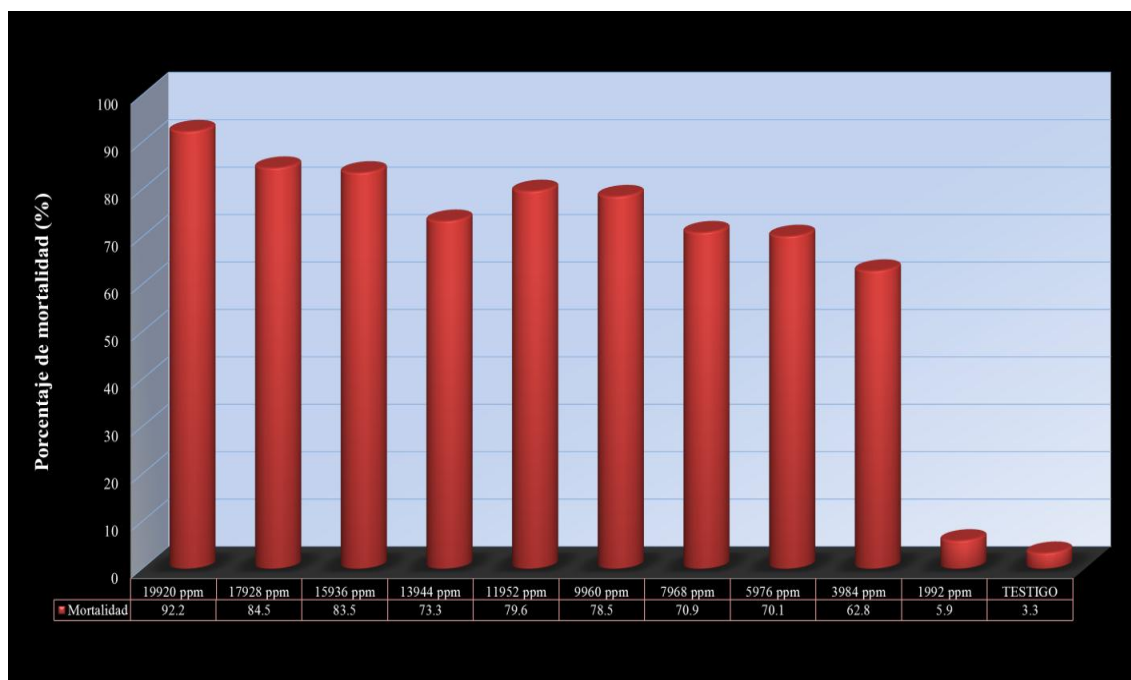
Para determinar la capacidad larvica del extracto etanólico de semillas se aisló y se estudió nuevamente a través de los bioensayos para determinar la concentración más efectiva del extracto puro. En este sentido, el extracto puro se sometió a diluciones sucesivas con etanol 96°, reduciendo la concentración progresivamente en múltiplos del 10 % hasta obtener 10 concentraciones distintas, las cuales fueron comparadas con un control (etanol 96°).

### 7.2.1 Actividad Insecticida vs. Concentración

La **Figura 6** muestra los resultados obtenidos para cada una de las 10 concentraciones preparadas a partir del extracto etanólico puro y comparadas con un testigo (etanol 96°), pudiéndose apreciar que a mayor concentración el porcentaje de mortalidad aumenta; exactamente a una concentración de **19920 ppm** de extracto etanólico de semillas se obtuvo una mortalidad del **92%**.

El efecto Insecticida va disminuyendo en función de la disminución de las concentraciones que presenta el extracto activo; demostrando la existencia de una clara relación **actividad biológica-concentración**, alcanzándose la menor efectividad y mortalidad **inferior al 10 %** para una concentración de **1992 ppm**. El testigo (etanol 96°) mostró una efectividad y mortalidad de larvas despreciable e inferior al 3.5%.

**Figura 6. Eficacia de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de semillas.**

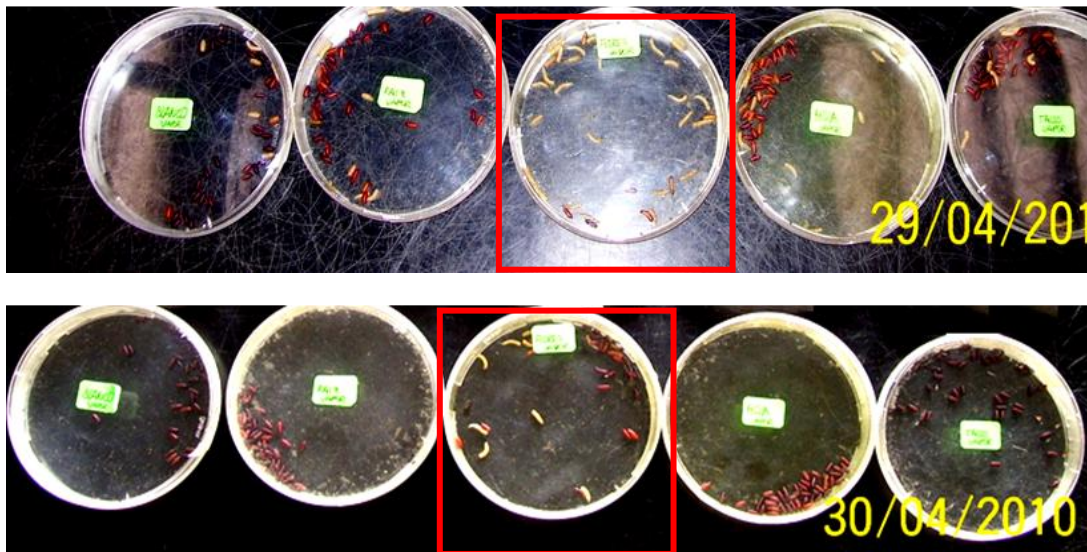


### 7.3 Evidencias Fisiológicas del Efecto Insecticida

#### 7.3.1 Inhibición del Crecimiento Larval

Al realizar la evaluación de los bioensayos con larvas de tercer estadio (Figura 7) se pudo apreciar un proceso de inhibición de crecimiento por parte de las larvas a las que se les habían aplicado los extractos etanólicos de semillas, causando en las mismas un retardo de tiempo de casi 24 horas en pasar a la fase de pupa, este retraso fue el principal causante de las malformaciones de las pupas y de las quemaduras en las larvas. Según Khalaf et al. (2009), Wang Jian et al. (2005), Abou El-Ela et al. (1995) este proceso se debe a una hormona juvenil antioxidante.

**Figura 7. Inhibición de crecimiento al enfrentar las larvas con el extracto de semillas de *Clibadium peruvianum*.**



#### 7.3.2 Tipos de Deformaciones

El efecto Insecticida se evidenció a través de tres tipos de deformaciones causadas por el extracto etanólico de semillas, las que se pueden verificar en la Figura 8: **(a) Pupa normal, (b) pupas deformadas esclerotizadas en forma de C, (c) pupa deformada sin estriaciones transversales y (d) larva con cutícula quemada y secado interno.** Estos resultados coinciden con otros obtenidos por investigaciones realizadas por otros autores como Khalaf et al. (2009).



**Figura 8. Tipos de deformaciones de pupas y larvas de moca común**



#### **7.4 Determinación de la Composición Química**

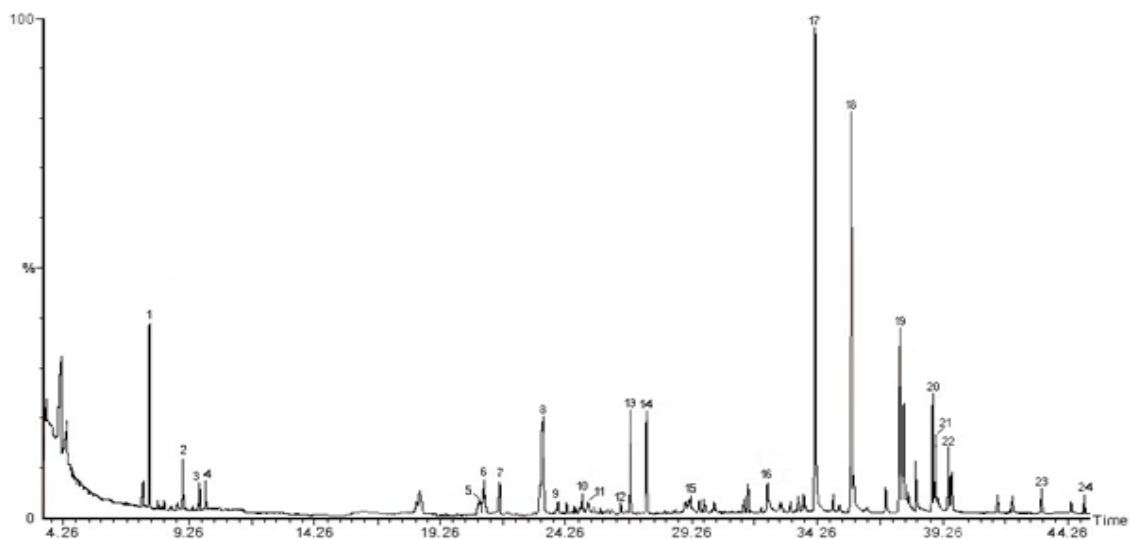
El extracto hexánico obtenido a partir del extracto etanólico de las semillas fue analizado mediante CG-EM con la finalidad de establecer la composición química de metabolitos secundarios responsables de la actividad insecticida.

En este en este sentido, el análisis de los metabolitos secundarios contenidos en el extracto hexánico se llevó a cabo en dos etapas, cuya diferencia principalmente consistió en el empleo de diferentes programas de temperatura o de calentamiento adecuados para la separación e identificación de componentes, para la primera etapa se utilizó un programa cuyas temperaturas son 40°C a 160°C para la separación e identificación de aceites esenciales y la segunda etapa donde se utilizó un programa de temperaturas de 100°C a 250°C para la identificación de componentes con pesos moleculares superiores presentes en la ceras, tales como los ésteres y ácidos grasos.

##### **Etapas 1. Análisis de aceites esenciales**

El perfil cromatográfico de los aceites esenciales presentes en la composición química del extracto hexánico de la Figura 9 revela la existencia de 24 compuestos, principalmente tres monoterpenos (23.23%), seis sesquiterpenos (13.58%), un diterpeno (0.94%), seis ésteres alifáticos (43.65%), siete hidrocarburos alifáticos (7.79%) y un ácido alifático (3.37%). El metil éster del ácido hexadecanoico (19.78%) es el componente mayoritario, seguido del etil éster del ácido hexadecanoico (14.52%) y el  $\alpha$ -farneseno (7.36%) (Ver Tabla 1).

**Figura 9.** Perfil cromatográfico del extracto hexánico correspondiente a la Etapa I



**Table 1.** Componentes identificados en el extracto etanólico de las semillas obtenido a partir de *C. peruvianum* utilizando un programa de temperatura del CG para la separación de Aceites

Pico Nº	Tiempo retención	compuesto	fórmula molecular	mw	area %
1	7.68	$\alpha$ -pineno	$C_{10}H_{16}$	136	4.32
2	8.98	$\beta$ -pineno	$C_{10}H_{16}$	136	1.34
3	9.66	Ácido hexanoico, etil éster	$C_8H_{16}O_2$	144	0.81
4	9.93	$\alpha$ -terpineno	$C_{10}H_{16}$	136	0.78
5	20.83	Copaen-8-ol	$C_{15}H_{24}O$	220	0.36
6	21.00	$\alpha$ -Copaeno	$C_{15}H_{24}$	204	1.54
7	21.65	Tetradecano	$C_{14}H_{30}$	198	0.83
8	23.31	$\alpha$ -farneseno	$C_{15}H_{24}$	204	7.36
9	23.94	Heptadecano, 2,6,10,15-tetrametil	$C_{21}H_{44}$	296	0.43
10	24.93	Cedreno	$C_{15}H_{24}$	204	0.65

11	25.13	Eicosano, 3-metill	$C_{21}H_{44}$	296	0.56
12	26.46	Espatulenol	$C_{15}H_{24}O$	220	0.35
13	26.82	Hexadecano	$C_{16}H_{34}$	226	3.18
14	27.45	$\gamma$ -Cadinol	$C_{15}H_{26}O$	222	3.32
15	29.22	Eicosano	$C_{20}H_{42}$	282	1.25
16	32.27	Fitol	$C_{20}H_{40}O$	296	0.94
17	34.19	Ácido hexadecanoico , metil éster	$C_{17}H_{34}O_2$	270	19.78
18	35.60	Ácido hexadecanoico, etil éster	$C_{18}H_{36}O_2$	284	14.52
19	37.56	Ácido 9,12-octadecadienoico, metil éster	$C_{19}H_{34}O_2$	294	4.57
20	38.85	Ácido 9,12-octadecadienoic, etil éster	$C_{20}H_{36}O_2$	308	3.97
21	38.96	Ácido 9-octadecenoico	$C_{18}H_{34}O_2$	282	3.37
22	39.48	Ácido eicosanoico, etil éster	$C_{22}H_{44}O_2$	340	1.85
23	43.19	Tritetracontano	$C_{43}H_{88}$	605	0.83
24	44.36	Tetratetracontano	$C_{44}H_{90}$	619	0.71

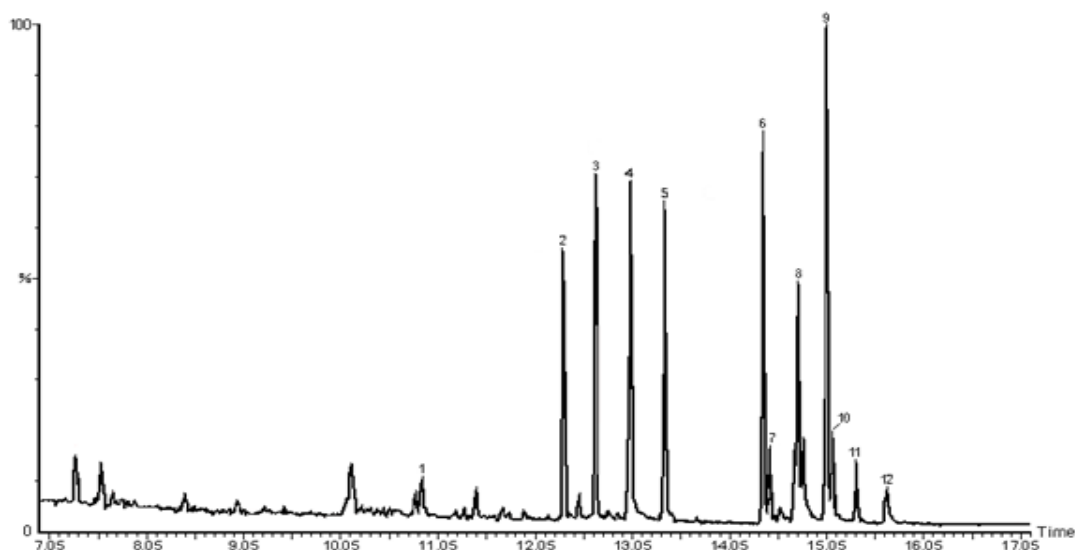
---

## Etapa 2. Análisis de Ceras

La segunda etapa se llevó a cabo para separar e identificar los componentes grasos. Los resultados se muestran en la Figura 10 y en la Tabla 2 que se corresponde con el perfil cromatográfico de la separación de los diferentes componentes presentes en la fracción de ceras vegetales y los resultados del análisis mediante CG-EM, el cual permitió identificar 20 metabolitos secundarios: seis ésteres alifáticos (54.63%), tres ácidos alifáticos (26.55%), un hidrocarburo alifático (7.58 %), un aldehído (1.77 %) y un poliacetileno (1.80%).



**Figura 10.** Perfil cromatográfico del extracto hexánico correspondiente a la Etapa II



**Table 2.** Componentes identificados en el extracto etanólico de las semillas obtenido a partir de *C. peruvianum* utilizando un programa de temperatura del CG para la separación de Ceras Vegetales

Pico N°	tiempo retención	compuesto	fórmula molécula	mw	area %
1	10.82	Ácido n-tetradecanoico	$C_{16}H_{32}O_2$	228	1.39
2	12.35	(Z) 7-hexadecene	$C_{16}H_{32}$	224	7.58
3	12.67	Ácido Hexadecanoico, metil éster	$C_{17}H_{34}O_2$	270	9.97
4	13.03	Ácido n-hexadecanoico	$C_{16}H_{32}O_2$	256	12.51
5	13.381	Ácido Hexadecanoic, etil éster	$C_{18}H_{36}O_2$	284	10.06
6	14.40	Ácido 9,12- octadecadienoico, metil	$C_{19}H_{34}O_2$	294	13.35
7	14.46	Ácido (Z)-6-octadecenoico, metil	$C_{19}H_{36}O_2$	296	1.90
8	14.75	Ácido 9,12- octadecadienoico	$C_{18}H_{32}O_2$	280	12.65
9	15.05	Ácido 9,12-octadecadienoico,etil éster	$C_{20}H_{36}O_2$	308	17.48

10	15.11	(Z)-9-octadecenal,	$C_{18}H_{34}O$	266	1.77
11	15.36	Ácido eicosanoico. etil éster	$C_{22}H_{44}O_2$	340	1.87
12	15.67	Ictioterol	$C_{14}H_{14}O_2$	214	1.80

---

#### 7.4.1 Composición Química vs. Actividad Insecticida

Teniendo en cuenta los componentes identificados en la fracción de aceites esenciales de la Etapa I, sí como la literatura especializada; los monoterpenos:  $\alpha$ -pineno (4.32%),  $\beta$ -pinene (1.34%) and  $\alpha$ -terpinene (0.78%) han sido ampliamente identificados como metabolitos secundarios responsables de la actividad insecticida, así como el éster metílico del ácido hexadecanoico (19.78%) y el éster metílico del ácido 9,12-octadecadienoico (4.57%) (Urzúa A. et al., 2010a; Urzúa A. et al., 2010b; Koul O. et al., 2008; Palacios M. S. et al., 2009).

Por otra parte, la presencia abundante de ácidos grasos determinado en la Etapa II, tales como: Ácido hexadecanoico, metil éster (9.97 %) y el Ácido 9,12-octadecadienoico, metil éster (13.35 %), son responsables en parte de la actividad insecticida del extracto de semillas de la planta *Clibadium peruvianum* (Kumar S.V. et al., 2011; Kannathasan K. et al., 2008; Satyan R. et al., 2009; Falodun, A. et al., 2009; Sathish Kumar, M. y Maneemegalai, S, 2009).

## VIII. CONCLUSIONES

- Las semillas es el órgano de la planta *Clibadium peruvianum* con mayor actividad insecticida.
- Las semillas de *Clibadium peruvianum* contienen los componentes activos o metabolitos secundarios causantes de la actividad insecticida.
- La concentración más óptima del extracto hidroalcohólico es de 3984 ppm con una porcentaje de mortalidad de 70 % ya que el objetivo principal es controlar la población de larvas de mosca común y no erradicarlas ya que esta especie también cumple una función en la naturaleza.

- Los extractos de las semillas de *Clibadium peruvianum* poseen una demostrada actividad insecticida capaz de controlar e inhibir las larvas de la *Musca domestica*.
- La presencia de monoterpenos, ésteres metílicos del ácido palmítico, oleico y linoleico con demostrada actividad insecticida y larvicida; constituyen los causantes de la actividad insecticida y sugiere un posible efecto sinérgico.
- El desarrollo de este estudio constituye la antesala de la industrialización de un insecticida natural a partir de la planta peruana *Clibadium peruvianum*.

## **IX. POSIBILIDADES DE APLICACIÓN: UNA PROPUESTA TECNOLÓGICA SOBRE BASES CIENTÍFICAS**

Los resultados y experiencia acumulada durante el desarrollo de los estudios biológicos y químicos ha permitido acceder al know-how para poder industrializar los extractos hidroalcohólicos a partir de las semillas de *Clibadium peruvianum*.

En este sentido, se deben tener en cuenta las siguientes características de la planta:

- Es un subarbusto perenne que una vez que alcanza la madurez produce semillas durante todo el año.
- Perfectamente adaptada a las zonas tropicales, cejas de selva; se caracteriza por crecer en climas cálido húmedos o tropical sub húmedo.
- Se desarrolla en zonas con temperaturas de 18 °C a 30 °C.
- Se reproduce con facilidad a una altura que puede oscilar desde 100 hasta 1500 m.s.n.m.

Teniendo en cuenta estas características, así como el hecho que solo se va a disponer de las semillas para desarrollar la producción de los extractos con actividad biológica; se puede considerar un proceso de producción que no depreda, sostenible y ecológico

Las etapas de trabajo desarrolladas a escala de laboratorio podrían llevarse a la escala industrial para lo cual se tendrían que implementar un total de XIII etapas de trabajo o procesos unitarios.

### **9.1 Procesos unitarios de industrialización**

El proceso de industrialización de los extractos sin duda alguna comienzan en el campo, por lo que se debe disponer de 0.5 ha de planta cultivada y en proceso de producción de semilla como mínimo. Una vez garantizada la disponibilidad de

cantidades suficientes del material vegetal se puede desarrollar todo el proceso de industrialización, el cual consta de las siguientes etapas o procesos unitarios:

<b>Nº</b>	<b>ETAPA O PROCESO UNITARIO</b>	<b>FUNCIÓN</b>	<b>MANO DE OBRA REQUERIDA</b>
<b>I</b>	<b>Recolección de semillas</b>	Disponer de materia prima con un manejo y selección adecuado	Para el cultivo y recolección de 0.5 a 1 ha se requiere un mínimo de <b>4 personas.</b>
<b>II</b>	<b>Traslado</b>	Suministro a la planta de producción en costalillos y alejados de la luz.	<b>2 personas</b>
<b>III</b>	<b>Almacenamiento</b>	La planta posee almacenes externos donde se almacena la materia prima teniendo clasificados en lotes de acuerdo a la época del año.	<b>2 personas</b>
<b>IV</b>	<b>Selección</b>	Constituye la primera etapa a nivel de planta de producción. En la Sala de Selección se elige el material de mayor calidad para continuar el proceso de producción	<b>2 personas</b>
<b>V</b>	<b>Secado</b>	Sala de Secado con hornos de secado capaces de trabajar a una temperatura de 38 °C a 40 °C para reducir hasta un mínimo del 3 % la humedad de las semillas.	<b>1 persona</b>
<b>VI</b>	<b>Molienda</b>	Sala de Molienda donde se realiza el pulverizado y tamizado a la salida del molino de cuchillas	<b>2 personas</b>
<b>VII</b>	<b>Extracción</b>	Sala de Filtración que dispone de tanques de extracción de acero inoxidable con agitación y temperatura controlada. La capacidad mínima de 1000 L	<b>1 persona</b>
<b>VIII</b>	<b>Filtrado</b>	Los extractos obtenidos durante la maceración son separados del material	<b>1 persona</b>

		vegetal y se pasa a la sala de filtración previo enfriamiento durante un mínimo de 30 min y se somete a filtración. Los Filtros industriales podrían ser a presión reducida o atmosférica.	
<b>IX</b>	<b>Control de Calidad</b>	Laboratorio para determinar concentración y actividad biológica de los extractos que permita la estandarización.	<b>2 personas</b>
<b>X</b>	<b>Estandarización</b>	Sala de estandarización para producir en todo momento un producto homogéneo en todas sus características.	<b>1 personas</b>
<b>XI</b>	<b>Envasado-Etiquetado</b>	Línea de envasado y etiquetado del producto líquido o en otra forma de presentación.	<b>2 personas</b>
<b>XII</b>	<b>Almacenamiento</b>	Almacenado en condiciones óptimas de temperatura, humedad y luz.	<b>2 personas</b>
<b>XIII</b>	<b>Distribución-Ventas</b>	Distribución de los productos terminados para su venta	<b>3 personas</b>

## **VENTAJAS**

- ✓ **Mano de Obra:** El proceso de industrialización le da trabajo a un mínimo de trece personas entre profesionales y obreros.
- ✓ **Producto:** Insecticida atóxico, biodegradable, no genera resistencia y de origen peruano.
- ✓ **Posibilidades:** Excelentes, en estos momentos los insecticidas de síntesis como la ciromazina están generando resistencia y muchas pérdidas. Es una oportunidad para los biocidas e insecticidas naturales.

El proceso de producción en general se puede ver en el ANEXO N° 1, donde solamente se han colocado algunos equipos para representar los procesos requeridos por una pequeña planta de producción de extractos con actividad insecticida a partir de las semillas de la planta *Clibadium peruvianum*.

## X. REFERENCIAS

**Abou El Ela, R. G.; Helmy, N. M.; El-Monairy, O. M. and Salab, H.** Biological activity of an extract from *Hyoscyamus muticus* on *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). Bull. Ent. Soc. Egypt. Econ. Ser. 1995, 22: 27-35.

**Falodun, A.; Siraj, R.; Iqbal Choudhary, M.** GC-MS Analysis of Insecticidal Leaf Essential Oil of *Pyrenacantha Staudtii* Hutch and Dalz (Icacinaceae). Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2009, 8(2), 139-143.

**Kannathasan, K.; Senthilkumar, A.; Venkatesalu, V.; Chandrasekaran, M.** Larvicidal activity of fatty acid methyl ester of *Vitex* species against *Culex quinquefasciatus*. Parasitol Res. 2008, 103, 999-1001.

**Khalaf, A. A.; Hussein, K. T.; Shoukry, K. K.** Biocidal Activity of two botanical volatile oils against the larvae of *Synthesiomyia nudiseta* (Wulp) (Diptera: Muscidae). Egypt. Acad. J. biolog. Sci. 2009, 2(1), 89 – 101.

**Koul, O.; Walia, S.; Dhaliwal, G.S.** Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. Biopestic. Int. 2008, 4(1), 63–84.

**Kumar, S.V.; Kumar, A.R.; Mani, P.; Bastin, J.; Ravikumar, G.** Larvicidal. Oviposition deterrent and repellent properties of *Vitex negundo* L extracts against *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*. J. Pharm. Research. 2011, 4(7), 2060-2063.

**Palacios, M.S.; Bertoni, A.; Rossi, Y.; Santander, R.; Urzúa, A.** Efficacy of Essential Oils from Edible Plants as Insecticides Against the House Fly, *Musca domestica* L. Molecules. 2009, 14, 1938-1947.

**Sathish Kumar, M.; Maneemegalai, S.** Evaluation of larvicidal effect of *Lantana camara* Linn against mosquito species *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. Advances in Biological Research. 2008, 2(3-4), 39-43.

**Satyan, R.; Malarvannan, S.; Eganathan, P.; Rajalakshmi, S.; Parida, A.** Growth Inhibitory Activity of Fatty Acid Methyl Esters in the Whole Seed Oil of Madagascar Periwinkle (*Apocyanaceae*) Against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) Journal of Economic Entomology. 2009, 102(3), 1197-1202.

**Urzúa, A.; Santander, R.; Echeverria, J.; Cabezas, N.; Palacios, S.M.; Rossi Y.** Insecticide Properties of the Essential Oils from *Haplopappus foliosus* and *Bahia ambrosoides* Against the House Fly, *Musca domestica* L. Journal of the Chilean Chemical Society. 2010a, 55(3), 392-395.

**Urzúa, A.; Santander, R.; Echeverría, J.; Villalobos, C.; Palacios, S.M.; Rossi Y.** Insecticidal Properties of Peumus boldus Mol. Essential Oil on the House fly, *Musca domestica* L. Boletín latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2010b, 9(6), 465-469.

**Wang-Jian, L.; Chaoliang, L.** The repellency and fumigant activity of *Artemisia vulgaris* essential oil to *Musca Domestica* Vicina. Chinese. Bull. Entomol. 2005, 42(1), 51-53.