

OBTENCIÓN DE PLAGUICIDAS NATURALES A PARTIR DE SEMILLAS DE CHIRIMOYA (*Annona cherimolia* Mill.) Y GUANÁBANA (*Annona muricata* L.)

M. Bravo A.¹, D. Rivera C.², N. Ale B.³, J. Huamán M.⁴, P. Muñoz H.⁵,
D. Delmás R.⁶, M. Rodríguez B.⁷

RESUMEN

Se analizan semillas de chirimoya y guanábana, procedentes de Cumbe y Callahuanca - Yauyos, Lima. La extracción de tóxicos naturales se realizó usando etanol por ser el solvente más óptimo; después de diversas pruebas, los análisis fitoquímicos indican presencia de saponinas, quinonas, cumarinas y aceites esenciales, mayoritariamente aceite de ricino, el que fue confirmado por FTIR. Los resultados del análisis cualitativo indican presencia de PO_4^{3-} y AsO_4^{3-} entre otros. Así mismo, las pruebas toxicológicas de los extractos aplicados en larvas y moscas de la fruta dan mortandad de 88% a 94% en chirimoya y guanábana, respectivamente.

Palabras clave: Plaguicida natural, saponinas, aceites esenciales, cumarinas, efecto citotóxico, almendra.

NATURAL PESTICIDES FROM SEEDS OF CHIRIMOYA (*Annona cherimolia* Mill.) AND GUANABANA (*Annona muricata* L.)

ABSTRACT

Seeds of chirimoya and guanabana from the communities of Cumbe and Callahuanca - Yauyos, Lima were analyzed. The extraction of natural toxic was realized using ethanol as the optimal solvent, after several solvent tests, phytochemicals analysis identified :saponins, coumarins, tannins, quinones and essential oils, mostly castor oil which was confirmed by FTIR spectra. Qualitative analysis results identified: PO_4^{3-} , AsO_4^{3-} and others. Toxicological tests extracts applied on larvae and fruit flies finding levels of mortality as 88% to 94% on chirimoyas and guanabanas respectively.

Keywords: Natural pesticide, saponins, essential oils, coumarins, cytotoxic effect, almond.

1. INTRODUCCIÓN

Plaguicidas son sustancias que controlan o matan plagas, es decir son venenos^[1], pero que tienen un fin especial: proteger a los seres humanos y a sus cosechas de otros organismos. En la naturaleza no existen plagas,

las plagas son organismos percibidos por los seres humanos porque interfieren con sus actividades. Esta interferencia puede verse directamente relacionada con la salud, con la producción y protección de alimentos, o atentar contra nuestro bienestar^[2]. Entonces las plagas son los insectos, nematodos, hon-

1 Departamento Académico de Química Analítica, FQIQ, UNMSM, mbravo@hotmial.com
2 Departamento Académico de Química Analítica, FQIQ, UNMSM, dolores.riveracastilla@gmail.com
3 Departamento Académico de Química Analítica, FQIQ, UNMSM, nalebunmsm@yahoo.es
4 Departamento de Química Orgánica, FQIQ, UNMSM, juanamaría.huamanmalla@gmail.com
5 Departamento Académico de Físicoquímica, FQIQ, UNMSM, pemunozh@hotmail.com
6 Departamento Académico de Química Analítica, FQIQ, UNMSM, dinesunmsm@gmail.com
7 Departamento Académico de Química Analítica, FQIQ, UNMSM, angelrodbest@yahoo.com

gos, maleza, etc. Los plaguicidas sintéticos son permitidos y aceptados en todas las sociedades, y la recomendación científico-técnica es que se haga un balance del costo-beneficio de su uso, dado que estos tienen un alto nivel de toxicidad, muchos de ellos un alto poder residual y son acumulativos en las cadenas tróficas.

Los plaguicidas naturales surgen tratando de encontrar una alternativa para el control de plagas y reemplazar a los plaguicidas sintéticos, dado que muchas plantas son capaces de sintetizar metabolitos secundarios que poseen propiedades tóxicas contra las plagas que se quiere combatir; es decir se utiliza la naturaleza para combatir la naturaleza^[3], teniendo la ventaja de tener un poder residual nulo, una persistencia muy corta y una toxicidad adecuada^[1]. En el Perú, encontramos a la familia de las anonáceas, siendo los géneros más comunes la *Annona muricata* L. (Guanábana), *Annona cherimolia* Mill. (chirimoya), las que se caracterizan por presentar sustancias bioactivas de diversa naturaleza química en las hojas, raíz, corteza y semillas, en estas últimas es posible identificar terpenos, alcaloides, flavonoides, acetogeninas y aceites esenciales, entre otros, los que en su conjunto están asociados a efectos plaguicidas^[4,5].

En el marco de la producción más limpia y del desarrollo sostenible, en el presente trabajo se extraen los metabolitos de las semillas de la guanábana y chirimoya, para ser aplicados al control de insectos como es el caso de la mosca de la fruta.

2. PARTE EXPERIMENTAL

Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Materiales y reactivos

Muestra

Las muestras fueron recolectadas en las zonas de mayor producción: Cumbe y Callahuanca, en la provincia de Yauyos, departamento de Lima, a 1800 msnm.

Reactivos

Etanol anhidro (JT Baker); ácido clorhídrico q.p., ácido nítrico q.p., ácido sulfúrico q.p., hidróxido de sodio e hidróxido de amonio (Merck), tiocianato de amonio, molibdato de amonio, ferrocianuro de potasio, magnesón I, oxalato de amonio, yoduro de potasio, cloroformo, ácido perclórico, ácido acético, anhídrido acético, cloruro férrico, limaduras de hierro, gelatina, acetato de plomo, hidróxido de potasio, éter etílico.

Se utilizó agua ultra pura y agua desionizada para la realización de todos los análisis.

Equipos

Balanza Analítica (Sartorius), Agitador magnético (Schott), Estufa (Precision Scientific Co, Modelo 15 USA y Precision Scientific Co, Telma), Mufla (Alerta Técnica Import), Lámpara UV (253 - 365 nm), Refractómetro (Tipo ABBE Lan Optics 315 Digital), Espectrofotómetro Infra rojo Impact 410 (Nicolet), Refrigeradora (Coldex).

Métodos de análisis

Se trató 50 g de semillas secas y molidas de los frutos de la chirimoya y guanábana, se procedió a macerar con agua destilada, etanol - agua y etanol y los resultados sirvieron para determinar el extractante óptimo (Tabla 1).

Se trató 50 g de semillas secas y molidas de los frutos de la chirimoya y guanábana,

se procedió a la extracción por reflujo empleando como solvente etanol. Se midió el pH (Tabla 2 y 4).

El diagrama de flujo; muestra el tratamiento seguido para los diferentes ensayos.

Para la determinación del análisis cualitativo de minerales^[10].

Las semillas de chirimoya y guanábana se carbonizaron, luego se llevaron a la mufla por 4 horas a T = 450 °C. Las cenizas obtenidas se disolvieron en medio ácido.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 5.

Para los análisis fitoquímicos se usó el Método Cann-Bohman modificado utilizando muestras secadas a 30 °C, identificándose cualitativamente: saponinas, taninos, quinonas, cumarinas y aceites esenciales^[6-9].

Los ensayos toxicológicos se hicieron sobre larvas del 2.º y 3.º estadio y posteriormente sobre moscas adultas, en todos los casos las pruebas se hicieron por duplicado, usando siempre muestras testigo.

RESULTADOS

Tabla 1. Selección del extractante óptimo por maceración

	Agua temperatura ambiente	Agua a 100 °C	Etanol a temperatura ambiente	Etanol a 50 °C
Semillas chirimoya	x	xx	xx	0
Semillas guanábana	x	xx	xx	0
Almendra - chirimoya	x	xx	xx	00
Almendra - guanábana	x	xx	xx	00

Leyenda: x: Ausencia de metabolitos, xx: Ligera presencia de metabolitos, 0: Presencia marcada de metabolitos, 00: Presencia óptima de metabolitos.

Tabla 2. Parámetros de extracción por reflujo

Muestra	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	pH
Semillas de chirimoya	70 - 78	10	5,0
Semillas de guanábana	70 - 78	10	5,0

Tabla 3. Resultados de metabolitos secundarios en las semillas de guanábana y chirimoya

Metabolitos secundarios / muestras	Guanábana	Chirimoya
Saponinas	x	xxx
Aceites esenciales	xxx	xxx
Flavonoides	-	-
Taninos	x	xx
Cumarinas	xx	xxx
Quinonas	x	xx
Alcaloides	-	-

Leyenda: xxx: Muy positivo, xx: Positivo, x: Poco positivo, -: Negativo
Se utilizó el método Cann-Bohman modificado.

Tabla 4. Resultados de los Análisis físico-químicos en extractos etanólicos

Extractos	Solvente	T °C	Índice de refracción (η)	ρ (g/cm ³)	% Sólidos insolubles	% Sólidos totales
Chirimoya (semilla molida)	Etanol	22,0	1,3670	0,8007	2,87	11,97
Guanábana (semilla molida)	Etanol	22,0	1,3665	0,8010	2,76	12,12
Referencia	Etanol	22,0	1,3635	0,7888		

Tabla 5. Análisis cualitativos - inorgánicos

Iones	Chirimoya (semilla)	Guanábana (semilla)
PO ₄ ³⁻	xxx	xxx
Ca ²⁺	xx	x
Mg ²⁺	----	x
Zn ²⁺	x	xx
AsO ₄ ³⁻	xxx	----
Mn ²⁺	----	Tz
K ⁺	Tz	----
S ²⁻	x	----
SiO ₂	x	----

Leyenda: xxx: Regular, xx: Poco, x: Muy poco, Tz: Trazas
 * Método desarrollado DQA - FQIQ-UNMSM.

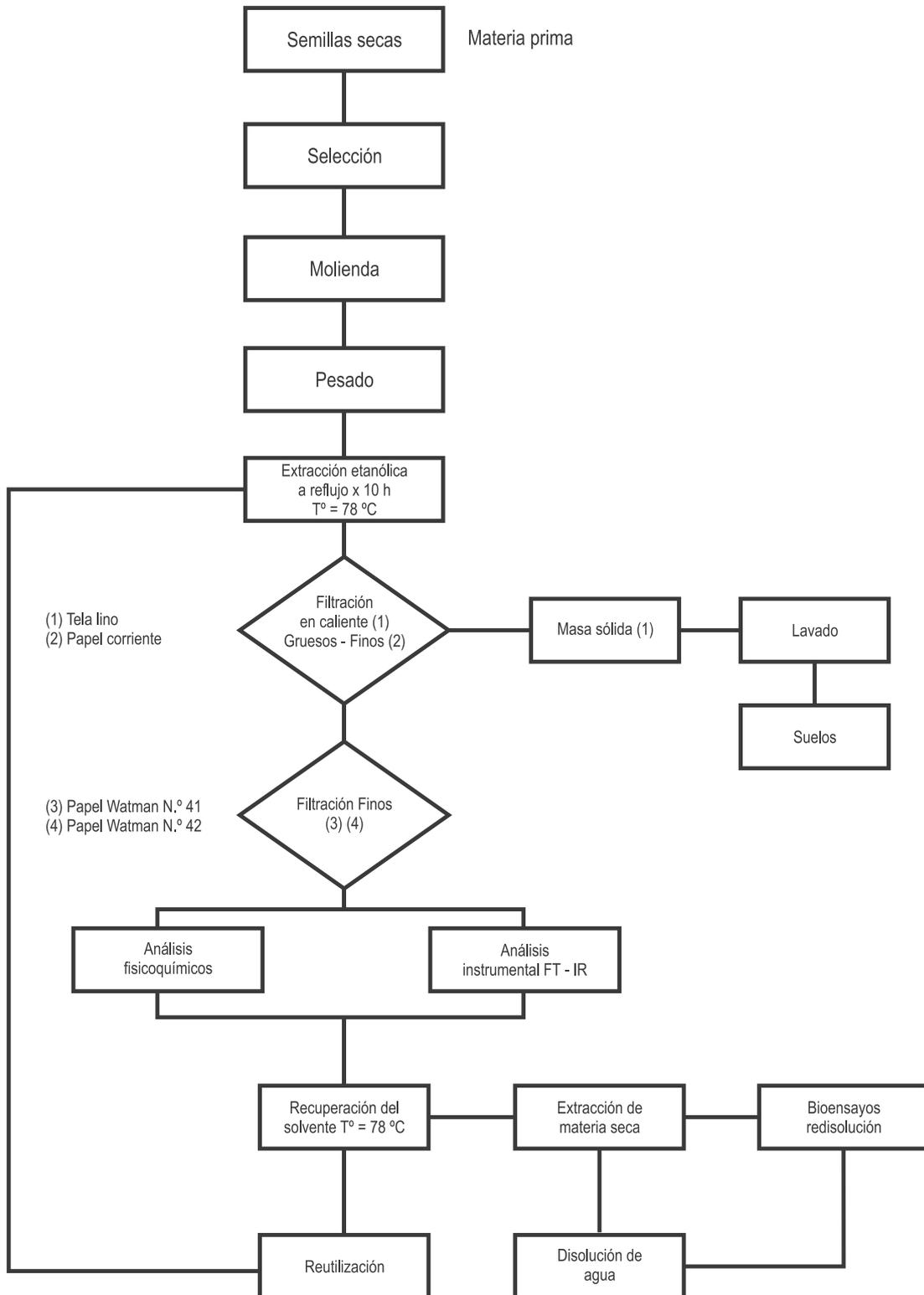
Tabla 6. Ensayos toxicológicos en larvas.

Extractos	Chirimoya		Guanábana		Testigo	
N.º larvas iniciales -	50	100%	50	100%	50	100%
N.º larvas muertas - 24 h	7	14%	8	16%	1	2%
N.º larvas muertas - 48 h	22	44%	25	50%	10	10%
Totales muertas - 48 h	29	58%	33	66%	11	12%

Tabla 7. Ensayos toxicológicos sobre moscas adultas

Extractos	Chirimoya		Guanábana		Testigo	
N.º moscas vivas iniciales	50	100%	50	100%	50	100%
N.º moscas muertas - 24 h	22	44%	32	64%	0	0%
N.º moscas muertas - 48 h	20	40%	10	20%	0	0%
N.º moscas muertas - 72 h	2	4%	5	10%	1	2%
Total moscas muertas	44	88%	47	94%	1	2%

Diagrama de flujo de procesos de extracción de plaguicidas naturales



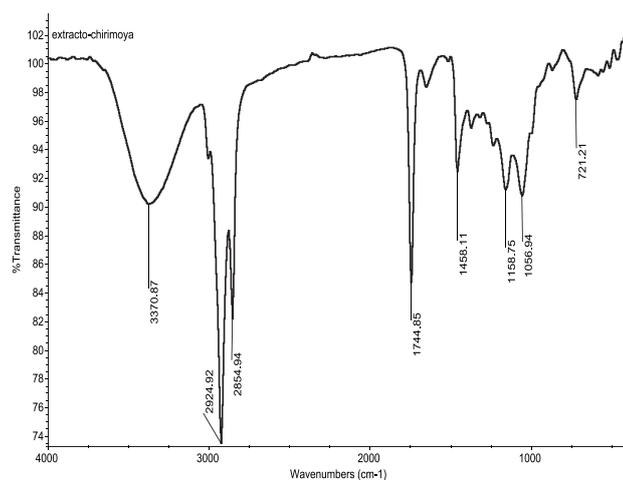


Figura 1. Espectro FTIR en extracto de chirimoya.

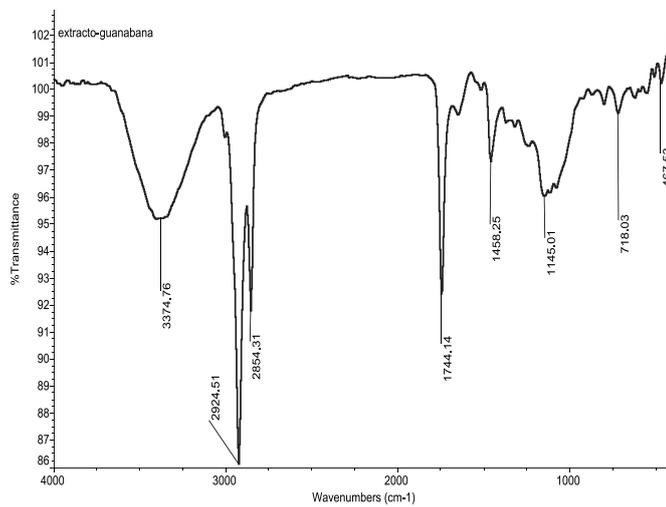


Figura 2. Espectro FTIR en extracto de guanábana.

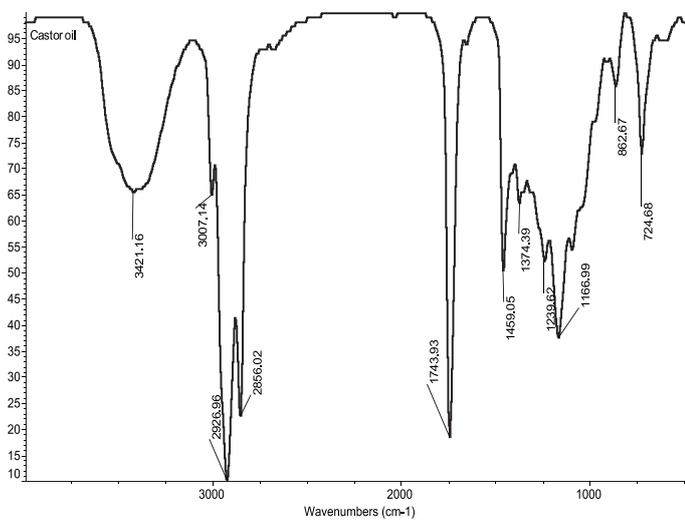


Figura 3. Espectro referencial FTIR de aceite de ricino.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos por maceración, indicaron que el mejor extractante es etanol a partir de los 50 °C, como se puede ver en la Tabla 1.

Para acelerar la extracción se trabajó por el método de extracción por reflujo, manteniendo el pH, temperatura y tiempo constante de acuerdo a Tabla 2. Los índices de refracción y la densidad (ver Tabla 4) son los parámetros fisicoquímicos que definen la presencia de sustancias extraídas.

Los resultados fitoquímicos muestran que la chirimoya tiene una mayor presencia de saponinas, cumarinas y aceites esenciales; así como la presencia de arseniatos, en tanto que la guanábana presenta un alto nivel de aceites esenciales y no tiene arseniatos (Tablas 3 y 5). Estos resultados podrían a priori hacernos pensar que los extractos de chirimoya tienen un mayor poder tóxico, sin embargo, los porcentajes de sólidos insolubles y sólidos totales (ácidos grasos) (Tabla 4) son mayores para los extractos de guanábana. Por otro lado, los resultados obtenidos en los estudios de toxicidad sobre larvas (Tabla 6), muestran que la guanábana tiene un mayor poder tóxico al cabo de 48 h; alcanzando valores de 66% frente a 58% de la chirimoya; de manera similar la toxicidad sobre moscas adultas es mayor en la guanábana (Tabla 7). La guanábana tiene aceites esenciales, y menor porcentaje de saponinas y cumarinas y alcanza valores de toxicidad de 94%, frente al 88% que presentan las semillas de chirimoya al cabo de 24 h. Ello es un indicativo que el agente plaguicida mayoritariamente se centra principalmente en los aceites esenciales, que para ambas semillas coinciden con el aceite de ricino, considerado como un tóxico que en pequeñas cantidades actúa como purgante en seres humanos.

Los residuos de las semillas, después de la extracción contienen los iones señalados en la Tabla 5, los mismos que si retornan a la

tierra de cultivo aportarán micronutrientes importantes, además de materia orgánica cumpliendo así los ciclos geobioquímicos de la naturaleza.

CONCLUSIONES

Luego de analizar los resultados obtenidos se tiene las siguientes conclusiones:

- Tanto los resultados obtenidos en el análisis fitoquímico como los del análisis instrumental (FTIR) indican que los extractos etanólicos provenientes de las semillas de chirimoya y guanábana presentan propiedades de plaguicidas de baja persistencia y biodegradables, los cuales fueron comprobados por las pruebas toxicológicas.
- Las mediciones de índices de refracción de los extractos han permitido seleccionar como solvente óptimo al etanol anhidro, entre los solventes empleados que fueron agua desionizada y soluciones de etanol en agua.
- Según los resultados de los ensayos toxicológicos sobre moscas adultas, los extractos etanólicos de la semilla de guanábana presentan mayor toxicidad que las semillas de chirimoya, siendo la diferencia de un 6% de mortandad.
- La temperatura adecuada para la extracción con etanol anhidro se encuentra entre 50 y 78 °C
- Finalmente, en base a los resultados del análisis cualitativo de los residuos sólidos, por el contenido de los macronutrientes y micronutrientes, bien estos pueden ser agregados a los suelos para nutrir a las plantas.
- Los plaguicidas, insecticidas naturales, tienen la ventaja de no crear resistencia y por lo tanto resultan más seguros para los agricultores, siendo su única desventaja su volatilidad⁽¹¹⁾.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la ayuda financiera proporcionada por del Consejo Superior de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y el apoyo brindado por el Ministerio de Agricultura a través del Área de Sanidad Vegetal del Senasa, en la realización de este trabajo de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Solomon K. Seminario Internacional de evaluación Ecotoxicológica de productos Fitosanitarios. Coplacan, Lacpa Canadá, pp. 4-8.
- [2] Suterll G., Barnthouse L., Mill T., and Patterson S. Ecological risk assessment. Lewis Publishers. Boca Raton, p. 528, 1993.
- [3] <http://www.plagas y desinfeccion.com/plaguicidas>.
- [4] Boletín LAWEN. ISSN 0717-6783. Ene-Jun 2004; 2 (11): 195-209.
- [5] Rivera M. Efectos de plaguicidas de origen botánico. *Rev. Cubana Plant Med.*, 8 (3), 2003.
- [6] Lock O. Investigación Fitoquímica. Lima. Fondo Editorial PUCP. 1.ª ed., 1988.
- [7] Domínguez X. Métodos de Investigación Fitoquímica. México. Editorial Limusa, 1973.
- [8] Lock, O. *Métodos de Estudios de Productos Naturales*. Lima. Fondo Editorial PUCP, 1994.
- [9] Gibaja, S. *Guía para el análisis de los Compuestos del Carbono*. Lima, Perú. UNMSM, 1977.
- [10] AOAC, 17.ª ed., 2000.
- [11] <http://imagenes de google plantas plaguicidas Perú>
- [12] Silva G., Lagunes A., Rodríguez J., Rodríguez D. Insecticidas vegetales: Una vieja y nueva alternativa para el manejo de plagas. Manejo integrado de plagas y agroecología. V (66) pp. 4-12, 2002.