

Estudio de la extracción del follaje de Barbasco (*Lonchocarpus nicou*) como fuente biocida (en condiciones de la Amazonía en Ecuador)

Study of extraction of Barbasco foliage (Lonchocarpus nicou) as a biocide source

Ing. Deisy Marlene Torres Morocho^I, Dr.C. Uvaldo Orea Igarza^{II}, Dr.C. María Lucía Brito Vallina^{III},
Dr.C. Elena Cordero Machado^{II}

^I Universidad Estatal Amazónica; El Puyo; Ecuador.

^{II} Universidad de Pinar del Río, Facultad Agroforestal, Centro de Estudios Forestales, Departamento de Química,
Pinar del Río, Cuba.

^{III} Instituto Superior Politécnico José A. Echeverría (ISPJAE), Departamento de Matemáticas, CEMAT, La Habana, Cuba.

RESUMEN. En el presente trabajo se hace referencia al estudio realizado en la obtención de un extracto biocida a partir del follaje de *Lonchocarpus nicou*. El estudio fotoquímico revela la presencia de flavonoides, saponinas, coumarinas y otros, en los diversos extractos analizados tanto de raíz como de hoja de barbasco. Se determina que los factores temperatura, tiempo, velocidad de agitación y método de secado influyen significativamente en la obtención de metabolitos secundarios. Se realiza pruebas de toxicidad del producto, a nivel de laboratorio con larvas *Anopheles sp*, valorando el por ciento de mortalidad. Se plantea un procedimiento para su obtención.

Palabras clave. *Lonchocarpus nicou*, barbasco, biocida, rotenoides.

ABSTRACT. This paper is about a study to obtain biocide extract from the leaves of *Lonchocarpus nicou*. The phytochemical study reveals the presence of flavonoids, saponins, coumarins and others in the various extracts analyzed as well as in root barbasco leaf. The determining factors such as temperature, time, agitation speed and drying method significantly influence the production of secondary metabolites. Toxicity testing is done to the product in the laboratory with *Anopheles sp* larvae, assessing the percentage of mortality. A procedure for obtaining the extract from barbasco foliage is suggested.

Keywords: *Lonchocarpus nicou*, barbasco, biocide, rotenoids.

INTRODUCCIÓN

Lannacone y Lamas (2003), manifiestan que “en la agricultura se hace necesario el uso de productos fitosanitarios, aunque la utilización masiva de insecticidas convencionales, y especialmente plaguicidas de amplio espectro, es costosa y trae consecuencias colaterales secundarias, como desarrollo de la resistencia de las plagas, contaminación ambiental, residuos tóxicos en el producto cosechado, aparición de nuevas plagas, eliminación de la entomofauna benéfica e intoxicación del operador” (Mendoza *et al.*, 2007; Pérez, 2006).

La utilización de extractos vegetales para el control de plagas tiene la ventaja de no provocar contaminación, debido a que estas sustancias son degradadas rápidamente en el me-

dio (Lannacone y Lamas, 2003). De esta forma plantas con potencial biocida constituyen un componente importante de control, dentro del contexto de manejo integrado de plagas (Lannacone, 2003).

Aunque las plantas tienen la capacidad de producir y almacenar diferentes cantidades de metabolitos secundarios, las propiedades de estos compuestos pueden variar de acuerdo al entorno del organismo productor” (Mendoza *et al.*, 2007). En Ecuador, las plantas tóxicas han formado parte de los sistemas de subsistencia básicos de las comunidades rurales. De estas se obtienen venenos para pescar, cazar o para matar animales domésticos, o bien, se usan como insecticidas y herbicidas. Las plantas empleadas como venenos para peces se suelen llamar comúnmente “barbasco”. Se reportan 75 registros de plantas

usadas para eliminar insectos y otros artrópodos como pulgas, niguas, cucarachas, garrapatas, chinches y moscas. Las familias Asteraceae, Solanácea y Fabaceae fueron las más mencionadas. El uso de las plantas tóxicas tiene un gran valor cultural ya que es un reflejo de las formas de vida tradicional de los pueblos ecuatoriano. El uso de la raíz de barbasco (*Lonchocarpus nicou*) para combatir agentes patógenos y la captura de peces en la región amazónica es un hecho más que comprobado, no obstante usar las raíces de estas plantas trae consigo una destrucción de la planta completa y se investiga la biomasa de la planta completa con el fin de proponer un aprovechamiento de otras partes de la planta como pueden ser las hojas donde no se han encontrado referencias al respecto.

La obtención de extractos alcohólicos con principios biocidas a partir del follaje de *Lonchocarpus nicou*, se presenta como una alternativa en este trabajo de investigación, en la actualidad según Nascimiento *et al.* (2008), plantea que se puede obtener extractos aprovechando las hojas, ramas, flores, frutos, semillas y corteza de plantas.

MÉTODOS

El follaje de barbasco (*Lonchocarpus nicou*), fue recogidas en la Provincia de Pastaza, Parroquia Teniente Hugo Ortiz (km 14 Vía Puyo-Tena) Ecuador, durante el mes de Febrero de 2009 en plantaciones de aproximadamente tres años de edad. En esta zona se cultivan barbascales asociados a cultivos de yuca, caña, plátanos y naranjilla. “Donde el clima es cálido húmedo, lluvioso y la temperatura varía entre 23 C° y 26 C°”. El proceso de obtención de extractos se realizó en el laboratorio Ecoamazon de la Universidad Estatal Amazónica, localizado en el kilómetro dos y medio vía Puyo -Tena, Provincia de Pastaza, procedente de plantas de (*Lonchocarpus nicou*) que tienen aproximadamente 3 metros de altura. Las hojas cosechadas son recogidas al azar de toda la masa foliar, tomando en cuenta que estén libres de enfermedades y picaduras de insectos. Son depositadas en lonas para su transportación. Para la obtención de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso, de raíz y follaje de barbasco (*Lonchocarpus nicou*) se realizaron extracciones sucesivas con solventes de polaridad creciente con la finalidad de lograr un mayor agotamiento del material vegetal seco. En la identificación de los metabolitos secundarios se emplearon pruebas o técnicas simples, rápidas y selectivas para un determinado compuesto, aplicando a cada extracto ensayos específicos para los metabolitos que de acuerdo a su solubilidad podían haber sido extraídos en cada solvente. Los extractos se obtuvieron por maceración y equipo soxhlet.

Se pesa 10 g de material se sometieron a una extracción continua en equipo Soxhlet durante cuatro horas utilizándose los siguientes disolventes: éter dietílico, etanol y agua (100 mL) en orden creciente de polaridad. Por otra parte, se obtuvieron de forma similar extractos por Maceración durante 48 horas. En todos los casos se procedió al tamizaje fitoquímico que consiste en realizar los principales ensayos cualitativos para detectar la presencia de familias de metabolitos secundarios: Flavonoides, alcaloides, taninos y fenoles, coumarinas y lactonas, quinonas, sesquiterpenos y esteroides, saponinas, antocianidinas, carbohi-

dratos reductores, aminoácidos y aminos libres. Se aplicó esta técnica con modificaciones, basándose en el estudio fitoquímico aplicado a una planta denominada *Cassia alata* L. (Barrese *et al.*, 2005). Los extractos botánicos se obtuvieron del follaje de barbasco (*Lonchocarpus nicou*). Empleando una mezcla de materia fresca (2,5 g) y 25 mL de etanol (70%), según Osorio (2006), para la obtención de extractos botánicos para combatir la Sigatoka negra. Para la extracción del follaje de barbasco (*Lonchocarpus nicou*), se aplicó dos métodos extracción, a temperatura ambiente (21°C) y extracción a (40°C), estas dos formas de extracción fueron sometidas a agitación (200 rpm) durante 60 minutos (Izquierdo S. *et al.*, 2009). Las proporciones de los componentes para la extracción por agitación fue 25 mL de alcohol (70%) y 2,5 gramos de follaje, utilizando un agitador magnético (Izquierdo *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2007). Tanto la extracción a temperatura ambiente, como la extracción con temperatura (40°C), se realizaron cada 12 horas por dos días. Iniciando la primera extracción en la mañana (7a.m.), luego de que la materia prima fue lavada y desinfectada. Las muestras se tomaron por triplicado para someter a la extracción. En esta etapa del proceso se valoró la cantidad de extracción que se logra a medida que transcurre el tiempo de secado del follaje.

$$\text{Extracción} = \frac{A - B}{A} \cdot 100 (\%) \quad (1)$$

donde:

A-masa de la muestra original, g;

B-masa de la muestra seca ya extraída, g.

Durante el proceso de extracción con temperatura, se mantuvo constante la agitación (200 r.p.m.), la temperatura (40°C), el tiempo (1 hora), la muestra de follaje (2.5 g), alcohol 70% (25 mL), para la extracción al ambiente se mantuvo constante todo, excepto la temperatura ya que esta varía en dependencia de la hora del día.

Filtrado: Se colocó el papel filtro cualitativo (12,5 mm) en un embudo, se deposita la mezcla a separar y por gravedad se separa, quedando como resultado el extracto y el residuo.

Preparación del inoculo: Se preparó un inoculo empleando 25 g de follaje en polvo (secado en estufa) en 1 L de alcohol al 70%, agitando de forma constante (200 r.p.m.) durante una hora y manteniendo la mezcla a una temperatura constante de 40°C. El extracto obtenido, se roto evaporó hasta eliminar en su totalidad el alcohol, en los bioensayos se utilizó 1mL del inoculo. La dosis fue probada por triplicado, contra 20 larvas de *Anopheles sp* en condiciones de laboratorio.

Los bioensayos se realizaron en vasos de plástico de 4 cm. de ancho por 8,5 cm de alto. Tres vasos fueron usados para la prueba. A cada vaso se le agregó 150 mL de agua de criadero y con una pipeta se trasladaron lotes de 20 larvas de *Anopheles sp* por vaso. El recuento de la mortalidad larvaria post tratamiento se hizo cada hora, durante las primeras 12 horas y a las 24 horas. Los porcentajes de mortalidad se calcularon con la cifra total de larvas muertas por vaso (Mariños *et al.*, 2004). Las respuestas evaluadas fueron mortalidad (inmovilización de las larvas de tercer estadio de *Anopheles sp*, es decir la ausencia de movimiento coordinado al ser pinchadas con un alfiler).

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Estudio Fitoquímico

En las Tablas 1 y 2 se puede apreciar la alta diversidad de compuestos presentes en el barbasco *Lonchocarpus nicou*.

TABLA 1. Resultados del tamizaje fitoquímico de muestras obtenidas por maceración

Familia de Compuestos	Extracto de Raíz			Extracto de Hojas		
	Etéreo	alcohólico	acuoso	Etéreo	Alcohólico	acuoso
Alcaloides	-	+++	+	-	++	+/-
Coumarinas y lactonas	+	+		+	+	
Saponinas	++	+		+++	+	
Fenoles y/o taninos	++	+		+++	+++	
Carbohidratos reductores	++	-		++	+	
Flavonoides	+	+	+/-	++	+++	+
Aminoácidos libres o aminas	+++	+++		+++	+++	

TABLA 2. Resultados del tamizaje fitoquímico de muestras obtenidas por shoxhlet

Familia de Compuestos	Extracto de Raíz			Extracto de Hojas		
	Etéreo	alcohólico	acuoso	Etéreo	Alcohólico	Acuoso
Alcaloides	-	++	+	-	+++	++
Coumarinas y lactonas	+	+		+	++	
Saponinas	+/-	-		+/-	++	
Fenoles y/o taninos	-	++			+++	+++
Carbohidratos reductores	++	-		++	+	
Flavonoides	++	++	+/-	+/-	+	++
Aminoácidos libres o aminas		-			+	

La interpretación de las cruces o signos negativos en las Tablas 1 y 2 es la siguiente: +++ significa que se obtuvo una respuesta positiva muy abundante de la presencia de ese metabolito en el extracto, ++ significa que se obtuvo una respuesta positiva abundante de la presencia de ese metabolito en los extractos, + significa que se obtuvo una respuesta positiva leve de la presencia de dichos metabolitos, - significa que no hay presencia de ese metabolito en el extracto, +/- significa que se obtuvo una respuesta dudosa en los extractos de la presencia de dichos metabolitos y los espacios en blanco significan que esos ensayos no se realizaron al extracto.

Se detectó la presencia de flavonoides prácticamente en todos los extractos evaluados correspondientes a raíz y hoja de barbasco (*Lonchocarpus nicou*), destacándose el extracto alcohólico de las hojas obtenido por maceración que mostró una fuerte coloración (rojo) correspondiente a la categoría de flavonoides muy abundantes.

Los extractos acuosos de la raíz de barbasco mostraron cambios de coloración (amarillo claro) correspondiente a la categoría de dudosa presencia de flavonoides, mientras que los extractos acuosos de la hoja presentaron cambios de coloración que denotan entre leve y abundante presencia de flavonoides.

Además de los flavonoides, otros compuestos detectados en los extractos de raíz y hoja de barbasco fueron los siguientes: coumarinas y lactonas, alcaloides, saponinas, fenoles y taninos, carbohidratos reductores, aminoácidos y aminas libres, destacándose una mayor intensidad en la coloración en los ensayos correspondientes a coumarinas y lactonas, saponinas, fenoles y taninos de la hoja respecto a la raíz. Las antocianinas

sólo fueron detectadas en la hoja de esta especie. Del mismo modo en estudios fitoquímicos realizados en otras plantas se determina metabolitos secundarios como los antes mencionados (Osorio, 2006).

Proceso de obtención del extracto

Diseño y Análisis Estadístico de Experimentos. Análisis de los resultados experimentales

Objetivo del experimento: determinar si la variación del Método de Secado, influye significativamente en el por ciento de humedad de la muestra.

En la primera parte de la experimentación se planea un diseño de experimento por bloque al azar.

El diseño por bloque al azar se planea por la necesidad de conocer el cambio que se establece en el porcentaje de humedad en el transcurso del tiempo. Se emplean dos métodos diferentes para el secado de las muestras: Método I (secado natural), Método II (secado en estufa), se establece el método como el factor a investigar y teniendo en cuenta que el factor tiempo ocupa la posición de variable bloque, ya que es conocido a priori que el tiempo incide en la variable respuesta del experimento. El material experimental es dividido en grupos homogéneos constituidos por las muestras que son utilizadas.

Diseño por Bloque al azar: factor: método de secado (niveles: 2). Factor bloque: tiempo (niveles: 5). Rendimiento: porcentaje de humedad. Unidades experimentales: hojas de Barbasco. Replicación: 3. Se comprueba con la implementación del software que los datos suministrados para ambos factores

siguen una distribución normal. Fijando un nivel de confianza del 95% tanto por la prueba Chi-cuadrado como por la prueba de Kolmogorov- Smirnov, se comprueba que el valor de probabilidad del estadígrafo es mayor que 0,05 por tanto no hay evidencia de rechazar la normalidad.

Las acciones combinadas de la humedad relativa y la temperatura contribuyeron a los resultados obtenidos (Osorio, 2006; Vidaurre y Martínez 2007). Las dos formas de secado permitieron obtener el material vegetal con contenidos de humedad diferente transcurrido las 48 horas. Según lo estudiado, en la Figura 1. Se observa la curva de secado natural del follaje de barbasco (*Lonchocarpus nicou*). Se

aprecia la variación del porcentaje de humedad a medida que transcurre el tiempo, con un ligero aumento a las 24 horas; esto se debe a que a las 24 horas de haber colocado la muestra a secar naturalmente, la humedad relativa del ambiente aumentó, producto de una persistente lluvia, favoreciendo la absorción de humedad de la muestra. La curva de color negro representa el ajuste de la curva resultante en la experimentación, correspondiente a una función polinomial de cuarto grado. El conteo del tiempo de secado tanto natural y en estufa inicia a las 6 a.m. considerando en la gráfica 1 y 2 como tiempo cero, en este momento el follaje fresco contenía un 61,1% de humedad.

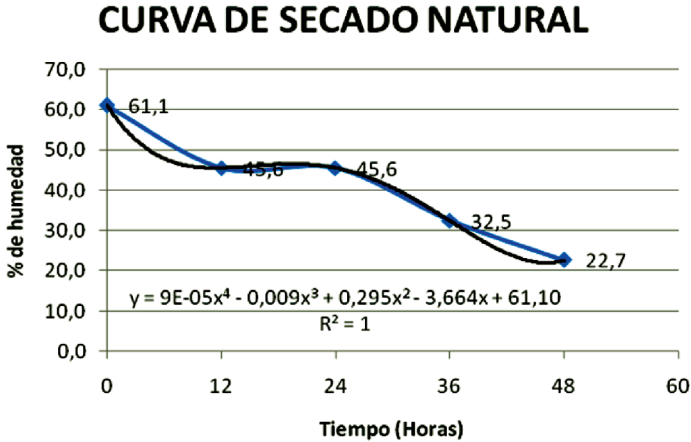


FIGURA 1. Variación del por ciento de humedad en el follaje de barbasco (*Lonchocarpus nicou*) en el tiempo.

En el Figura 2 se muestra la Curva del Secado en Estufa del follaje de Barbasco (*Lonchocarpus nicou*). Se observa la disminución del porcentaje de humedad a medida que transcurre el tiempo, con una tendencia a un comportamiento ligeramente asintótico al eje que representa el tiempo, a partir de las 36 horas. La curva de color negro representa el ajuste casi perfecto de la curva resultante en la experimentación, correspondiente a una función polinomial de cuarto grado. Los resultados obtenidos de los dos métodos de secado difieren de los plateados por Vidaurre y Martínez (2007), quienes aseguran que transcurrido las 48 horas de secado alcanzaron 46.75% y 40.25% de humedad en sus muestras respectivamente. Tanto las condiciones ambientales como el tipo de follaje no son las mismas, de allí los resultados, pero se puede considerar que el método secado en

estufa logra mayor eliminación de humedad de la muestra.

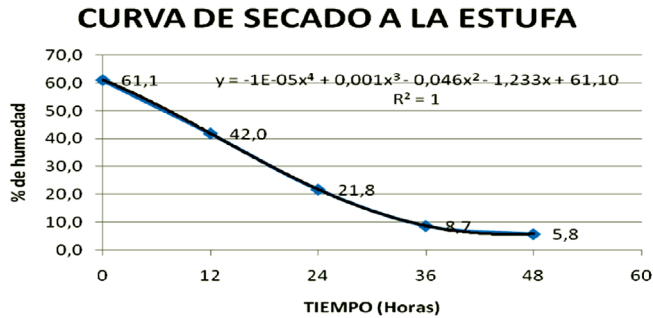


FIGURA 2. Variación del por ciento de humedad en el follaje de barbasco (*Lonchocarpus nicou*) con el tiempo durante el secado a la estufa a 40°C durante 48 horas.

Al obtener los resultados o rendimientos de la experimentación planeada se prepara toda la información para el análisis estadístico del diseño en bloque completamente al azar. Los resultados del Análisis de Varianza se muestran en la Tabla 3:

TABLA 3. Análisis de Varianza

Factor	Suma de cuadrados	Df	Media de cuadrados	Proporción F	Valor de P
Efectos principales					
A: Método	1387,2	1	1387,2	43,50	0,0000
B: Tiempo	8381,83	4	2095,46	65,71	0,0000
Residual	765,337	24	31,889		
Total (Corregido) 10534,4 29					

Como se observa, el valor de probabilidad para ambos factores (factor y factor bloque), es menor que 0,05%, lo que evidencia que ambos factores influyen significativamente en la variable respuesta (porcentaje de humedad). Lo que corrobora también la validez del modelo de diseño en bloque al azar para este caso.

El gráfico de la Figura 3 muestra los intervalos de confianza para la media con un 95% de nivel de confianza, para cada uno de los métodos, y se aprecia la diferencia significativa en la implementación de un método u otro en la variable respuesta (porcentaje de humedad). El porcentaje de humedad al aplicar el método I es más alto que después de aplicar el segundo método II. En el gráfico de la Figura 3 el * señala el valor de la media para ese intervalo de confianza.

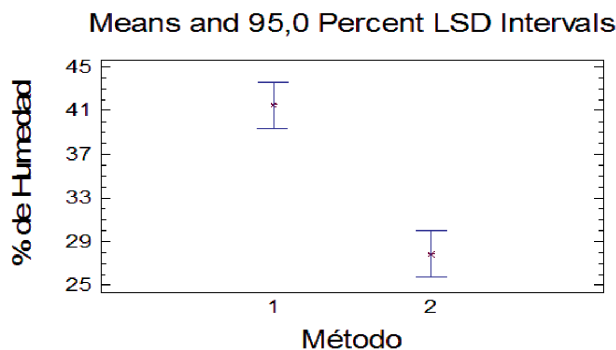


FIGURA 3. Humedad. Intervalos de confianza para la media.

Segunda parte del experimento:

Objetivo: Determinar si los factores temperatura, tiempo y método influyen significativamente en la obtención de Rotenoides. Se planea un Diseño Multifactorial. Este diseño se planea por la necesidad de conocer la influencia de los tres factores en el rendimiento. Factor 1: Temperatura, (niveles: 2). Factor 2: Tiempo, (niveles: 5): Factor 3: Método, (niveles: 2). Rendimiento: porcentaje de extracción. Unidades experimentales: Hojas de Barbasco. Replicación: 3.

Análisis del comportamiento de la extracción realizada al follaje de Barbasco mediante el Método I (Secado Natural), y el Método II (Secado en Estufa)

En el gráfico de la Figura 4 se muestra la curva que describe la extracción del follaje de Barbasco en los diferentes tiempos a temperatura ambiente, cuando este es secado mediante el método de secado natural.

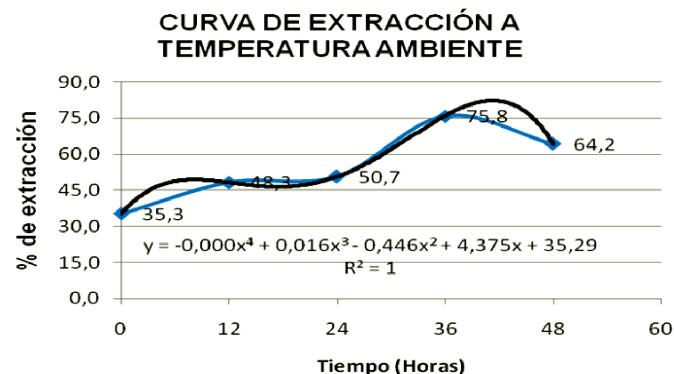


FIGURA 4. Curva de Extracción a temperatura ambiente mediante el Método I (Secado Natural).

En general, se observa un aumento del porcentaje de extracción a medida que transcurre el tiempo, donde se alcanza un

máximo de extracción (de 75,8%) entre 36 y 48 horas, posteriormente la curva se hace cóncava hacia abajo, lo que indica una disminución del porcentaje de extracción a partir de este tiempo cuando se emplea el método de secado natural. Esta disminución en la extracción puede estar relacionado con el hecho de que a este intervalo de tiempo la materia prima ha perdido una cantidad de agua apreciable provocando una estructura más rígida y compacta (menos permeable) de la pared celular impidiendo el acceso del sistema de solventes al interior de la célula, disminuyendo así la solubilidad de los metabolitos en el interior de la célula.

La curva de color negro representa el ajuste de la curva resultante en la experimentación, correspondiente a una función polinomial de cuarto grado aproximándose a un comportamiento sinusoidal. Este comportamiento se debe a que a las 24 horas la temperatura ambiente disminuye (horas de la noche en la realización del experimento) por lo que la solubilidad de los componentes disminuye.

En el gráfico de la Figura 5, se muestra la curva de extracción a temperatura de 40°C mediante el Método de Secado Natural. Se observa en general, un aumento del porcentaje de extracción a medida que transcurre el tiempo, donde se alcanza un máximo de extracción (entre 71,5 y 77,7%) comprendido entre 24 y 36 horas pero muy cercano a las 36 horas, alcanzando este resultado antes que en el Método I, lo que resulta comprensible ya que la extracción se realiza a mayor temperatura. Posteriormente la curva se hace cóncava hacia abajo lo que indica una disminución del porcentaje de extracción a partir de este tiempo cuando se emplea el Método de Secado Natural a esa temperatura. De forma análoga, esto puede estar relacionado con el hecho de que a este intervalo de tiempo la materia prima ha perdido una cantidad de agua apreciable, lo que hace de la pared celular una estructura más rígida y compacta (menos permeable) que impide el acceso del sistema de solventes al interior de la célula, disminuyendo así la solubilidad de los metabolitos en el interior de la célula.

La curva de color negro representa el ajuste de la curva resultante en la experimentación, correspondiente a una función polinomial de cuarto grado. En este caso el proceso, se aproxima también a comportamiento sinusoidal, pero con un mayor período para esta función.

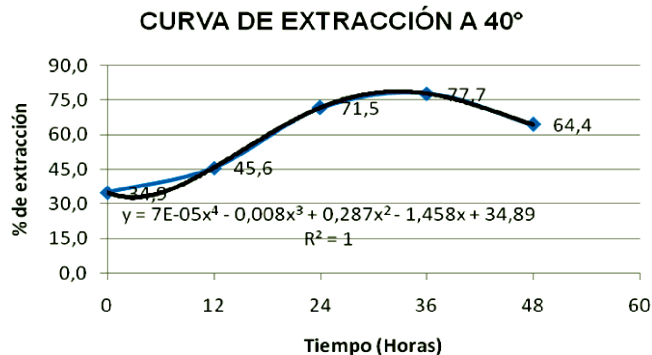


FIGURA 5. Curva de Extracción a temperatura de 40 ° C mediante el Método I (Secado Natural).

En el gráfico de la Figura 6 se muestra la curva de extracción a temperatura ambiente mediante el método de secado

en estufa. Se observa en general un aumento del porcentaje de extracción a medida que transcurre el tiempo, donde se alcanza un máximo de extracción (de 87,88%) a las 36 horas, posteriormente la curva se hace cóncava hacia abajo lo que indica una disminución del porcentaje de extracción a partir de este tiempo cuando se emplea el método de secado en estufa, obsérvese que si se comparan los resultados mostrados en los gráficos de las Figuras 4 y 6 al realizar la extracción cuando la materia prima es secada en la estufa, se aprecia la obtención de un mayor porcentaje de extracción, lo que además se produce en un tiempo menor.

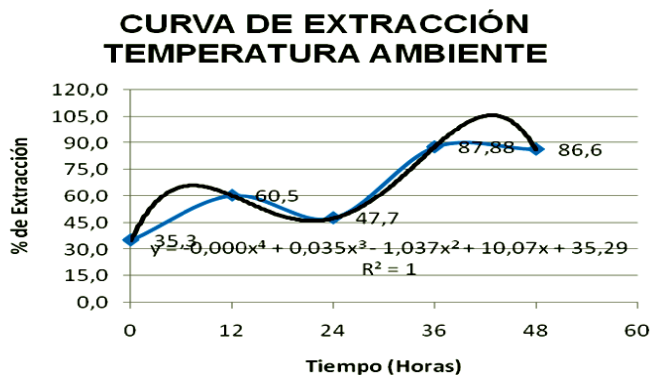


FIGURA 6. Curva de Extracción a temperatura ambiente mediante el Método II (Secado en Estufa).

La curva de color negro representa el ajuste de la curva resultante en la experimentación, correspondiente a una función polinomial de cuarto grado aproximándose a un comportamiento sinusoidal, análogo al que se produce en el Método I para la misma temperatura.

Del análisis de los gráfico de las Figuras 4 y 6 resulta evidente que el método de extracción tiene influencia en el proceso de extracción, ya que, como la pérdida de agua en el Secado en Estufa se realiza más rápido que a temperatura ambiente, al tener este método una mayor temperatura; es muy probable que la velocidad en la pérdida de agua provoque cierto desorden entre las macromoléculas que conforman la pared celular por la eliminación de los puentes de hidrógeno, que forma el agua

entre estas macromoléculas y que le confieren gran estabilidad a estas macromoléculas; este desorden favorece el acceso del sistema de solvente utilizado en la extracción al interior de la célula, lo que se manifiesta gráficamente en una función sinusoidal descrita con un mayor período.

En el gráfico de la Figura 7 se muestra la curva de extracción a 40° C mediante el método de secado en estufa. Se observa en general un aumento del porcentaje de extracción a medida que transcurre el tiempo, donde se alcanza un máximo de extracción (de 89,5%) a las 36 horas, posteriormente la curva se hace cóncava hacia abajo lo que indica una disminución del porcentaje de extracción a partir de este tiempo cuando se emplea el Método de Secado en Estufa, obsérvese que al comparan los resultados mostrados en los gráficos de las Figuras 5 y 7, donde la extracción de la materia prima es cuando esta es secada en estufa, se aprecia la obtención de un mayor porcentaje de extracción aproximadamente en el mismo tiempo. La curva de color negro representa el ajuste de la curva resultante en la experimentación, correspondiente a una función polinomial de cuarto grado, aproximándose a un comportamiento sinusoidal, análogo al que se produce en el Método I para la misma temperatura, aunque con un alargamiento aún mayor en el período de esta función. Del análisis de los gráfico de las Figuras 5 y el 7 resulta evidente que el método de extracción tiene influencia en el proceso de extracción, ya que la pérdida de agua en el secado en estufa se realiza más rápido que a temperatura ambiente al tener este método una mayor temperatura; es muy probable que la velocidad en la pérdida de agua provoque cierto desorden entre las macromoléculas que conforman la pared celular por la eliminación de los puentes de hidrógeno que forma el agua entre estas macromoléculas y que le confieren gran estabilidad a estas moléculas; este desorden favorece el acceso del sistema de solvente utilizado en la extracción al interior de la célula, lo que se manifiesta gráficamente en una función sinusoidal descrita con un mayor período, y que en este caso es mucho mayor que la manifestación mostrada entre la comparación de las curvas representadas en los gráficos de las Figuras 4 y 6, puesto que hay mayor temperatura en el experimento.

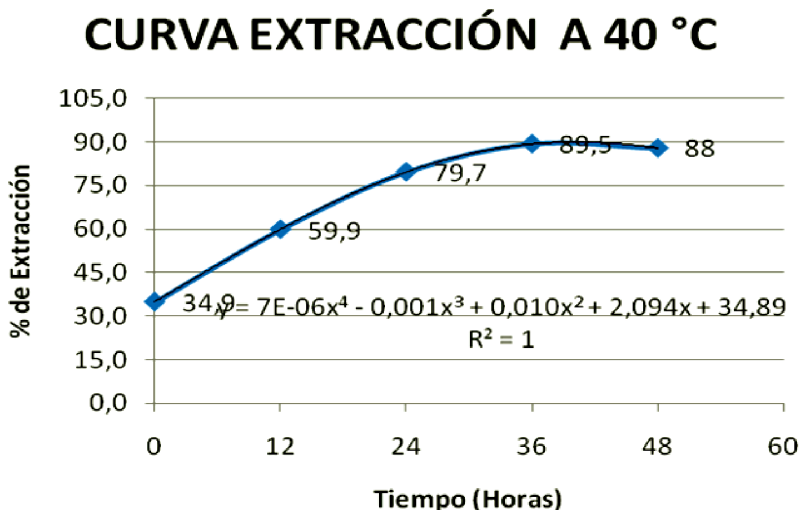


FIGURA 7. Curva de Extracción a temperatura 40° C mediante el Método II (Secado en Estufa).

Análisis Estadístico de los resultados de la experimentación

Una vez realizada la experimentación de acuerdo a los valores de rendimiento se realizaron 60 combinaciones con los tres factores en la experimentación.

Los resultados del Análisis de Varianza para la variable respuesta se muestran a continuación:

TABLA 4. Análisis de varianza para porcentaje de extracción

Factor	Suma de cuadrados	Df	Media de cuadrados	Proporción F	Valor de P
A: Temperatura	271,087	1	271,087	3,87	0,0547
B: Tiempo	14 256,6	1	14 256,6	203,77	0,0000
C: Método	18 09,81	1	1 809,81	25,87	0,0000
AB	0,676378	1	0,676378	0,01	0,9221
AC	25,0874	1	25,0874	0,36	0,5521
BC	646,815	1	646,815	9,24	0,0038
Bloque	15,0685	2	7,53427	0,11	0,8981
Error total	3 428,31	49	69,9654		
Total (corregido) 21 719,6 58					

Como se observa en la Tabla 4, el valor de probabilidad para dos de los factores (tiempo, y método), es menor que 0.05%, lo que evidencia que ambos factores influyen significativamente en la variable respuesta (porcentaje de extracción); en el caso del factor temperatura, este manifiesta una menor influencia, de forma ligera sobre la respuesta que los otros dos factores, para un valor de probabilidad de 0,0547. De las interacciones solo influyen significativamente BC (la interacción del tiempo con el método). Además se observa que el factor bloque, la réplica, no influye en los resultados.

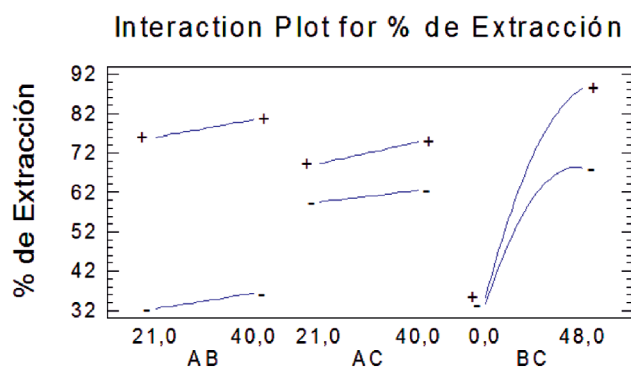


FIGURA 8. Interacción de los factores temperatura, tiempo de secado y método de secado en el porcentaje de extracción de Rotenoides.

En el gráfico de la Figura 8 se muestra la Interacción de los factores temperatura, tiempo de secado y método de secado en el porcentaje de extracción de Rotenoides.

Donde como se observa en la tabla Análisis de Varianza para el porcentaje de extracción; A: temperatura, B: tiempo, C: método. El signo – (menos) en el análisis está referido al nivel más bajo del segundo factor en cada uno de los pares que en el eje horizontal simbolizan las interacciones de los factores en cada caso señalados, mientras que de forma análoga, el signo + (más) en el análisis está referido al nivel más alto del segundo factor en cada uno de los pares que en el eje horizontal simbolizan las interacciones de los factores. Analizando el gráfico de la Figura 8 de izquierda a derecha, para el nivel más bajo del factor tiempo, es decir al inicio de

la experimentación, al aumentar la temperatura en su rango de 21 a 40 grados no se aprecia un cambio importante en la variable respuesta, pero en la medida en que el tiempo aumenta, al alcanzar este, su nivel más alto (a las 48 horas), si se produce una influencia importante en la variable respuesta (porcentaje de extracción), ya que en la medida en que la temperatura aumenta el% de extracción será mayor, pero sucederá de forma apreciable en el nivel alto para el tiempo, lo que fue comprobado en el experimento y es un resultado esperado, ya que la velocidad de extracción se produce en el tiempo al aumentar la temperatura. En la interacción que contempla temperatura y método, no se aprecia una diferencia significativa en la variable respuesta en la medida en que aumenta la temperatura para ambos métodos de extracción, lo que también es esperado, ya que después de la temperatura ambiente (21°C) solo se aumenta hasta los 40 °C; se produce en ambos casos un porcentaje relativamente superior de extracción pero no tan diferenciado entre un método y otro.

En la interacción que contempla tiempo y método entre el inicio y los primeros 48 horas, al inicio de la experimentación el porcentaje de extracción que se obtiene por ambos métodos coincide, no existiendo grado de diferenciación alguno entre ellos; observándose en cambio un aumento apreciable en el porcentaje de extracción para ambos métodos en la medida en que aumenta el tiempo, siendo mucho menor para el método de extracción natural y mayor para el método de extracción por estufa. En ambos casos a los 48 horas se alcanza el máximo de extracción, pues a partir de este tiempo, las curvas manifiestan una tendencia a la concavidad hacia abajo, lo que significa que se produce disminución en el porcentaje de extracción.

TABLA 5. Análisis del óptimo para la variable respuesta

Meta: máximo porcentaje de Extracción Valor Óptimo = 91,4117			
Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Temperatura	21,0	40,0	40,0
Tiempo	0,0	48,0	48,0
Método	1,0	2,0	2,0

La Tabla 5 muestra que para los factores que intervienen en el análisis, el óptimo para la variable respuesta se alcanza en los niveles altos de los tres factores con un valor óptimo para el porcentaje de extracción de 91,4117, lo que permite analizar las condiciones bajo las cuales se obtienen los mejores resultados en la variable respuesta. Este resultado ofrece un índice importante de la cercanía entre los resultados experimentales y el valor óptimo, obsérvese que en el gráfico de la Figura 7 el máximo porcentaje de extracción es 89,5% alcanzado a las 36 horas.

Se calcula el coeficiente de regresión para la variable respuesta, y la obtención del modelo matemático para el diseño de la experimentación multifactorial bajo diferentes niveles de los factores. La importancia de la obtención del modelo, es que posibilita estimar el resultado de la variable respuesta para valores intermedios de los límites establecidos teniendo en cuenta los factores que inciden en la misma. Además se calcula la matriz de correlación para la estimación de los efectos del experimento.

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante el análisis de varianza, presentados en el gráfico de la Figura No 8, el factor temperatura desde el punto de vista estadístico, prácticamente no tiene influencia en la variable respuesta, lo que indica recomendar la posibilidad de trabajar en la experimentación a una menor temperatura con el consiguiente ahorro energético y en el valor económico del experimento. Se recomienda un posterior estudio para la determinación del valor permisible para la temperatura sin la afectación del proceso químico.

Efectividad del extracto. Bioensayos de laboratorio

Varios autores han informado sobre la actividad insecticida de extractos acuosos y de etanol obtenidos a partir de la raíz de barbasco *Lonchocarpus sp* contra *Anopheles benarroche*, *lepidópteros* y otros insectos (Mariños *et al.*, 2004).

El extracto obtenido del follaje de barbasco en las condiciones optimas dadas por los análisis realizados fue inoculado al agua de criadero, con la dosis 25g/L, se observó una mortalidad superior al 50% de larvas tratadas en la primera hora post tratamiento y un 71,42% en la segunda hora post aplicación. A partir de las dos horas post tratamiento se observó la tolerancia de las larvas de *Anopheles sp*, a la dosis de *Lonchocarpus nicou*, manteniéndose conforme transcurre el tiempo de exposición a la toxicidad (24 horas).

Los trabajos realizados en el Perú por Mariños *et al.* (2004), reportan la efectividad del *Lonchocarpus utilis* para controlar larvas de *Anopheles benarrochi* con extractos obtenidos a partir de la raíz del mismo.

El presente estudio demuestra la eficacia del extracto de follaje de *Lonchocarpus nicou* para controlar larvas de *Anopheles sp*, con dosis 25 g/L, similares resultados obtuvo Mariños *et al.* (2004), que reportan un 100% de mortalidad con dosis hasta 8 veces mayor a la planteada de raíz de barbasco *L. utilis*.

Estos primeros resultados muestran que el uso del polvo de follaje de *Lonchocarpus nicou* en el control de *Anopheles sp*, podría constituir una importante alternativa de uso en regiones económicamente pobres y de difícil acceso por ser eficaz, de fácil aplicación y de bajo costo para controlar la malaria mediante la eliminación del vector en los casos de brotes epidémicos y

sólo en criaderos temporales, debido a que su efecto biocida no es selectivo con otros organismos de la fauna acuática.

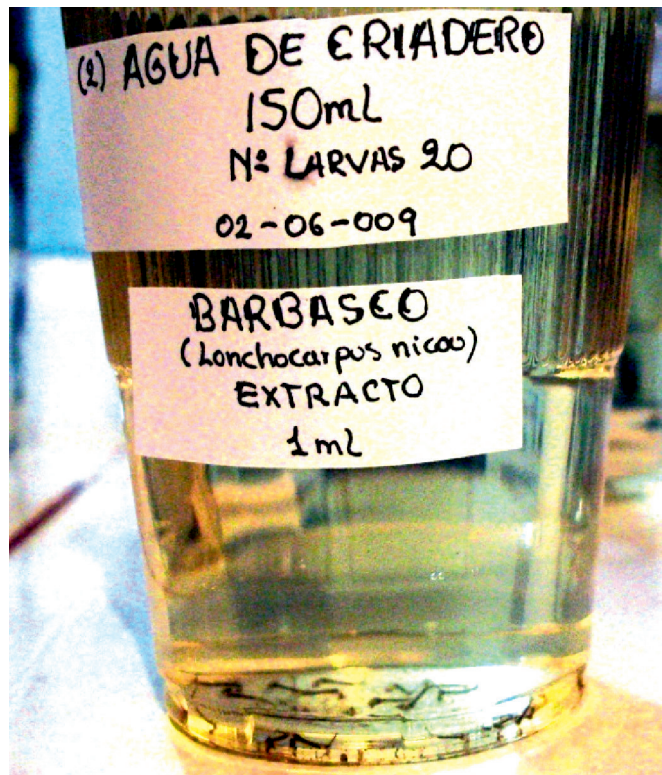


FIGURA 9. Larvas de *A. benarroche* muertas.

CONCLUSIONES

- El estudio patantométrico sobre los compuestos rotenoides permitió reorientar el estudio del objeto del árbol, el follaje, a los efectos de los extractos de esta parte del árbol como biocida.
- El análisis fitoquímico practicado a las raíces y el follaje de barbasco (*lonchocarpus nicou*) que crece en la región amazónica ecuatoriana, reveló la presencia de flavonoides prácticamente en todos los extractos evaluados correspondientes a la raíz y la hoja de barbasco (*Lonchocarpus nicou*), fueron detectados en el extracto alcohólico de las hojas obtenido.
- En el procedimiento de obtención del extracto biocida a partir del follaje de barbasco *Lonchocarpus nicou* influyen significativamente el método de secado de la materia prima, el tiempo de secado y ligeramente la temperatura de extracción.
- Se proponen las variables óptimas para la realización del proceso es extracción de los componentes ictiotóxicos a partir del follaje de barbasco.
- Se realizaron los balances de masa y energía en el procedimiento propuesto.
- El extracto de follaje de barbasco queda descrito desde el punto de vista físico-químico.
- El extracto obtenido a partir del follaje de barbasco (*Lonchocarpus nicou*) presenta propiedades biocidas.
- Se propone un procedimiento para la obtención de un extracto con propiedades biocidas a partir del follaje de barbasco (*lonchocarpus nicou*).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARRESE, Y.; M. HERNÁNDEZ; O. GARCÍA: *Evaluación, Caracterización y estudio fitoquímico de Cassia alata L.*, [en línea] 30 septiembre 2005, Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000200009&lng=es&nrm=iso&tlng=es [Consulta: julio 20 2008].
2. LANNACONE, L.; G. LAMAS: *Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa Phthorimaea operculella (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Perú. ENTOMOTROPINA, Vol. 18(2): 95-105, [en línea] Agosto 2003, Disponible en: <http://www.redpav.avepago.org.ve/ojs/index.php/entomotropica/article/viewFile/83/84> [Consulta: marzo 3 2009].*
3. IZQUIERDO, S.; C. LÓPEZ; C. GARCÍA; M. GONZALES; V. FUSTÉ: *Desarrollo de una tecnología para la obtención de extracto acuoso de hojas de Morinda citrifolia L. (noni). Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2009; 14(2) [en línea] 2009, [Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol14_2_09/pla03209.pdf. [Consulta: 17 de mayo 2009].*
4. MARIÑOS, C.; J. CASTRO; D. NONGRADOS: *Efecto biocida del «barbasco» Lonchocarpus utilis (Smith, 1930) como regulador de larvas de mosquitos. Rev. Perú biol. [en línea] [ene./jul. 2004, vol.11, no.1 p.87-94: Disponible en: World Wide Web <http://revistas.concytec.gob.pe/scielo.php> [Consulta: mayo 7 2009].*
5. MARTÍNEZ, V.; F. MILAGROS; L. GARCÍA; E. REYES: *Características farmacognósticas de las hojas de Capparis avicennifolia, Rev. Med. Vallejana. Vol. 4 N° 2, [en línea] 2007, Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/rmv/v04n2/pdf/a04v4n2.pdf>. [Consulta: 11 de febrero 2000].*
6. MENDOZA, C.; M. MORENO; M. WEIL; F. ELANGO: *Evaluación del efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de phytophthora palmivora Butl. y Colletotrichum gloeosporioides (Penz). Tierra Tropical (2007) 3 (1): 81-89 ISSN: 1659-2751 [en línea] 2007, Disponible en: http://usi.earth.ac.cr/tierratropical/archivos-de-usuario/Edicion/44_v3.108_mendoza_Moreno.pdf. [Consulta: Abril 5 2009].*
7. NASCIMENTO, F.; E. DINIZ; A. OLIVEIRA; T. COSTA: *Extractos Vegetales en el Control de Plagas. Revista erde (Mossoró – RN – Brasil) v.3, n.3, p. 01-05 de julho/setembro de 2008 [en línea] 2008, Disponible en: <http://www.revista.gvaa.com.br>. [Consulta: mayo 11 2009].*
8. OSORIO, G: *Evaluación de hongos endofíticos y extractos botánicos para el control de la sigatoka negra (Mycosphaerella fijiensis Morelet) en babano. Tesis de Magister en Agricultura Ecológica, 2006. p. 16. [en línea] 2006, Disponible en: http://www.ucmh.sld.cu/rhab/rhcm_vol_7num_3/rhcm17308.htm [Consulta: Abril 10 2009].*
9. PÉREZ, D.; J. IANNACINE: *Efectividad de Extractos Botánicos de Diez Plantas Sobre la Mortalidad y Repelencia de Larvas de Rhynchophorus palmarum L., Insecto Plaga del Pijuayo Bactris gasipaes Kunth en la Amazonia del Perú. Agric. Téc. Chillán, v. 66, n. 1, 2006. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S03652807200600100003&l=i [Consulta: mayo 12 del 2009]*
10. VIDAURRE, M.; L. QUERREVALÚ; E. MARTÍNEZ; S. RUÍZ: *Características farmacológicas de las hojas de Capparis avicennifolia. 2007. Página Rev. Med. Vallejana. Vol. 4. N°2. [en línea] 2007, Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S10284796200500020000&lng=es&nrm=iso&tlng=e [Consulta: marzo 20 2009].*

Recibido: 08 de noviembre 2012.

Aprobado: 14 de junio de 2013

Deisy Marlene Torres Morochó, Universidad Estatal Amazónica; El Puyo; Ecuador, Correo electrónico: dmartentorres@yahoo.com

*Todos nuestros servicios
a su disposición*

BIBLIOTECA ANTONIO MACHADO RUIZ

UNIVERSIDAD DE GRANMA (UGR)