

**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA  
AGROINDUSTRIAL**



**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOCIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE  
HOJAS DE MUÑA (*Minthostachys mollis*) EN EL GORGOJO DE MAÍZ  
(*Sitophilus zeamais*)”.**

**TESIS**

**PRESENTADO POR**

**QUISNI BENAVENTE MINA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**Abancay, junio del 2018**

**ABANCAY – PERÚ**



**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA  
AGROINDUSTRIAL**



**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOCIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE  
HOJAS DE MUÑA (*Minthostachys mollis*) EN EL GORGOJO DE MAÍZ  
(*Sitophilus zeamais*)”.**

**TESIS**

**PRESENTADO POR**

**QUISNI BENAVENTE MINA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**ABANCAY – PERÚ**

**2018**

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOCIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE  
HOJAS DE MUÑA (*Minthostachys mollis*) EN EL GORGOJO DE MAÍZ  
(*Sitophilus zeamais*)”.**

## **DEDICATORIA**

Con mucho amor, cariño a Dios por darme salud y así concluir los cinco años de estudio de la carrera de Ingeniería Agroindustrial; a mis padres y hermanos que representa el gran motor de mi vida a quién los debo todo, por ser los que me dieron fuerzas para seguir adelante y estar cumpliendo mis objetivos trazados.

## **AGRADECIMIENTO**

- A Dios que siempre está a nuestro lado de manera incondicional y que hasta ahora me guía, me protege y me impulsa a seguir adelante.
- A mis padres Felipe Santiago Benavente Ninahuanca y Manuela Mina Quispe que siempre confían y me apoyan, a ellos porque son la razón de mi existir.
- A la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac - Facultad de Ingeniería, por darme la oportunidad de formarme en sus aulas y así de los conocimientos brindados para mi formación académica y profesional que me servirá para desenvolverme plenamente en el campo de mi carrera y en la sociedad.
- Al MSc. Víctor Hugo Sarmiento Casavilca por su colaboración desinteresada y dedicación constante para hacer realidad dicho proyecto.



**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA  
AGROINDUSTRIAL**

**AUTORIDADES UNIVERSITARIAS**

**DR. ECON. LEONARDO ADOLFO PRADO CÁRDENAS**

**RECTOR**

**DR. ROLANDO RAMOS OBREGÓN**

**VICERRECTOR ACADÉMICO**

**DRA. IRIS EUFEMIA PAREDES GONZALES**

**VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN**

**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURIMAC**

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA  
AGROINDUSTRIAL**

**AUTORIDADES DE FACULTAD**

**PhD. ING. LUCY MARISOL GUANUCHI ORELLANA**

**DECANA DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA**

**MSc. GUADALUPE CHAQUILLA QUILCA**

**DIRECTORA DE LA ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE  
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**ING. DARIO DANTE SANCHEZ CASTILLO**

**DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE LA FACULTAD  
DE INGENIERÍA**

## CONFORMIDAD DE TESIS

El suscrito MSc. Victor Hugo Sarmiento Casavilca docente Asociado de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, ASESOR del proyecto de tesis e informe final, denominado “**Evaluación de la actividad biocida del aceite esencial de hojas de muña (*minthostachys mollis*) en el gorgojo de maíz (*sitophilus zeamais*)**” presentado por la **Bach. Quisni Benavente Mina**, para optar el título profesional de INGENIERO AGROINDUSTRIAL, da conformidad de que el estudio ha sido desarrollado siguiendo el método científico, redactado de acuerdo al Reglamento General de Grados y Títulos de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, habiéndose subsanado todas las observaciones presentadas por el jurado evaluador.

Abancay, 22 de junio del 2018

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS  
DE APURIMAC

Ing. MSc Victor Hugo Sarmiento Casavilca  
DOCENTE

---

MSc. Victor Hugo Sarmiento Casavilca  
Asesor

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOCIDA DEL ACEITE ESENCIAL DE  
HOJAS DE MUÑA (*Minthostachys mollis*) EN EL GORGOJO DE MAÍZ  
(*Sitophilus zeamais*)”.

Presentado por: **QUISNI BENAVENTE MINA**, para optar el Título Profesional de  
Ingeniero Agroindustrial.

Sustentado y aprobado el 03 de mayo del 2018 ante el Jurado:

Presidente:

UNIVERSIDAD NACIONAL  
MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC

  
Mg. Dgo. Trifón Oros Huayhua

DOCENTE

Blgo. Trifón Oros Huayhua

Primer miembro:

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC  
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

  
Dra. Dagnith Luján Bejarano Luján

DOCENTE

Dra. Dagnith Luján Bejarano Luján

FACULTAD DE INGENIERIA

Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial

Segundo miembro:

  
Ing. Jorge Beltrán Mendoza Cáceres

DOCENTE

Ing. Jorge Beltrán Mendoza Cáceres

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS  
DE APURÍMAC

Asesor:

  
Ing. M.Sc. Víctor Hugo Sarmiento Casavilca

Msc. Víctor Hugo Sarmiento Casavilca



ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En el aula n° 302 del pabellón de Ingeniería Agroindustrial de la Sede Académica de la UNAMBA, siendo las 4:00 pm del día 03 de mayo del año 2018. El Presidente del Jurado Evaluador Mg. Blgo. Trifón Orós Huayhuaco lectura el Memorando Múltiple N° 059-2018-D-EAPIA-UNAMBA, acto seguido invitó al Bach. Quisni Benavente Mira para la sustentación oral y pública de tesis título: Evaluación de la actividad Bixida del Aceite Esencial de hojas de Muña (*Myrthostachys mollis*) en el gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*) para lo que se concedió un tiempo de 30 minutos reglamentarios.

Acto seguido, el Presidente evaluador se le invitó a la Dra Liz Bejarano L. como primer miembro para su opinión por el tiempo necesario, luego al Ing. Jorge Mendoza C. segundo miembro y participación del Jurado Evaluador, quienes hicieron observaciones sobre la forma y fondo de la tesis, fueron respondidas las preguntas aceptadamente. Al término del acto el Presidente evaluador dejó en privado para la calificación correspondiente. El Jurado Evaluador otorga el calificativo de Buena (15) con el que se condujo el acto, siendo 5:45 pm. en fe de lo actuado firman los integrantes de Jurado Evaluador y la tesis.

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC  
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Jorge Mendoza Cáceres  
Ing. Jorge Beltrán Mendoza Cáceres  
DOCENTE

Mg. Blgo. Trifón Orós Huayhuaco  
DOCENTE  
Presidente.

Dra. Elizabeth L. Bejarano Luján  
DOCENTE  
1er miembro

Quisni Benavente Mira

CERTIFICACION A LA VUELTA ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL



## ÍNDICE

<b>I.</b>	<b>Introducción</b> .....	1
1.1.	Objetivo general .....	2
1.2.	Objetivos específicos .....	3
<b>II.</b>	<b>Marco teórico</b> .....	4
2.1.	Muña ( <i>Minthostachys mollis</i> ) .....	4
2.1.1.	Descripción general.....	4
2.1.2.	Clasificación sistemática.....	5
2.1.3.	Características botánicas.....	5
2.1.4.	Tipos de muña .....	6
2.1.5.	Composición química de muña ( <i>Minthostachys mollis</i> ).....	7
2.1.6.	Propiedades y usos .....	8
2.2.	Generalidades del aceite esencial .....	9
2.2.1.	Definición .....	9
2.2.2.	Composición .....	9
2.2.3.	Localización de aceites esenciales en las plantas .....	11
2.2.4.	Función de los aceites esenciales en la planta .....	12
2.2.5.	Extracción del aceite esencial .....	12
2.2.6.	Métodos de análisis de aceites esenciales .....	14
2.2.7.	Aceite esencial de muña .....	17
2.2.7.1.	Características físico-químicas del aceite esencial de “muña” ( <i>M. mollis</i> ).....	17
2.2.7.2.	Componentes químicos presentes en el aceite esencial de muña ( <i>Minthostachys mollis</i> ) .....	18

2.3.	Las plagas de granos y productos almacenados .....	20
2.3.1.	Origen de las infestaciones de granos.....	21
2.3.2.	Clasificación y distribución de las plagas .....	22
2.3.2.1.	Descripción general del gorgojo del maíz ( <i>Sitophilus zeamais</i> ) .....	23
2.3.3.	Métodos de control.....	28
2.4.	Insecticidas .....	31
2.4.1.	Resistencia a insecticidas.....	31
2.4.2.	Toxicidad .....	35
2.4.3.	Toxicidad contra los insectos .....	36
2.4.4.	Grupos químicos de insecticidas.....	42
2.4.4.1.	Insecticidas organofosforados .....	42
III.	Parte experimental.....	47
3.1.	Desarrollo experimental .....	47
3.2.	Materiales y métodos.....	47
3.2.1.	Materiales .....	47
3.2.2.	Población y muestra.....	48
3.2.3.	Métodos .....	49
3.2.3.1.	Extracción y caracterización del aceite esencial de hojas muña .....	49
3.2.3.2.	Crianza y selección de gorgojos de maíz .....	54
3.2.3.3.	Dosificación del aceite esencial de muña y el insecticida (malation) en el gorgojo de maíz .....	55
3.2.3.4.	Determinación de la característica sensorial (olor) del grano de maíz.....	58
IV.	Resultados y discusiones.....	59

4.1.	Características físico – químicas del aceite esencial de muña.....	59
4.1.1.	Análisis de características físicas del aceite esencial de hojas de muña.....	59
4.1.2.	Análisis de las características químicas del aceite esencial de hojas de muña.....	62
4.2.	Cálculo de la dosis letal media (DL <sub>50</sub> ) .....	66
4.2.1.	Índice de mortalidad de los gorgojos de maíz ( <i>Sitophilus zeamais</i> ) del aceite esencial de muña .....	66
4.2.2.	Cálculo de la dosis letal media del aceite esencial de muña.....	74
4.2.3.	Mortalidad de los gorgojos de maíz ( <i>sitophilus zeamais</i> ) con insecticida (malation).....	80
4.2.4.	Cálculo de la dosis letal media del insecticida comercial en polvo (malation) .....	85
4.3.	Análisis sensorial (olor) del grano de maíz .....	90
V.	Conclusiones y recomendaciones.....	91
5.1.	Conclusiones .....	91
5.2.	Recomendaciones .....	91
VI.	Referencias bibliográficas .....	92
	Anexos.....	104
	Anexo A. Métodos de análisis de aceites esenciales .....	104
	Anexo B. Ficha de evaluación del olor.....	105
	Anexo C. Datos de evaluación y/o análisis de resultados.....	105
	Anexo D. Fotografías.....	110

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Volúmenes y pesos empleados para la experimentación.....	56
Tabla 2. Descripción de la calificación para la determinación de la característica organoléptica olor en el control orgánico del gorgojo del maíz ( <i>Sitophilus zeamais</i> ), con aceite esencial de muña ( <i>Minthostachys mollis</i> ) .....	58
Tabla 3. Características organolépticas del aceite esencial de muña.....	59
Tabla 4. Características fisicoquímicas del aceite esencial de hojas de muña .....	61
Tabla 5. Componentes químicos identificados con FT-IR del aceite esencial de muña .....	63
Tabla 6. Tasa de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> expuestos a un volumen de 10 uL de aceite esencial de muña.....	67
Tabla 7. Tasa de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> expuestos a un volumen de 20 uL de aceite esencial de muña.....	69
Tabla 8. Tasa de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> expuestos a un volumen de 30 uL de aceite esencial de muña.....	70
Tabla 9. Tasa de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> expuestos a un volumen de 40 uL de aceite esencial de muña.....	71
Tabla 10. Tasa de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> expuestos a un volumen de 50 uL de aceite esencial de muña.....	73
Tabla 11. Tiempo de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> a cinco concentraciones de aceite esencial de muña .....	75
Tabla 12. Porcentaje de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> a cinco concentraciones de aceite esencial de muña .....	77
Tabla 13. Tasa de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> expuestos a 0,016 g del insecticida comercial malation en polvo .....	81
Tabla 14. Tasa de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> expuestos a 0,048 g del insecticida comercial malation en polvo .....	82
Tabla 15. Tasa de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> expuestos a 0,08 g del insecticida comercial malation en polvo .....	84

<b>Tabla 16. Tiempo de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> a tres concentraciones del insecticida comercial (malation).....</b>	<b>86</b>
<b>Tabla 17. Porcentaje de mortalidad de <i>Sitophilus zeamais</i> a tres concentraciones de insecticida comercial en polvo (malation) .....</b>	<b>87</b>
<b>Tabla 18. Pesos del gorgojo de maíz .....</b>	<b>105</b>
<b>Tabla 19. Pesos para determinar la densidad del aceite esencial de hojas de muña .....</b>	<b>106</b>
<b>Tabla 20. Concentraciones de aceite esencial de hojas de muña a diferentes volúmenes de exposición del <i>Sitophilus zeamais</i>.....</b>	<b>107</b>
<b>Tabla 21. Cálculo del volumen de aceite esencial de hojas de muña a 4,15 ug/ug.....</b>	<b>108</b>
<b>Tabla 22. Pesos para determinar la concentración del insecticida comercial en polvo (malation) .....</b>	<b>108</b>
<b>Tabla 23. Cálculo del principio activo del malation en polvo a 7,08 ug/ug.....</b>	<b>109</b>
<b>Tabla 24. Control en la muerte de los gorgojos de maíz .....</b>	<b>109</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	<b>Estructura química de la pulegona .....</b>	<b>18</b>
<b>Figura 2.</b>	<b>Estructura química de la mentona .....</b>	<b>19</b>
<b>Figura 3.</b>	<b>Gorgojo de maíz .....</b>	<b>23</b>
<b>Figura 4.</b>	<b>Ciclo de vida del gorgojo de maíz .....</b>	<b>27</b>
<b>Figura 5.</b>	<b>Expresiones gráficas de la relación dosis - mortalidad de un insecticida sobre una población de insectos. A) Curva sigmoidea asimétrica obtenida originalmente. B) Curva sigmoidea simétrica al expresar la dosis en escala logarítmica. C) Curva dosis - mortalidad convertida en una línea recta al expresar la mortalidad en unidades probits y la dosis en escala logarítmica .....</b>	<b>38</b>
<b>Figura 6.</b>	<b>Estructura química del malation .....</b>	<b>43</b>
<b>Figura 7.</b>	<b>Estructura química del cipermetrina .....</b>	<b>44</b>
<b>Figura 8.</b>	<b>Equipo de destilación por arrastre de vapor .....</b>	<b>50</b>
<b>Figura 9.</b>	<b>Diagrama de flujo de extracción de aceite esencial de muña .....</b>	<b>52</b>
<b>Figura 10.</b>	<b>Diagrama de flujo para obtención de gorgojos de maíz .....</b>	<b>55</b>
<b>Figura 11.</b>	<b>Diagrama de flujo de dosificación para evaluación del DL<sub>50</sub> .....</b>	<b>57</b>
<b>Figura 12.</b>	<b>Compuestos terpénicos identificados con FT-IR del aceite esencial de hojas de muña .....</b>	<b>62</b>
<b>Figura 13.</b>	<b>Enlaces químicos identificados para la pulegona por FT-IR del aceite esencial de hojas de muña .....</b>	<b>65</b>
<b>Figura 14.</b>	<b>Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 10 uL de volumen de aceite esencial de muña) .....</b>	<b>68</b>
<b>Figura 15.</b>	<b>Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 20 uL de volumen de aceite esencial de muña) .....</b>	<b>69</b>
<b>Figura 16.</b>	<b>Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 30 uL de volumen de aceite esencial de muña) .....</b>	<b>71</b>

<b>Figura 17. Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 40 uL de volumen de aceite esencial de muña).....</b>	<b>72</b>
<b>Figura 18. Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 50 uL de volumen de aceite esencial de muña).....</b>	<b>74</b>
<b>Figura 19. Dosis letal media en el <i>Sitophilus zeamais</i> del aceite esencial de muña .....</b>	<b>77</b>
<b>Figura 20. Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 0,016 g del insecticida comercial malation en polvo). .....</b>	<b>82</b>
<b>Figura 21. Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 0,048 g del insecticida comercial malation en polvo) .....</b>	<b>83</b>
<b>Figura 22. Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 0,08 g del insecticida comercial malation en polvo) .....</b>	<b>85</b>
<b>Figura 23. Dosis letal media en el <i>Sitophilus zeamais</i> del insecticida comercial en polvo (malation).....</b>	<b>87</b>
<b>Figura 24. Porcentaje de características del olor de maíz con aceite de muña .....</b>	<b>90</b>

## RESUMEN

En la actualidad a nivel global, se presentan grandes dificultades en el control de plagas durante el almacenamiento de granos y cereales, el método utilizado más frecuente es el uso de insecticidas sintéticos que se expenden en el mercado, esta práctica contamina al medio ambiente y causa problemas a la salud de los consumidores.

El trabajo de investigación titulado “Evaluación de la actividad biocida del aceite de esencial de hojas de muña (*Minthostachys mollis*) en el gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*)”, determina y compara la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) del aceite esencial de muña contra un insecticida comercial (malation) en el gorgojo de maíz. Para este estudio primero se caracterizó física y químicamente al aceite esencial de hojas muña extraída por destilación de arrastre de vapor, el cual tuvo un rendimiento de 1,23 %; el análisis químico efectuado con ayuda de un espectrofotómetro Infrarrojo (FT-IR) identifico cualitativamente 43 compuestos químicos presentes en este aceite esencial, entre los principales compuestos que han sido identificados resaltan la pulegona, el timol y la mentona.

Se realizaron pruebas de evaluación a diferentes concentraciones del aceite esencial de muña para determinar la dosis letal media de este compuesto en una población de gorgojos del maíz. Obteniéndose una dosis letal media ( $DL_{50}$ ) de 4,15 ug / ug, De la misma forma se realizó la determinación de la dosis letal media para el insecticida comercial malation encontrándose una dosis letal media ( $DL_{50}$ ) de 7,08 ug / ug; estos resultados hallados indican que el aceite esencial de hojas de muña obtenida por arrastre de vapor es más efectivo que el insecticida comercial de nombre malati3n, sobre los gorgojos de maíz.

Finalmente al efectuarse una evaluación sensorial con pruebas afectivas del grano de maíz tratado con aceite esencial de hojas de muña, se encontró que no existe rechazo por parte de los evaluadores.

**Palabras clave:** *Minthostachys mollis*, *Sitophilus zeamais*, biocida, efectividad, insecticida, dosis letal media.

## ABSTRACT

At present globally, there are great difficulties in the control of pests during the storage of grains and cereals, the most common method used is the use of synthetic insecticides that are sold in the market, this practice contaminates the environment and causes problems to the health of consumers.

The research work entitled "Evaluation of the biocidal activity of the essential oil of muña leaves (*Minthostachys mollis*) in the corn weevil (*Sitophilus zeamais*)", determines and compares the average lethal dose (LD50) of the essential oil of muña against a commercial insecticide (malation) in the corn weevil. For this study, the essential oil of muña leaves was first characterized physically and chemically extracted by steam distillation, which had a yield of 1,23 %; the efficient chemical analysis with the help of an infrared spectrophotometer (FT-IR) qualitatively identified 43 chemical compounds present in this essential oil, among the main compounds that have been identified highlight pulegone, thymol and menthone.

Evaluation tests were performed at different concentrations of the essential oil of muña to determine the average lethal dose of this compound in a population of maize weevils. Obtaining a mean lethal dose (LD50) of 4,15 ug / ug. In the same way, the determination of the average lethal dose for the commercial insecticide malathion was carried out, finding an average lethal dose (LD50) of 7,08 ug / ug; these results indicate that the essential oil of muña leaves obtained by steam drag is more effective than the commercial insecticide called malathion, on maize weevils.

Finally, when a sensory evaluation was carried out with affective tests of the maize grain treated with essential oil from muña leaves, it was found that there was no rejection by the evaluators.

**Key words:** *Minthostachys mollis*, *Sitophilus zeamais*, biocide, effectiveness, insecticide, medium lethal dose.

## INTRODUCCIÓN

Los productos naturales constituyen una fuente inagotable de compuestos químicos biológicamente activos. Varias investigaciones están encaminadas a la búsqueda de principios activos con actividad biológica que puedan ser extraídos de fuentes naturales, principalmente en plantas las que forman parte de la flora del Perú, estas ofrecen inagotables posibilidades para realizar investigaciones (García et al., 2009).

Actualmente se emplean plantas medicinales para combatir ciertas enfermedades, plagas, microorganismos, etc., como es el caso de la “muña” (*Minthostachys mollis*), planta oriunda de la sierra del Perú, su uso ampliamente difundido en diversas regiones del país, se debe a que posee diversas propiedades, que se encuentran entre sus componentes, se destaca que el aceite esencial de esta planta puede ser usado como un agente bactericida y plaguicida, este componente actúa dependiendo del tipo de microorganismo, atacando principalmente la estructura de la pared celular y la membrana externa de los mismos (Cano, 2007), además que interferirían en la fase de metabolismo intermedio inactivando las enzimas de reacción (Kakrani, 1982).

Por otro lado debe mencionarse que en América Latina, entre el 30 y 40 % de la producción de maíz se pierde durante el almacenamiento (Lagunes, 1994). De las plagas asociadas a los granos almacenados, el *Sitophilus zeamais* es considerado como el que más daño puede provocar (Arienilmar et al., 2005).

Las plagas que atacan a los granos que son almacenados en bodegas, es un problema frecuente que se halla a nivel nacional para productores como para comerciantes. La presencia del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) es por causa del mal acondicionamiento al momento de almacenar, ineficiente desinfección de los lugares de almacenamiento y mezcla de granos infestados con granos que están sanos (Tapia, 2013).

Actualmente para el control de estos insectos se usa productos químicos como la fosfamina que combate a los gorgojos, con el que se comercializa los granos sin prever el grado de contaminación con este insecticida sintético ni el daño a la salud que este puede producir a los consumidores. Por tal razón en los últimos años se está buscando nuevas alternativas orgánicas basadas en la utilización de plantas aromáticas que podrían tener propiedades plaguicidas para la repelencia, muerte y control de plagas de granos almacenados. Estas nuevas alternativas buscan remplazar a los insecticidas sintéticos minimizando la cantidad de residuos tóxicos en las semillas para disminuir los efectos causados en la salud por el consumo de granos que hayan sido tratados con productos químicos muy tóxicos como es el caso de la fosfamina que es un insecticida organofosforado que pertenece a la clasificación “Ia”, su categoría toxicológica lo clasifica como extremadamente tóxico ya que tiene banda de color rojo, su formulación líquida DL<sub>50</sub> ( Dosis letal media) a 24 horas aguda oral es de < 20 y dermal de < 20 y la formulación sólida DL<sub>50</sub> (Dosis letal media) a 24 horas aguda oral es de < 5 y dermal de < 10 (Tapia, 2013).

La presente investigación busca evaluar una alternativa de control orgánico de esta plaga (*Sitophilus zeamais*) a base de los componentes derivados de la planta de muña (*Minthostachys mollis*) y busca aprovechar los recursos naturales de la región para poder encontrar y generar alternativas que permitan prevenir y manejar la infestación de los granos almacenados, con bajo impacto en la salud y en su comercialización, evitando contaminar el medio ambiente y mejorar los ingresos económicos de los agricultores y comercializadores de granos. Por lo tanto los objetivos del proyecto de investigación son:

### 1.1. Objetivo General

- Evaluar la actividad biocida del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) en gorgojos de maíz (*Sitophilus zeamais*).

## 1.2. Objetivos Específicos

- Determinar las características físico – químicas del aceite esencial extraído de hojas de muña (*Minthostachys mollis*).
- Caracterizar por espectrofotometría infrarrojo el aceite esencial extraído de hojas de muña (*Minthostachys mollis*).
- Evaluar el tiempo adecuado de contacto del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) en el gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*), para conocer la dosis letal media.
- Determinar la dosis letal media a diferentes concentraciones del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) tratados en los gorgojos de maíz (*Sitophilus zeamais*).
- Evaluar la calidad del grano de maíz en función del olor (característica organoléptica) de la muestra tratada mediante una cartilla de respuesta.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. MUÑA (*Minthostachys Mollis*)

#### 2.1.1. DESCRIPCIÓN GENERAL

Se denomina en la lengua Quechua “muña”, y en la Aymara tiene 2 nombres: “Coa” y “Huaycha”. Debido a sus características semejantes al póleo y orégano, los españoles la denominaban póleo silvestre. Otros nombres vulgares con los que se le conoce a esta planta son: "Muña negra", "Polco silvestre", "coz", "muña-muña", "arash muña", "kon" "Orcco-muña" (Bardales et al., 1999; Sotta, 2000).

La muña crece entre los 500 a 4000 m.s.n.m., por toda Sudamérica, desde Argentina (Córdoba) hasta Venezuela (Monagas y Sucre) (Schmidt-Lebuhn, 2009; Aquino, 2007), particularmente en Perú, Bolivia, Ecuador y Argentina, tomando distintos nombres en cada país.

La muña, habita entre los diferentes pisos ecológicos de la serranía peruana, comportándose como tal; existe en gran abundancia. Así como es una planta hemicriptófila que durante la época más fría del invierno y seco desaparecen sus órganos aéreos para brotar nuevamente con las primeras lluvias de la primavera. Alcanza una altura de 0,80 a 1,50 m., desarrollándose en forma difusa y muy ramificada, crece en lugares cercanos a acequias, manantiales sin tener grandes requerimientos de agua (Morales, 1973).

Se desarrolla en suelos arenosos, ricos en materia orgánica, bien drenados, con buena retención de humedad, con un pH entre 5-8 y un clima con elevada luminosidad, florece en época de lluvia, se multiplica por semilla y por codo (Morales, 1973).

### 2.1.2. CLASIFICACIÓN SISTEMÁTICA

La muña tiene la siguiente clasificación (Sotta, 2000):

Reino : Vegetal

Sub reino : Embryophyta

División : Magnoliophyta

Clase : Magnoliopsida

Sub clase : Methachlamydeae

Orden : Tubiflorae

Familia : Lamiaceae (Labiatae)

Género : *Minthostachys*

Especie : *Minthostachys mollis* (Spach) Griseb

Nombre vulgar: “Muña”

Fórmula floral:  $K(5) C(2-3) A(2-2) G(2)$   
(13)

### 2.1.3. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

Es una planta arbustiva (Yapuchura, 2010), leñosa, que alcanza de 0,80 m y 1,50 m, frondosa en la parte superior, de aspecto general glauco, erecto y pubescente, su tallo es ramificado desde la base. Jaroslav (1970) menciona que la hoja es el elemento vegetativo simple ligeramente aserrado, carece de estípulas, cortamente pedunculares de filotaxia opuesta. Su peciolo mide entre 4 y 6 mm de largo, pubescente acanalada en la parte superior y convexo en la parte inferior, es aquí donde se deposita la mayor cantidad de aceite, que al estrujarlos dejan sentir

su aroma característico. Posee pelos en la cara inferior de las hojas y en los peciolos (Pezón que sostiene la hoja) (Seguil, 1990).

El limbo es pubescente tanto en el haz como en el en vez, debido a lo cual la hoja presenta una coloración verde pálida; sus nervaduras secundarias son muy desarrolladas y ligeramente reticuladas (Jaroslav, 1970).

De largo, dividida en 2 labios: 2 lóbulos o labio superior y 3 lóbulos o labio inferior. Los pelos de las partes aéreas, o sea de las hojas y tallos, parece que forman una especie de manto protector contra los cambios bruscos de temperatura y al mismo tiempo son los lugares en donde se deposita el aceite esencial, de aquí que al estrujarlos dejen sentir su aroma o el sabor picante que da una impresión de frío que es característico. Las flores son pequeñas y hermafroditas, reunidas en cortos racimos, situados en la parte superior de las ramas con pedúnculos cortos (Jaroslav, 1970; Yapuchura, 2010).

Pertenece a un género de interés botánico, farmacéutico y económico debido a los aceites aromáticos encontrados en las glándulas celulares de las hojas y tallos (Schmidt-Lebuhn, 2009).

#### 2.1.4. TIPOS DE MUÑA

Se indica un total de 12 especies, cuya distribución abarca desde Argentina hasta Venezuela; y en el Perú encontraron 6 especies distribuidas desde el norte (Cajamarca) hasta el sur (Cuzco), con una mayor distribución en la región central, cuyas especies son (Weberbauer, 1945; Jaroslav, 1970):

- *Minthostachys glabrescens*
- *Minthostachys salicifolia*
- *Minthostachys cetosa*
- *Minthostachys spicata*

- *Minthostachys tomentosa*
- *Minthostachys mollis (HKB) griseb*

### 2.1.5. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE MUÑA (*Minthostachys mollis*)

En 100 g. de muña que es de parte comestible se tiene (Azaña, 2010):

- **Componentes mayores:**

- ✓ Agua: 16 ug.
- ✓ Proteínas: 3,20 ug.
- ✓ Grasas: 2,80 ug.
- ✓ Carbohidratos: 66,30 ug.
- ✓ Fibras: 9,40 ug.
- ✓ Cenizas: 11,70 ug.

- **Minerales:**

- ✓ Calcio: 2,24 ug.
- ✓ Fósforo: 269 ug.
- ✓ Hierro: 22,40 ug.

- **Vitaminas**

- ✓ Retinol: 306 ug.
- ✓ Tiamina: 0,35 ug.
- ✓ Riboflavina: 1,81 ug.
- ✓ Niacina: 6,85 ug.
- ✓ Ac. Ascórbico: 21,10 ug.

- **Otros componentes**

- ✓ Acidos débiles: 2,54 ug.
- ✓ Esteres: 14,02 ug.
- ✓ Taninos: Positivo

- ✓ Resinas: Positivo
- ✓ Fenoles: Positivo
- ✓ Alcoholes: Positivo
- ✓ Aldehidos: Positivo
- ✓ Cetonas: Positivo
- ✓ Carbonilo: 22,06 ug.
- ✓ Mentol: 40,42 ug.

### 2.1.6. PROPIEDADES Y USOS

La muña es reconocida tradicionalmente por sus propiedades digestivas contra cólicos, flatulencia (carminativo), vómitos, diarreas; antitusígenas, antiasmático (Fuertes et al., 2001; Sotta, 2000) expectorante, antiespasmódicas, antiséptica, analgésico, antiinflamatorio, febrífugas, en tratamiento de tumores y mezclándola con chilca se empleaba en fracturas. Es excelente contra la halitosis y para combatir jaquecas y soroche. Además es utilizada como condimento para preparar platos típicos (Fuertes et al., 2001).

En el campo agrícola se emplea para la preservación de algunos productos como la papa, del ataque de insectos (Bardales, 1999).

A manera de fumigante orgánico vegetal contra el gorgojo de los andes y como antimoho (Oblitas, 1998).

En el campo pecuario es utilizado para controlar los ectoparásitos y endoparásitos de los animales domésticos, además para curar sarna en equinos y camélidos. En otras zonas de Latinoamérica, principalmente en Argentina, se le emplea para aromatizar y fabricar licores y bebidas (Primo V. et al., 2001).

## **2.2. GENERALIDADES DEL ACEITE ESENCIAL**

### **2.2.1. DEFINICIÓN**

Internacionalmente se define a los aceites esenciales como un producto obtenido por hidrodestilación, destilación por arrastre de vapor, destilación seca o algún otro proceso mecánico sin calor, de toda o alguna parte de la planta (Graca, 2010). Por su parte Camacho et al. (2011) Dice que un aceite esencial es una mezcla de componentes terpénicos volátiles producto del metabolismo secundario de las plantas en cuya composición interviene una proporción de hidrocarburos de la serie polimetilénica del grupo de los terpenos que responden a la fórmula  $(C_5H_8)_n$ , junto con otros compuestos casi siempre oxigenados (sean estos alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos y compuestos fenólicos) que son los que transmiten a los aceites el aroma que los caracteriza. Los más olorosos se encuentran en zonas tropicales, donde la energía solar es grande.

Por otro lado Augusto W. (1975) define a los aceites esenciales como aquellas sustancias caracterizadas por su volatilidad, formadas por agrupaciones de un gran número de compuestos químicos aromáticos. Existen en las diferentes partes de las plantas, siendo estas sustancias no miscibles en agua.

Zekaria (2007) menciona que tras la biosíntesis de la planta, éstos compuestos se almacenan en distintos órganos de la misma. El aceite esencial es guardado como microgotas en las glándulas, aquellos necesitan difundirse hacia el exterior. Para esto el aceite esencial atraviesa las paredes de las glándulas y las microgotas llegan a la superficie, se evaporan y llenan el aire con su perfume.

### **2.2.2. COMPOSICIÓN**

Se considera que los aceites esenciales son químicamente una mezcla compleja y muy variables de hidrocarburos alicíclicos, denominados terpenos y sus derivados oxigenados llamados alcanfores (Marques, 1997).

La composición de los aceites esenciales es diversa. Están principalmente constituidos por hidrocarburos de fórmula  $C_{10}H_{16}$ . En la actualidad se refieren a un gran número de hidrocarburos que aparecen en la naturaleza con fórmula  $(C_5H_8)_n$ , sus derivados y compuestos aromáticos (Ugaz, 1988; Duraffourd et al., 1983).

Los terpenos por su composición, pueden derivar de la condensación de dos moléculas de Isopreno  $C_5H_8$ . En los mismos aceites esenciales, y en otros productos naturales, aparecen compuestos derivados análogamente del Isopreno, de modo que la calificación de terpeno se extiende a todos aquellos, dividiéndolos en hemiterpenos  $C_{10}H_{16}$ , terpenos propiamente dichos, sesquiterpenos  $C_{15}H_{24}$ , diterpenos  $C_{20}H_{32}$  y politerpenos  $(C_5H_8)_n$ , siendo un número elevado (Ugaz, 1988; Diccionario botánico, 1979).

Los productos derivados de los terpenos que tienen oxígeno reciben el nombre de alcanfores, como ejemplo: en los hidrocarburos terpénicos figuran los limonenos, el mirceno, el pineno. Entre los alcoholes terpénicos más importantes, el geraniol (de las esencias de las rosas), citronelo, etc (Ugaz, 1988; Diccionario botánico, 1979).

**a. Propiedades Físicas** (Agapito et al., 2003)

- Líquidos a temperatura ambiente (a diferencia de los aceites “fijos”).
- Muy raramente son coloreados.
- En general, su densidad es inferior a la del agua.
- Poseen un índice de refracción elevado.
- Desvían la luz polarizada.
- Son liposolubles y solubles en los disolventes orgánicos habituales.
- Arrastrables en vapor de agua (muy poco solubles en ella).
- Punto de ebullición es superior a los 100 °C.

## b. Composición Química

Están constituidos por muchas clases de compuestos químicos, algunos por un solo componente en un alto porcentaje y otros por mezclas complejas de compuestos cíclicos aromáticos, alicíclicos, heterocíclicos y derivados oxigenados (Goldsmith, 1967).

Los constituyentes principales de los aceites esenciales son (Goldsmith, 1967):

- **Hidrocarburos:** Mirceno, cinemo, pineno, canfeno, felandreno, bineno, limoneno, cariofileno, geranioleno, santaleno.
- **Alcoholes:** Isoamílico, geraniol, linalol, citronelol, nerodinol, farsenol, terpinol, mentol, borneol, bencílico, fenil-etílico.
- **Fenoles:** Timol, carbacrol, eugenol, vainillina.
- **Aldehidos:** Citral, citronelal, anisaldehido, benzaldehido, cinamadehido.
- **Cetonas:** Alcanfor, carvona, mentona, piperitona, acetato fenona.
- **Eteres:** Anetol, metilchavicol, eucaliptol, ascarodol.
- **Esteres:** Salicilato de amilo, benzoato de metilo, acetato de terpinilo, acetato de geranilo.

### 2.2.3. LOCALIZACIÓN DE ACEITES ESENCIALES EN LAS PLANTAS

Según Miller (1967) 2000 especies de plantas producen aceites esenciales. Las especies que proporcionan mayor cantidad de aceites esenciales pertenecen a las Familias Labiadas, Umbelíferas, Compuestas, Mirtáceas, Laureáceas, Rutáceas y Pináceas. Los aceites esenciales se hallan en regiones circunscritas a la planta; son segregadas por estructuras especializadas como los pelos glandulares, cavidades esquizógenas, etc.

#### **2.2.4. FUNCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES EN LA PLANTA**

Probablemente deben considerarse como productos del metabolismo y que tengan un papel ecológico. Sin embargo; otros estudios han demostrado que los aceites esenciales regulan la transpiración, especialmente al alterar o modificar la actividad calorífica y la presión osmótica, manifiesta que los aceites esenciales son secreciones patológicas como la resina, el bálsamo, etc., sirviendo a la planta como sustancias protectoras contra las enfermedades de los órganos dañados (Guenter, 1960).

- **Influencia de los factores externos en la producción de aceites esenciales**

Diversas investigaciones estudiaron el tipo de influencia de los factores externos y su relación con los aceites esenciales, concluyendo que la luz, el suelo, el clima, la velocidad del viento, etc. determinan su producción (Ricse, 1962; Chobanu, 1976).

#### **2.2.5. EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL**

Para obtener la fracción cromática del material vegetal, a lo largo de los años, se usaron diferentes procesos. Motle (1977) en su estudio consideraba los siguientes métodos:

- a) Extracción por expresión
- b) Extracción por solución
  - Con grasas sólidas y frías
  - Con grasas líquidas y calientes
  - Con solventes volátiles
- c) Extracción por destilación
  - Extracción por destilación con agua caliente
  - Extracción por arrastre de vapor

## 1) Extracción por destilación por arrastre de vapor

Esta técnica resulta una de las más simples y económicas para obtener el aceite esencial de este tipo de planta y en general para cualquier otro. Las ventajas de este método son su simplicidad, bajo costo y el hecho de poder maniobrar grandes volúmenes de materia prima (Alzamora et al., 2001).

Este método se fundamenta en que los aceites esenciales son arrastrados por la corriente de vapor de agua que se genera en la fuente de vapor, luego esta mezcla (vapor de agua y aceite) es condensada mediante su paso por un refrigerante de vidrio, para luego separar el aceite del agua por simple diferencia de densidades. La destilación es una operación farmacéutica que tiene por finalidad separar los principios volátiles (contenidos en una mezcla compleja) de los que no lo son. El equipo de destilación está compuesto por un sistema de destilación de doble balón, en el cual solo uno de los balones que contiene agua, es sometido al calor directo; mientras que el segundo balón que contiene la planta licuada recibe los vapores de agua, para luego liberar el vapor mixto (agua-aceite esencial) hacia el condensador. El método involucra los siguientes pasos (Alzamora et al., 2001):

- a. Selección de las hojas, talluelos y flores en buen estado.
- b. Las hojas se pesan y licúan, para lo cual se utiliza una pequeña cantidad de agua destilada, este luego se deposita en el segundo balón de destilación.
- c. Se activó el sistema al someter a calor directo (mechero de bunsen) el balón de agua destilada.
- d. El destilado se recibió en un depósito estéril y cerrado, aquí se observa un estado difásico entre agua y aceite esencial, debido a la diferencia de densidades. Esto permitió separar el aceite esencial mediante el uso de pipeta Pasteur a viales estériles.
- e. Los aceites esenciales obtenidos luego son esterilizados por filtración con membrana de Millipore de 0,22  $\mu$ ; almacenado a temperatura ambiente y en oscuridad hasta su utilización.

## 2.2.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE ACEITES ESENCIALES

Luego de obtener un aceite esencial se deben hacer determinaciones físicas tales como: densidad, índice de refracción, la polaridad, etc. Se pueden realizar también determinaciones químicas tales como determinación de aldehídos y cetonas, índice de aceto, índice de acidez (número de mg de KOH necesarios para neutralizar los ácidos libres contenidos en 1 g de aceite esencial), índice de éster, contenido de fenoles, etc.

También se tiene en cuenta el análisis por espectrofotometría infrarrojo o cromatografía de gases del aceite esencial para conocer de los componentes químicos que está constituido la mezcla (Camacho et al., 2011).

### A. Análisis Físico-Químicos

Para el control analítico de aceites esenciales se utilizan entre otras las siguientes determinaciones: Densidad, Índice de refracción, etc.

#### ▪ Determinación de la Densidad

El principio en que se basa es la determinación de la masa, de la unidad de volumen expresada en g/mL, a una temperatura dada (20 °C). La densidad se representa por "d". La temperatura se ha de controlar exactamente ya que la densidad de estas materias varía aproximadamente 0,00068 unidades por grado (ISO 279, 1981).

Para determinar la densidad absoluta de un aceite esencial a 20 °C, se entiende el cociente de la masa de un cierto volumen de éste aceite esencial por su volumen, a ésta temperatura. Esta magnitud se expresa en g/cm<sup>3</sup>, y su símbolo es  $\rho_{20\text{ °C}}$ . En cambio para determinar una densidad relativa de un aceite esencial a 20 °C se entiende el cociente entre las densidades absolutas del aceite esencial y del agua, ambas a 20 °C. Esta magnitud no tiene dimensiones y su símbolo es  $d_{20}$ , o bien  $d_{20}$  (Albaladejo, 1999).

- ✓ **Método picnométrico:** Se utiliza un picnómetro normal, o con el termómetro acoplado. El picnómetro ha de estar a la temperatura ambiente. Se llena el picnómetro hasta el borde superior del tubo capilar y se introduce el termómetro, se pesa y se anota la T° de la determinación. Así se calcula la densidad expresada en g/mL y referida a una T° de 20 °C (Albaladejo, 1999).

$$\text{Densidad} = [(P''-P)/(P'-P)] \times D \text{ (g/mL)}$$

P = peso en g del picnómetro vacío.

P' = peso en g del picnómetro lleno con agua a 20 °C.

P'' = peso en g del picnómetro lleno con aceite a 20 °C.

D = densidad del agua a 20 °C.

El valor de la densidad calculado anteriormente puede corregirse del efecto del empuje del aire por la fórmula:

$$\text{Densidad corregida} = d + 0,0012 \times (1-d)$$

Dónde:

La temperatura de la determinación y la T° de referencia se relacionan en la siguiente forma:

d = densidad sin corregir.

d' =  $d + (t - t') \times 0,00068$  si  $t > t'$

d' =  $d + (t' - t) \times 0,00068$  si  $t < t'$

d = densidad a la temperatura de la determinación t.

d' = densidad a la temperatura de referencia t'.

#### ▪ **Determinación del Índice de Refracción**

El índice de refracción de una sustancia dada es la relación entre la velocidad de un rayo de luz en el vacío y la velocidad de la luz a través de la sustancia. Por conveniencia práctica se refiere a la relación aire - sustancia. Es igualmente la

relación del seno del ángulo de incidencia al seno del ángulo de refracción (ISO 280, 1976).

Este parámetro, varía con la longitud de onda del rayo de luz refractado y con la temperatura. Salvo indicación contraria el índice de refracción viene referido a la longitud de onda correspondiente a la línea D 589,3 nm de la luz del sodio. El índice de refracción se indica con la notación  $n'_T$  para  $T$  ( $^{\circ}\text{C}$ ) y longitud de onda de la línea D del sodio. Para otra radiación de distinta longitud de onda a  $T$  ( $^{\circ}\text{C}$ ), la rotación será  $n'\lambda$ .

Con los refractómetros usuales la observación se hace en luz difusa, provistos de un dispositivo de acromatismo de la radiación D de la luz de sodio. Se utiliza un refractómetro de precisión, que permite apreciar las diezmilésimas, con prismas calentados por circulación de líquido termostataado  $\pm 0,1$   $^{\circ}\text{C}$  (Albaladejo, 1999)

Puede usarse luz blanca si el refractómetro utilizado posee un dispositivo de compensación cromática. Se llena con una gota del aceite esencial el espacio comprendido entre los dos prismas, y se lee después de cinco minutos, al menos, de contacto. La  $T^{\circ}$  de lectura es de 20  $^{\circ}\text{C}$ , no debe sobrepasar en  $\pm 2$   $^{\circ}\text{C}$  la temperatura de referencia (Albaladejo, 1999).

## **B. Caracterización espectral por Infrarrojo**

El espectro infrarrojo permite detectar la presencia de grupos hidroxilo, carbonilo, anillos aromáticos, enlaces dobles C=C cis y trans, etc. Para determinar el espectro basta con colocar una gota del componente en una celda de NaCl e introducirla en el espectrofotómetro y se obtiene el espectro infrarrojo en un intervalo de longitudes de onda comprendido entre 4 000 y 626  $\text{cm}^{-1}$  utilizando una celda óptica de cloruro de sodio de 0,025 mm de espesor. (Varo et al., 1970).

## 2.2.7. ACEITE ESENCIAL DE MUÑA

El olor aromático de la muña se debe al contenido de aceite esencial que posee la planta (Kumoro et al., 2010) el cual se encuentra principalmente en las hojas y tallos a 98 %; es un líquido medio amarillento y de sabor picante, obtenido por destilación.

### 2.2.7.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE “MUÑA” (*M. mollis*)

Se muestra las características fisicoquímicas del aceite esencial de muña como (Augusto, 1975; Morales, 1973):

- Aspecto: Líquida, clara, transparente
- Olor: Característico a menta
- Sabor: Picante
- Densidad relativa: 0,92
- Índice de refracción: 1,4699
- Solubilidad en alcohol al 70 %: 5
- Índice de mentona: 33,88 %
- Índice de menta: 22 %
- Índice de acidez: 1,683
- Índice de esterres: 5,819
- Rotación específica:  $-2^{\circ} 45'$
- Índice de éter: 16,80 %
- Contenido de mentol total: 4,042 %
- Solubilidad en etanol: 95 %

### 2.2.7.2. COMPONENTES QUÍMICOS PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys mollis*)

Cerruti y Neumayer (2004) Con respecto a los constituyentes químicos del aceite esencial de muña (*M. mollis*) dicen que existen alrededor de 100 componentes, los cuales pueden ser agruparlos en compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanos, entre otros.

Castañeda (2008) clasifica a estos componentes químicos de una manera distinta: Esencias hidrocarbonadas: monoterpenos (limoneno) y sesquiterpenos; Esencias oxigenadas: ésteres, por ejemplo éster de metilo; aldehídos terpénicos y aldehídos aromáticos (vainillina); cetonas; alcoholes monoterpénicos y diterpénicos (timol, terpineol, mentol, linalol, geraniol, citronelol); fenoles (carvacrol); cetonas (d-carvona); óxidos; compuestos azufrados; compuestos nitrogenados; ácidos; cumarinas; éteres (eugenol, anetol).

Entre los componentes más destacados en este aceite se cuenta con:

- **Pulegona:** Es uno de los componentes terpénicos más importantes de muchos aceites del *Minthostachys*, es altamente tóxico en grandes cantidades, incluso induce al aborto. Su toxicidad explica probablemente el efecto del aceite contra pestes y parásitos. Esta sustancia es usada en perfumería y como saborizante (Castro, 2012; Huari, 2014). Su estructura se muestra en la Figura 1.

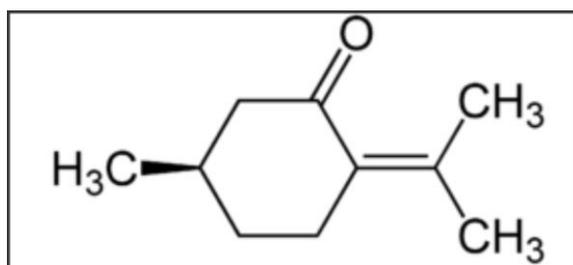


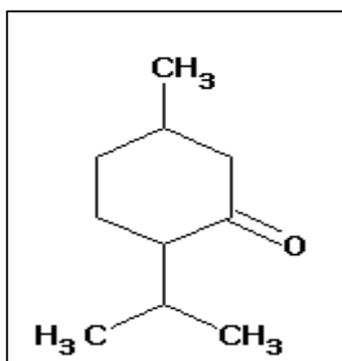
Figura 1. Estructura química de la pulegona.

Fuente: Merck (2012)

- **Mentona:** Es una cetona, de sabor áspero y amargo, más o menos soluble en agua. Se origina por oxidación de alcohol secundario y reducción de metionina. Existe una relación con el mentol. A más mentol, menos Mentona y viceversa junto a la Pulegona conforman el 75 % de componentes terpénicos. Es mejor conocido como constituyente de la *Menta piperita* (Castro, 2012).

Tiene un aroma muy agradable sabor a menta muy característico y se usa en perfumería, pero también tiene propiedades digestivas (Gibaja, 1960).

En la Figura 2 se muestra su estructura cíclica y su radical cetona.



**Figura 2. Estructura química de la mentona.**

**Fuente: Merck (2012)**

- **Mentol:** Se encuentra en pequeñas cantidades. Posee un radical alcohol que da al aceite el sabor y olor (Castro, 2012; Huari, 2014). Es estado puro se presenta en forma de cristal hexagonal, incoloro y brillante. Es un alcohol terpénico monocíclico y saturado, posee tres átomos de carbono asimétricos. Existe en dos formas L-mentol y D-mentol, siendo de mayor interés el primero pues su olor es 3,3 a 3,5 veces mayor que el segundo. Es usado como refrescante y contra el dolor de garganta (Castro, 2012).
- **Carvacrol:** Se han encontrado para ser componentes dominantes en una menor proporción de los estudios de los aceites de *Minthostachys mollis*. Carvacrol también se encuentra en varias hierbas conocidos como el

orégano (*Origanum vulgare*), la ajedrea de verano (*Satureja hortensis*) o tomillo (*Thymus serpyllum*). El más importante de los terpenos de baja proporción (Castro, 2012).

- **Carvona:** Como su nombre lo sugiere, esta sustancia es conocida como un producto de semillas de alcaravea (*Carum carvi*), un Apiaceae. Tiene propiedades digestivas y se utiliza para dar sabor (Gibaja, 1960).
- **Linalol:** Empleado como condimento y como insecticida, linalol es más conocido de cilantro (*Coriandrum sativum*) de la familia Apiaceae. A menudo es uno de los componentes menores del aceite de muña (*Minthostachys mollis*) (Gibaja, 1960).
- **Timol:** Como su nombre lo sugiere, esta sustancia es bien conocida de los aceites de distintas especies de tomillo. Actúa como antiséptico y contra el dolor de garganta y tos. A veces se encuentra como un componente menor en el aceite de muña (*Minthostachys mollis*) (Huari, 2014).

### 2.3. LAS PLAGAS DE GRANOS Y PRODUCTOS ALMACENADOS

Hernandez y Carballo (2014) mencionan que durante el almacenamiento uno de los principales factores que influyen en el deterioro de granos y semillas son los insectos, los cuales dañan los granos por la alimentación directa en el endospermo, causando pérdidas en peso y calidad de los mismos, otras especies de plaga se alimentan del embrión, lo que causa una disminución de la viabilidad. Casini y Santajuliana (2008) estiman que el 5 a 10 % de la producción mundial de granos se pierde a causa de los insectos, lo que equivale a la cantidad de granos necesaria para alimentar a 130 millones de personas anualmente. Según Lagunes (1994) en América Latina, entre 30 y 40 % de la producción de maíz se pierde durante su almacenamiento. De las plagas asociadas a los granos almacenados,

*Sitophilus zeamais* motschulsky se considera la que más daño puede provocar (Arienilmar et al., 2005).

García et al. (2007) menciona que las plagas de maíz almacenado varían de acuerdo con la región, la estación del año y el sistema de almacenamiento.

Villegas (1989) cita que 11 especies de las que atacan al maíz almacenado causan pérdidas considerables principalmente en zonas rurales, con agricultura tradicional, ya que no se utilizan métodos de control adecuado debido a la carencia de recursos económicos; dichas especies son: gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais*, gorgojo de los graneros *Sitophilus granarius*, barrenador menor de los granos *Rhyzopertha dominica*, barrenador mayor de los granos *Prostephanus truncatus*, palomilla dorada *Sitotroga cerealella*, gorgojo castaño de la harina *Tribolium castaneum*, gorgojo confuso de la harina *Tribolium confusum*, gorgojo aserrado *Oryzaephilus surinamensis*, gorgojo plano de los granos *Cryptolestes pusillus*, palomilla bandeada *Plodia interpunctella*, y palomilla del mediterráneo *Anagasta kuehniella*.

Las plagas de maíz almacenado que representan la mayor amenaza a nivel mundial, son las especies de *Sitophilus spp.*, y en menor grado *Sitotroga cerealella*, en tanto que, en zonas secas y tropicales, las especies que causan mayor daño son *Rhyzopertha dominica* y *Tribolium castaneum*.

### 2.3.1. ORIGEN DE LAS INFESTACIONES DE GRANOS

Los insectos tienen diferentes formas de desplazarse y hay especies que tienen una gran capacidad de vuelo, otras las hacen caminando y por último, hay algunas que son más sedentarias. La mayoría de las veces la infestación ocurre en el campo, al ser atacado el grano antes de la cosecha (Ramírez, 1966). En otras ocasiones los insectos son capaces de volar ciertas distancias desde el campo hasta el almacén de grano y viceversa (Williams et al., 1970)

Gutiérrez (1992), menciona que algunas especies son capaces de sobrevivir por largos periodos de tiempo cuando no disponen de suficiente alimento o las condiciones del medio no son desfavorables; cuando las condiciones mejoran o con el advenimiento de nuevas cosechas, dejan su estado de reposo para multiplicarse activamente creando focos de infección, que a su vez, pueden ingresar al almacén en los granos infectados. El origen de las infestaciones de *Sitophilus spp.* En los almacenes, se inicia en el campo antes de la cosecha, y está relacionada con factores climáticos, de los cuales el más importante es el porcentaje de humedad del medio.

González et al. (1986) determinaron que cuando la precipitación disminuye, la infestación por *Sitophilus zeamais* aumenta en condiciones de campo. Otra causa de infestación por los insectos es cuando permanecen en el almacén remanentes de semillas o harina de temporadas pasadas, por lo que la presencia de infestaciones se da fácilmente (Pérez, 1988).

### 2.3.2. CLASIFICACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE LAS PLAGAS

Los insectos que se alimentan de granos por lo general son clasificados en tres categorías (Ramírez, 1990) que son:

- **Plagas primarias:** Son insectos que tienen la capacidad de romper la cubierta externa de los granos y penetrarlos o también pueden ovipositar sobre el grano y al emerger la larva ésta perfora y se alimenta de la semilla como son; *Sitophilus zeamais* Motschulsky (L), *Sitophilus orizae* (L), *Sitophilus granarius* (L), *Acanthoscelides obtectus* (Say), *Zabrotes subfasciatus* (Bohemian), *Prostephanus truncatus* (Horn), *Rhyzopertha dominica* (F), *Plodia interpunctella* (Hubber) (Gutiérrez, 1992).
- **Plagas secundarias:** Son insectos que se desarrollan después de existir el daño en el grano por plagas primarias, normalmente se alimentan de harina

y granos rotos y/o perforados por plagas primarias como son; *Tribolium castaneum* (Herbst), *Tribolium confusum* (Duval), *Orizaephilus surinamensis* (L), *Cryptolestes pusillus* (Schonherr) (Gutiérrez, 1992).

- **Plagas terciarias:** Se desarrollan después de que los insectos primarios y secundarios han efectuado su daño, se alimentan de impurezas, granos quebrados, residuos dejados por los otros insectos y algunos se alimentan de los hongos desarrollados en el grano que se ha deteriorado. Por lo tanto se considera a *Sitophilus zeamais* como una plaga primaria (Ramírez, 1990).

#### 2.3.2.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL GORGOJO DEL MAÍZ (*sitophilus zeamais*)

El gorgojo del maíz, *S. zeamais* durante mucho tiempo se consideró como una raza o “línea grande” del gorgojo del arroz, siendo ahora reconocido como una especie distinta. Es ligeramente más grande (arriba de 2 mm de longitud) y más oscuro que el gorgojo adulto del arroz; el grado de variación dentro de cada especie hace difícil la separación de estos. El tórax del gorgojo del maíz esta densa y uniformemente punteado, con hoyos redondeados (Bacopulos, 2003).



**Figura 3.** Imagen del gorgojo de maíz.

**Fuente:** Meikle et al. (1999)

### a) Descripción del gorgojo de maíz (*Sitophilus zeamais*)

Los nombres comunes de este insecto son; gorgojo y/o picudo del grano de maíz. Su nombre científico es *Sitophilus zeamais* Motschulsky (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Esta especie de insectos se considera de las más destructiva y común de todas las especies que atacan los granos almacenados como, sorgo, maíz, arroz en cáscara y cereales menores. Esta especie tiene las antenas en forma de codo, peculiar de los curculiónidos. Los adultos miden de 2,5 – 4 mm de largo y son de color café a negruzco (café rojizo cuando están recién eclosionados) (Matute y Trabanino, 1999).

El pronoto es casi tan largo como los élitros, los élitros tienen ranuras longitudinales. El adulto de *S. zeamais* presenta cuatro manchas amarillentas o rojizas en los élitros y sólo pueden diferenciarse por sus genitales de *S. oryzae*. (Matute y Trabanino, 1999).

### b) Origen y distribución

Existe confusión en cuanto al origen de este insecto, se cree que es originario de la India, lugar del cual se fue distribuyendo en todo el mundo convirtiéndose en insecto cosmopolita (Metcalf y Flint, 1976).

En cuanto a su distribución, se ha registrado su presencia en Asia Oriental, Península Arábiga, en las zonas productoras de maíz de África, Argentina, en los estados del sur de Estados Unidos. En Australia fue reportado por Champ y Cribb (1965), en Japón fue reportado por Kiritani (1965).

En México García (1992) reporta la presencia de *S. zeamais* en los estados de Aguascalientes, Campeche, Coahuila, Edo de México, Guerrero, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, Tabasco, Veracruz, Yucatán, por lo que reviste de gran importancia, debido a que se encuentra diseminado en los estados de mayor producción de maíz.

García (1992) reporta que en términos generales *Sitophilus zeamais*, *Sitotroga cerealella* y *Tribolium castaneum* son actualmente las tres plagas más importantes de los granos y productos almacenados.

### c) Clasificación taxonómica

El gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) se clasifica como a continuación se describe (Borror et al., 1981):

Reino : Animal

Phylum : Artropoda.

Clase : Insecta.

Subclase : Pterigota.

Orden : Coleóptero.

Suborden : Pollyphaga.

Super familia : Curculionoidea.

Familia : Curculionidae.

Subfamilia : Rhynchophorinae.

Género : *Sitophilus*.

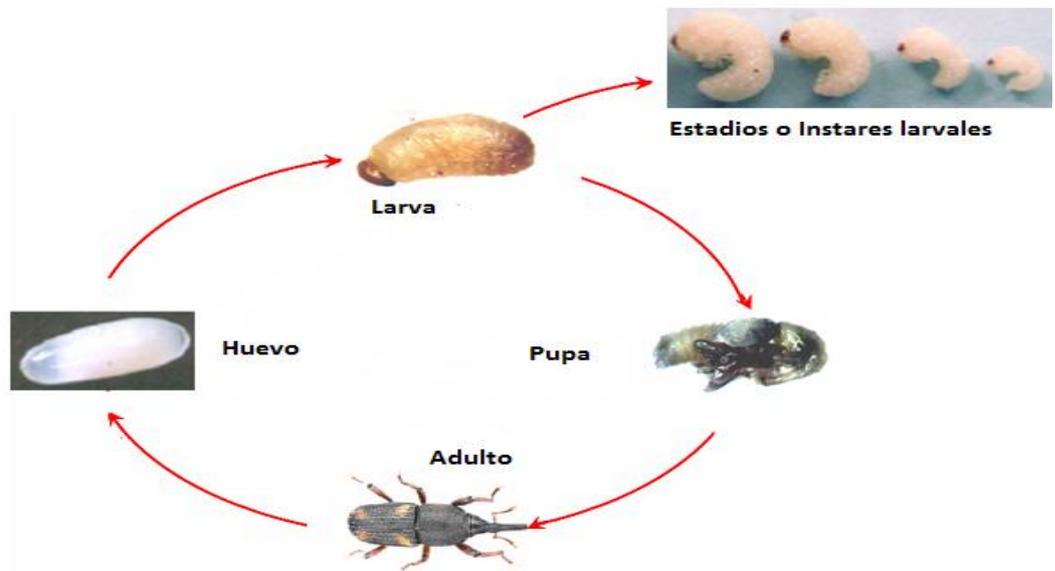
Especie : *zeamais*

### d) Descripción morfológica

El gorgojo del maíz (*S. zeamais*) es de metamorfosis completa, su ciclo de vida comprende cuatro etapas de desarrollo que van desde huevecillo, larva, pupa hasta llegar a adulto.

- ✓ **Huevo:** El huevecillo rara vez se observa ya que se desarrolla en el interior del grano infestado donde se alimenta, es en forma de pera u ovoide de un color blanco opaco, ensanchado de la parte media hacia abajo y con todo redondeado, mide aproximadamente 0,7 mm de largo y 0,3 mm de ancho (Ramírez, 1990). También indica que la incubación de huevecillos dura aproximadamente dos semanas (Lagunes y Villanueva, 1995).
- ✓ **Larva:** La larva es un gusano pequeño de 2,5 a 2,75 mm de largo, blanco aperlado; de cuerpo grueso y apodo, con cabeza pequeña de color café claro, más larga que ancha y cuneiforme; centralmente casi recta y dorsalmente muy convexa. Pasa por cuatro estadios larvales, el estadio larvario dura aproximadamente cinco semanas (Ramírez, 1990).
- ✓ **Pupa:** La pupa es de color blanco pálido al inicio hasta tornarse a color café claro al final, mide de 2,75 mm a 3 mm, presenta proboscis larga dirigida hacia la parte anterior y las patas dobladas hacia la parte anterior y las patas dobladas hacia el cuerpo (Ramírez, 1990).
- ✓ **Adulto:** El adulto mide de 2,5 mm a 4,5 mm de longitud, es de color café oscuro, cuerpo cilíndrico y alargado, cabeza prolongada en un pico o proboscis curva y delgada, antenas acodadas y de 8 segmentos, alas funcionales, el protórax densamente marcado con punturas del pronoto son más de 20 a lo largo de la línea media del cuello al escutelum (Pérez, 1988; Ramírez, 1990; García, 1992).

El adulto es muy semejante en forma al gorgojo de los graneros pero difieren en color y marcas, además de que este tiene bien desarrolladas el segundo par de alas (Ramírez, 1990).



**Figura 4. Ciclo de vida del gorgojo de maíz.**

**Fuente: Meikle et al. (1999); García et al. (2007)**

#### **e) Biología y Hábitos**

La hembra perfora el grano con su aparato bucal y oviposita individualmente los huevecillos dentro del grano y posteriormente lo cubre con una sustancia gelatinosa, una hembra oviposita de 200 a 500 huevecillos durante todo su periodo de vida, dependiendo de la temperatura los huevecillos eclosionan. A temperaturas de 18 - 20 °C eclosionan entre los 3 y 5 días y cuando la temperatura es mayor a 20 - 30 °C eclosionan de 2 a 3 días, luego emergen y completan su desarrollo, la larva pasa por cuatro estadios utiliza mezcla de desechos y secreciones para construir la celda pupal, donde se tarda de 3 a 6 días dependiendo del medio ambiente, al emerger el adulto es sexualmente maduro al término de ocho a diez días permanece dentro del grano varios días antes de dejarlo (Pérez, 1988; García, 1992).

Bajo condiciones de laboratorio la temperatura es uno de los factores que afecta el desarrollo de este insecto el rango de temperatura para su desarrollo es entre 26 a

30 °C su ciclo de vida dura de 30 a 42 días bajo condiciones favorables (Sedlacek et al., 1991).

Appert J. (1993) menciona que las larvas que viven en el interior de la semilla, producen daños invisibles. Los orificios de salida de los adultos son agujeros irregulares de un milímetro y medio de diámetro que van del exterior de la semilla con sus perforaciones que es lo que causa realmente el daño. El gorgojo del maíz representa un destructor de primera para los cereales almacenados, sobre los que provoca altas pérdidas, deterioro de la calidad y permite la instalación de infestaciones de hongos y/o bacterias.

Pérez (1988) señala que con un promedio de 2 insectos por grano ocasionan un 18,3 % de pérdidas en 48 días.

### 2.3.3. MÉTODOS DE CONTROL

Existen varios métodos para combatir las plagas de almacén entre ellos se pueden mencionar los siguientes:

- **Control cultural**

Dentro de las acciones de control cultural se hace el uso de varios métodos tradicionales como las que a continuación se mencionan (Matute y Trabanino, 1999):

- ✓ Asoleo periódico del grano, humo y mezcla del grano con materiales como ceniza, arena, tierra de diatomea y aceites.
- ✓ Evitar daños en el campo por gusanos eloteros y pájaros, ya que retarda la entrada del picudo.
- ✓ Las cosechas tempranas disminuyen el tiempo de exposición al ataque de *S. zeamais* en zonas de alta incidencia.
- ✓ Limpiar los lugares de almacenamiento, los que deben estar libres de gorgojos y derrame de granos antes de almacenar el producto.
- ✓ Evite colocar los sacos con grano directamente en el piso; use tarimas.
- ✓ Evite almacenar en sacos viejos y rotos.

- **Control biológico**

Brower et al. (1996) mencionan una amplia gama de depredadores que atacan a las plagas de granos almacenados. Las familias más importantes son coleópteros depredadores: Carabidae, Staphylinidae e Histeridae pero los depredadores más comunes encontrados son las chinches de la familia Anthocoridae y específicamente *Xylocoris flaviceps*.

Existen parasitoides que atacan al género *Sitophilus* entre ellos se encuentran algunas especies pertenecientes a la familia Pteromalidae (Orden: Hymenóptera) como son: *Anisopteromalus calandrae* Howard, *Chaetespila elegans* Westwood y *Lariphagus distinguendus* Foerster. Sin embargo no son agentes de control biológico efectivo ya que su ciclo de vida es más corto que el de sus hospedantes y tienen baja capacidad reproductiva.

- **Control genético**

El uso de variedades genéticamente en nuestro país, se busca que el maíz sea resistente al ataque de plagas. Se descubrió tres nuevos tipos de plantas resistentes al gorgojo del maíz (*S. zeamais*), donde se ha encontrado que el ácido fenolito endurece las capas externas del núcleo, haciendo menos apetecible para el gorgojo del maíz, ya que estas sustancias atacan a los carbohidratos de la membrana celular con otros, consolidando el tejido fino y proporcionando así una primera capa de defensa (García et al., 2007).

- **Control fitogenético**

Las variedades de maíz con hojas largas y fuertes son más resistentes al ataque en el campo, mientras que las variedades de maíz y sorgo con endospermo suave son más susceptibles al ataque de gorgojo en almacenaje. Estas son alternativas de control, a pesar de no ser debidamente explotada, es una posibilidad viable para reducir el ataque de estos insectos (Salas, 1984).

- **Control Físico – mecánico**

Almacenar en recipientes cerrados como barriles o silos metálicos evita la entrada de adultos y en ocasiones muere por falta de aire dentro del recipiente. (Matute y Trabanino, 1999).

Moreno (1996) menciona que la mayoría de los insectos que destruyen los granos almacenados no pueden desarrollarse en productos agrícolas cuyos contenidos de humedad estén en equilibrio con humedades relativas inferiores a 40 %.

Antes de almacenar el grano, se debe secar a menos del 12 % de humedad, ya que ésta reduce la tasa de ovoposición y el desarrollo posterior del insecto. También puede asolearse el grano para que alcance más de 40 °C, lo cual favorecerá la emigración de los adultos, este método generalmente no acaba con los huevecillos ni con las larvas y no debe utilizarse como práctica única. El mezclar cal y/o ceniza utilizando el 20 % del peso del grano, funciona como abrasivo al raspar la cutícula de los insectos, que mueren por pérdida de humedad. También inhibe la penetración de adultos por que la mezcla ocupa los espacios entre granos. Su uso se recomienda cuando no se tiene un químico disponible ni apropiado (Matute y Trabanino, 1999).

- **Control autocida**

Brown et al. (1972) realizaron estudios con radiación gamma sobre pupas de *S. zeamais* con una dosis de 5 a 10 krad, esterilizando completamente a los adultos que emergieron de ellas.

- **Fumigantes**

Stadler et al. (1990) mencionan dentro del grupo de fumigantes utilizados para el control de plagas de almacén a la fosfina y al bromuro de metilo.

- **Control químico**

La idea de combatir a los insectos plaga con productos químicos no es del todo nueva; por ejemplo, el azufre se utilizó desde el año 1000 a. C.; y Plinio, en el año 79 d. C. señalaba el uso de arsénico como insecticida; y en el siglo XVI, los chinos ya aplicaban compuestos de arsénico con este propósito.

En la actualidad el uso de productos químicos para controlar plagas de granos almacenados ha progresado desde el uso de productos inorgánicos de principio de siglo a la aparición y uso de un gran número de compuestos orgánicos altamente efectivos (Bond, 1973).

En 1958 en los EE.UU. por primera vez es utilizado el malation para controlar plagas de productos almacenados iniciándose así una era de combate efectivo contra estas plagas y aún en nuestros días el malation es uno de los productos más utilizados (Haliscak et al., 1983).

## **2.4. INSECTICIDAS**

### **2.4.1. RESISTENCIA A INSECTICIDAS**

En términos generales, la resistencia es una disminución de la mortalidad observada en una población sometida a un tratamiento constante. En el caso particular de insecticidas se aplica a una población susceptible que después de haber sido controlada con un insecticida con dosis “normales” estas dejan de ser efectivas para su control, por lo que la resistencia es el desarrollo de un carácter, por la alta presión de selección de una población normalmente susceptible a un insecticida en particular.

El desarrollo de la resistencia de alguna especie o dentro de ellas, puede ser rápida, lenta o no presentarse en ciertas circunstancias. Este desarrollo está directamente relacionado con la presión de selección aplicada a una población de una especie dada (Moorefield, 1959).

### a) Tipos de resistencia

La resistencia puede ser de dos tipos: por comportamiento y fisiológica, dentro de esta última existen tres tipos de resistencia que son: disminución en la penetración, incremento en la detoxificación (metabólica) y cambios en el sitio de acción (no metabólica). La disminución en la penetración, llamada por algunos investigadores resistencia morfológica, se refiere a las barreras externas o integumentos de los insectos, que ocasiona una disminución en la velocidad de penetración del tóxico y permiten que algunos individuos no sean eliminados por el insecticida y la descendencia de estos herede esas características (Moorefield, 1959).

Se conocen cuatro tipos principales de mecanismos que incrementan la detoxificación o resistencia metabólica, estos son: incremento en la función oxidativa mixta (FOM), incremento en actividad de la glutatión S-transferasa (GHS), actividad alterada de las ali-esterasas, y Dicloro difenil tricloroetano (DDT) de hidrocliclorinasa (Herrera, 1958).

Existen tres clases importantes de resistencia no metabólica a insecticidas son: alteración de la acetilcolinesterasa ó ACE-insensible, en organofosforados y carbamatos (resistencia al derribo) en los organoclorados y piretroides, y el gen de resistencia a ciclodienos.

Las Enzimas detoxificadoras son (Herrera, 1958):

- **FOM**

Las diferentes reacciones que afectan el metabolismo primario de los insecticidas y otros compuestos extraños son producidas por oxidaciones, las cuales juegan un papel muy importante en la actividad biológica o toxicidad que tiene un material.

Muchos insecticidas piretroides y organofosforados son metabolizados por FOM; en organofosforados los resultados son complejos y difíciles de

predecir debido a que la reacción puede aumentar ó disminuir la toxicidad dependiendo del insecticida en cuestión (Herrera, 1958).

- **Esterasas**

El principal mecanismo de resistencia de lo organofosforados consiste en la desintoxicación por las enzimas que hidrolizan al insecticida, estas enzimas pueden ser hidrolizadas, fosfortriesterasas que pueden romper la cadena esterdifosfato, y que dando como resultado la formación de fosfuros, que contienen metabolitos, que se ionizan a un pH neutro y pierden la habilidad de inhibir a la acetilcolinesterasa. En el caso particular de resistencia al malation, ésta se caracteriza por tener un incremento en el nivel de carboxiesterasas, las cuales atacan el grupo carboxietil de este insecticida, con lo cual disminuye su actividad toxica (Herrera, 1958).

#### **b) Factores que afectan el desarrollo de resistencia**

La rapidez en el desarrollo de la resistencia de los insectos a uno o varios insecticidas depende de muchos factores. Parkin (1965) menciona dos factores principales, la naturaleza de la especie y las técnicas utilizadas para el control químico.

Con respecto a la naturaleza de la especie se puede citar: el potencial genético de la población de insectos, el tiempo que tarda el ciclo de vida, ya que los insectos de ciclos cortos son los que presentan un desarrollo de resistencia más rápido, otro aspecto importante son los estados de desarrollo a los que se dirige el tratamiento, debido a que es más acelerado cuando más de un estadio es sujeto a presión de selección y cuando no existe inmigración de individuos susceptibles.

En el caso de granos almacenados existen varios factores, que probablemente contribuyen al retraso en la aparición de resistencia entre las poblaciones de campo e insectos de granos almacenados. En primer lugar la mayoría de estos insectos tienen pocas generaciones al año, a diferencia, por ejemplo de los

mosquitos; las aplicaciones de insecticidas de contacto son superficiales y con frecuencia incompletas, por lo que no hay una alta presión de selección. Los tratamientos rara vez cubren todas las bodegas en una localidad por lo que hay una dilución de la población que desarrolla resistencia, con las poblaciones susceptibles cercanas, además existe un gran movimiento dentro y fuera de las bodegas, por lo que grandes volúmenes de producto tratado, junto con su fauna, son más frecuentemente reemplazados con nuevos insectos susceptibles (Parkin, 1965).

### c) Métodos de detección de la resistencia

La detección de la resistencia a insecticidas se logra mediante pruebas de susceptibilidad a insectos también llamados bioensayos. Los bioensayos se basan en pruebas de dosis o concentración-mortalidad, lo que usualmente se realizan en laboratorios. Sin embargo, estos tienen serias limitaciones, ya que requieren un gran número de insectos, de muestras a procesar y los resultados se pueden obtener mucho tiempo después (Bacopulos, 2003).

- **Métodos directos:** Hay gran diversidad de tipos dependiendo del insecto, insecticida a evaluar y el objetivo del mismo; consiste en la aplicación de una dosis única a un animal o en el incremento del estímulo en un periodo de tiempo, generalmente buscando una respuesta fisiológica. Nos permite detectar el nivel de la resistencia y de la homogeneidad genética de la población en su respuesta al tóxico, lo cual se observa en los valores de la posición de la línea y de la pendiente de la recta de regresión, obtenida mediante el procedimiento Probit; así a mayor pendiente mayor homogeneidad de la población, es decir, que poseen los mismos genes de resistencia y en la misma proporción entre individuos (Bacopulos, 2003).
- **Métodos indirectos:** Principalmente bioquímicos. Estos métodos consisten en la aplicación de una dosis a una muestra representativa, de

manera que los resultados se atribuyen al total de la población; correlacionan un alto nivel de una enzima a una relación enzimática específica, la resistencia comprobada en cierta colonia de insectos pueden ser cualitativos o cuantitativos, generalistas o específicos, según la metodología utilizada (Lagunes y Villanueva, 1995).

#### **2.4.2. TOXICIDAD**

Gamez y Ramírez (2008), indica que la toxicidad es la capacidad de una sustancia de causar algún efecto nocivo sobre organismos vivos, depende de:

- Cantidad administrada o absorbida
- Vía de ingreso al organismo
- Distribución a lo largo del tiempo después de su administración.
- Naturaleza y severidad del daño producido.
- Tiempo necesario para producir el efecto.

##### **a. Categorías y clasificación de la toxicidad**

Las categorías de toxicidad se refieren a una calificación arbitraria de las dosis o niveles de exposición que causan efectos tóxicos. Se habla así de “sumamente tóxico”, “muy tóxico” y “moderadamente tóxico”. Lo más frecuente es que estas expresiones se apliquen a la toxicidad aguda. La clasificación de la toxicidad se refiere a la agrupación de las sustancias químicas en categorías generales conforme a su efecto tóxico principal. Se habla así de sustancias alergénicas, neurotóxicas y carcinógenas. Los tóxicos son definidos por la OHSAS (Administración para la seguridad y salud ocupacional) como un producto químico (Gamez y Ramírez, 2008).

##### **b. Relación dosis - efecto**

Es la relación entre la dosis y el efecto a nivel individual. Un incremento de la dosis puede incrementar la intensidad de un efecto o su gravedad. Puede obtenerse

una curva de dosis - efecto a nivel de todo el organismo, de la célula o de la molécula (Gamez y Ramírez, 2008).

### **c. Relación dosis - respuesta**

Es la relación entre la dosis y el porcentaje de individuos que presentan un determinado efecto. Al incrementarse la dosis lo normal es que aumente el número de individuos afectados en la población expuesta. Pueden establecerse varias curvas de dosis-respuesta respecto de una misma sustancia química (una curva para cada tipo de efecto). En la mayoría de los efectos tóxicos, cuando se estudian en poblaciones grandes, la curva de dosis-respuesta tiene una forma sigmoidea. La curva de dosis-respuesta refleja las variaciones entre individuos de una misma población. La pendiente de la curva varía según la sustancia química de que se trate y también entre los diferentes tipos de efectos, está representado por una región NOEC (Sin concentración de efecto observado) que representa la dosis o concentración más alta a la cual no se observa ningún efecto y la región LOEC (Concentración de efecto más baja observada) que representa la concentración mínima donde aún se observa efecto de mortalidad (Gamez y Ramírez, 2008).

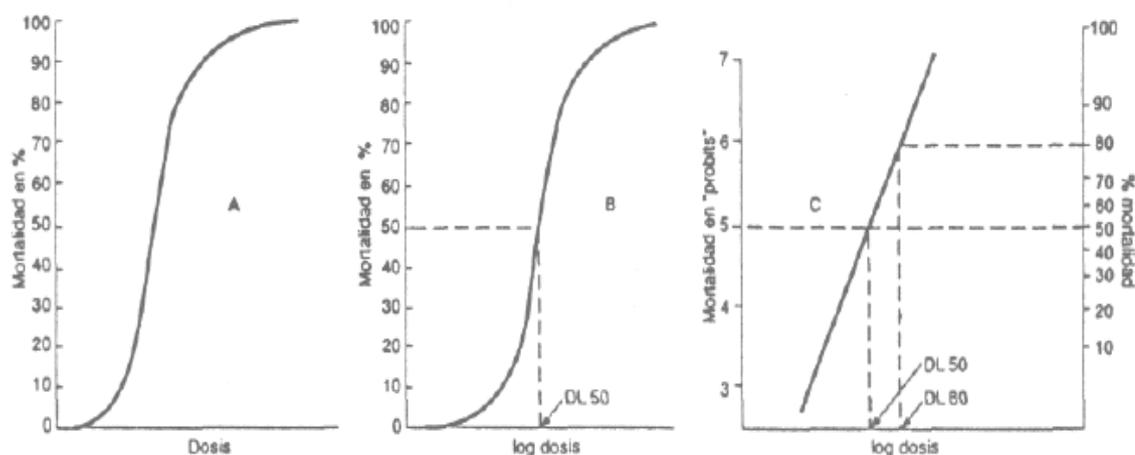
### **2.4.3. TOXICIDAD CONTRA LOS INSECTOS**

Para que un insecticida cause la muerte de un insecto debe afectar un sistema vital de su organismo. Así por ejemplo, las piretrinas, la nicotina, los insecticidas orgánicos sintéticos fosforados, carbamatos y piretroides afectan el sistema nervioso; los tiocianatos afectan el aparato respiratorio; los arsenicales destruyen la pared intestinal; y los insecticidas clorados orgánicos afectan procesos nerviosos axónicos. Otros insecticidas modernos afectan los procesos de muda o de quitinización del integumento (Beingolea, 1958).

### a. Expresión de la toxicidad: Dosis Letal Media

El grado de toxicidad de un insecticida contra una población de insectos se expresa como *Dosis Letal Media* ( $DL_{50}$ ); esto es la cantidad de insecticida requerida para causar la muerte del 50 % de un grupo representativo de insectos. La dosis letal media puede expresarse en cantidad de insecticida por individuo, digamos microgramos por larva o por insecto adulto; o en forma más precisa, en cantidad de insecticida por unidad de peso del insecto. Así por ejemplo, se dice que la  $DL_{50}$  del paratión para la cucaracha americana es de 1,2 microgramos por gramo de peso vivo del insecto adulto. Para calcular la dosis letal media de un producto debe determinarse primero la *Curva de toxicidad* o *Curva de regresión dosis-mortalidad* (Figura 5), es decir aquella línea que relaciona las dosis que se ensayan con las mortalidades que se obtienen.

Para lograr una línea de regresión recta, las dosificaciones se expresan en logaritmos y los porcentajes de mortalidad en unidades probit. Con la línea de regresión dosis - mortalidad no solamente se puede determinar la dosis que causa la mortalidad del 50 % de la población ( $DL_{50}$ ), sino también las que corresponden a otros porcentajes de mortalidad. Las líneas de regresión dosis mortalidad facilitan las comparaciones entre los grados de toxicidad de diversos productos insecticidas y permiten detectar los cambios que pueden producirse en el grado de susceptibilidad de los insectos con el tiempo o con el lugar (Melgar, 1978).



**Figura 5.** Expresiones graficas de la relación dosis - mortalidad de un insecticida sobre una población de insectos. A) Curva sigmoidea asimétrica obtenida originalmente. B) Curva sigmoidea simétrica al expresar la dosis en escala logarítmica. C) Curva dosis - mortalidad convertida en una línea recta al expresar la mortalidad en unidades probits y la dosis en escala logarítmica.

*Fuente: Melgar (1978)*

### **b. Evaluación del tóxico**

La toxicidad de los insecticidas se expresa usualmente en términos de  $DL_{50}$  (dosis letal cincuenta); ésta representa la cantidad de toxico por unidad de peso que mata el cincuenta por ciento de los animales empleados en la prueba, en los casos en los que solo se sabe cuál es la cantidad de insecticida que rodea al organismo (Bacopulos, 2003).

### **c. Introducción a la interpolación cuadrática**

Un problema que se presenta con frecuencia en las ciencias experimentales y en ingeniería es tratar de construir una función (denominada “función interpolante”) de la que se conoce una serie de datos (denominados “datos de interpolación”). Estos datos pueden ser fruto de las observaciones realizadas en un determinado

experimento en el que se relacionan dos o más variables e involucran valores de una función y/o de sus derivadas. El objetivo será determinar una función que verifique estos datos y que además sea fácil de construir y manipular. Por su sencillez y operatividad los polinomios se usan frecuentemente como funciones interpolantes (Poveda, 2016).

### Generalidades

Un problema de interpolación en general puede enunciarse de la siguiente forma: Dado un conjunto de datos, generalmente valores de una función y/o sus derivadas en determinados puntos  $x_i$ ,  $i = 0, 1, \dots, n$ , que llamaremos nodos, nuestro objetivo es construir otra función que coincida con la función dada en los datos de interpolación (Poveda, 2016).

Según el tipo de los datos de interpolación, podemos considerar los siguientes tipos de interpolación (Poveda, 2016):

- Interpolación de Lagrange: Conocemos los valores de la función  $f(x_i)$  en  $n+1$  puntos distintos  $x_i$ ,  $i = 0, 1, \dots, n$
- Interpolación de Taylor: Los datos son el valor de la función y sus derivadas sucesivas en un punto  $x_0$  hasta el orden  $n$ .  
$$f^{(i)}(x_0), i = 0, 1, \dots, n.$$
- Interpolación de Hermite: Disponemos de los valores de una función y de algunas de sus derivadas sucesivas en determinados puntos. Por ejemplo,  $f(x_i)$  y  $f'(x_i)$  en  $n + 1$  puntos distintos,  $x_i$ ,  $i = 0, 1, \dots, n$

En general, las funciones interpolantes forman un espacio vectorial de dimensión finita, es decir son del tipo:

$$\Psi(x) = a_0 \Psi_0(x) + a_1 \Psi_1(x) + \dots + a_n \Psi_n(x),$$

Donde  $\Psi_0(x), \Psi_1(x), \dots, \Psi_n(x)$ , son funciones dadas que forman base del espacio vectorial correspondiente y  $a_i$ ,  $i = 0, 1, \dots, n$  números reales a determinar.

Dependiendo del tipo de funciones que utilicemos como funciones interpolantes, la interpolación se llamará polinómica, racional, trigonométrica, spline polinomial. Entre las diferentes funciones interpolantes, por su sencillez y facilidad para operar, los polinomios son los utilizados con mayor frecuencia en problemas de interpolación, en este caso las funciones de base son  $\Psi_i(x) = x^i$ ,  $i = 0, 1, \dots, n$ . Sin embargo, no siempre dan una respuesta satisfactoria, especialmente si la solución del problema requiere el uso de polinomios de alto grado o, por ejemplo, si se observa un comportamiento periódico en los datos de interpolación. Por simplicidad, nos centraremos en este Tema en el estudio del caso particular de la interpolación polinómica de Lagrange (Poveda, 2016).

#### **d. Bioensayo**

El bioensayo se emplea para determinar la toxicidad de las sustancias químicas con supuestas propiedades tóxicas. Sus objetivos son: determinar la eficiencia de varios tóxicos contra una población de insectos; la susceptibilidad de diferentes razas o especies de artrópodos a un tóxico y la determinación de la cantidad de un tóxico en un sustrato. El bioensayo tiene 2 componentes: el estímulo y la respuesta (Lagunes y Villanueva, 1995).

El estímulo (químico, físico o eléctrico), es el agente que produce una respuesta y la respuesta (la muerte, un nivel enzimático, la temperatura, etc.) es el efecto o manifestación que produce la aplicación del estímulo (Lagunes y Villanueva, 1995).

#### **▪ Criterios para un buen Bioensayo**

- ✓ Que la dosis sea precisa (cantidad aplicada).
- ✓ Seguridad en la determinación de la respuesta (vivo o muerto).
- ✓ Que el medio donde se realiza el bioensayo tenga condiciones estables durante el desarrollo del estudio.

- ✓ Que el método permita diferenciar al cambiar la dosis.
- ✓ Que el método sea reproducible.
- ✓ Uso de la fórmula de Abbott (1925) para corregir la mortalidad natural en caso de muerte en el testigo.

$$MC = [(X - Y) / (100 - Y)](100)$$

Dónde:

**MC:** Mortalidad corregida (%)

**X:** Mortalidad en el tratamiento (%)

**Y:** Mortalidad en el testigo (%)

En general cuando se obtiene más del 15 % de mortalidad en el testigo, los resultados deben desecharse o repetirse.

- **Tipo de Bioensayo**

- ✓ **Método de Aplicación Residual**

Aplicación residual es donde el tóxico se aplica al ambiente donde se encuentra el organismo de prueba. El de exposición residual es otra forma de dejar el insecto expuesto al insecticida, pues el insecticida diluido en un solvente se aplica sobre una superficie y después se ponen en contacto con los insectos, el solvente se evapora y solo queda el insecticida impregnado a la dosificación deseada (Lagunes, 1994).

Efecto residual de insecticidas formulados sobre distintas superficies. Se impregnan superficies de vidrio o papel con la dilución del formulado insecticida tal que la concentración de principio activo sobre la superficie sea la recomendada para el control en campo (Lagunes, 1994).

## 2.4.4. GRUPOS QUÍMICOS DE INSECTICIDAS

### 2.4.4.1. INSECTICIDAS ORGANOFOSFORADOS

Las reacciones del alcohol con el ácido fosfórico se estudiaron por primera vez por Lassaigue en 1820, hasta este año se remonta la Química Orgánica del fósforo. El desarrollo de esta clase de insecticidas fue realizado en Alemania por el investigador Shrader, quien produjo los gases nerviosos altamente activos como el tabun y el sarin. Dentro de este grupo está el malation, el pírifos metílico, diclorvos (Dosis Diaria Vital Promedio: DDVP) este último es para control de plagas de granos, A este mismo grupo pertenece el fenitrothion utilizado para tratamiento de estructuras y pisos (Cremlyn, 1995).

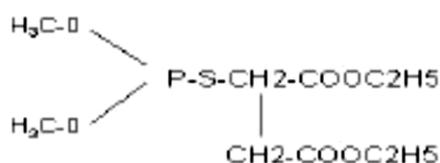
Los primeros insecticidas fosfóricos pertenecían a ésteres sencillos del ácido fosfórico, por ejemplo el Tetraetil Pirofosfato (TEPP), HETP a los que se añadió posteriormente el parathion (Barbera, 1996).

La mayoría de los organofosforados, actúan como insecticidas de contacto, fumigantes y de acción estomacal, pero también se encuentran materiales sistémicos, que cuando se aplican al suelo y las plantas son absorbidos por hojas, tallos, corteza y raíces, circulan en la savia haciéndola tóxica para los insectos que se alimentan al succionarla (Ponce y Cantú, 2006).

#### a) Modo de acción de los insecticidas organofosforados

Los compuestos insecticidas organofosforados inhiben aparentemente la acción de varias enzimas; pero la actividad más importante es contra la enzima acetilcolinesterasa. Esta enzima verifica la hidrólisis de la acetilcolina que se genera en las uniones nerviosas, en la ausencia de acetilcolinesterasa efectiva la acetilcolina liberada se acumula e impide la transmisión continua de impulsos nerviosos a través del espacio sináptico nervioso. Esto ocasiona la pérdida de coordinación muscular, convulsiones y finalmente la muerte (Cremlyn, 1995).

- **Malation:** Es un insecticida y acaricida de contacto muy importante y ampliamente usado para el control de varios insectos plaga en una amplia variedad de cultivos. Fue importante en la historia del desarrollo de los insecticidas organofosforados, ya que se trata del primer miembro de este grupo que mostró un buen espectro de acción insecticida (Cremlyn, 1995).
  - ✓ **Modo de acción:** Es un Ester del ácido fosfórico de efecto fumigante que inhibe enzima acetil colinesterasa en la sinopsis nerviosa de efecto irreversible.
  - ✓ **Recomendaciones de uso:** En polvo seco se usa en locales para espolvorear paredes, techos, pisos, (Quiroz, 2005).
  - ✓ **Dosis Letal Media (DL<sub>50</sub>):** 1,375 – 2,800 mg/kg.



**Formula molecular:** C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>PSO<sub>6</sub>

**Peso molecular:** 299

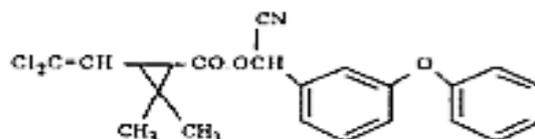
**Dónde:** C = 10; H = 1; P = 31; S = 32; O = 16

*Figura 6. Estructura química del malation.*

*Fuente: Quiroz (2005)*

- **Cipermetrina:** Es un insecticida acaricida piretroide, presenta un uso agrícola, urbano, industrial pecuario y domestico es un producto ligeramente persistente (1 a 4 semanas), del tipo toxicológico III, este compuesto es eliminado rápidamente del ambiente, presenta un potencial de moderado a alto de bioacumulación, en condiciones de uso moderado no representa un peligro para el ambiente debido a su rápida descomposición (Ponce y cantú, 2006).

- ✓ **Recomendaciones de uso:** Es importante realizar una buena aplicación y ver que el producto entre en contacto con el insecto, con el objeto de obtener así un máximo de eficacia en el tratamiento (Quiroz, 2005).
- ✓ **Dosis Letal Media (DL<sub>50</sub>):** 2,97 mg/kg.



**Formula molecular:** C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>O<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>

**Peso molecular:** 416

**Dónde:** C = 12; H = 16; N = 14; Cl = 35,5

**Figura 7. Estructura química del cipermetrina**

**Fuente:** Quiroz (2005)

- **Clorpirifosetil:** El clorpirifos viene como concentrado emulsionable, por lo que se debe diluir de acuerdo a la dosis recomendada para el tratamiento de granos y semillas de almacén (Zamora, 2003).  
El clorpirifos presenta actividad de amplio espectro, por contacto, ingestión o acción de los vapores y además es un insecticida no sistémico. Este insecticida retiene su actividad en el suelo de 2 a 4 meses y es valioso contra larvas de mosquitos y de la mosca común, es moderadamente persistente (Cremlyn, 1995).
- **Organoclorados:** Este grupo se caracteriza por presentar en su molécula átomos de carbono, hidrógeno, cloro y ocasionalmente oxígeno, así mismo contienen anillos cíclicos y heterocíclicos de carbono, son sustancias apolares y lipofílicos que conllevan poca reactividad química (Ponce y cantú, 2006).

Los compuestos organoclorados son altamente estables, característica que los hace valiosos por su actividad residual contra insectos y a la vez peligrosos debido a su prolongado almacenamiento en la grasa de mamíferos (Ponce y cantú, 2006).

Uno de los principales efectos del toxico sobre el sistema nervioso es interferir el flujo de iones, específicamente del cloro, que es regulado por el ácido gamma aminobutirico lo que aumenta la irritabilidad del tejido nervioso (Llanes y Gómez, 2006).

- **Endosulfan:** Es el pesticida organoclorado más utilizado por los países industrializados. A diferencia de otros organoclorados su uso es frecuente y su empleo en áreas de agricultura intensiva es una práctica habitual. (Llanes y Gómez, 2006).

Por su constitución química, el endosulfan pertenece a la serie de los insecticidas derivados del bicloroheptano junto con el telodrin, ciclodán y bromadán (Ponce y Cantú, 2006).

- **Piretroides:** Son insecticidas de contacto y se obtienen a partir de las cabezas florales de *Crysantenum cineraria folium*. Los ingredientes activamente más altas se producen en las variedades que crecen en los altiplanos de Kenia (Cremllyn, 1995).

Típicamente los insecticidas piretroides son ésteres del ácido crisantémico que tienen un alto grado de lipofilia (solubilidad en grasas).

Los investigadores Staudinger y Rusicka en 1924, fueron los que aclararon la constitución de los piretroides. Las piretrinas I y II, cinerinas I y II y la jasmolina II fueron descubiertas por estos autores. A partir de estos principios condujeron al estudio para desarrollar piretrinas sintéticas que junto con las naturales constituyen los piretroides (Barbera, 1996).

- ✓ **Modo de acción de Piretroides:** Las piretrinas y piretroides aumentan su actividad insecticida a bajas temperaturas, esto significa que presentan un coeficiente negativo de temperatura, estos afectan tanto al sistema nervioso central como al periférico de los insectos. Los piretroides estimulan inicialmente las células nerviosas produciendo repetidas descargas y eventualmente casos de parálisis. Estos efectos son causados por acción en los canales de sodio, a través de los poros por donde se permite la entrada a los axones para causar la excitación. Estos efectos son producidos en el cordón nervioso de los insectos, los cuales presentan ganglios y sinapsis.

El efecto de los piretroides es más pronunciado que el dicloro difenil tricloroetano (DDT). El sitio exacto de acción de los piretroides en la sinapsis no es conocido, pero es probable que la acción toxica de los piretroides es bloquear el axón nervioso. En esencia, los piretroides son moduladores en los canales de sodio. Donde el veneno interfiere en los canales de sodio del sistema nervioso central y periférico, provocando repetidas descargas nerviosas, provocando parálisis y la muerte (Ponce y Cantú, 2006).

- **Deltametrina:** Es un insecticida del grupo de los piretroides, la cual tiene un uso agrícola, urbano, industrial pecuario y doméstico, la deltametrina se degrada fácilmente en el ambiente, generando compuestos menos tóxicos, es ligeramente toxico y no causa daños a las aves, su cociente de peligrosidad es bajo (indicador de mortalidad en el campo) debido en parte a su acción repelente sobre varias especies de insectos. Algunas plagas pueden generar resistencia a este compuesto (Ponce y Cantú, 2006).

### **III. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **3.1. DESARROLLO EXPERIMENTAL**

El presente proyecto de investigación se desarrolló en la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac - Facultad de Ingeniería – Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial en la provincia de Abancay del departamento de Apurímac. La planificación y la organización para la utilización de los equipos, materiales y otros fueron en los Laboratorios de Biotecnología Agroindustrial y Química de dicha institución.

#### **3.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

##### **3.2.1. MATERIALES**

###### **a. Materiales, insumos y reactivos**

- Hojas de muña secas
- Maíz amarillo
- Malation en polvo (insecticida comercial)
- Pipetas de vidrio (1, 5 y 10 mL)
- Embudo de vidrio
- Embudo de plástico
- Pera de decantación de vidrio (125 mL)
- Vasos de precipitado de vidrio (30, 250, 500 mL)
- Frascos de vidrio ámbar (30 mL)
- Placas petri de vidrio
- Frascos de vidrio cap. 1 L
- Probetas de 10 mL
- Picnómetro 10 mL
- Micropipeta de 10 – 100 uL

- Varilla de vidrio
- Soporte universal
- Jeringas delgadas 10 mL
- Mascarillas
- 1 paquete de papel filtro Whatman n°01
- Alcohol líquido a 96 %
- Limpiador líquido
- Franela
- Tela de color blanco
- Paquete de guantes de polietileno
- Marcador color negro
- Papel toalla

#### **b. Equipos e instrumentos**

- Termohidrómetro marca API.
- Equipo de destilación con arrastre de vapor
- Espectrofotómetro infrarrojo modelo Nicolet IS10 – TERMO SCIENTIFIC y software OMNIC Suite, para espectroscopia FT-IR
- Plancha de calentamiento eléctrica marca CAT.
- Balanza Analítica marca OHAUS – TRAVELER con cap. 300 g.
- Refractómetro Abbe marca ATAGO.
- Balanza analítica de precisión marca SARTORIUS con 0,0001 g de precisión.

#### **3.2.2. POBLACIÓN Y MUESTRA**

- **Población:** Se tuvo una población de *Sitophilus zeamais* almacenado de 3 kg maíz traídos del mercado de las américas de la provincia de Abancay.
- **Muestra:** Se trabajó con 10 gorgojos en cada una de las concentraciones por triplicado tomándose al azar y del mismo tamaño, para las pruebas en

el aceite esencial de hojas de muña como para el insecticida comercial (malation).

### **3.2.3. MÉTODOS**

#### **3.2.3.1. *Extracción y caracterización del aceite esencial de hojas muña.***

La extracción del aceite esencial se realizó mediante el método por arrastre con vapor de agua. Por el cual se siguió el siguiente procedimiento:

##### **A. Recolección de la especie de muña**

La especie de muña fueron recolectadas del Santuario Nacional del Ampay cerca de la localidad de Kerapata – distrito de Tamburco – provincia de Abancay – departamento de Apurímac, se revisó que la planta esté frondosa, verde y fresca.

##### **B. Secado y deshojado de la especie de muña**

Después de la recolección de la especie de muña fueron trasladadas a un ambiente fresco con temperatura 21 °C (en sombra), y extendiéndolas sobre un plástico por un periodo de 96 horas, cuando ya se encontraban secas se separó las hojas de sus tallos de forma manual.

##### **C. Selección y pesado de las hojas de muña**

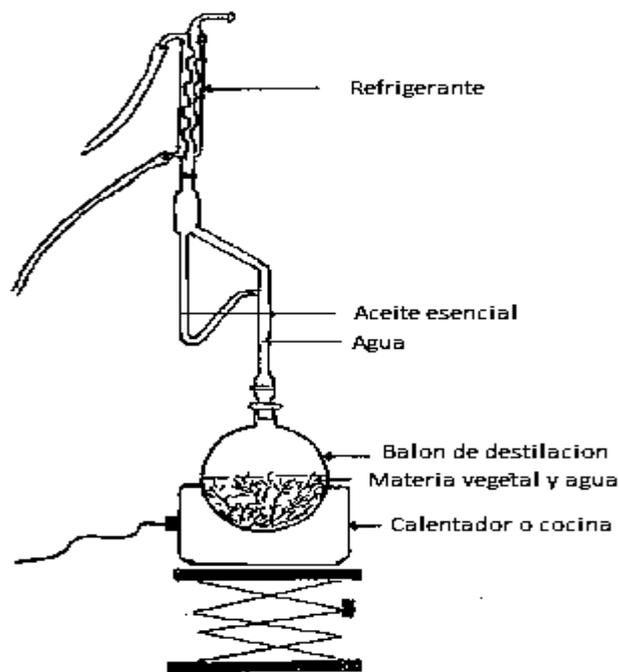
Se seleccionó las hojas secas de tallos pequeños que quedaron después del deshojado y se pesó en una balanza analítica de precisión 0,001 g., luego se tomó la anotación de la cantidad para realizar la extracción.

##### **D. Extracción del aceite esencial de hojas de muña**

Se realizó mediante un destilador por arrastre de vapor de agua como se muestra en la Figura 8, que consta de un balón de destilación de capacidad de 2 L, una

cocina eléctrica, un condensador o refrigerante, una pera de decantación con capacidad 125 mL.

En este equipo se trabajó con una relación de 1:10 lo que quiere decir que por cada gramo de hojas secas de muña se utilizó 10 mL de agua en el balón de destilación donde es calentado por una plancha de calentamiento a una temperatura de 80 °C y un tiempo de 2 horas, el vapor de agua con el aceite que sale de este equipo se traslada hacia el refrigerante donde se enfría y finalmente el aceite extraído pasa hacia la pera de decantación, es ahí donde se separa las dos fases entre el agua y el aceite.



**Figura 8. Equipo de destilación por arrastre de vapor.**

**Fuente: Ouadi et al. (2014)**

### **E. Decantación del aceite esencial**

Se decantó la solución que sale después del proceso de extracción (aceite esencial de muña y agua) mediante una pera de decantación, para esto se deja reposar por 10 minutos y luego se procede a decantar la mezcla (agua y aceite); primero se

retira el agua que no es tan denso a un vaso de precipitado de 250 mL y el aceite se queda en la pera de decantación de 125 mL, este aceite fue traspasado a un frasco de vidrio ámbar para que no se volatilice el aceite ni se degrade por reacciones fotosensibles.

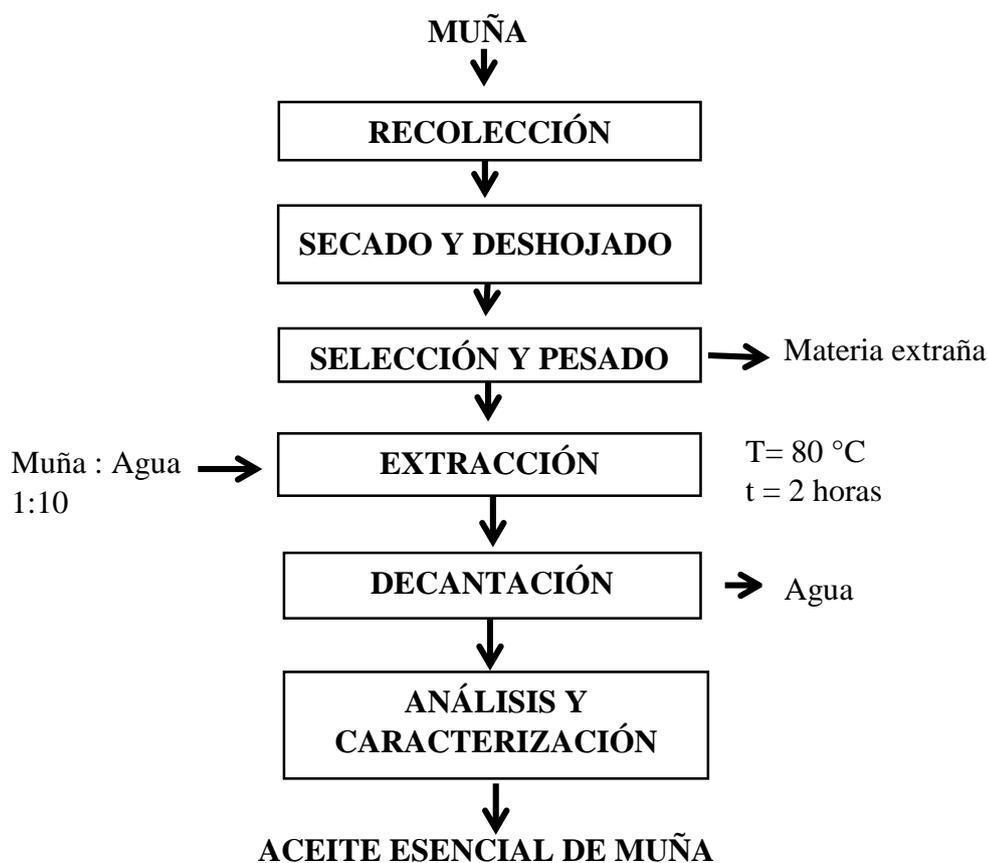
El aceite obtenido para que sea deshidratado se le puso en contacto con nitrógeno gaseoso y a este se le realizó todas las pruebas de caracterización.

#### **F. Análisis y caracterización del aceite esencial**

Al aceite deshidratado que se obtuvo en la operación anterior, se procedió a hacer un análisis físico determinando su rendimiento, densidad y el índice de refracción; también se realizó la caracterización sensorial: olor, color, sabor y aspecto del aceite esencial de hojas de muña.

En el análisis químico se realizó la caracterización del aceite esencial a temperatura ambiente, mediante el equipo espectrofotómetro infrarrojo FT-IR modelo Nicolet IS10 – TERMO SCIENTIFIC (realiza el barrido espectral en FT-IR: Espectro Infrarrojo con Transformada de Fourier, la cual lee espectros de compuestos en función de la absorbancia en el rango mediano de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  de longitud de onda) este barrido espectrofotométrico identifica los componentes con un porcentaje de coincidencia que presenta la muestra, luego el aceite restante se guardó en el mismo envase de vidrio ámbar en refrigeración a 4 °C.

Como se muestra en la Figura 9 el proceso de destilación por arrastre de vapor, de acuerdo al método de Camacho et al. (2011) con modificaciones:



**Figura 9. Diagrama de flujo de extracción de aceite esencial de muña.**

**Fuente: Camacho et al. (2011) con modificaciones.**

Para el análisis se realizaron las siguientes determinaciones:

- **Caracterización sensorial del aceite esencial de hojas de muña:**

Para el análisis sensorial del aceite esencial de hojas muña extraída se utilizó el método adaptado de Dixit (2006) la cual consistió en agregar en un vaso de precipitado pequeño de capacidad de 30 mL el aceite que se encuentra en el frasco ámbar para la inspección visual en cuanto al color y aspecto. Para el caso del olor se colocó una pequeña tira de papel filtro de 2 cm de largo por 1 cm de ancho; se realizó la impresión llevando al olfato la tira de papel. El proceso para el sabor fue similar pero en este caso se llevó el papel al paladar para identificar de qué aspecto presentaba.

▪ **Caracterización física del aceite esencial de hojas de muña:**

✓ **Determinación del rendimiento**

**Procedimiento:** para la determinación del rendimiento se realizó la relación entre la cantidad de materia prima de hojas de muña seca que se pesó con anterioridad y el volumen del aceite esencial de hojas de muña después del proceso de extracción. El rendimiento ( $R_{a.e}$ ) del aceite esencial de hojas de muña se determinó en base seca por el método gravimétrico – volumétrico tomando en cuenta la siguiente expresión (Juárez et al., 2010):

$$\% R_{a.e} = [\text{Vol}_{a.e} (\text{mL}) / P_{m.s} (\text{g})] \times 100$$

Dónde:

$R_{a.e}$  : Rendimiento del aceite esencial

$\text{Vol}_{a.e}$  : Volumen del aceite esencial obtenido en mL.

$P_{m.s}$ : Peso de la muestra en base seca a destilar en g.

✓ **Determinación de la Densidad Relativa.**

**Procedimiento:** para determinar la densidad del aceite, primero se pesó en una balanza analítica el picnómetro vacío y cerrado el envase; luego se llenó el picnómetro con aceite esencial de hojas de muña y se lleva a pesarlo a la balanza analítica, además se toma en cuenta cantidad de aceite que se encontraba en el picnómetro. Esta determinación se llevó a cabo empleando la Norma Técnica Peruana: NTP 319.081 (1974). La densidad relativa es la relación entre la masa del aceite esencial y su propio volumen. La cual se determinó por la siguiente expresión:

$$\text{Densidad} = [(P'' - P)/(V)] (\text{g/mL})$$

Dónde:

P: peso en g del picnómetro vacío.

P": peso en g del picnómetro lleno con aceite a 20 °C.

V: volumen del aceite a 20 °C.

✓ **Determinación del Índice de Refracción.**

**Procedimiento:** Previamente se limpió con alcohol al 96 % el refractómetro marca ATAGO y se calibró con agua destilada; luego se tomó aproximadamente 0,3 mL del aceite esencial y se colocó encima de la lámina del refractómetro se procedió a leer el índice de refracción del aceite. Esta determinación se realizó empleando la Norma Técnica Peruana: NTP 319.075 (1974). La cual el Índice de Refracción de un aceite esencial es la relación del seno del ángulo de incidencia al del ángulo de refracción, de un rayo luminoso de longitud de onda determinada, que pasa del aire al aceite esencial, manteniendo una temperatura constante.

### 3.2.3.2. *Crianza y selección de gorgojos de maíz*

El proceso de crianza de los gorgojos en el laboratorio de Biotecnología Agroindustrial duro 9 semanas desde que son huevos hasta llegar a ser adulto. Se realizó de la siguiente manera:

#### **A. Recepción de los granos de maíz**

Se recibió 3 kilos de maíz amarillo seco, que fueron comprados del mercado las Américas - provincia de Abancay – departamento de Apurímac, se revisó que estas se encuentren sanas y enteras.

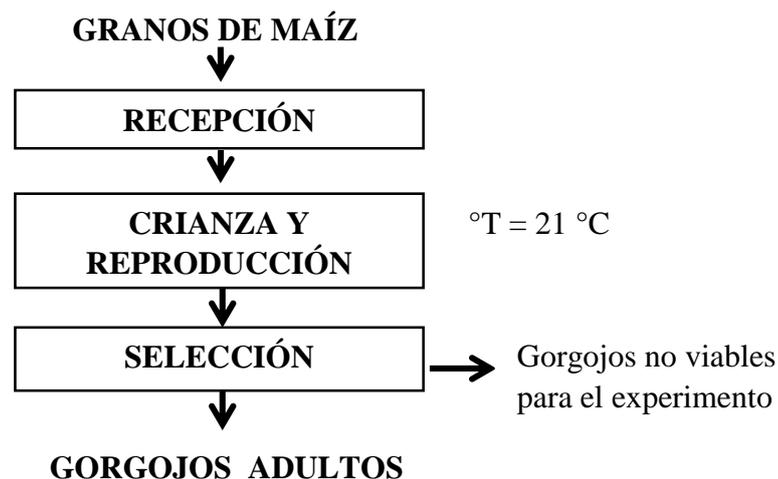
#### **A. Crianza y reproducción de gorgojos en los granos de maíz**

Seguidamente a envases de vidrio (frascos) de capacidad 1 L se agregó los granos de maíz que se recibió con anterioridad y en esta misma se agregó tres granos infestados por estos insectos (gorgojos de maíz) y cada uno de ellos fueron

tapados con una tela que contenía pequeños orificios para que los gorgojos puedan respirar, desarrollarse y reproducirse más rápido, siempre a temperatura ambiente (21 °C). Se dejó en el envase durante 9 semanas hasta llegar a ser adultos para realizar las pruebas.

### B. Selección de gorgojos

Mediante una tela blanca que se extendió en la mesa se dispersó el contenido del frasco donde se encontraban los gorgojos de donde se seleccionaron los gorgojos adultos, luego los gorgojos fueron dispuestos en un sobre de papel, se colocó 10 gorgojos vivos y de tamaño uniforme por cada sobre, con la finalidad de hacer las pruebas de mortalidad del aceite esencial de muña.



**Figura 10.** Diagrama de flujo para obtención de gorgojos de maíz.

#### 3.2.3.3. Dosificación del aceite esencial de muña y el insecticida (Malation) en el gorgojo de maíz

##### A. Recepción del aceite esencial de muña y el malatión (insecticida comercial)

Se recibió el aceite esencial de muña que con anterioridad se extrajo, el cual se encontraba en un frasco de vidrio ámbar; también se recibió el Malation

que estaba contenido en una bolsa de polipropileno, este malation es un insecticida comercial que se encuentra en forma de polvo y con él se comparó el efecto insecticida del aceite de muña.

### B. Dosificación

Para este procedimiento se tomaron placas Petri de vidrio donde fueron colocadas cortes de papel filtro de 1,3 x 1,3 cm y con ayuda de una micropipeta se le agrego volúmenes de aceite esencial de muña, estos volúmenes adicionados corresponden a concentraciones que fueron calculadas de acuerdo a corridas preliminares y corresponden a rangos que van desde 1 hasta 7 ug de peso de aceite esencial / ug de peso corporal de gorgojo como se detalla en la Tabla 20 del Anexo C. Seguidamente por cada placa se agregó 10 gorgojos vivos.

Luego para realizar un estudio de comparación del efecto biocida del aceite esencial frente a un insecticida comercial (muestra patrón), se preparó las mismas concentraciones para el insecticida (Malation) de acuerdo a la dosificación que se indica en la Tabla 1.

**Tabla 1. Volúmenes y pesos empleados para la experimentación.**

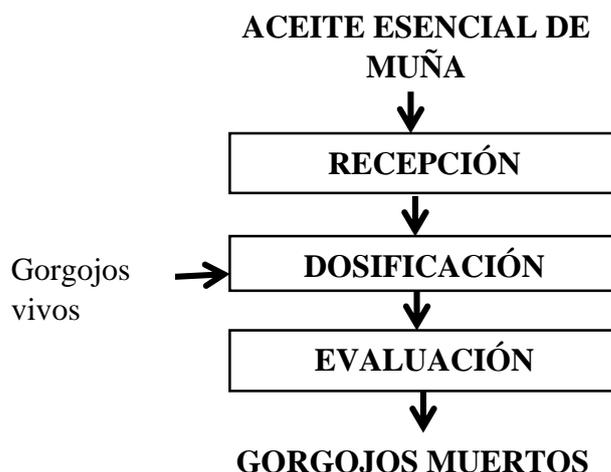
Nombre científico	Nombre común	Volúmenes o pesos
<i>Minthostachys mollis</i>	Aceite esencial de muña	10 uL, 20 uL, 30 uL, 40 uL y 50 uL
Muestra patrón	Dietil succinato (dimetoxifosfinotioiltio)	Malation en polvo al 4 % de pureza
		0,016 g; 0,048 g; 0,08 g lo que representa (10 uL, 30 uL y 50 uL)

Con ayuda de esta tabla se procedió a realizar la comparación del efecto del aceite esencial de hojas de muña frente a un insecticida comercial, lo que determinara la efectividad biocida del aceite esencial.

## A. Evaluación

Tasa de mortalidad: Para esta evaluación se dispusieron todas las placas que contienen aceite e insectos, sobre una superficie blanca y se controló el tiempo en el que mueren los gorgojos hasta llegar al 100 % de letalidad, tanto en aquellas placas que contiene el aceite esencial de muña como para el control que era el malation, se probaron 5 concentraciones de aceite esencial y de malation (Tabla 1), por triplicado, también se controló la temperatura en la que se está desarrollando el experimento.

Dosis letal media ( $DL_{50}$ ) : Una vez que se cuenta con las tasas de mortalidad a cinco concentraciones distintas, se seleccionó el tiempo en el que se llega al 50 % de letalidad en todas las concentraciones, de tal manera que se pueda interpolar resultados; para esto se tomó el tiempo promedio de letalidad del 50 % de la población y se evaluó este tiempo que es fijo a 5 diferentes concentraciones, de esos resultados que fueron ploteados, se despeja la dosis letal media haciendo uso de la ecuación de la recta resultante. (Adaptado de Galvao et al., 2015; Bibi et al., 2008).



*Figura 11.* Diagrama de flujo de dosificación para evaluación del  $DL_{50}$ .

### 3.2.3.4. *Determinación de la característica sensorial (olor) del grano de maíz*

Para determinar la característica organoléptica – olor, primero se conoció la dosis letal media del aceite esencial de muña y con ello un volumen lo que representa en microlitros, a esta cantidad se le agrego al maíz; con ello recién se realiza la calificación. Esta variable fue calificada mediante pruebas afectivas con grupo de panelistas, donde se usó una cartilla de evaluación (Ver anexo B).

**Tabla 2. Descripción de la calificación para la determinación de la característica organoléptica olor en el control orgánico del gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*), con aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*).**

CARACTERÍSTICA	DESCRIPCIÓN
<b>Agradable</b>	El grano de maíz amarillo presenta un olor a muña casi imperceptible y de buen aroma.
<b>Desagradable</b>	El grano de maíz amarillo presenta un olor extraño a muña, no es similar al de un grano normal.
<b>Indiferente</b>	El grano de maíz amarillo no presenta un olor al aceite de muña ni tampoco al olor del grano normal.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA

#### 4.1.1. Análisis de características físicas del aceite esencial de hojas de muña

Las principales características físicas que presenta el aceite esencial de hojas muña extraído, se muestra a continuación:

##### a. Características organolépticas del aceite esencial de hojas de muña

Las características organolépticas que se determinó del aceite esencial obtenido de hojas de muña se muestran en el Tabla 3.

**Tabla 3. Características organolépticas del aceite esencial de muña.**

Característica	Aceite esencial de hojas de muña
Color	Ligeramente amarillo
Olor	menta muy fuerte
Sabor	Astringente
Aspecto	Líquido medio viscoso

Como se observa en el Tabla 3, el color, olor, sabor y aspecto general fueron evaluados para el aceite esencial de hojas de muña que fue obtenido por hidrodestilación o arrastre de vapor, estas hojas provinieron del Santuario Nacional del Ampay – provincia de Abancay; los resultados muestran coincidencias con algunos investigadores, así; Beltrán (1983) reporta características organolépticas para aceite esencial de hojas de muña, obtenida por arrastre de vapor, e indica que el color del aceite esencial es amarillento, el olor semejante al mentol, de sabor picante y con aspecto líquido viscoso.

Del mismo modo Aquino (2007) en un estudio de extracción de aceite esencial de muña por arrastre de vapor y Fuertes y Munguía (2001) que comparan aceites esenciales de muña de diversos pisos ecológicos en Perú, señalan el color del aceite presenta una tonalidad amarillenta, olor a mentol, y que es un líquido de viscosidad media.

El olor a menta encontrado puede ser resultado a la presencia de mentona en el aceite esencial, estudios de caracterización estructural de este aceite efectuado por (Cano, 2007) menciona que este principio activo se encuentra dentro de la composición del aceite esencial de hojas de muña; y el sabor astringente se debería a la fuerte presencia de terpenos en este aceite esencial como la pulegona, timol, mentol, entre otros.

#### **b. Rendimiento del aceite esencial de muña ( $R_{ae}$ )**

En el presente trabajo de investigación se ha encontrado un rendimiento de 1,23 %, para el aceite esencial de hojas de muña en muestra seca, este rendimiento fue calculado por el método gravimétrico-volumétrico

$$\% R_{a.e} = 1,23 \%$$

Respecto a este resultado algunos autores han encontrado valores de rendimiento en el siguiente orden, Morales (1973): 2,13 % para hojas de muña, mientras que según Aquino (2007), el rendimiento para el aceite esencial de muña que reporto es de 2 – 2,5 %, Arauco et al. (2010) encontró un rendimiento de 0,6 % con la salvedad que este autor utilizo otro método de extracción que no es el arrastre por vapor, si no utilizo el método por extracción soxhlet y es probable que en el proceso de purificación del solvente usado haya perdido muestra.

Por otro lado Camacho et al. (2011) reporta un rendimiento del aceite esencial de hojas de muña por arrastre de vapor de 0,1 a 1 % del peso seco. Las variaciones encontradas por los diversos autores y en esta investigación, puede deberse a que se usaron muñas de diferentes eco tipos y de distintas regiones, además de diferentes estaciones del año y sobre todo al grado de humedad de la muestra

inicial, sin embargo, todos los resultados coinciden con datos bibliográficos que indican que el aceite esencial en un vegetal no sobrepasa el 3 % en la composición de ese vegetal.

### c. Índice de refracción y densidad del aceite esencial de hojas de muña

Las características de índice de refracción y densidad del aceite esencial de muña se muestran en el Tabla 4.

**Tabla 4. Características fisicoquímicas del aceite esencial de hojas de muña.**

Característica	Valor
Índice de refracción (18,7 °C)	1,4905 ± 0,00035
Densidad Relativa (20,0 °C)	0,9165 g/mL ± 0,0001

De la Tabla 4, se observa que la densidad relativa del aceite esencial de hojas muña es de 0,9165 g/mL y que el índice de refracción es de 1,4905. Estos datos concuerdan con Seguil (1990), quien reporta que la densidad relativa del aceite extraído de hojas de muña fue de 0,9295 g/mL, y que el índice de refracción que encontró este autor fue de 1,5689 a temperatura ambiente.

Otros autores también reportan datos de caracterización de aceite esencial de hojas de muña. Por ejemplo Fuertes y Munguía (2001) reporta valores para el aceite esencial de hojas de muña desde 1,4725 hasta 1,4746 de Índice de refracción.

Menciona la bibliografía que a mayor índice de refracción el aceite contendrá mayor cantidad de terpenos bencénicos hidrolizados, y a la inversa si el índice de refracción del aceite esencial de muña es menor se debe a la mayor presencia de compuestos monoterpénicos (Beltrán, 1983).

Estas características fisicoquímicas encontradas en el aceite esencial de muña extraída, posiblemente indicarían que el aceite esencial que se obtuvo, poseen mayores compuestos terpénicos oxigenados para ambos resultados, lo cual será verificado por el espectro infrarrojo de esta muestra.

#### 4.1.2. Análisis de características químicas del aceite esencial de hojas de muña

##### a. Caracterización por espectrofotometría infrarroja FT-IR del aceite esencial de hojas muña

A continuación se presenta el espectro infrarrojo con transformada de Fourier, para el aceite esencial de muña.

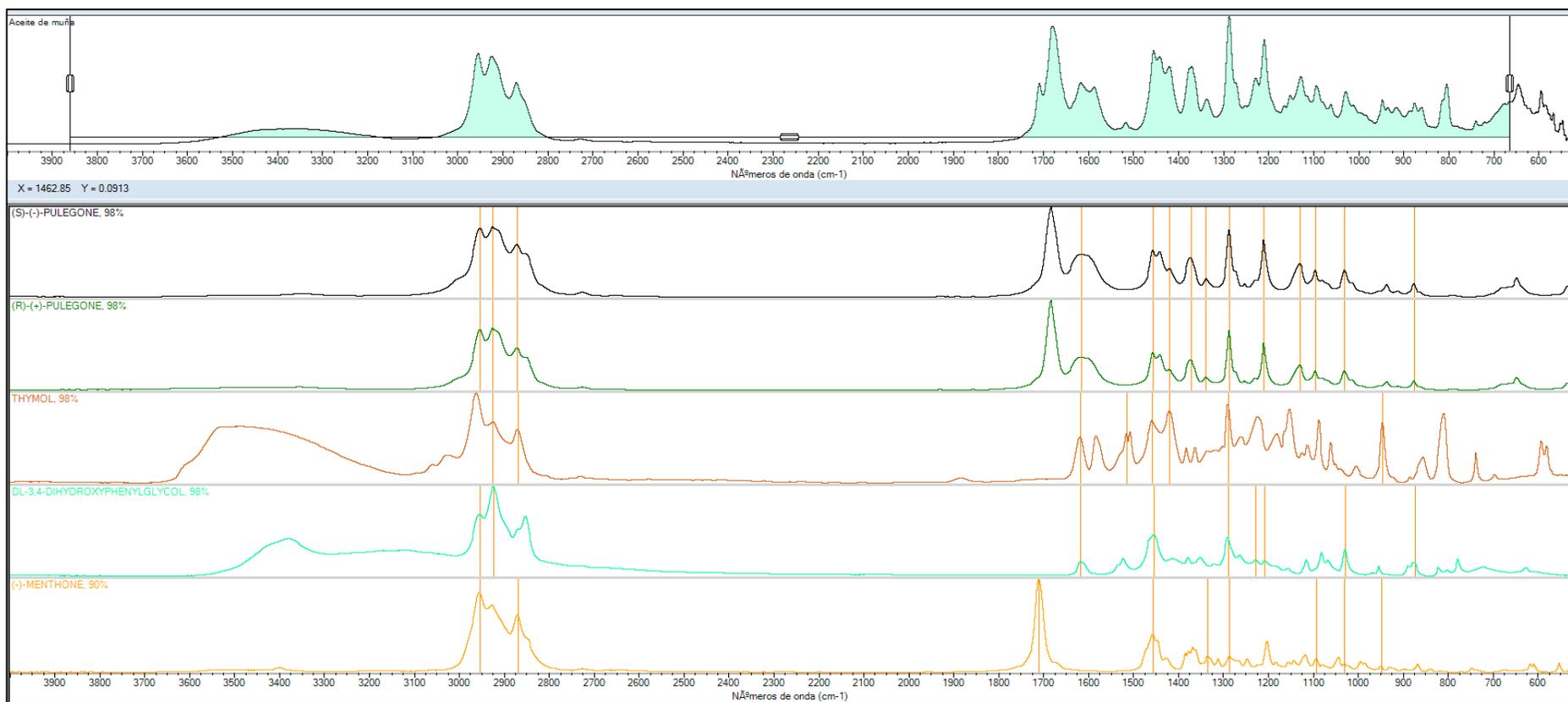


Figura 12. Compuestos terpénicos identificados con FT-IR del aceite esencial de hojas de muña.

La Figura 12 muestra el análisis realizado del aceite esencial de hojas de muña por espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) leída en un rango de análisis medio que abarca el espectro desde 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  de longitud de onda, la cual ha permitido identificar 43 compuestos dentro del aceite esencial analizado, en este trabajo de investigación se presentan 20 de estos compuestos, los que poseen grado de coincidencia superiores a 80 %, estos compuestos identificados están listados en la Tabla 5; en esta se observa que la pulegona es uno de los principales compuestos del aceite esencial de muña con un 98 % de coincidencia de identificación; Gibaja (1960) en su investigación química del aceite esencial de muña (*M. mollis*), menciona que este compuesto terpénico es uno de los más importantes y causante del efecto plaguicida e insecticida que se le atribuye a este aceite esencial.

**Tabla 5. Componentes químicos identificados con FT-IR del aceite esencial de muña.**

Ítem	Compuestos
1	(S)-(-)-Pulegona
2	(R)-(+)-Pulegona
3	Timol
4	(-)-Mentona
5	6- Nitroveratraldehido
6	Acido benzoico
7	Etil 4-Hidroxi-3-metoxicinamato
8	1,3-Dihidro-5- metoxi-1,3,3-trimetil-6-nitropiro
9	(+)-(4,6-O-bencilideno) metil-alfa-D-glucopiranos
10	2,4,6- trimetoxiacetofenona
11	Alcohol 4-benciloxi-3- metoxibencílico
12	2-cloro-7-nitrofluoreno
13	Ácido metanílico
14	2-amino-3-cloro-7-nitro-9-fluorenona
15	Vainilla de metilo
16	3-acetilfenaltreno
17	4-benciloxi-2-nitroanilina
18	5-cloro-2-nitrodifenilamina
19	2,4-dihidroxi-3-metilhexanofenona
20	3-sulfamoil-l-alanina

De la Tabla 5 se puede identificar compuestos terpénicos y monoterpénicos como la pulegona, timol, mentona, carvona, 2-cloro-7-nitrofluoreno, entre otros, estos compuestos por su composición química serían los encargados de brindar las características organolépticas de sabor, olor y aspecto del aceite esencial de muña.

Siendo la pulegona uno de los principales componentes del aceite esencial de muña y que según la bibliografía este compuesto es el responsable del efecto biocida, se realizó un análisis del espectro FT-IR de la pulegona, con el fin de conocer los tipos de enlaces que este espectro presenta, así se identificaron dobles enlaces de carbono, enlaces carbono hidrógeno y dobles enlaces de carbono oxígeno; corroborándose que en su estructura química tiene esos enlaces, este espectro se muestra en la Figura 13.

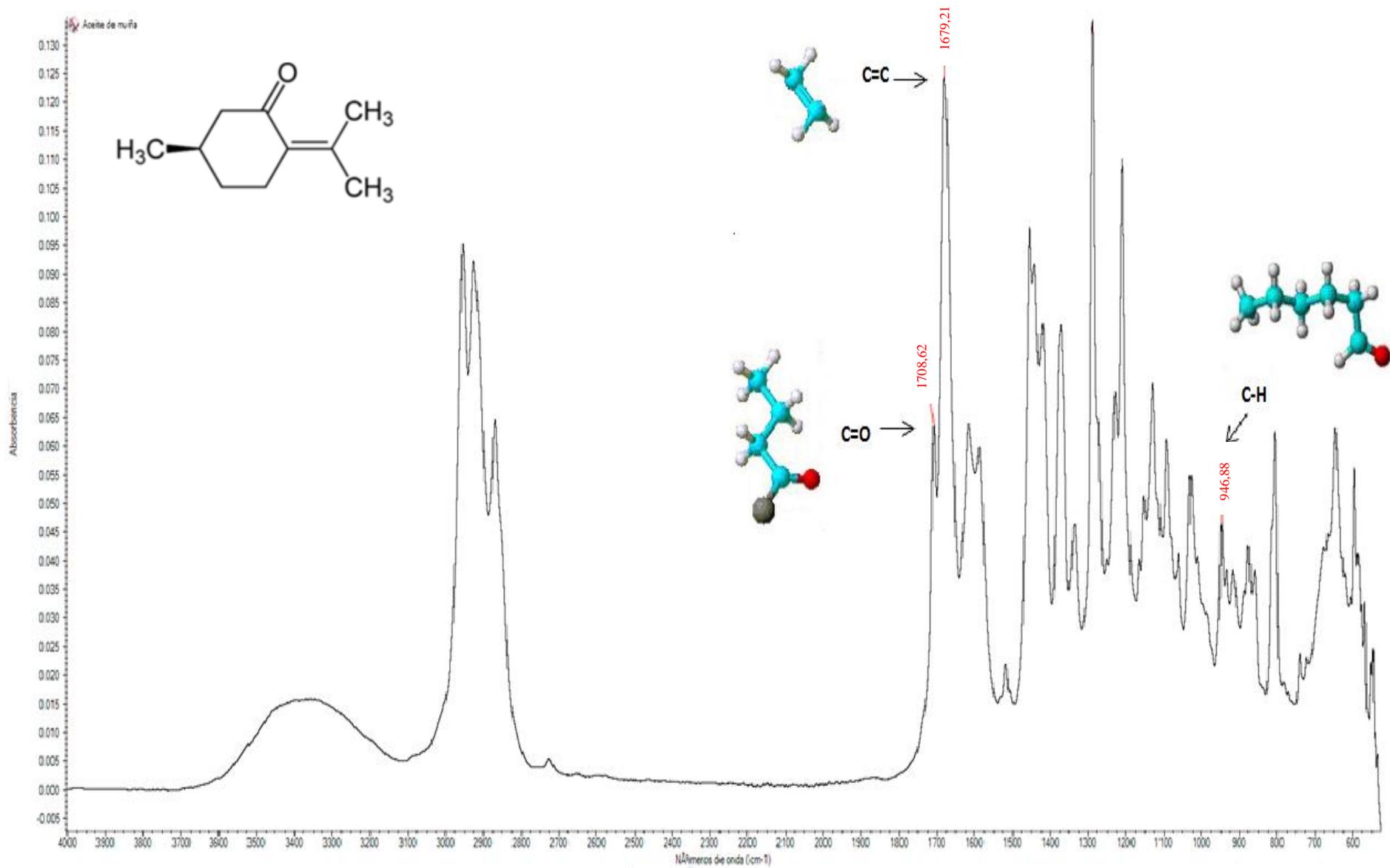


Figura 13. Enlaces químicos identificados para la pulegona por FT-IR del aceite esencial de hojas de muña.

Del análisis de espectro FT-IR que se realizó para la pulegona se han identificado tres enlaces químicos, estas son el enlace C=C, C=O y C-H; las que se encuentran en las regiones de 1708,62; 1679,21 y 946,88  $\text{cm}^{-1}$  de longitud de onda. Estos enlaces identificados por espectroscopia infrarroja coinciden con la estructura química de la pulegona, esto confirma la presencia de este compuesto químico como constituyente del aceite esencial de muña que se obtuvo en la presente investigación.

Castro (2012) Realiza un estudio del aceite esencial de muña por análisis de cromatografía de gases con detector de masa GC-MS, en este estudio este autor confirma y cuantifica la presencia del contenido de varios compuesto, entre ellos destacan la presencia de mentona con un 24,8 %, pulegona con 52,3 %, y otros compuestos menores 22,9 %.

Así mismo Camacho (2011) realizó una evaluación del aceite esencial de muña por Cromatografía de Gases – con detector de espectrometría de masas infrarroja, y encontró también como elementos mayoritarios a la pulegona con 29,21 %, P-mentona con 24,13 %, el óxido de piperitona con 11,97 % y otros compuestos que también se encuentran como DL-Limoneno, Linalool, entre otros.

Así se puede afirmar que los resultados encontrados del espectro infrarrojo FT-IR, estaría siendo apoyados por los autores citados que mencionan la presencia de pulegona como componente principal en el aceite esencial de hojas de muña.

## 4.2. CÁLCULO DE LA DOSIS LETAL MEDIA ( $DL_{50}$ )

### 4.2.1. ÍNDICE DE MORTALIDAD DE LOS GORGOJOS DE MAÍZ (*Sitophilus zeamais*) DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA

Para el cálculo del índice de mortalidad de los gorgojos del maíz, por acción del aceite esencial de hojas de muña, se evalúa la dosis de mortalidad, esta evaluación puede observarse en las Tablas 6, 7, 8, 9 y 10; donde se muestran el porcentaje de

gorgojos muertos en relación al tiempo y a las concentraciones de aceite esencial de muña.

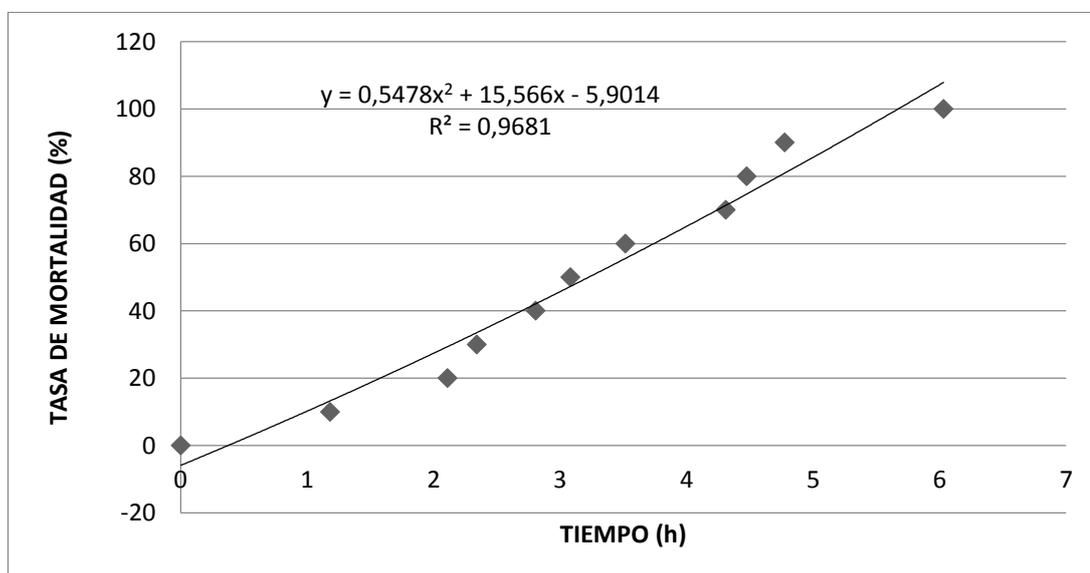
**Tabla 6. Tasa de mortalidad de *Sitophilus zeamais* expuestos a un volumen de 10 uL de aceite esencial de muña.**

Tasa de mortalidad (%)	PROMEDIO (*)		DESVIACIÓN ESTANDAR	
	Tiempo (horas)			
0	0	±	0	
10	1,18	±	0,1414	
20	2,11	±	0,1273	
30	2,34	±	0,1979	
40	2,81	±	0,0354	
50	3,08	±	0	
60	3,52	±	0,0495	
70	4,31	±	0,7637	
80	4,48	±	0,5303	
90	4,78	±	0,6718	
100	6,03	±	0,1414	

(\*) El tiempo promedio ha salido de las tres repeticiones que se puso a prueba.

Luego de seguir el procedimiento por triplicado para una concentración de 10 uL, se controló y verificó el tiempo en el que morían los gorgojos (tasa de mortalidad), con esta tasa se determinó el tiempo promedio como se observa en la Tabla 6, encontrándose que para matar al 10 % de la población de gorgojos se requiere un tiempo de 1,18 horas  $\pm$  0,1414; así mismo se requiere un tiempo de 3,08 horas para llegar a la muerte del 50 % de la población de gorgojos en estudio. Ploteando los datos de tasa de mortalidad y tiempo, muestra una correlación con un  $R^2 = 0,9681$  lo que indica la homogeneidad de los datos; esto demuestra que el

aceite esencial de muña a esta concentración tiene un efecto tóxico en los gorgojos de maíz, como se puede observar en la Figura 14:



**Figura 14.** Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 10 uL de volumen de aceite esencial de muña).

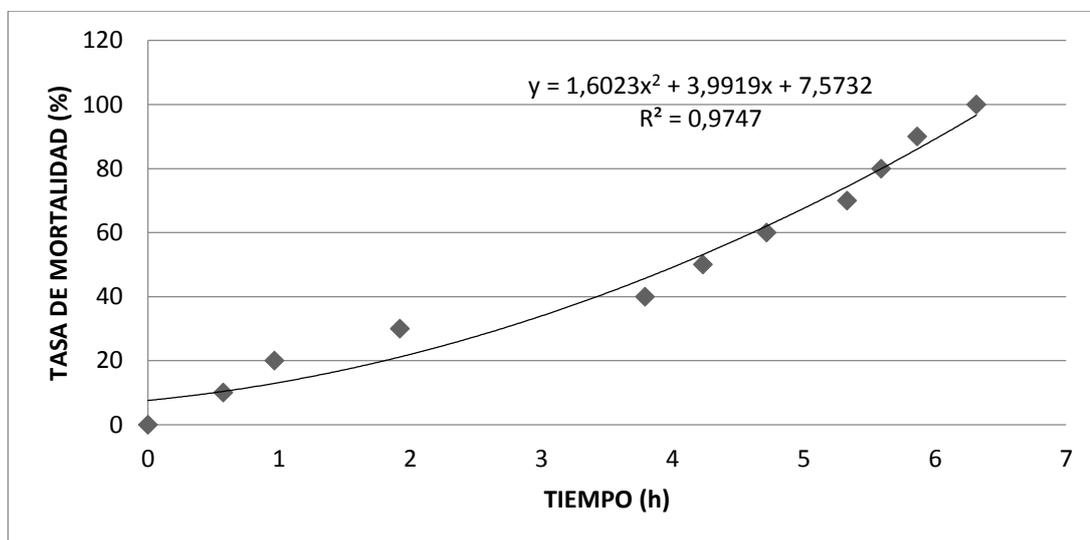
**Tabla 7.** Tasa de mortalidad de *Sitophilus zeamais* expuestos a un volumen de 20 uL de aceite esencial de muña.

Tasa de mortalidad (%)	PROMEDIO(*)		DESVIACIÓN
	Tiempo (horas)		ESTANDAR
0	0	±	0
10	0,58	±	0,1061
20	0,97	±	0,0495
30	1,92	±	0,5657
40	3,79	±	1,2587
50	4,23	±	1,0607
60	4,72	±	1,6476

70	5,33	±	2,0506
80	5,59	±	2,3193
90	5,87	±	2,2839
100	6,32	±	2,2415

(\*) El tiempo promedio ha salido de las tres repeticiones que se puso a prueba.

Luego de seguir el procedimiento por triplicado para una concentración de 20 uL, se controló y verificó el tiempo en el que morían los gorgojos (tasa de mortalidad), con esta tasa se determinó el tiempo promedio como se observa en la Tabla 7, encontrándose que para matar al 10 % de la población de gorgojos se requiere un tiempo de 0,58 horas  $\pm$  0,1061; así mismo se requiere un tiempo de 4,23 horas para llegar a la muerte del 50 % de la población de gorgojos en estudio. Ploteando los datos de tasa de mortalidad y tiempo, muestra una correlación con un  $R^2 = 0,9747$  lo que indica la homogeneidad de los datos; esto demuestra que el aceite esencial de muña a esta concentración tiene un efecto tóxico en los gorgojos de maíz, como se puede observar en la Figura 15:



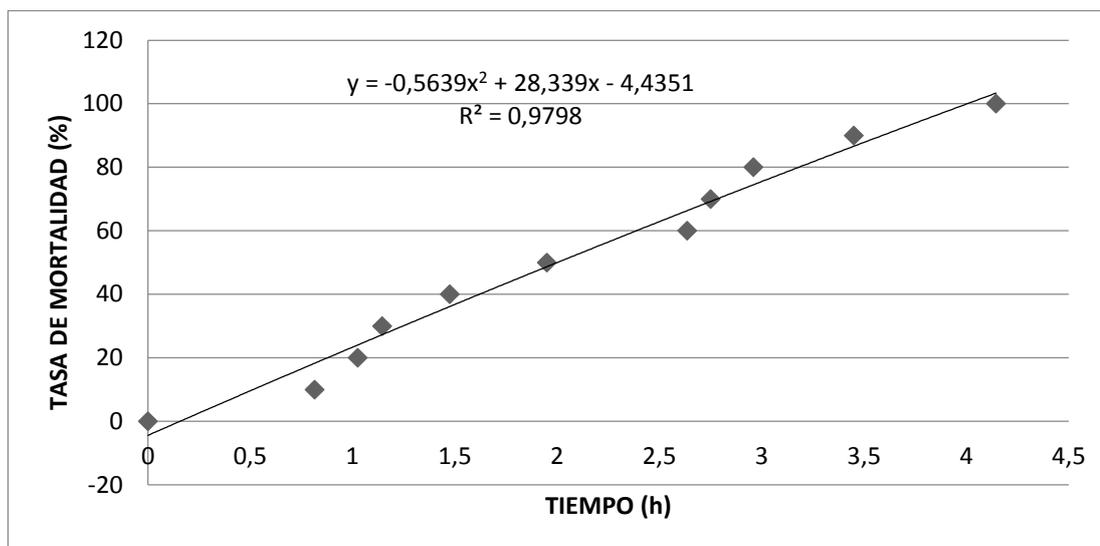
**Figura 15.** Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 20 uL de volumen de aceite esencial de muña).

**Tabla 8. Tasa de mortalidad de *Sitophilus zeamais* expuestos a un volumen de 30 uL de aceite esencial de muña.**

Tasa de mortalidad (%)	PROMEDIO (*)		DESVIACIÓN ESTANDAR
	Tiempo (horas)		
0	0	±	0
10	0,82	±	0,0919
20	1,03	±	0,1344
30	1,15	±	0,0212
40	1,48	±	0,1768
50	1,95	±	0,4525
60	2,64	±	0,7990
70	2,75	±	0,9617
80	2,96	±	0,9051
90	3,45	±	0,9617
100	4,15	±	0,1202

(\*) El tiempo promedio ha salido de las tres repeticiones que se puso a prueba.

Luego de seguir el procedimiento por triplicado para una concentración de 30 uL, se controló y verificó el tiempo en el que morían los gorgojos (tasa de mortalidad), con esta tasa se determinó el tiempo promedio como se observa en la Tabla 8, encontrándose que para matar al 10 % de la población de gorgojos se requiere un tiempo de 0,82 horas  $\pm$  0,0919; así mismo se requiere un tiempo de 1,95 horas para llegar a la muerte del 50 % de la población de gorgojos en estudio. Ploteando los datos de tasa de mortalidad y tiempo, muestra una correlación con un  $R^2 = 0,9798$  lo que indica la homogeneidad de los datos; esto demuestra que el aceite esencial de muña a esta concentración tiene un efecto tóxico en los gorgojos de maíz, como se puede observar en la Figura 16:



**Figura 16.** Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 30 uL de volumen de aceite esencial de muña).

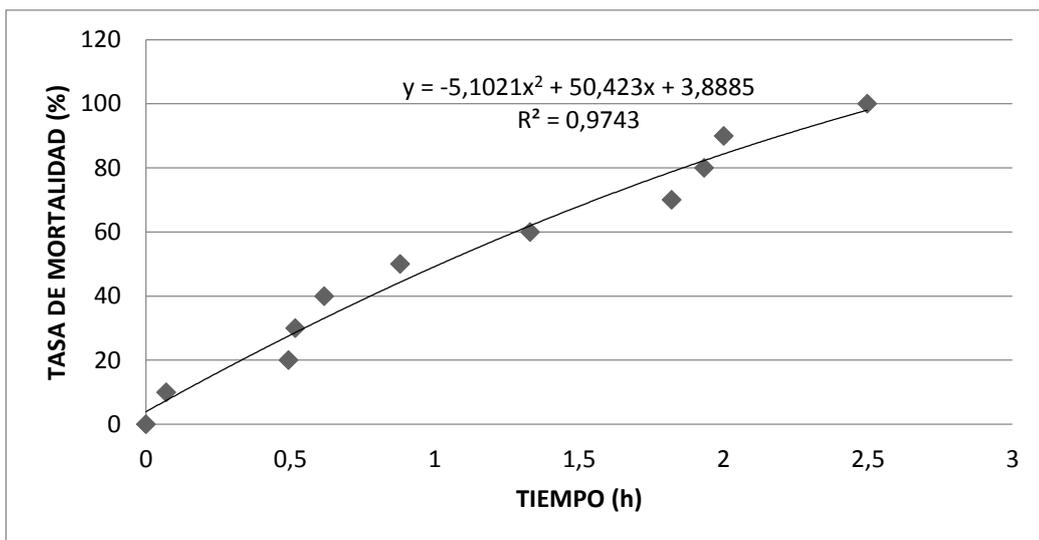
**Tabla 9.** Tasa de mortalidad de *Sitophilus zeamais* expuestos a un volumen de 40 uL de aceite esencial de muña.

Tasa de mortalidad (%)	PROMEDIO (*)	DESVIACIÓN	
	Tiempo (horas)	ESTANDAR	
0	0	±	0
10	0,07	±	0,0529
20	0,49	±	0,4400
30	0,52	±	0,4650
40	0,62	±	0,5331
50	0,88	±	0,4613
60	1,33	±	0,6447
70	1,82	±	0,7991
80	1,93	±	0,6513
90	2,00	±	0,7622

100	2,50	±	0,4941
-----	------	---	--------

(\*) El tiempo promedio ha salido de las tres repeticiones que se puso a prueba.

Luego de seguir el procedimiento por triplicado para una concentración de 40 uL, se controló y verificó el tiempo en el que morían los gorgojos (tasa de mortalidad), con esta tasa se determinó el tiempo promedio como se observa en la Tabla 9, encontrándose que para matar al 10 % de la población de gorgojos se requiere un tiempo de 0,07 horas  $\pm$  0,0529; así mismo se requiere un tiempo de 0,88 horas para llegar a la muerte del 50 % de la población de gorgojos en estudio. Ploteando los datos de tasa de mortalidad y tiempo, muestra una correlación con un  $R^2 = 0,9743$  lo que indica la homogeneidad de los datos; esto demuestra que el aceite esencial de muña a esta concentración tiene un efecto tóxico en los gorgojos de maíz, como se puede observar en la Figura 17:



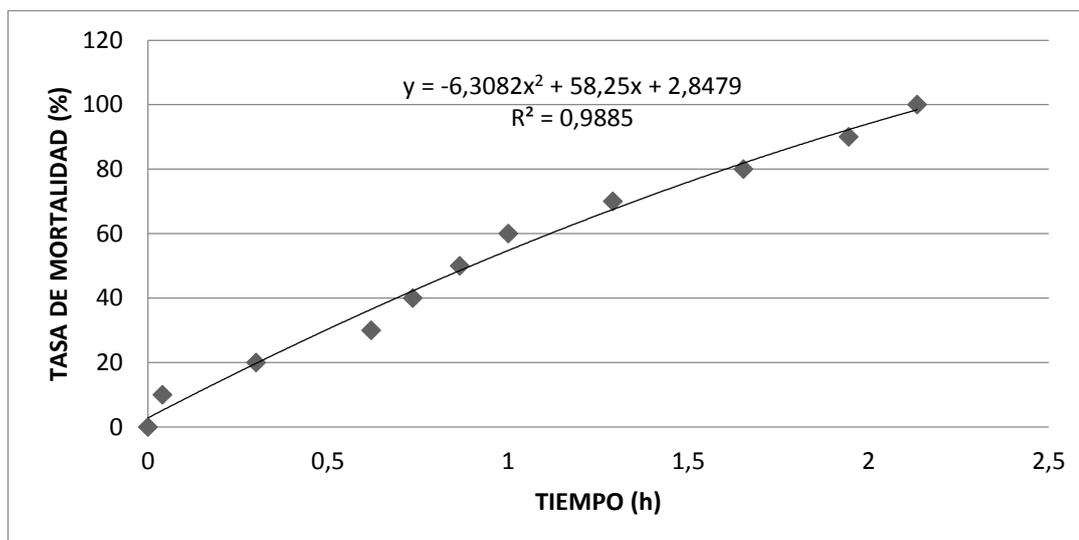
**Figura 17.** Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 40 uL de volumen de aceite esencial de muña).

**Tabla 10. Tasa de mortalidad de *Sitophilus zeamais* expuestos a un volumen de 50 uL de aceite esencial de muña.**

Tasa de mortalidad (%)	PROMEDIO (*)		DESVIACIÓN ESTANDAR	
	Tiempo (horas)			
0	0	±	0	
10	0,04	±	0,0141	
20	0,30	±	0,3818	
30	0,62	±	0,1414	
40	0,74	±	0,1909	
50	0,87	±	0,0778	
60	1,00	±	0,0707	
70	1,29	±	0,2263	
80	1,65	±	0,3323	
90	1,95	±	0,2475	
100	2,14	±	0,2333	

(\*) *El tiempo promedio ha salido de las tres repeticiones que se puso a prueba.*

Luego de seguir el procedimiento por triplicado para una concentración de 50 uL, se controló y verificó el tiempo en el que morían los gorgojos (tasa de mortalidad), con esta tasa se determinó el tiempo promedio como se observa en la Tabla 10, encontrándose que para matar al 10 % de la población de gorgojos se requiere un tiempo de 0,04 horas  $\pm$  0,0141; así mismo se requiere un tiempo de 0,87 horas para llegar a la muerte del 50 % de la población de gorgojos en estudio. Ploteando los datos de tasa de mortalidad y tiempo, muestra una correlación con un  $R^2 = 0,9885$  lo que indica la homogeneidad de los datos; esto demuestra que el aceite esencial de muña a esta concentración tiene un efecto tóxico en los gorgojos de maíz, como se puede observar en la Figura 18:



**Figura 18.** Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 50 uL de volumen de aceite esencial de muña).

De las Figuras 14, 15, 16, 17 y 18 se desprende que a mayor concentración de aceite esencial de muña empleada, se obtiene menor tiempo de mortalidad del 50 % de la población en estudio, siendo el tratamiento más efectivo la prueba que utilizó 50 uL de aceite esencial la cual representa una concentración de 6,64 ug de peso de aceite esencial de muña / ug de peso corporal del gorgojo; esta concentración necesito un tiempo de 0,87 horas para llegar al 50 % de mortalidad de la población, a comparación de los demás concentraciones evaluadas.

#### 4.2.2. CÁLCULO DE LA DOSIS LETAL MEDIA DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA

La Tabla 11 muestra el consolidado de los tiempos de cada concentración en función a la tasa de mortalidad para gorgojos de maíz, estos datos son importantes para comparar los distintos grados de toxicidad de las diferentes concentraciones, usadas del aceite esencial de muña, y ver para cada concentración los tiempos de distintos porcentajes de mortalidad. Por ejemplo para una concentración de 50 uL de volumen de aceite esencial de muña se requiere 0,87 horas para llegar al 50 %

de la mortalidad de la población, 0,04 horas para matar al 10 % de la población y 1,65 horas para matar al 80 % de la población.

**Tabla 11. Tiempo de mortalidad de *Sitophilus zeamais* a cinco concentraciones de aceite esencial de muña.**

Concentraciones (ug/ug)	Tasa de mortalidad (%)	Tiempo (horas)
C1 = 10 uL (1,33 ug/ug)	10	1,18
	20	2,11
	30	2,34
	40	2,81
	50	3,08
	60	3,52
	70	4,31
	80	4,48
	90	4,78
	100	6,03
C2 = 20 uL (2,66 ug/ug)	10	0,58
	20	0,97
	30	1,92
	40	3,79
	50	4,23
	60	4,72
	70	5,33
	80	5,59
	90	5,87
	100	6,32
	10	0,82
	20	1,03
	30	1,15

	40	1,48
	50	1,95
C3 = 30 uL	60	2,64
(3,98 ug/ug)	70	2,75
	80	2,96
	90	3,45
	100	4,15
	10	0,07
	20	0,49
	30	0,52
C4 = 40 uL	40	0,62
(5,31 ug/ug)	50	0,88
	60	1,33
	70	1,82
	80	1,93
	90	2,00
	100	2,50
	10	0,04
	20	0,30
	30	0,62
	40	0,74
	50	0,87
C5 = 50 uL	60	1,00
(6,64 ug/ug)	70	1,29
	80	1,65
	90	1,95
	100	2,14

Para calcular la Dosis letal media y realizando un análisis de la Tabla 11, se toma un tiempo de 1,8 horas (que es el tiempo en el que las 5 concentraciones en estudio se sobrepasa el 50 % de la mortalidad de gorgojos).

A esta hora (1,8), se probaron las 5 concentraciones del aceite esencial de muña, y por intermedio de la técnica de tratamiento de datos de ecuaciones polinomiales que es la interpolación se obtiene el porcentaje de tasa de mortalidad de los gorgojos, siendo los resultados lo siguiente:

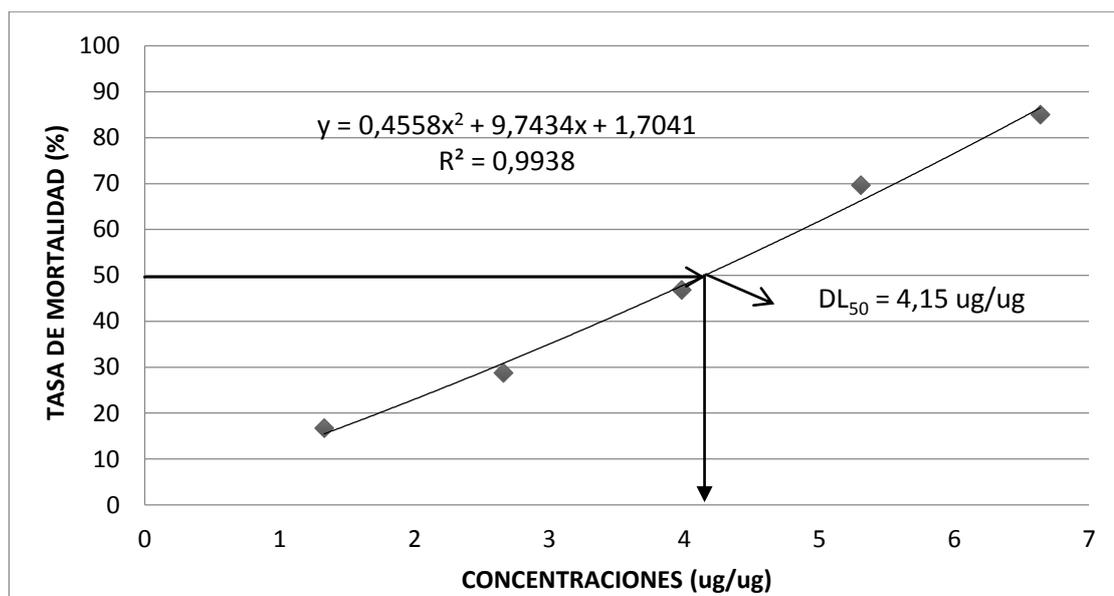
**Tabla 12. Porcentaje de mortalidad de *Sitophilus zeamais* a cinco concentraciones de aceite esencial de muña.**

Tiempo	1,8 horas				
Concentraciones (ug/ug)	C1	C2	C3	C4	C5
Tasa de mortalidad (%)	16,67	28,74	46,81	69,59	85

Dónde:

C1 = 10 uL (1,33 ug/ug); C2 = 20 uL (2,66 ug/ug); C3 = 30 uL (3,98 ug/ug);  
C4 = 40 uL (5,31 ug/ug); C5 = 50 uL (6,64 ug/ug)

Mediante la ecuación de la curva de la Figura 19 se obtiene la dosis letal media del aceite esencial de muña, para el gorgojo de maíz.



**Figura 19. Dosis letal media en el *Sitophilus zeamais* del aceite esencial de muña.**

Para el cálculo de la dosis letal media del aceite esencial de hojas de muña, se toma en cuenta la ecuación de la recta de la Figura 19, en esta ecuación, la coordenada “Y” es remplazada por el valor de 50 % de la tasa de mortalidad de los gorgojos y se calcula el valor de la coordenada “X” que es la concentración de aceite esencial a la cual se llega al DL<sub>50</sub>:

$$\begin{aligned}
 Y &= 0,4558 x^2 + 9,7434 x + 1,7041 \\
 50 &= 0,4558 x^2 + 9,7434 x + 1,7041 \\
 0,4558 x^2 + 9,7434 x - 48,2959 &= 0 \\
 x &= \frac{9,7434 \pm \sqrt{9,7434^2 - 4(0,4558)(-48,2959)}}{2(0,4558)} \\
 x &= 4,15
 \end{aligned}$$

La dosis letal media (DL<sub>50</sub>) del aceite esencial de muña aplicado en los gorgojos de maíz es de 4,15 ug de peso aceite esencial de muña / ug de peso corporal del gorgojo, lo que en volumen del aceite esencial de muña es de 31 uL, esto puede observarse en detalle en la Tabla 21 (ver anexo C).

En este trabajo de investigación se observó que el aceite esencial de hojas de muña, posee efectividad en la letalidad de los gorgojos de maíz, como se muestran en las figuras de curva de regresión de dosis - mortalidad (Figura 14, 15, 16, 17 y 18) , esta acción demostrada es por su composición química, y que entre varias sustancias químicas se encuentra la pulegona con un porcentaje de coincidencia al 98 % identificada cualitativamente por el espectrofotómetro infrarrojo FT - IR; esto concuerda con estudios similares, como por ejemplo Solís (1979) quien reporta en el estudio toxicológico realizado del aceite esencial de muña, concluye que este compuesto tiene actividad insecticida y que su acción toxicológica retarda la respiración y el insecto al que se le pone en contacto con este aceite sufre asfixia por falta de oxígeno. De la misma forma Ruigt (1985) menciona que los insecticidas neurotóxicos (como es el caso de la pulegona) producen una serie de efectos sobre el sistema nervioso central y periférico del insecto, que se

manifiestan a través de síntomas como la hiperactividad, descoordinación, postración y muerte. Los modos de acción fisiológicas de los aceites esenciales está relacionado con la inhibición de la acetilcolinesterasa (enzima que se encuentra en la hemolinfa de los insectos) y acciones de los neurotransmisores del sistema nervioso en los insectos (López et al., 2010; keane et al., 1999). Así mismo al igual que el componente químico que es la pulegona tiene efecto toxico en el gorgojo de maíz, Gonzales et al. (2015) en un estudio realizado sobre los aceites esenciales de clavo de olor y canela en el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) menciona que la población de estos insectos aumentaron la movilidad y suceptibilidad en las superficies donde fueron tratadas con ambos tipos de estos aceites, por la acción de sus componentes químicos como eugenol y el sesquiterpeno  $\beta$ -cariofileno que contienen estos aceites porque tienen la acción de repelencia e inducen el comportamiento de evitación en insectos. (Rongsriyam et al., 2005; Chaieb et al., 2007; Deletre et al., 2013).

Con las curvas de regresión de dosis - mortalidad realizada en este estudio, se determinó la ecuación de la Figura 19, es así que se calculó la dosis letal media del aceite esencial de muña para el gorgojo de maíz, teniendo lo siguiente  $DL_{50} = 4,15$  ug de peso de aceite esencial de muña / ug de peso corporal del gorgojo, con este resultado se puede indicar que el aceite esencial de muña es altamente eficaz para causar la letalidad de estos insectos y puede ser considerado como un biocontrolador orgánico, como mencionan los autores; Prieto et al. (2010) reportan que los constituyentes químicos de los aceites esencial de hojas de las especies colombianas (*O. macrophylla* y *O. longifolia*). El aceite esencial de *O. longifolia* mostró actividad fumigante e insecticida contra el *Sitophilus zeamais* ( $CL_{50} = 280,5$   $\mu$ L/L aire).

Figueroa et al. (1995) quienes indican que los aceites de *S. boliviana* y *M. mollis* presentan un  $DL_{50}$  de 0,9 ppm y 1,8 ppm respectivamente contra *Artemia salina*, y que las propiedades antibacterianas de estos aceites tienen efecto por que penetran las membranas celulares y producen toxicidad de contacto o neurotoxicidad.

De igual forma Oviedo (1979) hace referencia sobre la extracción del aceite esencial de *Minthostachys glabrescens* (un eco tipo de muña) por el método de arrastre de vapor de agua, donde determina su efecto toxicológico del aceite en forma pura sobre el gorgojo del maíz para ambientes herméticamente cerrados, y para un tiempo de 24 horas con una dosis de 240 mg/L controló el 100 % de gorgojos y para la DL<sub>50</sub> es de 7 mg/L.

Así mismo Barbosa (2007) indica que el aceite esencial extraído de la soya a una dosis de 300 y 400 ppm mataron un 100 % de gorgojos del maíz (*Sitophilus zeamais*) en 7 días. De la misma forma Galvao et al. (2015) reportan la toxicidad y la repelencia de aceites esenciales de diferentes genotipos de *Lippia alba* y sus principales monoterpenos carvona y citral, en *S. zeamais* y *T. castaneum* la cual realizaron bioensayos de toxicidad por exposición de los insectos en papel de filtro tratado, siendo la carvona el compuesto más tóxico para ambas especies con valores para *S. zeamais* CL<sub>50</sub> = 15,2 uL/mL y CL<sub>50</sub> = 16,7 uL/mL en un TL<sub>50</sub> = 6 horas; para *T. castaneum* valores CL<sub>50</sub> = 28,7 uL/mL y CL<sub>50</sub> = 19,7 uL/mL en un TL<sub>50</sub> = 7,3 horas.

Al igual que el aceite esencial de hojas de muña, el aceite de soya y el de la *Lippia alba* que se mencionan, presentan una efectividad en los gorgojos de maíz, pero en un mayor tiempo de lo encontrado, se puede señalar que el aceite esencial de muña tiene mayor efectividad para eliminar gorgojos de maíz, ya que a la dosis encontrada solamente se requiere 1,8 horas de tratamiento.

#### **4.2.3. MORTALIDAD DE LOS GORGOJOS DE MAÍZ (*Sitophilus zeamais*) CON INSECTICIDA (MALATION)**

Para hacer un estudio de comparación de la efectividad biocida del aceite esencial de hojas de muña, se ha comparado con la acción de un insecticida comercial, el malation, es así que en las Tablas 13, 14 y 15 se muestran las tasas de mortalidad de gorgojos de maíz, en función del tiempo, a tres distintas concentraciones las que representan pesos de 0,016 g; 0,048 g y 0,08 g, estos pesos son equivalentes a

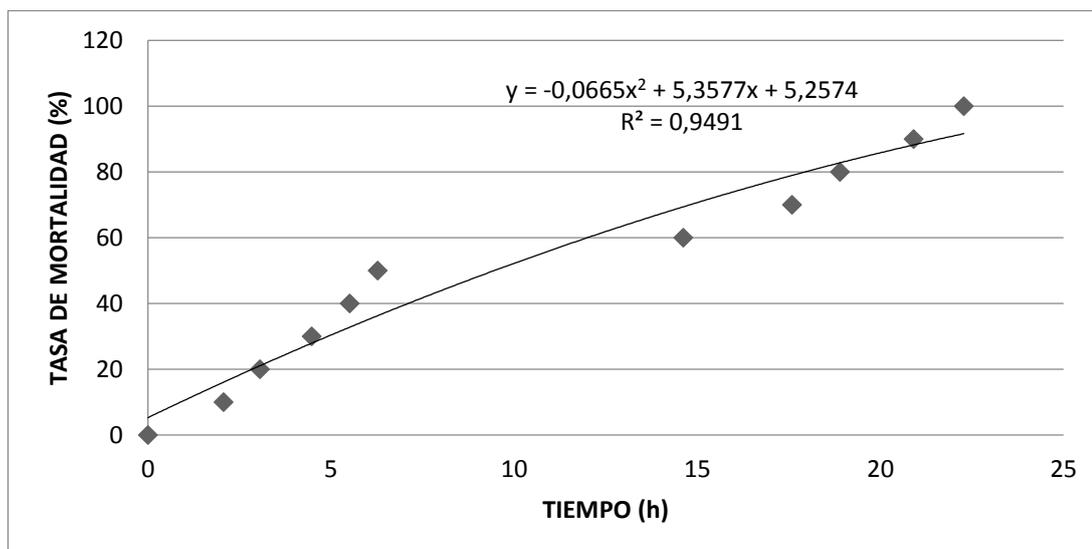
concentraciones de 2,32; 6,96 y 11,59 ug de malation en polvo / ug de peso corporal del gorgojo (ver anexo C).

**Tabla 13. Tasa de mortalidad de *Sitophilus zeamais* expuestos a 0,016 g del insecticida comercial malation en polvo.**

Tasa de mortalidad (%)	PROMEDIO (*)		DESVIACIÓN
	Tiempo (horas)		ESTANDAR
0	0	±	0
10	2,07	±	0,3323
20	3,06	±	0,5798
30	4,48	±	0,7000
40	5,51	±	0,3889
50	6,28	±	0,1484
60	14,62	±	0,4949
70	17,59	±	1,7112
80	18,90	±	0,7425
90	20,91	±	1,2869
100	22,28	±	0,1768

(\*) El tiempo promedio ha salido de las tres repeticiones que se puso a prueba.

Luego de seguir el procedimiento por triplicado para una concentración de 0,016 g de peso, se controló y verificó el tiempo en el que morían los gorgojos (tasa de mortalidad), con esta tasa se determinó el tiempo promedio como se observa en la Tabla 13, encontrándose que para matar al 10 % de la población de gorgojos se requiere un tiempo de 2,07 horas  $\pm$  0,3323; así mismo se requiere un tiempo de 6,28 horas para llegar a la muerte del 50 % de la población de gorgojos en estudio. Ploteando los datos de tasa de mortalidad y tiempo, muestra una correlación con un  $R^2 = 0,9491$  lo que indica la homogeneidad de los datos; esto demuestra que el insecticida comercial (malation), a esta concentración tiene un efecto tóxico en los gorgojos de maíz aun tiempo más largo, como se puede observar en la Figura 20:



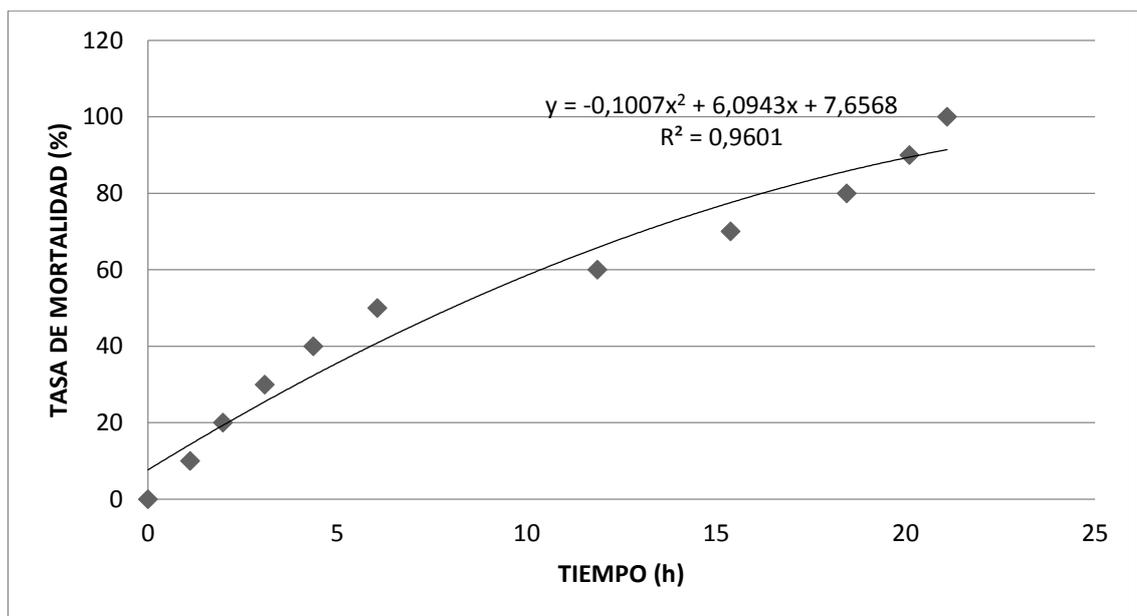
**Figura 20.** Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 0,016 g del insecticida comercial malation en polvo).

**Tabla 14.** Tasa de mortalidad de *Sitophilus zeamais* expuestos a 0,048 g del insecticida comercial malation en polvo.

Tasa de mortalidad (%)	PROMEDIO (*)		DESVIACIÓN
	Tiempo (horas)		ESTANDAR
0	0	±	0
10	1,12	±	0,1528
20	1,98	±	0,6855
30	3,08	±	0,4291
40	4,36	±	0,2136
50	6,05	±	0,6103
60	11,87	±	4,0848
70	15,38	±	1,1951
80	18,44	±	0,3147
90	20,10	±	0,2627
100	21,09	±	0,1250

(\*) El tiempo promedio ha salido de las tres repeticiones que se puso a prueba.

Luego de seguir el procedimiento por triplicado para una concentración de 0,048 g de peso, se controló y verificó el tiempo en el que morían los gorgojos (tasa de mortalidad), con esta tasa se determinó el tiempo promedio como se observa en la Tabla 14, encontrándose que para matar al 10 % de la población de gorgojos se requiere un tiempo de 1,12 horas  $\pm$  0,1528; así mismo se requiere un tiempo de 6,05 horas para llegar a la muerte del 50 % de la población de gorgojos en estudio. Ploteando los datos de tasa de mortalidad y tiempo, muestra una correlación con un  $R^2 = 0,9601$  lo que indica la homogeneidad de los datos; esto demuestra que el insecticida comercial (malation), a esta concentración tiene un efecto tóxico en los gorgojos de maíz aun tiempo más largo, como se puede observar en la Figura 21:



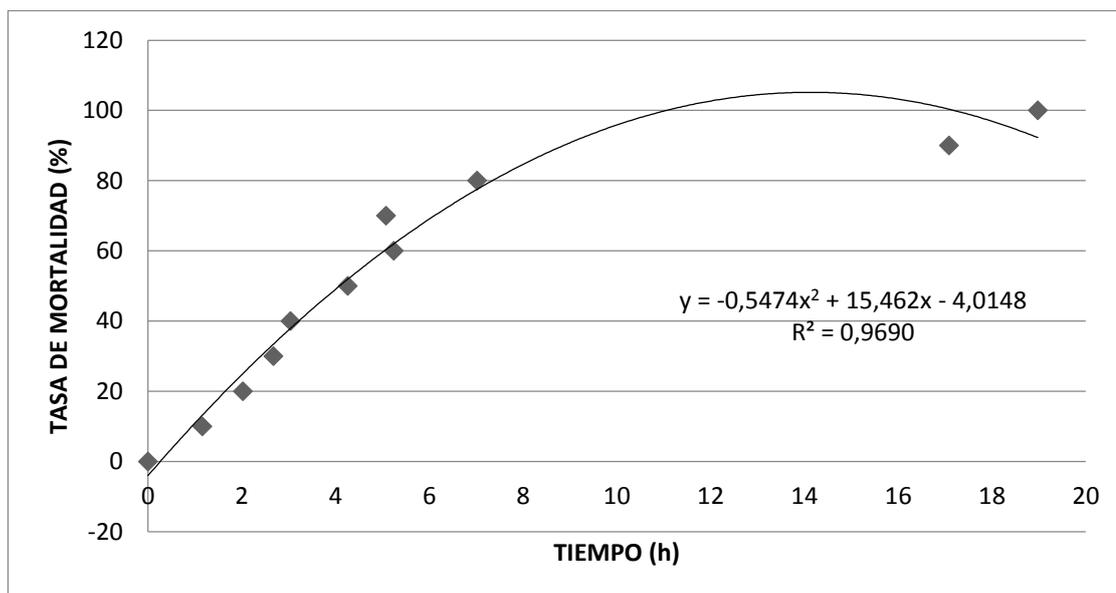
**Figura 21.** Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 0,048 g del insecticida comercial malation en polvo).

**Tabla 15. Tasa de mortalidad de *Sitophilus zeamais* expuestos a 0,08 g del insecticida comercial malation en polvo.**

Tasa de mortalidad (%)	PROMEDIO (*)		DESVIACIÓN
	Tiempo (horas)		ESTANDAR
0	0	±	0
10	1,16	±	0,2676
20	2,02	±	0,4309
30	2,68	±	0,1379
40	3,04	±	0,1353
50	4,26	±	0,2884
60	5,24	±	0,5308
70	6,08	±	2,0198
80	7,02	±	0,5369
90	17,08	±	2,8688
100	18,97	±	0,3109

(\*) El tiempo promedio ha salido de las tres repeticiones que se puso a prueba.

Luego de seguir el procedimiento por triplicado para una concentración de 0,08 g de peso, se controló y verifico el tiempo en el que morían los gorgojos (tasa de mortalidad), con esta tasa se determinó el tiempo promedio como se observa en la Tabla 15, encontrándose que para matar al 10 % de la población de gorgojos se requiere un tiempo de 1,16 horas  $\pm$  0,2676; así mismo se requiere un tiempo de 4,26 horas para llegar a la muerte del 50 % de la población de gorgojos en estudio. Ploteando los datos de tasa de mortalidad y tiempo, muestra una correlación con un  $R^2 = 0,9690$  lo que indica la homogeneidad de los datos; esto demuestra que el insecticida comercial (malation), a esta concentración tiene un efecto tóxico en los gorgojos de maíz aun tiempo más largo, como se puede observar en la Figura 22:



**Figura 22.** Curva de regresión de dosis - mortalidad para gorgojos en función al tiempo (para una concentración de 0,08 g del insecticida comercial malation en polvo).

#### 4.2.4. CÁLCULO DE LA DOSIS LETAL MEDIA DEL INSECTICIDA COMERCIAL EN POLVO (MALATION)

La Tabla 16 muestra el consolidado de los tiempos de cada concentración en función a la tasa de mortalidad para los gorgojos de maíz, en el insecticida comercial malation, el cual ha de servir para comparar la efectividad del aceite esencial de muña, estos datos son importantes para comparar los distintos grados de toxicidad de las diferentes concentraciones además que permite ver las tasas de mortalidad.

**Tabla 16. Tiempo de mortalidad de *Sitophilus zeamais* a tres concentraciones del insecticida comercial (malation).**

Concentraciones (ug/ug)	Tasa de mortalidad (%)	Tiempo (horas)
C1 = 0,016 g (2,32 ug/ug)	10	2,07
	20	3,06
	30	4,48
	40	5,51
	50	6,28
	60	14,62
	70	17,59
	80	18,9
	90	20,91
	100	22,28
C2 = 0,048 g (6,96 ug/ug)	10	1,12
	20	1,98
	30	3,08
	40	4,36
	50	6,05
	60	11,87
	70	15,38
	80	18,44
	90	20,1
	100	21,09
C3 = 0,08 g (11,59 ug/ug)	10	1,16
	20	2,02
	30	2,68
	40	3,04
	50	4,26
	60	5,24
	70	6,08
	80	7,02
	90	17,08
	100	18,97

Para calcular la Dosis letal media y realizando un análisis de la Tabla 16, se toma un tiempo de 6 horas (que es el tiempo en el que a las 3 concentraciones en estudio se sobrepasa el 50 % de la mortalidad de gorgojos).

A 6 horas de las tres concentraciones de insecticida comercial, por intermedio de una interpolación se obtiene el porcentaje de tasa de mortalidad de los gorgojos, siendo los resultados lo siguiente:

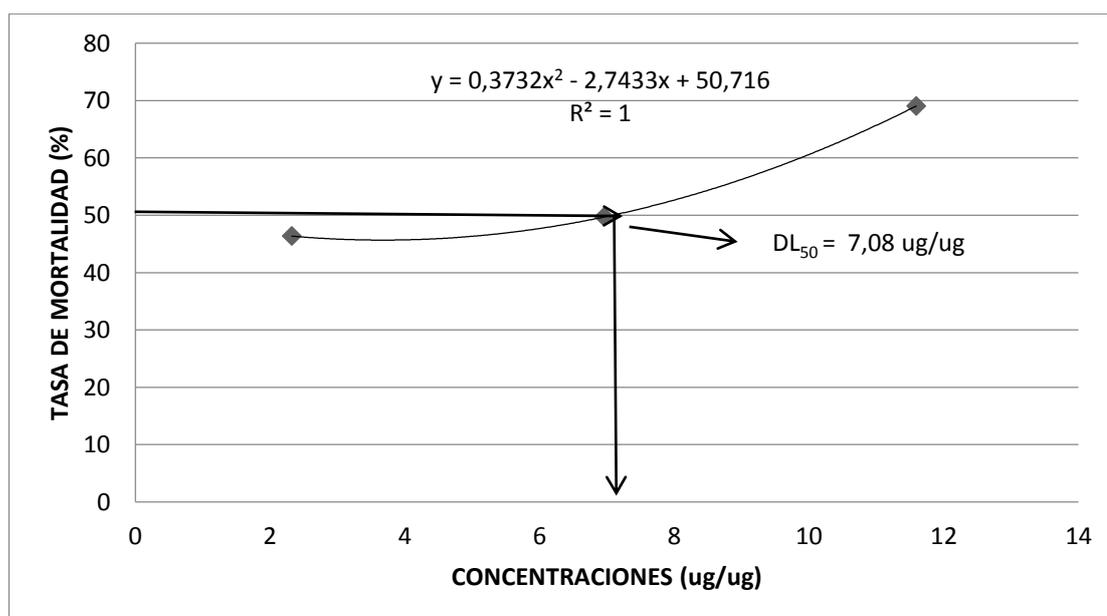
**Tabla 17. Porcentaje de mortalidad de *Sitophilus zeamais* a tres concentraciones de insecticida comercial en polvo (malation).**

Tiempo	6 horas		
Concentraciones (ug/ug)	C1	C2	C3
Tasa de mortalidad (%)	46,36	49,70	69,05

Dónde:

C1 = 0,016 g (2,32 ug/ug); C2 = 0,048 g (6,96 ug/ug); C3 = 0,08 g (11,59 ug/ug)

Mediante la ecuación de la curva obtenida de la Figura 23 se calcula la dosis letal media del insecticida malation, para el gorgojo de maíz.



**Figura 23. Dosis letal media en el *Sitophilus zeamais* del insecticida comercial en polvo (malation).**

Para el cálculo de la dosis letal media del insecticida comercial en polvo (malation) se toma en cuenta la ecuación de la recta de la Figura 23, en esta ecuación, la coordenada “Y” es remplazada por el valor de 50 % de la tasa de mortalidad de los gorgojos y se calcula el valor de la coordenada “X” que es la concentración del insecticida comercial a la cual se llega al DL<sub>50</sub>:

$$\begin{aligned}
 Y &= 0,3732 x^2 - 2,7433 x + 50,716 \\
 50 &= 0,3732 x^2 - 2,7433 x + 50,716 \\
 0,3732 x^2 - 2,7433 x + 0,716 &= 0 \\
 x &= \frac{-2,7433 \pm \sqrt{(-2,7433)^2 - 4(0,3732)(0,716)}}{2(0,3732)} \\
 x &= 7,08
 \end{aligned}$$

La dosis letal media (DL<sub>50</sub>) del insecticida comercial en polvo (malation) aplicado en los gorgojos de maíz es de 7,08 ug de peso en polvo del malation / ug de peso corporal del gorgojo, lo que en peso del principio activo del malation es de 0,049 g. esto puede observarse en la Tabla 23 (ver anexo C).

Lagunes (1994) en el estudio realizado sobre extractos, polvos vegetales y minerales en los gorgojos de maíz y frijol indica que la linealidad de la respuesta, reproducibilidad, uso de la dosis precisa y el medio ambiente constante son criterios que se deben tomar para un buen bioensayo. Como menciona el autor mientras más elevada sea la dosis o concentración a la que se expone con el aceite esencial de muña o el malation en el gorgojo de maíz, mayor será el valor de la pendiente (recta vertical) como se puede ver en las figuras de Curva de regresión de dosis - mortalidad.

Al igual de los estudios realizados por estos autores que mencionan los métodos de exposición que han sido puestos los gorgojos de maíz (*Sitophilus zeamais*) para determinar la dosis letal media, Pérez (1999) en el estudio que realizo de bioensayos en *S. zeamais* mediante aplicación tópica directa al insecto de

soluciones insecticidas determino la mortalidad a las 24 horas después del tratamiento, y obtuvo la DL<sub>50</sub> para malation de 0,008 µg de peso de malation / peso corporal del insecto.

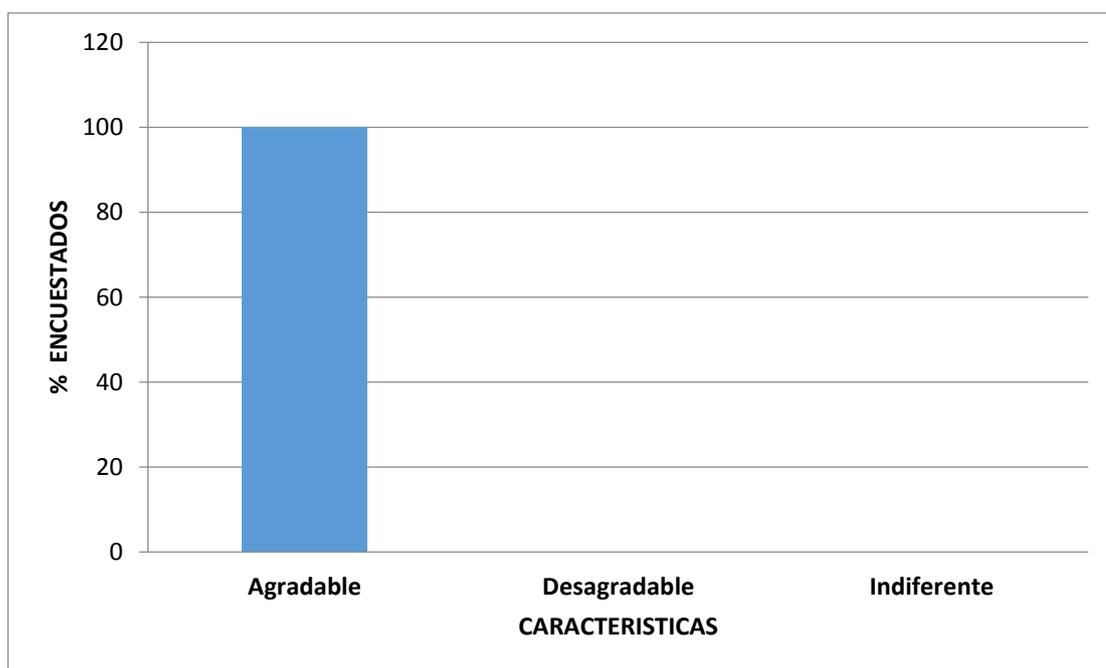
Así también Morales (2014) compara cuatro métodos de bioensayo de insecticidas (permetrina, metomilo, fenvalerato, malation, clorpirifos y paration metílico) en el gorgojo de maíz (*S. zeamais*) y por el método de exposición residual en papel filtro obtuvo lo siguiente CL<sub>50</sub> de 417,9; 102,08; 59,71; 5,07; 0,63 y 0,23 µg i.a (acetona –insecticida) cm<sup>-2</sup> de los insecticidas respectivamente.

Tambien Liu y Ho (1999) reportan la bioactividad del aceite esencial extraído de *Evodia rutaecarpa*, contra adultos de *Sitophilus zeamais* y larvas de *Tribolium castaneum* por el método de aplicación tópica la cual mostró que los adultos de *S. zeamais* eran susceptibles (DL<sub>50</sub> = 0,043 µg / mg peso corporal) al aceite esencial que los adultos de *T. castaneum* (DL<sub>50</sub> = 0,118 µg / mg peso corporal).

A fin de comparar esta información con los datos de esta investigación con relación al producto sintético que en este caso es el malation contra el gorgojo (*Sitophilus zeamais*), podemos decir que aceite esencial de muña presenta mayor eficiencia en el control de la plaga del gorgojo que fue DL<sub>50</sub> = 4,15 ug de peso de aceite esencial de muña / ug de peso corporal de gorgojo que originó una mortandad al 50 % en 1,8 horas de aplicación, esto se determinó a través de un análisis de regresión simple donde se comparó la mortalidad acumulada con el tiempo transcurrido desde el momento de la exposición que se muestra en la Figura 19 mediante la ecuación  $Y = 0,455x^2 + 9,7434 x + 1,7041$ . En cambio el DL<sub>50</sub> del malation es de 7,08 ug de peso en polvo de malation / ug de peso corporal del gorgojo, haciendo una comparación con la esta bibliografía muestra que son mayores si se convierte a las mismas unidades de nuestro estudio por ello es que el aceite esencial que es un biocontrolador orgánico que supera al producto comercial o sintético.

### 4.3. ANÁLISIS SENSORIAL (OLOR) DEL GRANO DE MAÍZ

A continuación se muestran los resultados del análisis sensorial aplicado a 36 evaluadores los que son panelistas no entrenados (consumidores), con la finalidad que este producto sea comercializado y sea apto para el consumo; por ello solamente se les aplicó pruebas sensoriales afectivas, en cuanto al olor teniendo los resultados en la Figura 24.



**Figura 24. Porcentaje de características del olor de maíz con aceite de muña.**

La Figura 24 muestra el porcentaje de resultado en función a las características de olor en el grano de maíz con el aceite esencial de muña (agradable, desagradable e indiferente), se encontró que el 100 % indica que el atributo evaluado es agradable.

Estos resultados nos indican que no hay ningún efecto en el consumidor de maíz que es sometido a contacto con aceite esencial de muña, lo que corrobora que este producto es eficaz para la eliminación de gorgojos de maíz y que no perjudica su comercialización, pudiéndose atribuirse de acuerdo a los resultados encontrados como un eficiente biocontrolador de esta plaga.

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. CONCLUSIONES

- Se determinó las características fisicoquímicas del aceite esencial de muña presentando un rendimiento en base seca 1,225 %, densidad aparente 0,9165 g/mL y un índice de refracción 1,4905.
- Se identificó y confirmo por espectroscopia Infrarroja FT-IR, la presencia de pulegona, timol y mentona, principalmente en el aceite esencial de muña, estos compuestos le dan las características químicas y organolépticas al aceite esencial de muña.
- El tiempo de exposición adecuado de la dosis letal media del aceite esencial de hojas de muña en el gorgojo de maíz (*sitophilus zeamais*) es de 1,8 horas.
- La dosis letal media del aceite esencial de hojas de muña en el gorgojo de maíz (*sitophilus zeamais*) es 4,15 ug de peso de aceite esencial de muña / ug de peso corporal del gorgojo.
- De la evaluación sensorial efectuada al maíz con aceite esencial de hojas de muña indica que no existe rechazo por parte de los evaluadores.

### 5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar un próximo estudio de la composición del aceite esencial de muña (*Mithonchachis mollis*) con un sistema de cromatografía de gases y detector de masas, para cuantificar los componentes identificados en el presente estudio.

- Socializar estos resultados para que pueda ser utilizado por los agricultores como alternativa de solución a este tipo de plagas que atacan a las distintas variedades de maíz.
- Promover proyectos en la región de Apurímac relacionados con este tema de investigación para fomentar el uso de este insecticida natural o compuesto orgánico en la agricultura y erradicar o desechar insecticidas sintéticos que contaminan el medio ambiente así como también al producto.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agapito, T. y Sung, I. (2003). Fito Medicina de Plantas Medicinales. 1° edición. Editorial Isabel IRL. Lima – Perú.
- Albaladejo Meroño, Querubina. (1999). El aceite esencial de limón producido en España - Contribución a su evaluación por organismos internacionales. Universidad de Murcia. Facultad de veterinaria. Departamento de tecnología de los alimentos nutrición y bromatología. Murcia - España.
- Alzamora, L.; Morales, L.; Armas, L. y Fernández, G. (2001). Medicina Tradicional en el Perú: Actividad antimicrobiana *in vitro* de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. Facultad de Medicina UNMSM. 156 – 161 pp.
- Aquino, A. (2007). Estudio de la extracción por arrastre de vapor del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) para su uso como repelente del gorgojo de los andes en el almacenamiento de la papa. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo.
- Appert, J. (1993). El almacenamiento de granos y semillas alimenticios. Edición. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires Argentina. 11- 97 Pp.

- Arauco, M.; Marangoni, A. y Bolza, A. (2010). Supercritical fluid extraction of *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb. Federal university of Santa Catarina, Florianópolis. Brasil.
- Arienilmar, A. L.; Da Silva, L.R.; Faroni, L. R. D.; Guedes, R. N. C.; Martins, J. H. y Pimentel, A. G. (2005). Modelos analíticos de crecimiento poblacional de *Sitophilus zeamais* en trigo almacenado. Ingeniería Agrícola e Ambiental. 10: 55-65.
- Augusto, W. (1975). Fraccionamiento del aceite esencial de muña (*M. mollis*) y su aplicación en la inhibición del brotamiento de papa cultivar mariva. Tesis de bachiller para Químico. UNALM: Lima - Perú.
- Azaña Espinoza, Isaac. (2010). Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico. Tesis de bachiller para Cirujano Dentista. Facultad de Odontología - UNMSM.
- Bacopulos Mejia, Elly. (2003). Control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky en almacén con aplicación de clorpirifos metil, deltametrina y su efecto en la calidad de semilla de maíz. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 121 p.
- Barbera, C. (1996). Pesticidas agrícolas. Primera edición.
- Barbosa, S. J. R. (2007). Evaluación de Productos Naturales y Comerciales Para el Control del gorgojo (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) en semilla de maíz. Tesis licenciatura. UAAAN. Buenavista – Saltillo – México.
- Bardales, A.; Yarlequé, M. y Rueda, L. (1999). Estudio biológico y Fitoquímica del extracto alcohólico de *Minthostachys mollis* "Muña". I Congreso Internacional de Biología - XIII Congreso Nacional de Biología-VII Simposium de Educación en Ciencias Biológicas. Lima - Perú.
- Bibi, Zahra Sahaf; Saeid, Moharramipour y Mohammad Hadi, Meshkatalasadat. (2008). Fumigant toxicity of essential oil from *Vitex pseudo-negundo* against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus oryzae* (L.). Journal of Asia - Pacific Entomology.

- Beingolea, G. (1958). Resistencia de los insectos a los insecticidas, con ejemplos en el Perú. Rev. Peruana de Entomol. Agric. 1 (1): 51-58.
- Beltrán, N. (1983). Aceite esencial de muña: conservación de la papa, consumo e inhibición de microorganismos patógenos. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo.
- Bond, E. J. (1973). Chemical control of stored grain. Insects and mites. Grain storage part of a system. Sinha Muir. The Avi Publishing Co. U.S.A. 875 p.
- Borror, D.J.; D. M. de Long. Y Ch. A. Triplehorn. (1981). Introduction to the study of insect. 5ta. Ed. New York. 928 p.
- Brower, J.; L. Smith. P. Vail. Y P. Flinn. (1996). Biological Control In: Subramanyam, B y D. Hagstrum (Eds). Integrated Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekker, Inc. New York – USA. 223- 286 pp.
- Cano, C. (2007). Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). Tesis de maestría para Magister en Recursos Vegetales y Terapéuticos. Lima: UNMSM.
- Camacho Martínez, Helida E. (2011). “Caracterización fisicoquímica del aceite esencial de la muña (*Minthostachys setosa*) y su estudio antibacteriano”. Universidad nacional del callao - Facultad de ingeniería química. Tesis para la obtención del título profesional de ingeniero químico. Callao – Perú.
- Camacho, P.; Cáceres, A. y Rodríguez J. (2011). Extracción de aceite esencial de eucalipto. Escuela de ingeniería química. Universidad industrial de Santander. Colombia.
- Casini, C. y Santajuliana, M. (2008). Control de plagas en granos almacenados. Recuperado de: <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/articulos/postcosecha/controlPlagasGranosAlmacenados.asp>
- Castañeda, Edith. (2008). Evaluación de los métodos de extracción por fluidos supercríticos, solventes y destilación para la obtención de aceite esencial de la *Rosa canina L.* Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo.

- Castro Mattos, Miguel A. (2012). Comparación de los compuestos terpénicos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) extraídos de las hojas frescas y secas. Tesis para obtener el título de ingeniero en industrias alimentarias. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo.
- Cerruti, M. y Neumayer, F. (2004). Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. Universidad del centro educativo Latinoamericano. Rosario - Argentina. 8 pp.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. (1989). "Codex Alimentarius, Volume XIV. Food Additives". 1st Edition. FAO/WHO. Roma.
- Chaieb K.; Hajlaoui H.; Zmantar T.; Kahla-Nakbi A.B.; Rouabhia M.; K. Mahdouani y Bakhrouf A. (2007). The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review, *Phytother. Res.* (21) 501–506.
- Champ, B. R. y Cribb, J. N. (1965). Lindane resistance in *Sitophilus oryzae* (L.) and *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) in Queensland. *Journal of Stored Products Research.* 1: 9-24
- Chobanu, L. (1976). Variability of the composition of terpenoids for *Mentha longifolia* sp Caucasica Brig. In ontogénesis. *Mater RespKon. Fiziol Bokhim.*
- Cremlyn, R. (1995). Plaguicidas modernos y su acción bioquímica. Editorial Limusa. México DF. 335 p.
- Deletre E.; Martin T.; Campagne P.; Bourguet D.; Cadin A.; Menut C.; Bonafos R. y Chandre F. (2013). Repellent, irritant and toxic effects of 20 plant extracts on adults of the malaria vector *Anopheles gambiae* mosquito.
- Diccionario de botánica. (1979).” Editorial labor S.A. Barcelona – España.
- Dixit S. (2006). Specifications in the flavor and fragrance industry. S. H. Kelkar and Company P. Ltd. The Fafai Journal.
- Duraffourd, C.; Hervicourt, L. y Lapraz, J. C. (1983). Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1º edición. Editorial Masson S.A. París – Francia.
- Figueroa, N.; Estévez, T.; Giménez, A. (1995). Propiedades antibacterianas, antimicóticas e insecticidas de aceites esenciales de especies vegetales

aromáticas nativas. En: Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas Universidad Mayor de San Andrés. BIOFARBO. Vol. IV.

- Floyd, D. J. y J. D. Powell. (1958). Some factors influencing the infestation in corn in the field by the rice weevil. *J. Econ. Entomol.* 51 (1): 23-26.
- Fuertes, C. y Munguía, Y. (2001). Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb "Muña" de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. *Ciencia e Investigación, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.* (4): 23-39.
- Gamez Rojas, Catalina M. y Ramírez Rivero, Emilce J. (2008). Determinación de la concentración letal media (CL<sub>60-48</sub>) del herbicida Roundup sobre ecosistemas acuáticos mediante pruebas toxicológicas con *Daphnia Magna*. Tesis para optar el grado de ingeniero ambiental y sanitario. Universidad de la salle. Bogota D.C.
- Galvao Peixoto, Magna; Bacci, Leandro; Fitzgerald Blank Arie; Albano Araújo Ana Paula; Barreto Alves Péricles; Santos Silva Jefferson Henrique; Santos Abram Almeida; Passos Oliveira Alexandre; Santos da Costa Andréa y Arrigoni-Blank María de Fátima. (2015). Toxicity and repellency of essential oils of *Lippia alba* chemotypes and their major monoterpenes against stored grain insects Magna. Article history. *Industrial Crops and Products.* Brasil.
- García Martín J. (2009). Química analítica de Productos naturales – Metodología básica y marco regulatorio internacional actual. Instituto de Bioquímica y biología molecular de los Recursos Naturales Andinos y Amazónico – UNALM.
- García Lara, S.; Espinosa Carrillo, C. y Bergvinson, D.J. (2007). Manual de plagas en granos almacenados y tecnologías alternas para su manejo y control. CIMMYT. México, D.F.
- García Rodríguez, Ixida. (1992). Susceptibilidad de *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) a insecticidas de diferentes grupos

toxicológicos de tres áreas de Veracruz. UAAAN. Instituto de ciencia y cultura. Buenavista, Saltillo - Coahuila. 54 p.

- Gibaja, S. (1960). Investigaciones químicas de la muña *M. mollis*. Tesis de bachiller para el título de Químico. Lima: UNMSM.
- Gonzales Correa, Yenis Del Carmen; R.A., Faroni Leda; Haddi Khalid; E. Oliveira, Eugenio y G. Pereira, Eliseu José. (2015). Locomotory and physiological responses induced by clove and cinnamon essential oils in the maize weevil *Sitophilus zeamais*. Pesticide Biochemistry and Physiology. Viscosa Federal University. Brasil. 7 p.
- Goldsmith, J. (1967). Thorpe's Dictionary of applied Chemistry. 10ma Ed. Editorial Sir Ian Heilbron. Londres.
- Graca, M. (2010). Actividades antioxidantes y antiinflamatorias de aceites esenciales: breve reseña. Facultad de Ciencias y tecnología, Universidad de Algarve. IBB - Centro de Biotecnología Vegetal. Portugal.
- Guenter, M. (1960). The essential Oils. 1º Edición. Editorial D. New York.
- Gutiérrez, D. L. J. (1992). Pérdida por manejo en maíz durante la cosecha y su relación con la dispersión de las plagas de poscosecha. Informe técnico, campo experimental, CIR. CENTRO, SARH-INIFAP. 13-17 pp.
- Haliscak, J. P. y R. W. Beeman. (1983). Status of malathion resistance in five genera of beetles infesting farm-stored corn, wheat, and oats in the United States. J. Econ. Entomol. (76): 717-722.
- Hernandez G., A. y Carballo, C. (2014). Almacenamiento y conservación de granos y semillas. Subsecretaria de Desarrollo Rural. Dirección general de apoyos para el desarrollo rural. Colegio de postgraduados. Recuperado de: [www.sagarpa.gob.mx/.../almacenamiento%20de%20semillas.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/.../almacenamiento%20de%20semillas.pdf).
- Herrera, A. (1958). Resistencia de ciertas plagas del algodón a los insecticidas orgánicos en el valle de Cañete. Rev. Peruana de Entomología. Agric. 1 (1): 47-51.
- Hewlett, P. S. y Plackett R. L. (1979). La interpretación de las respuestas cuantitativas en biología - Edward Arnold. Londres. 82 p.

- Huari Guerrero, Grace M. (2014). Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans*. Tesis para optar el título profesional de cirujano dentista. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - Perú.
- ISO 279. (1981). Aceites esenciales. Determinación de la densidad relativa a 20 °C. Colombia
- ISO 280. (1976). Aceites esenciales. Determinación del índice de refracción. Colombia.
- Jaroslav, S. (1970). Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana. 1° edición. Editorial Salesiana. Lima - Perú.
- Kakrani K, Nai V. (1982). Antibacterial and antifungal activity of volatile oil from the seeds of *Aglaiia odoratissima*. *Fitoterapia*. 53: 107-109.
- Keane, S. y Ryan, M. F. (1999). Purification, characterisation, and inhibition by monoterpenes of acetylcholinesterase from the waxmoth, *Galleria mellonella* (L.), *Insect Biochem. Mol. Biol.* (29) 1097–1104.
- Kiritani, K. (1965). The natural regulation of the population of the southern green stink bug, *Nezara viridula*. *Proc. XII. Int. Congr. Ent. London*. 375 p.
- Kumoro, A.; Hasan, M. y Singh, H. (2010). Extraction of Sarawak black pepper essential oil using supercritical carbón dioxide. *En: the Arabian Journal for science a engineering*. Volumen 35. 2: (7) – 16.
- Lagunes, A. y Villanueva, J.A. (1995). Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Chapingo - México D.F.
- Lagunes T., A. (1994). Extractos, polvos vegetales y polvos minerales para el combate de plagas de maíz y del frijol en la agricultura de subsistencia. Colegio de postgraduados USAID – CONACYT - BORUCONSA. México. 32 p.
- Liu, Z. L. y Ho, S. H. (1999). Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook. f. et Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J. Stored Prod. Res.* 35,317–328.

- Look de Ugaz, O. (1988). “Investigación fitoquímica”. Métodos en el estudio de productos naturales. PUCP. Fondo editorial.
- López, M. D. Y Pascual Villalobos, M. J. (2010). Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. Ind. Crops Prod. 31. 284 – 288 pp.
- Llanes Mendoza, O. y Gómez Hernández, M. (2006). Intoxicación aguda masiva por endosulfan. Inusual emergencia médica: revista Cubana de medicina intensiva y emergencias.
- Marqués, A. M. C. (1997). Estudio comparativo de actividad antimicrobiana de soluciones irrigadoras a base de clorexidina en diferentes concentrados sobre microorganismos frecuentemente encontrados no canal radicular - Estudio in vitro. Tesis de maestría. Universidad Federal de Bahía Salvador.
- Matute, D. y R. Trabanino. (1999). Manejo integrado de plagas invertebradas en Honduras. Reconocimiento y manejo de las principales Plagas. Zamorano academia press. Honduras.
- Meikle et al., (1999). Tesis de Maestría en Ciencias Grado en Biología Animal Potencial de Extractos Fraccionados de *Ocimum canum* (Lamiaceae) y *Laggera pterodonta* (Compositae) para la Protección del Maíz contra la Infestación de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Recuperado de: <https://www.researchgate.net/Life-cycle-of-Sitophilus-zeamais-Meikle-et-al-1999>.
- Melgar, Jesús. (1978). Aplicaciones aéreas. Principios generales de control integrado de plagas y enfermedades con énfasis en maíz y soya. Universidad Nacional la Agraria Molina. Lima - Perú. 159-166 pp.
- Merck. (2012). Mentol. Recuperado de: [http://www.merckmillipore.com/peru/mentol/MDA\\_CHEM814113/p\\_J4.b.s1LsdYAAAEWfOefVhTl](http://www.merckmillipore.com/peru/mentol/MDA_CHEM814113/p_J4.b.s1LsdYAAAEWfOefVhTl).
- Metcalf, C. L. y Flint, W. P. (1976). Insectos destructivos e insectos útiles. Editorial, Mc GRAW-Hill.
- Meyer, L. (1970). Introducción a la Fisiología Vegetal. 3º Edición. Editorial EUDEBA. Buenos Aires. 272 p

- Miller, E. (1967). Fisiología Vegetal. 1° Edición. Editorial Centro Regional de Ayuda Técnica. México D.F. p: 111-114.
- Moorefield, H. (1959). Insect resistance to the carbamate insecticides. Symp. Research Progress on Insect Resistance. Misc. Publ. Entomol. Soc. Amer. Washington D.C. 145-152 pp.
- Morales Hernandez, Filemon. (2014). Comparación de cuatro métodos de bioensayo en la determinación de la toxicidad de insecticidas en *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Tesis para obtener el grado de maestro de ciencias. Montecillo, Texcoco – México.
- Morales, A. (1973). Estudio de la extracción y características de los aceites esenciales de *M. Mollis* (muña) y de *S. Sagittata* (hierba buena). Tesis de bachiller para Químico. UNALM: Lima - Perú.
- Moreno, E. M. (1996). Análisis físicos y fisiológicos de semillas agrícolas. Tercera edición. UNAM. Ciudad Universitaria, México D. F. 393 pp.
- Motle, P. (1977). Proyecto de factibilidad para la instalación de una planta de extracción de aceite esencial de Menta. Tesis de bachiller. UNI. Lima.
- Oblitas, E. (1998). Plantas medicinales en Bolivia: farmacopea Callawaya. 2° Edición. La Paz: Editorial los amigos del libro. 8 p.
- Oviedo, F. (1979). Ensayos toxicológicos preliminares con aceite esencial de muña. Tesis de bachiller. UNSAAC: Cuzco.
- Pérez M, J. (1999). Survey of Insecticide resistance in Mexican populations of maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Stored Products Research, 35: 107-115.
- Pérez, M. J. (1988). Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones del picudo del maíz (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae) de varias localidades de México. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Chapingo –México. 142 p.
- Ponce, G. y Cantú, P. (2006). Modo de acción de los insecticidas. Revista salud pública y nutrición. Volumen 7.

- Poveda Ramos, G. (2016). Introducción a la interpolación y a la integración numérica. Cálculo numérico. Recuperado de: <http://departamento.us.es/edan/php/asig/LICMAT/LMCN1/Tema3CN10809.pdf>.
- Primo, V.; Rovera, M.; Zanón, S.; Oliva, M.; Demo, M. y Daghero, J. (2001). Determinación de La actividad antibacteriana y antiviral del aceite esencial de *Minthostachys verticillata* Griseb Epiing. Rev Argent Microbiol. 113-117 p.
- Prieto, Juliet A.; Pabón, Ludy C.; Patino, Oscar J.; Delgado, Wilman A.; Cuca, Luis E. (2010). Constituyentes químicos, actividad insecticida y antifúngica de los aceites esenciales de hojas de dos especies colombianas del género ocotea (lauraceae). Rev. colomb. Volumen 39(2). ISSN 2357-3791. p. 199-209
- Quiroz, C. P. (2005). Vademécum Agrario. El Ingeniero Agrónomo. Sexta Edición.
- Ramírez, M. M. (1990). Biología y Hábitos de insectos de granos almacenados Curso sobre insectos de granos y semillas de almacén. Aguas calientes Ags - México. 1- 51 p.
- Ramírez, G. M. (1966). Almacenamiento y conservación de granos y semillas. Ed. CECOSA. México. 300 p.
- Ruigt, G. S. F. (1985). Piretroides en G.A. Kerkut. Fisiología Global de Insectos. Bioquímica y Farmacología. Pergamon Press. LI Gilbert (eds.), vol. 12. Oxford- Inglaterra. 183-272 pp.
- Salas, J. (1984). Protección de semillas de Maíz contra el ataque de *Sitophilus orizae* a través del uso de aceites vegetales. Agronomía Tropical. Venezuela. 35 (4-6): 13-18
- Sedlacek J. D.; R. J. Barney y M. Siddiqui. (1991). Effect of Several Management tactics on Adult Mortality and Progeny Production of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) on Stored corn in the Laboratory. J. Econ. Entomol. 84(3): 1041- 1046.

- Seguil, C. (1990). Efectos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) como conservante durante el almacenaje de plátanos (*Musa acuminata*), cultivar seda. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo.
- Schmidt - Lebuhn, A. N. (2009). *Minthostachys*, Distribución, ecología e investigaciones. Centre for plant biodiversity research. Canberra - Australia.
- Silicia, Juan Manuel. (1955). Los gorgojos del trigo y del arroz. Publicaciones de agricultura. Ministerio de Agricultura - Servicio Nacional del Trigo. Madrid.
- Sotta, N. (2000). Plantas aromáticas y medicinales de la. región Arequipa. 1° edición. Arequipa: Editorial Akuaella. 99-100 p.
- Solís, N. (1979). Estudio toxicológico del aceite esencial de muña en la mosca doméstica. UNSAAC, Facultad de Agronomía y Zootecnia. Cusco - Perú. 74 p.
- Stadler, T.; M. I. Picollo y E. N. Zerba. (1990). Factores ecofisiológicos relacionados con la susceptibilidad a insecticidas y la resistencia a malation en *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: curculionidae). Boletín san. Veg. Plagas Argentina. 16:743-754.
- Tapia Zurita, Omar G. (2013). Control orgánico del gorgojo del maíz (*Sitophilus Zeamais*), en semillas almacenadas de chulpi (*Zea Mays* var rugosa) con ajenojo “Santa María” (*Parthenium Hysterophorus*) y romero (*Rosmarinus Officinalis*). Tesis para obtención del título de Ingeniero Agropecuario. Quito - Ecuador.
- Varo, P. T.; Heinz, D. E. y J. (1970). Agric. Food. Chem. (18). 234.
- Weberbauer, M. (1945). El mundo vegetal de los Andes Peruanos. 1° edición. Editorial Lumen S.A. Lima - Perú.
- Williams, R. N. y Floyd, E. H. (1970). Flight habits of the maize weevil *Sitophilus zeamais*. J. Ecob. Entomol. 63(5):1585-1588.
- Yapuchura, R. (2010). Estudio de los compuestos antioxidantes de las hojas de la muña (*Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb) e inca muña (*Clinopodium bolivianum* (Benth) Kuntze). Tesis para obtener el grado de Magister

Scientiae en tecnología de alimentos. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima - Perú.

- Y.; Rongsriyam Y.; Komalamisra N. y Apiwathnasorn C. (2005). Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites, *Phytother. Res.* 19 303–309.
- Y. El ouadi, A. Bouyanzer, L. Majidi, J. Paolini, J.M. Desjobert, J. Costa., A.ChetouaniandB. Hammouti. (2014). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(7):1401-1416.
- Zamora, C. G. (2003). Tesis Efecto de la residualidad de clorpirifos metil y deltametrina en la calidad de la semilla de maíz almacenada y el control de *Prostephanus truncatus Horn*.
- Zekaria, D. (2007). Los aceites esenciales, una alternativa a los antimicrobianos. Laboratorios Calier. España. Recuperado de: [http://www.calier.es/pdf/Microsoft\\_Word\\_\\_Aceites\\_esen\\_como\\_promotores.pdf](http://www.calier.es/pdf/Microsoft_Word__Aceites_esen_como_promotores.pdf).

# ANEXOS

## ANEXO A.

### MÉTODOS DE ANÁLISIS DE ACEITES ESENCIALES.

#### a. Determinación de la densidad

Código NTP 319.081 (1974) define la densidad como la relación entre la masa de un volumen dado de un aceite esencial y su volumen, determinados a 20 °C y a la densidad relativa como la relación entre la densidad del aceite a 20 °C y la densidad del agua destilada a la misma temperatura.

Se calcula la densidad expresada en (g/mL) y referida a una T° de 20 °C (NTP 319.081, 1974).

$$\text{Densidad} = [(P'' - P)/(V)] \text{ (g/mL)}$$

P = peso en g del picnómetro vacío.

P'' = peso en g del picnómetro lleno con aceite a 20 °C.

V = volumen del aceite a 20 °C.

#### b. Determinación del índice de refracción

Código NTP 319.075 (1974) Se emplea el refractómetro ABBE de mesa que determina la relación entre el seno del ángulo de incidencia y el seno del ángulo de refracción del aceite. Colocando una gota de aceite esencial sobre el prisma del refractómetro. Medir y registrar el índice de refracción a 20 °C de temperatura.

Limpiar el prisma del refractómetro ABBE.

## ANEXO B.

### FICHA DE EVALUACIÓN DEL OLOR

El grano de maíz presenta un olor a aceite esencial de muña?, solo si la respuesta es "SI", pase a la siguiente pregunta.

Sí

No

El olor que presenta es:

Agradable

Desagradable

Indiferente

## ANEXO C.

### DATOS DE LA EVALUACIÓN Y/O ANÁLISIS DE RESULTADOS

A continuación se muestra en las Tablas los datos que se han utilizado para determinar las concentraciones del aceite esencial de muña y del insecticida comercial en polvo (malation); aplicados en el gorgojo de maíz.

**Tabla 18. Pesos del gorgojo de maíz.**

N° gorgojos	Peso del sobre + gorgojo (g)	Peso gorgojo (g)	Peso gorgojo (ug)
1	0,6507	0,0056	5600
2	0,6514	0,0063	6300
3	0,6518	0,0067	6700
4	0,6516	0,0065	6500

5	0,6525	0,0074	7400
6	0,6524	0,0073	7300
7	0,6523	0,0072	7200
8	0,6530	0,0079	7900
9	0,6523	0,0072	7200
10	0,6520	0,0069	6900
<b>Promedio</b>		0,0069	6900

Sabiendo que:

- ✓ Peso del sobre = 0,6451 g
- ✓ 1 g = 1 x 10<sup>6</sup> ug

#### **A. PARA DETERMINAR LA DOSIS LETAL MEDIA DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA**

La Tabla 19 muestra los datos con el cual se determinó la densidad del aceite esencial de hojas de muña.

**Tabla 19. Pesos para determinar la densidad del aceite esencial de hojas de muña.**

	<b>Valor</b>
<b>Peso del picnómetro (g)</b>	26,9114
<b>Peso del picnómetro + aceite (g)</b>	36,0762
<b>Peso del aceite (g)</b>	9,1648

Volumen: 10 mL

Teniendo como densidad: 0,91648 g/mL

Convirtiendo g/mL a ug/uL : 916,48 ug/uL

Dónde:

- ✓ 1 g/mL = 1000 ug/uL

La Tabla 20 muestra valores con el cual se determinó las concentraciones de aceite esencial de hojas de muña.

**Tabla 20. Concentraciones de aceite esencial de hojas de muña a diferentes volúmenes de exposición del *Sitophilus zeamais*.**

Volumen (uL)	Densidad aceite (ug/uL)	Peso del aceite de muña (ug)	Peso del gorgojo (ug)	Concentración (ug/ug)
10	916,48	9164,8	6900	1,3282
20	916,48	18329,6	6900	2,6564
30	916,48	27494,4	6900	3,9847
40	916,48	36659,2	6900	5,3129
50	916,48	45824,0	6900	6,6412

Con la ecuación de densidad, se determinó el peso del aceite esencial de muña para cada volumen como por ejemplo:

$$D = \frac{m}{v}$$

Dónde:

D = densidad del aceite esencial de muña.

m = masa del aceite esencial de muña.

v = volumen del aceite esencial de muña.

$$916,48 \frac{ug}{uL} = \frac{m}{10 uL} \quad m = 9164,80 ug$$

Por medio de la interpolación (Ec. 1) del valor de 4,15 ug/ug (la dosis letal media del aceite esencial de muña) que se determinó en la Figura 19 y utilizando los valores de la Tabla 20 de la concentración y del volumen del aceite se obtiene el volumen del aceite esencial de hojas de muña a esa concentración como se puede observar:

$$Y_X = Y_0 + \frac{(X-X_0)}{(X_1-X_0)} (Y_1-Y_0) \dots\dots\dots Ec.1$$

**Tabla 21. Cálculo del volumen de aceite esencial de hojas de muña a 4,15 ug/ug.**

<b>Volumen (uL)</b>	<b>Concentración (ug/ug)</b>
30	3,98
40	5,31
<b>31,28</b>	<b>4,15</b>

Siendo:

$$\text{Volumen (uL)} = 31,28 \approx 31 \text{ uL}$$

**B. PARA DETERMINAR LA DOSIS LETAL MEDIA DEL INSECTICIDA COMERCIAL (MALATION)**

La Tabla 22 muestra el cálculo entre el peso del malation en polvo y el peso del gorgojo de maíz.

**Tabla 22. Pesos para determinar la concentración del insecticida comercial en polvo (malation).**

<b>Peso del malation en polvo (g)</b>	<b>Peso del principio activo del malation en polvo al 4 % (g)</b>	<b>Peso del malation en polvo (ug)</b>	<b>Peso gorgojo (ug)</b>	<b>Concentración (ug/ug)</b>
0,4	0,016	16000	6900	2,3188
1,2	0,048	48000	6900	6,9565
2,0	0,080	80000	6900	11,5942

Por medio de la interpolación (Ec. 1) del valor de 7,08 ug/ug (la dosis letal media del malation) que se determinó en la Figura 23 y utilizando los valores de la Tabla 22 de la concentración y el peso del insecticida comercial en polvo (malation) se obtiene el peso del principio activo del malation al 4 % como se puede observar en la Tabla 23:

**Tabla 23. Cálculo del principio activo del malation en polvo a 7,08 ug/ug.**

<b>Peso del principio activo del malation en polvo al 4 % (g)</b>	<b>Concentración (ug/ug)</b>
0,048	6,96
0,080	11,59
<b>0,049</b>	<b>7,08</b>

Teniendo: Peso (g) = 0,049 g.

### C. CONTROL EN LA MUERTE DE LOS GORGOJOS DE MAÍZ

En la Tabla 24 se muestra el número de gorgojos muertos (muestras en blanco) por causas naturales ya sea como la edad, alguna enfermedad o falta de alimento.

**Tabla 24. Control en la muerte de los gorgojos de maíz**

<b>MUERTE POR CAUSAS NATURALES</b>		
<b>TIEMPO (HORAS)</b>	<b>SIN ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE MUÑA</b>	<b>SIN INSECTICIDA COMERCIAL (MALATION)</b>
0	0	0
12	0	0
24	0	0
96	0	0

## ANEXO D.

### FOTOGRAFÍAS

**FIGURA 1. Planta de muña fresca.**



**FIGURA 2. Plantas de muña extendidas y siendo secadas en la sombra.**



**FIGURA 3. Hojas de muña seca y deshojada de la planta.**



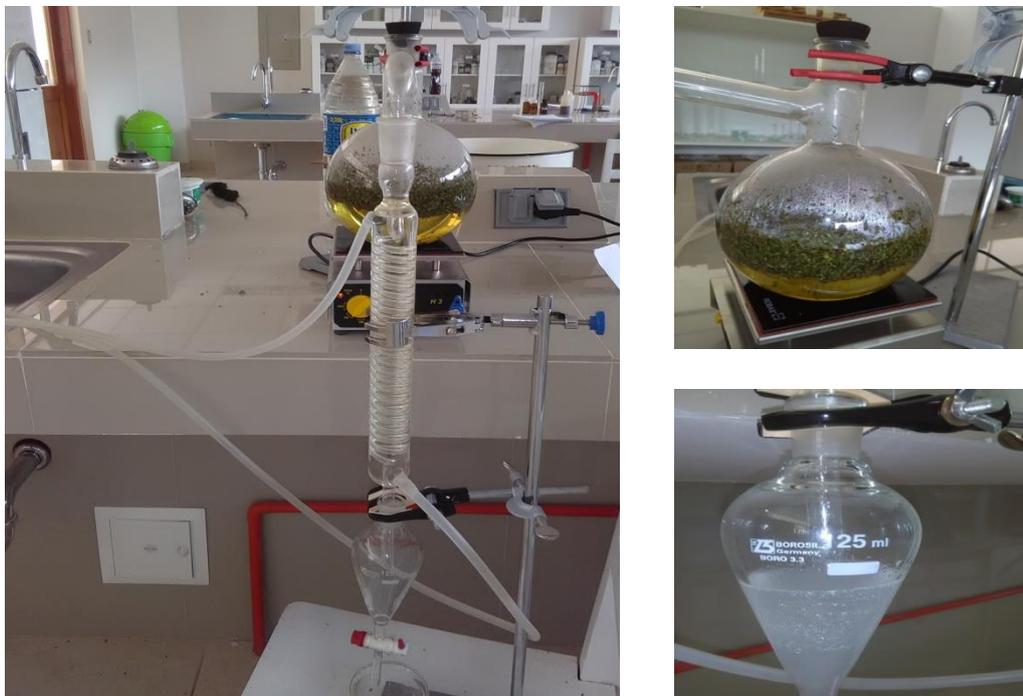
**FIGURA 4. Pesado de la muestra de hojas de muña.**



**FIGURA 5. Agregado de hojas de muña al balón de destilación – Equipo de arrastre de vapor.**



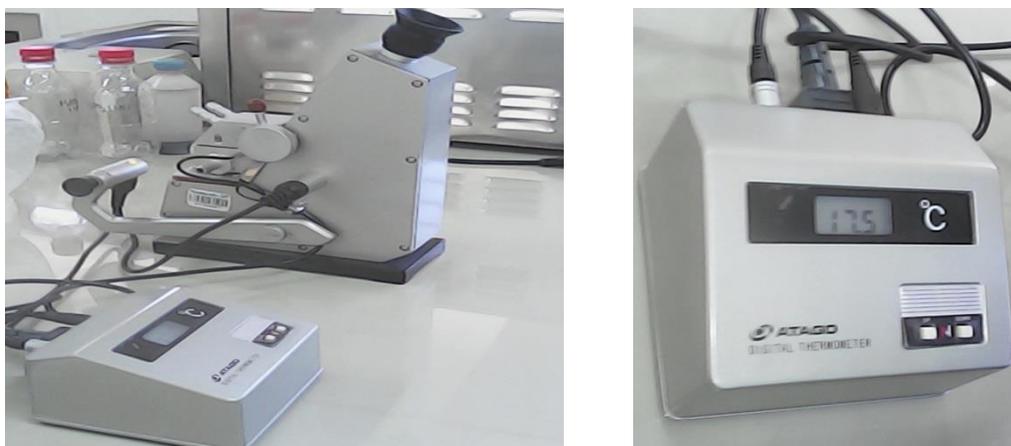
**FIGURA 6. Proceso de destilación y decantación del aceite esencial de muña.**



**FIGURA 7. Aceite esencial de muña en envase ámbar.**



**FIGURA 8. Equipo de medición del índice de refracción.**



**FIGURA 9. Frascos de almacenamiento de maíz con gorgojos.**



**FIGURA 10. Graficando cuadraditos de 1,3 x 1,3 cm en papel filtro para pruebas.**



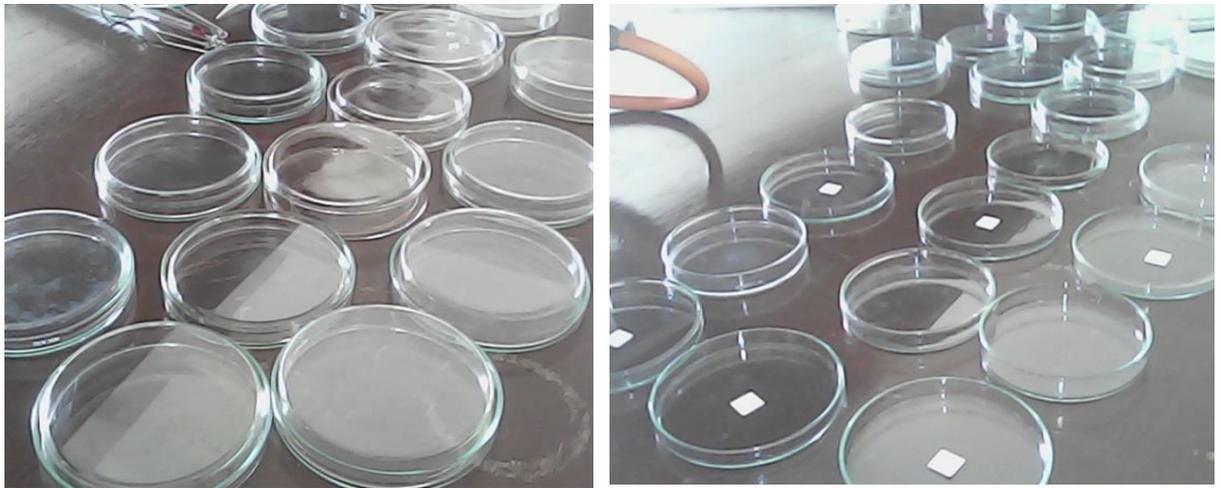
**FIGURA 11. Selección de gorgojos hacia los sobres para las pruebas.**



**FIGURA 12. Pesado y preparado de la muestra de malation.**



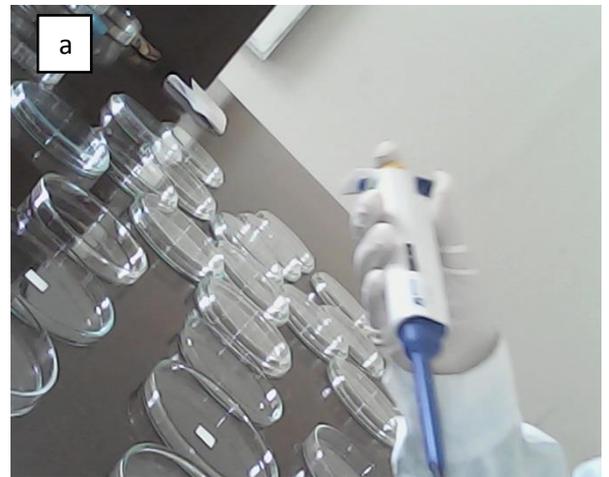
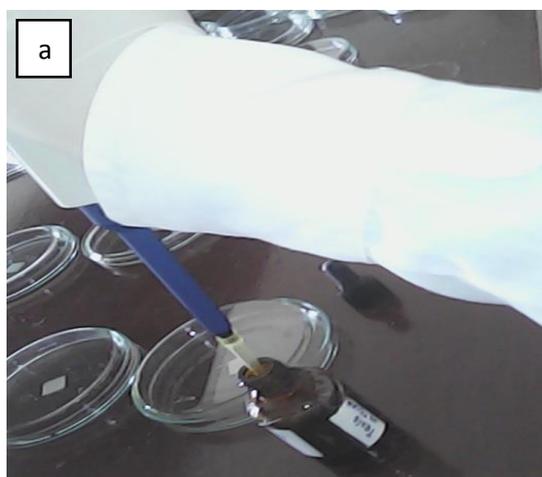
**FIGURA 13. Acondicionamiento de las placas y pequeños cortes de papel filtro en estas mismas.**



**FIGURA 14. Micropipeta de 100 uL.**



**FIGURA 15. Dosificación del aceite de muña(a) y el malation en polvo (b)**





**FIGURA 16. Adición de gorgojos vivos de sobres a las muestras con aceite y al insecticida malation.**



**FIGURA 17. Plaqueo y conteo de gorgojos muertos.**

