

35
21



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA



**EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

**IDENTIFICACION DE LOS VOLATILES DE MAIZ.
PROSPECTIVAS DE USO EN EL MANEJO
INTEGRADO DE LAS PLAGAS DE ALMACEN.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A :

JACQUELINE JOSEFINA SAENZ CHUC



MEXICO, D. F.

1987

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente	Prof. Albores Velasco Martha.
Vocal	Prof. Korkowski Pless Irma
Secretario	Prof. García Peña María de Lourdes.
1er. Suplente	Prof. Elizalde Torres Josefina.
2do. Suplente	Prof. Hidalgo Torres Miguel Angel.

Sitio donde se desarrolló el tema:

Lab. 202. Depto. Química Orgánica. División de Estudios de Posgrado, Pb del edificio B.

Asesor del tema: Dra. Martha Albores Velasco

Supervisor técnico: M en C. Jorge Gutierrez Díaz

Sustentante: Jacqueline Josefina Sáenz Chuc.

Martha Albores Velasco
Jorge Gutierrez Díaz
Jacqueline Josefina Sáenz Chuc

Dedicatoria.

A Dios

A mí Madre: Ma. del Carmen Chuc Villamonte

En memoria de mi Padre: José Sáenz Gamez

A el amor: Javier Chávez Helguera

A mis Amigos.

Agradecimientos.

A la Dra. Martha Albores Velasco por su invaluable asesoría en el desarrollo de este trabajo y por su amistad. Al H. Jurado por sus valiosas recomendaciones. Al M. en C. Jorge Gutiérrez Díaz por el apoyo con el material biológico, A Elba Rojas Escudero y Paty Elizalde Galván por su orientación y la transmisión de conocimientos en la parte de Cromatografía. Al departamento de Química Orgánica. A Mari Esther Enriquez Enriquez siempre eficiente y amable ayuda secretarial. Al Sr. Heriberto Perez Escutia por su habilidad y paciencia al imprimir los cromatogramas, A Elvia, Javier Alfán y Orestes por sus recomendaciones. A Ivette Mascher Brizuela por su colaboración en el trabajo e iluminar el camino, A Lorena Ponce Frías y Sergio Colmenares por su inigualable optimismo y su disposición. Al Colegio La Florida por su formación e impulso especialmente a Margarita Ozaeta L, quien dió la orientación y cariño por la química. A la UNAM-FACULTAD DE QUÍMICA por el cúmulo de conocimientos adquiridos a través de nuestra estancia dentro de las aulas, han logrado hacer de nosotros profesionales útiles al país.

INDICE

	Página.
Resumen.	1
Capítulo 1. Objetivos.	2
Capítulo 2. Antecedentes.	3
2.1. Métodos de control de plagas de insectos de almacén	3
2.1.1. Sanidad del lugar de almacenamiento.	3
2.1.2. Control Químico.	4
2.1.2.1. Insecticidas de contacto.	4
2.1.2.2. Fumigantes.	4
2.1.3. Control Físico.	5
2.1.4. Control Biológico.	6
2.1.5. Manejo Integrado de Plagas.	6
2.2. Volátiles de Maíz.	7
2.3. Cromatografía de Gases.	9
2.3.1. Parámetros cromatográficos.	
2.3.2. Índices de Kóvats.	12
2.3.3. Espectrometría de masas.	13
Capítulo 3. Materiales y Métodos.	
3.1.1. Materiales y métodos Biológicos.	14
Maíz e insecto de prueba.	14
Cultivo de insectos.	14
Olfatómetro.	14
Bioensayos.	15
3.1.2. Material y métodos Químicos.	
Pureza de los reactivos	15
Cromatografía	15
Cartuchos de adsorción.	16
Aislamiento de Volátiles.	16
Análisis por Cromatografía de Gases.	16
Identificación de volátiles.	17
Uso de Estándares.	17
Capítulo 4. Resultados y Discusión.	19
Capítulo 5. Conclusiones y Recomendaciones.	37
Bibliografía.	38

Resumen

En estudios relacionados con la Entomología de granos almacenados en el estado de Morelos^a, se ha observado una relación entre la atracción de insectos nocivos por el maíz almacenado y la hora del día, la temperatura y la humedad del ambiente. Se formuló la hipótesis de que la atracción se debe a la producción de sustancias volátiles. Se ha observado que la producción de estas sustancias varía con la temperatura y la humedad relativa.

En este trabajo se estudió la posibilidad de aplicar los atrayentes del maíz, como método alternativo de control de insectos de almacén. Se aislaron los volátiles de 20 Kg de maíz, por adsorción en columnas de Gel de sílice, Florisil y Carbón Activado. Mediante Cromatografía de Gases (GS) se determinó que los componentes adsorbidos en cada una de las columnas son diferentes.

Se evaluó la actividad del maíz y la de los volátiles que se adsorbieron en cada una de las columnas utilizando un bioensayo de atracción en un olfatómetro tipo Rauscher^b. Los volátiles adsorbidos en gel de sílice son los que muestran mayor actividad.

Al realizar la coinyección con los estándares por CG se pudieron identificar los siguientes compuestos: Cariofileno, Geranil acetona, Geraniol, Naftaleno, Limoneno y Octanol.

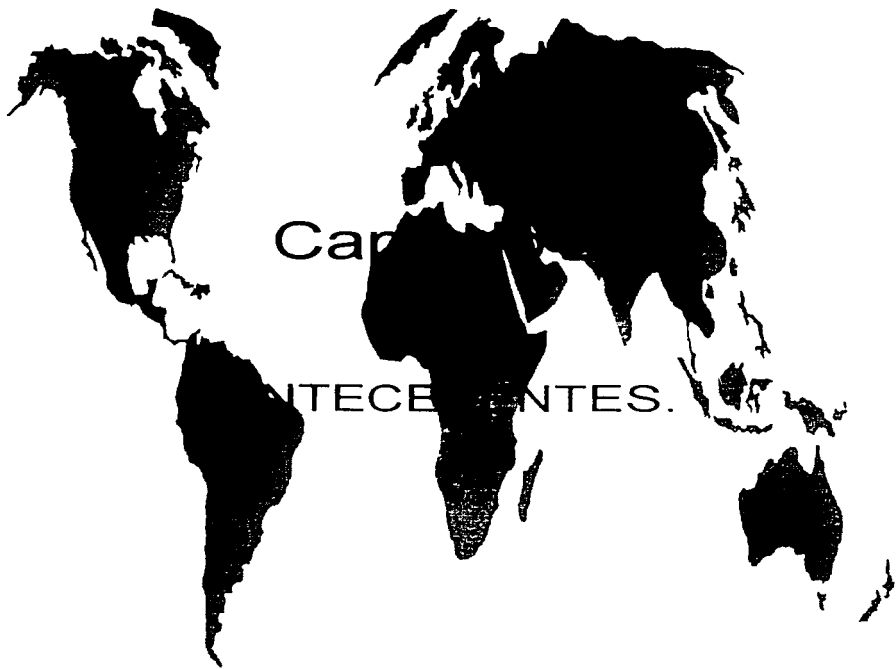


Car

BJE VOS.

Objetivos:

- Aislar los compuestos volátiles de maíz responsables de la atracción de insectos.
- Estudiar el efecto de los compuestos volátiles aislados sobre *Sitophilus zeamais*.
- Identificar los compuestos volátiles aislados utilizando Cromatografía de gases.



Car

ITECE ENTES.

2. Antecedentes:

En México las condiciones ecológicas favorecen la proliferación de insectos, los cuales demeritan la calidad alimenticia, el valor económico y el poder germinativo de granos almacenados. Existen en nuestro país alrededor de 25 especies de insectos¹ que atacan granos almacenados, considerándose que las especies de mayor daño al maíz son el gorgojo del maíz *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), y el barrenador mayor de los granos *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae). Estos insectos en poco tiempo producen pérdidas económicas importantes por lo menos de un 35% de la producción total del maíz. Se ha sostenido una lucha constante contra los insectos depredadores, muestra de ello son las transformaciones evolutivas, conductuales y morfológicas de algunas especies como la pérdida de las alas funcionales en los *Sitophilus granarius* (L.), el incremento de la capacidad destructiva y la amplia adaptación a condiciones ambientales adversas, así como las transformaciones fisiológicas entre las que resaltan las enzimáticas que les han permitido desarrollar resistencia a los insecticidas. En la actualidad no se ha logrado un control adecuado de estos depredadores.

2.1. Métodos de control de plagas de insectos de almacén.

El conocimiento de aquellos factores físicos, bióticos o de otra índole, favorables a la abundancia y el incremento de plagas es fundamental para combatirlas.

Existen dos métodos para combatir los insectos el directo (utilización de plaguicidas) y el indirecto. Este último se inicia con la sanidad, la cual incluye la construcción de almacenes a prueba de insectos, silos o bodegas en donde los organismos no tengan fácil acceso. Esto consiste en mantener los almacenes así como sus alrededores completamente limpios y libres de residuos de granos que pudieran estar infestados. Además el grano deberá contener una humedad favorable para su almacenamiento. También deberá aplicarse aireación con el propósito de mantener la humedad y la temperatura uniforme, reduciéndose así la posibilidad de invasión por hongos e insectos¹⁴.

2.1.1. Sanidad del lugar de almacenamiento.

Los requerimientos básicos para alcanzar éxito en la aplicación del control de insectos de cereales almacenados son:

- Limpieza del lugar de almacenamiento (eliminación de residuos de almacenamientos anteriores y fumigación de material almacenado)

- **Sellado de agujeros en el techo** para prevenir escurrimientos de agua durante la época de lluvia, y putrefacción y malos olores en los granos
- **Sellado de agujeros en el suelo** y colocación de mallas en las ventanas como protección contra roedores y pájaros
- **Resanado y pintado de paredes internas** (mezcla de cal hidratada y sal común) para reducir la probabilidad de grietas o fracturas como lugar de refugio de insectos
- **Ventilación adecuada** y remoción del grano (en el almacenamiento a granel) para evitar calentamientos en los granos
- **Eliminación de focos de infestación** por insectos.

2.1.2. Control Químico.

El control químico de insectos es el método más rápido y eficiente, requiere además de varias aplicaciones de insecticidas, instalaciones adecuadas, equipo y tecnología generalmente escasos en el medio rural. Es esencial, cuando se recomiendan productos químicos como medio de control, que estos no sean peligrosos para los humanos, indicando a los campesinos su manejo y lugares seguros donde deben almacenarse. Por otra parte, el alto costo de los insecticidas y la presencia de residuos tóxicos en productos alimenticios derivados de los granos tratados, son otras desventajas del control químico. Además de dañar el poder germinativo de las semillas, también pueden presentarse problemas de resistencia de los insectos a los pesticidas al funcionar éstos como agentes de presión selectiva en numerosas poblaciones de insectos, o bien ocurrir como uno más de los contaminantes del ambiente.

Los insecticidas pueden clasificarse en dos grupos, insecticidas de contacto y fumigantes⁴.

2.1.2.1. Insecticidas de Contacto.

Son insecticidas que se aplican de modo que entran en contacto con alguna parte del cuerpo del insecto; el insecticida puede pasar a través del exoesqueleto y penetrar en los tejidos del cuerpo. Estos insecticidas pueden mezclarse con el grano al tiempo de almacenarlo o aplicarlo en el almacén y sus alrededores⁴.

2.1.2.2. Fumigantes.

Son sustancias químicas que al ser confinadas en un espacio cerrado bajo condiciones normales de temperatura y presión atmosféricas, permanecen en estado gaseoso en una concentración suficiente para resultar letal a los insectos, en un tiempo determinado de exposición.

Algunos fumigantes reaccionan violentamente con el aire atmosférico y la humedad ambiental produciendo un gas que es venenoso para los insectos y altamente peligroso y mortal para los humanos.

Estos componentes no tienen efecto residual y presentan numerosas ventajas sobre los insecticidas de contacto, tales como que pueden penetrar dentro de los costales y en las hendiduras de las paredes donde es común que los insectos se escondan, además pueden matar todos los estados biológicos del insecto.

Su principal desventaja es que son apropiados solamente para espacios cerrados, ya que sus vapores se dispersan rápidamente.

Para hacer eficiente el proceso de la fumigación de granos, se requiere seleccionar los productos fumigantes más potentes. Estos requieren de las siguientes propiedades:

- . Altamente volátiles
- . Alta toxicidad para insectos
- . Baja adsorción (retención superficial) y absorción (penetración en los materiales a fumigar).
- . Sin reacción química con los materiales en contacto
- . Sin residualidad.
- . No explosivos ni inflamables
- . Fáciles de eliminar por simple ventilación
- . Detección rápida (principalmente en casos de fugas)
- . Bajo costo
- . Accesibles en el mercado
- . Autorizados para su uso en granos y semillas

2.1.3. Control Físico.

Entre los medios de control físico se cuenta con procesos mecánicos como el cribado, el tamizado y la selección de granos. Además, los procesos de aireación, ventilación, y secado, el uso de temperaturas altas o bajas, o bien de ambas, radiación solar y el empleo de radiaciones de alta energía.

La desventaja es que la mayoría de estos procesos requieren de una tecnología de alto costo y un personal especializado para manejarla, además, muchos de ellos se encuentran actualmente en experimentación, aunque en muchos casos ya se han usado en procesos industriales y en grandes cantidades de granos.

La ventaja de estos métodos es que no dejan en el grano ningún residuo tóxico para quienes lo consumen y las alteraciones en el valor nutritivo son mínimas. En algunos casos pueden llegar a dañar el poder germinativo de la semilla y aún sus propiedades genéticas. Por otra parte, el grano

debe almacenarse adecuadamente, pues es susceptible de ser atacado nuevamente por insectos ya que no hay poder residual ¹⁶.

2.1.4. Control biológico.

En el combate biológico de insectos en granos almacenados se han utilizado dos métodos :

- a) Uso de parásitos o depredadores de plagas de insectos.
- b) Producción de variedades resistentes al ataque de plagas.

En el primer caso se ha estudiado el uso de bacterias, virus y ciertos hongos que pueden ser dañinos para el insecto pero que no deben serlo para los consumidores. También existen algunos ácaros que se alimentan de huevos de insectos.

2.1.5. Manejo Integrado de Plagas.

En una perspectiva muy amplia del combate de insectos que dañan a las semillas y los granos de almacén podemos encontrar lo que se conoce como control integrado de insectos, en el cual se tratan de combinar prácticas de control tanto directas como indirectas, a fin de evitar al máximo posible el daño por insectos.

El manejo integrado de plagas describe la combinación de estrategias de control compatibles, para obtener un control más efectivo (y/o menos dañino para el ambiente) de una plaga, que cualquiera de las estrategias usadas de manera aislada. El control integrado convencional en cultivos, usualmente involucra el uso de pocas aplicaciones de plaguicidas o compuestos más selectivos, además de control biológico. Esta práctica no es apropiada en productos almacenados, debido a que la mayoría de los plaguicidas tienen que ser aplicados de manera preventiva y los productos usuales (compuestos organofosforados y piretroides sintéticos) son más tóxicos a los enemigos naturales que a las plagas mismas.

En productos almacenados, la aproximación más prometedora al control biológico podría ser el uso de bio-plaguicidas selectivos (por ejemplo los patógenos que poseen un alto grado de especificidad), lo cual implica la conservación de cualquier insecto enemigo natural, combinado con el uso de variedades del cultivo más resistentes, además de las prácticas apropiadas del agricultor. En el último caso, la buena sanidad para minimizar las poblaciones de las plagas en el ambiente, la selección de productos sin infestación para el almacenamiento, ayudan a disminuir los niveles iniciales de infestación.

Las feromonas son sustancias que los insectos secretan para comunicarse. Las feromonas sexuales y de agregación son potentes atrayentes, capaces de detectar y monitorear infestaciones incipientes cuando se usan en diseños de trampas eficientes. Para atrapar insectos inmersos en

los depósitos de grano se usan trampas pegajosas o de cartón corrugado, para insectos caminando en el sustrato y/o para insectos volando, las trampas pegajosas o de embudos*.

Las trampas con feromonas se pueden usar para:

- 1) Detección y monitoreo de insectos en cuarentena o recientemente introducidos
- 2) Muestreo de insectos de almacén antes de la cosecha
- 3) Vehículos de transporte
- 4) Instalaciones de almacenamiento y proceso y/o alacenas de alimentos familiares.

Con las feromonas se pueden también establecer patrones de actividad estacionaria y diaria, y sirven de base para recomendar medidas de control y evalúan la eficiencia de las medidas tomadas.

2.2. Volátiles de maíz.

El estudio de volátiles de plantas como atrayentes o repelentes de insectos es un campo de reciente exploración.

Existen 8 trabajos en los que se describe el estudio de los volátiles de maíz

El primero en estudiar los granos fue Flath* quien estudió la envoltura de la mazorca, y encontró los mismos aceites esenciales de los granos del maíz, estos componentes se aislaron mediante destilación por arrastre con vapor de agua y se analizaron por Cromatografía de Gases-Espectrometría de masas (CG-EM) En este estudio se identificaron un total de 58 componentes de los cuales 34 fueron de los granos del maíz entre los que destacaron nonan-2-ol, heptan-2-ol, hept-4-en-2-ol, y undecan-2-ol, otros compuestos identificados fueron geranyl cetona, β -ionona y deca-2,4,7-trienal.

Thompson** identificó 59 compuestos en el aceite esencial del pelo de elote y estudió la relación entre el aceite esencial y el insecto *Helotix zea*

Entre los componentes poco usuales identificados en este trabajo de Thompson se incluyen hept-4-en-2-ona y α -ilangeno. Los volátiles son cualitativamente similares en diferentes partes de la planta del maíz estudiadas, aunque hay diferencias cuantitativas.

Actualmente los compuestos mencionados se consideran interesantes para el desarrollo de métodos para el control de esta plaga.

En un estudio sobre el sabor dulce de los granos de maíz, Kaminski** identificó componentes como etanol, butanol, pentanol, cis-3-hexene-1-ol, hexenal, limoneno, 2,5- y 2,6-dimetil pirazina, α -ionona y β -ionona.

Se confirmó que el sulfuro de dimetilo es el principal constituyente de la nota dulce del maíz, mediante un análisis del vapor confinado("Head-space"). Se observó una diferencia significativa

cuando se compararon los modelos de aroma entre la pasta del maíz y el polvo de maíz. Esto parece ser causado por la diferencia en el proceso de calentamiento.

La causa de la pérdida del sabor del polvo de maíz dulce durante el almacenamiento parece ser la disminución de los componentes de bajo punto de ebullición y el aumento de hexenal, trans-2,4-heptadien-2-ona, trans,trans-2,4-heptadienal, trans-2,cis-4- y trans,trans-2,4-decadienal.

Por otro lado Udayagin, S. y Jones, R L " estudiaron la atracción al olor del maíz, papa y frijol por parte del parásito *Macrocentrus grandii* Goldanich, comprobando la atracción de estos alimentos para el barrenador, aislaron los compuestos volátiles de las hojas del maíz sano usando tenax e identificándolos por CG-EM. Se identificaron 21 sustancias que incluyen aldehídos, cetonas, alcoholes, ésteres y sesquiterpenos que se separaron por Cromatografía en capa fina utilizando como fase estacionaria Florisil. Realizaron bioensayos de las fracciones obteniendo como resultado que *M. Grandii* fue atraído por las fracciones no polares y poco polares que incluyen sesquiterpenos, aldehídos, cetona y ésteres. Los compuestos más polares como los alcoholes no fueron atractivos.

Este estudio demostró que solo algunos compuestos en cada uno de los complejos odoríficos fueron atractivos. Igualmente se documentó que diferentes compuestos se involucran en la atracción hacia *M. Grandii*.

Turlings, T.C. y colaboradores" investigaron que los volátiles liberados de la semilla de maíz fueron atractivos a las hembras del parasitoides *Cotesia marginiventris* en bioensayos de túnel de vuelo. El análisis de los compuestos volátiles colectados reveló la presencia constante de 11 compuestos con cantidad significativa. Estos fueron: z-3-hexenal, E-2-hexenal, z-3-hex-1-ol, z-3-hexen-1-il, acetato de hexanal, linalool, 3-E-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieno, indol, trans-bergamoteno, E-β-farneseno, E-β-ionolol y (3E, 7E)-4,8,12-trimetil-1,3,7-11-tridecatetraeno. Una mezcla de estos compuestos fue ligeramente menos activa que una mezcla natural.

Sin embargo, experiencias realizadas con un complejo regular planta-huésped mejoró significativamente la respuesta obtenida con la mezcla sintética. Los resultados sugieren que las hembras de *Cotesia marginiventris*, en su búsqueda de hábitat usan una mezcla de semioquímicos emitidos por la planta, en respuesta a una particular mezcla, el olor se incrementa dramáticamente después de que un parasitoides lo asocia con subproductos de contacto. Udayari, S. y Jones, R L " estudiaron la conducta de vuelo del parásitoides *Macrocentrus grandii* G. al estímulo olfatorio del maíz, el principal alimento de su anfitrión, barrenador de maíz europeo, *Ostrinia nubilalis* (Hubner), mediante un bioensayo de atracción. Los extractos de maíz fueron aislados usando como soporte tenax, los compuestos volátiles fueron atractivos, mientras que los volátiles de mazorca y pelo de elote no lo fueron. La respuesta de vuelo fue específica a sexo y edad: machos y hembras jóvenes no fueron atraídos, después de 4 días la respuesta en hembras aumentó con la edad, la atracción también se vio aumentada después que las hembras tuvieron la oportunidad de ovipositar. Tal vez a través de un proceso de aprendizaje asociativo. Los

resultados de este estudio sugieren que los volátiles de maíz tienen un uso potencial para aumentar el parasitismo del barrenador de maíz europeo *Ostrinia nubilalis* (Hubner), por *M.grandii*, sin embargo, ciertos factores planta-parasitode influyen en el comportamiento de vuelo en *M.grandii* que necesita ser considerado para desarrollar la técnica para su aplicación

2.3. Métodos para el aislamiento e identificación de volátiles.

Los nuevos métodos de aislamiento e identificación de volátiles permiten absorberlos en una columna de carbón activado, gel de sílice o un polímero poroso como el Tenax

El Tenax por una desorción posterior ya sea con un eluyente o mediante calentamiento permite la inyección directa al Cromatógrafo de gases y generalmente se aíslan componentes volátiles que de otra manera no se pueden analizar. Además, se evita la descomposición o alteración oxidativa de los componentes del aceite esencial. La identificación de los componentes del extracto puede hacerse con un equipo de CG acoplado a un Espectrómetro Masas (EM), siendo de gran utilidad esta técnica para estas mezclas

Bultery** y Stockel* usaron este método que tiene la ventaja de que se pueden tratar grandes cantidades del material vegetal durante largos períodos de tiempo

Estos investigadores trituraron 25 Kg de maíz comestible y lo humedecieron hasta un 70%HR, esta harina fue esterilizada y enfrada. Posteriormente se le colocó en un sistema que contenía columnas de tenax y gel de sílice. Los compuestos volátiles producidos fueron aislados y destilados al vacío a una temperatura inferior a 35°C, el extracto de la destilación fue tratado con CH₂Cl₂ y concentrado

Los volátiles fueron separados e identificados por GC-MS, estos fueron: ácido propiónico, ácido isobutírico, ácido butírico, ácido acético y fórmico

2.3.1. Cromatografía de gases.

La cromatografía de gases es un método de separación que involucra siempre la presencia de un sistema en movimiento o fase móvil en contacto íntimo con otra fija conocida como fase estacionaria.

La cromatografía gas-líquido es el proceso de separación en que los solutos en estado gaseoso, experimentan un equilibrio de reparto o distribución entre un gas-fase móvil y un líquido a la temperatura de trabajo, fase estacionaria

El gas utilizado como fase móvil deberá ser inerte, poco viscoso, de bajo peso molecular y preferentemente barato. Los más usados son: nitrógeno en columnas empacadas, e hidrógeno en columnas capilares

La fase estacionaria, se encuentra impregnada en un soporte inerte por ejemplo tierra de diatomeas o en las paredes internas de un tubo capilar para cromatografía en columna empacada y capilar respectivamente

Cuando un soluto tiende a permanecer en la fase estacionaria se dice que es retenido. La retención en cromatografía de gases se da gracias a un mecanismo de reparto entre las fases, sin embargo es común que se presenten mecanismos secundarios como el de adsorción, típico de cromatografía gas-sólido.

Para minimizar la aparición de mecanismos secundarios, se recomienda que los soportes y materiales empleados en la construcción de la columna sean de naturaleza inerte.

El esquema general de un cromatógrafo de gases se ilustra a continuación en la figura 1 en el que se indican sus partes principales.

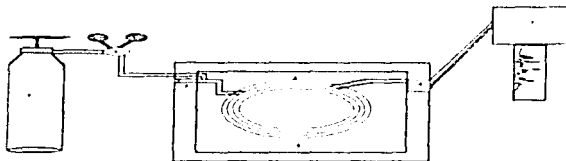


Figura 1. Esquema de un Cromatógrafo de Gases

1) Gas acarreador, 2) Manómetro, 3) Inyector, 4) Columna, 5) Cámara de temperatura controlada, 6) Detector y 7) Registrador.

Como se puede observar las partes fundamentales que constituyen un cromatógrafo de gases son:

a) Inyector.- Es el sistema de introducción de muestra, está constituido generalmente por una septa o tapón de goma y un canal guía para la jeringa. Posee orificios por donde entra la fase móvil que arrastra los solutos hacia la columna. La figura 2 muestra un esquema inyector.

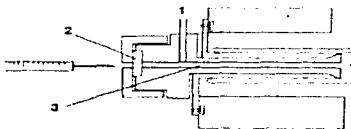


Figura 2. Esquema del Inyector

1) entrada del gas acarreador, 2) septa, 3) guía para la jeringa y 4) columna.

b) La columna.- Es el corazón del cromatógrafo, contiene la fase estacionaria, es en ella en donde ocurre el proceso de separación. Las columnas empacadas miden de 2 a 6 m y de 0.2 cm a

0.6 cm de diámetro interno. Las más comunes son las de acero inoxidable y las de vidrio silanizado.

- c) Horno o sistema de control de temperatura - Es la cámara en donde se aloja la columna se controla la temperatura desde criogénica (en algunos equipos) hasta cientos de grados centígrados
- d) Detector - Los detectores actuales responden a cambios en la concentración de soluto que los atraviesa, por lo que también son llamados detectores diferenciales. Los detectores de uso más frecuente son el detector de ionización de flama, muy útil en la detección de compuestos orgánicos, y el detector de conductividad térmica que tiene la ventaja de ser un detector universal

Algunos otros detectores de uso común son el detector de ionización de flama alcalina usado para la detección de compuestos con N y P, y compuestos con alta afinidad electrónica tales como los derivados halogenados, el detector de balanza de densidad de gases, y el espectrómetro de masas.

2.3.1.1. Parámetros cromatográficos

El cromatograma es la representación gráfica de la separación de una muestra, que se obtiene a través del cromatógrafo (fig 3). Consiste en una serie de picos en la que cada uno de ellos corresponde, en principio, a un solo soluto. A partir de él se puede obtener información tanto cualitativa como cuantitativa. Idealmente se obtienen picos simétricos de forma gaussiana."

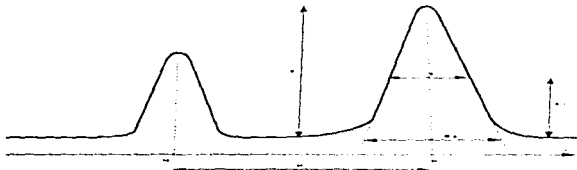


Figura 3. Cromatograma.

Los parámetros fundamentales asociados con un cromatograma son

- a) Volumen de retención, V_r : Es el volumen de fase móvil, que es necesario que fluya para que abandone a la columna el centro de la banda del soluto asociado a ese pico.
- a) Tiempo de retención, t_r : Es el tiempo que transcurre desde el momento de la inyección hasta que se eluye el máximo del pico.

b) **Volumen muerto, V_0** : Es el volumen total de fase móvil en el sistema, necesario para que eluya de la columna un soluto no retenido.

b) **Tiempo muerto, t_0** : Corresponde al tiempo de elución de un soluto no retenido

c) **Volumen de retención ajustado, V_r'** corresponde a la diferencia entre el volumen de retención y el volumen muerto

c) **Tiempo de retención ajustado, t_r'** análogamente a V_r' se refiere a la diferencia entre t_r y t_0
 $t_r' = t_r - t_0$

d) **Volumen neto, V_n** : es el volumen de retención ajustado corregido por el efecto de compresibilidad de la fase móvil

Otros parámetros que están relacionados directamente son

e) el volumen de fase estacionaria, V_s , a través del coeficiente de partición K que se relaciona con el volumen neto

$$V_n = K V_s$$

f) Índice de retención de Kováts: es utilizado para informar datos de retención, se prefiere al uso de t_r o t_r' .

Esta definido por:

$$I = 100 (\log V_{n_x} - \log V_{n_M}) / (\log V_{n_{N+1}} - \log V_{n_M}) + 100 N$$

siendo:

V_{n_x} - el volumen neto para el soluto x .

N - número de átomos de carbono

V_{n_M} - el volumen neto para el hidrocarburo lineal que abandona la columna justo antes que x .

2.3.2. Índices de Kováts.

De la definición de índice de retención para un soluto x , I_x , se tiene

$$I_x = 100 (\log V_{n_x} - \log V_{n_M}) / (\log V_{n_{N+1}} - \log V_{n_M}) + 100 N$$

Este método tiene varias ventajas.

- 1) Se emplea una serie de compuestos bien definidos, fácilmente accesibles y con un amplio margen de puntos de ebullición
- 2) Los valores de I son relativamente independientes de la temperatura.
- 3) Se puede obtener un dato adicional sobre la estructura, observando el cambio del índice de retención ΔI , al hacer la medición de un compuesto en una fase muy polar y en una no polar. La estructura (naturaleza de los grupos funcionales y su posición) determina los valores de ΔI^m .

2.3.3. Espectrometría de masas.

La principal ventaja de la espectrometría de masas es su mayor sensibilidad sobre otras técnicas analíticas y su especificidad en la identificación de compuestos desconocidos, en la confirmación de la presencia de ciertos compuestos. Su especificidad resulta de la fragmentación característica de una sustancia la cual puede dar información acerca de su peso molecular y de su estructura molecular.

Desde 1960 el uso del espectrometría de masas se ha asociado estrechamente con el desarrollo de la Cromatografía de Gases con columnas capilares, pero es a partir de los 70's que su unión ha tomado forma¹¹¹. El gran poder de la separación de un Cromatografía de Gases con columnas capilares y la detección universal de compuestos orgánicos por Espectrometría de Masas, hace de Cromatografía de Gases con columnas capilares-Espectrometría de Masas la combinación ideal. El sistema Cromatografía de Gases con columnas capilares-Espectrometría de Masas debido a su sensibilidad y velocidad es adecuado en el análisis de los constituyentes de mezclas de compuestos volátiles y de compuestos que pueden formar un derivado volátil, de manera cualitativa y cuantitativa.

Este sistema acoplado se aplica ampliamente al área de alimentos en la separación e identificación de los componentes de los aceites esenciales. Las bibliotecas que contiene bancos de datos permiten comparar los resultados obtenidos y dar una idea relativa cercana sobre el compuesto a identificar.



Cap

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1.1. Materiales y métodos biológicos:

• Maíz:

Se utilizó maíz V-454 cultivado en Zacatepec, Morelos. El maíz se secó hasta un contenido de humedad de 14%. Este maíz se empleó para cultivar los insectos necesarios para los bioensayos y para aislar los volátiles.

• Insecto de prueba:

Sitophilus zeamais, de la familia curculionidae

• Cultivo de insectos.

Del poblado de Xoxcotla Morelos, se colectaron 10 mazorcas infestadas, se desgranaron en el laboratorio y se colocaron en frascos de cultivo (con tapa de malla), 24 h más tarde se separó el insecto de prueba, el picudo del maíz, *Sitophilus zeamais*, de la familia curculionidae.

Los insectos colectados se colocaron en frascos de cristal con 500 g de maíz V-454, el cual estaba limpio de insectos, hongos y productos químicos, en todos los casos el maíz utilizado para cultivar los insectos se dejó 2 h en el refrigerador para que alcanzara una humedad relativa de 14%. En estas condiciones los insectos pudieron ovipositar con facilidad.

Después de 35 días se retiraron los insectos adultos del maíz infestado, de estos adultos, los más vigorosos se utilizaron para hacer nuevos cultivos, 70 días después de obtener la segunda generación, se eligieron los adultos más vigorosos para realizar los bioensayos. Estos se conservaron en un invernadero a una temperatura entre 22-35°C y una humedad relativa de 11-14%.

• Olfatómetro.

Se usó un olfatómetro tipo Rauscher modificado: tubo Y de 9 cm de largo con dos ramas que midieron 6.2 cm cada una con un diámetro interno de 1.2 cm, en cada rama se adaptó un tubo de látex de 11 cm. de largo, esta conexión sirvió de unión con los matraces Kitasato de 500 ml, sumergidos en un baño de agua a 35°C. En un tubo de vidrio con junta esmerilada de 5 cm de largo, 1.2 cm de diámetro interno, se colocaron aproximadamente 20 insectos *S. zeamais*.

• **Bioensayos.**

Se probó la atracción de maíz sano hacia *Sitophilus zeamais*, usando el olfatómetro descrito anteriormente.

En uno de los matraces se colocó maíz y en el otro se dejó vacío. Se calentaron los matraces a 35°C. En la base del olfatómetro se colocaron 20 insectos. Después de 45 minutos se contaron los insectos en cada rama del olfatómetro. Se hicieron 5 replicas de cada experimento.

Se repitió el bioensayo usando el adsorbente de las columnas que se usaron para la adsorción de volátiles, y la solución en diclorometano/metanol de los volátiles desorbidos

3.1.2. Material y métodos químicos:

• **Grado de pureza de los reactivos.**

Se utilizaron disolventes y reactivos de grado QP.

Acetato de etilo
Acetato de potasio anhidro
Anhidrido acético
Cloroformo
Cloruro de metileno
Diclorometano
Hexano
Metanol
Piridina
Tetraclorometano

• **Cromatografía:**

Se uso un Cromatógrafo de gases marca: Hewlett Packard modelo 5890 Series II; equipado con inyector divisor de flujo, detector de ionización de flama y columna capilar de 30 m X 0.25 mm de diámetro interno X 0.25 µm de espesor de película .

La inyecciones se hicieron con una jeringa de marca Haimton con capacidad de 10 µl y la máxima cantidad de muestra empleada fue de 0.2 µl

• **Cartuchos de adsorción:**

Se prepararon tubos de 15 cm X 1.5 cm con tapones septa mono horadados de 0.5 cm conectados mediante tubos de vidrio al frasco que contenía maíz y a los otros tubos de absorción. Los tubos contenían los siguientes adsorbentes y/o desecantes:

Gel de Sílice malla 70-230, 0,063-0,200 mm de diámetro de partícula, Marca Merck
Florisil PP:1-1.5 Adsorbente para cromatografía, 160-200 de malla, Marca: Fluka Ag, Buchs SG.
Carbón Activado 20-40 mallas, Marca: Aldrich
Sulfato de Sodio Anhidro granular, Marca J T. Baker

• **Estándares usados:**

Aldehídos: hexanal, heptanal, octanal
Colonas: 2-hexanona, 2-heptanona y 2-octanona, gerani acetona
Alcoholes alifáticos: hexanol, heptanol, octanol, y decanol
Terpenoides: α -pineno, β -ionona, y limoneno, cariofileno, mirceno y undecileno
Aromáticos: benzaldehido, naftaleno

• **Aislamiento de volátiles.**

Se adaptó a un frasco de 20 l lleno de maíz de la cosecha otoño-invierno de 1995, libre de insecticidas y fungicidas, un sistema adsorbente en tres columnas empacadas con Florisil, Gel de Sílice y Carbón Activado. Se hizo pasar aire seco por el frasco de maíz mediante una bomba de marca Elite 801 durante 14 días, analizando lo adsorbido en cada columna.

Se usaron dos métodos para el aislamiento e identificación de los compuestos volátiles. El primero fue la desorción de los volátiles de las columnas adsorbentes con diclorometano-metanol. La segunda fue la inyección directa al Cromatógrafo de gases de los cartuchos de carbón activado, florisil y gel de sílice con un sistema "Head space".

El adsorbente y los extractos se evaluaron mediante bioensayos de atracción.

Por último se realizó la extracción directa del maíz con un disolvente orgánico $CH_2Cl_2-CH_3OH$ (diclorometano-metanol). Para realizar la separación de las dos fases inmiscibles agua-diclorometano, se recurrió a un embudo de separación. El extracto que contenía la fase orgánica se evaporó hasta 2 ml y se mantuvo a temperaturas bajas. Posteriormente se realizó la inyección al cromatógrafo de gases.

Condiciones experimentales para la extracción de volátiles del maíz:

Muestra	Gramos molidos	Disolvente 50/50	ml	Cantidad de muestra extraída (ml)
Maíz V-454	100	$CH_2Cl_2-CH_3OH$	50	2

• **Análisis por cromatografía de gases .**

Se llevó a cabo la cromatografía de gases de cada uno de los cartuchos que contenían los volátiles para lograr su separación y posterior identificación. El mejor método fue la desorción de

una precolumna y la programación de la temperatura de la columna de 60 a 310°C, con un programa de calentamiento de 10° por minuto
Condiciones de los estándares y extractos(Gel de sílice, Florisil, Carbón activado) para cromatografía de gases:

Columna	DB-1 y DB-5
Fase móvil	Hidrógeno
Tipo de inyector	Divisor de flujo
Temperatura del inyector	250 °C
Tipo de detector	Ionización de flama
Temperatura del Detector	310 °C
Temperatura inicial	60 °C
Tiempo inicial	1 minuto
Rampa de calentamiento	20°C/min
Temperatura final	310°C
Tiempo final	10 minutos

La columna utilizada para realizar la identificación de los extractos fue DB-1(metilsilición) y para los estándares fue la DB-5 (5% de Fenilmetilsilición)

Identificación de Volátiles.

• Uso de Estándares.

En el laboratorio se tenía la existencia de alcoholes, se analizó la posibilidad de realizar la síntesis de aldehidos a partir de la materia prima que tenemos acceso, para obtener los aldehidos respectivos, se utilizó el método descrito por Bedoukan¹

Formación de Aldehidos, a partir de alcoholes.

En un matraz de bola con capacidad de 100 ml se colocó el alcohol (hexanol, heptanol y octanol respectivamente) 5 l Este se mantuvo a reflujo por 5 minutos aproximadamente. Previamente se debió preparar una solución oxidante que consistió en Na₂Cr₂O₇ (Dicromato de sodio) 5.6 g con H₂SO₄ (ácido sulfúrico) 4 ml en 30 ml de H₂O (agua). En esta mezcla se colocó en el embudo de adición

Cuando se alcanzó la temperatura de reflujo del alcohol, en este momento se empezó a adicionar muy lentamente y con mucho cuidado la solución oxidante¹. Dando así a la formación del aldehido correspondiente.

Para el caso del hexanol se obtuvo hexanal, asegurandonos de su presencia por la temperatura de ebullición 98-100 5°C (temperatura reportada 131°C/1 atm) , para el heptanal su temperatura de ebullición experimental fue 114.6 a 117.5 °C, y la reportada

153°C/ 1 atm, finalmente para el octanal 129.7-131.3°C (temperatura reportada 171°C/ 1 atm).

Para los tres aldehídos se les realizó infrarrojo, la preparación de la muestra fue hecha por película, como se trata de tres aldehídos muy parecidos, es decir solo cambian por un solo número de carbono progresivamente, las bandas son muy parecidas. El infrarrojo nos corrobora la presencia del aldehído, puesto que desaparece la banda de OH (alcoholes) y como se partió del alcohol es indispensable que no exista la presencia de este, porque sugeriría que no se formó completamente el aldehído. Afortunadamente esto no sucedió puesto que se obtuvieron los siguientes datos.

Grupos funcionales	Bandas cm^{-1}	
-CH ₂	2958, 1462	Metilos
-CH ₂ -	2920, 1380	Metilenos
-C=O	1712	Carbonilo
-(CH ₂) _n - n>5	728	Metilenos juntos



Cap

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

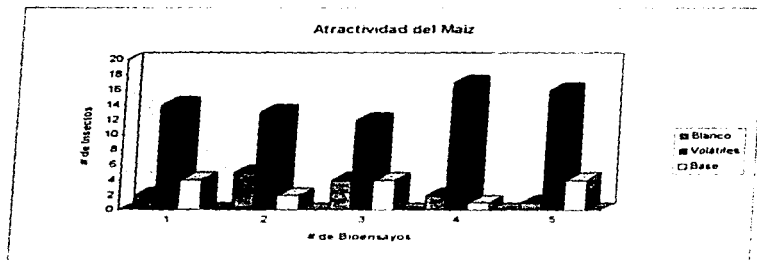
Para corroborar la hipótesis de este trabajo "La existencia de compuestos volátiles en el maíz que atraen al insecto *Sitophilus zeamais*", se hizo un experimento inicial con el maíz V-454 de la cosecha otoño-invierno 1995, colectada en Zacatepec, Morelos libre de insecticidas y fungicidas.

Para probar la atracción de los volátiles hacia el insecto se usó un olfatómetro tipo Rauscher¹⁶ modificado como se describe en la sección de materiales y métodos. Los insectos tuvieron la opción para elegir de uno a otro de los Kitasatos, uno de los cuales contenía maíz y el otro se encontraba vacío. Para evitar estímulos visuales que condujeran a los insectos, ambos matraces se cubrieron con papel aluminio. Al paso de 45 minutos, se contó el número de insectos en cada una de las ramas del olfatómetro y en la base del mismo.

Los resultados, obtenidos se muestran en la tabla y gráfica 1 que muestra que el maíz es efectivamente atrayente, pues de los insectos que salieron de la base del olfatómetro el 83% fue a la rama que contienen los volátiles.

Bioensayo	Exp 1	Exp 2	Exp 3	Exp 4	Exp 5	Promedio
Blanco	2	5	4	2	1	2.8±2
Volátiles	14	13	12	17	16	14.4±2
Base	4	2	4	1	3	3±1

Tabla 1. Resultados de Bioensayos



Gráfica 1. Atractividad del maíz.

Una vez que se hubo comprobado que hay substancias volátiles en el maíz que atraen a *S. zeamais*, el segundo objetivo fue tratar de aislar e identificar los volátiles, para lo cual el maíz se colocó en un frasco de vidrio de 20 l al que se adaptó un sistema adsorbente con 3 cartuchos llenos de Gel de Sílice, Florisil y Carbón Activado respectivamente. Se hizo pasar aire seco por el frasco lleno de maíz, para que los volátiles arrastrados por el aire fueran adsorbidos por los cartuchos. Los adsorbentes que se usaron tienen polandades diferentes y se colocaron en orden descendente de polandad. A la entrada del frasco se colocaron los mismos cartuchos para eliminar los volátiles del aire que entraba en el frasco.

Se realizaron tres monitoreos, en diferentes fechas para evaluar si los compuestos volátiles responsables de la atracción del maíz a *S. zeamais*, eran retenidos por uno o varios de los cartuchos adsorbentes.

Se llevaron a cabo 5 bioensayos de atracción con cada uno de los cartuchos adsorbentes en cada uno de los tres experimentos. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla 2, 3 y 4.

BIOENSAYO DE ATRACCIÓN DE CARTUCHOS DE GEL DE SÍLICE HACIA *S. zeamais*.

Fecha del monitoreo	Ramas del olfatómetro	Número de insectos en cada rama					Promedio
		Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5	
220198	Base	3	3	1	2	1	4.4±1
	Volátiles	10	9	15	13	16	12.6±3
	Blanco	7	8	4	5	3	5.4±2
260298	Bioensayo	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5	Promedio
	Base	4	2	3	2	1	2.4±1
	Volátiles	10	15	12	16	17	14±3
	Blanco	6	3	5	2	2	3.6±2
290498	Bioensayo	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5	Promedio
	Base	4	4	2	3	4	3.4±0.8
	Volátiles	10	9	10	10	12	10.2±1
	Blanco	6	7	8	7	4	6.4±1

Tabla 2. Bioensayos realizados para Gel de sílice.

BIOENSAYO DE ATRACCIÓN DE CARTUCHOS DE FLORISIL HACIA *S. zeamais*.

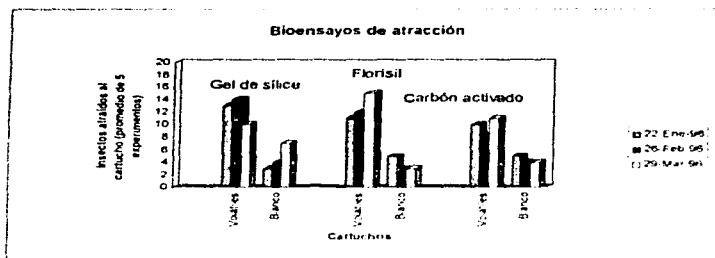
Número de insectos en cada rama							
Fecha del monitoreo	Rama del olfatómetro	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5	Promedio
220196	Base	1	2	6	7	6	4.4±3
	Volátiles	15	13	10	9	9	11.2±2
	Bianco	4	5	4	4	5	4.4±0.5
260240	Bioensayo	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5	Promedio
	Base	9	6	2	4	3	4.9±3
	Volátiles	8	12	14	11	13	11.6±2
	Bianco	3	2	4	5	4	3.6±1
290496	Bioensayo	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5	Promedio
	Base	1	3	4	2	1	2.2±1
	Volátiles	17	13	14	15	12	14.2±2
	Bianco	2	4	2	3	7	3±2

Tabla 3. Bioensayos realizados para Florisil.

BIOENSAYO DE ATRACCIÓN DE CARTUCHOS DE CARBÓN ACTIVADO HACIA *S. zeamais*.

Número de insectos en cada rama							
Fecha del monitoreo	Rama del olfatómetro	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5	Promedio
220196	Base	2	5	8	5	7	5.4±2
	Volátiles	11	12	9	9	10	10.2±1
	Bianco	7	3	3	6	3	4.4±2
260496	Bioensayo	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5	Promedio
	Base	4	10	9	8	6	7.8±2
	Volátiles	10	5	8	7	10	8±2
	Bianco	6	5	3	5	2	4.2±1
290496	Bioensayo	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4	Exp.5	Promedio
	Base	6	5	2	4	7	4.8±2
	Volátiles	10	10	12	13	11	11.2±1
	Bianco	4	5	6	3	2	4±2

Tabla 4. Bioensayos realizados para Carbón Activado.



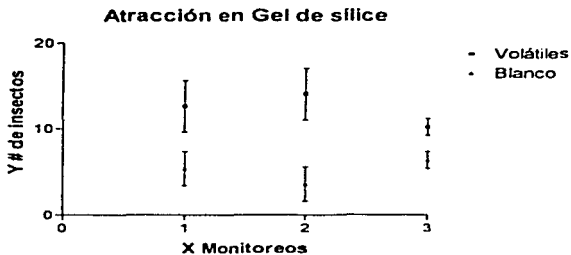
Gráfica 2.

La gráfica 2 muestra la comparación de los 3 bioensayos eliminando los insectos que quedaron en la base del olfatómetro.

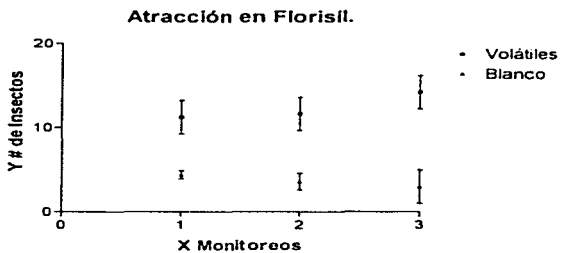
Comparando los resultados obtenidos de los tres monitoreos puede verse que los bioensayos que se realizaron en enero y febrero tienen resultados similares. Los cartuchos de Gel de sílice tienen mayor actividad que los de Florisil. El bioensayo efectuado en abril, el cartucho de Florisil resultó más activo. Los cartuchos de Carbón Activado tienen menor actividad en los tres casos.

La mayor actividad del cartucho de Florisil en el último bioensayo, pudiera deberse a que el cartucho de adsorción se dejó durante 30 días mientras que los dos primeros experimentos se dejaron 14 días. Este mayor tiempo de paso de corriente de aire pudo arrastrar los volátiles del primero al segundo cartucho, sin embargo puede considerarse que los tres resultados son comparables.

Las gráficas 3 y 4 muestran la comparación de los resultados de Gel de sílice y Florisil con la desviación estándar en los experimentos dejando muy claro la respuesta de atracción de *S. zeamais* hacia los volátiles retenidos en los cartuchos.



Gráfica 3. Atracción hacia el cartucho de Gel de sílice



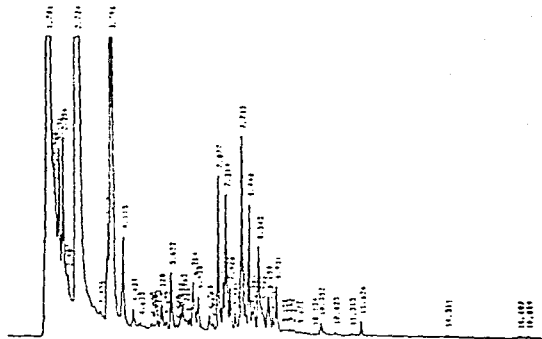
Gráfica 4. Atracción hacia el cartucho de Florisil.

CROMATOGRAFÍA DE GASES DE LOS VOLÁTILES DE MAÍZ .

Un primer intento de identificación de los volátiles adsorbidos se llevó a cabo mediante un aparato de "Head space" acoplado a un cromatógrafo de gases marca Hewlett Packard modelo 5890 Serie II con un detector de UV, que a su vez estaba acoplado a un detector de espectrometría de masas.

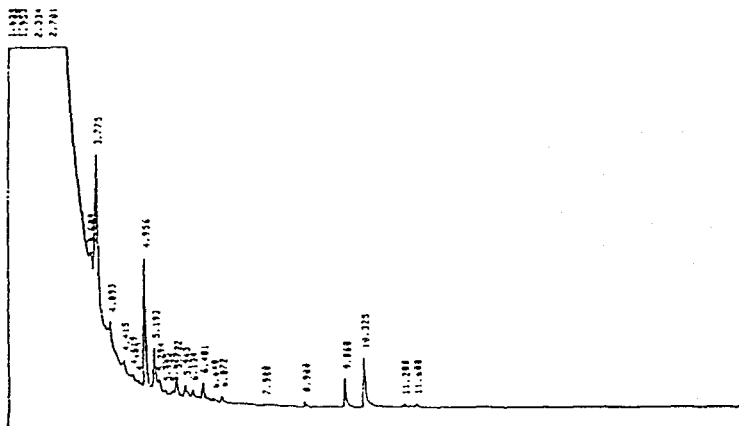
10 g de Gel de sílice, Florisil o Carbón Activado con los volátiles adsorbidos se pusieron en la precolumna y mediante el gas acarreador se hicieron llegar los volátiles al cromatógrafo.
Los cromatogramas obtenidos se muestran a continuación:

Cartucho de Gel de Sílice 22 de Enero de 1996.



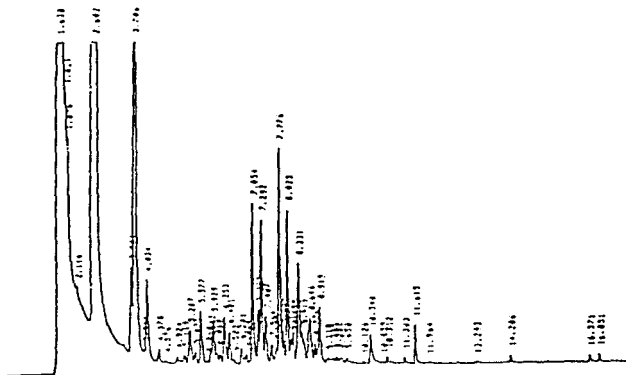
Cromatograma # 1.

Cartucho de Florisil 22 de Enero de 1996.



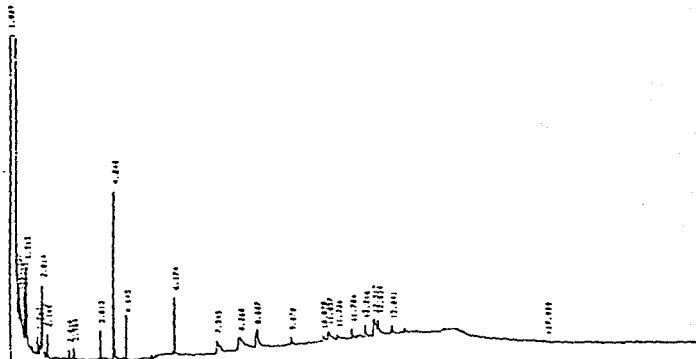
Cromatograma # 2.

Cartucho de Gel de Sílice 24 de Febrero de 1996.



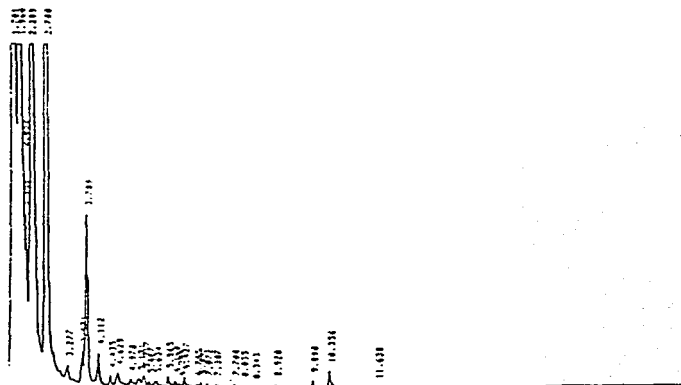
Cromatograma # 3.

Cartucho de Florisil 24 de Febrero de 1996.



Cromatograma # 4.

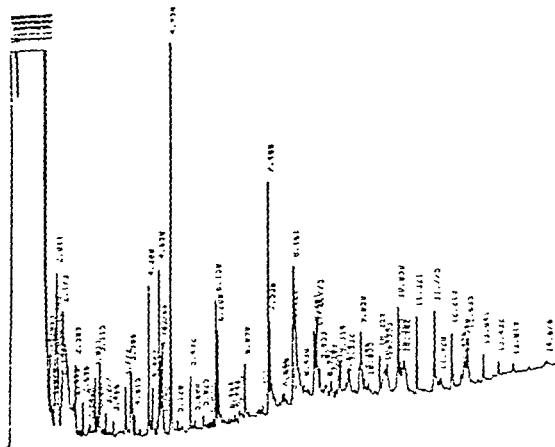
Cartucho de Gel de Sílice 29 de Marzo de 1996.



Cromatograma # 5.

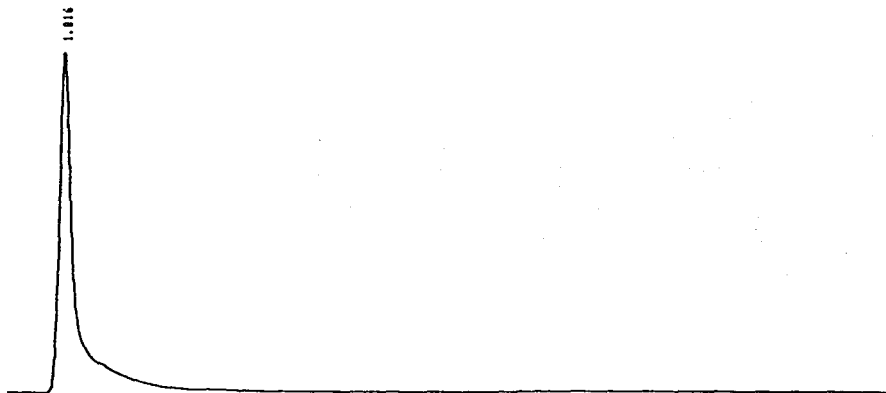
ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Cartucho de Floristil 29 de Marzo de 1996.

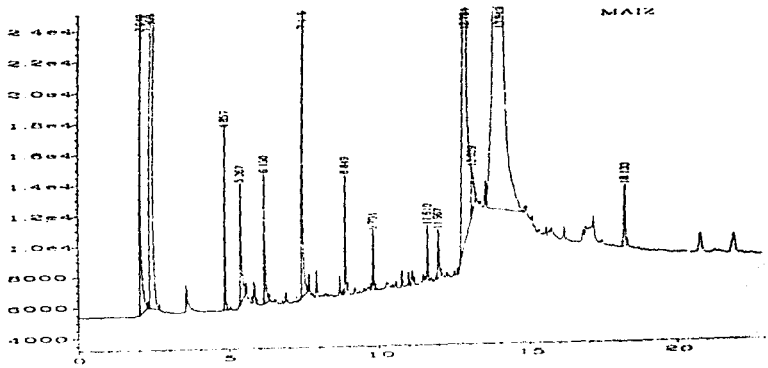


Cromatograma # 6.

Cartucho de Carbón Activado 29 de Marzo de 1996.



Cromatograma # 7.



Cromatograma # 8.

Los volátiles retenidos en Gel de sílice en los dos primeros experimentos muestran cromatogramas muy similares, con una gran proporción de compuestos con tiempos de retención hasta de 4 minutos

Los picos están bien separados y simétricos. El mayor tiempo de retención de los compuestos volátiles es de 11 minutos. El cromatograma del tercer experimento, en cambio, muestra menor concentración de volátiles. Desaparecen del cromatograma los componentes más volátiles. Estos resultados pueden explicar la menor actividad del cartucho de Gel de sílice en los bioensayos con el insecto

Los cromatogramas de los volátiles retenidos en Florisil en los tres experimentos son equivalentes (1-3) con un gran porcentaje (87%) de componentes con tiempos de retención hasta 2 minutos.

El carbón activado, por otro lado, presenta un solo pico con un tiempo de retención a 2.04 minutos. Un intento de acoplar el detector de masas a la salida del cromatografo mostró que la cantidad de volátiles que pasó por el detector no fue suficiente para producir los espectros de masas, por lo que la identificación directa por gases-masas no se logró.

Otro experimento fue la desorción con diclorometano (CH_2Cl_2) de cada uno los cartuchos que contenían los volátiles de maíz, y posteriormente la inyección directa al cromatografo de gases. Los cromatogramas obtenidos fueron similares a los obtenidos por inyección a través del aparato de "Head Space". Sin embargo cuando se intentó la identificación de los compuestos presentes con el detector de masas, el disolvente impidió esta identificación.

En el siguiente experimento se optó por aislar directamente del maíz Variedad-454, los compuestos solubles en una mezcla de CH_2Cl_2/CH_3OH 50:50 tratando de identificar los compuestos de la mezcla de volátiles. 100g de maíz molido se mantuvo a reflujo y con agitación constante por 24 hrs a temperatura ambiente, realizando posteriormente la destilación de los disolventes obteniéndose 2 ml de extracto concentrado.

Buttery** describió los componentes de volátiles de maíz extraídos por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. La tabla siguiente muestra estos compuestos descritos por Buttery

Aldehídos	Alcoholes	Aldehídos con dos dobles ligaduras	Terpenes	Aromáticos
Hexanal	Hexanol	2-Hexanal	α -Pinoeno	2-Pentilfurano
Heptanal	Heptanol	2-Heptanal	Mirceno	1,2-Dimethoxybenzeno
Octanal	Octanol	2-Octanal	Limoneno	Benzaldehído
Nonanal	Nonanol	2-Nonanal	Geraniol	Xileno
Decanal	Decan-2-ol	2-Decanal	α -Linganoeno	Fenilacetaldhído
	Undecan-2-ol	2-Undecanal	Caradieno	Naftaleno
			Geranilacetona	
			β -Ionona	
			Tiníol	
			Carvacrol	

Tabla 5. Compuestos reportados por Buttery.

Se reunieron algunos de estos componentes. Tres de ellos se sintetizaron de acuerdo a métodos descritos en la literatura, como se describe en la parte experimental. Los tiempos de retención obtenidos de los estándares usados se muestran en la tabla 6, junto con los índices de Kovats descritos por T. Shibamoto.

Número de pico	Compuesto	tr (min)	Índice de Kovats
1	Benzaldehído	4 273	1507
2	Cariofileno	9 484	1833
3	Decanol	6 002	1485
4	Geraniol	8 381	1735
5	Geraniol	6 550	1797
6	Heptanol	2 621	1186
7	Heptanol	4 182	1419
8	2-Heptanona	3 419	—
9	Hexanol	2 557	1084
10	Hexanol	3 237	1316
11	2-Hexanona	12 065	—
12	β -Ionona	8 637	1918
13	Limoneno	4 820	1206
14	Mirceno	4 458	1156
15	Naftaleno	7 774	—
16	Octanol	9 895	1278
17	Octanol	5 148	1519
18	2-Octanona	6 014	1304
19	α -Pinenol	3 970	1039
20	Undecileno	7 226	—

Tabla 6 Índice de Kovats reportados por T. Shibamoto.

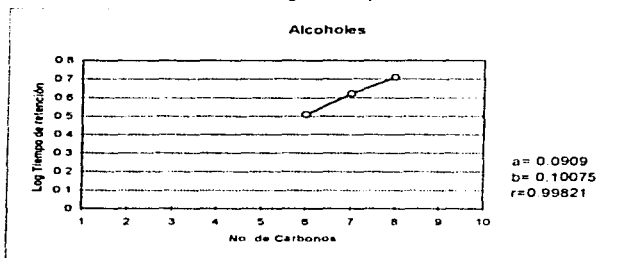
Por coincidencia de los estándares con la mezcla de compuestos extraídos con cloroformo-metanol se identificaron seis componentes de este extracto, que habían sido previamente aislados del maíz, de acuerdo con la bibliografía consultada estos compuestos se indican en la tabla 7.

Compuesto	tr (min)	% de área
Limoneno	4 857	0.62440
Octanol	5 367	0.79070
Geraniol	6 150	0.66600
Naftaleno	7 416	2.07158
Geraniol acetona	8 849	0.45380
Cariofileno	9 791	0.28320

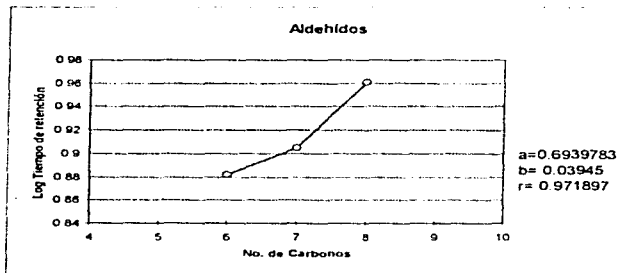
Tabla 7. Compuestos identificados.

Los compuestos del cromatograma del maíz con tiempos de retención 11.610, 11.967, 12.794, 13.039, 13.949 y 18.133 no se lograron identificar por conyección puesto que no se contaba con estándares con tiempos de retención mayores a 11.

En un intento de relacionar los Indices de Kovats descritos en la literatura, con los tiempos de retención obtenidos experimentalmente, para proponer tentativamente una caracterización más completa de la mezcla de volátiles se separaron los compuestos descritos por Buttery en tres grupos: Alcoholes, Aldehidos y Terpenoides. La relación de Log Tiempo de retención en las mismas condiciones experimentales contra el número de carbonos de alcoholes y aldehidos descritos en la literatura se muestran en las gráficas 5 y 6

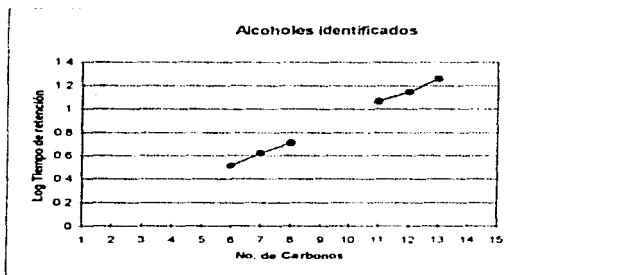


Gráfica 5.



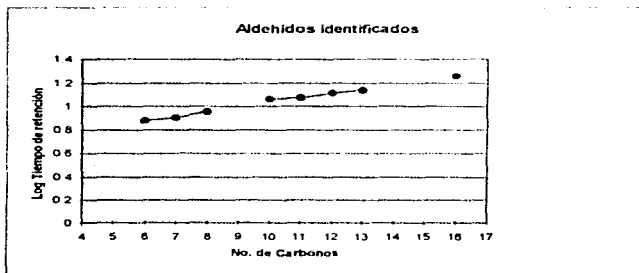
Gráfica 6.

La extrapolación de la gráfica 5 para encontrar los alcoholes probablemente presentes en la mezcla de volátiles dio la gráfica 7 que indica la posibilidad de que undecanal, dodecanol y tridecanol estuvieran presentes en la mezcla



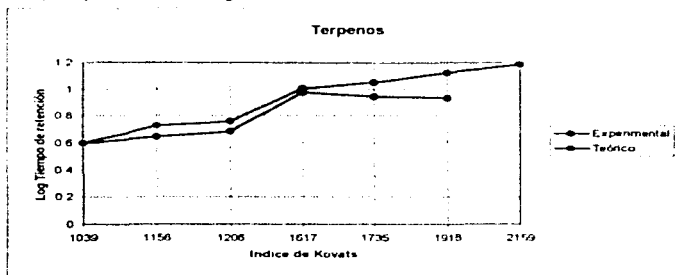
Gráfica 7.

Así mismo, se encuentran 7 señales con el mismo tiempo de retención que resulta de una extrapolación de la gráfica 6, por lo que se prevé la posibilidad de tener en la mezcla los aldehídos de 10,11,12,13 y 16 carbonos.



Gráfica 8.

Por otro lado, una descripción de la relación de Tiempos de retención de algunos terpenos, que contiene el maíz ordenados en orden creciente de Índice de Kóvats se muestra en la gráfica 9. Los Índices de Kóvats obtenidos de la literatura se compararon con los logaritmos de tiempos de retención de los estándares con los que se contaba, las dos gráficas son aproximadamente paralelas, aunque se hacen divergentes en índices de Kóvats altos.



Gráfica 9.

Índice de kóvats	Log tr experimental	Log tr teórico	Nombre del Estándar
1039	0.5987	0.602	α -pineno
1156	0.6491	0.7259	mircenol
1206	0.683	0.7573	limoneno
1617	0.9769	1.003	carofileno
1730	0.94689	1.0492	geraniol acetona
1918	0.9363	1.1245	β -ionona
2159	---	1.1817	carvacrol

Tabla 9. Compuestos del maíz.

Como los tiempos de retención que obtuvimos experimentales son demasiado altos, no se pudo realizar una extrapolación para identificar tentativamente de otros terpenos



Cap

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

1. Se logró el aislamiento de los volátiles de maíz mediante la adsorción en Gel de Sílice, Florisil y Carbón Activado.
2. Se observó actividad de atracción de los volátiles adsorbidos en Gel de sílice y en Florisil hacia *Sitophilus zeamais*.
3. El cartucho que contenía Carbón Activado no logró retener a los volátiles.
4. Las cantidades de los volátiles aislados no permitió su identificación con cromatografía de gases acoplado a un detector de masas
5. Los cromatogramas de los cartuchos muestran casi los mismos picos cromatográficos, simétricos y con una buena resolución como se muestra en el cromatograma del extracto del maíz con tiempos de retención hasta 18 133 minutos
6. Se hizo un extracto metanol-cloroformo cuyo cromatograma es similar a los cromatogramas obtenidos para los cartuchos que presentaban mayor actividad.
7. El cromatograma del maíz presentó 12 picos muy representativos y con mayor abundancia, de los cuales 6 se lograron identificar por coinyección, 3 a través de una extrapolación de índices de Kovats siendo una identificación tentativa que se necesita corroborar y los últimos 3 no pudieron ser identificados.
8. Los compuestos identificados mediante coinyección de estándares por cromatografía de gases fueron: cariofileno, geraniol, acetona, geraniol, naltaleno, limoneno y octanol
9. Solo se pudo identificar la presencia de Naltaleno por medio de Cromatografía de gases-espectroscopía de masa.
10. Se recomienda para un trabajo posterior tener mayor cantidad de volátiles y acoplar la Cromatografía de gases a la espectrometría de masas con el fin de lograr una identificación más completa.

Bibliografía:

1. Aguilera , M. *Insectos en granos almacenados*. Memorias del curso-taller insectos en granos almacenados. PUAL México, D.F.,1992
2. Albores-Velasco M., Sánchez L., Del Rio F. *Phytochemistry* 1991,30 (6), 1915-1916
3. Albores-Velasco M , Raloya R , Macías R N *Síntesis de las feromonas de insectos que atacan a maíz almacenado* Rev Soc Química de México, en prensa. Posgrado, Química Orgánica. Fac. Química. UNAM
4. Bedoukain P Z *J American of the Chemical Society* 1957,79,889-892
5. Buttery Ron,G *J.Agric. Food Chem* 1978,26 (4), 866-869
6. Buttery Ron,G *J.Agric. Food Chem* 1979,27 (1), 208
7. F Jung,D., Lamdajama,J J Riehl *Synthesis*. 1979,0039-7881,507-508
8. Fieser and Fieser *Reagents for Organic Synthesis* Ed John Wiley and Sons , Inc. USA,1967.- P p142-143
9. Flath, R. A., Forrey, R.R., Ghan B.G *J. Agric. Food Chem* 1980,28,771
10. Gutiérrez D L J *Informe técnico del programa de poscosecha. Campo experimental de Zcatepec*. CIR-Centro IINIFAP-SARH. México, D F ,1993
11. Jamiesun M.,Hobber P. *Manejo de los alimentos* Ed Pax-México México, D F,1973 - P.p 3-9
12. Kaminski, E., Stawicki, S., Wasowicz, E., Giebel, H., Przybylski, R., Zawirska, R., Zalewski,R. *Acta Alimentaria Polonica*.1979,5(3),263-274
13. McOrnie J.F.W *Protective groups in Organic Chemistry* Ed Plenum Publishing corporation New York, 1976
14. Pecsok Robert L.,Shields D *Métodos modernos de análisis químico* Ed Limusa. México, D F., 1973
15. Phillips T W., Jiang,W E., Burkholdes J K *J.Chem Ecology* 1993,19 (4), 723-733
16. R. Cremlyn. *Plagucidas Modernos y su aplicación Bioquímica* Ed Limusa México, D F 1985.
17. Rauscher,J. *Phytochemische Untersuchungen zum problem der wechselwirkungen zwischen pflanzen und insekten*. Universität Erlangen-Nurnberg 1992,11,17 y 136.
18. Stockel, Bar, M., Boidron, J N. *Journal of Chemical Ecology* 1987, 13 (3) 389-391.
19. Thompson,A C.,Heding,P.A,Gueldner,R C.,Davies,F.M. *Phytochemistry* 1974, 13, 2039.
20. Turlings,T.C.J.,Tumlinson,J.H.,Heath,R.R., Proveaux,A.T., Doolittle, R.E. *J.Chem. Ecology*. 1991,17 (11), 2235-2259
21. Turlings,T C J.,Tumlinson,J H. *National Academy of Sciences of the U.S.A* 1992,89 (17), 8399-8402.

22. Udayagiri, S., Jones, R. L. *Entomologia experimentalis et applicata* 1993, 69 (2), 183-193
23. Udayagiri, S., Jones, R. L. *J. Chem. Ecology* 1992, 8 (10), 1841-1855.
24. *ibid.* *Environmental entomology* 1992, 21 (6), 1448-1456.
25. Vogel, Artur. I. *Practical Organic Chemistry, Qualitative Organic Analysis*. Ed. Longmans London and Colchester, México, D.F., 1961.
26. W. Wayne, H Adkins. *Organic Synthesis*. 1955, 3(48), 321
27. Walter Jenning, Takayuki, Shibamoto. *Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography*. Ed. Academic Press, INC London, 1980.
28. Wayne W. Daniel. *Estadística con aplicaciones a las ciencias y a la educación*. Ed. Mc Graw-Hill. México, D.F., 1987.
29. Willard, H.H., Merritt, L.L., Dean, J.A. *Métodos Instrumentales de análisis* Grupo Editorial Iberoamericana. México, D.F., 1988
30. Zweig, S. *Handbook of Chromatography*. Vol. 1.- Ed. CRC PRESS. USA, 1972.