



EXTRACCIÓN DE AZADIRACTINA ASISTIDA POR ENZIMAS A PARTIR DE SEMILLA DEL NEEM (*Azadirachta indica*).

Argel Flores Primo, Violeta Pardío Sedas, Francisco Riveros Lara, Karla López Hernández, Roxana Uscanga Serrano
Universidad Veracruzana, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Veracruz, Veracruz. C.P. 91710
Autor por correspondencia: mopri02@yahoo.com.mx

Palabras clave: enzimas celulolíticas, neem, azadiractina.

Introducción. El uso indiscriminado de plaguicidas sintéticos ha desencadenado cambios de adaptación de las distintas plagas, generando resistencia a sus componentes. Varios estudios han intentado contrarrestar este fenómeno mediante el uso de bioinsecticidas.⁽¹⁾ El aceite del neem es una fuente natural de componentes acaricidas, destacando a la azadiractina (principal componente acaricida de la semilla del neem), que debido al tipo de acción que ejercen y la cantidad de ellos, es poco probable que puedan generar resistencia.⁽²⁾ Sin embargo, su aplicación comercial es costosa debido a los métodos empleados para su extracción, generando además, variaciones en las concentraciones de azadiractina entre 0.40 (maceración metanólica) y 2.478 mg/g semilla BS (extrusión en frío con metanol).⁽³⁾ Por otro lado, la pared celular funge como una barrera física que dificulta la extracción de componentes acaricidas. El presente trabajo tuvo por finalidad realizar la extracción asistida con enzimas celulolíticas para hidrolizar las estructuras celulósicas de la semilla del neem y aumentar el rendimiento en la extracción de azadiractina.

Metodología. En la primera parte de la metodología se identificaron las condiciones óptimas de reacción (pH y Temperatura) de los preparados enzimáticos en función de la liberación de azúcares reductores.⁽⁴⁾ La segunda etapa consistió en la evaluación de las cinéticas de liberación de la azadiractina. La reacción enzimática fue detenida con la adición de hexano al 50% (v/v) y la cuantificación de la azadiractina se realizó mediante la técnica de HPLC⁽⁵⁾ para lo cual se tomó 500 μ L de muestra de los extractos del neem, y se llevó a 1 mL con fase móvil Acetonitrilo:Agua (65:35).

Resultados.

Tabla 1. Condiciones de reacción de los preparados enzimáticos.

Enzima	Actividad	pH y T°
Crystalzyme PML-MX	Pectinasa, celulasa, hemicelulasa y arabinasa	4.5, 45°C
Crystalzyme Cran	Pectinasa	5.0, 50°C
Crystalzyme 100-XL	Pectinasa y arabinasa	4.5, 50°C
Cellulase 17600	Celulasa, β -glucosidasa, pectinasa y arabinosilanas	4.5, 50°C

Las actividades enzimáticas y condiciones óptimas de reacción identificadas de cada preparado enzimático se presentan en la Tabla 1. Las condiciones fueron empleadas en la hidrólisis enzimática de la semilla de neem para promover la extracción de la azadiractina.

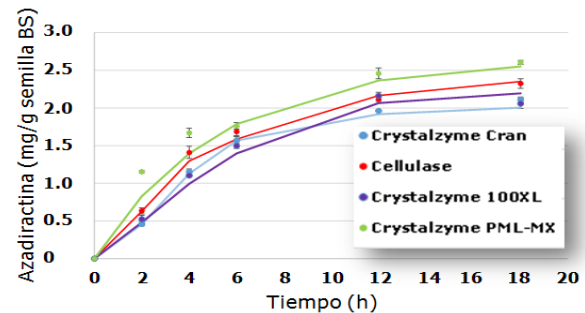


Fig. 1. Cinética de liberación de azadiractina durante la hidrólisis enzimática de la semilla del neem.

Los resultados muestran un tiempo de hidrólisis enzimática de 18 h para asegurar la máxima extracción de azadiractina (2.66 mg/g semilla BS) obtenida con el uso del preparado Crystalzyme PML-MX ($p < 0.05$). El rendimiento se compara con las máximas concentraciones reportadas por investigadores que incluyeron solventes en su extracción.⁽³⁾ Además, se comprueba que las estructuras celulósicas de la semilla del neem dificultan la extracción de azadiractina, lo que explicaría la variabilidad en las concentraciones reportadas por otros autores.

Conclusiones. El uso de enzimas en la extracción de metabolitos de interés biológico es una herramienta eficaz y fiable que minimizan los tiempos y costos. Aunque los resultados son satisfactorios, es necesario probar el efecto combinado de la extracción enzimática y la extracción por solventes (Estudio en curso) para aumentar la solubilidad y el rendimiento total del proceso de extracción de azadiractina

Agradecimiento. A PRODEP por el financiamiento del proyecto de investigación DSA/103.5/14/7147 y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana, por las facilidades otorgadas para el desarrollo de este trabajo.

Bibliografía.

- Denardi SE, Bechara GH, Oliveira PR y Camargo MI. (2011). *Microsc Res and Techniq*, 74: 889-899.
- Soni H, Mishra K, Sharma S y Singhai AK. (2012). *J Pharm Res*, 5(1):199-201.
- Esparza G, López-Collado J, Villanueva-Jiménez JA, Osorio-Acosta F, Otero-Clina G y Camacho-Díaz E. (2010). *Agrociencia*, 44(7):821-833.
- Ghose TK. (1987). *Pure and Appl Chem* 59:257-268.
- Kaushik N. (2002). *Anal and Bioanal Chem*, 374:1199-1204.