

CAPÍTULO 5.

Identificación de la feromona sexual de epinotia

El extracto de glándulas de feromonas analizado por GC-EAD (electroantenograma acoplado a cromatografía de gases) resultó en dos claras señales de las antenas de machos. Una de estas señales se correspondió con un pico muy débil en el detector del GC (FID), mientras que la otra no tuvo correlato con un pico en el FID dada la poca cantidad de este compuesto en el extracto (Figura 1a). La coinyección en GC-EAD del extracto con una solución de hidrocarburos permitió el cálculo de los índices de retención de los compuestos a los que la antena fue activa (IR = 1076 e IR = 2155 en columna polar, IR = 1529 e IR = 1664 en columna apolar) (Figura 2). Asimismo, el intercambio de las columnas de fases estacionarias distintas, permitió descubrir que los dos componentes cambiaron el orden relativo de elusión de una columna a la otra, con el compuesto mayoritario eluyendo antes en la columna apolar (IR = 1529) y segundo en la columna polar (IR = 2159). Esta inversión, y la diferencia de 135 unidades en-

tre los índices de retención de ambos compuestos en la fase apolar, permitieron suponer que se trataba de una mezcla alcohol/acetato. Los índices de retención en ambas fases se correspondieron además con los reportados para alcoholes y acetatos dodecadienilos conjugados, por lo que se decidió comparar el extracto con dos dodecadienilos reportados para una especie europea del género *Epinotia* (*E. tedella*; Z7,Z9-12:Ac y Z7,Z9-12:OH).

El análisis comparado de dichos estándares sintéticos se correspondió en forma exacta, tanto en GC-EAD como en GC-MS, con los compuestos presentes en el extracto de glándulas (Figuras 1b y 3). Asimismo, una comparación de distintos isómeros de dodecadienilos conjugados permitió observar una clara separación de los mismos, y una correlación entre tiempos de retención del Z7,Z9-12:OH con el componente mayoritario EAD-activo del extracto (Figura 4). Los resultados obtenidos permitieron concluir que la feromona de epinotia está constituida por una mezcla 15:1 de Z7,Z9-12:OH: Z7,Z9-12:Ac (Figura 5), según la proporción de sus áreas relativas en el cromatograma de iones totales del GC-MS.

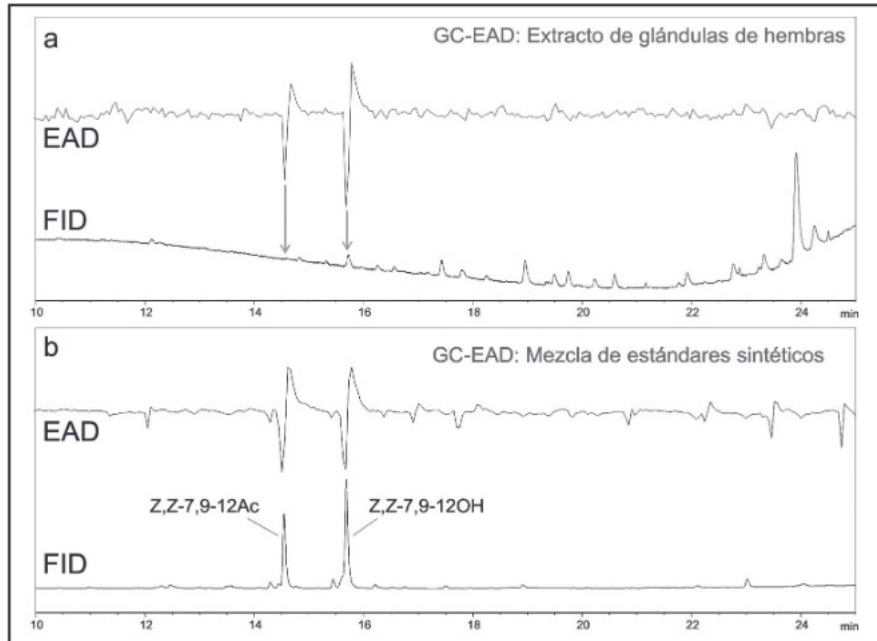


Figura 1. Resultado del análisis por GC-EAD de a) extracto de glándulas de feromonas de hembras de epinotia, y b) una solución 100 ppm de los estándares sintéticos. La parte superior de ambas gráficas muestra la respuesta de la antena del macho (EAD), y la parte inferior la señal del detector del GC (FID). Se observa claramente que los estándares sintéticos coincidieron en tiempo de retención con los compuestos activos del extracto, y produjeron a su vez la misma respuesta electrofisiológica en la antena del macho.

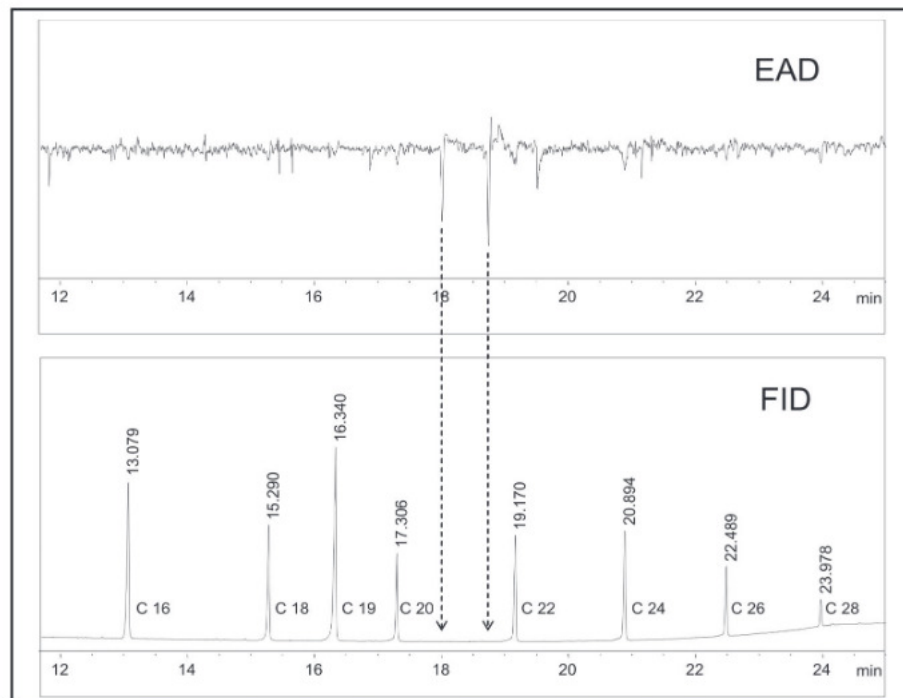


Figura 2. Resultado de la coinyección del extracto de glándulas con una solución de hidrocarburos para el cálculo de índices de retención de los compuestos activos. La parte superior muestra la respuesta de la antena del macho y la inferior la señal simultánea del FID (coinyección del extracto con la solución de hidrocarburos).

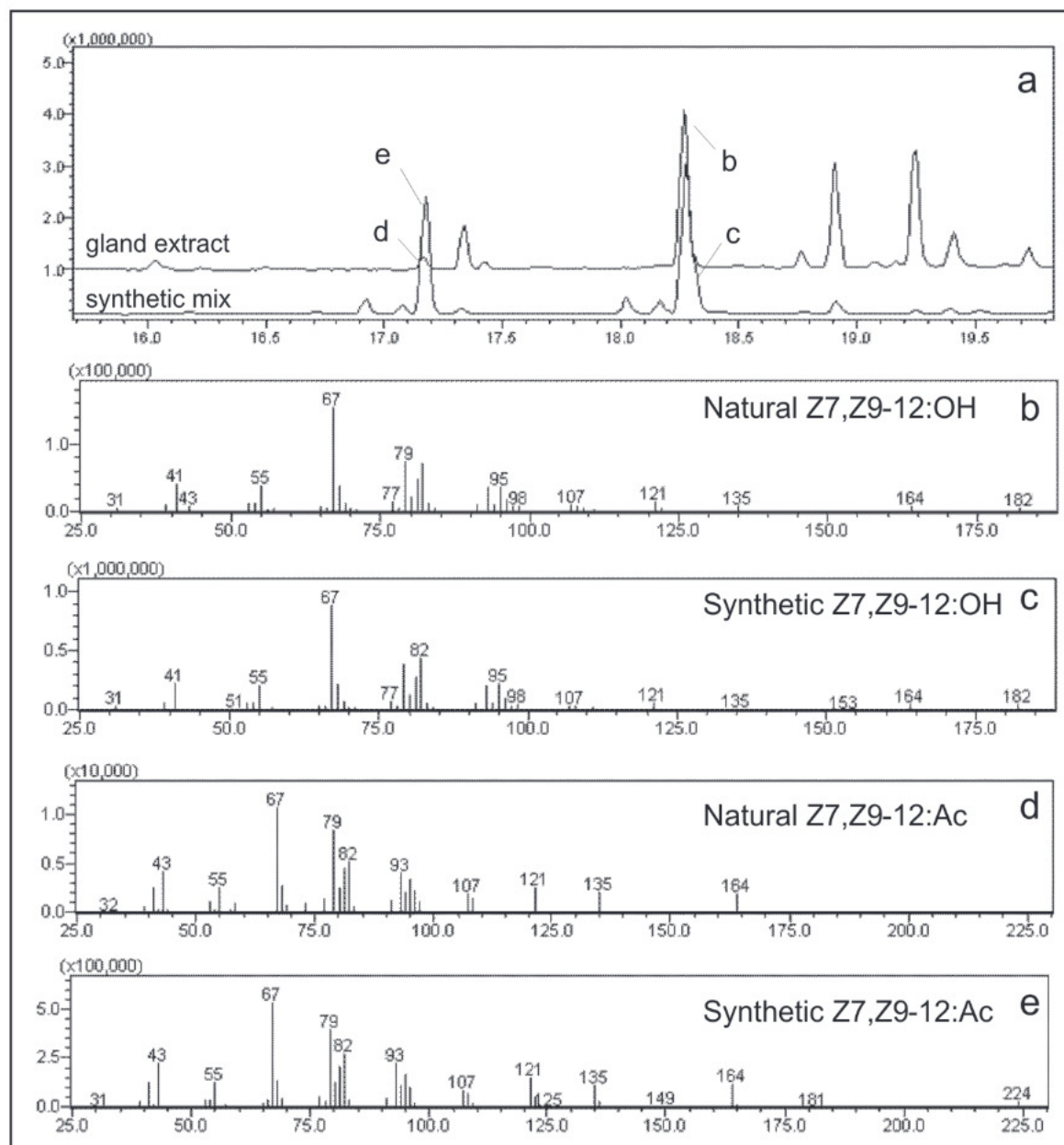


Figura 3. Comparación de los cromatogramas de iones totales obtenidos del análisis del extracto de hembras (a, superior) con los compuestos sintéticos Z7,Z9-12:Ac y Z7,Z9-12:OH (a, inferior). Los espectros de masa de los compuestos naturales (b,d) fueron virtualmente idénticos a los de los compuestos sintéticos (c,e), al igual que sus tiempos de retención.

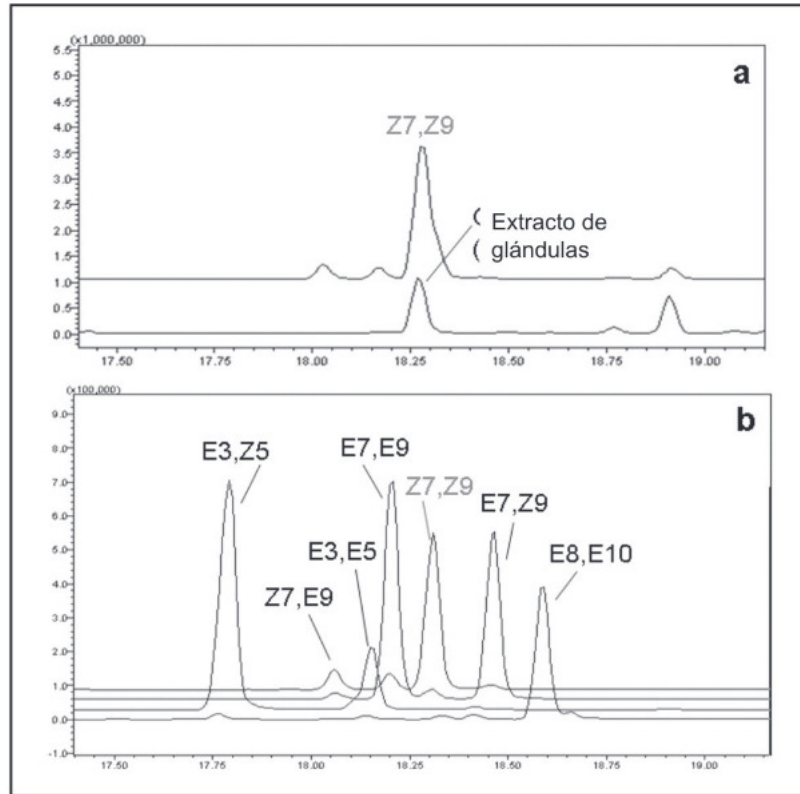


Figura 4. a) Comparación de los tiempos de retención de Z7,Z9-12:OH (rojo) con el compuesto del extracto de glándulas identificado como tal; b) separación cromatográfica de distintos isómeros posicionales de dodecadienos conjugados en GC-MS.

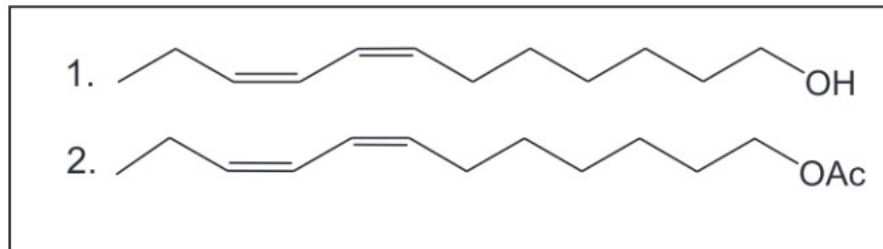


Figura 5. Estructuras químicas de Z7,Z9-12:OH (1) y Z7,Z9-12:Ac (2), componentes identificados en la feromona sexual de *C. aporema* (epinotia).