
**Evaluación del efecto sanitizante de un extracto biodegradable
obtenido de la especie *Solanum marginatum*,
de uso etnobotánico en Boyacá**

Mauricio García
fabrycy08@gmail.com
María Castellanos

**Grupo de Investigación Química Ambiental
Semillero de Investigación en Química Ambiental
Facultad de Ciencias Básicas
Química de Alimentos**

Resumen

Este trabajo tiene como propósito la evaluación del extracto de "lulo de perro", en calidad de limpiador sanitizante biodegradable, para contribuir a la calidad e inocuidad en la industria alimentaria y reducir el impacto negativo hacia el medio ambiente. El proyecto se realizó con material biológico recolectado quincenalmente durante tres meses del corredor universitario de la ciudad de Tunja. La extracción de saponinas se llevó a cabo siguiendo el proceder de M. E. Wall 1958. Se realizaron ensayos químicos cualitativos en la concentración hidroalcohólica, obteniendo pruebas positivas.

El potencial sanitizante es más eficaz a una concentración de 10% después de 6 minutos de contacto sobre microorganismos bacilos gram negativos, presentando un porcentaje de inhibición máximo de 99.588%, datos comparados frente a sanitizantes comerciales (Mat-98 y Germigel). La aglicona (sapogenina) se obtuvo por hidrólisis, según el proceder de R. Segal 1966, la cual se identificó mediante espectroscopia infrarroja y punto de fusión asignando la estructura correspondiendo a hecogenina.

Palabras clave: *Solanum marginatum*, saponinas, sapogenina, hecogenina biozanitizante, porcentaje de inhibición, desinfectante, hidrólisis.

Introducción

La familia de las solanáceas abarca las plantas del género *Solanum*, que contienen sustancias de estructura similar a las saponinas, los glucósidos de esteroides o de triterpenoides, llamadas así por sus propiedades, similares al jabón, para emulsionar la grasa, dado que cada molécula está constituida por un elemento hidrofóbico (el esteroide o el triterpenoide) y un elemento hidrofílico (azúcar), con formación de espuma cuando son agitadas en agua (Fieser, ét al. 1959).

Otras regiones latinoamericanas han reportado el uso etnobotánico de especies *Solanum* como agentes limpiadores. En Colombia se han realizado estudios de la composición de este fruto, determinando y caracterizando ciertos alcaloides (Sanabria, 1974, y Herrera, 1970); sin embargo, se desconoce la evaluación de la especie "lulo de perro" como agente limpiador que se ha utilizado en la provincia Norte de Boyacá, tradicionalmente. En la especie *Solanum* se ha reportado la extracción con etanol y butanol (Wall, ét al 1958).

En el desarrollo de este trabajo se realizó la extracción con etanol al 70% y n-butanol. Mediante ensayos químicos cualitativos se identifica la presencia del limpiador activo de interés en el trabajo. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el potencial sanitizante a través de una prueba estándar de desinfección, con el fin de cuantificar el porcentaje de inhibición de microorganismos. Los resultados fueron comparados con limpiadores comerciales de uso en la industria alimentaria. La estructura química fue asignada considerando punto de fusión y espectroscopia infrarroja, comparado con dos patrones.

Parte experimental

Recolección y preparación de la muestra

El material biológico fue recolectado quincenalmente durante tres meses (octubre y noviembre de 2008, y febrero de 2009) del corredor universitario de la ciudad de Tunja. Se empleó técnica manual para separar la pulpa del fruto y se redujo a trozos de 0.5 cm. Se colocó en un horno de secado (MLW) a 45 °C, durante 9 días. El sólido se pasó a través de un molino mecánico (corona), luego se tamizó (tamiz 17 N-100).

Extracción del crudo de saponinas

Se llevó a cabo siguiendo el proceder de Wall, ét al 1958. Se tomó 400g del material seco tamizado y se maceró en 1600 ml de etanol al 70% durante 48 horas. Se filtró y se maceró nuevamente en solvente renovado durante 24 horas. Los extractos hidroalcohólicos se concentraron en rotoevaporador (Bûchi R-205), el residuo se desengrasó con éter de petróleo, la parte acuosa de disolvió en 40 ml de agua destilada, se extrajo hasta máximo agotamiento con n-butanol y se concentró hasta obtener un residuo pastoso correspondiente al crudo de saponinas.

Identificación e hidrólisis de saponinas

Se realizó ensayos químicos cualitativos para determinar posibles saponinas en el extracto concentrado hidroalcohólico. La hidrólisis se realizó según el proceder descrito por Segal, I ét al (1966) (2 g del crudo de saponinas se disolvieron en 50 ml de etanol al 50 %); a esta disolución se añadió 10 ml de solución de KOH 1mol/L en metanol, y se hizo el reflujo durante 2 horas. La solución se refrescó y se acidificó ligeramente con solución de HCl 0,5 mol/litro y se evaporó el solvente con una corriente de aire a temperatura ambiente. El residuo se lavó 2 veces con agua y se cristalizó en metanol.

Evaluación del efecto sanitizante

Se llevó a cabo sobre superficies de mesones de trabajo de la cocina del restaurante estudiantil de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, sede Tunja. Se siguió el proceder de Carrascal, Páez y Burbano (S.F.). Para evaluar porcentaje de inhibición de microorganismos: bacilos gram negativos. Comparado con dos desinfectantes comerciales (Mat 98 y Germigel).

Asignación de estructura química

Los cristales (sapogenina) se identificaron por medio de espectroscopia infrarroja y punto de fusión. Los resultados se compararon con dos patrones (diosgenina y hecogenina) y se asignó la estructura química.

Resultados y discusión

Materia seca

Se obtuvo $42,55\% \pm 0,27\%$ de pulpa fresca, pulpa seca $4,06\% \pm 0,97\%$. Luego de tamizado el material se redujo en 1 %. El valor de rendimiento del material seco es bajo debido al alto contenido de agua y otros sustancias volátiles que la pulpa presenta: 95,64 – 96.8109%.

Obtención del crudo de saponinas

Se obtuvo un residuo n-butanoico de consistencia pastosa y color rojo quemado con un peso: 39,19 – 42,2g, que corresponde al crudo de saponinas, con rendimiento de 79%.

Identificación de saponinas

Se realizó ensayos químicos cualitativos para determinar posibles saponinas. Con este estudio se analizó la presencia del agente activo (saponina) en el extracto de concentración hidroalcohólica de interés en el trabajo, como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. *Ensayos químicos cualitativos en extracto de concentración hidroalcohólica*

Ensayo/extracto	Concentración hidroalcohólica
Espuma (saponinas)	+
Hemólisis (saponinas)	+
Liebermann - Burchard (triterpenos y/o esteroides)	+
Salkowski (triterpenos y/o esteroides)	+
Antrona (saponinas)	+
Rosemheim (triterpenos y/o esteroides)	+
Vainillina (sapogeninas)	+

Todos los ensayos son positivos. Para el caso de saponinas los ensayos son muy positivos. Para espuma, luego de agitar la muestra durante dos minutos, se presentó una densa capa de espuma de 2.2 cm, la cual se mantuvo por más de 6 horas. Esta prueba sólo es presuntiva. Para confirmar presencia de saponinas, por medio del ensayo de hemólisis, el cual es muy positivo, ya que al adicionar el extracto sobre medio de cultivo agar sangre se presentó lisis de los glóbulos rojos en el área afectada.

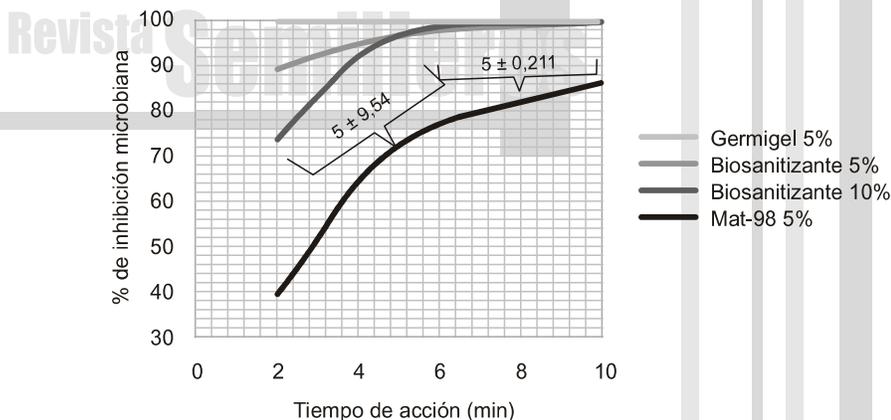
Para el caso de antrona se presentó un leve anillo azul en la interfase, indicando una reacción ligeramente positiva. En ensayos más específicos triterpenos y esteroides (Liebermann–Burchard, Salkowski, Rosemheim) es siempre positivo. Para el primer caso al final de la reacción aparece un color negro, indicando que hay cantidades importantes del analito de interés. Por presentar coloración azul verdoso indica la presencia de saponinas de estructura esteroidea. Para el caso de sapogeninas (vainillina), la reacción presentó colores variables, indicando una reacción positiva.

Evaluación del porcentaje de inhibición

Con esta prueba se evaluó el potencial sanitizante del extracto biodegradable, comparado con dos desinfectantes comerciales. Datos representados en la gráfica 1. El porcentaje de inhibición sobre los microorganismos gram negativos depende de la concentración del biosanitizante y al tiempo de contacto sobre estos.

El mayor porcentaje se da a partir de los 6 minutos a una concentración del 10%, logrando un máximo de 99,58% de inhibición. El pH afecta tanto la carga neta de las bacterias como el grado de ionización del agente.

En general las formas ionizadas de los agentes disociables pasan mejor a través de las membranas biológicas y, por tanto, son más efectivos. El biosanitizante es un agente aniónico con grupo carbonilo como porción hidrofílica, con pH ácido de 4.5. Los desinfectantes comerciales (Mat98 y Germigel) son agentes catiónicos con pH 11.7 y 11.9.



Gráfica 1. Evaluación del porcentaje de inhibición

Hidrólisis del crudo de saponinas

A partir de 5g de crudo de saponinas tomados para realizar el proceso de hidrólisis se obtuvo 1,265g de sapogenina; con un rendimiento de 24,1% con respecto al crudo. Respecto al material biológico presentó un rendimiento de 0,12%, es relativamente bajo ya que el fruto presenta un 39,846% de semillas, un 17,62% de corteza y un 42,55% de pulpa, que es donde se encuentra el analito de interés.

Identificación de la sapogenina

Se tuvo como referencia dos patrones de saponinas: diosgenina y hecogenina. El punto de fusión determinado del analito de interés fue 255 -258°C. Comparado con los patrones se asemeja más a la hecogenina, la cual tiene p.f de 258–262°C. Prosiguiendo con el proceso de identificación de la saponina se obtuvo el espectro infrarrojo en un equipo shimadzu prestige. El cual se evidencia en el espectro 1.

Se puede observar claramente bandas pronunciadas y limpias, indicando que la sustancia es de buena pureza. Se presentaron las siguientes bandas de vibración y tensión: grupo OH a una longitud de onda de 3304,06 cm⁻¹, en teoría se reporta de 3500 – 2500 cm⁻¹, grupos CH a 2927,94-2852,72 cm⁻¹, en teoría se reporta de 2850 – 3095 cm⁻¹, grupo carbonilo C=O a 1726,29 cm⁻¹, teóricamente se reporta de 1690 – 1760 cm⁻¹. Al igual se confirma la presencia de los grupos CH:CH, CH₂ y CH₃. en una longitud de onda de 1606,92, 1446,61 y 1360,60 cm⁻¹. Hacia 1202,66 cm⁻¹ hay una tensión del grupo C-O, en teoría se reporta de 1050 – 1300 cm⁻¹. Este espectro comparado con el patrón hecogenina de la biblioteca del equipo tiene una similitud de un 99%. Al igual el punto de fusión coincide. La estructura de la sapogenina presente en la especie *Solanum marginatum* corresponde a la hecogenina.

Estandarización

El rendimiento de los productos en las diferentes fases del proceso de obtención de hecogenina realizadas por triplicado se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. *Rendimiento en cada fase del proceso*

Material biológico	% Rto pulpa fresca	% Rto pulpa seca	% Rto crudo de saponina	% Rto sapogenina	% de inhibición del extracto
X	42,55	4,06	0,41	0,103	99,58
S ±	0,27	0,97	0,76	0,12	0,86

El rendimiento final de sapogenina es relativamente bajo si se tiene en cuenta que la parte del material biológico que la contiene representa el 42.55% del fruto y al ser secado representa el 4,06% de este, que es donde se encuentra este análisis de interés.

Conclusiones

El biosanizante presenta mayor eficiencia sobre los microorganismos gram negativos, a una concentración del 10% y un tiempo de acción después de 6 minutos, presentando un porcentaje máximo de inhibición de 99,58%.

Los sanitizantes comerciales (Mat98 y Germigel) presentan un porcentaje de inhibición superior, pero generan productos insolubles, deteriorando el medio ambiente y causando problemas de salud a quienes lo manipulan. El biosanizante extraído compensa la poca diferencia de inhibición (0,412%) con su particularidad de cuidar el entorno ambiental.

El agente activo responsable del efecto sanitizante de la especie *Solanum marginatum*, según P.f y I.R, corresponde a una saponina conocida como hecogenina.

El rendimiento de hecogenina en frutos de la especie *Solanum marginatum* fue 0,103% con respecto al material biológico, y 24,1% con respecto al material seco.

Se recomienda llevar a cabo la extracción del compuesto activo de esta especie en fase húmeda, con el fin de comparar su eficiencia frente a la extracción seca.

Referencias bibliográficas

Carrascal, A., Páez, A., y Burbano, M. (1998). *Manual de laboratorio: microbiología de alimentos*. Colombia. (S.F).

Fieser, L., et al. (1959). Saponinas esteroideas. *Revista cubana de farmacia*. Cuba. (S.F).

Hernández, R. Obtención de crudos saponinas. Cuba: (S.F).

Herrera, A., y Kecán, G. (1970). Análisis fitoquímico y farmacológico del solanum marginatum. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. Bogotá.

Hostettman, K., y Marston, A. (S.F). *Chemistry and Pharmacology of Natural Products*. (S.F).

Martínez, M. (2001). Saponinas esteroides. *Revista Universitaria de Antioquia*. Colombia.

Sanabria, A. (1974). Alcaloides del solanum marginatum. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. Bogotá.

Segal, R., ét al. (1966). *Saponinas esteroidales y triterpénicas*. (S.F.).

Wall, M., ét al. (1958). *Saponinas esteroidales y triterpénicas*. (S.F).