

ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES METODOLOGÍAS CUANTITATIVAS DE EXTRACCIÓN DE SAPONINAS DE LA *MELISA OFFICINALIS* “TORONJIL”

T. Flores¹, J. Huamán², G. Tomás³

RESUMEN

En nuestra investigación se realizó un screening fitoquímico por el método de Cain-Bohmann modificado obteniéndose presencia de buena cantidad de saponinas, las cuales fueron identificadas como saponinas triterpenoides utilizando pruebas cualitativas que dieron positivas como la prueba de la espuma, reacción con el reactivo de Salwosky, reactivo de Liberman-Bouchard y reacción con el ácido sulfúrico.

Se desarrollaron tres metodologías cuantitativas para la extracción de las saponinas a partir de un extracto hidroalcohólico de la planta y su posterior hidrólisis. La diferencia de los dos primeros métodos consistió en emplear un método con la muestra desengrasada con cloroformo y el otro sin desengrasar. Para el tercer método se aplicó el procedimiento según M.E.Wall *et al.* (1958).

Los porcentajes de extracción de saponinas para las tres metodologías fueron de 3,90%, 2,40% y 2,02% respectivamente. Igualmente se obtuvieron las agliconas correspondientes luego de hidrolizar por vía ácida el crudo obtenido.

Palabras clave: saponinas, triterpenos, detergencia, agliconas, hidrólisis

COMPARATIVE STUDY OF THREE METHODOLOGIES SAPONINS QUANTITATIVE EXTRACTION OF *MELISA OFFICINALIS* “TORONJIL”

ABSTRACT

In our research, a phytochemical screening was performed by the method of Cain - Bohmann modified yielding presence of good amount of saponins, which were identified as triterpenoid saponins using qualitative tests that were positive and the test of the foam reaction with the reagent Salwosky, Bouchard Liberman reagent and reaction with sulfuric acid.

Three quantitative methods for extracting saponins from a hydroalcoholic extract of the plant and subsequent hydrolysis were developed. The difference of the first two methods was to use a method with the sample defatted with chloroform and the other without scouring . For the third method according to the procedure applied M.E.Wall *et al.* (1958).

Extraction rates for the three methods saponins were 3.90%, 2.40 % and 2.02% respectively. Similarly the corresponding aglycones after acid were obtained by hydrolyzing the crude obtained via.

Keys words: saponins, triterpenes, detergency, aglycones, hydrolysi.

1 Lab. de P. Naturales, Dpto. Q. Orgánica FQIQ-UNMSM, rafflot_22@hotmail.com

2 Lab. de P. Naturales, Dpto. Q. Orgánica FQIQ-UNMSM, jhuamanm@unmsm.edu.pe

3 Lab. de P. Naturales, Dpto. Q. Orgánica FQIQ-UNMSM, gtomasc@unmsm.edu.pe

I. INTRODUCCIÓN

El término saponina deriva del latín: *sapo* = jabón. Los vegetales que contienen saponinas se han usado en muchas partes del mundo por sus propiedades detergentes, tienen sabor amargo. Las saponinas son compuestos glicosidados con glucosa, galactosa o pentosas. Los contenidos de estos metabolitos varían del 0,1% al 5 % en muchos vegetales. Después de una hidrólisis se obtienen sapogeninas, triterpénicas o esteroidales.^[1]

Las saponinas son productos de defensa de los vegetales contra sus patógenos, especialmente hongos, y se encuentran sobre todo en las zonas más externas de las plantas^[3]. Se denomina saponina a sustancias de tipo heterósido que tienen propiedades comunes. Son afrógenos: producen espuma persistente por bajar la tensión superficial.

Tienen propiedades fisiológicas comunes:

- Hemólisis: producen ruptura de la membrana de los glóbulos rojos.
- Son tóxicos para animales de sangre fría.
- Irritantes de la mucosa nasal y faríngea.

Se han usado también como veneno de peces, macerando en agua un poco del órgano

vegetal que lo contiene, con la ventaja de que los peces muertos por este procedimiento no son tóxicos.

Químicamente no pertenecen a un mismo tipo de compuesto. Según la estructura de la sapogenina se dividen en saponinas esteroidales y saponinas triterpénicas pentacíclicas. Ambas presentan un enlace heterosídico en el C-3. Las saponinas poseen elevado peso molecular, y su aislamiento en estado puro ofrece ciertas dificultades. Son solubles en agua, etanol y metanol diluidos y en caliente. Las sapogeninas son prácticamente insolubles en H₂O, solubles en solventes poco polares como CCl₄ y éter. Se pueden localizar en cualquier órgano de la planta, raíz, hojas, semillas, corteza, etc.

Estructura: Las saponinas son glicósidos (Figura N.º 1) en los cuales varias unidades de monosacáridos se enlazan mediante un enlace glicosídico a un resto denominado aglicón. El aglicón puede ser de naturaleza triterpénica o esteroidal y en función de esto las saponinas se clasifican en saponinas triterpénicas y saponinas esteroidales respectivamente. Las saponinas esteroidales están menos ampliamente distribuidas en la naturaleza que las saponinas triterpénicas pentacíclicas

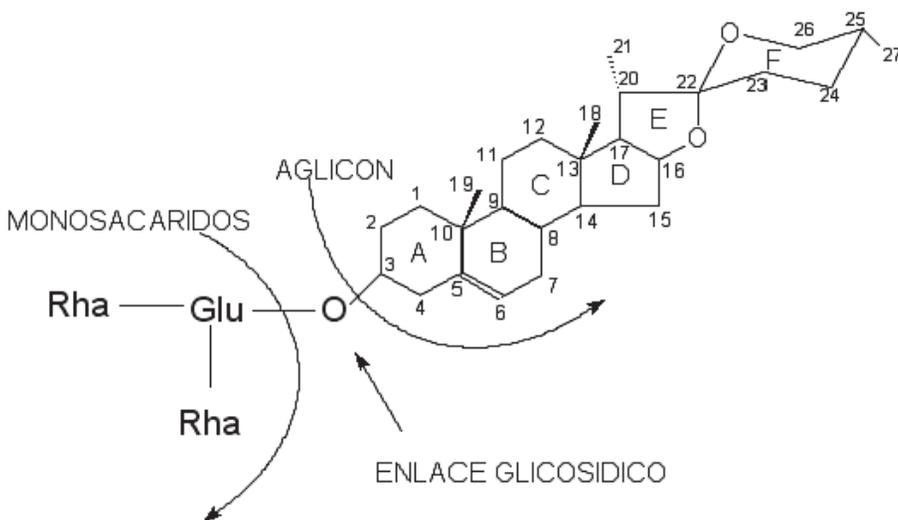


Figura N.º 1

II. PARTE EXPERIMENTAL

Screening Fitoquímico:

En nuestra investigación se realizó un screening fitoquímico por el método de Cain-Bohmann modificado y se obtuvo presencia de buena cantidad de saponinas, las cuales fueron identificadas como saponinas triterpenoides utilizando pruebas cualitativas que dieron positivas:

La prueba de la espuma

Reacción con el reactivo de Salwosky

Reactivo de Liberman-Bouchard y

Reacción con el ácido sulfúrico.

Metodología de Extracción de Saponinas:

METODOLOGÍA N.º 1

Se maceraron 50 g de la muestra seca y molida de la planta en 150ml de etanol al 70% durante 48 horas, se filtró y se repitió la extracción con la misma cantidad de dicho solvente durante 24 horas. Se reunieron los extractos y se concentraron hasta la sequedad en baño maría.

El residuo obtenido se disolvió en 10 ml de agua destilada, se colocó en una pera y se extrajo hasta el máximo agotamiento con n-butanol se concentraron los extractos a sequedad en un rotavapor hasta la obtención de un residuo seco.

METODOLOGÍA N.º 2

Se maceraron 50 g de la muestra seca en 70mL de cloroformo durante 48 horas, se filtró, el extracto clorofórmico se concentró a sequedad en un baño de agua. El material vegetal se secó en la estufa a 35 °C y se extrajo en Soxhlet con 50 ml de etanol hasta total agotamiento de la droga, se filtró el extracto obtenido y se concentró a sequedad en un baño de agua. El residuo obtenido se disolvió en 30 ml de agua saturada con 10 ml de n-butanol y se refluaron con 30 ml de n-butanol durante tres horas. La mezcla obtenida se llevó en una pera y se separaron las dos fases, el extracto butanólico se dejó reposar 24 horas para

filtrar a vacío sobre sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4). Posteriormente se concentró el extracto butanólico a sequedad de color verde oscuro pastosa, que es el crudo de saponinas y luego se pesó.

METODOLOGÍA N.º 3

Para la extracción de saponinas se sigue el proceder de M.E.Wall *et al.* (1958).

Se macera 50g en 300ml de etanol al 80% durante 10 días, luego el extracto se concentró a sequedad en un baño de agua, y se disolvió en etanol acuoso 50%. Se le añadió igual volumen de benceno saturado con etanol al (25ml/g del extracto bruto); se agitó vigorosamente y se centrifugó la mezcla.

Se repitió dos veces el proceso de extracción y se eliminó en cada paso la fase bencénica con las grasas y pigmentos extraídos. La fase hidroalcohólica se evaporó hasta la sequedad y se obtuvo un material de color pardo oscuro, que es el crudo de saponinas.

HIDRÓLISIS DE LAS SAPONINAS:

En las tres metodologías al final se pesa el residuo (crudo de saponina), y se disolvió en 20 ml de etanol y se añadió igual volumen de ácido clorhídrico 2N y se refluó durante tres horas; se dejó refrescar para luego evaporar hasta la tercera parte de su volumen inicial y se vertió sobre igual volumen de agua fría, la solución acuosa obtenida se extrajo con acetato de etilo y se concentró a sequedad para obtener los cristales, los cuales fueron recristalizados con acetona.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

METODOLOGÍA N.º 1

Obtención del crudo de saponinas

Después de reunir los extractos hidroalcohólicos obtenidos por maceración y concentrar a sequedad, se obtuvo un residuo seco de extracto de peso $W = 6.60$ g de consistencia pastosa y color carmelita-verdoso, para un 13.20% de extracción.

Cálculo:

$$\% \text{ Extracto} = \frac{6.6\text{g}}{50\text{g}} \times 100 = 13.20\%$$

Prosiguiendo con el proceso de extracción, se obtuvo un residuo n-butanólico de consistencia pastosa y color pardoverdoso, con un peso de $m = 4.39 \text{ g}$ para un 68.58 % de extracción del crudo de saponinas.

$$\% \text{ Crudo de saponina} = \frac{4.39}{6.60} \times 100 = 68.58\%$$

Hidrólisis de las saponinas

A partir de los residuos n-butanólicos obtenidos, se obtuvieron las agliconas en la extracción con acetato de etilo teniendo un residuo de 3.95 g de color verdoso.

Cálculo:

$$\% \text{ Saponina hidrolizada} = \frac{3.95}{4.49} \times 100 = 87.97\%$$

Porcentaje de la saponina-

En la purificación se obtiene 1.95g

$$\% \text{ Saponina} = \frac{1.95\text{g}}{50\text{g}} \times 100 = 3.90\%$$

Metodología N.º 2

Obtención del crudo de saponinas

Se obtuvo un residuo de aspecto gomoso, olor a caramelo y coloración verdosa, que pesó 5.34 g corresponde al extracto seco que corresponde a 12.74%.

Cálculo:

$$\% \text{ Extracto} = \frac{5.34\text{g}}{48.02\text{g}} \times 100 = 11.52\%$$

Para el crudo de saponinas, se obtuvo 3.48g.

$$\% \text{ Crudo de saponina} = \frac{3.48}{5.34} \times 100 = 65.17\%$$

Hidrólisis de las saponinas

A partir de los residuo obtenido, se obtuvieron las agliconas en la extracción con acetato de etilo teniendo un residuo de 2.94 g de color marrón.

Cálculo:

$$\% \text{ Saponina hidrolizada} = \frac{2.94\text{g}}{3.48\text{g}} \times 100 = 84.48\%$$

Porcentaje de la saponina-

En la purificación se obtiene 1.20g

$$\% \text{ Saponina} = \frac{1.20\text{g}}{50\text{g}} \times 100 = 2.40\%$$

Metodología N.º 3

Obtención del crudo de saponinas.

El residuo de maceración de aspecto gomoso, olor a caramelo y coloración verde-marrón, que pesó 9.40 g corresponde al extracto seco que corresponde a %.

Calculo:

$$\% \text{ Extracto} = \frac{9.4\text{g}}{50\text{g}} \times 100 = 18.80\%$$

Para el crudo de saponinas.se obtuvo 5.12g.

$$\% \text{ Crudo de saponina} = \frac{5.12\text{g}}{9.40\text{g}} \times 100 = 54.47\%$$

Hidrólisis de las saponinas

A partir del residuo obtenido, se obtuvieron las agliconas en la extracción con acetato de etilo teniendo un residuo de 4.18 g de parda marrón parda.

Calculo:

$$\% \text{ Saponina hidrolizada} = \frac{4.18}{5.12} \times 100 = 81.64\%$$

Porcentaje de la saponina

En la purificación se obtiene 1.01.g

$$\% \text{ Saponina} = \frac{1.01\text{g}}{50\text{g}} \times 100 = 2.02\%$$

Resumen general de los porcentajes de los diferentes métodos:

	% Extracto	% Crudo	% Hidrolizado	% Saponina
Método N° 1	13.20	68.58	87.97	3.90
Método N° 2	11.97	65.17	84.48	2.40
Método N° 3	18.80	54.47	81.64	2.02

IV. CONCLUSIONES

Se desarrollaron tres metodologías óptimas para la extracción de saponinas a partir de un extracto hidroalcohólico de la *Melissa officinalis* y su posterior hidrólisis.

Los porcentajes de extracción de saponinas para las tres metodologías fueron de 3,90%, 2,40% y 2,02% respectivamente. Se obtuvieron las agliconas correspondientes luego de hidrolizar por vía ácida, el crudo obtenido.

Para comprobar la presencia de las saponinas y otros metabolitos relacionados, se realizaron ensayos de identificación cualitativa con reactivos de reacciones de coloración, comprobando la presencia de saponina triterpenos.

V. AGRADECIMIENTO

Al Laboratorio de Productos Naturales por brindar los elementos necesarios para la realización de la parte experimental de esta investigación.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Lock de Ugaz O. *Investigación Fitoquímica. Métodos de estudios de productos naturales*. Fondo Editorial PUCP 2da. edición .Lima 1994.
- [2] Graham Solomons, Craig B. Fryhle. *Organic Chemistry*. Editorial Wiley, John & Sons, Incorporated. Octava edición. 2003. pp. 662 – 671.
- [3] Mostacero, L.; Mejía, F.; Gamarra, O. *Taxonomía de las fanerogamas útiles del Perú*. CONCYTEC. Volumen I. Editorial Normas Legales. Trujillo. 2002.
- [4] Desmarchelier, C.; Alonso, J. *Plantas medicinales para la atención primaria en la salud*. Vademecum de Fitoterapia. PRODAPP. Lima. 2005.