Revista de Salud # 29.qxp_Armado Revista de Salud # 6 14/6/17 10:21 a.m. Página 52

Revista de Investigación e Información en Salud

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Evaluación y control de calidad del extracto alcohólico de las hojas de tarhui "*Lupinus mutabilis sweet*"

Evaluation and quality control of the alcoholic extract of tarhui leaves "Lupinus mutabilis sweet"

1. Dr. Andrés Fernández Rivera, 2. Dr. Marco Camacho Aramayo, 3. Ing. Adolfo Escalante Lunario

1. Lic. en Bioquímica y Farmacia. Coordinador del Laboratorio de Fitofármacos, Universidad del Valle Cochabamba, **afernandezr@univalle.edu**
2. Lic. en Bioquímica y Farmacia. Docente de Tecnología Farmacéutica, Facultad de Bioquímica y Farmacia, Universidad Mayor de San Simón. Cochabamba, **marcocamacho@gmail.com**
3. Ing. en Agronomía. Coordinador de PROFAC, Facultad de Bioquímica y Farmacia, Universidad mayor de San Simón. Cochabamba, **adolfoescalante@gmail.com**

Fecha de recepción: 02/02/17
Fecha de aprobación: 10/03/17

Revista de Salud # 29.qxp_Armado Revista de Salud # 6 14/6/17 10:21 a.m. Página 53

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar la actividad antibacteriana de un extracto hidroalcohólico de las hojas del tarhui (***Lupinus mutabilis sweet***). Se realizó la extracción de los alcaloides de las hojas del tarhui en una relación 1 en 10 con alcohol al 70% por un espacio de 7 días, posteriormente se concentró el mismo eliminando el solvente y se realizaron pruebas "In vitro" utilizando cepas de ***S.aureus*** ATCC25923 y ***S. pyogenes*** ATCC19615, observando la concentración inhibitoria mínima para las cepas de *S. aureus* de 0.164mg/ml y, asímismo, la concentración inhibitoria mínima para las cepas de ***S. pyogenes*** es de 0.163 mg/ml.

Palabras Clave: Actividad antibacteriana. Alcaloides. Concentración inhibitoria mínima.

ABSTRACT

The present investigation was developed with the objective of evaluating the antibacterial activity of a hydroalcoholic extract of the tarhui leaves (Lupinus mutabilis sweet). The alkaloids were extracted from the leaves of the tarhui in a 1 in 10 ratio with 70% alcohol during 7 days, then the solvent was eliminated and vitro tests were carried out using S. strains. Aureus ATCC25923 and S. pyogenes ATCC19615. We observed that the minimum inhibitory concentration for S. aureus strains was 0.164 mg / ml and for S. pyogenes strains was 0.163 mg / ml.

Keywords: *Antibacterial activity. Alkaloids. Minimal inhibitory concentration.*

Revista de Salud # 29.qxp_Armado Revista de Salud # 6 14/6/17 10:21 a.m. Página 54

INTRODUCCIÓN

La planta de tarhui "***Lupinus mutabilis sweet***" es una leguminosa de origen andino, que en la última década ha tomado mucha importancia como cultivo y alimento en Bolivia. El aceite y las proteínas almacenadas en los cotiledones del tarhui son los de mayor interés nutricional e industrial; sin embargo, el grano contiene algunas sustancias anti nutritivas que limitan su uso directo en la alimentación humana y animal. Entre estas sustancias se encuentran los alcaloides, los cuales le confieren un carácter tóxico y un sabor amargo (1). En el grano, los alcaloides son de tipo quinozilidinico, poseen un heterociclo nitrogenado bicíclico (quinozilidina) y son de carácter básico. Estos compuestos están presentes en todas las especies del género Lupinus y se distribuyen en la planta, principalmente en hojas y semillas (2).

Los alcaloides quinozilidinicos poseen propiedades antifúngicas, antibacterianas y antivíricas, es así que la lupanina, esparteína y lupinina son alcaloides quinozilidinicos que actualmente están siendo utilizados en el área rural para controlar garrapatas, roedores y, parásitos (3). Considerando estas propiedades, se debe establecer una concentración mínima a la que estos metabolitos ejercen una acción farmacéutica y, posteriormente, se debe delimitar una dosis letal media. Con estos datos se realiza la formulación en cualquier forma farmacéutica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Por su enfoque, se trata de un trabajo de carácter analítico cuantitativo y descriptivo-experimental y longitudinal porque se procede a la manipulación activa y sistémica de variables independientes.

La presente investigación se realizó en los siguientes laboratorios:

- Laboratorio de Investigación PROFAC (Programa de alimentos, fármacos y cosméticos).

- Laboratorio de alimentos y nutrición (LAN).

Recolección de la muestra

Se realizó la recolección de las hojas de tarhui "***Lupinus mutabilis sweet***" en etapa de maduración de la comunidad de Iluri (Municipio de Tiraque).

Lavado y desinfección

Se realizó el lavado y la desinfección de las hojas con una solución de hipoclorito de sodio a 80ppm por 30 minutos, finalmente se dejó secar en sombra por 7 días a temperatura ambiente.

Molienda

Una vez secadas las hojas se procedió a la molienda de las mismas usando la moledora común hasta pulverizarlas, posteriormente, se almacenaron en un recipiente de vidrio previamente esterilizado.

Obtención del extracto

El extracto hidroalcohóhlico de las hojas secas de tarhui fue obtenido por maceración con un solvente etanólico al 70% en un periodo de 48 horas.

Control de calidad de los extractos

Comprenden parámetros que establecen los requisitos de calidad. La metodología aplicada se realizó de acuerdo a los métodos de análisis de drogas y extractos (5).

Características Organolépticas

Se determinó el color, olor, consistencia y sabor del extracto utilizando los sentidos.

Determinación del pH

Utilizando un pH metro digital previamente calibrado se realizó la medición del pH del extracto.

Marcha fitoquímica preliminar

Utilizando la técnica desarrollada por Olga de Lock se realizó un tamizaje fitoquímico al extracto para identificar sus componentes más importantes. (6)

Análisis cromatográfico

El análisis cromatográfico es una referencia para saber, de manera general, qué compuestos están presentes en determinada muestra. Se realizó la corrida cromatográfica con un sistema de solventes Benceno-Etanol (9:1) utilizando vainillina como revelador.

Concentración Inhibitoria Mínima

Mediante esta técnica se definió la concentración mínima necesaria para inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37 °C. Posteriormente, se realizó un análisis estadístico para comprobar y demostrar la acción farmacológica de cada concentración frente a la bacteria.

Revista de Salud # 29.qxp_Armado Revista de Salud # 6 14/6/17 10:21 a.m. Página 55

RESULTADOS

En la tabla N°1 se aprecia que el extracto alcohólico de las hojas de tarhui presenta un olor pungente característico de la planta, color verde oscuro debido a los pigmentos vegetales que posee y sabor amargo debido a los alcaloides presentes.

Tabla 1. Parámetros Organolépticos

Extracto	Olor	Color	Sabor
Extracto hidroalcohólico de hojas de tarhui	Pungente	Verde	Amargo

Fuente: Elaboración propia, mayo 2014

En la tabla N° 2 se puede observar que el pH del extracto alcohólico de las hojas de tarhui es de 5.5, considerándolo como ligeramente ácido, lo que le confiere solubilidad en agua y solventes polares.

Tabla 2. Determinación del pH

Muestra	Valor de pH
Extracto hidroalcohólico de hojas de tarhui	5,5

Fuente: Elaboración propia, mayo 2014

Los resultados obtenidos en la Marcha Fitoquimica Preliminar del extracto, demuestran la presencia de alcaloides en el extracto (Tabla N°3), siendo estos los principales responsables de la actividad antibacteriana.

Tabla 1. Parámetros Organolépticos

Extracto hidroalcohólico de hojas de tarhui	Resultado
Flavonoides **(Shinoda)**	+
H. Antraquinónicos **(Bortrager)**	-
Saponinas **(Molich)**	++
Esteres y Triterpenoides **(Salkowsky) (Lieberman)**	+++
Alcaloides **(Draguendorff) (Mayern) (Hagern) (Reinekato)**	+++
Fenoles y Taninos **(FeCl3)**	+
(+++) Abundante, (++) Moderado, (+) Poco y (-) Ausencia	

Fuente: Elaboración propia, mayo 2014

Revista de Salud # 29.qxp_Armado Revista de Salud # 6 14/6/17 10:21 a.m. Página 56

Figura 1. Análisis cromatográfico

Placa cromatográfica de los alcaloides contenidos en el extracto alcohólico de las hojas de tarhui

Placa cromatográfica de los alcaloides contenidos en el extracto alcohólico de las hojas de tarhui.

Absorbente: Silica gel 60 F 254 (Merck).

Eluyente: Benceno-Etanol (9:1)

Revelador: Vainillina

Rf: Lupanina 0.42

Fuente: Elaboración propia, mayo 2014

La cromatografía en capa fina, para la determinación de los alcaloides, reveló la presencia de Lupanina (Figura 1) en el extracto alcohólico de las hojas de tarhui. El valor teórico referencial fue de Rf 0.42 (4), el cual coincidió con el valor práctico.

Tabla 4. Cromatografía en placa fina

Mancha observada	Cálculo Rf	Compuesto	Color
Extracto hidroalcohólico de hojas de tarhui	Rf: 3.34/8=0.42	Luparina	Naranja

Fuente: Elaboración propia, mayo 2014

Revista de Salud # 29.qxp_Armado Revista de Salud # 6 14/6/17 10:21 a.m. Página 57

Según los resultados expresados en la Tabla N°4 observamos los cálculos del Rf que se identificaron por cromatografía en capa fina de los compuestos presentes en el extracto alcohólico de las hojas de tarhui, encontrando un Rf de 0.42 correspondiente a la lupanina, con una mancha naranja característica del compuesto.

Tabla 5. Concentración mínima inhibitoria

Planta	N° de diluciones	Halo de inhibición (mm)
Tarhui	1/2	18.5
	1/4	16.4
	1/8	14.3
	1/16	9.8
	1/32	3.5
	1/64	1.4
	1/128	0.0
	1/256	0.0
Aplicando la fórmula: **CIM=Pf/Df** Pf=50 µl=10.52/ml; Df=64; CIM=0.164 mg/ml		

Fuente: Elaboración propia, mayo 2014

CMI: Concentración mínima inhibitoria; Pf: Peso final de la muestra desecada de sólidos de acuerdo a dilución; Df: Dilución final que presenta actividad antibacteriana.

La tabla N°5 muestra que la concentración inhibitoria mínima del extracto hidroalcohólico de las hojas de tarhui es de 0.164mg/ml, concentración mínima a la que presenta acción antibacteriana.

DISCUSIÓN

La planta de tarhui "***Lupinus mutabilis sweet***", por su gran contenido de alcaloides, limita el uso directo del grano y de las hojas en la alimentación humana y animal. Sin embargo, se pueden aprovechar estos metabolitos de la planta para generar alternativas farmacéuticas de gran valor para la población.

Este estudio demostró que el extracto hidroalcohólico de las hojas de tarhui presenta actividad antibacteriana frente al ***S. aureus*** y al ***S. pyogenes***. En algunos trabajos previos, realizados principalmente en Ecuador, se demostró que el extracto etéreo de los alcaloides totales del grano de chocho, presenta actividad antibacteriana contra cepas de ***S. aureus***, ***E. Coli*** y también se evidenció que presenta actividad antifúngica "In vitro" frente a las especies cándidas.

CONCLUSIÓN

Mediante el análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas del tarhui "***Lupinus mutabilis sweet***", se concluye que presenta alcaloides derivados de la lisina; en específico, alcaloides quinozilidínicos, siendo el componente más abundante de estos la lupanina (11.5%).

Revista de Salud # 29.qxp_Armado Revista de Salud # 6 14/6/17 10:21 a.m. Página 58

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. JACOBSEN, S.; MUJICA, A.2006. El tarhui "Lupinus mutabilis sweet" y sus parientes silvestres. Universidad Nacional Técnica del Altiplano.Puno-Peru.1982.pp.10-22

2. GUERRERO, M. 1987. Propiedades y aplicaciones de los alcaloides del tarhui. BOGOTA. pp.1-3.

3. ARIAS, L.1985. Análisis comparativo de dos métodos de aislamiento y determinación de alcaloides de Lupinos Mutabilis. Lima - Perú. Universidad Nacional Agraria la Molina.pp.20-41.

4. VERPOORTE,R.1983. Chromatography of alkaloids. New York: Grawers, volume 23A.pp.70, 71.

5. MIRANDA, M.1996.Metodos de análisis de drogas y extractos. Habana-Cuba: Instituto de farmacia y alimentos. pp. 6-34.
6. Bustamante Z. Texto de Farmacognosia. Facultad de Bioquímica y Farmacia. Universidad Mayor de San Simón. Cochabamba: Universitaria; 1988.