

## Composición química y actividad biológica del pseudotallo de *Musa x paradisiaca* L (BANANO)

Erwin, Murgueitio-Manzanares<sup>1\*</sup>; Mercedes, Campo-Fernández<sup>2</sup>;  
Mauro, Nirchio-Tursellino<sup>3</sup>; Osmany, Cuesta-Rubio<sup>4</sup>; Jefferson, Tocto-León<sup>5</sup>

### Resumen

El objetivo de la investigación fue evaluar las propiedades químicas y biológicas de extractos acuosos e hidroalcohólicos del pseudotallo de *Musa x paradisiaca* L. La materia prima vegetal fue caracterizada mediante análisis físico-químicos. El estudio químico cualitativo de los extractos se realizó a través de un tamizaje fitoquímico, por cromatografía en capa delgada (CCD) y mediante cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas (CLAE/EM), sugiriendo la existencia de saponinas, compuestos fenólicos y azúcares reductores. Se cuantificaron las saponinas en los tres extractos, obteniéndose la mayor concentración en el acuoso e hidroalcohólico (1:1). En la cuantificación de compuestos fenólicos por el método de Folin-Ciocalteu, el extracto hidroalcohólico (1:1), presentó la mayor cantidad de tales metabolitos. La actividad expectorante del extracto hidroalcohólico (1:1), siguiendo el modelo de rojo fenol en secreciones de ratón, a la dosis ensayada (500 mg/kg de peso del animal) mostró un efecto mucolítico similar al control positivo (Bisolvon). El estudio del efecto del extracto en el gasterópodo *Cerithidea valida* no reveló efecto letal bajo las condiciones estudiadas. Se detectó la inmediata retracción del cuerpo del molusco dentro de la concha y la oclusión de la abertura con el opérculo, lo que provocó la inmovilidad de los moluscos, comportamiento atribuido a la probable acción irritante del extracto.

**Palabras clave:** *Musa x paradisiaca* L, pseudotallo, saponinas, expectorante, molusquicida.

## Chemical composition and biological activity of the pseudostem of *Musa x paradisiaca* L (BANANA)

### Abstract

The objective of the research was to evaluate the chemical and biological properties of aqueous and hydroalcoholic extracts of the pseudostem of *Musa x paradisiaca* L. The vegetable raw material was characterized by physic-chemical methods. The qualitative chemical study of the extracts was carried out through phytochemical screening, by thin layer chromatography (TLC) and by high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry (HPLC/MS), suggesting the presence of saponins, phenolic compounds and reducing sugars. The saponins were quantified in the three extracts, obtaining the highest concentration in the aqueous and hydroalcoholic (1:1). The quantification of phenolic compounds by the Folin-Ciocalteu method, perceiving that the hydroalcoholic extract (1:1) showed the highest amount of such metabolites. The expectorant activity of the hydroalcoholic extract (1:1), following the phenol red model in mouse secretions, at the dose tested (500 mg / kg of animal weight) showed a mucolytic effect similar to the positive control (Bisolvon). The study of the effect of the extract on the *Cerithidea valida* gastropod did not reveal a lethal effect under the conditions studied. The immediate retraction of the body of the mollusk inside the shell and the occlusion of the opening with the operculum was detected, which caused the immobility of the mollusks, a behavior attributed to the probable irritant action of the extract.

**Key word:** *Musa x paradisiaca* L, pseudostem, saponins, expectorant, molluscicide

**Recibido:** 01 de marzo de 2019

**Aceptado:** 17 de junio de 2019

<sup>1</sup> Bioquímico Farmacéutico; Docente de la Universidad Técnica de Machala; Machala-Ecuador; emurgueitio20@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-3616-6710>

<sup>2</sup> Lic. en Ciencias Farmacéuticas; Docente de la Universidad Técnica de Machala; Machala-Ecuador; mcampo@utmachala.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0002-9835-6886>

<sup>3</sup> Doctor en Ciencias Biológicas; Docente de la Universidad Técnica de Machala; Machala-Ecuador; manirchio@utmachala.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0001-7171-2433>

<sup>4</sup> Lic. en Ciencias Farmacéuticas; Docente de la Universidad Técnica de Machala; Machala-Ecuador; ocuesta@utmachala.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0002-9490-8735>

<sup>5</sup> Bioquímico Farmacéutico; Técnico de laboratorio; Universidad Técnica de Machala; Machala-Ecuador; jtocto@utmachala.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0001-5148-3629>

\* Autor para correspondencia: emurgueitio20@gmail.com

## I. INTRODUCCIÓN

El uso de las plantas medicinales a lo largo del tiempo se ha vuelto una práctica muy común, según estadísticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 80% de la población tercermundista recurre a su utilización debido a sus beneficios terapéuticos (Buedo y Giagante, 2015) [1]. Dichos recursos naturales no solo encuentran su aplicación en el campo médico sino también en el sector acuícola (como desinfectantes, herbicidas, pesticidas, parasiticidas y antibióticos) por presentar menos riesgos en comparación con los productos sintéticos (Mioso *et al.*, 2014) [2].

Durante las etapas de cosecha y postcosecha, en las bananeras, se generan grandes cantidades de residuos conocidos como Biomasa Residual Agrícola (BRA) que incluye hojas, pseudotallos, bellotas, raquis entre otros, que, al carecer de un tratamiento o disposición adecuada, se convierten en contaminantes del ambiente (Meneses, *et al.*, 2012) [3]. El pseudotallo y las hojas representan más del 60% de la biomasa seca que se produce en plantaciones de banano (Márquez, 1991) [4]. De hecho, se ha indicado que por cada tonelada de racimos de banano se producen 3 toneladas de pseudotallo y 480 kg de hojas (França, 2010) [5], motivo por el cual se considera de gran pertinencia y aplicación estudiar alternativas de aprovechamiento de los residuos de la cosecha y postcosecha del plátano, específicamente del pseudotallo, con el objetivo de poder brindarle un valor agregado al cultivo de la especie y contribuir con la disminución de desechos.

Tomando en consideración que en el pseudotallo de *Musa sp* se ha identificado la presencia de cantidades importantes de saponinas (Okorundu *et al.*, 2012; Onyenekwe *et al.*, 2013; Apriasari & Suhartono, 2014; Amutha & Selvakumari, 2016) [6-9]), podría ser esta especie vegetal aprovechada por su posible efecto expectorante y molusquicida. Por tal motivo el objetivo general de la investigación fue evaluar algunas propiedades químicas y biológicas (expectorante y molusquicida) de extractos acuosos e hidroalcohólicos obtenidos del pseudotallo de *M. paradisiaca*.

## II. MATERIALES Y METODOS

La recolección del pseudotallo de banano fue realizada en la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias (UACA), de la Universidad Técnica

de Machala, provincia El Oro, sometándose la biomasa vegetal a un proceso de selección, lavado y desinfección. Posteriormente, fue cortado en trozos de, aproximadamente, 2 cm y deshidratado durante 60 horas, en una estufa con recirculación de aire forzado (MEMMERT UFSS), a una temperatura de 35°C, con 100% de ventilación y la trampilla abierta en un 100%. La disminución de tamaño de partícula de la droga se realizó en un molino (MAGRICO) utilizando una criba de 1 mm de diámetro. La droga molida se almacenó en fundas con cierre hermético en un lugar cerrado y fresco.

Para la estandarización de la droga cruda se determinó la humedad residual mediante una balanza con fuente de calentamiento halógeno (Ohaus, modelo MB120). La determinación de cenizas totales se realizó según metodología descrita por Miranda y Cuellar (2000) [10]. La cuantificación de minerales fue realizada en el laboratorio NEMALAB S.A. (<https://obsa.com.ec/ob/es/index.php/nemalab>), utilizando para ello el método de digestión vía húmeda/espectrofotometría. Colateralmente, se determinó la cantidad de metales pesados (As y Pb) en el laboratorio certificado AVVE (<http://www.laboratoriosavve.com/index.php/about-joomla/nosotros>), utilizando los métodos de referencia MMQ-AAS-04 y MMQ-AAS-28, respectivamente.

Se elaboraron tres tipos de extractos empleando como menstruos agua, agua:etanol (8:2) y agua:etanol (1:1), mediante maceración por ultrasonido (ULTRASONIC BATH 5.7 L, Fischer Scientific) a una frecuencia de 40 kHz. El estudio químico en los tres extractos se realizó a través de un tamizaje fitoquímico, según metodología descrita por Miranda y Cuellar (2000) [10], a través de los siguientes ensayos: espuma; ninhidrina, cloruro férrico, Bornträger, Shinoda, Dragendorff y Fehling. Paralelamente, fueron evaluados los extractos mediante CCD, empleando placas de sílica gel GF254 (0,25 mm; Macherey-Nagel) sobre soporte de aluminio; como fase móvil butanol: ácido acético: agua (65:25:10) utilizando como estándar de referencia una disolución de saponinas de *Quillaja saponaria* (SIGMA-ALDRICH) en solución acuosa. Para el revelado se utilizó luz UV a una longitud de onda de 254 nm; ácido sulfúrico al 50% en metanol y vainillina; y, además, una solución etanólica al 0,2% de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), de SIGMA-ALDRICH.

La cuantificación de saponinas se realizó colorimétricamente, utilizando vainillina y ácido sulfúrico (Hiai *et al.*, 1976) [11]. Se prepararon soluciones acuosas a la concentración de 0,02g/mL, partiendo de los extractos secos acuoso, hidroalcohólico (8:2) e hidroalcohólico (1:1). Las lecturas fueron realizadas por triplicado con ayuda de un espectrofotómetro

UV-visible (SPECTROPHOTOMETER Evolution 201 Thermo Scientific, USA) a la longitud de onda de 440 nm. Los valores resultantes se calcularon a través de una curva de calibración utilizando como patrón saponinas de *Q. saponaria* en concentraciones entre 0,4 y 1,0 mg/mL. El análisis de regresión lineal arrojó la siguiente ecuación:

$$Abs = -0,000714286 + 0,731429 * Conc. \quad (R= 0,9825) \quad (1)$$

Para la determinación de fenoles totales se empleó el método de Folin-Ciocalteu, según la metodología descrita por Campo et al, (2017) [12]. Las disoluciones analizadas fueron las mismas antes preparadas a una concentración de 0,02g/mL. La cuantificación se hizo

mediante una curva de calibración con el patrón ácido gálico (SIGMA-ALDRICH) en concentraciones entre 0,2 y 0,7mg/mL. Las diluciones y las muestras se analizaron por triplicado. El análisis de regresión lineal brindó la ecuación:

$$Abs = 0,0116667 + 1,12071 * Conc. \quad (R= 0,9993) \quad (2)$$

El análisis químico cualitativo para el extracto hidroalcohólico (1:1) se realizó mediante CLAE/EM utilizando un equipo UHPLC (Thermo Scientific, UltiMate 3000) acoplado con un espectrómetro de masas Thermo Scientific LTQ XL. El análisis de la muestra se realizó en una columna Accucore RP-MS C18, de dimensiones (100 x 2,1 mm:2 µm), con un flujo de 0,4 mL/min a 35°C y un volumen de inyección de 2 µL. La fase móvil utilizada fue acetonitrilo y agua ácida (ácido fórmico al 0,1 % en agua), aplicando una elución en gradiente.

100-1000 Da, escaneo de modo dependiente “MS/MS” y mediante “SIM” con iones m/z.

#### Actividad mucolítica

La evaluación preliminar de la actividad mucolítica del extracto hidroalcohólico (1:1) se realizó en el Bioterio clase II, siguiendo el modelo de rojo fenol en secreciones de ratón (Engler y Szelenyi, 1984) [13]. Se pesaron 100 mg del extracto seco y se disolvieron en 5 mL de una mezcla conformada por agua:etanol:tween 80 (90:5:5). Se emplearon 15 ratones entre machos y hembras, reproducidos en el Bioterio de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, con un peso entre 31 g y 52 g. Los animales se mantuvieron en condiciones ambientales, de limpieza y alimentación propias para la especie. El acceso al agua y a la comida fue *ad libitum*. La muestra fue administrada por vía oral utilizando una cánula intragástrica. Se confeccionaron tres grupos los cuales fueron dispuestos en cajas independientes, con un total de cinco animales por cada grupo, debidamente identificados. La distribución de los animales en los grupos se realizó de manera que en cada grupo existieran diferentes pesos y sexos.

La preparación de las muestras se realizó pesando 1 mg de extracto seco en una balanza analítica (RICE LAKE TA series Max/d 220/0,0001 g) y se diluyó en un 1 mL de metanol grado CLAE. El análisis por espectrometría de masas se realizó en modo positivo, optimizando las condiciones (archivo de sintonía), en base a una infusión de una solución de quercetina (15 mg/L). Los parámetros utilizados fueron los siguientes: voltaje de spray 5,00 kV, voltaje capilar 50,00 V, y temperatura del capilar 225 °C. El flujo de atomización constó de un gas principal, gas auxiliar y un gas de barrido (34:5:3), unidades arbitrarias, respectivamente. La muestra se analizó mediante tres modos diferentes: modo “Full Scan” con rangos entre

La descripción de los grupos formados se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1.** Grupos de ensayo empleados en la determinación preliminar del efecto mucolítico.

Grupo	Tratamiento
Control negativo	Rojo fenol, 500 mg/kg, por vía intraperitoneal (0,2 mL/10 g de peso corporal de ratón)
Control positivo (Bisolvon)	25 mg/kg por vía oral (0,156 mL/10 g de peso corporal de ratón) + rojo fenol, 500 mg/kg por vía intraperitoneal (0,2 mL/10 g de peso corporal de ratón)
Extracto hidroalcohólico (1:1)	Extracto, 500 mg/kg por vía oral + rojo fenol, 500 mg/kg por vía intraperitoneal (0,2 mL/10 g de peso corporal de ratón)

Luego de transcurridos 30 minutos desde la administración de los extractos, los animales fueron sacrificados y se procedió a la disección y extracción de la tráquea, la cual se lavó con 1 mL de solución salina fisiológica. A continuación, se añadió 0,1 mL de la solución de NaOH (1M) a cada tubo de ensayo con la muestra. La concentración de rojo fenol fue determinada por espectrofotometría UV/Vis mediante

una curva de calibración de rojo fenol, en un rango de concentraciones de 2 a 6 µg/mL. Para la determinación fue necesario un blanco, compuesto de 1 mL de solución de NaCl (0,9%) y 0,1 mL de NaOH (1 M). Las lecturas se realizaron a una longitud de onda de 560 nm. La curva de calibración obtenida, luego del análisis de regresión lineal, dio como resultado la siguiente ecuación:

$$Abs = 0,01524 * Conc. - 0,027 \quad (R= 0,9984) \quad (3)$$

### Actividad molusquicida

La evaluación de la actividad molusquicida se llevó a cabo en el gasterópodo *Cerithidea validae*. El propósito de este ensayo fue establecer las curvas de concentración del extracto hidroalcohólico de *M. paradisiaca* vs respuesta y la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) a las 96 horas en el caracol *C. validae*. Los ejemplares empleados en el bioensayo fueron colectados manualmente en piscinas de cultivo de camarón infestadas con ese organismo y transportados en fundas plásticas hasta el laboratorio.

A fin de minimizar factores estresantes debidos a la transferencia desde el área de colecta hasta el sitio de confinamiento, los organismos fueron aclimatados durante 48h en acuarios provistos de agua de mar filtrada y aireación continua, sin proporcionar alimento. Se consideraron aclimatados todos aquellos organismos que presentaron actividad normal (movimiento y que se mantengan adheridos a las paredes de los acuarios de aclimatación), los cuales fueron seleccionados para el bioensayo.

El sistema utilizado para la realización del bioensayo fue de tipo estático, de corta duración y sin renovación, teniendo en cuenta las recomendaciones de protocolos internacionales estandarizados para la realización de pruebas ecotoxicológicas (Rodríguez y Esclapés, 1995)

[14].

Fueron consideradas ocho concentraciones experimentales y un grupo testigo sin adición del extracto, con tres réplicas por cada concentración. Las concentraciones ensayadas fueron 1, 2, 4, 8, 17, 33, 67, 133 (µL/L), obtenidas por dilución a partir de una solución al 6,5% del extracto.

En cada cámara experimental (frascos de 400 mL) y para cada concentración, fueron expuestos 10 organismos. Los organismos fueron elegidos y colocados al azar en los recipientes experimentales. La adición de la solución de prueba fue efectuada de manera muy lenta con una agitación suave (para evitar una posible exposición de los organismos a la elevada concentración de la solución madre), garantizando la completa mezcla del compuesto tóxico en el medio y cuidando de no estresar a los organismos expuestos.

El bioensayo fue realizado durante 96 h, efectuando una revisión del comportamiento (movilidad) a las 2, 4, 6 y 12 horas el primer día y posteriormente, cada 24 horas.

Los resultados fueron analizados estadísticamente a través del método Probit mediante el programa estadístico Statgraphics Centurión.

Para obtener la CL<sub>50</sub> con sus límites de confianza al 95% fue aplicado el método Dosis-Respuesta PROBIT (Finney y Tattersfield, 1952) [15]. La relación entre

la dosis y el porcentaje de mortalidad se ajusta más exactamente a una línea recta, cuando las dosis son transformadas a logaritmo (base 10) y los porcentajes de mortalidad a unidades Probit. Las unidades Probit se basan en las frecuencias de la desviación estándar de una curva de distribución normal, en la cual el 50% de frecuencia acumulada es equivalente a 5 unidades

Probit, el 83,13% equivale a 6 unidades Probit y el 2,27% a 3 unidades Probit (Busvine, 1971; Sokal, 1995) [16,17].

### III. RESULTADOS

Los parámetros de control de la calidad evaluados en la materia prima vegetal se presentan en la tabla 2

**Tabla 2.** Análisis físico-químicos de la droga cruda en estudio, pseudotallo de *M. paradisiaca*.

Parámetro	<i>M. paradisiaca</i> Media/desviación estándar
Humedad (%)	5,890 / 0,228
Cenizas totales (%)	16,290 / 0,312
<b>Macrominerales</b>	<b>% peso seco</b>
N	0,850
P	0,600
K	5,810
Ca	2,950
Mg	0,480
<b>Microminerales</b>	<b>ppm (mg/kg peso seco)</b>
Zn	6,900
Cu	5,900
Fe	169,70
Mn	129,80
Na	88,200
<b>Metales pesados</b>	<b>ppm (mg/kg peso seco)</b>
Arsénico	< 0,005
Plomo	< 0,090

Para cada uno de los extractos elaborados (acuoso, hidroalcohólico 8:2 y 1:1) se lograron los siguientes rendimientos de extracción: 4,51 (extracto acuoso); 9,97 (H<sub>2</sub>O:EtOH; 8:2) y 10,12 (H<sub>2</sub>O:EtOH; 1:1).

Los resultados de la cuantificación de saponinas y fenoles totales realizadas en los extractos se muestran en la tabla 3.

**Tabla 3.** Cuantificación de saponinas y fenoles en los extractos acuoso e hidroalcohólicos (EAG= unidades equivalentes de ácido gálico)

Parámetros	Extracto acuoso	Extracto hidroalcohólico (8:2)	Extracto hidroalcohólico (1:1)
Cuantificación de saponinas (g equival entes a <i>Q. saponaria</i> /g de extracto seco) /DE	0,098/0,003 <sup>a</sup>	0,072/0,003 <sup>b</sup>	0,099/0,001 <sup>a</sup>
Cuantificación de fenoles (mg EAG/gramo de extracto seco) /DE	1,890/0,115 <sup>a</sup>	2,584/0,177 <sup>b</sup>	4,343/0,237 <sup>c</sup>

Nota: Letras iguales demuestran que no hay diferencia estadísticamente significativa para un mismo parámetro, según el programa estadístico Statgraphics Plus versión 5.0

de cinco compuestos fenólicos: glucogalina, ácido ferúlico-hexósido, rutina, kaempferol-3-O-rutinósido y isorhamnetina-3-O-rutinósido.

#### Evaluación preliminar del efecto mucolítico

Para la muestra objeto de estudio la concentración

El estudio mediante CLAE/EM sugirió la presencia

de rojo fenol fue de 2,832 µg/mL (DS=0,53), mientras que para el Bisolvon y el control negativo fue de 2,802 µg/mL (DS=0,54) y 1,963 µg/mL (DS=0,41), respectivamente.

**Evaluación del efecto del extracto de *M. paradisiaca* en el gasterópodo *C. valida***

En la figura 1, se muestra la gráfica del modelo ajustado con intervalos de confianza al 95%, método empleado para calcular la dosis media de extracto que provoca la inmovilidad del 50% de los caracoles (CL50).

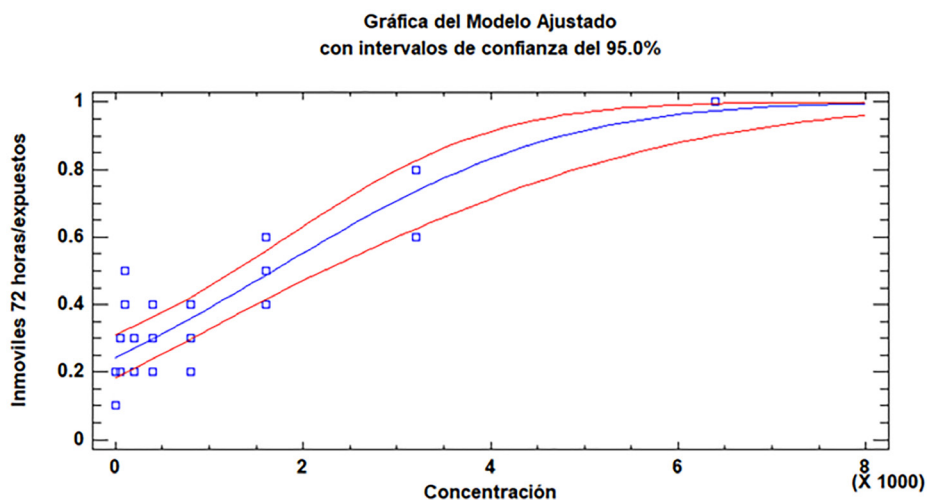


Figura 1. Gráfica del modelo ajustado con intervalos de confianza al 95%

La ecuación del modelo ajustado obtenida fue:

$$Inmóviles\ 72\ \frac{horas}{expuestos} = -0,693332 + 0,000413843 \times Conc. \tag{3}$$

**IV. DISCUSIÓN**

El proceso de secado es una operación de gran importancia dentro de los pasos a seguir para propiciar la conservación de las drogas. En el pseudotallo del banano se refieren altos contenidos de agua, alrededor del 96% (Jayaprabha, *et al.*, 2011) [18], lo cual hace que el tiempo de secado sea mayor, si se compara con otros órganos vegetales como las hojas o flores. Dada la textura, tamaño y contenido de agua del pseudotallo, fue preciso trocearlo para favorecer el aumento de la superficie de contacto y con ello la velocidad y eficacia del proceso de secado.

A la droga cruda molida (pseudotallo de *M. paradisiaca*) se le determinaron solo algunos de los parámetros de control de la calidad, tales como: humedad residual y contenido de cenizas totales (tabla 2).

La humedad recomendable no debe superar el 12% e incluso, en algunos casos, este porcentaje es suficiente para propiciar la actividad enzimática que provoca

la descomposición de la droga. Según los resultados obtenidos la humedad residual lograda cumple con los límites establecidos (Miranda y Cuéllar, 2001) [19].

Las cenizas son los residuos que permanecen en la muestra posterior a la ignición u oxidación completa de la materia orgánica y constituyen un parámetro que brinda información asociada con la presencia de materia inorgánica que, generalmente, no excede el 12% (*Farmacopea Española. Real Farmacopea Española*, 2002) [20]. Las plantas, normalmente, absorben los minerales del suelo a través de las raíces y dicha absorción depende de la capacidad de transporte activo del sistema radicular (Miranda y Cuéllar, 2001) [19]. En el banano la absorción de minerales del suelo sigue el orden K>N>Cl>Ca>Mg>S>P y Mn>Fe>B>Zn>Cu aunque existen diferencias interespecíficas en la exigencia de estos minerales (Hoffman *et al.*, 2010; Acosta y Salinas, 2011;) [21,22].



En este estudio los valores de cenizas totales fueron superiores al valor de referencia antes indicado, lo cual pudiera ser un indicio de la capacidad de acumulación de minerales por parte de las plantas de banano y, también, de las características propias del suelo donde se recolectaron las muestras analizadas. En tal sentido, lo más relevante del análisis de minerales realizado al pseudotallo resultó ser la presencia de altos niveles de hierro y manganeso. Con relación al potasio este fue el macromineral que la planta acumuló en mayor cantidad, lo que coincide con diversos trabajos, en los cuales se plantea que el potasio es requerido en grandes cantidades por las plantas de banano y sus niveles pueden fluctuar en dependencia del estadio fenológico de la planta (Fontaine, et al., 1989; Mostafa, 2005) [23,24].

Considerando que dentro de los elementos inorgánicos pudieran encontrarse metales pesados, se realizó la correspondiente determinación de As y Pb. Se pudo constatar que los niveles de metales pesados investigados no superan los límites permisibles establecidos por la norma NTE INEN 2392:2013 [25].

Niveles elevados de metales pesados en suelos, tales como plomo, arsénico, mercurio, níquel y cadmio, pueden provenir de los residuos de empresas mineras o incluso encontrarse en el agua utilizada para el riego agrícola. Dichos elementos inorgánicos, por la toxicidad que ejercen sobre los diferentes cultivos y su biodisponibilidad, pueden resultar peligrosos a la salud humana (Prieto, et al., 2009; Londoño-Franco *et al.*, 2016) [26,27].

De los tres tipos de extractos (acuoso, hidroalcohólico 8:2 y 1:1) elaborados, resulta evidente que el menstuo hidroalcohólico (1:1) fue el que logró extraer la mayor cantidad de metabolitos de la droga vegetal.

La evaluación química preliminar realizada en los tres extractos, reveló la existencia de saponinas (ensayo de espuma), además de flavonoides (ensayo de Shinoda) y azúcares reductores (reactivo de Fehling). Solo el extracto acuoso exhibió la presencia de aminoácidos (ensayo de ninhidrina). Una investigación desarrollada por Ogofure y Emoghene (2016) [28] reporta la detección de alcaloides, flavonoides, taninos

y esteroides en extractos de etanol y acetona del pseudotallo y tallo de *M. paradisiaca*.

Los estudios de CCD realizados para verificar el resultado obtenido en el tamizaje fitoquímico y, además, analizar comparativamente la complejidad cromatográfica de los tres extractos, evidenció un revelado característico de saponinas y discreta existencia de compuestos con grupos cromóforos conjugados, sobre todo, de alta polaridad, por presentar una coloración más intensa en el punto de aplicación. Adicionalmente, el revelado con DPPH, demostró que existe una discreta actividad antioxidante por secuestro del radical libre DPPH, en aquellas zonas donde se apreció el revelado con la luz ultravioleta a 254 nm, mostrando los extractos hidroalcohólicos una decoloración ligeramente superior a la del extracto acuoso.

La cuantificación de saponinas y fenoles totales realizadas a los extractos se presenta en la tabla 3. Se puede apreciar que la mayor concentración de saponinas se obtuvo en los extractos acuoso e hidroalcohólico (1:1). El análisis de varianza demostró que esas concentraciones no fueron estadísticamente diferentes ( $P > 0,05$ ), sin embargo, el contenido de saponinas obtenido fue estadísticamente diferente ( $P < 0,05$ ) con respecto al extracto 8:2.

El ensayo Folin-Ciocalteu demostró que el disolvente que logró extraer la mayor cantidad de compuestos fenólicos fue el hidroalcohólico (1:1) con un total de 4,343 mg EAG/ por cada gramo de extracto seco obtenido, luego de concentrar el extracto a baja temperatura y vacío. El análisis de varianza logró determinar que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los resultados obtenidos con los tres disolventes, dado que el valor P es menor que 0,05, con un nivel del 95,0% de confianza.

Luego de evaluados los resultados obtenidos, se puede observar que en la medida que se incrementa la concentración de etanol en el menstuo, se incrementa la concentración de compuestos polifenólicos.

Haciendo un análisis integral de los resultados alcanzados hasta este punto, se decidió continuar los estudios químicos y biológicos con el extracto

hidroalcohólico (1:1). Este extracto, aunque mostró similar concentración de saponinas que el extracto acuoso, logró extraer la mayor cantidad de compuestos fenólicos.

Para identificar los compuestos presentes en la muestra se utilizó la CLAE/EM. El estudio cromatográfico sugiere la presencia de cinco compuestos, dos ácidos fenólicos (glucogalina y ácido ferúlico-hexósido) y tres flavonoides glicosidados (rutina, kaempferol-3-O-rutinósido, isorhamnetin-3-O-rutinósido).

Con relación a los compuestos fenólicos se sabe que una de las principales características es que presentan carácter reductor, que potencian la actividad antioxidante; un ejemplo son los ácidos ferúlicos y caféicos (Reyes-Luengas, 2015) [29]. Esta actividad antioxidante es la responsable de prevenir enfermedades, principalmente, de tipo cardiaco e inmunológico (Echavarría, *et al.*, 2009) [30].

Los estudios químicos desarrollados se consideran de gran interés, pues la revisión bibliográfica realizada para dicha investigación no refiere la identificación de tales metabolitos. Adicionalmente, la composición química que se reporta para el pseudotallo de *M. paradisiaca* solo hace alusión a métodos de tamizaje fitoquímico, los cuales se consideran químicamente preliminares (Ortiz, 2018) [31].

#### **Evaluación preliminar del efecto mucolítico**

Los expectorantes son drogas que activan la expulsión del esputo, bien porque aumentan las secreciones traqueo bronquiales para reducir su viscosidad, o porque estimulan el reflejo de la tos (Flórez, 1998) [32]. A las saponinas se les ha atribuido efecto expectorante, debido a la capacidad que poseen de fluidificar las secreciones bronquiales y estimular su expulsión (Bruneton, 1993) [33], lo cual motivo la evaluación de dicho extracto hidroalcohólico (1:1), luego de evidenciar la presencia de tales metabolitos en su composición química.

La dosis ensayada (500 mg/kg de peso del animal) mostró un efecto mucolítico similar al control positivo (Bisolvon). Evidentemente, el ensayo que se presenta es de carácter preliminar, dado que se ensayó una sola

dosis, elevada, buscando solo evidenciar la posible existencia del efecto. Los resultados obtenidos abren una nueva brecha de investigación recomendándose realizar el ensayo con varias dosis, para establecer el efecto dosis-respuesta.

#### **Evaluación del efecto del extracto de *M. paradisiaca* en el gasterópodo *C. valida***

El bioensayo realizado con el gasterópodo *C. valida* para determinar el efecto de la exposición al extracto de *M. paradisiaca* durante 96 horas permitió establecer que durante las primeras 24 horas, a excepción del grupo control, todos los caracoles permanecieron en el fondo del recipiente, resguardándose dentro de su concha y cerrando el opérculo, probablemente a causa de irritabilidad del medio donde fueron confinados. Con el transcurrir del tiempo, los organismos comenzaron a subir por las paredes del recipiente para salir de los frascos, excepto en los recipientes con mayor concentración de extracto en los que permanecieron en el fondo, aparentemente muertos.

Durante el ensayo fue posible observar deposición de heces por parte de los caracoles, de manera tal que a mayor concentración de extracto mayor cantidad de heces. Debido a que las saponinas están asociadas con el efecto laxante, es probable que la exposición a la solución con saponinas haya promovido una estimulación de las mucosas intestinales provocando la evacuación en los organismos ensayados (Luengo, 2008) [34].

Al cabo de las 96 horas fue suspendido el bioensayo y, como medida de precaución, fueron sustituidas las soluciones con las diferentes concentraciones ensayadas, por agua de mar limpia, para verificar la mortalidad efectiva de los caracoles que permanecieron inmóviles. Sin embargo, luego de 30 minutos, todos los caracoles, en todas las concentraciones, recobraron su actividad.

A partir de esos resultados, y aunque no pudo determinarse la actividad molusquicida del extracto ensayado, contrariamente a lo esperado, el extracto parece haber tenido más bien un efecto beneficioso en los caracoles. Por lo tanto, la ausencia de movilidad de los organismos objeto de ensayo, en las mayores concentraciones, permite suponer que ese



comportamiento podría ser el resultado de la adopción de una respuesta de protección ante condiciones, probablemente irritantes del extracto, a dosis altas, que podría ser provocada por algún compuesto químico del extracto que éste contiene. De hecho, el opérculo es un disco córneo (orgánico) o calcáreo adherido a la parte superior del pie del molusco, que encaja perfectamente en la apertura de la concha para cerrarla como mecanismos de protección ante sustancias líquidas nocivas o de los efectos deshidratantes del sol y el aire. Por lo tanto, ante la imposibilidad de establecer efecto letal, se decidió calcular la dosis media de extracto que provoca la inmovilidad del 50% (CL<sub>50</sub>) de los caracoles mediante análisis Probit.

A partir de las predicciones inversas obtenidas del modelo ajustado que indican el valor de concentración al cual el modelo alcanza ciertos porcentajes, se obtuvo el valor correspondiente a p=50% (CL<sub>50</sub>) que resultó igual a 1675,350 con los siguientes intervalos de confianza: 1266,52 ≤ CL<sub>50</sub> ≤ 2209,880.

## V. CONCLUSIONES

El control de calidad realizado a la droga cruda mostró resultados que se encuentran dentro de los límites permisibles. En la cuantificación de materia inorgánica resaltó la presencia de potasio, hierro y manganeso, mientras que los metales pesados, As y Pb, se encontraron dentro de los límites permisibles por las normas ecuatorianas.

El análisis químico de los tres tipos de extractos (acuoso, hidroalcohólico 8:2 y 1:1) sugirió la existencia de saponinas y compuestos fenólicos, entre otros metabolitos; siendo el extracto hidroalcohólico (1:1) el que presentó la mayor cantidad de compuestos fenólicos y de saponinas.

Los estudios biológicos preliminares sugieren, para dicho extracto hidroalcohólico (1:1), un efecto mucolítico similar al control positivo (Bisolvon). Con relación a la actividad molusquicida, aunque no fue posible establecer efecto tóxico del extracto, si se detectó un efecto que provocó la inmovilización de los caracoles y que fue atribuido a un probable mecanismo de resguardo ante la posible acción irritante del extracto.

Con el fin de investigar más afondo el efecto

biológico de las saponinas aquí estudiadas se requiere evaluar otros métodos de extracción, que favorezcan la obtención de mayor cantidad de las saponinas; así como analizar otras técnicas analíticas que permitan su cuantificación con precisión. Esos estudios se encuentran en desarrollo en nuestro laboratorio.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Buedo, P., Giagante, C. (2015). Utilización de plantas medicinales como alternativa a las benzodiazepinas: Revisión Bibliográfica. *Arch. Med. Fam. y Gen.* 12(2), 1–7.

Mioso, R., Toledo, F., Bravo de Laguna, I., Bessonart, M. (2014). Química de Productos Naturales Aplicados a La Acuicultura: Una Revisión Interdisciplinar. *Quim. Nova.* 37(3), 513–20. doi: <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140084>

Meneses, M.M., Agatón, L.L., Gutiérrez, L.F.M., Mendieta, L.E.G., Botero, J.D. (2012). Aprovechamiento industrial de residuos de cosecha y poscosecha del plátano en el departamento de Caldas. *Revista Educación en Ingeniería.* 5(9), 128–39. DOI: <http://dx.doi.org/10.26507/rei.v5n9.14>

Márquez R, (1991). Estudio de ensilaje de hojas de plátano. Trabajo de Diploma Inst Inv Porcina. Cuba, 17 p.

França, X.A.A. Características das carcaças de ovinosalimentados com resíduos da bananicultura (2010). 35f. Monografía (Bacharelado.m Zootecnia) Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros.

Okorondu, S.I., Akujobi, C.O., Nwachukwu, I. N. (2012). Antifungal Properties of *Musa paradisiaca* (Plantain) Peel and Stalk Extracts. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6, 1527–1534. doi: 10.4314/ijbcs.v6i4.12

Onyenekwe, P.C., Okereke, O.E., Owolewa, S.O. (2013). Phytochemical Screening and Effect of *Musa paradisiaca* Stem Extrude on Rat Haematological Parameters. *Curr. Res. J. Biol. Sci.* 5(1), 26–29.

- Apriasari, M.L., & Suhartono, E. (2014). Bioactive compound and antioxidant activity of methanol extract mauli bananas (*Musa sp*) stem. *IJBBB*. 4(2), 110. doi: 10.7763/IJBBB.2014.V4.321
- Amutha, K., Selvakumari, U. (2016). Wound Healing Activity of Methanolic Stem Extract of *Musa paradisiaca* Linn. (Banana) in Wistar Albino Rats. *Int. Wound J.* 13(5), 763–767. doi: 10.1111/iwj.12371.
- Miranda M. M.; Cuéllar A. C. (2000). Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Ciudad Habana. Cuba. Editorial Félix Varela.
- Hiai, S., Oura, H., Nakajima, T. (1976). Color Reaction of Some Saponinins and Saponins with Vanillin and sulfuric Acid. *Planta Med.* 29(2), 116-22. doi: 10.1055/s-0028-1097639
- Campo, M., Ambuludí, D., Cepeda, N., Márquez, I., San Martín, D., & Cuesta, O. (2017). Composición química y actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las partes aéreas de *Minthostachys mollis* Griseb. *Rev. Cubana Farm.* 51(2).
- Engler, H., Szelenyi, I. (1984). Tracheal Phenol Red Secretion, a New Method for Screening Mucosecretolytic Compounds. *J. Pharmacol. Methods.* 11(3), 151-57. doi: https://doi.org/10.1016/0160-5402(84)90033-0
- Rodríguez, J., Esclapés, M. (1995). Protocolos estándares para bioensayos de toxicidad con especies acuáticas. Versión 1.0. Gerencia General de Tecnología. Departamento de Ecología y Ambiente. INTEVEP, PDVSA, Venezuela, 109.
- Finney, D. J., & Tattersfield, F. (1952). *Probit analysis*. Cambridge University Press; Cambridge.
- Busvine, JR. (1971). *Techniques for Testing Insecticides*. 2nd Ed. C.A.B. England.
- Sokal, R. R. (1995). The principles and practice of statistics in biological research. *Biometry*, 451-554.
- Jayaprabha, J.S., Brahmakumar M., & Manilal, V.B. (2011) Banana Pseudostem Characterization and Its fiber property evaluation on physical and bioextraction. *Journal of Natural Fibers*, 8(3), 149-160. doi: 10.1080/15440478.2011.601614
- Miranda, M., Cuéllar, A. (2001). *Farmacognosia y Productos Naturales*. La Habana, Cuba, Editorial Félix Varela.
- Farmacopea Española. Real Farmacopea Española* (2002). Ministerio de Sanidad y Consumo, por mandato de la Ley 25/1990, de 20 de diciembre, del Medicamento: Madrid. España.
- Hoffmann, R. B., Oliveira, F. D., Souza, A. D., Gheyi, H. R., & Souza Júnior, R. D. (2010). Acúmulo de matéria seca e de macronutrientes em cultivares de bananeira irrigada. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32(1), 268-275.
- Acosta, A. M. M., & Salinas, D. G. C. (2011). Dinámica del crecimiento y desarrollo del banano (*Musa AAA Simmonds cvs. Gran Enano y Valery*). *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 64(2), 6055-6064.
- Fontaine, S., Delvaux, B., Dufey, J. Herbillon, A.J. (1989). Potassium exchange behavior in Caribbean volcanic ash soils under banana cultivation. *Plant and Soil.* 120: 283-290. doi: https://doi.org/10.1007/BF02377078
- Mostafa, E. A. M. (2005). Response of Williams banana to different rates of nitrogen and potassium fertilizers. *J. Appl. Sci. Res.*, 1(1), 67-71.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. Hierbas aromáticas. Requisitos. NTE INEN 2392:2013, 2013.
- Prieto, J., Gutiérrez, R., Alma, D., García, P. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Trop. Subtrop. Agroecosystems*. 10, 3-17.

- Londoño-Franco, L.F., Londoño-Muñoz, P.T., & Muñoz-García, F.G. (2016). Los riesgos de los metales pesados en la salud humana y animal. *BSAA*. 14(2), 145-153. doi:10.18684/BSAA(14)145-153
- Ogofure, A.G., Emoghene, A.O. (2016). Evaluation of proximate, phytochemical and antibacterial properties of the pseudostem and hand of plantain (*Musa paradisiaca*). *Niger. J. Agric. Food Environ.* 12 (2), 19–26.
- Reyes-Luengas, A., Salinas-Moreno, Y., Ovando-Cruz, M. E., Arteaga-Garibay, R. I., & Martínez-Peña, M. D. (2015). Análisis de ácidos fenólicos y actividad antioxidante de extractos acuosos de variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con cálices de colores diversos. *Agrociencia*, 49(3), 277-290.
- Echavarría, B., Franco, A., Martínez A. (2009). Evaluación de la actividad antioxidante y la determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de microalgas del caribe colombiano. *Vitae* 16(1), 126-31. doi: <https://doi.org/10.21142/cient.v13i3.385>
- Ortiz, F. (2018). Efecto antibacteriano de la *musa acuminata* (plátano) frente al *enterococcus faecalis* ATCC 29212 - in vitro (tesis de pregrado). Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, Perú
- Flórez J. (1998). Fármacos antitusígenos, mucolíticos, surfactante pulmonar y estimulantes de la respiración. *Farmacología Humana*. 3ra. ed. Barcelona: Masson, SA, 721-30.
- Bruneton, J. (1993). *Farmacognosia. Fitoquímica plantas medicinales*. Zaragoza, España. Acribia, S.A.
- Luengo, M. T. L. (2008). El regaliz: actividad farmacológica, indicaciones y consejos para su uso. *Offarm: farmacia y sociedad*, 27(1), 66-71.