

Estación Experimental de Plantas Medicinales “Dr. Juan Tomás Roig” (CIDEM)

Desinfección química de *Pedilanthus tithymaloides* L. Poit.

Téc. Caridad Carballo Guerra,¹ Lic. Teresita Alfaro López,² Téc. Carlos Alberto Rodríguez Ferradá,³ Téc. Silvino Raúl Ramos Gálvez³ y Lic. Zoe Palazón López⁴

Resumen

En el trabajo se expone un método para la desinfección de material vegetal de *Pedilanthus tithymaloides* L. Poit. (Itamo real). El procedimiento empleado fue el lavado con agua potable y posterior inmersión del material en hipoclorito de sodio al 2 % durante 5 min. El análisis microbiológico mostró que en las muestras desinfectadas el conteo de bacterias, hongos, *E coli* y otras enterobacterias se mantuvo dentro de los límites permisibles. Los indicadores físico-químicos de lavado y desinfección de las muestras se mantuvieron dentro de lo establecido en las normas, tanto a nivel de laboratorio como en el escalado. Se puede concluir que el procedimiento empleado es bueno para evitar la contaminación microbiológica y asegurar la calidad del material vegetal.

Palabras clave: Desinfección química, *Pedilanthus tithymaloides* L. Poit., hipoclorito de sodio.

La especie medicinal *Pedilanthus tithymaloides* L. Poit. comúnmente conocida como Itamo real, pertenece a la familia de las Euforbiáceas. Su acción farmacológica la define como emético, antiherpético y para tratar verrugas.¹

Esta planta puede presentar una alta contaminación de bacterias, hongos y gérmenes patógenos provenientes del suelo y de la manipulación poscosecha, por lo que se hace necesario una descontaminación microbiana para asegurar la calidad de la droga seca desde el punto de vista higiénico-sanitario y así lograr que el producto cumpla con todas las condiciones para ser utilizado por la población (WHO Parm 92. 559.1992. Quality control methods for medicinal plants materials).

Para lograr lo anterior, se emplean métodos de lavado y desinfección físicos y químicos que están aprobados por la OMS.²

En este estudio, el objetivo se centró en la definición de un procedimiento para la desinfección de material vegetal de *P. tithymaloides* que asegure su buena calidad.

Métodos

El material vegetal de *P. tithymaloides* se obtuvo de parcelas experimentales de la Estación Experimental de Plantas Medicinales “Dr. Juan Tomás Roig” de San Antonio de los Baños, provincia La Habana, Cuba, de suelo ferralítico rojo hidratado, en un área donde no se aplica fertilizantes químicos desde hace muchos años.

Para la desinfección química se empleó una solución de hipoclorito de sodio (OCINa) en 3 concentraciones: 0,5 , 1,0 y 2,0 %. Se sometieron a desinfección 3 muestras del material vegetal que se sumergieron en cada una de las soluciones desinfectantes, respectivamente, durante 5 y 10 min.

Para el escalado se seleccionó el tratamiento que a nivel de laboratorio resultó más efectivo, se utilizaron tanques de 100 L de acero inoxidable y 3 réplicas de la droga cruda de 8 kg cada una.

Tanto en el laboratorio como para el escalado, se empleó una muestra testigo sin tratar con la solución desinfectante y otra tratada solamente con agua potable.

En todos los casos, el agua potable y la solución desinfectante en los tanques se cambiaron cada 3 muestras, pues experimentalmente se ha demostrado, por medio de análisis microbiano, que los conteos hasta este número de muestras mantienen los rangos adecuados de desinfección.³

Técnica de desinfección

1. Limpiar y desinfectar previamente el área de trabajo, mesetas y estufa de secado con formol al 1 %, preparar los recipientes (en el laboratorio cubos de 8 L y en el escalado tanques de 100 L), 2 para el lavado con agua potable y 1 con la solución desinfectante. Limpiar los bastidores donde se escurre el material vegetal antes de llevarlo a la estufa a secar.
2. Colectar para cada tratamiento 3 lotes del material vegetal fresco (en el laboratorio de 0,250 kg y 8 kg en el escalado) el mismo día que se procesa.
3. Cortar el material en pedazos pequeños para facilitar el proceso de lavado y desinfección.
4. Lavar directamente el material mediante circulación continua con agua potable y sumergirlo en el primer recipiente con agua potable.
5. Sumergir las muestras en el segundo recipiente con agua potable.
6. Sumergir las muestras en un recipiente que contiene la solución de hipoclorito de sodio con la concentración y tiempo de inmersión señalado para cada tratamiento.
7. Escurrir el material sobre los bastidores.
8. Poner las muestras a secar en la estufa con circulación de aire a una temperatura no mayor de 40° C durante 6 días.
9. Envasar en latas de aluminio o sacos multicapas.
10. Enviar muestras (3 réplicas) para control físico-químico y microbiológico.

En el control físico se determinaron las características organolépticas: color y olor, hojas ennegrecidas, materia orgánica extraña, materia inorgánica extraña. Mediante el análisis químico se determinaron los índices numéricos: humedad, sustancias solubles en agua, sustancias solubles en etanol al 70 %. Los análisis físico-químico se realizaron según la norma NRSP 309. Drogas crudas MINSAP.⁴

Se realizó la identificación de flavonoides antes y después de la desinfección, mediante la reacción específica que desarrolla color (ensayo de Shinoda) y se identificaron los flavonoides mediante cromatografía en capa delgada,⁵ para ello se utilizaron placas preelaboradas de silicagel G-60 de 0,25 mm de espesor, la fase móvil se preparó con una mezcla de N-butanol-ácido acético glacial-agua (fase superior) en la proporción 4:1:5, atomización con tricloruro de aluminio al 5 % en etanol y observación de las placas bajo la luz ultravioleta de 365 nm. Previamente se obtuvieron los extractos de 1 g de droga en 10 mL de metanol, reflujo en baño de agua a 60° C, durante 30 min para todas las variantes en estudio. Se utilizaron como sustancias de referencias soluciones al 0,1% m/v en metanol, de rutina, quercetina y apigenina.

En el análisis microbiológico se determinó el conteo total de microorganismos, determinación de *Escherichia coli*, conteo total de bacterias, conteo total de hongos y otras enterobacterias.

Resultados

En la tabla 1 se aprecia que el testigo sin tratamiento y el testigo tratado con agua potable presentaron determinada contaminación microbiana, ya que los niveles de otras enterobacterias eran elevados, mientras que en las muestras desinfectadas este conteo se

eliminó completamente.

Tabla 1. Resultados del conteo microbiológico de lavado y desinfección de *P. tithymaloides* a nivel de laboratorio

Muestra	CB (ufc/g)	CH (ufc/g)	<i>E.coli</i> (ufc/g)	OE (ufc/g)	mo aislados	Decisión
Testigo sin tratar	$1,6 \cdot 10^7$	$4,8 \cdot 10^5$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>Citrobacter</i>	NC
Testigo lavado con agua potable	$1,3 \cdot 10^7$	$8,5 \cdot 10^4$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>Citrobacter</i> <i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>Aspergillus</i>	NC
Muestra desinfección	$3,0 \cdot 10^6$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>Citrobacter</i>	NC
(0,5 % y 5 min)	$8,2 \cdot 10^6$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>E. coli</i>	
	$8,0 \cdot 10^6$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>S. aureus</i>	
Muestra desinfección	$2,8 \cdot 10^7$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>Citrobacter</i>	NC
(0,5 % y 10 min)	$8,0 \cdot 10^4$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>E. coli</i>	
	$9,5 \cdot 10^5$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>Klebsiella</i>	
Muestra desinfección	$8,5 \cdot 10^5$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>E. aerogenes</i>	NC
(1 % y 5 min)	$2,0 \cdot 10^4$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>E. coli</i>	
	$2,0 \cdot 10^4$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>Klebsiella</i>	
Muestra desinfección	$5,5 \cdot 10^7$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>E. coli.</i>	NC
(1 % y 10 min)	$2,0 \cdot 10^6$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>Citrobacter</i>	
	$2,0 \cdot 10^6$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$		
Muestra desinfección	$2,2 \cdot 10^5$	$< 10^3$	$< 10^2$	$< 10^4$	<i>E. cloacae.</i>	C
(2 % y 5 min)	$3,0 \cdot 10^5$	$< 10^3$	$< 10^2$	$< 10^4$		
	$2,0 \cdot 10^4$	$< 10^3$	$< 10^2$	$< 10^4$		

Límites:

CB: conteo total de bacterias; CH: conteo total de hongos; OE: otras enterobacterias; mo: microorganismos; NC: no cumple; C: cumple

Límites permisibles

CB: máximo 10^7 ufc/g; CH: máximo 10^3 ufc/g; *E. coli*: máximo 10^2 ufc/g; OE: máximo 10^4 ufc/g; No *P. Aeruginosa*; No *Salmonella*; No *S. aureus*

En la tabla 2, se observa que los resultados entre las 3 muestras fueron similares a los obtenidos a nivel de laboratorio con la concentración de 0,5 % y tiempo de inmersión 5 min.

Tabla 2. Resultados del conteo microbiológico de lavado y desinfección de *P. tithymaloides* a nivel de escalado

Muestra	CB (ufc/g)	CH (ufc/g)	<i>E. coli</i> (ufc/g)	OE (ufc/g)	mo aislados	Decisión
Testigo sin tratar	$2,9 \cdot 10^6$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>Klebsiella</i> <i>E. coli</i>	NC
Testigo lavado con agua potable	$2,0 \cdot 10^5$	$< 10^3$	$> 10^2$	$> 10^4$	<i>Klebsiella</i> <i>E. coli</i>	NC
Muestra desinfección (2 % y 5 min)	$2,0 \cdot 10^5$	$< 10^3$	$< 10^2$	$< 10^4$	<i>E. cloacae</i>	C
Muestra desinfección (2 % y 5 min)	$2,0 \cdot 10^5$	$< 10^3$	$< 10^2$	$< 10^4$	<i>E. cloacae</i>	C
	$3,2 \cdot 10^4$	$< 10^3$	$< 10^2$	$< 10^4$		
	$3,1 \cdot 10^4$	$< 10^3$	$< 10^2$	$< 10^4$		
Muestra desinfección (2 % y 5 min)	$2,2 \cdot 10^5$	$< 10^3$	$< 10^2$	$< 10^4$	<i>E. cloacae</i>	C
	$2,2 \cdot 10^5$	$< 10^3$	$< 10^2$	$< 10^4$		
	$2,0 \cdot 10^5$	$< 10^3$	$< 10^2$	$< 10^4$		

Límites:

CB: conteo total de bacterias; CH: conteo total de hongos; OE: otras enterobacterias; mo: microorganismos; NC: no cumple; C: cumple

Límites permisibles:

CB: máximo 10^7 ufc/g; CH: máximo 10^3 ufc/g; *E. coli*: máximo 10^2 ufc/g; OE: máximo 10^4 ufc/g; No *Salmonella*; No *P. aeruginosa*

En las tablas 3 y 4 se aprecia que los indicadores de humedad, sustancias solubles en etanol al 70 %, sustancias solubles en agua y cenizas totales cumplieron con lo establecido en la norma tanto a nivel de laboratorio como en el escalado.

Tabla 3. Indicadores físico-químicos de lavado y desinfección de las muestras de *P. tithymaloides* a nivel de laboratorio

Análisis físico					
Indicadores	Norma (%)	Muestra sin tratar	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Materia orgánica extraña	Máx. 1 %	0,2	0,1	0,1	0,1

Materia inorgánica extraña	Máx. 1 %	0,1	0,0	0,1	0,1
Hojas ennegrecidas	Máx. 2 %	0,0	0,0	0,0	0,0
Análisis químico					
Humedad	Máx. 13 %	9,34	9,25	9,21	9,04
Cenizas totales	Máx. 20 %	20,03	20,45	20,69	20,60
Sustancias solubles en agua	Mín. 20 %	33,59	31,79	31,77	31,34
Sustancias solubles en etanol al 70 %	Mín. 15 %	20,0	23,51	23,12	23,05
Características organolépticas					
Color		Verde	Verde grisáceo	Verde grisáceo	Verde grisáceo
Olor		Característico	Característico	Característico	Característico

Tabla 4. Indicadores físico-químicos de lavado y desinfección de las muestras de *P. tithymaloides* a nivel de escalado

Análisis químico					
Indicadores	Norma (%)	Muestra sin tratar	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Humedad	Máx. 13 %	9,34	9,45	9,35	9,44
Cenizas totales	Máx. 20 %	20,03	20,96	20,96	20,99
Sustancias solubles en agua	Mín. 20 %	33,59	31,29	31,20	31,02
Sustancias solubles en etanol al 70 %	Mín. 15 %	20,00	23,12	23,50	22,98
Características organolépticas					
Color		Verde	Verde grisáceo	Verde grisáceo	Verde grisáceo
Olor		Característico	Característico	Característico	Característico

El ensayo de Shinoda resultó positivo en todas las muestras analizadas. El estudio cromatográfico mostró un cromatograma con 5 bandas fundamentales, tanto en las muestras tratadas como en los testigos.

1. banda No. 1. intervalo de R_f (0,48 - 0,51) – color pardo
2. banda No. 2. intervalo de R_f (0,55 - 0,59) – color azul claro
3. banda No. 3. intervalo de R_f (0,76 - 0,80) – color pardo
4. banda No. 4. intervalo de R_f (0,81 - 0,84) – color pardo
5. banda No. 5. intervalo de R_f (0,90 - 0,93) – color azul claro

Discusión

Los resultados del conteo microbiológico a nivel de laboratorio de las muestras y testigo, indicaron que las concentraciones de bacterias, *E. coli* y otras enterobacterias se encontraban fuera de límite, por ello fue necesario aplicar una solución desinfectante químico como el OClNa para lograr una buena descontaminación.

La solución desinfectante probada en concentraciones de 0,5 y 1,0 % con inmersión de la muestra durante 5 y 10 min, resultaron condiciones efectivas para las bacterias y hongos y poco favorable para los microorganismos como la *E. coli*, por lo que se probó la concentración más elevada, 2 % con un tiempo de inmersión de 5 y 10 min. Con sólo 5 min se eliminó la carga microbiana y se cumplió con los límites permisibles (United States Pharmacopelal Convention INC. January, USP 23, 1995; Pag:1681. Límites microbiológicos).

La combinación de solución desinfectante al 2 % y tiempo de inmersión de 5 min., resultó favorable también para las pruebas a nivel de escalado.

Teniendo en cuenta que las muestras se pasaron por la misma solución de hipoclorito, indica que el desinfectante se puede utilizar 3 veces sin cambiarlo.

Los indicadores físico-químico de lavado y desinfección, a nivel de laboratorio y a nivel de escalado, cumplieron con lo establecido para ambos casos (Norma de Empresa. Medicamentos de Origen Vegetal. Hierba de Itamo real. Especificaciones).

El ensayo de Shinoda y el perfil cromatográfico demostraron que la presencia de flavonoides no se modificó al aplicar los tratamientos con el desinfectante ensayado.

Finalmente se puede concluir que el procedimiento empleado es bueno para evitar la contaminación microbiológica y asegurar la calidad del material vegetal.

Summary

Chemical disinfection of *Pedilanthus tithymaloides* L. Poit.

The paper presents a disinfecting method of vegetable material from *Pedilanthus tithymaloides* L. Poit (Itamo real). The procedure consists of washing of material with drinking water and further immersion into 2 % sodium hypochlorite for five minutes. The microbiological analysis showed that the bacterial, fungi, *E.coli* and other enterobacteria count was kept within allowable limits. Physical and chemical indicators of washing and disinfection of the samples were kept within the values set by the standards, both at lab and scaling level. It may be concluded that the explained procedure is convenient to prevent microbiological contamination and assure the vegetable material quality.

Key words: Chemical disinfection, *Pedilanthus tithymaloides* L. Poit., sodium hypochlorite.

Referencias bibliográficas

1. Cuba. Ministerio de Salud Pública. Plantas Medicinales. FITOMED III. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1994. p. 34.
2. Pautas para la evaluación de los medicamentos destinados al hombre. Ginebra: OMS; 1975 (Series de informes técnicos 563).
3. Carballo C, Alfaro T, Palazón Z, Ramos SR. Desinfección química de plantas medicinales II. *Plantago lanceolata* L. Rev Cubana Plant Med. 2002;7(3).
4. Cuba. Ministerio de Salud Pública. NRSP- 309. Drogas crudas. Normas Ramales. Medicamentos de origen vegetal. La Habana:MINSAP; 1992.
5. Stahl E. Thin layer Chromatography. 2nd ed. Berlin: Springe-Verlag; 1969. p. 104.

Recibido: 21 de julio de 2004. Aprobado: 22 de julio de 2005.

Téc. *Caridad Carballo Guerra*. Estación Experimental de Plantas Medicinales “Dr. Juan Tomás Roig”. (CIDEM). San Antonio de los Baños. Provincia La Habana, Cuba.

¹ Técnico Medio en Tecnología Farmacéutica.

² Licenciada en Microbiología. Especialista Principal en Control de Medicamentos.

³ Técnico Medio en Agronomía.

⁴ Licenciada en Microbiología. Especialista A en Control de Medicamentos.