

Control de calidad de drogas vegetales: lavado y desinfección de *Artemisia annua* L. y *Tagetes lucida* Cav.

Quality control of vegetable drugs: washing and disinfection of *Artemisia annua* L. and *Tagetes lucida* Cav.

Dra. C. Lérica Acosta de la Luz, Téc. Caridad Carballo Guerra, Téc. Raúl Ramos

Laboratorio Central de Farmacología, Facultad de Ciencias Médicas «Dr. Salvador Allende», Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: utilizar el lavado y desinfección química como método que permita disminuir la contaminación microbiana en el material vegetal cosechado de *Artemisia annua* L. y *Tagetes lucida* Cav.

Objetivos: garantizar la calidad microbiológica de las drogas vegetales obtenidas de estas 2 especies medicinales.

Métodos: se utilizó material vegetal procedente de las parcelas establecidas en la Estación Experimental de Plantas Medicinales «Dr. Juan Tomás Roig», en suelo ferralítico rojo hidratado (ferralsols). Se emplearon 2 testigos, uno sin tratar y otro tratado con agua potable; para las pruebas a nivel de laboratorio las muestras de 300 g en *A. annua* y de 250 g de *T. lucida* fueron lavadas con agua potable y después sometidas a un proceso de desinfección en una solución de hipoclorito de sodio 0,5 % y 1,0 %, sumergidas durante 5 y 10 min en ambos casos; para las pruebas de escalado se seleccionó el tratamiento químico que a nivel de laboratorio resultó más efectivo, se emplearon 3 réplicas de la droga cruda de 10 kg en el caso de *A. annua* y de 6 kg en *T. lucida*, con posterioridad las muestras se escurren sobre bastidores y después pasan a un proceso de secado en estufa de 35 a 40 °C durante 2 d. Luego de secadas se realizan los correspondientes análisis microbiológico y físico-químico. En el primer caso se determinó el conteo total de bacterias, conteo total de hongos y otras enterobacterias, además de microorganismos aislados. En el control físico- químico, los porcentajes de materia orgánica extraña; materia inorgánica extraña y hojas ennegrecidas; los índices numéricos como humedad, cenizas totales, sustancias solubles en agua, sustancias

solubles en etanol 30 %, sustancias solubles en etanol 70 %, así como mediante tamizaje fitoquímico, la presencia de metabolitos secundarios.

Resultados: las muestras lavadas con agua potable presentaron en ambas especies alta contaminación, lo que justificó el empleo de la desinfección química. El conteo microbiológico realizado tanto en las pruebas de laboratorio como en el escalado demostró que la carga microbiana disminuyó hasta niveles permisibles en *A. annua* cuando se utiliza una solución de hipoclorito de sodio 0,5 % durante 5 min y en *T. lucida* con igual solución, pero sumergidas por 10 min sin que se presentara afectación en la calidad físico-química de las drogas vegetales.

Conclusiones: la concentración y el tiempo de inmersión probados resultaron adecuados para el control microbiológico del material vegetal de las dos plantas.

Palabras clave: *Artemisia annua*, *Tagetes lucida*, calidad microbiológica, descontaminación del material vegetal, desinfección química de drogas vegetales.

ABSTRACT

Introduction: the use of washing and chemical disinfection as a method allows reducing microbial pollution in the harvested vegetal material of *Artemisia annua* L. and *Tagetes lucida* Cav.

Objectives: to assure the microbiological quality of vegetal drugs from these two medicinal species.

Methods: there was used some vegetal material from lots on red hydrated ferralitic soils (*ferrasols*) located in «Dr Juan Tomás Roig» Experimental Center of Medicinal Plants. Two controls, one treated with drinking water and the other untreated, were used. For lab tests, the 300g *A. annua* and 250g *T. lucida* samples were washed with drinking water and then were subjected to disinfection process using 0.5 and 1.0% sodium hypochloride in which both samples were submerged for 5 and 10 minutes. The most effective chemical treatment at lab was selected for the scaling test of three replicas of the crude drug from 10 kg of *A. annua* and from 6 kg *T. lucida* respectively. The samples were placed upon frames to be dried later at 35 to 40 °C for 2 hours. After drying, the corresponding microbiological and physical-chemical analyses were performed. The microbiological analysis determined the total count of bacteria, of fungi and other enterobacteria in addition to isolated microorganisms. The physical and chemical analysis estimated the percentages of foreign organic matter, foreign inorganic matter and blackened leaves; and the indexes of humidity, total ashes, soluble substances in water, soluble substances in 30% etanol and soluble substances in 70% etanol. On the other hand, the phytochemical screening determined the presence of secondary metabolites.

Results: the samples washed into drinking water were highly polluted in both species, which supported the use of chemical disinfection. The microbiological count both in lab tests and in the scaling showed that the microbial load lowered up to allowable limits in *A. annua* when submerged into 0.5% sodium hypochlorite for 5 minutes, and in *T. lucida* when submerged for 10 minutes in the same solution. The physical and chemical quality of both vegetal drugs remained unchanged.

Conclusions: the concentration and time of submersion under test proved to be adequate for the microbiological control of the vegetal material of both plants.

Key words: *Artemisia annua*, *Tagetes lucida*, microbiological quality, decontamination of vegetal material, chemical disinfection of vegetal drug.

INTRODUCCIÓN

El control de calidad de las drogas vegetales incluye la determinación de la contaminación microbiológica presente; para su disminución se han desarrollado métodos de lavado y desinfección físico-químicos aprobados por la Organización Mundial de la Salud (OMS).¹ En este caso se utilizó el método de lavado y desinfección química para la descontaminación del material vegetal cosechado de las especies *Artemisia annua* L. y *Tagetes lucida* Cav.

Artemisia annua L. se destaca por su importancia como fuente de nuevas y efectivas drogas antimaláricas, el empleo de su follaje es conocido en la medicina natural tradicional china; a la artemisinina, su principal principio activo, se le adjudica la actividad antipalúdica. También su aceite esencial es de interés terapéutico como antimicrobiano y antiinflamatorio, además de tener efecto contra el asma y el catarro.² *Tagetes lucida* Cav., conocida popularmente en algunas regiones del país como anisillo y en su lugar de origen como pericón, hierba de San Juan, entre otros nombres comunes, es apreciada por sus propiedades antiespasmódica, antidiarreica, antiinflamatoria, digestiva y sedante, entre otras; sus flores y hojas se usan en infusión para el tratamiento de esas afecciones.³

Por lo antes expuesto, resulta de interés conocer si para garantizar en estas especies la obtención de una droga vegetal libre de microorganismos patógenos perjudiciales al hombre se requiere someter este material a un proceso de lavado y desinfección, para lo cual se utilizó como tratamiento químico el hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones y tiempos de inmersión, porque el cloro libre presente en la solución posee acción antimicrobiana, eficaz para un amplio espectro de bacterias y hongos, método aprobado por la OMS.²

MÉTODOS

El material vegetal (partes aéreas) de ambas especies se obtuvo de las parcelas experimentales establecidas en suelo ferralítico rojo hidratado (ferralsols) en la Estación Experimental de Plantas Medicinales «Dr. Juan Tomás Roig», provincia Artemisa, Cuba.

Se utilizaron 2 testigos, uno sin tratar y otro tratado con agua potable; en las pruebas de lavado, las muestras se lavaron con agua potable y en las de desinfección química, 3 muestras con 3 réplicas cada una, además de lavadas con agua potable se sometieron a un proceso de desinfección en una solución de hipoclorito de sodio 0,5 % y 1 %, sumergiéndolas durante 5 y 10 min en ambas soluciones del hipoclorito.

En todos los casos el agua potable y la solución desinfectante se usan para 3 muestras, porque se ha demostrado experimentalmente por medio de análisis microbiano, que los conteos hasta ese número de muestras se encuentran dentro de los límites permisibles.⁴

La técnica de desinfección empleada fue la siguiente: se limpiaron y desinfectaron con formol 1 % el área de trabajo, las mesetas, los bastidores para el escurrimiento y la estufa de secado; se prepararon los recipientes (para las pruebas de laboratorio, cubos de 8 L y para el escalado, tanques de 100 L). Se utilizó para

cada tratamiento 3 lotes del material vegetal fresco, en las pruebas de laboratorio de 300 g para *A. annua* y de 250 g en *T. lucida*, en tanto que para el escalado fue de 10 kg y 6 kg, respectivamente. El material se cortó en pedazos pequeños para facilitar el proceso de lavado y la desinfección.

Las muestras se lavaron con agua potable, primero mediante circulación continua, después se sumergieron en un tanque que también contenía agua potable y con posterioridad en el que contenía la solución de hipoclorito de sodio con la concentración y el tiempo de inmersión señalado para cada tratamiento.

Cada una de las muestras, para su oreo, se puso a escurrir sobre los bastidores antes del proceso de secado para lo que se emplearon estufas de aire recirculado; se colocó el material a unos 35-40 °C durante 2 d, a continuación se trituró y posteriormente las muestras se envasaron en sobres de polietileno, se sellaron y se enviaron para el control microbiológico y físico-químico.

En el análisis microbiológico se determinó el conteo total de bacterias, conteo total de hongos y microorganismos aislados; se realizó mediante lo establecido en la Farmacopea USP 27.⁵

En el control físico-químico se determinaron los porcentajes de materia orgánica extraña, materia inorgánica extraña y hojas ennegrecidas, los índices numéricos: humedad, cenizas totales, sustancias solubles en agua, sustancias solubles en etanol 30 %, sustancias solubles en etanol 70 %; estos controles se realizaron por la norma NRSP 309. Drogas crudas Ministerio de Salud Pública.⁶ Además se determinó mediante tamizaje fitoquímico la presencia de metabolitos secundarios.

RESULTADOS

Se observó en las muestras testigos de ambas especies, tanto las no lavadas, como las lavadas con agua potable, que el conteo total de bacterias y de microorganismos aislados sobrepasaron los límites permisibles, por lo que fue necesario el empleo del desinfectante químico para la descontaminación del material vegetal.

El conteo microbiológico realizado a las muestras testigos a nivel de laboratorio mostró que aunque no presentaron alta contaminación por hongos, el conteo total de bacterias, así como de algunos microorganismos aislados (*Staphylococcus aureus* y *Pseudomona. aeruginosa*) fue superior a los límites permisibles, en tanto que la carga microbiana disminuyó a valores por debajo de los límites permisibles cuando las muestras se desinfectaron con hipoclorito 0,5 % y 5 min de inmersión en el caso de *A. annua*, mientras que en *T. lucida* se logró con la misma concentración (hipoclorito 0,5 %), pero empleando un tiempo de inmersión mayor, 10 min. Los resultados a nivel de escalado, corroboraron lo obtenido a nivel de laboratorio (tablas 1 y 2).

Tabla 1. Resultados del conteo microbiológico de las muestras de *Artemisia annua* lavadas y desinfectadas a nivel de laboratorio y de escalado

Muestras	Conteo total de bacterias (ufc/g)	Conteo total de hongos (ufc/g)	Microorganismos aislados	Decisión
Testigo sin tratar	10 ⁶	< 10	Bacilos gramnegativos: (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>)	NC
Testigo lavado con agua potable	10 ⁶	< 10	Bacilos gramnegativos: (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>)	NC
Laboratorio. Desinfección (0,5 % y 5 min). Promedio de 3 valores	10 ³	<10	<i>Bacillus</i> sp.	C
Escalado. Desinfección (0,5 % y 10 min). Promedio de 3 valores	10 ³	< 10	0	C
Límites permisibles				
	máximo 10 ⁵ ufc/g	máximo 10 ³ ufc/g	No presencia de Salmonella, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>	NC: no cumple, C: cumple

Tabla 2. Resultados del conteo microbiológico de las muestras de *Tagetes lucida* lavadas y desinfectadas a nivel de laboratorio y de escalado

Muestras	Conteo total de bacterias (ufc/g)	Conteo total de hongos (ufc/g)	Microorganismos aislados	Decisión
Testigo sin tratar	10 ⁶	< 10	Coccus grampositivo, Micrococcus sp. Bacilos gramnegativos: <i>Serratia</i> sp., <i>E. coli</i>	NC
Testigo lavado con agua potable	10 ⁶	< 10	Bacillus grampositivo <i>Bacillus</i> sp. Bacilos gramnegativos: (<i>Proteus</i> , <i>E. coli</i>)	NC
Laboratorio Desinfección (0,5 % y 5 min)	10 ⁶	<10	Bacillus grampositivo, <i>Bacillus</i> sp. Bacilos gramnegativos: (<i>Klebsiella</i> sp.)	NC
Laboratorio Desinfección (0,5 % y 10 min)	10 ⁴	< 10	<i>Bacillus</i> sp.	C
Escalado Desinfección (0,5 % y 10 min)	10 ²	< 10	-	C
Límites permisibles				
	máximo 10 ⁵ ufc/g	máximo 10 ³ ufc/g	No presencia de Salmonella, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>	NC: no cumple, C: cumple

Los valores de los análisis físico-químicos de las muestras testigos y de las tratadas con la solución desinfectante a nivel de laboratorio y a nivel de escalado se exponen en las tablas 3 y 4.

En el tamizaje fitoquímico se evidenció en el material vegetal procedente de *A. annua* la presencia de azúcares reductores, flavonoides, alcaloides, triterpenos y esteroides, fenoles y taninos, tanto en las muestras testigos como en las que fueron sometidas al proceso de lavado y desinfección; mientras que en *T. lucida* además de estos compuestos se determinó la presencia de aceite esencial.

Tabla 3. Parámetros físico-químicos de las muestras de *Artemisia annua* lavadas y desinfectadas

Parámetros	Muestras tratadas		
	Muestra sin tratar (%)	Laboratorio (%)	Escalado (%)
Análisis químico			
Humedad	9,77	9,73	10,0
Sustancias solubles en agua	20,59	24,63	24,69
Sustancias solubles en etanol 30 %	26,91	27,46	27,09
Sustancias solubles en etanol 70 %	20,16	21,69	22,26
Cenizas totales	7,48	11,45	11,24
Análisis físico			
Materia orgánica extraña	0,2	0,1	0,0
Materia inorgánica extraña	0,3	0,2	0,1
Hojas ennegrecidas	0,4	0,2	0,3

Tabla 4. Parámetros físico-químicos de las muestras de *Tagetes lucida* lavadas y desinfectadas

Parámetros	Muestras tratadas		
	Muestra sin tratar (%)	Laboratorio (%)	Escalado (%)
Análisis químico			
Humedad	4,0	10,0	12,0
Sustancias solubles en agua	29,88	28,95	29,34
Sustancias solubles en etanol 30 %	27,40	29,05	30,12
Sustancias solubles en etanol 70 %	26,44	20,14	20,94
Cenizas totales	11,47	14,67	14,54
Aceite esencial	0,86	0,83	0,82
Análisis físico			
Materia orgánica extraña	0,2	0,0	0,0
Materia inorgánica extraña	0,3	0,1	0,1
Hojas ennegrecidas	0,2	0,3	0,2

DISCUSIÓN

Los análisis microbiológicos a las muestras testigos demostraron la contaminación que presentaban las drogas vegetales y cómo después del proceso de lavado y nivel de desinfección empleado esta disminuyó hasta niveles permisibles.

En los resultados de los análisis físico-químicos se pudo observar que los valores resultaron muy similares a los estimados en el estudio sobre la caracterización farmacognóstica realizada a estas 2 especies, donde se brinda la información necesaria que proporcione establecer las especificaciones de calidad de ambas plantas, por lo que se puede considerar que no hubo afectación en los parámetros de calidad evaluados al estar dentro de los rangos permisibles (Sánchez Ester. Caracterización farmacognóstica de *Artemisia annua* L. Informe final de Tarea. Estación Experimental de Plantas Medicinales, CIDEM, nov/2009. Caracterización farmacognóstica de *Tagetes lucida* Cav. Informe final de Tarea. Estación Experimental de Plantas Medicinales, CIDEM, marzo/2010. En Archivo).

Del estudio llevado a cabo se puede concluir que se obtuvo el tratamiento adecuado para la descontaminación microbiana de estas especies, mediante el proceso de lavado y desinfección química del material vegetal empleando una solución de hipoclorito de sodio 0,5 % y 5 min de inmersión en *A. annua*; para *T. lucida* la misma concentración de hipoclorito de sodio pero utilizando 10 min de inmersión, sin que se produjera afectación en los parámetros de calidad de ambas drogas vegetales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Pautas para la evaluación de los medicamentos destinados al hombre.. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 1975. (Series de Informes Técnicos 563)
2. Willcox M, Bodeker G, Bordy G, Dhingra V, Folquet J, Ferreira JFS, et. al. *Artemisia annua* as a traditional herbal antimalarial. En: Willcox M, Bodeker G, Rasoanaivo P, editors. Traditional Medicinal Plants and Malaria. Londres: CRC PRESS; 2004.
3. Martínez JV, Cáceres A. Agrotecnología para el cultivo del pericón o hierba de San Juan. En: Martínez JV, Yesid Bernal H, Cáceres A, editores. Fundamentos de Agrotecnología de Cultivo de Plantas Medicinales Iberoamericanas. Santafé de Bogotá, Colombia: Convenio Andrés Bello y Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo; 2002. p. 451-62.
4. Carballo C, Alfaro T, Palazón Z, Ramos SR. Desinfección química de plantas medicinales II. *Plantago lanceolata* L. Rev Cubana Plant Med. 2002;7(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962002000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
5. United States Pharmacopoeia Convention. United States Pharmacopoeia XXVII and National Formulary 22st. USP XXVII [CDROM]. Rockville: Mack Printing; 2006.
6. MINSAP. Medicamentos de origen vegetal. Drogas secas. Métodos de ensayo. La Habana: Ed. Ciencias Médicas; 1992. p. 72.

Recibido: 20 de junio de 2011.

Aprobado: 31 de octubre de 2011.

Lérida Acosta de la Luz. Laboratorio Central de Farmacología, Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Salvador Allende", Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: lerida@infomed.sld.cu