



IDENTIFICACIÓN DE SAPONINAS ESTEROIDALES DE *Agave lechuguilla* TORREY Y SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA



Luis Alberto Anguiano-Sevilla¹, Eugenia del Carmen Lugo-Cervantes², María Eugenia Jaramillo-Flores¹

¹Departamento de Alimentos. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Av. Wilfrido Maseau Esq. Cda. Miguel Stampa S/N Col. Unidad Profesional López Mateos 07738 Delegación Gustavo A Madero, Ciudad de México. México. Contacto: jaramillo-flores@hotmail.com , luis.alberto.anguiano@gmail.com

²Tecnología Alimentaria. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C, Camino Arenero 1227 Col. El Bajío del Arenal 45019 Zapopan, Jalisco. México. Contacto: elugo@ciatej.mx



Introducción



El Agave lechuguilla Torrey es un arbusto pequeño que tiene de 11 a 30 hojas dispuestas en roseta y estas se forman a partir de una yema apical denominada cogollo. Las angiospermas monocotiledóneas como lo es la lechuguilla presentan saponinas esteroidales (C27), de superficie activa no volátil y de características anfífilas, que actúan como barrera química para contrarrestar agentes patógenos, herbívoros o depredación por insectos[1]. Particularmente las saponinas esteroidales se clasifican en dos subgrupos principales: saponinas espiroestanol con un sistema de hexacíclico y saponinas furanoestanol con un esqueleto con el anillo F abierto[2]. La *Listeria monocytogenes* es un patógeno causante de infecciones alimentarias más violentos. Es un Gram (+) y anaerobio facultativo capaz de proliferar en un amplio rango de temperaturas (1 a 45 °C). Es un contaminante frecuente de los productos alimentarios[3].

Fueron determinadas 9 saponinas esteroidales con m/z de 415.24 hasta 431.22 (Tabla 01). La espectrometría permitió determinar el orden de los carbohidratos de las gliconas, en donde se muestran glicósidos que van desde 3 hasta 5 unidades de monosacáridos, mostrando presencia de hexosas y pentosas <

Tabla 01. Iones de saponinas esteroidales.

| Tiempo [min] | Aglicona [M+H] | Iones [m/z] | Glicona |
|--------------|--|--|---|
| 0.84 | 417.25 | 1197.08, 1065.11, 903.15, 741.19, 579.22 | 780.75 |
| | C ₂₇ H ₄₄ O ₃ | | C ₂₉ H ₄₈ O ₂₄ |
| 0.91 | 417.25 | 1197.08, 1035.13, 903.15, 579.22 | 780.75 |
| | C ₂₇ H ₄₄ O ₃ | | C ₂₉ H ₄₈ O ₂₄ |
| 3.82 | 415.24 | 1073.07, 911.11, 617.19, 577.21 | 617.83 |
| | C ₂₇ H ₄₂ O ₃ | | C ₂₃ H ₃₈ O ₁₉ |
| 4.00 | 431.22 | 1071.09, 939.10, 593.20 | 617.87 |
| | C ₂₇ H ₄₂ O ₄ | | C ₂₃ H ₃₈ O ₁₉ |
| 4.56 | 417.26 | 1057.09, 925.13, 741.19, 579.22 | 617.83 |
| | C ₂₇ H ₄₄ O ₃ | | C ₂₃ H ₃₈ O ₁₉ |
| 4.65 | 417.26 | 1057.07, 895.13, 711.20, 579.22 | 617.83 |
| | C ₂₇ H ₄₄ O ₃ | | C ₂₃ H ₃₈ O ₁₉ |
| 4.80 | 417.26 | 1187.04, 1055.08, 763.15, 579.22 | 749.78 |
| | C ₂₇ H ₄₄ O ₃ | | C ₂₈ H ₄₆ O ₂₃ |
| 4.87 | 415.24 | 1187.04, 1055.08, 923.10, 739.22, 577.21 | 749.80 |
| | C ₂₇ H ₄₂ O ₃ | | C ₂₈ H ₄₆ O ₂₃ |
| 5.14 | 417.26 | 895.13, 763.15, 579.22 | 455.87 |
| | C ₂₇ H ₄₄ O ₃ | | C ₁₇ H ₂₈ O ₁₄ |

Se determino la presencia de hecogenina con una m/z de 431.22 [M+H]⁺, se observa el espectro de masas en la Figura 02.

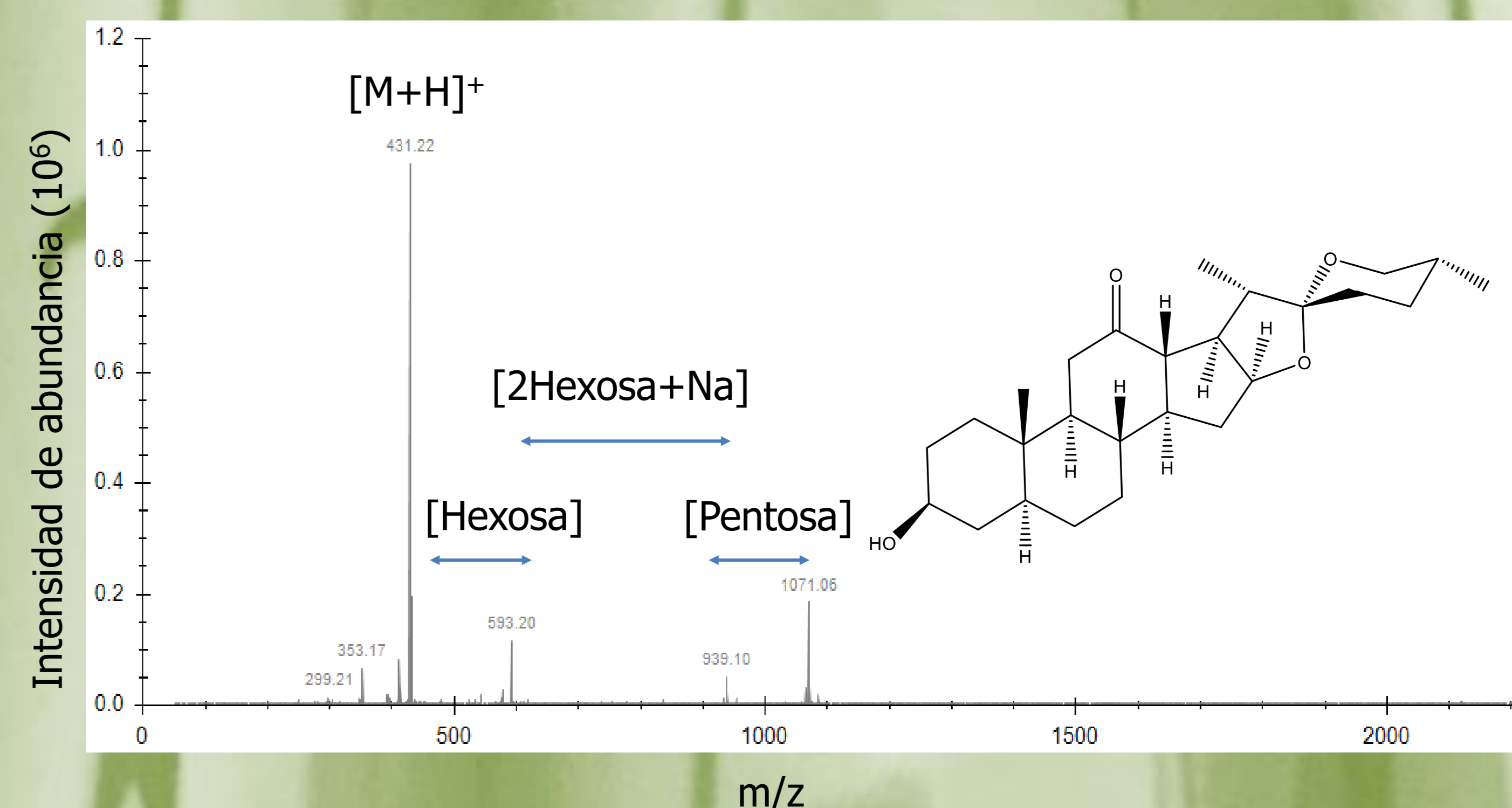


Figura 02. Espectro de masas de saponina esterooidal glicosidada.



Metodología



Obtención de extracto. El cogollo se seco y molió, después se coloco a reflujo con metanol por 5 horas a 70 °C 1:10 y se llevó a sequedad el extracto.

Microdilución en caldo. Se colocaron 50 µL de suspensión bacteriana de *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 (10³/mL) en medio CST (30g/L) que fueron agregados a una microplaca estéril de 96 pozos, se añaden 50 µL de extracto de cogollo (EC) para tener un volumen final de 100 µL. Los controles positivos (ceftriaxona-3 mg/mL y ampicilina-1 mg/mL) fueron colocados con la suspensión de bacterias. La microplaca se incubo durante 24 horas y se leyó la absorbancia (600 nm) a las 0 y 24 horas a 37 °C.

UPLC-ESI(+)-Q-ToF. Se fraccio el EC con Hx/MeOH, se lleva a sequedad la fracción metanólica, en seguida se fraccio con CH₂Cl₂/H₂O. La fracción acuosa se separó con una columna BEH C18 1.7 µm (Acquity UPLC, Waters) y ionizo (50 a 2500 m/z) mediante ESI-Q-ToF (Xevo G2-XS QToF, Waters, Milford Massachusetts, USA) en modo positivo (+).



Resultados



La concentración mínima inhibitoria (CMI) fue 50 mg/mL de extracto de lechuguilla, lo que corresponde a un 80.3% (Fig. 01) de inhibición con respecto a la carga inicial de 103 UFC/mL.

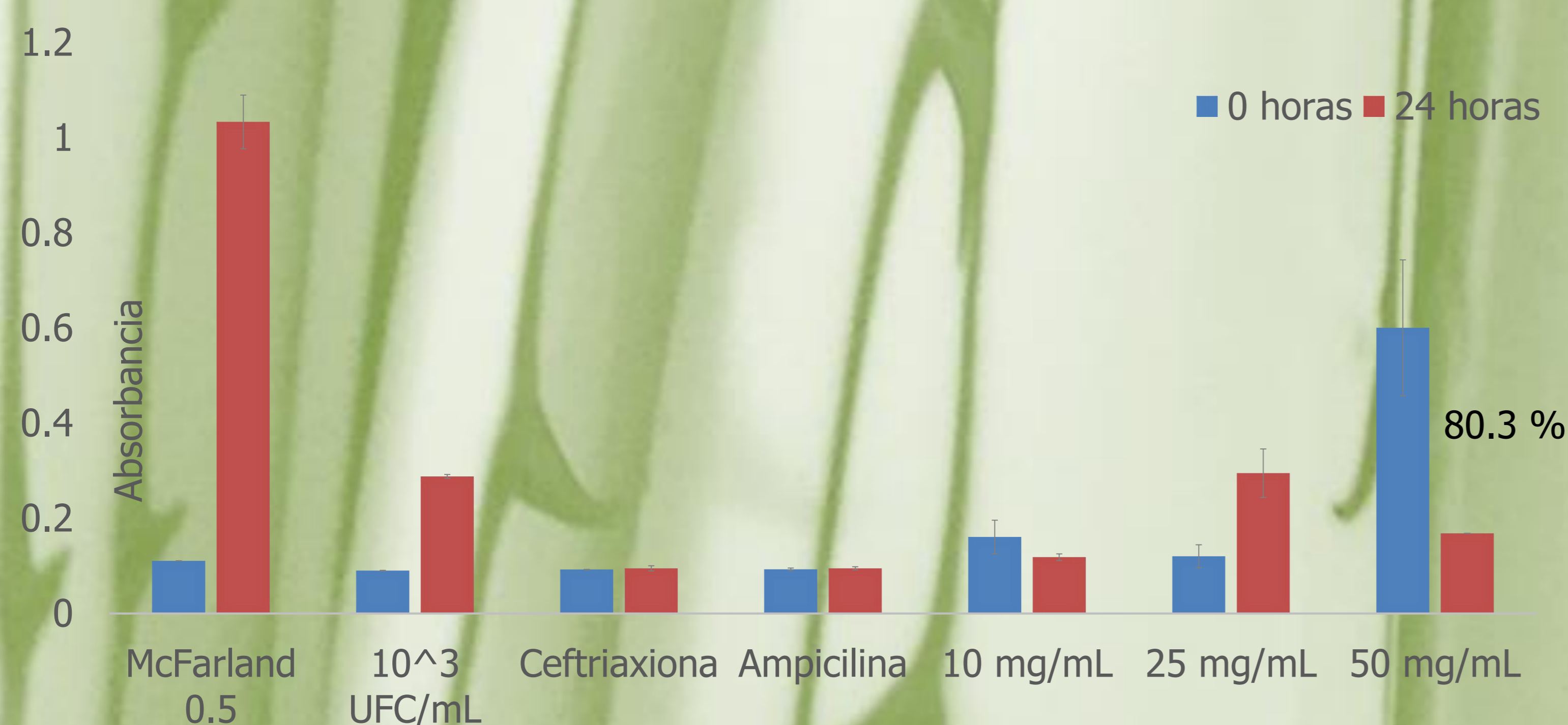


Figura 01. Inhibición del extracto de A. lechuguilla sobre *Listeria monocytogenes*.



Conclusión



La CMI sobre *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 fue de 50 mg/mL. Un total de 9 saponinas esteroidales se encontraron en el EC, correspondientes a saponinas como: tigenina, smilagenina, diosgenina y yucagenina, previamente reportadas en el Agave lechuguilla. Para validar los glicósidos de estos compuestos deberán analizarse por resonancia magnética nuclear para determinar el carbohidrato correspondiente a las hexosas y pentosas. Adicionalmente, faltaría determinar su estereoquímica y los isómeros presentes.



Agradecimientos



Bibliografía



- [1] Yoong Cheok, C., H.A. Karim Salman, and R. Sulaiman, Extraction and quantification of saponins: A review. Food Research International, 2014. 59: p. 16-40.
- [2] Yang, C.-R., et al., Antifungal activity of C-27 Steroidal saponins. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2006. 50(5): p. 1710-1714.
- [3] Torres-Vitela, M.R. and A. Castillo-Ayala, indicadores de *Listeria monocytogenes*, in Microbiología de los alimentos, U.d. Guadalajara, Editor 2007: Guadalajara.

