

SINTESIS DE JABÓN Y DESINFECTANTE CON EXTRACTO DE *Peumus boldus* (Molina) Y DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

SOAP AND DISINFECTANT SYNTHESIS WITH *Peumus boldus* (Molina)
EXTRACT AND DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Fernando Bart • Ángeles González
Profesor Guía: Mariel Godoy
Colegio Quimahue • Rancagua
academiacienciasquimahue@gmail.com

Resumen

Se indagó en árboles y plantas medicinales que presentaran actividad antimicrobiana, existentes en la región de O'Higgins. En bibliografía el árbol boldo o *Peumus boldus* (Molina), presentaba, según estudios previos, estas propiedades. El desarrollo experimental consistió en obtener un extracto acuoso de las hojas de boldo. Posteriormente, se realizó la saponificación de aceite de oliva, para generar el jabón. En la etapa final se añadió el hidrosol obtenido. El análisis del efecto bactericida y fungicida, se realizó mediante la preparación de medios de cultivos, con muestras obtenidas de manos, los que, posterior al crecimiento de las colonias de microorganismos, fueron expuestos a disoluciones del jabón sintetizado. Los resultados obtenidos demuestran que el jabón elaborado posee actividad antimicrobiana, pues las disoluciones de jabón preparadas eliminaron parcialmente hongos y bacterias en los cultivos (sobre un 67%). Finalmente, se propone el uso de este producto como alternativa más favorable para el ambiente y seres vivos, pues no posee derivados clorados dañinos; comprobando que es posible el uso de menos aditivos químicos en un jabón con actividad antimicrobiana, proyectando su aplicación a escala industrial.

Palabras claves: Boldo, saponificación, actividad antimicrobiana.

Abstract

Investigation was conducted in medicinal plants and trees existent inside the O'Higgins region that presented antimicrobial activity. According to the literature review, the "boldo" or *Peumus boldus* (Molina), presented the properties sought. The experimental development consisted in the obtaining of an aqueous extract of the boldo's leaves by means of steam distillation. Then, the saponification of the olive oil was performed in order to generate soap. At the final stage, the hydrosol obtained was added. The analysis of the bactericide and fungicide effect was made by the preparation of sample culture media obtained from hands, which, after the growth of the microorganisms' colonies, were exposed to dissolutions of the synthesized soap. The results obtained show that the synthesized soap has antimicrobial activity, as the soap dissolutions eliminated partially fungus and bacterium from the culture media (over an 67%). With all this evidence, it is proposed the use of this product as a more environmental and biodiversity friendly alternative, as it does not have harmful chlorinated derivatives; proving that the use of less chemical additives in a soap with antimicrobial activity is possible, projecting its application into a industrial scale.

Keywords: Boldo, saponification, antimicrobial activity.



Introducción

La problemática abordada en esta investigación, es la existencia de masivos desinfectantes en forma de jabones líquidos, en barra o sprays, y el uso y abuso de compuestos químicos presentes en ellos. Básicamente, presencia de etanol (compuesto orgánico que se absorbe en la piel y puede producir daños hepáticos al ser expuestos constantemente), así como triclosán (agente antibacteriano y fungicida), utilizado por más de 30 años, y otros compuestos orgánicos clorados con las mismas aplicaciones (Sánchez-Saldaña *et al.*, 2005).

Estos componentes, los cuales son resistentes a la depuración, son compuestos orgánicos que no pueden ser eliminados en las plantas de tratamiento de aguas, además su persistencia puede dañar bacterias y hongos benéficos para el ecosistema y seres vivos (Levy *et al.*, 1999).

La interrogante planteada fue:

¿Existe alguna planta nativa de la sexta región que posea propiedades antibacterianas y fungicidas, y pueda ser utilizada en la síntesis de un jabón y/o desinfectante?

La investigación nos guió al Boldo o *Peumus boldus*, un árbol siempreverde endémico de Chile, perteneciente a la familia de las Monimiaceae. Se distribuye entre las IV y X regiones, presentando una mayor abundancia en la zona mediterránea. (Doll *et al.*, 2005).

Estudios químicos de algunas plantas de la familia de las Monimiaceae, indican que contienen α -pineno, β -pineno, p-cimol, linalol, limoneno, ascaridol, bencil benzoato, benzaldehído, camfeno, 1.8-cineol, α -hexil-cinamaldehído, p-cimeno, eugenol metil eter, y safról.

El *Peumus boldus* ha sido ampliamente investigado, aislando sus alcaloides y aceites esenciales, encontrando como componente mayoritario el ascaridol (Bittner *et al.*, 2009)

Todos estos componentes orgánicos, hacen que los estudios de la especie *P. boldus* sean masivos. “El aceite esencial posee actividad antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* (Vila *et al.*, 1999; Schrickel & Bittner, 2001; Ruiz *et al.*, 2008). Además, investigaciones de extractos etanólicos realizados en Alemania, demostraron una actividad colerética (Pietta *et al.*, 1988; Schrickel & Bittner, 2001; O’Brien *et al.*, 2006; Ruiz *et al.*, 2008). Estudios de extractos de hojas de boldo, presentaron actividad antimicrobica contra *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophytes*. (Schrickel & Bittner, 2001; Lima *et al.*, 2006; Ruiz *et al.*, 2008). Estudios “*in vitro*” de su principal principio activo, la boldina, han demostrado que ejerce efecto relajante en musculatura lisa, estimula secreción gástrica y biliar, y que actúa contra la peroxidación de radicales libres. (Quezada *et al.*, 2004; Ruiz *et al.*, 2008).

Considerando estas propiedades relevantes (antimicrobianas), se propone la síntesis de un jabón (u otro tipo de desinfectante) de origen natural, basado en extracto acuoso, obtenido de las hojas de este árbol.

Objetivo general:

Obtener un hidrosol desde las hojas de boldo, síntesis de jabón combinado con el hidrosol, para finalmente evaluar sus propiedades antimicrobianas.



Así, para dar inicio a la investigación se plantea la siguiente hipótesis:

“Si el extracto de boldo tiene propiedades antibacteriales y fungicidas, entonces es posible sintetizar un jabón antimicrobiano”.

Metodología

1. Se obtuvo un hidrosol a partir del boldo.
2. Se realizó una reacción de saponificación para obtener jabón con este hidrosol.
3. Se preparó un desinfectante con el extracto acuoso.
4. Se prepararon cultivos microbiológicos.
5. Se elaboraron disoluciones para el testeo y análisis de la actividad antimicrobiana.

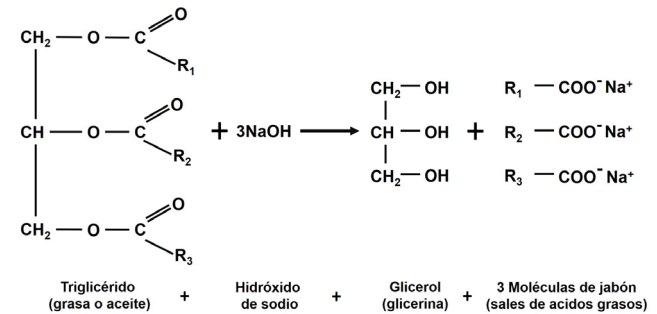
Metodología para obtención de extracto

Para la obtención del extracto, se masaron 8,51 g de hojas de boldo en una balanza semi-analítica, previamente lavadas y secadas. Se dispusieron en un matraz de fondo redondo de 250 ml, junto con 150 ml de agua destilada y se conectó al sistema refrigerante, para proceder a la destilación por arrastre de vapor. El sistema se calienta, por aproximadamente una hora. Durante este tiempo se recolecta el extracto acuoso (hidrosol). Se recolectaron aproximadamente 100 ml del hidrosol.

Síntesis de Jabón: Saponificación

Se preparó una disolución de 50 ml al 15% de NaOH, se trasvasió a un vaso de 400 ml. Se agregaron 45 ml (40,47 g) de aceite de oliva, 18 ml de etanol al 95%, y se mezcló. Se calentó en baño de vapor o baño-maría por 30-40 minutos, bajo agitación. Durante ese tiempo se agrega en intervalos de 10 minutos, etanol en pequeñas porciones de 5 ml, para evitar la formación de espuma (no más de 30 ml en total). Se continúa calentando hasta que termine la saponificación (cuando la mezcla adquiera una consistencia homogénea y compacta). Luego, a una disolución de 50 gramos de NaCl en 150 ml de agua (saturada), se le agregó el líquido saponificado y luego el extracto acuoso de boldo. Luego se enfrió en un baño de agua-hielo. Finalmente, el extracto es filtrado al vacío, en un embudo büchner, lavado con dos porciones de agua fría a 0° C y secado al aire por una semana. Se obtuvieron 42 g de jabón o sal orgánica.

Reacción global de saponificación:



**(Química orgánica, J. McMurry Quinta Edición).*

Obtención de desinfectante en spray (para ambientes y manos)

Se midieron 20 ml del hidrosol obtenido; y fueron mezclados con 20 ml de agua destilada y 20 ml de glicerina. Concentración porcentual final: 33,3 % v/v.

Preparación de cultivos: (microbiología)

Se preparó agar-agar para 10 placas Petri grandes y 4 placas Petri pequeñas (4,6 g de agar y 6 g de glucosa en polvos, en 200 ml de agua destilada)

Se calentaron 200 ml de agua destilada (casi ebullición). Luego, se agregó el agar-agar y la glucosa hasta disolución. Se desinfectan las placas con etanol y se vierte el agar-agar en caliente con movimientos circulares.

El cultivo de las muestras se realizó de la siguiente manera:

- Se sembró en las placas Petri pequeñas apoyando dedos de alumnos directamente.
- Se tomaron muestras de las palmas de las manos, con asas caseras y se sembró en zigzag sobre las placas Petri grandes.
- Finalmente, se guardaron en caja esterilizada y sellada, para mantener condiciones experimentales niveladas.

Preparación de disoluciones para analizar efecto antimicrobiano

Una vez que se comprobó el crecimiento de colonias de microorganismos, se procedió al conteo de las mismas, para realizar el estudio de actividad antimicrobiana.



Para realizar estudios comparativos se prepararon diversas disoluciones acuosas como se detalla a continuación:

- Tres disoluciones de jabón en distinta concentración.
- Una disolución de desinfectante.
- Una disolución de spray antibacterial comercial.
- Una disolución de jabón antibacterial comercial.

Disoluciones preparadas con el jabón sintetizado

Se prepararon disoluciones de jabón en concentración 1% m/v, 12,5% m/v y 25% m/v, masando en la balanza 1, 12,5 y 25 g, respectivamente; trasvasijando a un matraz aforado de 100 ml y completando con agua destilada.

Disoluciones comparativas de productos comerciales

Se prepararon disoluciones de un jabón desinfectante del mercado y de un desinfectante de ambiente al 12,5%, pesando 12,5 gramos de cada uno y luego trasvasijando a un matraz aforado de 100 ml.

Después de una semana se evaluaron las muestras y se realizó el conteo.

La tabla 1 registra las seis muestras: control, disolución 1 (1% m/v), disolución 2 (12,5% m/v), disolución 3 (25% m/v), desinfectante preparado al 33,3% v/v, y extracto puro o hidrosol.

- Se aplicaron las muestras respectivas en cinco cápsulas Petri grandes, aproximadamente 2,5 ml (4 puf), con ayuda de un aerosol (dejando la primera cápsula como control).

La tabla 3 registra las siguientes cuatro muestras: control, disolución de jabón 12,5%, disolución jabón antibacterial comercial 12,5% y disolución de aerosol comercial al 12,5% (dejando la primera cápsula como control).

- Se aplicaron las muestras respectivas en tres cápsulas Petri pequeñas, aproximadamente 1 ml (2 puf), con ayuda de un aerosol (dejando la primera cápsula como control).

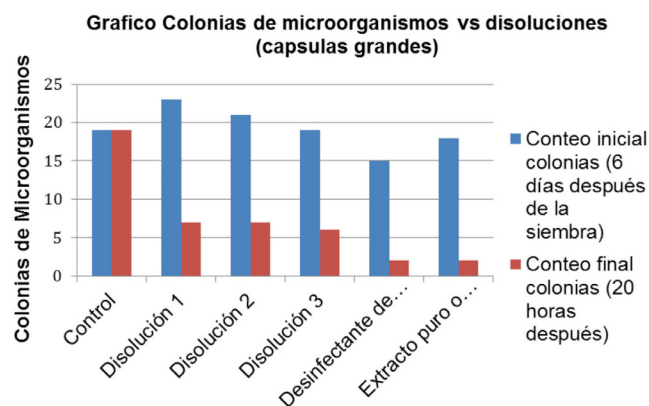
Resultados

Set de datos para Tabla 1: El conteo inicial se realizó seis días después de la siembra y el conteo final 20 horas después.

Tabla N°1: conteo de colonias de microorganismos antes y después de la aplicación de las disoluciones respectivas.

Cápsulas Grandes	Conteo inicial colonias	Conteo final colonias
Control	19	19
Disolución 1% p/v	23	7
Disolución 12.5% p/v	21	7
Disolución 25% p/v	19	5
Desinfectante preprado	15	2
Extracto puro o hidrosol	18	2

Gráfico N°1: conteo de colonias de microorganismos antes y después de la aplicación de las disoluciones 1% p/v, 12.5% p/v y 25% p/v.



Datos estadísticos

Media de datos conteo final: 7,166 colonias
 Varianza: 38,966
 Desviación estándar: 6,242

También se determinó la efectividad de las disoluciones a las que se expusieron los cultivos.

Tabla N°2: efectividad de disoluciones según Tabla N°1

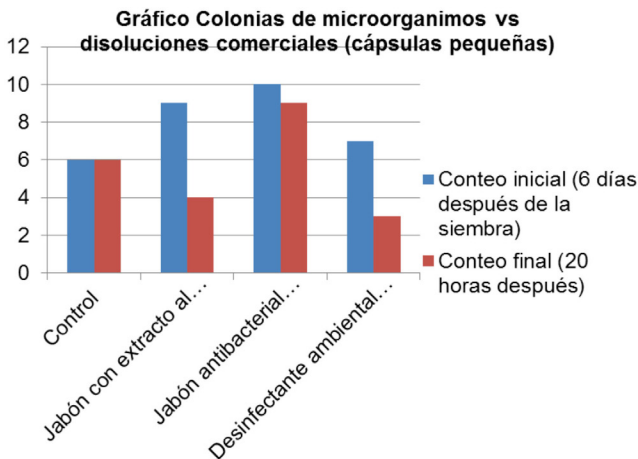
Cápsulas	Efectividad (%)
Control	-
Disolución 1% p/v	69,56
Disolución 12.5% p/v	66,66
Disolución 25% p/v	73,68
Desinfectante preparado	86,67
Extracto puro o hidrosol	88,89

El conteo inicial se realiza seis días después de la siembra y el conteo final 20 horas después.

Tabla N°3: conteo de colonias de microorganismos antes y después de la aplicación de las disoluciones.

Cápsulas Pequeñas	Conteo inicial	Conteo final
Control	6	6
Jabón con extracto al 12,5%	9	4
Jabón antibacterial comercial al 12,5%	10	9
Desinfectante ambiental comercial al 12,5%	7	3

Gráfico N°2: conteo de colonias de microorganismos antes y después de la aplicación de las disoluciones respectivas.



Datos estadísticos

Media de datos conteo final: 5,75 colonias
 Varianza: 2,5
 Desviación estándar: 6,25

También se determinó la efectividad de las disoluciones a las que se expusieron los cultivos.

Tabla N°4: efectividad de disoluciones según Tabla N°3

Cápsulas Pequeñas	Efectividad (%)
Control	-
Jabón preparado al 12,5%	55,55
Jabón antibacterial comercial al 12,5%	10
Desinfectante ambiental comercial al 12,5%	57,15

Discusión

Al utilizar el extracto acuoso del boldo para la obtención de jabón, se comprobó su actividad antimicrobiana.

En el Gráfico 1, se observa que el efecto del extracto presente en el jabón, aumenta la actividad antimicrobiana a mayor concentración de este. Así, entre más extracto exista, en el caso del desinfectante y los jabones, mayor es la actividad antimicrobiana. Finalmente, el hidrosol puro tiene la mayor efectividad, aumentando desde 67% hasta un 89%.

En el Gráfico 2, se observan similitudes de actividad antimicrobiana, entre nuestro jabón y el desinfectante en aerosol. Al comparar nuestra muestra de jabón (55,5% de efectividad), con otros productos del mercado en concentraciones iguales, la actividad antimicrobiana es similar al desinfectante en aerosol (57,15% efectividad), y mucho mayor al jabón antibacterial comercial, que tuvo efectividad del 10%.

Al revisar los datos estadísticos, se observa que el promedio de colonias (media de datos) de microorganismos es muy pequeño (set datos tabla 1 es 7,16 y set datos tabla 3 es 5,75), pero suficiente para obtener resultados positivos y veraces de actividad antimicrobiana. La desviación estándar es muy elevada, lo que favorece la investigación, pues se comprueban las diferencias del efecto antimicrobiano con este grado de dispersión, al igual que la varianza.



Conclusión

Mediante la reacción de saponificación, se obtuvo un jabón al cual se le incorporó extracto acuoso (hidrosol), que posee las propiedades antimicrobianas.

Se destaca, además, que tanto el jabón como el desinfectante preparados, mantienen la idea preliminar de obtener un producto natural, con propiedades bactericidas y fungicidas. Es posible el uso de menos aditivos químicos como el etanol, mezclas de cloruros de alquil-dimetil-bencil amonios (presentes en desinfectantes en spray), triclosán (presente en la gran mayoría de jabones antibacteriales), usados en zonas residenciales, así como en hospitales o escuelas. Todos estos agentes químicos perjudican el equilibrio natural de bacterias y hongos en el ecosistema y en seres vivos, puesto que no pueden ser eliminados en las plantas de tratamiento de aguas.

Es novedoso hacer uso de un árbol autóctono de nuestro país, para la fabricación de un producto con potenciales aplicaciones antisépticas.

Cabe señalar, que de nuestros propios estudios anteriores (Libro de Resúmenes Congreso Nacional de la Ciencia y Tecnología, 2016), se obtuvieron algunas variables a considerar:

- El efecto del jabón y del desinfectante no perduran en el tiempo.
- La presencia de humedad favorece el crecimiento de hongos, por eso se deduce que los hongos no se verán drásticamente reducidos con las propiedades antimicrobianas (en los cultivos son las colonias que persisten al final).
- Los jabones tienen fecha de vencimiento, aproximadamente 6 meses.
- El desinfectante debe estar a temperatura ambiente, el sobrecalentamiento lo deteriora.

Bibliografía

Doll U, Aedo D, López P. 2005. Caracterización morfológica de tres procedencias de boldo (*Peumus boldus*) en una plantación joven de 6 años. *Bosque* 26: 45-54.

Bittner M, Aguilera MA, Hernández V, Arbert C, Becerra J, Casanueva ME. 2009. Fungistatic activity of essential oils extracted from *Peumus boldus* Mol., *Laureliopsis philippiana* (Looser) Schodde and *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.) Tul. (Chilean Monimiaceae). *Chilean Journal of Agricultural Research* 69: 30-37.

Hošťálková A, Opletal L, Kuneš J, Novak Z, Hrabínova M, Chlebek J, Cahlikova L. 2015. Alkaloids from *Peumus boldus* and their acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and prolyl oligopeptidase inhibition activity. *Natural Product Communications* 10: 577-580.

Teixeira CCC, Cabral TPF, de Sousa JPB, Teixeira SP, Bastos JK, de Freitas LAP. 2016. Study of quality assurance for *Peumus Boldus* products by botanic profiling, extraction optimization, HPLC quantification and antioxidant assay. *Pharmacognosy Journal* 8: 264-272.

Rezende DACS, Souza RV, Magalhães ML, Caetano ARS, Carvalho MSS, de Souza EC, Guimarães LGL, Nelson DL, Batista LR, Cardoso MG. 2017. Characterization of the biological potential of the essential oils from five species of medicinal plants. *American Journal of Plant Sciences* 8: 154-170.



- Schricket S, Bittner M. 2001. La salud en nuestras manos: plantas medicinales en Chile, riqueza natural y científica. Editora y Gráfica Lamas, Concepción, Chile.
- Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. 2001. Plantas medicinales de uso en Chile: Química y Farmacología. Editorial Universitaria, Santiago, Chile.
- Levy C, Roujeinikova A, Sedelnikova S, Baker P, Stuitje A, Slabas A, Rice D, Rafferty J. 1999. Molecular basis of triclosan activity. *Nature* 398: 383-384.
- Sánchez-Saldaña L, Saenz-Anduaga E. 2005. Antisépticos y desinfectantes. *Dermatología Peruana* 15: 82-103.
- Ruiz A, Taffarello D, Souza V, Carvalho J. 2008. Farmacología e toxicología de *Peumus boldus* e *Baccharis genistelloides*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18: 295-300.
- Vila R, Valenzuela L, Bello H, Cañigueral S, Montes M, Adzet T. 1999. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Peumus boldus* leaves. *Planta Medica* 65: 178-179.
- Pietta P, Mauri P, Manera E, Ceva P. 1988. Determination of isoquinoline alkaloids from *Peumus boldus* by highperformance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 457: 442-445.
- Quezada N, Ascencio M, del Valle JM, Gomez B. 2004. Antioxidant activity of crude extract, alkaloid fraction and flavonoid fraction from boldo (*Peumus boldus* Molina). Leaves. *Journal of Food Science* 69: 371-376.
- Mc Murry J. 2001. Química Orgánica. Internacional Thompson Editores. Buenos Aires, Argentina.
- Hill K. 1999. Química para el nuevo milenio, Octava Edición. Editorial Prentice-Hall, México.
- Libro de Resúmenes Congreso Nacional de la Ciencia y la Tecnología. 2016. Santiago, Chile. Educación Media, 13: 50 pp. <http://graficas.explora.cl/Publicaciones/Libro-de-resumenes/Resumen-2016/tmpl/mobile/index.html#p=50>

