



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"IZTACALA"

CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO FITO-
QUIMICO DEL LIRIO ACUATICO Eichhornia
crassipes (Mart) Solms.

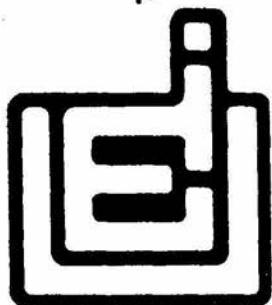
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

SAUL EMILIO GONZALEZ NAVA



LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, ESTADO DE MEXICO

1989



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A G R A D E C I M I E N T O S

El presente trabajo es el resultado de un esfuerzo conjunto y deseo expresar mi agradecimiento y gratitud a quienes tuvieron participación de una u otra manera.

Especialmente deseo agradecer a la profesora Q.F.B. Irma Delfin Alcalá por toda la ayuda e interés que mostró en el presente trabajo, por sus valiosas indicaciones y sugerencias realizadas en cada etapa de mi labor y es a quien debo mi formación profesional.

Agradezco al Biólogo Jose Luis Muñoz L. por sus observaciones al trabajo y por su disposición para facilitar los medios necesarios que llevaron a término el presente.

También agradezco a la Bióloga Soledad Chino Vargas por su constante preocupación a lo largo de todo el trabajo, por sus acertadas observaciones y su disposición en el suministro de información y de tiempo cada vez que así lo requeri.

No deseo olvidar agradecer al Químico Gilberto González por la revisión de esta tesis y porque debido a su intervención se obtuvieron los espectros infrarrojos. Agradezco al M. en C. Ignacio Peñalosa la revisión realizada y agradezco especialmente toda la ayuda que prestó en el suministro de material a la técnico académica Yolanda.

Al Dr. Hector Baptista por permitir sus instalaciones y material en el Instituto Nacional de Perinatología deseo manifestar mi agradecimiento y particularmente agradezco la ayuda que he recibido del Programador Jaime Tapia Reynoso para la realización del escrito final y por su compañerismo.

A mi familia, mi tía y mis hermanos y a quien debo todo lo que soy agradezco su paciencia y recursos y dedico todo mi trabajo hasta ahora alcanzado.

I N D I C E

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
DESCRIPCION AREA DE ESTUDIO.....	8
ANTECEDENTES.....	11
OBJETIVOS.....	16
DESARROLLO EXPERIMENTAL Y RESULTADOS.....	18
ANALISIS DE LOS RESULTADOS.....	32
CONCLUSIONES.....	39
BIBLIOGRAFIA.....	40
APENDICES.....	46

RESUMEN

En los últimos años el lirio acuático se ha convertido en una verdadera plaga a nivel mundial por su proliferación explosiva que deteriora seriamente los cuerpos de agua, ya que además de alterar los parámetros fisicoquímicos, causa la desecación de los lagos debido a su rápida evapotranspiración.

Para atacar el problema del lirio acuático se han propuesto diversas soluciones, algunos proponen la utilización de la planta por su capacidad de actuar como filtro biológico y de reducir la eutroficación de las aguas residuales, o el aprovechamiento de su hemicelulosa para la fabricación de papel, o la producción de etanol, o su utilización en las labores de agricultura, o la utilización de sus nutrientes como alimento, entre otros. Pero ni las soluciones basadas en el aprovechamiento de la planta ni los controles, han detenido su propagación.

El presente trabajo es una contribución enfocada en determinación del contenido de principios activos en el lirio acuático. Preliminarmente se detectó la presencia de compuestos del tipo de fenoles, glucósidos, taninos, esteroides, saponinas y aceites esenciales derivados del benceno y naftaleno.

Los productos aislados fueron: cloruro de amonio, mucicato de plomo, un ácido hexaldárico clorado de hierro y potasio, un compuesto aminado insaturado alifático, D-manosa y un complejo naftaleno lactona que actúa como indicador ácido-base con zona de vire 6-7.7 con color rosa cuando está en medio ácido y color verde cuando está en medio alcalino.

En cuanto a la presencia de pigmentos, se nota la presencia de pigmentos rojos como cianidina y pelargonidina y se determinó una concentración de 3.53 mg por aproximadamente 100 g de planta.

Se realizaron pruebas de acción bacteriostática y de producción de etanol.

INTRODUCCION

La investigación fitoquímica proporciona información sobre la variedad de sustancias que son elaboradas y acumuladas por las plantas, muchas de estas sustancias son aprovechadas con fines científicos o económicos. El interés en los principios activos vegetales estriba en el aprovechamiento de estos por el hombre, de entre los principios vegetales podemos mencionar al extenso conjunto de compuestos fenólicos, los glucósidos cianogénicos o cardiotónicos, los alcaloides, los esteroides, los terpenoides, los ácidos orgánicos, entre otros, todos ellos usados en la industria farmacéutica (Domínguez, 1979; Harborne, 1984).

Clasificación botánica del lirio acuático *Eichhornia crassipes* (Mart) Solms. (Pontederiaceae):

- Reino: Vegetal
- División: Angiosperma
- Clase: Monocotiledónea
- Subclase: Superovárica
- Superorden: Liliáceas o Liliflorae (Dahlgren y Clifford, 1982)
- Orden: Farinosae o Pontederiales (Dahlgren y Clifford, idem)
- Familia: Pontederiaceae
- Genero: *Eichhornia*
- Especie: *E. crassipes*

Eichhornia crassipes es una planta herbácea, acuática flotante o terrestre, mide de 15 a 25 cms de altura, hojas arrosetadas, alternadas, con estomas en el haz y en el envés, peciolo vesiculosos o globosos con tejido esponjoso que sirve a la planta como flotadores (fig. 1), por lo que en formas terrestres se pierde este carácter. Las flores son hipoginas, actinomorfas a zigomorfas (3 pétalos y 3 sépalos), pétalos blancos o azules fusionados basamente, estambres y anteras biloculares, tetrasporangiadas, tapetum secretorio o ameboides, granos de polen libres, pistilos sincarpo, frecuentemente conceptos nectarios rudimentarios o ausentes, un sencillo estigma seco, ovario de 3 carpelos, trilocular (2 lóculos a veces vacíos) con placentación axilar y uno o varios óvulos por lóculo, con células parietales, fruto en cápsula muy sensible a las heladas. La flor aparece en los meses de julio y agosto. En la base de la roseta se encuentra un tallo corto que se prolonga bajo el agua por un rizoma diferenciado a partir de estolones unidos a otros lirios siendo esta la forma de reproducción vegetativa y de formación del colchón típico del lirio acuático. Forma una intrincada red radicular que se prolonga bajo el agua considerablemente (Sanchez, 1980; Alcanta, 1982; Dahlgren y Clifford, 1982). Tiene como factores limitantes para su desarrollo los torrentes

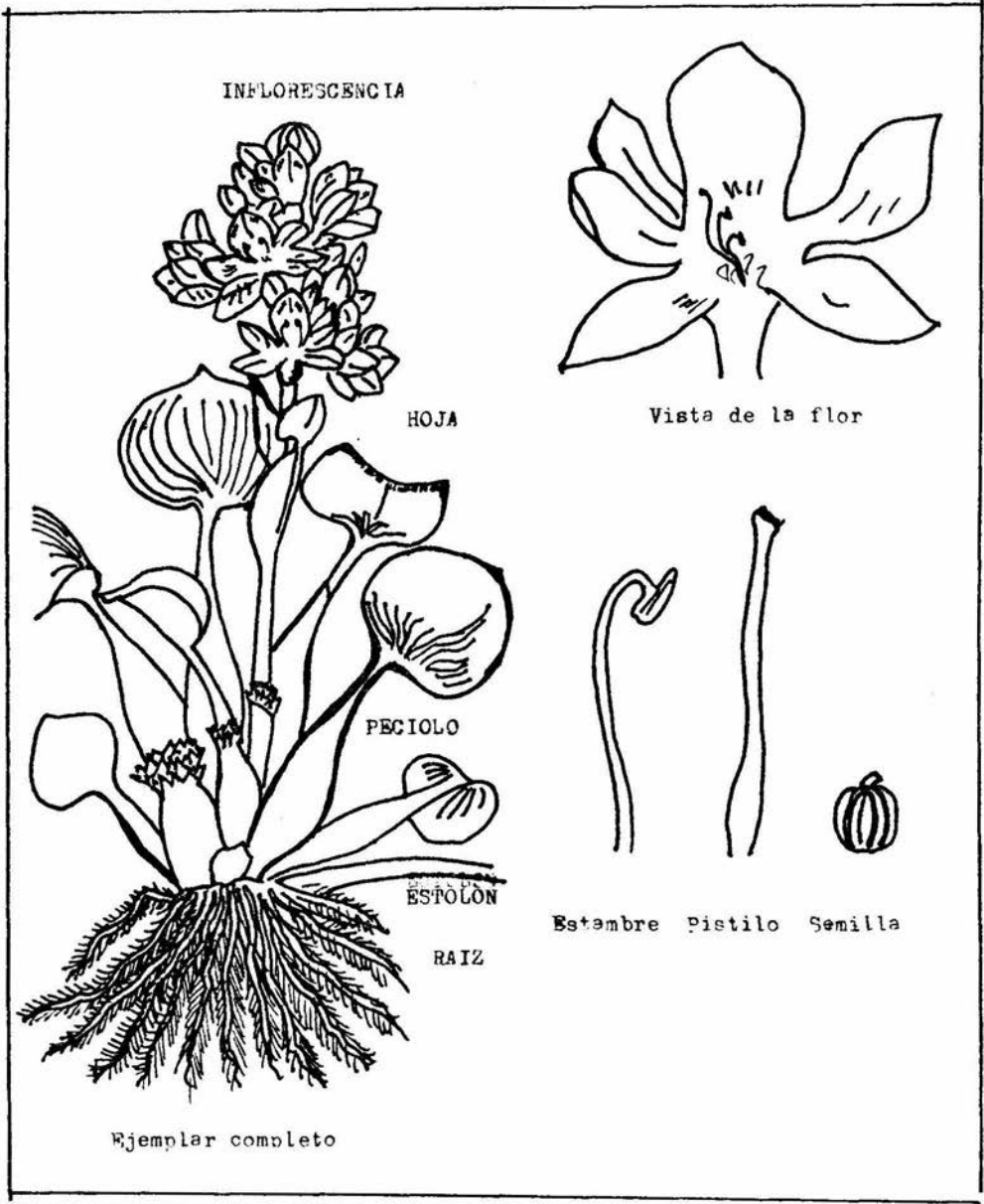


Fig. 1. Esquema de un ejemplar completo de *E. crassipes* (Tomado de Dahlgren y Clifford, 1982; Sánchez, 1980).

frecuentes, crecientes y fluctuantes en el nivel de agua, así como la deficiencia de nutrientes mayores tales como P, N, K, S y menores como el Fe y Ca. Se favorece su germinación a 28 y 36°C con intensa iluminación, en aguas calmadas donde no estén sujetos a corrientes de agua (Mitchell y Thomas, 1970).

El lirio acuático es considerado como planta infestante por su acelerada profiteración debido posiblemente a su alta eficiencia fotosintética, su alta producción de materia seca y la presencia de múltiples meristemas de raíz, características por las que se ha considerado como una amenaza a la conservación de fuentes de suministro de agua, a la navegación, al flujo de agua en los canales de irrigación, al turismo, al cultivo de peces y a la generación de fuerza hidroeléctrica (McDonald y Wolverson, 1980; Jayaraman, 1981; Delgado, 1982). Su presencia incrementa la turbiedad y acidez del agua y modifica el balance de los principales gases disueltos (Cooley y Martin, 1980). Se considera un peligro para la salud pública por actuar como hábitat de plagas e insectos (Sanders *et al.*, 1982). Mas importante todavía, es el hecho de que la intensa evapotranspiración de la planta provoca una disminución acelerada del nivel de agua hasta llegar inclusive a su desecación (Cooley y Martin, 1980; McDonald y Wolverson, 1980).

Debido a las alteraciones que *E. crassipes* causa sobre sistemas acuáticos lénticos, se ha buscado la manera antagónica de controlarlo y de ser posible erradicarlo de esos cuerpos de agua.

Se han usado pesticidas o herbicidas sin lograr resultados satisfactorios, además de que éste es un proceso bastante costoso. El intento de erradicación de lirio que llevo a cabo la Comisión Federal de Electricidad en el Vaso de la Angostura, tuvo un costo de \$ 1,233,066 por hectarea (C.F.E., 1979), en esa operación se usaron herbicidas del tipo de dimetilamina, Diuron y Delapon, lo cual resultó contraproducente por haberse aplicado sustancias que incrementan la contaminación de las aguas al acumularse sus residuos (De la Campa y Guzman, 1963; Stawinski y Monroy, 1982).

También se han probado agentes biológicos de control como hongos e insectos. El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos ha intentado controlar el lirio acuático empleando dos gorgojos sudamericanos y una especie de oruga (Martyn y Cody, 1983; Periódico Excelsior, 16 de Abril de 1989).

En la Presa Requena, de la localidad de Tepeji del Rio, en el Estado de México fue introducida por la iniciativa privada, una máquina trituradora llamada 'Retador' que elimina la planta de la superficie del agua y permite aprovechar la presa en actividades deportivas y turísticas (Periodico Excelsior, 17 y 21 de Julio de 1988).

Actualmente se está limpiando por el mismo método el Lago de Guadalupe, en el municipio de Cuautitlán Izcalli en el Estado de México, del lirio que permanece viable ya que existe una alta población en estado de senescencia; este lago casi llegó a su total desecación tanto por la presencia de lirio acuático como porque se cerró el aporte de agua que recibía de las aguas residuales de Villa Nicolás Romero (1 millón de habitantes) y del fraccionamiento Bosques del Lago, (fig. 2) (COPLAIN, 1984). A mediano plazo está programada también la limpieza de otros cuerpos de agua como: el Lago de Pátzcuaro, el Lago de Chapala, los canales de Xochimilco y la Presa Iturbide.

Si *E. crassipes* se pudiera considerar no como plaga sino como recurso natural renovable por sus posibilidades de aprovechamiento como material potencial para la extracción de productos útiles en el campo industrial, biomédico o agrícola, la extracción continua del lirio contribuiría a lograr su equilibrio en el medio. Esta es la razón por la cual se realizó el presente estudio.

DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO

El Lago de Guadalupe es propiamente dicho el lugar de muestreo y pertenece a la categoría de cuerpos de agua reconocidos como presas. El lago se encuentra entre el municipio Nicolás Romero y la cabecera municipal de Cuautitlán Izcalli, exactamente ubicado en las coordenadas 19°37' latitud norte y 99°15' longitud este.

Presenta una altitud de 2,370 m s.n.m. y se encuentra próximo al cerro la Guadalupeana con 3,360 m s.n.m. Corresponde al sistema de topomorfas lomerío suave y vaso lacustre con lomerío; la zona queda comprendida en el eje neovolcánico transversal.

La zona aledaña al lago ya no presenta una vegetación primaria como tal, sino que se ha visto modificada con la presencia de bosque cultivado, pastizal inducido con vestigios de vegetación xerofila, vegetación halófila y la introducción de agricultura de temporal. El clima presente es el tipo C(W₁)(W) templado subhúmedo con un % de lluvia menor de 5 (según la clasificación de climas Köppen, modificado por García). Es el menos húmedo de los templados con lluvias en verano. La mayor precipitación pluvial se registra en Junio, con un valor que oscila entre los 120 y 130 mm, y la mínima en Febrero, con un valor menor de 5 mm. La temperatura mas cálida se presenta en Mayo, con un valor entre 18 y 19°C y la más fría en Enero y Diciembre, ambos con un valor entre 11 y 12°C.

El acceso al Lago de Guadalupe se logra siguiendo la carretera federal numero 57 y la carretera Tlalnepantla-Gustavo Baz rumbo a la Quebrada, tomando la desviación hacia las localidades San Francisco Tepojaco-La Perla, entrando por el fraccionamiento Bosques del Lago.

CUADRO II. Muestra los resultados de las pruebas practicadas sobre el producto M1

PRUEBA	PRODUCTO M1				
pH	(8.1) ALCALINO				
P. f.	145-148 ° C				
	H2O	H2SO4	HCl	NH4OH	EtOH
SOLUBILIDAD	-	+	+	-	-
ANALISIS ELEMENTAL ORGANICO	C, H, N.				
ALCALOIDES (14)	POSITIVO				
INSATURACION (4)	POSITIVO				
AMINAS AROMATICAS (5)	NEGATIVO				
AMINAS PRIMARIAS (2, 3)	POSITIVA				
AMINAS SECUNDARIAS (2)	NEGATIVA				
I. R. (APENDICE H, PAG. 56 INCISO A)					

Nota: Los números entre paréntesis corresponden al orden de las reacciones como aparecen en el apéndice B.

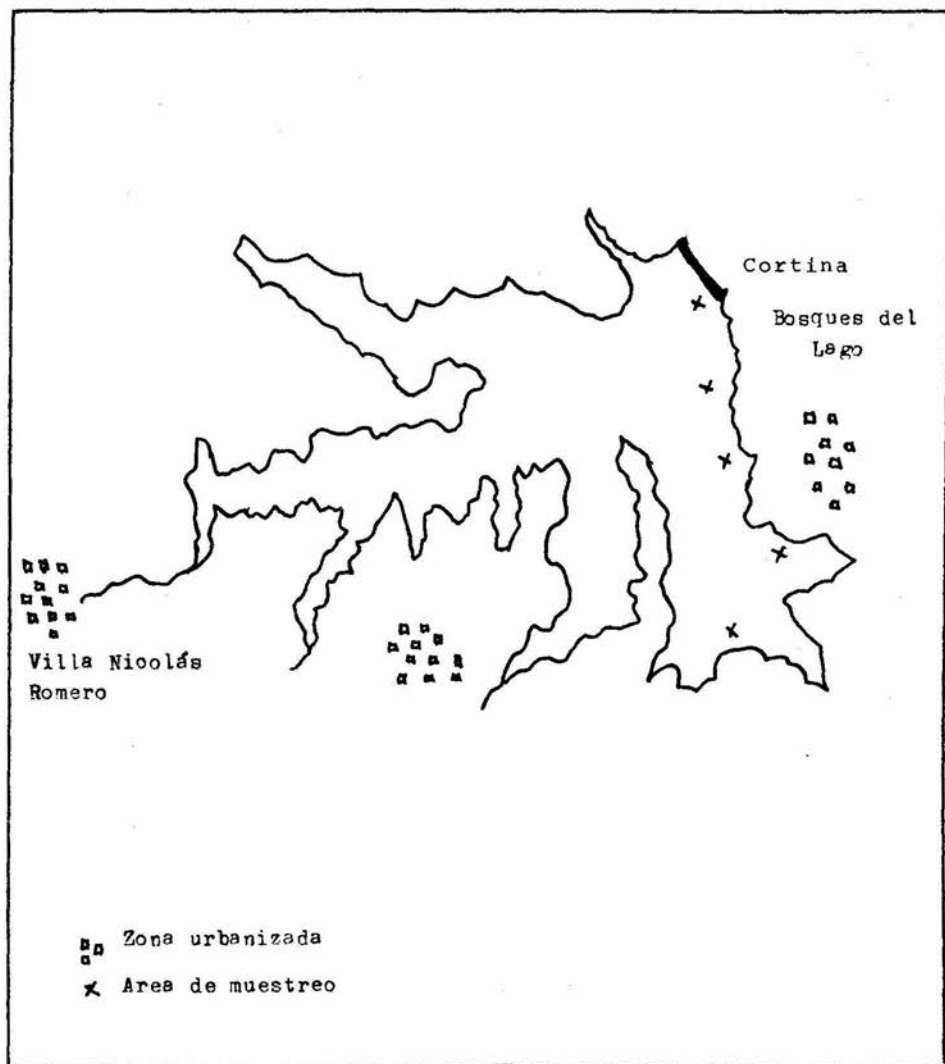


Fig. 2. Mapa del Lago de Guadalupe

ANTECEDENTES

El lirio acuático fue introducido en México por la belleza de sus flores en 1887 como 'jacinto de agua brasileño' y denominado por los chinamperos de la zona de Xochimilco como 'huachinango' (S.A.R.H.). Se proponía, por lo tanto, el uso del lirio como planta ornamental pero, recientemente, los trabajos han sido enfocados a su erradicación o control.

Ha sido ampliamente reconocido que *Eichhornia crassipes* (Mart) Solms., actúa como agente natural para reducir la eutroficación entendida como el aumento en las concentraciones de fósforo y nitrógeno (Laurant, 1976; COPLAIN, 1984), debido a su peculiar capacidad de convertir compuestos de fósforo en ortofosfato, por lo que su presencia se considera un indicador de exceso de fósforo (Delgado, 1982). Además actúa como filtro y capta grandes cantidades de iones metálicos pesados como el cobre, arsénico, mercurio, cadmio y plomo, estos últimos altamente tóxicos, de los cuales se acepta (según las normas de calidad de efluentes líquidos de la industria del petróleo), como valores normales de 0.5 a 7 ppm (Cruz, 1980; McDonald y Wolverton, 1980; Cooley y Martin, 1980; Fujita, 1985). Sin embargo, su valor como filtro biológico es opacado por la pérdida de un recurso que es aún más esencial: el agua (Gopal y Sharma, 1979).

Cualquier proyecto que busque la utilización del lirio acuático, debe tomar en cuenta su capacidad para remover entre dos y tres toneladas de fósforo por hectárea. Se dice que es capaz de absorber 18 Kg de fosfato 0.6 Kg de nitrato por tonelada métrica de lirio, lo que equivaldría a absorber el fósforo y nitrógeno contri-buido por 800 personas (Cornwell et al., 1977; Dinges, 1978; COPLAIN, 1984).

Como recurso alimenticio muchos investigadores (Boyd, 1968, 1969 y 1976; Wolverton y McDonald, 1978; Alcantar, 1982) han sugerido que el lirio acuático representa una fuente muy valiosa de proteínas útil para la alimentación animal, pues fácilmente digerido por el ganado al usarlo como forraje o como harina que posteriormente se mezcla con otros nutrientes a fin de obtener un alimento balanceado, aunque con el inconveniente de que sus tejidos contienen los metales pesados que han absorbido del agua residual de donde provienen. Se ha intentado también su uso como alimento para manatíes, para peces y como aditivo en alimentos humanos, como la masa para tortilla con el inconveniente ya mencionado de los metales pesados (Parada y Campos, 1973; Herrera et al., 1980; Stawinski y Monroy, 1982; Mark et al., 1984).

Se ha considerado su posible uso en bacteriología añadiendo los residuos líquidos o sueros, producto de los extractos de las plantas, para producir proteína celular o como sustrato para el cultivo de microorganismos fermentativos que produzcan etanol (Kümmerlin, 1984).

Se ha sugerido también su utilización en labores de agricultura: como abono verde en los sistemas de chinampas (Quiroz, Miranda y Lot, 1982), para la elaboración de composta para reestructurar suelos (Delgado, 1982), mezclado con tierra, bentonita y sales minerales en la fabricación de los bloques que se utilizan como medio de germinación y crecimiento en horticultura, la masa turba lirio se puede emplear como mejorador de suelos pobres, sus cenizas sirven como fertilizante húmedo para el cultivo del rábano (Uribe, Cortés y Celis, 1985).

Debido a su baja proporción de lignina y celulosa con respecto a la hemicelulosa se ha buscado utilizarlo en la elaboración de papel y como sustrato para la producción de biogas (Jayaraman, 1981; Widganto *et al.*, 1983). Cuantificaciones realizadas sobre esta última aplicación, revelan que en 6 días se producirían 185 lts de biogas/ Kgs de materia seca o bien, 17.5 lts de biogas/ Kg lirio seco por día (COPLAIN, 1984).

En años recientes en países como E.U. se han desarrollado programas dirigidos a lograr avances en el estudio y aprovechamiento de esta planta, como el programa "Plantas Vasculares Acuáticas de la N.A.S.A." manejado por McDonald y Wolverton sobre el uso del lirio en sistemas de descarga de aguas residuales domésticas (McDonald y Wolverton, 1980).

Pese a los esfuerzos por encontrar medios para aprovecharlo el problema del lirio persiste por lo que se ha tenido que recurrir a su eliminación.

En México no se han reportado trabajos sobre la composición química o la presencia de principios activos en esta planta, aunque hay muchos estudios dirigidos hacia la dinámica de crecimiento poblacional. A este respecto, Niño y Lot (1983), plantearon la posibilidad de su control examinando la estructura y mecanismos de regulación de poblaciones clonales, para encontrar las modificaciones en su conducta vegetativa y reproductiva cuando se exponen a un medio ambiente contrastante.

Los estudios de la S.A.R.H., de Delgado (1982) y Alcantar (1982) sobre el análisis químico general elemental y la composición de aminoácidos de ejemplares

mexicanos fueron realizados con el propósito de mostrar el potencial proteínico de la planta.

En cuanto a estudios sobre la naturaleza fitoquímica, contenido de sustancias inorgánicas y compuestos activos en *E. crassipes*, se reportan los trabajos de Yasui *et al.*, (1985) que cultivaron lirio bajo diferentes condiciones y determinaron contenido de K, Na, Mg, Ca, Fe, Mn, Zn, Cu, P y SiO₂ en raíz, peciolo y hoja. Los trabajos de Kaiser-Jamil *et al.*, (1984) demostraron la presencia de una hormona que provoca alteraciones somáticas serias en insectos, considerando la perspectiva de extraer de *E. crassipes* un compuesto útil como control de plagas.

Otros estudios han mostrado la presencia de lípidos en diversas partes de la planta como raíz, hojas, flores, etc., sin que se describa el papel que desempeñan estos compuestos (Lakshminaragana *et al.*, 1984).

Se han detectado polisacáridos en la mucina depositada en la región nodal de la planta, compuesta de D-xilosa, L-arabinosa y L-galactosa en una proporción molar de 1.3 : 1.2 : 1.0, sin especificarse el significado biológico de esta mucina. Es interesante notar la presencia de L-galactosa ya que es un monosacárido que rara vez se encuentra en polisacáridos de origen vegetal (Anjaneyalu *et al.*, 1983).

Al estudiar la biosíntesis de compuestos por *E. crassipes* se encontró que cuando la planta es cultivada en un medio que contiene cadmio es capaz de captar este metal contra un gradiente de concentración, y que la raíz especialmente, sintetiza un complejo metaloproteínico compuesto de ácido glutámico y/o glutamina, cisteína y glicina (10 : 10 : 4), cuyos valores de absorbancia en el espectro recuerdan a las metalotioninas de mariferos (Fujita, 1985; Fujita y Kawanishi, 1986).

En el Departamento de Química de la Atmósfera y Estudios del Agua, de la Universidad Nacional Autónoma de México, se realizó un estudio sobre el efecto citogenético del cadmio en *E. crassipes* que muestran que éste es un buen indicador de la presencia de metales y compuestos mutagénicos en agua (Rosas *et al.*, 1984).

Se ha investigado el contenido de flavonoides del tipo de flavonoles, dos de los cuales campferol y quercitina, son ampliamente distribuidos en las plantas monoco-

tilodóneas presentes al menos en un 10 % del taxa (Dahlgren y Clifford, 1982); de los flavonoides, los más importantes son las antocianinas, las chalconas y auronas que se investigaron usando un muestreo representativo a nivel orden o familia, por lo que no fuè raro que en los estudios de Zimmerman *et al.*, (1983) se encontraran pigmentos rojos, azules y violetas en las paredes del tejido epidèrmico, endodèrmico e hipodèrmico de la raíz del lirio amazónico.

Estudios fitoquímicos de la planta reportan la presencia de ácidos fenólicos, los encontrados fueron: el clorogénico, vanílico, protocatèquico y cumàrico. Los autores sugieren que probablemente juegan un papel importante contra los depredadores puesto que en pruebas de inhibición con microorganismos, el hongo Cercospora rodmanii no creció en presencia de ácidos vanílico y cumàrico a concentraciones de 10 a 100 ppm, en tanto que el hongo Acremonium zonatum sólo fue inhibido a concentraciones de 1000 ppm (Martyn y Cody, 1983).

En algunos órdenes de las monocotiledóneas se conocen compuestos cianogénicos, por lo general formando glucósidos que pudieran estar presentes en el lirio acuáticos (Dahlgren y Clifford, 1982).

Se afirma que en general en la familia Pontederiacae tiene rafides de oxalato y ausencia de saponinas esteroidales (Dahlgren y Clifford, *idem*).

OBJETIVOS

- Confirmar la presencia en ejemplares mexicanos de Eichhornia crassipes (Mart) Solms. (Pontederiaceae), de algunos compuestos químicos reportados en trabajos realizados previamente sobre la especie.

- Investigar los principales metabolitos secundarios presentes en ejemplares de E. crassipes colectados en algunas áreas del Lago de Guadalupe.

- Investigar la naturaleza de los productos químicos aislados y realizar investigación experimental y bibliográfica acerca de su uso potencial.

**DESARROLLO EXPERIMENTAL
Y
RESULTADOS**

El material utilizado en este trabajo fue el de uso común en el laboratorio de química orgánica y los reactivos de marca Merck y J. T. Baker. En cuanto al equipo, los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher Johns, las lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro Spectronic 20 y los espectros infrarrojos se obtuvieron en un espectrofotómetro Beckman utilizando pastilla de KBr.

1. MUESTREO.

Los ejemplares fueron colectados en el Lago de Guadalupe realizándose 3 muestreos que tuvieron lugar en los meses de Abril y Septiembre de 1988 y Enero de 1989. La única muestra que incluyó ejemplares en floración fue la muestra No. 2 que correspondió al mes de Septiembre. El muestreo se realizó tomando los ejemplares próximos a la orilla y a la cortina de la presa en varios puntos del perímetro de la misma (fig. 2).

1.1 Colecta.

Con ayuda de un bieldo se seleccionaron ejemplares adultos completos, de apariencia sana, talla uniforme y ausencia de retoños, depositándose en partes o enteros en bolsas de plástico. Los organismos colectados fueron comparados para su identificación con los ejemplares depositados en el Herbario IZTA de la Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala (Lot y Chiang, 1986) y se incluyeron a la colección ya existente.

1.2 Preparación de las muestras.

Realizada la colecta, se transportaron los ejemplares al laboratorio de química donde después de separarlos en partes como: hojas, meristema, peciolo, raíz y estolón, fueron divididos en fragmentos y dejados secar al aire hasta peso seco, para ser sometidos a las pruebas de identificación y a los procesos de extracción requeridos.

2. ANALISIS FITOQUIMICO.

Las metodologías fueron seleccionadas con relación a la accesibilidad de los reactivos y facilidad de realización de éstas. Asimismo, a lo largo del trabajo experimental se fueron realizando modificaciones para la estandarización de los procesos de análisis.

2.1 Pruebas preliminares.

Fueron realizadas usando extractos etanólicos de cada una de las partes de la planta, ya que el etanol es uno de los disolventes más comúnmente usados en extracciones preliminares; practicándose a los extractos pruebas de identificación por color o precipitación de compuestos químicos activos (Harborne, 1984), por medio de las cuales se detectó la presencia de algunos importantes grupos de sustancias según lo muestra el cuadro I.

2.2 Obtención de extractos.

Los resultados de las pruebas preliminares sugirieron la conveniencia de obtener extractos etanólicos para el aislamiento de algunos de los compuestos activos (ver fig. 3 diagramas de todas las extracciones).

2.2.1 Extracto de las hojas.

Primer extracto.- En un extractor de Soxhlet se colocaron aproximadamente 40 g de hoja seca y se extrajeron con etanol de 96° durante 2 horas. Este extracto se evaporó casi hasta sequedad con la ayuda de un rotavapor conectado a una bomba de vacío. El residuo se disolvió en agua, y una vez que se separaron las clorofilas con éter etílico se evaporó nuevamente a sequedad obteniéndose un residuo sólido que por recristalización produjo aproximadamente 100 mg de cristales de color marrón claro que se purificaron por disolución en ácido clorhídrico (HCl) y precipitación en NH₄OH, obteniéndose cristales blancos (M1) con las características que aparecen en el cuadro II. La cromatografía en placa delgada de sílice gel marca Merck usando como eluyente ácido acético reveladas con yodo, muestran una alta pureza del producto con R_f de 0.75 identificado como una amina alifática insaturada.

Segundo extracto.- 150 g de hoja seca fue extraída con etanol por reflujo en Soxhlet (2 horas). Las clorofilas se extrajeron con éter de petróleo, benceno y metanol (70 : 8 : 23) y su concentración fue determinada por espectrofotometría aplicando la ecuación ajustada (ver apéndice C), dando una concentración de 3.53 mg de clorofila por 150 g de hoja.

Al concentrar el residuo alcohólico resultante se produjo una cristalización espontánea.

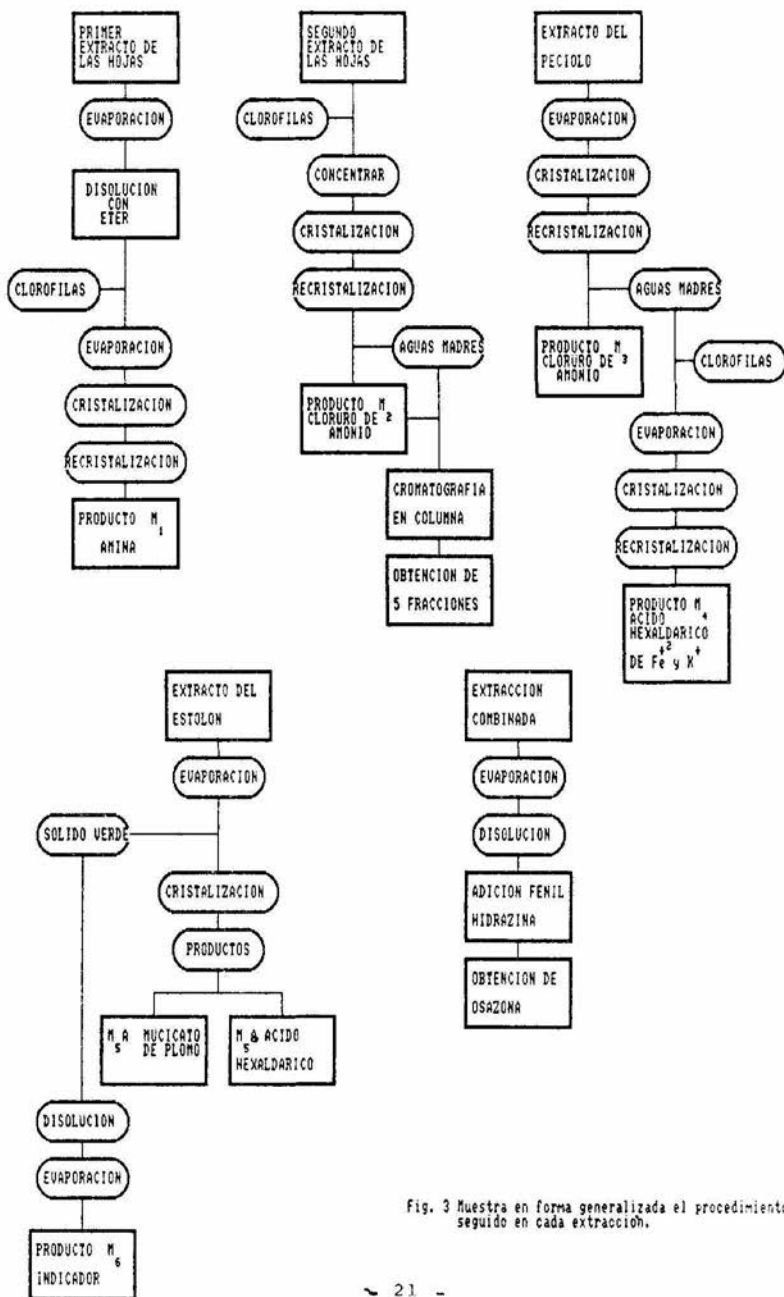


Fig. 3 Muestra en forma generalizada el procedimiento seguido en cada extracción.

CUADRO I. Muestra los resultados de las pruebas preliminares de composición fitoquímica del lirio acuático.

	HOJA	RAIZ	PECIOLLO	ESTOLON	MERISTEMO
ALCALOIDES	-	-	+	-	-
FLAVONOIDES	-	-	-	-	-
FENOLES	+++	+	+	++	+
GLUCOSIDOS	+++	-	+++	+++	+
SAPONINAS	+	-	-	+-	-
TANINOS	+	+++	-	-	+
ESTEROLES	+	++	+	+++	-
ACEITES					
ESENCIALES	++	+	+	+	+

Nota: se indica positiva con el signo (+) o negativa con el signo (-) y la intensidad por el número de cruces.

nea del producto (M2) aislándose por recristalización 5 mg de cristales blancos con pH ácido en solución acuosa. Sus características de solubilidad en agua y punto de fusión mayor de 300C suministraron evidencia de su naturaleza inorgánica. Se realizaron pruebas de identificación de aniones y cationes (Aráncio, 1984) resultando positivas las pruebas para amonio y cloruro.

Las aguas madres fueron concentradas y separadas en fracciones por medio de una cromatografía en columna usando como eluyentes mezclas de polaridad creciente de hexano-benceno-acetona obteniéndose 5 fracciones de mezclas, que por cromatografía en placa delgada de sílica gel aparecen constituidos por más de 10 sustancias. Dada la mínima cantidad en que se encontraba cada una no se intentó su separación, solo se les sometió a pruebas cualitativas de la presencia de grupos de compuestos activos importantes con los resultados mostrados en el cuadro III.

2.2.2 Extracto del peciolo.

Se extrajeron en etanol 286 g de peciolo seco en un extractor Soxhlet durante 2 horas obteniéndose al evaporar el disolvente, un producto sólido que al recristalizarse en agua destilada, produjo 400 mg de un sólido cristalino blanco (M3) que dió positivas las pruebas de cloruros y amonio, lo mismo que el producto (M2).

Las aguas madres restantes fueron tratadas con hexano para eliminar las clorofilas y después se concentraron al vacío hasta tener un residuo semisólido que cristalizó al agregarle ácido acético-etanol absoluto. El sólido fue recristalizado en agua dando lugar a 100 mg de cristales blancos (M4) al cual se le practicaron las pruebas de identificación que muestra el cuadro IV, dando positivas las reacciones para K, Fe, Cl y un ácido derivado de una aldohexosa. El compuesto es tentativamente del tipo de una sal doble de Fe y K de un ácido hexaldárico clorado (fig. 4 C).

2.2.3 Extracto del estolón.

Aproximadamente 8 g de estolón seco se sometieron a extracción con etanol en Soxhlet (2 horas) y después de evaporar el disolvente a vacío quedó un residuo de color verde seco insoluble en alcohol.

CUADRO III. Resultados obtenidos de las pruebas químicas para identificación cualitativa de los compuestos presentes en las fracciones obtenidas en la cromatografía de columna de las aguas madres de M2.

FRACCIÓN	1	2	3	4	5
PRUEBA					
GLUCOSIDOS (18, 20)	-	-	-	-	+
A. ESENCIALES (13)	-	-	-	-	-
ESTEROLES (15)	+	+	-	+	-
SAPONINAS (22)	-	-	-	-	-
AMINA PRIMARIA (2)	+++	-	-	-	+++
AMINA SECUNDARIA (2)	-	-	-	-	-
FENOLES (8)	-	+++	-	-	-

CUADRO IV. Se muestran las pruebas y resultados obtenidos para el producto M4

PRUEBA	PRODUCTO M4
pH	NEUTRO
ANALISIS ELEMENTAL ORGANICO	C. H.
K +	POSITIVO
Fe 2+	POSITIVO
Pb 2+	NEGATIVO
FEHLING (6)	POSITIVO
CLORUROS	POSITIVO
HEXOSAS (7)	POSITIVO
PENTOSAS (7)	NEGATIVO
ACIDO ASCORBICO (28)	NEGATIVO
OXALATOS (25, 26)	NEGATIVO
ACIDO TARTARICO (29)	POSITIVO
	(30) NEGATIVO
ACIDO CITRICO (33)	POSITIVO
	(34) NEGATIVO
	(35) POSITIVO
	(36) NEGATIVO

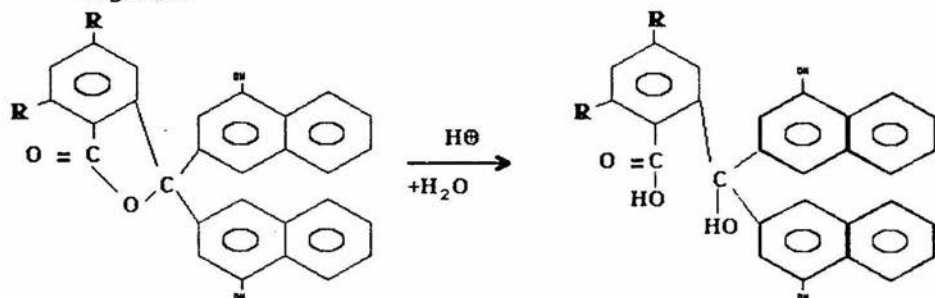
Nota: Los números entre paréntesis corresponden al orden de las reacciones como aparecen en el apéndice B.

Se separó la porción fácilmente soluble en etanol, se disolvió en agua y se aislaron dos sustancias: 5 mg de cristales blancos (MSA) obtenidos al recrystalizar en acetona cuyas reacciones de identificación aparecen en el cuadro V. Dichas reacciones indican que se trata de mucicato de plomo aunque no fue posible aislar el anión en cantidad suficiente para confirmar esta identificación. *(galactarato)

Además del producto anterior, se obtuvieron 20 mg de cristales blancos (MSB) cuyas reacciones de identificación aparecen en el mismo cuadro V, los resultados indican que se trata de una sal doble de K y de Fe de un ácido hexaldárico.

El residuo verde insoluble en etanol y en otros disolventes polares (acetona, acetato de etilo, etc.), se desprendió de las paredes del recipiente con hexano dando una solución verde y dejando un residuo de punto de fusión 95°C.

La solución verde vira a rosa al acidularla con HNO₃ diluido, y nuevamente a verde si se le alcaliniza con NaOH. Se comporta como un indicador Ácido-base (ver curva de neutralización en el apéndice E y espectro infrarrojo en la fig. 5 B), con zona de vire a 6- 7.7 que según la bibliografía (Merck Index) se reporta solo un indicador con características semejantes a la naftoftaleína con zona de vire 8.0 - 8.7 por lo que se hicieron pruebas químicas para naftaleno y fenol, las que resultaron positivas. Esta suposición se refuerza al perder la sustancia su carácter de indicador en curso de sucesivas cristalizaciones que intentaban purificarlo habiéndose transformado en una sustancia incolora cristalina, muy soluble en agua con punto de fusión superior a 300°C, pH en solución acuosa de 2.5 características que parecen indicar que el indicador ha sufrido ruptura irreversible del anillo lactona de 5 miembros como se indica enseguida:



CUADRO V. Resultados de las pruebas de identificación para los productos M5A y M5B indicando positiva o negativa la prueba con los signos (+) y (-), respectivamente (ver apéndice B para número de reacción correspondiente).

PRUEBA	PRODUCTO	M5A	M5B
pH	LIGERAMENTE ACIDO		NEUTRO
P. f.		235 C	-
K +		-	+
Fe 2+		-	+
Pb 2+		+	-
Cd		-	-
FEHLING (6)		+++	++
CLORUROS		-	-
OXALATOS (25)		-	-
(26)		-	-
ACETATOS (27)		+	-
MUCICATOS (37, 38)		+	-
TARTRATOS (31)		-	-
(30)		-	-
CITRATOS (33)		+	+
(34)		-	-
(35)		+	+
(36)		-	-
HEXOSAS (7)		+	+
PENTOSAS (7)		-	-

2.2.4 Investigación de taninos en la raíz.

Con la raíz se realizó una prueba cualitativa (Harborne, 1984) para detectar la presencia de taninos condensados del tipo de proantocianinas o proantocianidinas compuestos que han sido reportados en la literatura. La prueba dió positiva para compuestos del tipo de pelargonidina y cianidina (ver apéndice D) pero la extracción con diclorometano no produjo suficiente material para aislar los taninos presentes.

2.2.5 Extracción combinada de hoja, peciolo y estolón.

Las aguas madres combinadas de las extracciones anteriores después de aislar los productos ya descritos, fueron reunidas y se observó la formación de un sólido de aspecto cristalizabile. Se pudo aislar un producto cristalino por disolución en agua y adición de etanol frío. Este producto no se logró purificar ya que se ennegrecía al calentarlo. Al determinar su punto de fusión se observó caramelización. Da reacción positiva al Fehling por lo que se supone que se trata de un azúcar.

Para obtenerlo puro se preparó el derivado de la fenilhidrazina (osazona), resultando en 100 mg de un sólido de color amarillo intenso con punto de fusión de 205-210°C, que se descompone y carameliza por calentamiento (ver fig 5 infrarrojo C). Al tratarlo con HCl para liberar el azúcar produce escasos cristales incoloros de punto de fusión 130-132°C que se carameliza a 200°C. Los valores de puntos de fusión de carbohidratos tomados de Shriner *et al.*, (1979) indican que podría tratarse de D-manosa (fig. 4).

3. PRUEBAS BIOLÓGICAS.

Ensayo experimental de actividad antimicrobiana.- Además de las pruebas químicas se realizaron pruebas preliminares biológicas para detectar la posible presencia de antibióticos. Se hicieron siembras de *Escherichia coli* en agar nutritivo al que se le adicionaron volúmenes pequeños de infusiones acuosas de las diferentes partes del lirio. Después de la incubación no se observó inhibición lo que se interpretó como prueba negativa de la presencia de sustancias de naturaleza antimicrobiana en los extractos.

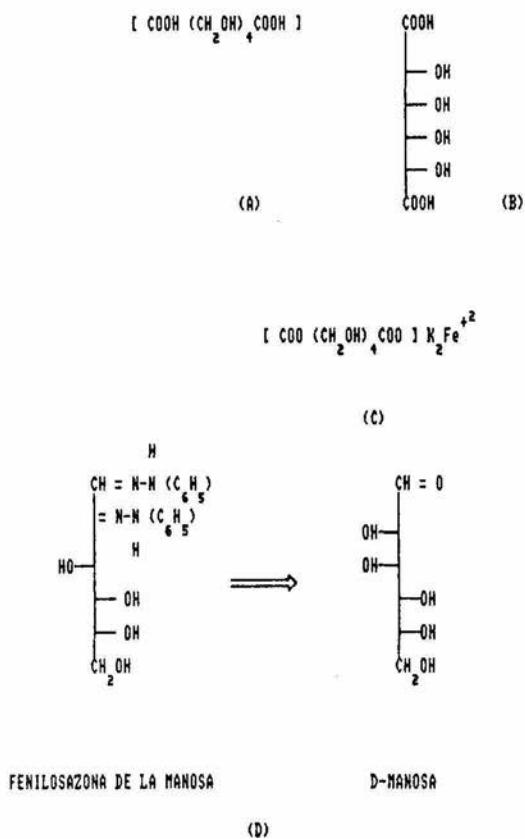


Fig. 4 Formulas estructurales y/o condensadas de los compuestos para M4: ácido hexaldarico (A); para M5A: ácido mucico (B); para M5B: manarato doble de potasio y fierro II (C) y se muestra el procedimiento de obtención de la D-manosa mediante la hidrólisis de su fenilosazona (D).

Ensayo experimental de producción de etanol.- La presencia de azúcares fermentables en los tejidos del lirio fue comprobada al observarse la producción de etanol en suspensiones acuosas inoculadas con *Saccaromyce cereviseae*. Las diferentes partes de la planta produjeron cantidades variables de etanol. Se midió la cantidad de azúcares reductores mediante la técnica de Nelson-Somogy encontrándose una concentración de 0.2 y 0.07 % del peso seco de las muestras fermentadas de hoja y estolón (ver apéndice F).

ANALISIS DE RESULTADOS

La interacción de compuestos sintetizados o acumulados por las plantas con el metabolismo humano o animal es un factor importante en la realización de investigación fitoquímica. El presente trabajo es una contribución al estudio de la composición química de una de las plantas considerada como plaga.

Los estudios previos sobre la fitoquímica de la planta en ejemplares no mexicanos, concuerdan con los estudios que hemos realizado sobre especies mexicanas de *Eichhornia crassipes* (Mart) Solms. De acuerdo con el antecedente (Martyn y Cody, 1983), el lirio acuático acumula en sus tejidos compuestos de tipo fenólico que según se muestra en los resultados de los análisis preliminares aparecen en todas las partes de la planta en cantidad suficiente para su detección (ver cuadro I), aunque insuficiente para su aislamiento y caracterización, en nuestro caso.

Por lo tanto, no fue raro el que se detectara en este estudio la presencia de una estructura compleja de anillos aromáticos y un posible grupo lactona que actúa como indicador ácido-base. La estructura de la molécula es tal que origina un virre de color en presencia de un ácido debida al corrimiento de dobles enlaces cuando hay un cambio de pH. El virre observado y las características del producto que se supone sea el ácido fenólico producido al abrirse la lactona, producto que es muy soluble en agua y siendo orgánico (prueba de carbonización) tiene un punto de fusión superior a 300°C (por lo que no se pudo determinar con el aparato disponible) y con pH fuertemente ácido, podemos deducir que se trata de un derivado de la naftoftaleína cuya fórmula propuesta se muestra en los resultados. Uno de los factores limitantes en la investigación de estos productos fue el que las cantidades extraídas fueron muy bajas, extrayéndose unos cuantos cristales con los cuales detectamos su naturaleza aromática y específicamente la presencia de grupos fenol y naftaleno (ver fig. 5 infrarrojo C), que confirman su similitud con la nafto -

talefina (Merck Index, 1940), aunque no se dispone de una muestra auténtica para comparación. La curva de neutralización (ver apéndice E) mostró que la zona de vire se encuentra entre los valores de pH de 6 a 7.7 que también concuerda con el intervalo de vire de la naftoftaleína.

Exactamente no se sabe si los compuestos hidrocarbonados, específicamente hablando del tipo de naftaleno, sean absorbidos por la planta o sean formados in situ a partir de sustancias preexistentes, pero en un intervalo de toxicidad entre los compuestos hidrocarbonados, el naftaleno ocupa una posición central pues es inhibidor del crecimiento celular y de fotosíntesis, por lo que su ingestión tanto por plantas como por animales causaría alteraciones en el metabolismo normal. La presencia de este tipo de compuestos en E. crassipes es base para desechar su posibilidad de uso como alimento.

Son característicos para la planta los pigmentos del tipo de antocianinas pues fueron detectadas en el presente trabajo y en los trabajos de Zimmerman *et al.*, (1983) en lirio amazónico. Este hecho cumple uno de los objetivos trazados al plantear inicialmente este trabajo.

En relación a lo anterior, se sabe que los taninos (las antocianinas son taninos condensados) se usan ampliamente en el curtido de pieles por sus propiedades astringentes, por lo que E. crassipes pudiera constituirse en fuente potencial de extracción de taninos, aunque se recomienda realizar para ello un estudio cuantitativo de proantocianinas totales y determinar si la extracción es redituable.

No sorprende el que la extracción de taninos con diclorometano no haya producido suficiente producto, debido a que los taninos no cristalizan fácilmente (Tyler, 1979), además de que su solubilidad decrece en relación inversa al tamaño de la molécula unida por enlaces C4-C8 de cada unidad (ver apéndice D). También incrementa su astringencia cuanto más grande sea la molécula, astringencia característica en muchos frutos inmaduros.

Los taninos presentan la capacidad de combinarse con los minerales y materia orgánica del suelo resultando en un complejo resistente al ataque microbiano, por lo que es probable que el papel biológico más importante sea conferir resistencia de los tejidos vegetales a los ataques por microorganismos y virus adjudicada al hecho de que estos polifenoles se asocian a los componentes pro-

técnicos de los virus o de manera similar, inactivando enzimas microbiales (Haslam, 1981). Pese a lo anterior los ensayos de actividad antibiótica con las infusiones de raíz fueron negativos. Es decir, el extracto acuoso de la raíz no contuvo estos compuestos con sus efectos antibióticos. Se ha discutido arriba una explicación de lo anterior.

Uno de los pigmentos que presenta importancia por su abundancia en las plantas verdes son las clorofilas cuya extracción industrial es económicamente atractiva ya que son útiles como colorantes naturales inocuos y por lo tanto, autorizados para adicionarse a alimentos, bebidas y cosméticos; la cuantificación de clorofila en este estudio revela una concentración de 3.53 mg/150 g de planta, que por la abundancia de lirio pudiera constituirse en una cifra significativa que coloque al lirio en posibilidades de aprovechamiento.

Los compuestos aminados en *E. crassipes* son también significativos debido a que no se les había mencionado en trabajos previos.

Las aminas primarias de cadena corta son compuestos muy volátiles (Harborne, 1984) por lo que su obtención es extremadamente difícil. Debido a ello, el compuesto M debe de presentar una cadena de mediano tamaño con uno o más dobles enlaces constituyendo un compuesto insaturado como el reactivo de Baeyer lo reveló. Además de las reacciones para identificación del grupo amino, se confirmó la presencia de este grupo por su alta solubilidad al ácido clorhídrico como se espera de las aminas (Shriner *et al.*, 1979). Al mismo tiempo se infiere su constitución no aromática por su mediano punto de fusión y presentar como negativas dos pruebas para aminas aromáticas (ver cuadro II).

El espectro infrarrojo (apéndice H) presenta dos claros picos en la zona de 3600 cm^{-1} - 3200 cm^{-1} que corresponden a vibraciones de alargamiento de una amina con dos hidrógenos representados por el doble pico (Fessenden y Fessenden, 1983). Sin embargo, la prueba de Van Slyke y la de ninhidrina confirman que se trata de una amina alifática primaria. La absorción en el infrarrojo entre 1250 cm^{-1} - 1100 cm^{-1} indican un enlace C-N y de 1650 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} revelan el doble enlace -C = C- de insaturación. Las absorciones más débiles por ejemplo en aproximadamente 2900 cm^{-1} y 1450 cm^{-1} podrían deberse a CH₃, o bien, la absorción en 2900 cm^{-1} también aparece para la presencia de OH, aunque en este caso particular es un OH carboxílico. Entre la zona de 1650 cm^{-1} - 1600 cm^{-1} aparece

un pico que corresponde también al grupo amino H-N-H o a la insaturación, no pudiéndose determinar con exactitud pues los $-C = C-$ dan lugar a absorciones de intensidad variable y los enlaces de hidrógeno en las aminas son débiles y menos polares (Fessenden y Fessenden, IDEM).

La prueba para alcaloides después de purificado el compuesto fue dudosa por lo que no hay razón sólida para identificarlo como alcaloide.

El papel biológico de las aminas es variado dependiendo de su estructura. Así tenemos que, algunas monoaminas alifáticas sirven para atraer a los insectos para la polinización, algunas poliaminas están relacionadas a procesos de crecimiento por su capacidad de actuar con ácidos nucleicos y se sabe que estimulan muchos procesos que conciernen a la síntesis de proteína *in vivo* y por último, algunas aminas pueden tener un papel de protección contra los depredadores como en el caso de la mescalina en cactus (Smith, 1981). Especificamente hablando de *E. crassipes*, no es claro el papel de la amina encontrada, pero sabemos que su presencia no es constante en la planta, debido a que solo se extrajo de los ejemplares de un solo muestreo (ver resultados), en consecuencia las cantidades extraídas fueron mínimas y no renovables.

El contenido inorgánico de la planta había sido estudiado en forma de iones bajo condiciones controladas de cultivo, por lo que es significativo el hecho de que se hayan encontrado sales dobles de compuestos orgánicos en ejemplares que viven en ambiente naturales. El cloruro de amonio encontrado está presente en cantidad apreciable pues se obtuvieron 405 mg/100 g de muestra aproximadamente. Este compuesto debe ser translocado a las hojas pues en forma independiente la planta absorbe los iones mediante las raíces (Yasui *et al.*, 1985), lo que significa que tales iones se encuentran presentes en alta concentración en el lago en estudio.

Por lo anterior, suponemos que el Lago de Guadalupe es un sistema incapaz de sostener bajo condiciones naturales o de cultivo organismos como los peces, no solo debido a la presencia del lirio, sino que el amonio en altas concentraciones provoca en peces hiperplasia hepática y a 20 mg/litro es letal (Lockwood, 1976).

El uso médico de este compuesto, que está indicado en el apéndice G, presenta al lirio como posible fuente de obtención de este producto, aunque se recomien-

dan estudios posteriores sobre la presencia de este compuesto en lirio acuático colectado en otras zonas.

Otro aspecto sobresaliente en este estudio fue la presencia de plomo, fierro, potasio y cloro en una alta proporción formando sales dobles con compuestos orgánicos. Para la detección de iones fue necesario la realización de tratamientos numerosos -con ácidos, bases, etc- pues en el caso del fierro se encontraba en forma de ion ferroso y hubo que convertirlo a fierro III para detectarlo como sulfocianuro y como azul de prusia. Estos resultados confirman la acción filtrante de la planta con respecto a los metales pesados, y la forma como esos elementos son retenidos y transportados.

La identidad de los ácidos hexaldónicos encontrados es inferida a partir de las reacciones con resorcinol y orcinol, pues la reacción es positiva con el primero, lo que involucra la formación de hidroxifurfural, con compuestos de 6 carbonos, aunque la reacción pueden darla positiva otros compuestos de menos de 6 carbonos, por lo que explica el hecho de que muchas reacciones para ácidos orgánicos de menos de 6 carbonos dieran reacciones positivas, dudosas o negativas, como en el caso de las pruebas positivas para ácido tartárico, cítrico, etc., (Litwack, 1967).

La presencia de carbohidratos en el lirio queda confirmada a raíz de la extracción y obtención de D-manosa mediante la formación de su fenilhidrazona que facilita la identificación del azúcar por poseer formas cristalinas específicas y los tiempos de formación son exclusivos para cada azúcar. Sin embargo, la presencia del disacárido alarga el tiempo de formación del derivado de la osazona del monosacárido, por lo que no fue criterio básico en la identificación de la D-manosa, además de que la asimetría del C2 de las aldosas se pierde en la formación de la osazona, por lo que D-manosa, D-glucosa y D-fructosa originan la misma osazona (Litwack, 1967). Suponemos una estrecha relación de la presencia de este azúcar con la mucina producida por el lirio, ya estudiada en otro trabajo (Anjaneyalu *et al.*, 1963), en el cual no se esclarece el papel biológico de ésta. No obstante, las observaciones realizadas al hacer la colecta en el presente estudio, muestran que organismos como los oligoquetos encuentran un hábitat húmedo y viscoso en esta mucina. Otros organismos tales como quelicerados (arácnidos) e insectos, encuentran un hábitat seguro en las raíces de la planta, sin dejar fuera a los pequeños moscos alojados bajo las hojas.

Por todo lo anterior, podemos observar que el impacto que provoca en el ambiente E. crassipes va más allá de la pérdida de agua, sino que esta involucrado en varios aspectos referidos al equilibrio medioambiental, incluida la interrelación insecto-planta debido a que E. crassipes sintetiza moléculas que imitan hormonas de insectos o que en general, los posibles papeles que tienen sus compuestos secundarios son de actuar como toxinas e inhibidores de alimentación para los insectos.

Por los resultados presentados en este estudio, no se recomienda el uso de E. crassipes como fuente de extracción de productos farmacéuticos sino hasta que se haya realizado un estudio exhaustivo que muestre una estandarización de la biosíntesis de sus metabolitos secundarios.

CONCLUSIONES

- Se confirmó la presencia de algunos compuestos químicos reportados anteriormente sobre E. crassipes, como fenoles, carbohidratos, inorgánicos, metales pesados, entre otros.
- Se detectaron grupos de compuestos no reportados antes en la especie, con estructura química significativa, como en el caso del derivado de la naftoftaleína y del compuesto aminado alifático insaturado.
- Se investigaron además otros metabolitos secundarios de importancia en la depredación, efecto sobre el suelo, curtido de pieles y pigmentación como lo son los taninos.
- Se confirma la acción filtrante de metales pesados, al encontrar plomo asociado a un compuesto orgánico.
- Además, se detectaron otros inorgánicos importantes como el hierro, potasio y cloro que plantean al lirio como filtro de estos, en medios ambientes naturales.
- En cuanto a compuestos de uso médico o industrial se extrajeron cantidades significativas de cloruro de amonio y de manera cualitativa, se detectó la presencia de clorofila, cianidina y pelargonidina.
- Se detectaron compuestos sumamente tóxicos que indirectamente proyectan el estado o condición del Lago de Guadalupe, y que además, descalifican al lirio como recurso alimenticio.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Alcantar, G. E. G. (1982) Estudio preliminar del lirio acuático Eichhornia crassipes como alimento humano. Tesis. ENCB. pp. 7-18
- 2.- Anjaneyalu, Y. V. y col (1983) Structural features of a polysaccharide from the mucin of water hyacinth. Phytochem. 22(9): 1961-1963
- 3.- Aráñez, A. (1984) Química analítica cuantitativa. México. Calypso, S. A. pp. 466-498; 439-443
- 4.- Boyd, C. E. (1968) Fresh water plantas: a potential source of protein. Econ. Botanic 22: 359-368
- 5.- idem (1969) The nutritive value of three species of water weeds Econ. Botanic 23: 123-127
- 6.- idem (1976) Accumulation of dry matter nitrogen and phosphorus by cultivated water hyacinth. Econ. Botanic 30: 51-56
- 7.- C. F. E. (1979) Informe de combate de malezas acuáticas Vaso la Angostura. Departamento de mantenimiento civil, región de generación hidroeléctrica Grimalva. México. p.12
- 8.- Cooley, T. N. y Martin, D. F. (1980) Diurnal variation of selected parameters under water hyacinth and in open water. Florida Sci. 43(1): 26-32
- 9.- COPLAIN (1984) Asesoría para el control, uso y aprovechamiento de malezas acuáticas. SEDUE. pp. 3-7; 37-40; 64-68; 75-82; 117-118
- 10.- De la Campa y Guzmán, S. (1963) El lirio acuático, su control y combate. Boletín de piscicultura rural. S. I. C. XIII. México. pp. 79-89
- 11.- Cornwell, D. et al., (1977) Nutrient removal by water hyacinth. J. Water Poll. Control Fed. 49: 57-65
- 12.- Cruz, C. M. (1980) Estudio para remover contaminantes en los desechos de la industria petrolera. Tesis. I. P. N. México, D. F. pp. 10-20
- 13.- Dahlgren, M. T. R. y Clifford, H. T. (1982) The monocotyledons: a comparative study. Nueva York. Academic Press. pp. 297, 262, 263, 264, 265, 266.
- 14.- Delgado, H. (1982) Estudio para el Aprovechamiento

- del lirio en una dependencia de la SARH. Tesis. ENCB. pp. 3-8
- 19.- Dinges, R. (1978) Upgrading stabilization pond effluent by water hyacinth culture. Journal water pollution control federation. 5: 833-845
 - 20.- Dominguez, X. A. (1979) Métodos de investigación fitoquímica. México. pp. 13-43
 - 21.- Excelsior, Periódico. 16 de Abril de 1989, 17 y 21 de Julio de 1988.
 - 22.- Feigl, F. (1978) Pruebas a la gota en análisis orgánico. El manual moderno. pp. 55-60; 76, 88.
 - 23.- Fessenden, R. J. y Fessenden, J. S. (1983) Química orgánica. México, D. F. Grupo editorial ibero-americana. pp. 323-326
 - 24.- Fujita, M. (1985) The presence of two Cd-binding components in the roots of water hyacinth cultivated in a Cd²⁺ containing medium. Plant Cell. Physiol. 26(2): 295-300
 - 25.- Fujita, M. y Kawanishi, T. (1986) Purification and characterization of a Cd-binding complex from the root tissue of water hyacinth cultivated in a Cd²⁺ Containing medium. Plant Cell Physiol. 27(7): 1317-1325
 - 26.- Gopal, B. y Sharma, K. P. (1979) Aquatic Weed control versus utilization. Econ. Bot. 33: 340-346
 - 27.- Harborne, J. B. (1984) Phytochemical Methods. (2a ed) Nueva York y Londres, Chapman y Hall. pp. 4-15
 - 28.- Haslam, E. (1981) Vegetable tannins en: Conn, E. E. editor. The biochemistry of plants, A comprehensive treatise. Nueva York; Academic Press Incl. Vol 7 pp. 527-553
 - 29.- Herrera, V. R. et al. (1980) Control biológico del lirio acuático mediante la carpa herbívora Ctenophangodon idella en estanques controlados. An. Centro de ciencias del mar y limnol. UNAM. México 7(2): 259-274
 - 30.- Jayaraman, K. S. (1981) From rank weeds to riches. Nature. 291(5812): 183

- 31.- Kaiser-Jamil, Rani-Usha y Hyagarajan, G. T. (1984) Apotential new juvenil hormone mimic. Int. Pest. Control. 26(4): 106-108
- 32.- Kümmerlin, R. R. (1984) Unicelular production of etanol and protein in deproteinized extracts of plants. Agro Sur 12(2): 93-99
- 33.- Lakshminaragana, G. K. et al. (1984) Lipid composition in roots, stalks, leaves and flowers of *Eichhornia crassipes*. Aquat. Bot. 20(3,4): 219-228
- 34.- Litwack, G. (1967) Bioquímica experimental. Barcelona. ed. Omega. pp. 23, 37-68
- 35.- Lockwood, A. P. M. (1976) Effects of pollutants on aquatic organisms. Cambridge. Cambridge University Press. pp. 58-61; 74-75; 116-123.
- 36.- Lot, H. A. y Chiang, F. (1986) Manual de herbario. Consejo Nacional de la flora de México, A. C. México. pp. 87 y 142
- 37.- Laurent, P. (1976) Eutroficación de los lagos en: P. Pesson. La contaminación de las aguas continentales. p. 103
- 38.- Manual de Laboratorio de Química Orgánica (1988) ENEP Iztacala. UNAM. pp. 19-22
- 39.- Marck, V. L. et al. (1984) Efficiency digestive of west indian manatee (*Trichetus manatus*). Fla. Sci. 47(3): 176-179
- 40.- Martyn, R. D. y Cody, Y. S. (1983) Isolation of phenol cells from water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) leaves and posible effects growth of folier pathogens. J. Aquat. Plant Manage 21(2): 58-61
- 41.- Merck Index (1940) The Merck Index (5a ed) Nueva York. Merck and Co. Inc.
- 42.- McDonald, R. C. y Wolverton, B. C. (1980) Comparative study of waste water lagoon with and without water hyacinth. Econ. Bot. 34: 101-103
- 43.- Mitchell, D. S. y Thomas, P. A. (1970) Notes on the ecology of salvinia species and *Eichhornia crassipes* in South America. Ecology of the water weeds in the neotropics. Technical papers in hidrology. UNESCO. pp. 22-37

- 44.- Moss, B. (1980) Ecology of fresh waters. Black Well Scientific Publications. Oxford. p. 37
- 45.- Niño, S. M. S. y Lot, H. A. (1983) Estudio demográfico del lirio acuático *Eichhornia crassipes* (Mart) Solms: dinámica de crecimiento en dos localidades selectas de México. Bol. Soc. Bot. Mèx. 45: 71-73
- 46.- Parada, A. E. y Campos F. A. (1973) producción de concentrados proteicos de hojas a nivel rural. Tecnología de alimentos. 6: 272-275
- 47.- Quiroz, F. . et al. (1982) Uso potencial de algunas hidrofitas como abono verde en la zona chinampera de Xochimilco. Biotica. vol 7. No. 4: 631-633
- 48.- Rosas, I. et al. (1984) Citogenetic accumulation effects of Cadmium on *Eichhornia crassipes*. Environ. Res. 33(2): 386-395
- 49.- Sánchez, S. O. (1980) La flora del Valle de México (6a ed.) México. Editorial Herrero. p. 519
- 50.- Sanders, D. R. et al. (1982) Organisms impacting water hyacinth in Panama Canal. J. Aquat. Plant Manage. 20: 22-39
- 51.- S.A.R.H. Subsecretaría de planeación, Dirección general de protección y ordenación ecológica. Protección y ordenación ecológica en la delegación de Xochimilco. pp. 75-80
- 52.- Shriner, et al. (1979) Identificación sistemática de compuestos orgánicos. México, D. F. Editorial Limusa. pp. 95-96; 143, 164-165; 192, 209, 278-280; 351-554
- 53.- Síntesis Geográfica, Nomenclátor y Anexo Cartográfico del Estado de México. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática.
- 54.- Stawinski, T. M. y Monroy, O. H. (1982) Metales tóxicos en el lirio acuático en: II Congreso sobre problemas ambientales de México, COPEA. ENCB., México, D. F.
- 55.- Tyler, V. E., Brady, L. R. y Robbers, J. E. (1979) Farmacognosia (2a ed.) México. Editorial el Ate-neo. pp. 89-90

- 56.- Uribe, C., Cortés, R., y Celis, B. (1985) El lirio acuático. Biología. 15(1-4): 27-29
- 57.- Widganto, L. S., Sopannata, A. y Usman, J. F. (1983) Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) as potential plant in a paper factory. J. Aquat. Plant Manage. 21(0): 32-35
- 58.- Wolverton, B. C. y McDonald R. C. (1978) Nutritional Composition of water hyacinth grown on domestic sewage. Econ. Bot. 32: 363-370
- 59.- Yasui, et al. (1985) Distribution of components inorganics in water hyacinth *Eichhornia crassipes*. Rep. Natl. Food Res. Inst. 0(46): 120-126
- 60.- Zimmerman, et al. (1983) Soluble pigments from the roots of the amazon water hyacinth *Eichhornia crassipes*. Amazoniana. 8(1): 67-74

APENDICES

Apéndice A

Distribución nacional del lirio acuático y zonas afectadas.

El lirio acuático es una planta nativa de Brasil que se ha extendido por todo el mundo.

En nuestro país se ha constituido en un serio problema en los cuerpos de agua dulce como la cuenca Lerma-Chapala, Lago de Xochimilco y Pátzcuaro, entre otros.

Se le encuentra ocupando zonas hidrológicas y de riego, solo o con otras malezas acuáticas, en los estados de: Aguascalientes infestando la Presa Niágora, ocupando un área de 256 Ha; Colima infestando 1000 Ha en la laguna de Potrero Grande; Durango ocupando 20.8 Ha en la Laguna de Oxida; en Guanajuato ocupa 2300 Ha en la Presa Solís; en Guerrero ocupa 280 Ha en la Laguna de 3 Palos y 33 Ha en la Laguna de Coyuca; en Hidalgo ocupa 108 Ha en la Laguna de Zupitán y 1210 Ha en la Presa Endhó y en la Presa Huesca ocupa 300 Ha; en Jalisco ocupa 400 Ha en la Presa Hurtado; en el Estado de México ocupa 6240 Ha en la Presa Jose A. Alzate y en el Lago de Guadalupe no ha sido cuantificada el area infestada; en Michoacán en el Lago de Pátzcuaro ocupa 1040 Ha, en el río Lerma 350 Ha en la Presa Melchor Ocampo 660 Ha y en la derivadora el Mosquete 150 Ha; en Morelos ocupa 3.8 Ha en el canal Estacas; en Nayarit ocupa 50 Ha en el Lago Varica; en Puebla ocupa 2100 Ha en la Presa Manuel Avila Camacho; en Querétaro ocupa 25 Ha en la Presa Paso de Tablas y 50 en la Presa Alfredo Bonfil; en Sinaloa ocupa 1636 Ha en la Presa Sorolona, 1819 Ha en la Presa López Mateos y 160 Ha en la Presa Mariquitas; en Tabasco en las zonas pantanosas ocupa 12500 Ha; en Tlaxcala en la Laguna de Acuitlanlico ocupa 60 Ha; en Veracruz 3422 Ha en la Laguna Tortuga y en el Distrito Federal 560 Ha en el Lago de Xochimilco.

Apéndice B

Ensayos Químicos

Análisis elemental C, H, N, X, O (Shriner et al., 1979; Brewster et al., 1974).

Análisis cualitativo: - Potasio (K) y Hierro (Fe) (Aráneo, 1984; Feigi y Anger, 1978).
- Plomo (Pb) y cadmio (Cd) como sulfuros (Aráneo, 1984).

Análisis funcional orgánico.

- 1.- Amonio (NH₄) con papel rojo de tornasol (Aráneo, 1984).
- 2.- Amina primaria y secundaria con ninhidrina y nitrprusiato, respectivamente (Harborne, 1984).
- 3.- Amina primaria (NH₂) por reacción de Van Slike.
- 4.- Insaturación por reacción de Baeyer (Brewster et al., idem).
- 5.- Aminas aromáticas (C₆H₅ - N) por reacción de Paoline y Lauth (Merck Index, 1940).
- 6.- Aldehidos y cetonas por reacción con Fehling y Tollens (Brewster et al., idem; Shriner et al., idem; Litwack, 1967).
- 7.- Hexosas y pentosas con resorcinol y orcinol, respectivamente (Litwack, idem).
- 8.- Fenoles: - reacción con cloruro férrico y agua de bromo (Brewster et al., idem)
- 9.- reacción de Endemann (Merck Index, idem).
- 10.- reacción con cloruro férrico corregida: se sigue la metodología pero el cloruro férrico se disuelve en cloroformo al 10 % o partes iguales (Shriner et al., idem).
- 11.- Naftaleno: - reacción de sulfonación y nitración (Brewster et al., 1974).
- 12.- reacción con dicromato de potasio (Merck Index, 1979).

Análisis fitoquímico

- Aceites esenciales: 13.- reacción con formaldehído y ácido sulfúrico (Dominguez, 1979).
- Alcaloides: 14.- reacción con el reactivo de Dragendorff (Dominguez, idem).
- Esteroles: 15.- reacción de Lieberman-Burchard (Dominguez, idem).
- Fenoles: 16.- (las mismas anteriormente descritas)
- Flavonoides: 17.- reacción de Shinoda (Dominguez, idem).

- quez, idem).
- Glucósidos: 18.- reacción con el reactivo de Molish (Dominguez, idem).
 - 19.- reacción de Fehling (ya descrita).
 - 20.- prueba de Euvn-Richstein (Merck Index, 1940).
 - saponinas: 21.- reacción con formación de espuma (Dominguez, idem).
 - 22.- reacción con antrona (Merck Index, idem).
 - Taninos: 23.- reacción de precipitación de gelatina (Tyler et al., 1979).
 - 24.- reacción con HCl en ebullición (Harborne, 1984).
 - Oxalatos: 25.- reacción con cloruro de calcio (Aràneo, 1984).
 - 26.- reacción con hidrazina (Merck Index, idem).
 - Acetatos: 27.- reacción con cloruro ferrico (Aràneo, idem)
 - Acido ascòrbico: 28.- reacción con plata (Merck Index, idem).
 - Acido tartàrico: 29.- reacción del anillo violeta (idem).
 - 30.- reacción con beta naftol (idem).
 - 31.- reacción de formación espejo (Aràneo, 1984).
 - 32.- reacción modificada con nitrato de cobalto (CoNO₃) se acidula la muestra como se indica y se añade el CoNO₃ y luego de alcalinizar con hidróxido, para el ácido tartàrico aparece un rojo violeta que persiste al añadir 6-7 gotas de hidróxido con agitación. Para ácido ascòrbico resulta rojo sangre, para oxàlico un precipitado blanco a rosa, para cítrico un rojo intenso que cambia a marrón después de titularse con 6-7 gotas de hidróxido de sodio y posterior agitación (Merck Index,
 - Acido cítrico: 33.- reacción modificada con

- nitrato de cobalto.
- 34.- reacción de Flaurel (idem)
- 35.- reacción de Merck (idem).
- 36.- reacción de Rodillón (idem).
- Acido málico: 37.- reacción de Shwanert (Feigl, 1978).
- 38.- reacción de Biuret (Merck Index, 1940).
- Acidos urbónicos: 39.- reacción para los carbohidratos (Feigl, idem).

APENDICE C

Determinación cuantitativa de clorofilas.

Se preparó un volumen de 500 ml de una mezcla éter-benceno-metanol (70 : 8 : 23) para la extracción de clorofilas. Se tomó un ml de este extracto y se agregó a un volumen de 7 ml de acetona al 80 % para obtener una proporción de 1:7 de clorofilas.

Se mide la absorbancia en 663 y 646 nm y se calcula la concentración de acuerdo a las fórmulas (Harborne, 1984):

$$\text{Clorofila total (mg/l)} = 17.3A646 + 7.18A663$$

$$\text{Clorofila a} = 12.2A663 - 2.8A646$$

$$\text{Clorofila b} = 20.13A646 - 5.03A663$$

Lectura A646 = 0.018

Lectura A663 = 0.018

 CONCENTRACION DE
 CLOROFILAS

Clorofila total 0.441 mg/l

Clorofila a 0.17 mg/l

Clorofila b 0.27 mg/l

Se realiza el siguiente ajuste:

$$0.441 \text{ mg Cl/ml soln dil } \left(\frac{8 \text{ ml soln dil}}{1 \text{ ml soln}} \right) \left(\frac{500 \text{ ml soln}}{1 \text{ ml soln}} \right)$$

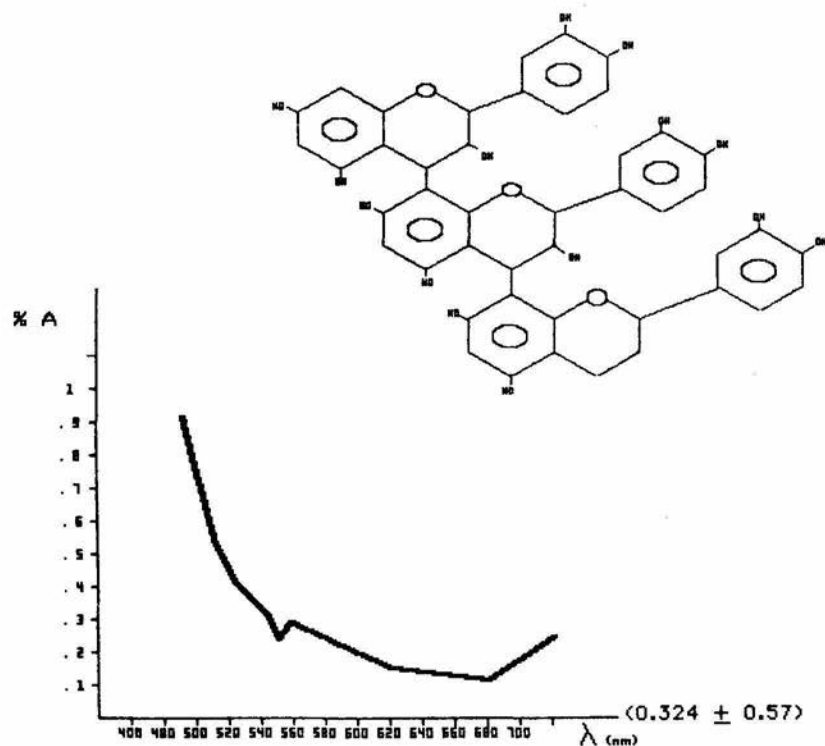
Concentración de clorofilas totales por 150 g de planta

3.53 mg/150 g de planta.

APENDICE D

Determinación de taninos condensados.

El término proantocianina o proantocianidina se usa para nombrar a los taninos condensados debido a que en tratamieto ácido los enlaces entre carbono-carbono se rompen y se desprenden monómeros de antocianidina. La técnica de detección y el procedimiento experimental para su identificación fue realizada según lo describe Harborne (1984). Se muestra la gráfica de absorción en el espectro en el cual se observa el pico a 550 nm que confirma la naturaleza antocianidínica del pigmento tal y como en la bibliografía se indica.



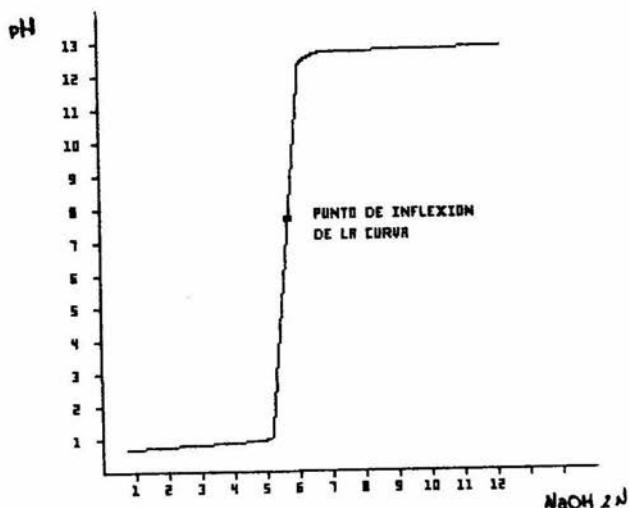
APENDICE E

Determinación del punto de vire de color del producto M6

El compuesto es soluble y vira a rojo en ácido nítrico diluido. Se realizó una curva de neutralización para determinar zona de vire mediante una titulación de la solución preparada agregando 25 gotas de ácido nítrico a 10 ml de agua. El producto se disolvió en esta solución ácida y se determinó el pH con papel indicador para corroborar el estado de acidez; se preparó una solución 2 N de NaOH y se realizó la titulación con ayuda de un potenciómetro Corning mod. 610 A registrándose valores de pH contra ml gastados de NaOH.

Lecturas de ml gastados	Valores de pH
0	0.5
1	0.5
2	0.7
3	0.9
4	1.1
5	6.0
5.3	7.7
5.5	11.0

La gráfica de neutralización muestra la zona de vire:



APENDICE F

Determinación de la concentración de azúcares.

La determinación de azúcares reductores se llevó a cabo mediante la técnica de Nelson-Somogy (Manual de Laboratorio de Química Orgánica, 1988) ajustando por regresión lineal para encontrar la mejor interpolación de los valores experimentales (valor de $r = 0.998$).

Las muestras de material vegetal fueron etiquetados por orden numérico creciente, para cada una de las muestras, según se muestra en el cuadro. Se añaden los valores de concentración de azúcares presentes en 100 g de muestra, obteniéndose de la siguiente forma:

Concentración soln. patrón de glucosa: 200 $\mu\text{g/ml}$
Entonces:

μg calculados en cada punto de curva X 60 ml de H₂O
en la que se encontraban las muestras.

La cantidad de azúcares reductores presentes por cada 100 g de planta se obtiene de la siguiente forma:

$$\frac{\mu\text{g calculados}}{X} \times \frac{\text{peso seco de la muestra}}{100 \text{ g de planta}}$$

El siguiente cuadro resume los resultados:

TUBO	CURVA	PATRON	MUESTRA	EXPERIMENTALES	
	% A AJUSTE	[] g		% A	[] g AJUSTE
1	0	0	ESTOLON	1.9	177.5
2	0.521	50	RAIZ	1.25	117.3
3	1.062	100	PECIOLD	0.56	53.6
4	1.603	150	HOJA	2	186.7
5	2.144	200			

APENDICE G

Uso médico o industrial de productos encontrados en el lirio acuático.

PRODUCTO	CARACTERISTICAS	USO MEDICO O INDUSTRIAL
M2 y M3	De bajo color u olor cristales blancos, sabor salino, algo higroscópico. Sublima sin fusión. pH 4.6 soluble en H ₂ O alcohol, glicerina, metanol, casi insoluble en acetona y éter. Incompatible con álcalis y sus carbonatos; plomo y sales de plata.	Expectorante, diurético en dosis altas en hidropesía renal, acidificación urinaria y estimulante de las membranas mucosas. Se usa internamente en afecciones bronquiales, influenza respiratoria, congestión hepática, infecciones urinarias y ataques alcohólicos posteriores (en dosis máximas). Externamente se usa en clorasma y contusiones. Dosis de 0.3 a 1.36 mg. Se usa industrialmente en las capas de revestimiento de hierro con zinc, en baterías, mezclas para congelamiento y secado, galvanoplastia, flujo de soldadura, explosivos de seguridad, algodón lustre, manufactura de tintas y en cemento para tubos de hierro.

SPECTROSCOPIA
 DATE 13/05/55
 SAMPLE M₁

SOURCE
 NIT. 12.10

CELL
 KBr
 SOLVENT
 5% CH₂Cl₂

ANALYST Saito G. Mura

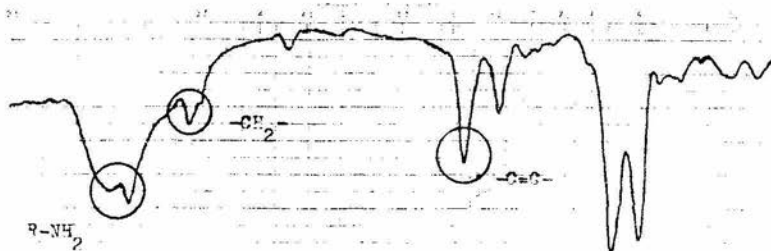


Fig. 5 A. Espectro infrarrojo de una amina alifática

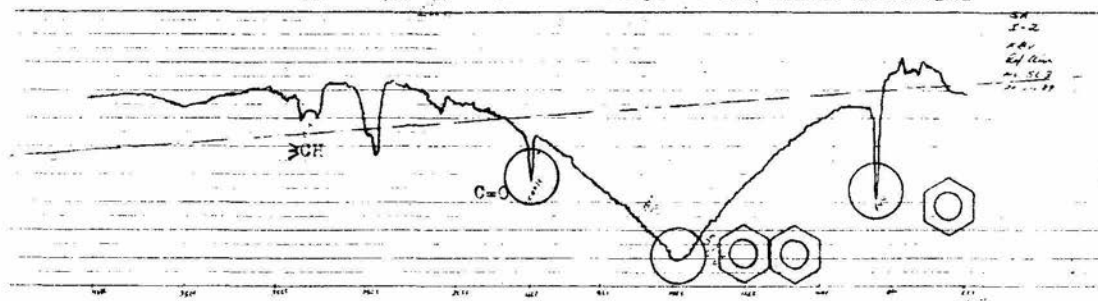


Fig. 5 B. Espectro infrarrojo del indicador ácido-base.

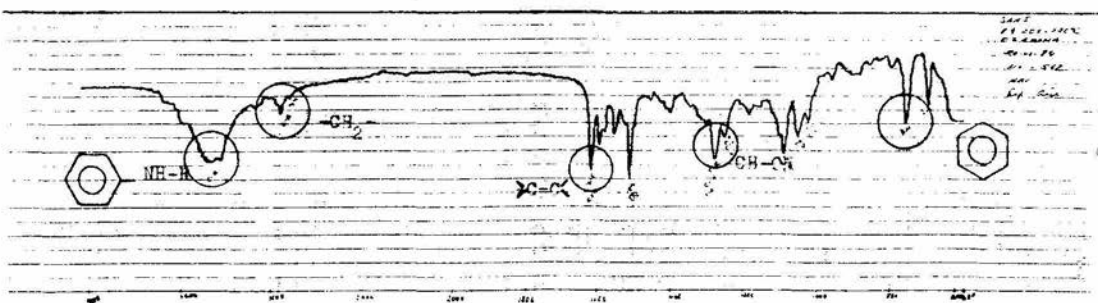


Fig. 5 C.- Espectro infrarrojo de la osazona de la D-manosa.