

POSIBILIDADES QUIMIOTAXONOMICAS  
DE LOS EXUDADOS GOMOSOS  
PRODUCIDOS POR LAS ESPECIES ARGENTINAS  
DEL GENERO *BROMELIA* (BROMELIACEAE)<sup>1</sup>

Por NESTOR O. CAFFINI<sup>2</sup>, GRACIELA M. BONGIORNO DE PFIRTER<sup>2</sup>  
Y MARTA S. BUTTAZZONI DE COZZARIN<sup>3</sup>

SUMMARY

The present work deals with the chemotaxonomic possibilities of gum exudates found upon the fruits of the four argentine *Bromelia* species: *B. balansae* Mez, *B. laciniosa* Mart., *B. serra* Griseb. and *B. hieronymi* Mez.

The study of the chemical composition of each exudate provides a new taxonomic alternative for the differentiation of the named species, confirming the systematic usefulness of these natural products.

INTRODUCCION

A pesar que el uso de caracteres químicos en la Botánica Sistemática tiene una larga historia, la consolidación de la "Fitoquímica Comparada", "Quimiotaxonomía" o "Bioquímica Sistemática" como una disciplina distinta y desarrollada data de sólo una decena de años atrás (Haywood, 1973), época en la que aparecen las obras de Alston y Turner (1963), Mentzer y Fatianoff (1964), los simposios editados por Swain (1963) y Leone (1964) y los primeros volúmenes del tratado de Hegnauer (1962-66).

Son numerosos los productos naturales vegetales que han demostrado un mayor o menor grado de aplicación en Quimiotaxonomía: de ellos son seguramente los flavonoides los que han provisto los mejores resultados, pero también han recibido preferente atención sustancias tales como los

<sup>1</sup> Trabajo realizado en la Cátedra de Botánica de la Facultad de Ciencias Exactas (UNLP), con un Subsidio otorgado por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Universidad Nacional de La Plata.

<sup>2</sup> Dres. en Farmacia y Bioquímica.

<sup>3</sup> Lic. en Ciencias Bioquímicas.

alcaloides, taninos, compuestos cianogenéticos, algunos hidrocarburos presentes en ceras, aminoácidos no proteicos y betacianinas, entre otros.

Los polisacáridos vegetales, por el contrario, no han estimulado mayormente el interés de los quimiotaaxónomos, a tal punto que Percival (1966) afirma que "sólo en muy pocos casos los polisacáridos han probado ser de utilidad en taxonomía", pero en su descargo es justicia señalar que también han sido escasos los intentos de correlacionar los resultados del análisis químico de estas sustancias con un criterio sistemático.

Entre los polisacáridos susceptibles de ser utilizados como "marcadores taxonómicos" se encuentran los exudados gomosos y los mucílagos. Si bien ya Maiden en 1889 había sugerido que el estudio químico de los exudados gomosos podría ser de utilidad en las clasificaciones botánicas, hasta la aparición del trabajo de revisión de Anderson y Dea (1969) referido a la posible aplicación quimiotaaxonómica de las gomas de *Acacia*, no existía ningún intento orgánico que permitiera confirmar aquella temprana presunción. Posteriores estudios realizados sobre algunos exudados de *Albizzia* (Anderson y Dea, 1968), *Lannea* (Anderson y Hendrie, 1969) y *Araucaria* (Anderson y Munro, 1969), así como los efectuados sobre nuevas gomas de *Acacia* incluidas en las series *Botryocephalae* (Anderson et al., 1971) y *Phyllodineae* (Anderson et al., 1972) parecen robustecer la posición de estos productos naturales en el campo de la Fitoquímica Comparada.

La pretensión de utilizar los datos sobre la composición química de los exudados gomosos y mucílagos como aporte a la Sistemática Vegetal exige, por una parte, el conocimiento actualizado de los estudios fitoquímicos realizados en tal sentido y en segundo término la clasificación de toda la información obtenida dentro de un esquema taxonómico. Sin embargo, se carecía hasta ahora de una bibliografía química ordenada de acuerdo a un criterio botánico. Una revisión realizada últimamente (Caffini y Priolo de Lufrano, 1974) sobre la composición de gomas y mucílagos producidos por plantas superiores puede proporcionar un panorama amplio y objetivo sobre el tema.

En el presente trabajo se pretende dar una proyección taxonómica al análisis químico de los exudados gomosos que producen los frutos de las cuatro especies de *Bromelia* (*B. balansae* Mez, *B. laciniosa* Mart., *B. serra* Griseb. y *B. hieronymi* Mez) existentes en el país; el mismo constituye un aporte parcial de un proyecto más vasto llevado a cabo en la Cátedra de Botánica, que incluye estudios de la anatomía foliar (Castells y Nájera, 1974) y de los flavonoides (Galdeano y García, 1975) de las especies mencionadas.

## MATERIAL Y METODOS

## MATERIAL ESTUDIADO

*Bromelia balansae*. Corrientes: Esquina, C. Landoni, 22-III-1970 (LPE); Saladas, E. Pfirter, V-1970 (LPE).

*Bromelia laciniosa*. Misiones: Tres Fronteras, N. Caffini et C. Landoni, 15-II-1971 (LPE); Tres Fronteras, E. Mandrile, 22-IV-1971 (LPE).

*Bromelia serra*. Santa Fe: Depto. Vera, Arroyo El Toba, M. Nájera, 16-VII-1970 (LPE); Chaco: Ruta Nac. N° 11, Km 1010, N. Caffini et C. Landoni, 20-II-1971 (LPE); Resistencia, M. Nájera, 27-IV-1972 (LPE).

*Bromelia hieronymi*. Santiago del Estero: Ruta Nac. N° 9, entre Sgo. del Estero y Termas de Río Hondo, N. Caffini et C. Landoni, 12-XII-1971 (LPE).

## LOS EXUDADOS GOMOSOS

En todos los casos las gomas se encuentran adheridas a los frutos, presentándose como verdaderas "lágrimas" redondeadas, o en fragmentos irregulares de formas caprichosas determinadas por su ubicación entre los mismos. Generalmente son de color amarillo pálido y aspecto vítreo, pudiendo encontrarse también "suertes" de una tonalidad más intensa, hasta pardo rojiza; son inodoras, con sabor mucilaginoso y algo dulzaino.

Los frutos resultan a menudo invadidos por hormigas y otros insectos, no descartándose la posibilidad de relacionar su presencia con la aparición de la gomosis.

## MÉTODOS

*Purificación de la goma*

Cada muestra de goma fue finamente pulverizada y disuelta mediante agitación en agua destilada hasta obtener una solución al 8 % (P/V), que luego de filtrada a través de muselina fue adicionada gota a gota sobre 14 volúmenes de etanol. El precipitado así obtenido, separado por centrifugación, fue disuelto en agua y reprecipitado con etanol. Después de una tercera precipitación la goma fue lavada sucesivamente con etanol (3 veces), éter sulfúrico (3 veces) y secada al vacío (Hamilton et al., 1957).

*Hidrólisis*

Una fracción (1-2 g) de cada una de las muestras de goma purificada fue sometida a hidrólisis durante cuatro horas con 100-200 ml de ácido

sulfúrico N en baño de agua hirviente; la solución fue neutralizada con hidróxido y carbonato de bario, separándose las sales de bario insolubles por centrifugación y posterior pasaje a través de Amberlita IR-120 ( $H^+$ ) (Aspinall y Nasir-Ud-Din, 1965).

Los productos de hidrólisis fueron concentrados hasta consistencia casi siruposa y pasados a través de una columna (K 9/60, Pharmacia Fine Chemicals) conteniendo 6 g de DEAE Sephadex A-25 (forma formiato). La elución de la columna con agua destilada asegura la remoción completa de los azúcares neutros, los que son analizados por separado; la adición posterior de ácido fórmico de concentración creciente (0,05-0,5 M) permite la separación de los azúcares ácidos retenidos por la columna (Aspinall y Sanderson, 1970).

#### *Análisis cualitativo*

La solución conteniendo azúcares neutros fue analizada por cromatografía descendente sobre papel Whatman N° 1, utilizándose los siguientes solventes de desarrollo: acetato de etilo-ácido acético-agua (4:1:1), *n*-butanol-ácido acético-agua (12:3:5), fenol saturado con agua y este último más el agregado de 1 % de hidróxido de amonio; como reactivo revelador se utilizó en todos los casos solución de bencidina (Smith, 1969). La fracción neutra también fue estimada por cromatografía unidimensional en capa fina, sobre un soporte de sílica-gel "G" (Merck) impregnada con solución 0,034 M de ácido bórico, usando *n*-butanol-acetato de etilo-isopropanol-ácido acético-agua (3:10:6:6:3) como solvente de desarrollo y solución de naftoresorcinol como reactivo revelador (Lato et al., 1968).

La fracción ácida que eluye de la columna al agregar ácido fórmico fue analizada separadamente por cromatografía descendente sobre papel Whatman N° 1 utilizando acetato de etilo-ácido fórmico-ácido acético-agua (18:1:3:4) como solvente de desarrollo (Jones y Wise, 1952) y solución de bencidina como revelador.

#### *Estimación cuantitativa*

Luego de la hidrólisis, y con el objeto de determinar la composición cuantitativa de las fracciones ácida y neutra, las mismas fueron separadamente sometidas al método desarrollado por Dubois et al. (1956), que fundamentalmente consiste en una técnica cromatográfica sobre papel, seguida de una determinación colorimétrica basada en la reacción del fenol-sulfúrico.

## RESULTADOS

La goma de *Bromelia balansae* se halla constituida exclusivamente por azúcares neutros, sin advertirse la presencia de ácidos urónicos en su composición, que arroja los siguientes resultados:

Galactosa .....	43,9 %
Arabinosa .....	29,4 »
Xilosa .....	26,7 »

La relación molar Galactosa/Arabinosa/Xilosa es aproximadamente 1,37:1,10:1.

La goma de *Bromelia laciniosa*, además de los azúcares neutros antes citados, contiene una fracción ácida que eluye de la columna de DEAE Sephadex A-25 cuando la concentración de ácido fórmico es 0,4 M y da una sola mancha ( $R_{Galacturónico} = 0,52$ ) cuando se cromatografía sobre papel Whatman N° 1 con acetato de etilo-ácido fórmico-ácido acético-agua (18:1:3:4) como solvente de desarrollo.

El análisis de dicha fracción, que es sumamente resistente a la hidrólisis, revela que la misma está representada por un oligosacárido ácido compuesto por ácido galacturónico y xilosa. La composición cuantitativa de esta goma es la siguiente:

Galactosa .....	31,6 %
Arabinosa .....	40,7 »
Xilosa .....	26,7 »
Oligosacárido ácido .....	4,2 »

Los azúcares neutros (Galactosa/Arabinosa/Xilosa) guardan entre sí una relación molar de aproximadamente 1,12 : 1,73 : 1.

La goma de *Bromelia serra* presenta los mismos componentes que la anterior, difiriendo solamente en el aspecto cuantitativo:

Galactosa .....	33,7 %
Arabinosa .....	22,1 »
Xilosa .....	30,1 »
Oligosacárido ácido .....	14,1 »

La relación molar de los azúcares neutros (Galactosa/Arabinosa/Xilosa) es aproximadamente 1,27:1:1,36.

La goma de *Bromelia hieronymi* difiere de las anteriores en que la fracción ácida, además del oligosacárido ácido antes mencionado, contiene ácido glucurónico. Su composición cuantitativa es la siguiente:

Galactosa .....	10,1 %
Arabinosa .....	19,0 »
Xilosa .....	14,2 »
Oligosacárido ácido .....	54,2 »
Acido glucurónico .....	2,5 »

La relación molar de los azúcares neutros (Galactosa/Arabinosa/Xilosa) es aproximadamente 1 : 2,26 : 1,69.

Las diferencias existentes en la composición química de las cuatro gomas estudiadas pueden ser mejor apreciadas a través de la representación gráfica que muestra la Fig. 1.

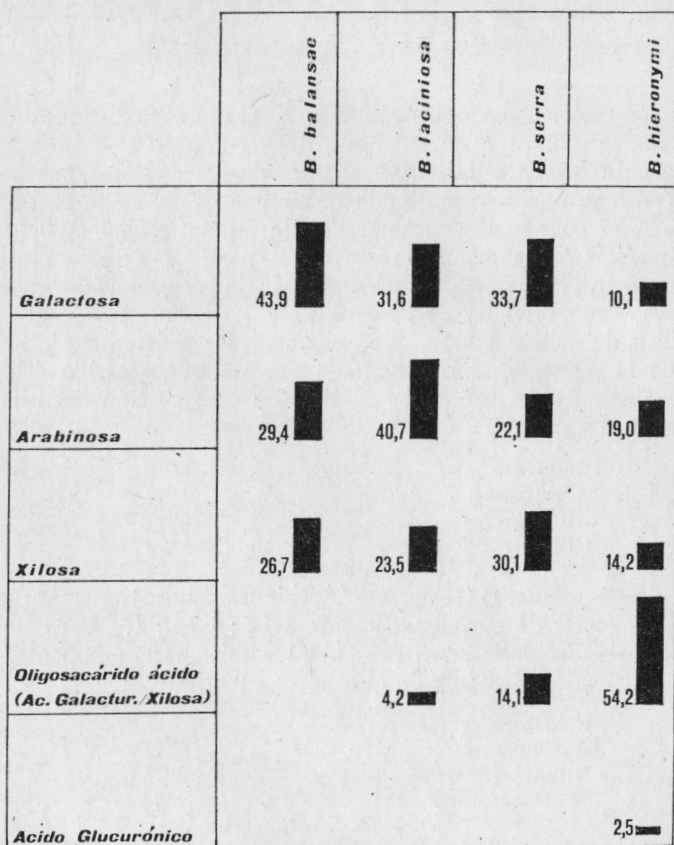


Fig. 1. — Cuadro comparativo de la composición química de los exudados gomosos producidos por las especies argentinas del género *Bromelia* (Bromeliaceae)

#### CONCLUSIONES

El análisis de los datos cuantitativos referidos a la composición química de los cuatro exudados gomosos estudiados permite efectuar las siguientes consideraciones:

- a) Todos están constituidos por los mismos azúcares neutros (Galactosa, Arabinosa y Xilosa) aunque en distinta proporción.
- b) La goma de *Bromelia balansae* es la única compuesta exclusivamente por azúcares neutros; las demás incluyen residuos ácidos en su estructura. Este hecho registra ya antecedentes en la bibliografía: la goma de *Opuntia ficus-indica* es neutra (Amin et al., 1970) mientras que la de *O. fulgida* contiene ácido galacturónico (Parikh y Jones, 1966) y la de *O. megacantha* ácido glucurónico (Churms et al., 1973).
- c) No existen diferencias cualitativas entre las gomas de *Bromelia laciniosa* y *Bromelia serra*, pero el oligosacárido ácido (ácido galacturónico-xilosa) se halla en la última en una proporción considerablemente mayor. Por otra parte, en *Bromelia laciniosa* las relaciones molares entre Arabinosa/Xilosa, Galactosa/Xilosa y Arabinosa/Galactosa son superiores a uno, mientras que en *Bromelia serra* las mismas relaciones son inferiores a la unidad.
- d) La goma de *Bromelia hieronymi* se distingue de las demás por ser la única que presenta ácido glucurónico. El oligosacárido ácido antes mencionado representa más de la mitad de su composición, mientras que el contenido de Galactosa es sensiblemente menor que en las demás gomas.

Las observaciones apuntadas autorizan a otorgar al estudio químico de los exudados gomosos real validez en la distinción de las cuatro especies estudiadas, ratificando al mismo tiempo la potencial utilidad taxonómica de estos productos naturales.

En el caso particular del género *Bromelia* en la Argentina, donde los caracteres exomorfológicos de las distintas especies resultan insuficientes para asegurar su identificación, los datos provistos por el análisis de sus gomas, junto a la información obtenida de la anatomía foliar (Castells y Nájera, loc. cit.) y del estudio de los flavonoides (Galdeano y García, loc. cit.) aparecen como alternativas valiosas para su reconocimiento y diferenciación.

#### BIBLIOGRAFIA

- ALSTON, R. E. y TURNER, B. L., 1963. "Biochemical systematics", Prentice Hall, New Jersey.
- AMIN, EL S., AWAD, O. M. y EL-SAYED, M. M., 1970. "Mucilage of *Opuntia ficus-indica*". *Carbohydr. Res.*, 15 (1): 159-161.
- ANDERSON, D. M. W. y DEA, I. C. M., 1968. "Chemotaxonomic aspects of the chemistry of *Albizia* gum exudates", *Advancing Frontiers of Plant Sciences*, 23: 169-175.
- 1969. "Chemotaxonomic aspects of the chemistry of *Acacia* gum exudates", *Phytochemistry*, 8: 167-176.
- ANDERSON, D. M. W. y HENDRIE, A., 1969. "The chemistry of *Lannea* gum exudates", *Advancing Frontiers of Plant Sciences*, 24: 41-45.

- ANDERSON, D. M. W. y MUNRO, A. C., 1969. "An analytical study of gum exudates from the genus *Araucaria* Jussieu (Gymnospermae)", *Carbohydr. Res.*, 11: 43-51.
- ANDERSON, D. M. W., BELL, P. C. y McNAB, C. G. A., 1971. "An analytical study of some *Acacia* gum exudates of the series *Botryocephalae*", *Carbohydr. Res.*, 20: 269-274.
- 1972. "Analysis of six *Acacia* gum exudates of the series *Phyllodineae*", *Phytochemistry*, 11: 1751-1754.
- ASPINALL, G. O. y NASIR-UD-DIN, 1965. "Plant gums of the genus *Sterculia*. I. The main structural features of *Sterculia urens* gum", *J. Chem. Soc.*, 1965: 2710-2720.
- ASPINALL, G. O. y SANDERSON, G. R., 1970. "Plant gums of the genus *Sterculia*. IV. Acidic oligosaccharides from *Sterculia urens* gum", *J. Chem. Soc. (C)*, 1970: 2256-2258.
- CAFFINI, N. O. y PRIOLO DE LUFRANO, N. S., 1974. "Composición de gomas y mucílagos de plantas superiores. Revisión fitoquímica", *Revista Farmacéutica* 116 (10-12): 95-105 (segunda parte en prensa).
- CASTELLS, A. R. C. DE y NAJERA, M. T., 1974. "Anatomía foliar de las especies argentinas del género *Bromelia* (Bromeliaceae)", *Bol. Soc. Arg. Bot.*, 16 (1-2): 66-78.
- CHURMS, S. C., STEPHEN, A. M. y VAN DER BIJL, P., 1973. "Methylation and hydrolysis studies of a gum from *Opuntia megacantha Lehmanniana*", *J. S. African Chem. Inst.*, 26 (2): 45-52.
- DUBOIS, M., GILLES, R. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A. y SMITH, F., 1956. "Colorimetric method for determination of sugars and related substances", *Anal. Chem.*, 28: 350-356.
- GALDEANO, H. L. y GARCÍA, P. M., 1975. "Especies argentinas del género *Bromelia* (Bromeliaceae). Estudio quimiotaxonómico", *Bol. Soc. Arg. Bot.* 16 (4): 413-419.
- HAMILTON, J. K., SPRIERSTERSBACH, D. R. y SMITH, F., 1957. "The structure of chagual gum. I. Composition of the gum and isolation of 2-O-(D-Glucopyranosiduronic acid) D-Xylose", *J. Am. Chem. Soc.*, 79: 443-446.
- HEGNAUER, R., 1962-1966. "*Chemotaxonomie der Pflanzen*", vols. I-IV, Birkhauser, Basel.
- HEYWOOD, V. H., 1973. "The role of chemistry in Plant Systematics", *Pure and Appl. Chem.*, 34: 355-375.
- JONES, J. K. N. y WISE, L. E., 1952. "The hemicelluloses present in Aspen wood (*Populus tremuloides*). Part II", *J. Chem. Soc.*, 1952: 3389-3393.
- LATO, M., BRUNELLI, B., CIUFFINI, G. y MEZZETTI, T., 1968. "Bidimensional thin layer chromatography of carbohydrates on silica gel impregnated with boric acid", *J. Chromatog.*, 34: 26-34.
- LEONE, C. A. (Ed.), 1964. "*Taxonomic Biochemistry and Serology*", New York.
- MAIDEN, J. H., 1889. *Proc. Linn. Soc. (New South Wales)*, 4: 605, 1277, citado por Anderson y Dea (1969).
- MENTZER, C. H. y FATIANOFF, O., 1964. "*Actualités de Phytochimie Fondamentale*", Paris.
- PARIKH, V. M. y JONES, J. K. N., 1966. "Cholla gum. I. Structure of the degraded cholla gum", *Can. J. Chem.*, 44 (3): 327-333.
- PERCIVAL, E., 1966. en Swain T. (Ed.). "*Comparative phytochemistry*", Academic Press, New York, pág. 139.
- SMITH, I., 1969. "*Chromatographic and electrophoretic techniques*. Vol. I.: *Chromatography*", pág. 316, Interscience Pub., New York.
- SWAIN, T. (Ed.), 1963. "*Chemical Plant Taxonomy*", Academic Press, London.