

ESTUDIO QUÍMICO
DE
UNA GRAMINEA ARGENTINA — *ELIONURUS VIRIDULUS* » HACKEL¹

POR ALFONSO ANDRÉS VIDAL²

I. INTRODUCCIÓN

Entre las plantas que se desarrollan en nuestro país, poco conocidas desde el punto de vista fitoquímico, se encuentra la especie *Elionurus viridulus* Hackel, conocida vulgarmente como « pasto bravo ». En las búsquedas bibliográficas efectuadas se han encontrado únicamente datos botánicos.

Trátase de una gramínea muy difundida en los campos arenosos del centro de la República, poco o nada apetecida por el ganado, según informe del ingeniero agrónomo Arturo E. Ragonese, quien me sugirió la conveniencia de efectuar su estudio químico a fin de conocer su composición e identificar el o los principios inmediatos que le proporcionan esta cualidad.

En tal sentido he creído conveniente realizar todos los ensayos y análisis químicos aconsejados para este tipo de estudio, tales como preliminar, sumario, inmediato y de cenizas sobre la especie de referencia, cuya determinación botánica fué realizada por el ingeniero agrónomo Lorenzo R. Parodi.

¹ Trabajo de tesis del profesorado, realizado en la Cátedra de Química Agrícola (Fitoquímica) de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Eva Perón. Recibido para su publicación el 9 de agosto de 1954.

² Profesor Adjunto de la mencionada Cátedra. El autor agradece al profesor Carlos M. J. Albizzati, las sugerencias recibidas durante la realización del trabajo.

II. DATOS BOTÁNICOS

Desde el punto de vista sistemático, esta planta es una gramínea de la tribu de las Andropogoneas.

De acuerdo con la descripción de Hackel (7) es una planta perenne, cespitosa, de unos 60 cm de altura. Hojas estrechamente lineales con pelos setosos, convolutas, de hasta 20 cm de largo, acuminadas en el ápice, glaucescentes. Espigas terminales cilíndricas, aisladas, de 6-8 cm de largo y 5-6 mm de ancho, con raquis articulado muy frágil, velluda, formada por numerosas espiguillas. Espiguillas unifloras, ordenadas alrededor del raquis, dispuestas de a dos en cada articulación, siendo una sésil y la otra pedicelada (figs. 1 y 2).

Espiguilla sésil: Hermafrodita, anchamente lanceolada, de 7-8 mm de longitud, hirsuta. Glumas 3: la inferior igualando a la espiguilla coriácea, largamente bisubulada en el ápice, con pelos rígidos en el dorso, 8-nervada; la media lanceolada, membranosa, con margen hialino ciliado, 3-nervada; la superior lanceolada aguda, hialina, ciliolada; lemma 3-nervada de ápice mucronado. Pálea ausente. Antera de 3 mm de largo.

Espiguilla pedicelada: Masculina, con pedicelos de 2.5 mm de largo, pilosa, de 6 mm de largo, lineal lanceolada; gluma inferior acuminada en el ápice con margen ciliado y dorso brevemente piloso.

Especie afín a *Elyonurus candidus*, de la que difiere por la gluma inferior de la espiguilla sésil, largamente bisubulada.

Distribución geográfica: Frecuente en los campos arenosos del centro de la República Argentina, siendo la zona típica la Provincia de Córdoba.

III. MATERIAL UTILIZADO

Las determinaciones fueron realizadas sobre ejemplares de la especie citada originarios de la zona medanosa sud de la Provincia de Entre Ríos, que fueron plantados en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Castelar y posteriormente, en el mes de julio de 1952, trasplantados al campo didáctico de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Eva Perón, siendo cortadas para su estudio en, el mes de julio de 1953.

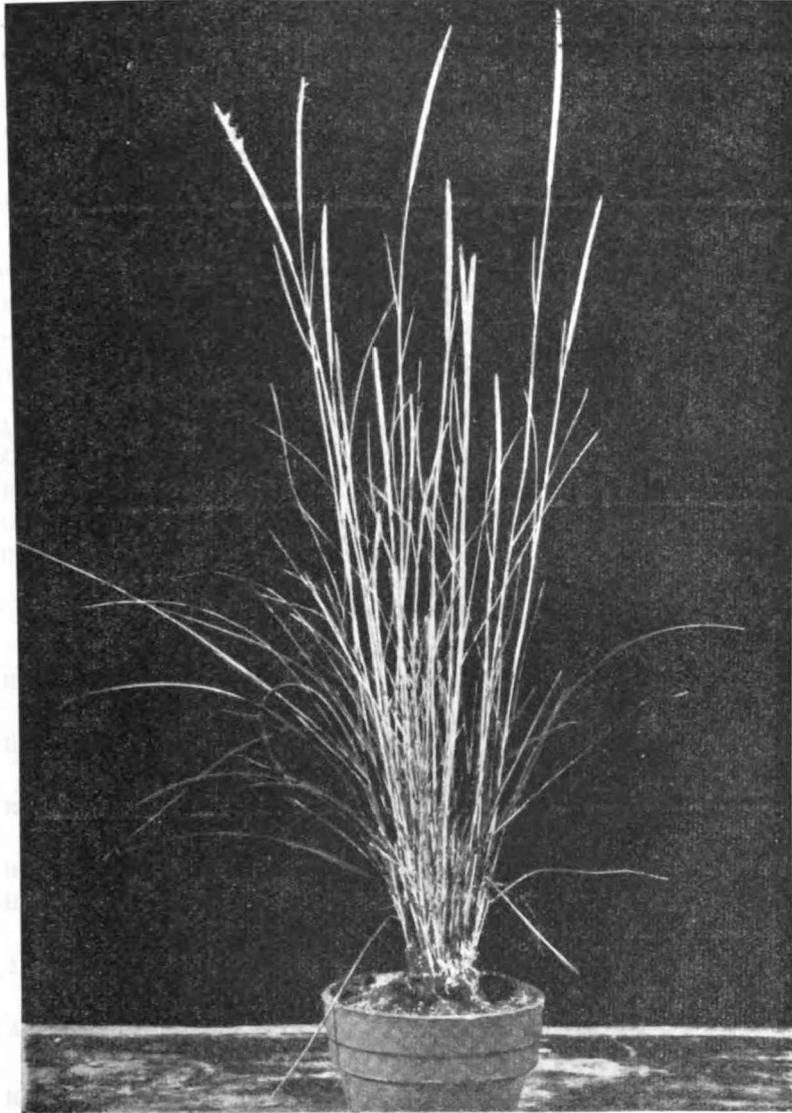


Fig. 1. — *Elyonurus ricidulus* Hackel

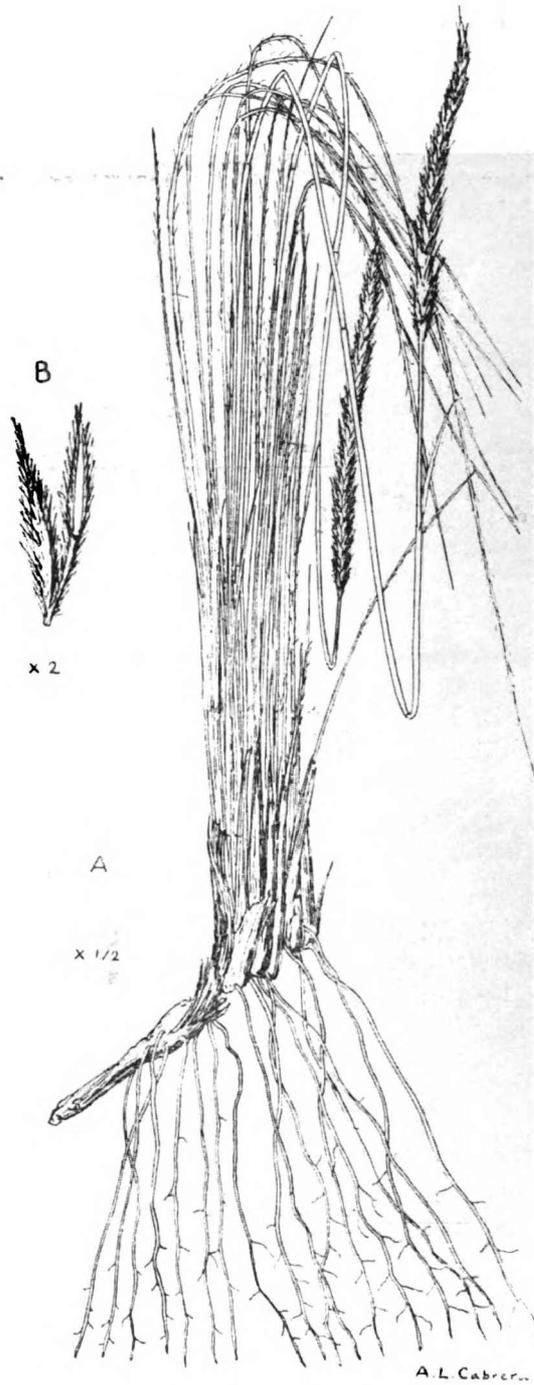


Fig. 2. — *Elyonurus viridulus* Haekel: A. planta entera; B. espiguilla. (Dibujos tomados de A. L. Cabrera, *Apuntes sobre la vegetación del Partido de Pellegrini*, DAGI, 3 (1) La Plata, 1945).

IV. ESTUDIO QUÍMICO

A. *Ensayos preliminares.* — Para efectuar el estudio bioquímico de la especie sin descuidar el punto de vista forrajero, es conveniente realizar los ensayos preliminares, para cerciorarse de la presencia o ausencia de ciertas sustancias muy difundidas en el reino vegetal tales como glucósidos, saponinas, etc., facilitando de ese modo la orientación de los análisis o ensayos posteriores.

Para la realización de este tipo de ensayos he seguido la técnica aconsejada por Rosenthaler (9), aplicada por Albizzati (1) en su trabajo sobre *Glycyrrhiza astragalina* Gill. y por Pelanda Ponce (8) en su estudio sobre el Curá Mamuel. Se obtuvieron los siguientes resultados :

Aspecto de la solución : marrón rojizo algo turbio.

Sabor : amargo.

Reacción : ácida al papel de tornasol.

Olor : fuertemente aromático.

Reacción con acetato de plomo : precipitado de coloración blanquecina ; acción que tiene dicha sal sobre las materias tánicas, mucilaginosas y proteínas. Efectuó la separación del precipitado anterior por filtración y al líquido (a) lo trato :

Reacción con sub-acetato de plomo : el líquido (a) con este reactivo no da precipitado.

Reacción con cloruro férrico : precipitado tenue con una coloración débilmente verdosa, debida posiblemente a las sustancias tánicas.

Reacción con acetato de cobre : se forma precipitado indicando la presencia de taninos.

Reacción con licor de Fehling : hay reducción.

Reacción con licor de Fehling previo tratamiento con ácido clorhídrico : hay reducción.

Agitación directa : hay formación de espuma persistente indicando presencia de gomas, mucílagos y saponinas.

Agitación del líquido en presencia de mercurio : tiene la propiedad de pulverizarlo.

Reacción con sangre : no se produce hemólisis.

Reacción de Shoenbein : negativa.

Reacción de Guignard : negativa.

Los resultados obtenidos con estos ensayos nos permiten descartar en principio la presencia de saponinas y glucósidos cianogénicos.

B. *Análisis sumario*. — Para su realización he aplicado la técnica seguida por Pelanda Ponce (8). Los datos que a continuación inserto fueron obtenidos con la planta completamente pulverizada y sobre la cual, como operación previa, se determino la humedad que alcanzo a 9.66%.

Datos analíticos

Cenizas total	18.60 »
Cenizas solubles	0.58 »
Cenizas insolubles	18.02 »
Materia grasa bruta	5.89 »
Celulosa bruta	34.62 »
Celulosa pura	27.21 »
Nitrogeno total	1.83 »
Materia proteica bruta (N × 6.25)	9.19 »
Materia proteica digerible	5.04 »
Materia proteica no digerible	4.15 »
Materia proteica pura	8.50 »
Extractivos no nitrogenados	31.70 »

Los datos obtenidos nos indican que la especie en estudio no puede ser considerada buena forrajera desde el punto de vista nutritivo.

C. *Análisis inmediato*. — Conocidos ya los datos correspondientes a los análisis preliminar y sumario, se procedió a efectuar el análisis inmediato, siguiendo la técnica más usada por los investigadores en esta clase de trabajos, que es la de Dragendorff y Schlagdenhauffen (5) con ciertas modificaciones dadas por Allen (2) y que fuera aplicada por Albizzati (1) y Ceriotti (4) en su estudio sobre la *Villaresia megaphylla* y *Villaresia congouha*.

Las diversas operaciones a realizar siguiendo esta técnica pueden resumirse en la forma siguiente :

1° Agotamiento sucesivo de las sustancias por disolventes especiales.

2° Fraccionamiento de cada porción obtenida.

3° Caracterización de los componentes de cada porción por reacciones y procedimientos especiales.

Modo operatorio: para la realización de este análisis he tomado 25 gramos de la planta finamente pulverizada, seca, usando como aparato de extracción el Soxhlet.

Se dejó la sustancia en maceración durante 6 horas, realizándose las extracciones a temperatura de ebullición, esto en lo que respecta a los extractos benecínicos y metílicos: pues en los tratamientos con

agua fría, ácido sulfúrico, hidrato de sodio al 2 %, agua de bromo en medio amoniacal, se han seguido las indicaciones dadas por Allen (2).

Datos analíticos

A. Extracción benzenica

Tiempo de extracción.....	12 horas
Color.....	verde intenso
Aspecto.....	turbio
Color del residuo.....	pardo obscuro
Olor del residuo.....	desagradable picante

B. Extracción metilica

Tiempo de extracción.....	24 horas
Color.....	pardo amarillento
Aspecto.....	turbio
Color del residuo.....	pardo rojizo

C. Extracción en agua fría

Tiempo de extracción.....	10 horas
Color.....	amarillento
Aspecto.....	turbio
Color del residuo.....	pardo amarillento

D. Extracción en ácido sulfúrico al 1 %

Tiempo de extracción.....	hasta reacción negativa con agua de yodo
Color.....	amarillento
Aspecto.....	límpido

E. Extracción en hidróxido de sodio al 2 %

Tiempo de extracción.....	2 horas
Color.....	marrón rojizo
Aspecto.....	turbio

F. Extracción en agua de bromo y amoníaco

Color.....	amarillo
Aspecto.....	límpido

**Resultados obtenidos por el procedimiento de Dragendorff y Schlagdenhauffen,
modificado por Allen**

A. Materias solubles en benzol.....	4.696 ° „
B. » » alcohol metílico.....	5.368 »
C. » » agua fría.....	4.520 »
D. » » ácido sulfúrico al 1 ° „.....	18,320 »
E. » » hidróxido de sodio al 2 ° „.....	32,152 »
F. » » agua bromo-amoniacal.....	12,096 »
G. Celulosa.....	16,853 »
H. Cenizas residuales.....	6.003 »

A. Extracto bencénico

Extracto bencénico.....	4.696 ° „
Sustancias volátiles a 100-110°.....	0.312 »
Materias solubles en agua.....	0,285 »
Cenizas del extracto acuoso.....	0,023 »
Materias solubles en HCl al 4 ° „.....	0,232 »
Materias solubles en alcohol metílico.....	2,428 »
Aceites fijos y otras materias grasas y resinas.....	1.404 »

En este fraccionamiento he ensayado los métodos para investigación de alcaloides, con resultado negativo.

B. Extracto metílico

Extracto metílico total.....	5.368 ° „
Cenizas del extracto.....	1.468 »
Extracto soluble en agua.....	4.784 »
Cenizas del extracto acuoso.....	0.232 »
Taninos, ácidos orgánicos y materias precipitables por sales de plomo.....	2.585 »
Resinas ácidas y colorantes solubles en amoníaco.....	0.975 »
Materias colorantes, sustancias extractivas, etc.....	2.664 »
Azúcar reductor en $C_6H_{12}O_6$	0.325 »
Azúcar no reductor en $C_{12}H_{22}O_{11}$	0.054 »
Resinas y materias solubles en alcohol.....	2.853 »

C. Extracto acuoso

Extracto acuoso total.....	4.520 ° „
Cenizas del extracto acuoso.....	1.468 »
Eritrodextrina.....	negativo
Arabinato de calcio en CaO	0.381 ° „
Albuminoides ($N \times 6,33$).....	3.545 »
Arabina, dextrina, compuestos pépticos.....	negativo

D. Extracto sulfúrico

Extracto sulfúrico total.....	18,320 " „
Cenizas del extracto sulfúrico.....	2,580 »
Almidón (Método de Lindet).....	1,966 »
Materia proteica (N x 6,33).....	2,317 »
Sustancias no determinadas y pérdidas.....	9,110 »

E. Extracto alcalino

Extracto alcalino.....	32,152 " „
Sustancias pécticas, humus, etc. (materias precipitables por HCl).....	6,324 »
Sustancias no determinadas.....	25,828 »

F. Extracto de agua bromo-amoniacal

Lignina y materias colorantes.....	12,096 " „
------------------------------------	------------

Residuo

G. Celulosa pura.....	16,852 " „
H. Cenizas residuales.....	6,004 »

Taninos. — Habiéndose revelado en el extracto alcohólico la presencia de sustancias que respondían a la propiedad de los taninos, se procedió a efectuar su determinación.

Para clasificar este tanino se utilizó la reacción de Stiasny y algunas otras reacciones de coloración.

La reacción de Stiasny está basada en la precipitación del tanoforino, usando para ello una solución de formaldehida al 40 % y ácido clorhídrico concentrado.

La técnica a seguir es la siguiente: se toman 50 cc de la solución tanante, con 5 cc de HCl concentrado y 10 cc de formol al 40 % y se calienta durante 30' a temperatura de ebullición en un Erlenmeyer con refrigerante a reflujo. Se enfría y se filtra.

Preparación de la solución tanante: se toman 20 gramos del vegetal, finamente molido y tamizado, que se colocan en maceración con agua en el aparato de Koch, la extracción se lleva a cabo hasta obtener un volumen de 1000 cc; el líquido obtenido era de coloración pardo amarillenta, límpido, volviéndose opalescente al cabo de unas horas.

Con esta solución se efectúa la reacción de Stiasny, ya que por este procedimiento los taninos catéquicos precipitan totalmente, mientras que los pirogálicos pasan en el líquido de filtración. En el caso del tanino del *Elionurus viridulus* Haeckel no se obtuvo precipi-

tación ni aún calentando; con alumbre férrico y acetato de sodio se produjo la coloración azul violácea que denuncia la presencia de tanino pirogálico.

Este ensayo y las reacciones de coloración realizadas, que se detallan a continuación, me indican que el tanino en cuestión es un tanino pirogálico.

Reacciones : Efectuadas sobre una solución al 2 %.

Amoníaco : coloración amarillo verdosa con escaso precipitado.

Acetato de cobre : precipitado gelatinoso amarillo verdoso.

Alumbre de hierro : coloración verde amarillento.

Acido sulfúrico : coloración amarilla que con amoníaco se intensifica.

Hidróxido de bario : coloración verdosa.

Hidroxido de potasio : coloración amarillenta.

Molibdato de amonio : precipitado amarillo (Reacción de Gardiner).

Cloruro férrico : coloración rojiza.

Sulfato ferroso : coloración azul verdosa.

Licor de Fehling : en frío da color verdoso, pero en caliente hay reducción.

Determinación cuantitativa : Se realizó sobre la solución obtenida por el procedimiento indicado anteriormente, aplicando el método de Lowenthal Hunt, indicado por Allen (2).

El resultado obtenido fué el siguiente : 0,41 % s s.

Materia colorante — En el extracto alcohólico también se puso en evidencia la presencia de materia colorante, razón por la cual se procedió a identificar las agrupaciones que la constituían, siguiendo para ello la técnica aconsejada por Brisemoret's; esta reacción nos indicó que en la materia colorante de la especie en estudio había agrupaciones correspondientes al ácido elágico por la coloración verde amarillenta característica que tomó la solución alcohólica.

Resinas. — También en el extracto alcohólico se evidenciaron resinas, motivo por el cual se procedió a su estudio siguiendo la técnica aconsejada por Rosenthaler (9), aplicada por Rothlin (10) en su estudio de la resina del molle.

En primer lugar se estudiaron las constantes químicas :

Índice de acidez : para obtener este dato se operó por valoración directa, obteniéndose como promedio de tres determinaciones el valor 103,6.

Índice de saponificación : por el mismo se combinan al estado de sales potásicas todos los ácidos resinosos, ya sea que estos se encuen-

tren o no combinados con otras bases. Como promedio de tres determinaciones se obtuvo el valor 198,0.

Índice de éter : se obtiene por diferencia de los índices anteriores, siendo el caso presente igual a 95,4.

Las variaciones de estos índices son debidas a que las resinas en cuestión tienen una cantidad de impurezas que varía entre 20 y 22 %, así como también, a que en todas las resinas varían las proporciones de sus componentes.

Para estudiar los diversos componentes de que podía estar constituida la resina se procedió del siguiente modo :

Separación de los ácidos : para tal fin se utilizó el tratamiento con OHK al 1 %; el ácido resinoso precipitó en flocones de un color blanco sucio, se recogió el precipitado sobre un papel de filtro tarado, lavándolo con abundante cantidad de agua destilada y se secó en desecador sulfúrico. Pesado se comprobó que en la resina examinada había 48,46 % de ácido resinoso. Desechado era de color verdoso, disuelto en cloroformo dió una solución de color pardo rojizo, que evaporada dejaba en estas condiciones el ácido resinoso con un aspecto vítreo de color rojizo obscuro; su punto de fusión es 57°.

Para comprobar si en la resina existía más de un ácido resinoso, se siguió el procedimiento que se indica a continuación, partiendo siempre de una solución etérea :

1° Tratamiento por solución acuosa de $\text{CO}_3(\text{NH}_4)_2$ al 1 % : el ácido resinoso que precipitó lo hizo en flocones de un color blanquizco sucio. Recogido en un filtro tarado y desecado perfectamente, se presenta en forma de un cuerpo no muy blanco, que dió en peso 25,66 % de la resina. Su punto de fusión es de más o menos 86°.

Disuelto en cloroformo la solución dió un color rojizo y evaporado el cloroformo se presentó en forma de un cuerpo pardo rojizo.

2° Tratamiento con solución acuosa de $\text{CO}_3(\text{Na})_2$ al 1 % : se precipitó el ácido resinoso que se combinó con el $\text{CO}_3(\text{Na})_2$, se filtró y lavó perfectamente. Una vez seco en desecador sulfúrico, se obtuvo 22,809 % de un ácido resinoso blanquecino, cuyo punto de fusión es 76°.

Disuelto en cloroformo y evaporado se presenta en forma de un cuerpo transparente, incoloro.

Como se ve por sus caracteres físicos y químicos, este ácido parece presentar cierta diferencia con el obtenido por el $\text{CO}_3(\text{NH}_4)_2$.

3° Alcohol resinoso y resene : el líquido etéreo que quedó después de los tratamientos con $\text{CO}_3(\text{NH}_4)_2$ y $\text{CO}_3(\text{Na})_2$, dió por evaporación

un cuerpo muy brillante, transparente cuando fundido, que por el calor de incoloro que era, pasó a amarillento, lo que indica que es muy oxidable.

Representa en término medio un 28 a 30 % del peso de la resina y está constituido por la mezcla de un resene con un alcohol resinoso. Su consistencia es viscosa y en contacto con el aire se va endureciendo.

En resumen la composición de la resina de la especie estudiada es la siguiente :

Agua	1,16 °
Cenizas	0,92 »
Impurezas.....	21,16 »
Acido resinoso que funde a 86°.....	25,66 »
Acido resinoso que funde a 76°.....	22,80 »
Alcohol resinoso y resene	28,30 »

Cenizas. — El estudio de la composición mineral de un vegetal es de importancia debido a que esta se halla íntimamente ligada a la composición química del medio en que se desarrolla.

Estas determinaciones las he llevado a cabo teniendo en cuenta las indicaciones dadas por Floriani (6) en su obra clásica para la obtención de las cenizas.

Las cenizas obtenidas por la incineración del vegetal en estudio eran de un color rosado debido posiblemente a la presencia de manganeso en la composición de las mismas.

Los resultados que se indican a continuación están expresados en por ciento de planta seca.

Composición de las cenizas :

Color de las cenizas..... rosado	CaO.....	0,36 °
SiO ₂ 13,30 °	MgO.....	0,16 »
C..... 0,65 »	K ₂ O.....	0,61 »
SO ₄ 0,18 »	Na ₂ O.....	0,49 »
Fe ₂ O ₃ 0,39 »	MnO.....	0,19 »
P ₂ O ₅ 0,28 »	Cl.....	0,23 »
Al ₂ O ₃ 0,46 »	CO ₂	0,03 »

V. SUMARIO

Sobre ejemplares de *Elionurus viridulus* Hackel (figs. 1 y 2) provenientes de la zona medanosa de la Provincia de Entre Ríos, trasplan-

tados sucesivamente en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Castelar y en el Campo Didáctico de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Eva Perón, se realizó un estudio químico a fin de conocer su composición y determinar las causas por las cuales esta especie no es apetecida por el ganado.

De acuerdo al estudio químico practicado, consistente en ensayos preliminares, análisis sumario e inmediato y de cenizas, la mencionada gramínea no poseería principios amargos ni alcaloides y la resistencia del ganado a comerla, según observara el ingeniero Ragonese, sería debida a su olor desagradable y al sabor acre y astringente que le transmiten las resinas y taninos que posee.

Las resinas presentes en la especie indicada están constituidas por dos ácidos resénicos, cuyos puntos de fusión son 86° y 76°C respectivamente y el reseno correspondiente. El porcentaje de estas resinas posiblemente varíe en los distintos periodos vegetativos, alcanzando su máximo en el período de floración, y a ellas sería debido, según Cercós y Rodríguez Barretta (3) la acción antimicrobiana que presentan las especies del género *Elionurus*.

El análisis inmediato realizado reveló la presencia de taninos pertenecientes al grupo de los pirogálicos y de materia colorante en cuya composición se individualizaron agrupaciones correspondientes al ácido elágico.

En lo que respecta a las cenizas, su composición es similar al de este tipo de gramíneas, con presencia de manganeso.

Conclusiones. — 1. En los análisis realizados sobre la especie *Elionurus viridulus* Hackel no se encontraron principios amargos ni alcaloides.

2. La resistencia del ganado a comerla es debido a la presencia de resinas que le comunican un sabor astringente.

3. Las resinas presentes en esta especie están constituidas por dos tipos de ácidos resénicos y el reseno correspondiente.

4. La pequeña cantidad de materia tanante presente está constituida por taninos pirogálicos.

5. En la materia colorante revelada en esta especie se encuentran agrupaciones correspondientes al ácido elágico.

Conclusions. — 1. The analysis made of *Elionurus viridulus* Hackel did not reveal any bitter principles nor alkaloids.

2. The cattle's non acceptance of this grass, is probably due to the presence of resins which give it an astringent taste.

3. The resins present in this grass consist of two kinds of resinic acids and its corresponding resene.

4. The existence of a little quantity of tannine matter, is based on the presence of pyrogallic tannins.

5. In the coloring material found in this grass it is possible to see chemical groups in connection with the ellagic acid.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

1. ALBIZZATI, C. M. J., *Contribución al estudio de la Glycyrrhiza astragalica Gill.* en *Rev. Fac. Agronomía* (Terc. Ép.), XVI (1 y 2): 64-87, il La Plata (R. Argentina), 1925.
2. ALLEN'S, *Commercial organic analysis*, Vol. IV y V, London, 1925.
3. CERCÓS A. P. y H. T. RODRÍGUEZ BARRETTA, *Acción antimicrobiana de algunas Faverógamas argentinas*, en *IDIA*, 69: 1-7, Buenos Aires, 1953.
4. CERIOTTI, A., *Contribución al estudio de las hojas de Villaresia megophylla y Villaresia congouha*, Tesis Fac. Cienc. Natur. Univ. La Plata, 1918.
5. DRAGENDORFF, *Plant analysis*, London, 1921.
6. FLORIANI L., *Análisis químico de los vegetales*, Buenos Aires, 1938.
7. HACKEL in STUCKERF, *Anal. Mus. Nac. Buenos Aires*, 13: 414, fig. 1, 1906.
8. PELANDA PONCE, L., *Contribución al estudio del Curá-Mamael (Collectia cruciata, Gill. et Hook.)*, en *Rev. Fac. Ciencias Químicas*, 1: 183-263, La Plata, 1923.
9. ROSENTHALER, L., *Nociones fundamentales de investigaciones fitoquímicas*, Traduc. por E. HERRERO DUCLOUX, en *Rev. Fac. Agronomía* (Terc. Ép.), XV (3), La Plata, 1922.
10. ROTHLIN, E., *Contribución al estudio de la resina de melle*, Trab. del Inst. de Farmacología de la Fac. de Cienc. Méd. de B. Aires, N° 26, Buenos Aires, 1912.