

Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de *Plectranthus hadiensis* var *tomentosus*Vega Hernández L. C.¹, Reyes López M. G.¹, Cavazos Garduño A.¹, Serrano Niño J. C.¹, Silva Jara J. M.^{1*}¹Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara. Blvd. Gral. Marcelino García Barragán 1421, Olímpica, 44430, Guadalajara, Jalisco, México.Correo: jorge.silva@academicos.udg.mx**Palabras clave:** Actividad antimicrobiana, *Plectranthus hadiensis*, FTIR, ABTS**Introducción**

La contaminación microbiana es uno de los principales problemas que afecta la salud pública, debido a que cada año a nivel mundial, se reportan 600 millones de enfermedades transmitidas por alimentos con 420,000 muertes [1]. Es por ello que se busca contraatacar la acción de los patógenos transmitidos por alimentos y extender la vida de anaquel de los productos alimenticios.

Los antimicrobianos sintéticos han sido explotados para prolongar la vida de anaquel de los productos alimenticios ya que inhiben el crecimiento microbiano. Sin embargo, han surgido dos problemas relevantes: algunos antimicrobianos presentan efectos adversos a la salud al ser carcinogénicos [2], y algunos patógenos han desarrollado resistencia a los antimicrobianos convencionales debido al mal uso de los mismos [1]. Debido a esto, la demanda de los consumidores está cambiando hacia los antimicrobianos naturales, que puedan incrementar la vida de anaquel de los alimentos, sin perjudicar el estado de salud [3].

Las plantas del género *Plectranthus* han ganado popularidad debido a que numerosas especies son utilizadas en la medicina tradicional para el tratamiento de padecimientos como problemas digestivos, enfermedades de la piel, infecciones, dolor y alergias, con una variedad de usos etnobotánicos [4]. Dichas plantas contienen compuestos bioactivos como polifenoles y diterpenoides, que poseen actividad antimicrobiana y antioxidante [5].

Plectranthus hadiensis var *tomentosus* es una hierba perenne similar a una suculenta, cuyas infusiones son utilizadas para el tratamiento de la tos. Sin embargo, su composición fitoquímica y sus funciones biológicas han sido poco documentadas [4, 5]. Es por ello que el objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad antioxidante y la actividad antimicrobiana de extractos de *Plectranthus hadiensis* var *tomentosus* contra patógenos transmitidos por alimentos.

Metodología*Materia Prima*

Las plantas de *P. hadiensis* var *tomentosus* se compraron en mercados locales de Guadalajara, Jalisco. Las partes aéreas (tallo y hojas) se lavaron y desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio a 2 ppm y se secaron en un horno de convección forzada a 40°C. El material seco se molió y se almacenó a -10°C en bolsas de polietileno selladas herméticamente hasta su uso.

Preparación de los extractos

Se utilizaron dos métodos de extracción: maceración (M) y ultrasonido (US). Para la extracción por maceración, se colocó el material seco molido con etanol en frascos ámbar en una relación 1:10, y se dejó macerar por 24, 48 y 72 horas con agitación constante protegido de la luz. Una vez transcurrido el tiempo, los extractos se filtraron para eliminar la matriz vegetal. Para la extracción por ultrasonido, se colocó el

material seco molido con etanol en relación 1:10. Se utilizó el procesador ultrasónico digital Branson (S-450D) para la extracción con una energía de 130 J. Después del proceso de extracción, se filtró el extracto para eliminar la matriz vegetal. Los extractos filtrados se secaron en un rotavapor para eliminar el solvente.

Caracterización de grupos funcionales

Los extractos se analizaron en un equipo FT-IR (Cary 630, Agilent Technologies) con la finalidad de comparar la presencia de grupos funcionales en los distintos extractos. Se colocó el extracto en el cristal de diamante y se registraron los espectros (4000 a 500 cm^{-1}) a una resolución nominal de 4 cm^{-1} y adquirido a 32 barridos por muestra.

Determinación de la capacidad antioxidante

Se utilizó el método de ABTS para evaluar la capacidad antioxidante de los extractos de acuerdo a la metodología de Reyes-Becerril *et al.* [6]. Se mezclaron $20\ \mu\text{l}$ del extracto a una concentración de $10\ \mu\text{g/ml}$ con $980\ \mu\text{l}$ de la solución del radical ABTS ajustada previamente a una absorbancia de 0.7 a una longitud de onda de 754 nm , usando un espectrofotómetro. En una placa de 96 pozos se colocaron por triplicado $200\ \mu\text{l}$ de la mezcla, se incubó en oscuridad a temperatura ambiente por 10 min y se leyó la absorbancia a 754 nm .

Microorganismos y condiciones de cultivo

La actividad antimicrobiana de los extractos se evaluó contra 4 cepas bacterianas: *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Salmonella* Enteritidis, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Listeria monocytogenes*. Las cepas se activaron y mantuvieron a 37°C antes de su uso. Las cepas activas se sembraron en caldo Soya Trypticase a 37°C por 18 horas.

Evaluación de la actividad antimicrobiana

La evaluación de la actividad antimicrobiana se realizó por el método de difusión en pozos, de acuerdo a la metodología reportada por Rijo *et al.* [7] con algunas modificaciones. En cajas de Petri estériles se inoculó 1 ml de la suspensión bacteriana ajustada a 0.5 McFarland y 20 ml de agar Mueller Hinton. Se mezcló para homogeneizar el inóculo en el agar, se dejó solidificar y se realizaron pozos de aproximadamente 6 mm de diámetro con puntas estériles. Se agregaron $80\ \mu\text{l}$ de los diferentes extractos en los pozos y se incubaron las placas a 37°C por 6 horas. Se utilizó ampicilina a una concentración de $100\ \mu\text{g/ml}$ como control positivo.

Análisis estadístico

El estudio estadístico para los datos arrojados en las pruebas de capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana consistió en un análisis de varianza mediante la prueba de Fisher ($\alpha=0.05$) empleando el paquete estadístico MINITAB18®.

Resultados y discusión

Caracterización de grupos funcionales

Los espectros de infrarrojo (Figura 1) muestran las mismas señales para todos los extractos etanólicos, resaltando grupos asociados como fenoles, alcanos, aldehídos, ácidos carboxílicos, compuestos aromáticos, ésteres y, además, se aprecian claras señales para la familia de terpenoides y monoterpenos atribuibles al olor característico de la planta en las cercanías de 1377 , 879 y 814 cm^{-1} [8]. Alrededor de 3327

cm^{-1} , en la banda ancha asociada a compuestos fenólicos para el género *Plectranthus* [9], se puede observar un ligero incremento con respecto del tiempo de extracción o contacto del solvente con la matriz vegetal (extracción por maceración a 24, 48 y 72 h respectivamente) y en este sentido, el espectro para el extracto obtenido mediante ultrasonido denota más abundancia en este tipo de grupo, por lo cual se sugiere que bajo el principio de esta técnica, se ve favorecido el aumento en la extracción de compuestos fenólicos. Esto se corrobora con otra banda más intensa hacia 1640 cm^{-1} atribuible a la conjugación de anillos aromáticos de aldehídos [10], uno de estos posibles compuestos es tentativamente el linalol que posee olor a mentol y que se encuentra en más de 200 especies de plantas aromáticas [11]; de este modo se vuelve a observar más abundancia en el extracto por ultrasonido.

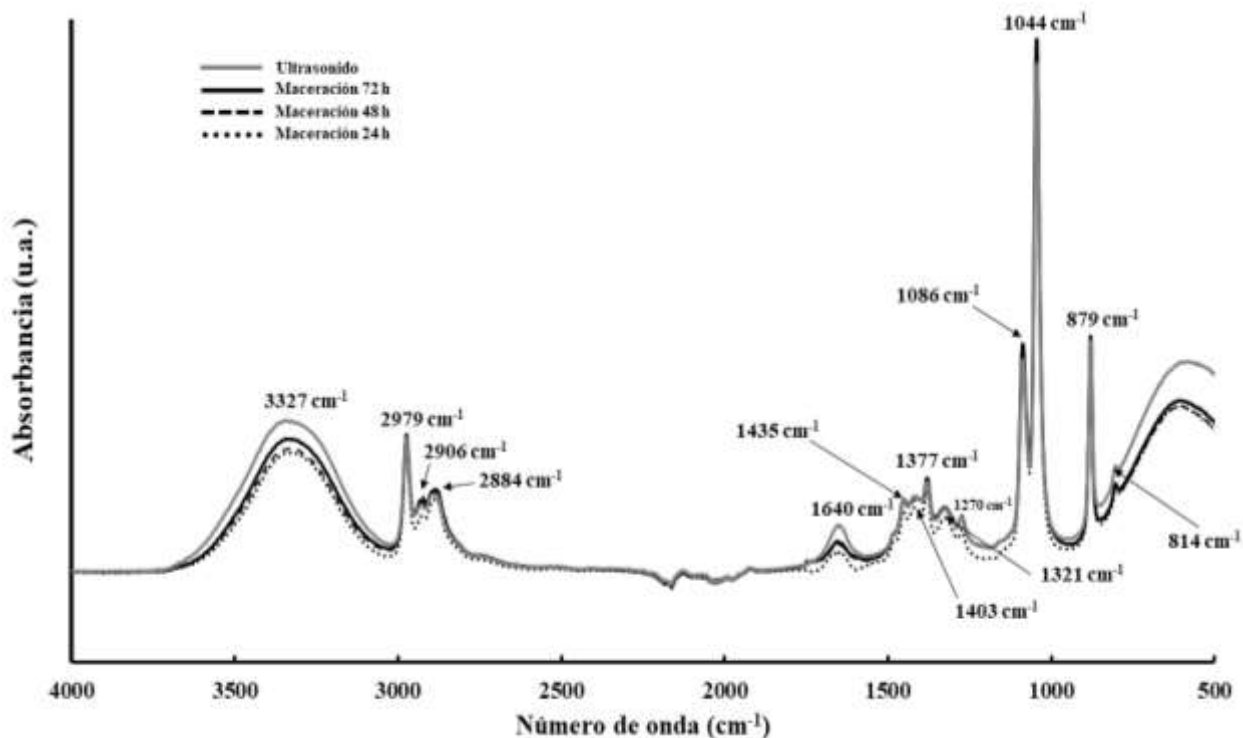


Figura 1. Espectros de infrarrojo de los extractos de *P. hadiensis* en la región de 4000 a 500 cm^{-1} .

Capacidad antioxidante

La actividad antioxidante de los diferentes extractos se puede apreciar en la Figura 2. El análisis estadístico muestra una diferencia significativa entre la extracción por ultrasonido y la extracción por maceración por 72 horas, debido probablemente a que conforme aumenta el tiempo de extracción, se pueden perder compuestos responsables de la actividad antioxidante. La capacidad antioxidante obtenida es mayor a la reportada por Rijo *et al.* [7], probablemente debido a los métodos de extracción utilizados, ya que la temperatura utilizada durante la extracción puede evitar la pérdida de compuestos termolábiles con actividad antioxidante.

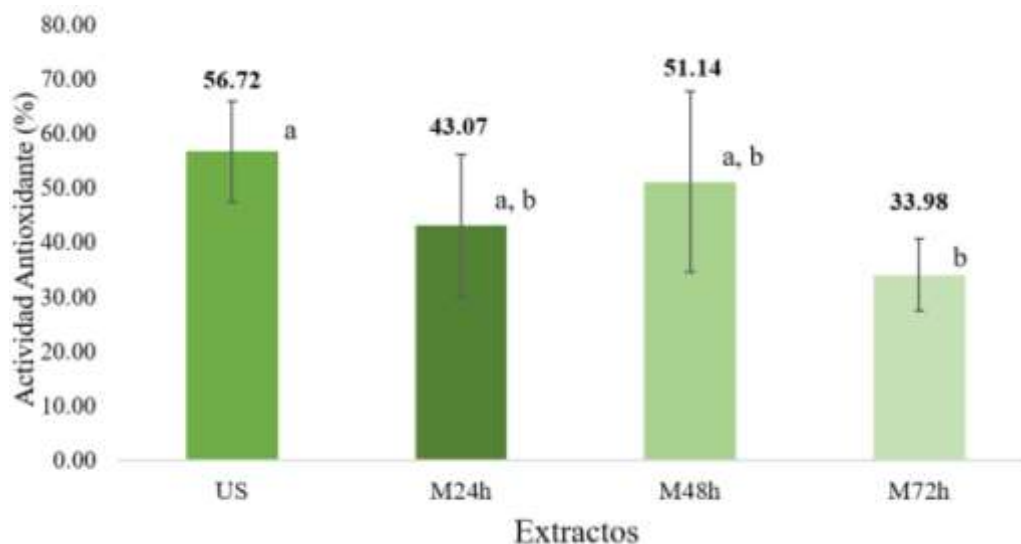


Figura 2. Capacidad antioxidante de los extractos de *P. hadiensis*, los resultados están expresados como medias \pm SD por triplicado.

Actividad antimicrobiana

Los extractos presentaron actividad antimicrobiana únicamente contra *Staphylococcus aureus*. Los resultados concuerdan con los obtenidos por Mothana *et al.* [12], en los que los extractos de *P. hadiensis* no mostraron efecto inhibitorio contra bacterias Gram-negativas, pero sí contra bacterias Gram-positivas, incluyendo a *S. aureus*. Los halos de inhibición de los diferentes extractos se encontraron entre 17 y 19 mm (Figura 3), los cuales son mayores a los obtenidos por Mothana *et al.* [12], probablemente debido al método de extracción utilizado. El análisis estadístico no mostró diferencia significativa entre los diferentes extractos, por lo que la extracción por ultrasonido es una alternativa viable debido a un menor tiempo de extracción en comparación con la extracción por maceración.

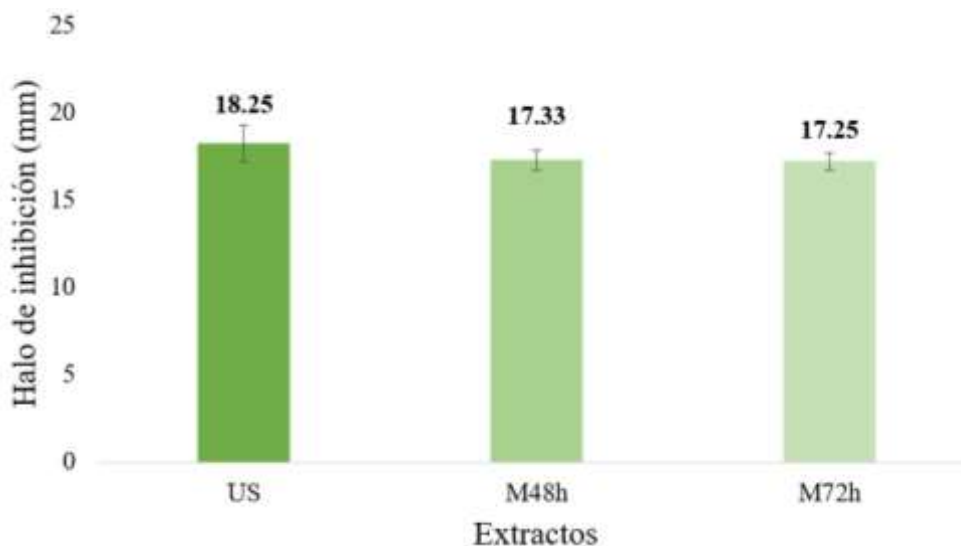


Figura 3. Halos de inhibición de los extractos para *Staphylococcus aureus*, los resultados están expresados como medias \pm SD por triplicado.

Conclusiones

Los extractos de *P. hadiensis* var *tomentosus* mostraron la presencia de compuestos fenólicos, así como terpenoides y monoterpenos, los cuales son responsables del olor característico de la planta y de la actividad antimicrobiana. Además, presentaron una importante capacidad antioxidante, la cual se vio favorecida al emplear el método de extracción por ultrasonido. En cuanto a la actividad antimicrobiana, presentó un efecto inhibitorio contra *S. aureus* en todos los métodos de extracción.

Debido a que se requiere menor tiempo de extracción que la maceración, y a que se obtienen una mayor cantidad de compuestos fenólicos y compuestos con actividad antioxidante, la extracción por ultrasonido es una alternativa recomendable para la extracción de compuestos bioactivos de *P. hadiensis*.

P. hadiensis var *tomentosus* es una planta medicinal con potencial antimicrobiano y antioxidante que ha sido poco estudiada, por lo que este trabajo proporciona información para estudios posteriores y una posible aplicación en alimentos como antimicrobiano y antioxidante de origen natural.

Referencias

- [1] Guldemann, C., Johler, S. (2018). An Introduction to Current Trends in Foodborne Pathogens and Diseases. *Current Clinical Microbiology Reports* **5**: 83-87.
- [2] Kaur, R. y Kaur, L. (2021). Encapsulated natural antimicrobials: A promising way to reduce microbial growth in different food systems. *Food Control* **123**: 1-12
- [3] Pisoschi, A., Pop, A., Cimpeanu, C., Turcus, V., Predoi, G., Iordache, F. (2018). Nanoencapsulation techniques for compounds and products with antioxidant and antimicrobial activity – A critical review. *European Journal of Medicinal Chemistry* **157**: 1326-1345.
- [4] Ji, H. S., Li, H., Mo, E. J., Kim, U. H., Kim, Y. H. Park, H. Y., Jeong, T. S. (2019). Low-density lipoprotein-antioxidant flavonoids and a phenolic ester from *Plectranthus hadiensis* var. *tomentosus*. *Appl. Biol. Chem.* **62**: 1-12.
- [5] Rice, L., Brits, G., Potgieter, C., Van Staden, J. (2011). *Plectranthus*: A plant for the future? *South African Journal of Botany* **77**: 947-959.
- [6] Reyes-Becerril, M., Angulo, C., Silva-Jara, J. (2021). Antibacterial and immunomodulatory activity of moringa (*Moringa oleifera*) seed extract in Longfin yellowtail (*Seriola rivoliana*) peripheral blood leukocytes. *Aquaculture Research*, **00**: 1-10.
- [7] Rijo, P., Matias, D., Fernandes, A., Simoes, M., Nicolai, M., Reis, C. (2014). Antimicrobial Plant Extracts Encapsulated into Polymeric Beads for Potential Application on the Skin. *Polymers* **6**: 479-490.
- [8] Limem, S., Maazaoui, R., Mani, K. D. (2015). Preliminary identification of *Citrullus colocynthis* from Togo by FT-IR and Raman spectroscopy. *Int J Adv Res (Indore)*, **3**: 354-360.
- [9] Manikandan, S., Alagu Lakshmanan, G. M., Ansarali, S. (2017). Identification of Bioactive Compounds from Selected *Plectranthus* Species by Gas Chromatography-Mass Spectroscopy and Fourier Transform Infra-Red Spectroscopy. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, **7**(6): 438-451.

- [10] Bañuelos-Valenzuela, R., Delgadillo-Ruiz, L., Echavarría-Cháirez, F., Delgadillo-Ruiz, O., Meza-López, C. (2018). Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisa ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Agrociencia*, **52**(3): 309-321.
- [11] Agatonovic-Kustrin, S., Ristivojevic, P., Gegechkori, V., Litvinova, T. M., W Morton, D. (2020). Essential Oil Quality and Purity Evaluation via FT-IR Spectroscopy and Pattern Recognition Techniques. *Applied Sciences*, **10**(20): 7294.
- [12] Mothana, R., Abdo, S., Hasson, S., Althawab, F., Alaghbari, S., Lindequist, U. (2008). Antimicrobial, Antioxidant, and Cytotoxic Activities and Phytochemical Screening of Some Yemeni Medicinal Plants. *eCAM*, **7**(3): 323-330.