



Tomo 06

Ingenierías

Identificación del Potencial Antimicrobiano de Extractos Vegetales de Plantas Endémicas de la Región Huasteca

Ing. Filimon Avila Badillo¹, M. en C. Juan Guerrero Castillo²,
M.E Francisca Lagunes Olivares³, M. en C. Israel Estrada Garcia⁴, Ing. Dulce María Martínez Espino⁵

Resumen—

Este trabajo fue desarrollado en la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense se realizaron extractos vegetales con base en Madura zapote (*Hamelia Patens*), Arnica (*Pseudogynoxys chenopoides*), Matico (*Piper aducum*), pues diversos resultados expuestos por (Navarro, 2021), (Fontanills, 2018), (Ramírez, 2001), (Wong-paz.J.E., 2010) plantearon que estas especies cuentan con propiedades antisépticas, las cuales mediante pruebas in vitro se verificó que dichas plantas pueden ser de gran utilidad en la industria alimentaria como antisépticos. Para este trabajo se utilizaron dos métodos de extracción (infusión y destilación al vacío), se llevaron a cabo análisis microbiológicos para la determinación de coliformes, por la prueba presuntiva, luego la prueba confirmativa de microorganismos coliformes totales y fecales. Por último, se probó la eficacia de los extractos vegetales por medio de siembra en agar nutritivo y agar verde brillante con el uso de sensibilizadores, en donde se confirmó que existe actividad inhibitoria debido a los halos de inhibición que se percibieron en los resultados de las siembras.

Palabras clave— Extractos vegetales, antisépticas, microorganismos coliformes, potencial, endémico

Introducción

Las bacterias son microorganismos omnipresentes que se encuentran entre los organismos más pequeños en la tierra, y contribuyen a procesos biológicos, tales como la producción de alimentos y la descomposición de los residuos orgánicos. Todas las personas vivimos con ellas a diario, sin tener enfermedades, y de cierta forma nos protegen. Sin embargo, existe un número de bacterias patógenas que representan una amenaza para la salud, porque pueden causar infecciones bacterianas y tener efectos negativos e incluso fatales en el cuerpo humano.

La infección bacteriana se produce cuando las bacterias entran en el cuerpo, encuentran un ambiente apropiado y luego se reproducen. Éstas ingresan a través de la boca, la nariz y las aberturas de la piel. Las bacterias también están presentes en el aire, el agua y los alimentos. Desde tiempos remotos, la población del mundo ha recurrido a las plantas con el fin de tratar diversas enfermedades. Con el paso de los años se demostró que estas plantas, aromáticas en su mayoría, poseían principios activos compuestos por una gran variedad de sustancias químicas con diferentes acciones biológicas, que serían las que la causa de las propiedades curativas tan apreciadas que tienen, y se descubrió también que son los aceites esenciales una forma de concentrar estos principios activos en su forma más pura. (Montañez, 2015).

La región Huasteca presenta una riqueza y mega diversidad de plantas nativas, lo que se constituye en uno de los pilares de la medicina tradicional, hasta la actualidad. Son éstas utilizadas en forma empírica por sus bondades terapéuticas en el cuidado y restauración de la salud.

En nuestra región, se sigue utilizando ampliamente una gran cantidad de plantas medicinales, sin que se haya hecho un estudio científico de sus propiedades; Por ello se ha decidido analizar tres plantas originarias de la región huasteca como lo son Madura zapote (*Hamelia Patens*), Arnica (*Pseudogynoxys chenopoides*) y Matico (*Piper aducum*), en donde se obtendrán los principios activos de cada uno de estas especies por los métodos de extracción vegetal y así mismo realizar análisis microbiológicos (Método de determinación de coliformes totales, coliformes fecales, por la técnica de dilución en tubo múltiple), en donde se deberá probar si los extractos vegetales cuentan actividad de inhibición. Los resultados de la investigación serán de suma importancia para la industria alimentaria, pues dichas extractos podrían ser utilizados como desinfectantes de superficies.

¹ Filimon Avila Badillo es Profesor de la Ingeniería en Procesos Alimentarios en la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense, Huejutla, Hidalgo. México. filimon.avila@uthh.edu.mx

² M en C. Juan Guerrero Castillo en Profesor en la Ingeniería en Procesos Alimentarios en la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense. Huejutla, Hidalgo. México juan.guerreo@uthh.edu.mx

³ M.E. Francisca Lagunes Olivares es Profesora de Ingeniería en Procesos Alimentarios en la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense, Huejutla, Hidalgo. México. francisca.lagunes@uthh.edu.mx

⁴ M. en C. Israel Estrada Garcia es Profesor de Ingeniería en Procesos Alimentarios en la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense, Huejutla, Hidalgo. México. israel.estrada@uthh.edu.mx

⁵ Ing. Dulce María Martínez Espino, es egresada de la carrera de Ingeniería en Procesos Alimentarios de la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense, Huejutla, Hidalgo. México. Actualmente colabora en la empresa Innovación y Desarrollo de México S.A de C.V. Monterrey, Nuevo León. 20181091@uthh.edu.mx

Metodología

Procedimiento

El trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Química de Alimentos de la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense ubicada en la región huasteca, considerada como una zona con amplia riqueza biológica y cultural, caracterizada por una amplia diversidad de ecosistema y vegetación, localizada al noreste de Hidalgo, forma parte de la franja costera del Golfo de México, manteniendo límites con la Sierra Madre Oriental. El propósito de este trabajo fue evaluar el potencial antimicrobiano de plantas de la región las cuales son: Madura Zapote (*Hamelia Patens*), Matico (*Piper Aducum*), Árnica (*Pseudogynoxys Chenopoides*), Aranto (*Kalanchoe Daigremontiana*) Y Zacatechichi (*Calea Zacatechichi*), fueron seleccionadas las primeras tres que contienen compuestos inhibidores de microorganismos como la palmirrina, isopteropodina, lactonas sesquiterpénicas. Las muestras fueron obtenidas de distintas localidades: Los Ajos Santa Clara, Tantoyuca, Palma Sola Chicontepec, Veracruz Y Tepexititla, Huejutla Hidalgo. Se seleccionó la técnica propuesta por Anavc Jara (2010) para realizar extractos vegetales con las especies Madura zapote (*Hamelia Patens*), Árnica (*Pseudogynoxys chenopoides*), El extracto de Matico (*Piper aducum*) se realizó por el método de (destilación al vacío e infusión) propuesto por Graus Ríos, Reimiria Yudith (2019) en un equipo rota evaporador de la marca Yamato, el cual se sometió a vacío a 63.5 torr a 65 °C hasta obtener una cuarta parte del inicial, finalmente se almaceno en frascos de plásticos estériles. Para la evaluación del potencial antimicrobiano se prepararon los sensibiliscos con papel filtro Whatman n°40 con un tamaño de 1 cm de diámetro, los cuales se esterilizaron en una autoclave marca Yamato a 121 °C y 15 lb de presión por 30 minutos y se sometió a secado en estufa a 65°C por 1 hora. Se realizo la siembra de bacterias por el método de determinación de bacterias coliformes fecales y totales, coliformes fecales por la técnica de diluciones en tubo múltiple (Número más Probable o NMP), pasando por la prueba presuntiva, posteriormente la prueba confirmativa de coliformes fecales y totales. Se realizó la evaluación del potencial antimicrobiano utilizando los sensibiliscos. En esta etapa se utilizó agar verde brillante para coliformes totales y agar nutritivo para coliformes fecales. Las siembras se realizan por triplicado para cada extracto y así obtener un resultado con más certeza. Transcurridas 24 horas se analizaron los resultados y se midieron los halos de inhibición con un vernier.

Referencias bibliográficas

Tenorio en el 2017 en (Quito) el “Efecto inhibitorio del extracto acuoso de *Hamelia patens* (Rubiácea) frente a la *Porphyromonas gingivalis*”. Su objetivo del presente estudio fue determinar las propiedades antimicrobianas del extracto acuoso al 20%, 30% y 50% de la *Hamelia patens* (Rubiaceae) frente a la *Porphyromonas gingivalis* como uso alternativo a la clorhexidina. El mismo que se llevó a cabo mediante la obtención de los extractos acuosos de la planta por maceración y la realización de .El objetivo de este estudio es caracterizar el contenido fenólico y examinar críticamente la actividad antimicrobiana de extractos de hojas *H. patens*, obtenidas por maceración, Soxhlet y percolación, utilizando etanol como disolvente al 70%. Los resultados de este estudio contribuyen al conjunto de conocimientos sobre el uso de extractos en el control de microorganismos con antimicrobianos naturales.

Cornejo Recoba et all. 2021 estudiaron el “Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass.(Árnica) sobre *Eikenella corrodens*”. La investigación tuvo como objetivo comparar el efecto antibacteriano in vitro de cinco concentraciones del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass. (Árnica) y un control positivo sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152. Fue una investigación básica con diseño experimental verdadero. La efectividad antibacteriana fue determinada por el método de disco difusión. El extracto se obtuvo por maceración con agitación en solvente a partir de las flores de *H. inuloides* y se prepararon las concentraciones de 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/mL, 60 mg/mL y 70 mg/mL. El control positivo fue clorhexidina 0,12% y el control negativo fue DMSO 1%. La evaluación se hizo en agar sangre (Merck) y la incubación a 36,5 oC durante 48 en condiciones de microaerofilia. Se reportaron halos de inhibición promedios de 10,90± 0,333 mm a 30 mg/mL; 12,63± 0,340mm a 40 mg/mL; 14,95 ± 0,558mm a 50 mg/mL; 19,65± 0,704mma 60 mg/mL y 25,36 ± 0,826mm a 70 mg/mL. El control formó un halo promedio de 15,58 ± 0,614 mm. Concluimos que el extracto hidroetanólico de árnica presenta efecto antibacteriano in vitro sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152 y el efecto de las concentraciones de 60 mg/mL y 70 mg/mL superaron significativamente al control (p<0,05).

García Sandoval et.all en el 2023. Demostraron el “efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro”. Método: “El método empleado en la investigación corresponde a un estudio cuantitativo, transversal, experimental, el cual tuvo como población de estudio estuvo conformada por 4 kg. de *Piper aduncum* L. (Matico) obtenido del distrito de Pomalca, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque, el extracto se obtuvo por maceración con una muestra de 1,5kg de hojas de la planta,

la cual fue obtenida mediante criterios de inclusión y exclusión, y se empleó el método de difusión en pozo para la determinación del efecto inhibitorio del extracto sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, los datos obtenidos fueron analizados mediante estadísticos descriptivos e inferenciales para contrastar la hipótesis con un nivel de confianza del 95%. Resultados: Se obtuvo halos de inhibición promedio “frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175 para el extracto metanólico de Matico a 100 mg/ml de 15,41 + 0,42mm; a la concentración de 75 mg/ml el halo promedio fue de 13,25 + 0,39mm, a la concentración de 50 mg/ml se obtuvo un halo promedio de 11,79 + 0,40mm; para el control negativo el halo fue de 6,30 + 0,52mm y para el control positivo fue de” 24,62mm, presentado mayor efecto inhibitorio este último en comparación con los extractos de la planta estudiados. Conclusión: Mediante el análisis estadístico inferencial y la escala de Durafourd se logró demostrar el efecto inhibitorio del extracto metanólico de las hojas de *Piper aduncum* L. (Matico) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Resultados

En este trabajo, se realizó una investigación documental de especies endémicas de la región huasteca, para identificar el potencial antimicrobiano, y su posible uso en la industria alimentaria. Se recopiló información de cinco especies: Madura Zapote (*Hamelia Patens*), Matico (*Piper Aducum*), Árnica (*Pseudogynoxys Chenopoides*), Aranto (*Kalanchoe Daigremontiana*) y zacatechichi (*Calea zacatechichi*), de las cuales, solo se seleccionó las primeras tres, esto porque se analizó la información recabada y se encontró que estas contienen compuestos inhibidores de microorganismos como la palmirrina, isopteropodina, lactonas sesquiterpénicas. De las plantas seleccionadas, se recopiló la información de la ubicación de estas mismas dentro de la región, las cuales fueron en distintas localidades: Los Ajos Santa Clara, Tantoyuca, Palma Sola Chicontepec, Veracruz y Tepexititla, Huejutla de los Reyes, Hidalgo. Posteriormente se llevó al laboratorio de química para ser desinfectadas y separadas de la raíz del tallo y hojas, eliminando la materia extraña que esta contenga.

Los extractos vegetales elaborados por el método de destilación simple de las especies madura zapote, matico y árnica no presentaron actividad de inhibición en bacterias coliformes de acuerdo con los análisis realizados en el laboratorio de química de Procesos alimentarios de la Universidad Tecnológica de la Huasteca Hidalguense, pues al analizar los resultados no se aprecian halos de inhibición alrededor de los sensibilizadores de papel filtro. Probablemente se deba a que no se utilizó la solución hidroalcohólica con la concentración correcta durante la maceración o también a que no se utilizó el solvente adecuado.

Los extractos vegetales elaborados por el método de infusión de las especies madura zapote, matico y árnica presentaron actividad de inhibición en bacterias coliformes de acuerdo a los análisis microbiológicos realizados en el laboratorio, pues al analizar los resultados 24 horas después de la siembra se apreciaron halos de inhibición alrededor de los sensibilizadores tal como se describen en el cuadro 1.

| Extracto | Método | Halo (cm) |
|---------------|----------|-----------|
| Árnica | Infusión | 0.8 |
| Árnica | infusión | 1.1 |
| Árnica | infusión | 0.8 |
| Árnica | infusión | 0.7 |
| Madura zapote | infusión | 1.3 |
| Madura zapote | infusión | 0.9 |
| Madura zapote | infusión | 0.8 |
| Madura zapote | infusión | 0.7 |
| Matico | infusión | 1.2 |
| Matico | infusión | 1 |
| Matico | infusión | 1.2 |
| Matico | infusión | 1.3 |

Cuadro 1. Medida de halos de inhibición

Los resultados obtenidos se compararon con la prueba Tukey para determinar si existen diferencias significativas en las medidas de los halos de inhibición, de la cual se obtuvieron los siguientes resultados:

| Halo | | |
|--------------------------|---|-------------|
| HSD Tukey ^{a,b} | | |
| Extracto | N | Subconjunto |
| | | 1 |
| Árnica | 4 | .8500 |
| Maduro zapote | 4 | .9250 |
| Matico | 4 | 1.1750 |
| Sig. | | .100 |

Cuadro 2. Prueba de comparación de Tukey.

Nota: Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Se basa en las medias observadas. El término de error es la media cuadrática (Error) = .038.

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4.000.
- b. Alfa = 0.05.

En la tabla anterior se observa que estadísticamente las medidas de los halos de inhibición de los extractos analizados no presentan diferencias significativas.

Conclusiones

Mediante una investigación documental se obtuvo información importante sobre las plantas endémicas de la región huasteca, de las cuales se recabo información de cinco especies, de estas solo se seleccionaron tres: Madura Zapote (*Hamelia Patens*), Matico (*Piper Aducum*), Árnica (*Pseudogynoxys Chenopoides*) ya que, de acuerdo a la información recolectada, estas contienen principios activos que funcionan como inhibidores de microorganismos. Se recolectaron y se llevaron al laboratorio de química para sus respectivos análisis, de la cual se montaron una serie de técnicas y dos métodos de extracción: por destilación a vacío y por infusión. Las muestras obtenidas fueron comparadas y validadas mediante pruebas de laboratorio para comprobar su capacidad de inhibición frente a coliformes totales y fecales, y *E. Coli.*, y con las técnicas realizadas se comprobó de acuerdo a la hipótesis de investigación algunas especies endémicas de la región huasteca si contienen principios activos con potencial antimicrobiano para su posible uso como antiséptico dentro de la industria de los alimentos. Se recomienda que se realicen más estudios microbiológicos para evaluar los procesos de extracción y comprobar que en los extractos se encuentran los componentes antimicrobianos necesarios para funcionar como antisépticos en la industria alimentaria.

Referencias bibliograficas

- Acosta, Juan Guillermo Bornaz, et al. "Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Piper augustifolium* (Matico) sobre el crecimiento y desarrollo in vitro de *Enterococcus faecalis*." *Ciencias 3.3* (2019): 30-37.
- Cornejo Recoba, Angel José, and Hania Alexsandra Pinto Benel. "Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de *Heterotheca inuloides* Cass.(Árnica) sobre *Eikenella corrodens* ATCC BAA-1152." (2021).
- Cruz Vega, Delia Elva. Análisis fitoquímico y caracterización parcial de compuestos con actividad estimuladora sobre macrófagos y/o actividad antimicrobiana en extractos de raíz, tallo y hoja de *Carlowrightia cordifolia* A. Gray. Diss. Universidad Autónoma de Nuevo León, 2002.
- Jara, A. V. "Preparacion de extractos vegetales: Determinacion de Eficiencia de metodica." *Bioquímica y Farmacéutica 4* (2010).
- Díaz Cieza, Clever. "actividad antibacteriana "in vitro" Del aceite esencial de matico (*Piper aduncum*) sobre (*Staphylococcus aureus*)." (2019).
- Fontanills, Yasmery Rubio, et al. "Composición fitoquímica y actividad antibacteriana de extractos de hoja de *Hamelia patens* Jacq." *Biotecnología Vegetal 18.1* (2018).
- Graus Rios, Reimira Yudith. "Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de piper aduncum (matico) frente a cepas de *streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2019."
- Tenorio Peñafiel, Pablo Daniel. Efecto inhibitorio del extracto acuoso de *Hamelia patens* (Rubiaceae) frente a la *Porphyromonas gingivalis*. BS thesis. Quito: UCE, 2017.

Paz, Jorge Enrique Wong, et al. "Phenolic content and antibacterial activity of extracts of *Hamelia patens* obtained by different extraction methods." *Brazilian journal of microbiology* 49 (2018): 656-661.

Rios, María Yolanda, and A. Aguilar-Guadarrama. "Alcaloides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides de las hojas de *Hamelia patens* Jacquin (Rubiaceae)." *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 11.1 (2006): 0-0.