

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN DIFERENTES EXTRACTOS DE *Prosopis glandulosa* DE COAHUILA, MÉXICO

A. Valenzuela-Balderas, A. Pimentel-Zapata, E. Gutiérrez-Reyes, M.A. Ávila-Damián, Linaje-Treviño, M.S., Valencia-Castro, C.M., De la Fuente-Salcido, N.M.*

Bioprospección y Bioprocesos, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Campus-Torreón. Blvd. Torreón-Matamoros Km 7.5, CP 27104 Torreón, Coahuila, México.

*normapbr322@hotmail.com

RESUMEN:

La resistencia generada por los microorganismos hacia los antibióticos ha generado la necesidad de buscar nuevas alternativas para combatirlos. El género *Prosopis* pertenece a la familia de las Leguminosas y es originario de climas semidesérticos. Los extractos acuosos y metanólicos elaborados a partir de hoja, flor y vaina de la especie *P. glandulosa*, arrojaron resultados positivos en las pruebas para identificar actividad antimicrobiana realizadas mediante las técnicas de agar en pozos, presentando mayor inhibición el extracto metanólico en las siguientes especies: *Salmonella spp* y *Salmonella thypimurium*, en las Gram negativas; mientras que el extracto acuoso mostro mayor inhibición en las Gram positivas: *Streptococcus agalactiae* y *Enterococcus faecium*. Esto es congruente con lo encontrado en otras investigaciones realizadas en otras especies del mismo género. En el caso de la presencia de compuestos fenólicos se encontró una mayor concentración en el extracto de hoja.

ABSTRACT:

The resistance generated by microorganisms to antibiotics has generated the need to seek new ways to combat them. The genus *Prosopis* belongs to the Leguminosae family and is native to semi-desert climates. Aqueous and methanol extracts made from leaf, flower and pod of *P. glandulosa*, showed positive results in tests to identify antimicrobial activity on well diffusion techniques, the greater inhibition was performed by methanolic extract trough following species *Salmonella spp* and *Salmonella typhimurium* in Gram negative bacteria. The aqueous extract showed greater inhibition in Gram positive bacteria as: *Streptococcus agalactiae* and *Enterococcus faecium*. This is consistent with what was found in other studies performed in other species of the same genus. In the case of the presence of phenolic compounds found a higher concentration in the leaf extract.

Palabras clave: *Prosopis*, patógenos, antimicrobianos

Keywords: *Prosopis*, pathogen, antimicrobials.

Área: Microbiología y Biotecnología

INTRODUCCIÓN

La necesidad de generar estrategias efectivas para el control de microorganismos resistentes a los antibióticos que contaminan los alimentos y agentes causales de enfermedades que ponen en riesgo la salud humana y animal ha generado un gran auge en la investigación de las especies de origen vegetal, ya que estas han demostrado ser una excelente fuente de sustancias de carácter antimicrobiano sin llegar a ser tóxicos (Prabha *et al.*, 2014). El género *Prosopis* pertenece a la familia de las Leguminosas y a su vez a la subfamilia Mimosaceae. Se caracteriza por desarrollarse en ambientes semidesérticos y desérticos, así como por su capacidad

de adaptarse a situaciones adversas como lo son sequías prolongadas y suelos poco fértiles (Palacios, 2006; Ríos *et al.*, 2013).

El género *Prosopis*, ha revelado a través de varios estudios realizados, ser una buena fuente de compuestos de interés biotecnológico tales como alcaloides, fenoles, terpenos, flavonoides y saponinas. Otros estudios han reportado que los compuestos bioactivos de este género no son considerados tóxicos, por lo que se le puede considerar como una excelente fuente de péptidos biactivos (Del Valle *et al.*, 2006). Los extractos generados a partir de diferentes partes de *Prosopis glandulosa* presentan una actividad de origen antimicrobiana correspondiente con lo encontrado en otras especies el mismo género, tales como *P. juliflora* y *P. cineraria* (Santhiya, M. y Muthuchelian, K., 2008; Wajid *et al.*, 2014).

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de la muestra y preparación de harinas

La recolección de hoja y flor de *Prosopis glandulosa* se realizó en el mes de abril de 2015, la recolección de vaina se realizó en el mes de agosto porque en estas fechas en la región de Coahuila ocurre la floración y maduración de vaina. Posteriormente se realizó separación de impurezas de forma manual y se secó a temperatura de 60°C por una semana. La molienda de hoja y flor se realizó de forma manual utilizando un mortero con pistilo. La molienda de vaina completa (vainas y semillas) fue más complicada por la dureza de la semilla y se realizó con molino de discos. Esta harina fue tamizada haciéndola pasar por tamiz de la serie Tyler No. 45.

Análisis proximal de la vaina

Se determinó la composición química proximal de la harina incluyendo proteína cruda, fibra cruda, lípidos crudos, ceniza y carbohidratos (Olvera *et al.*, 1993).

Obtención de extractos

Extracto metanólico. Se preparó un extracto metanólico (1:10) a partir de las harinas de semilla, hoja, vaina y carozo; el extracto se dejó reposar por un periodo de 2 días en oscuridad.

Extracto acuoso. Se preparó un extracto acuoso por decocción a 90°C a partir de las harinas de hoja, flor y vaina. Las harinas fueron previamente desengrasadas mediante método Soxhlet utilizando hexano como solvente.

Determinación de fenoles método de Folin-Ciocalteu

Se agregó 0.2mL de cada extracto (1:10 e/aq), se añadió 0.8mL de carbonato de sodio (7.5%) y 1mL de reactivo Folin-Ciocalteu (2N). Se dejó incubar por 2h en oscuridad y se determinó la absorbancia a 740nm en un espectrofotómetro (UV-VIS GENESYS 10S). Las concentraciones fueron obtenidas mediante la utilización de una curva de calibración utilizando soluciones estándar de ácido gálico. Se utilizaron concentraciones de 10, 20, 80, 100, 200, 250 y 300 en la elaboración de la curva de calibración obteniéndose una curva de $R^2 = 0.9961$.

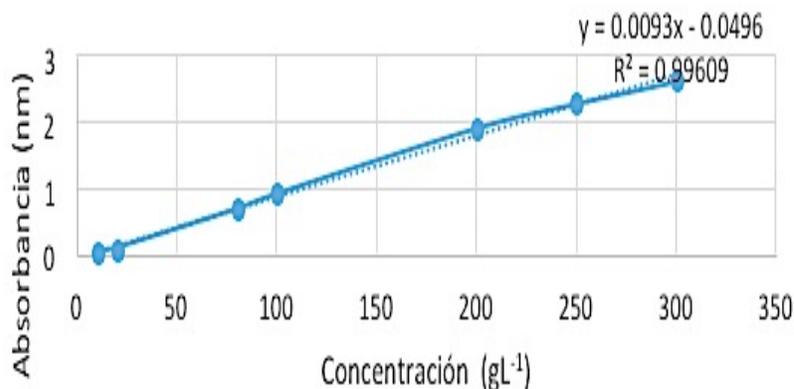


Figura 1. Curva de calibración (estandar ácido gálico)

Determinación de la actividad antimicrobiana

En la determinación de la actividad de los extractos por difusión en pozos se inoculó diversas cepas en caldo nutritivo (Bioxon) y se incubó a 28°C/36°C y 200 rpm toda la noche. En campana de flujo laminar se mezclaron 25 mL de agar para pozos fundido y temperado con 175µL de cultivo de cada cepa ($\sim 1 \times 10^9$ cel/mL), se agitó suavemente, se plaquearon en cajas petri y se dejaron solidificar. Se realizaron pozos de 8 mm de diámetro en el agar y secaron a 37°C por 2 horas y en cada pozo se depositaron 100 µL de los extractos. Las cajas se incubaron a 4°C por 12 horas para la difusión de extractos y se incuban adicionalmente a 28°C/35°C por un día para determinar y medir los halos de inhibición del crecimiento bacteriano por efecto de cada extracto. Todas las pruebas se realizaron por duplicado. Una unidad de actividad se definió como un mm² de la zona de inhibición del crecimiento de las cepas y se aplicó la fórmula $A = \pi D^2/4$ en donde A= Actividad en UA/mL. Finalmente se reportó la actividad en unidades arbitrarias (UA) en mm² del área de inhibición (Barboza-Corona et al., 2007).

RESULTADOS

El análisis proximal del *P.glandulosa* de la Región de Coahuila, México se proporciona como resultados presentados en la Tabla 1.

Tabla 1. Análisis Proximal de vaina de mezquite (<i>P. glandulosa</i>) de Coahuila					
Harina	Carbohidratos	Proteína cruda	Grasa	Fibra cruda	Cenizas
Mezquite	34.28	7.84	3.49	43.82	6.25

Los resultados obtenidos en el análisis proximal de la vaina revelan un mayor contenido de fibra cruda en al compararla con otras especies del género como *Prosopis alba* y *Prosopis pallida*. Por otro lado el contenido de azúcares encontrado en *Prosopis glandulosa* es menor en comparación con las especies antes mencionadas, siendo estos dos parámetros en los que se encontró una mayor

variación, ya que en cuanto al contenido de proteína cruda y de grasas presenta valores equiparables (Prokupiuk *et al.*, 2000).

Determinación de fenoles

La determinación de fenoles es muy importante para conocer los compuestos antioxidantes que continene los extractos de plantas en general, y particularmente los extractos obtenidos con la metodología descrita se presentan en la Tabla 2.

Extracto	[gL ⁻¹]
Vaina	51.89
Semilla	42.32
Hoja	179.58
Carozo	35.22

Los resultados obtenidos en la determinación de contenido de fenoles en la vaina de *Prosopis glandulosa* difieren en gran consideración en lo encontrado en las especies: *P. alba* y *P. pallida* (Prokupiuk *et al.*, 2000).

Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de los extractos de diferentes partes de *P. glandulosa* (Tabla 3), muestran que la hoja es la parte del mezquite que ejerce mayor inhibición contra las bacterias utilizadas, tanto en extracto acuoso (Aq) como el metanólico (MeOH) con respecto a los demás extractos obtenidos de otras partes de la planta.

Microorganismo	Unidades Arbitrarias (UA)					
	HOJA		FLOR		VAINA	
	Aq	MeOH	Aq	MeOH	Aq	MeOH
Gram positivas						
<i>Enterococcus faecium</i>	3.14	2.83	ND	1.13	ND	ND
<i>Pediococcus acidilactici</i>	2.26	1.53	ND	0.07	ND	0.78
<i>Streptococcus agalactiae</i>	7.06	0.19	ND	0.78	ND	ND
<i>Bacillus cereus</i>	1.13	2.54	ND	0.95	ND	1.13
<i>Staphylococcus aureus</i>	2.83	1.72	ND	0.38	ND	ND
Gram negativas						
<i>Salmonella spp</i>	2.83	9.62	ND	2.83	ND	ND
<i>Proteus vulgaris</i>	2.54	3.80	ND	0.78	ND	ND
<i>Pseudomona aeruginosas</i>	0.78	2.26	ND	ND	ND	ND
<i>Shigella flexneri</i>	1.32	2.26	ND	0.63	ND	ND
<i>Serratia marcescens NIMA</i>	0.38	2.83	ND	0.38	ND	ND
<i>Salmonella thypimurium</i>	ND	7.54	ND	2.83	ND	1.53
<i>Klepsiella pneumoniae</i>	1.32	2.83	ND	0.78	ND	ND
<i>Shigella sonnei</i>	0.50	2.54	ND	0.95	ND	ND
<i>Enterobacter cloacae</i>	1.13	ND	2.83	0.78	ND	ND

Los resultados obtenidos en los extractos acuosos y metanólicos muestran mayor actividad inhibitoria para las bacterias Gram negativas *Salmonella spp* y *Salmonella thypimurium*; mientras que en las Gram Positivas las más inhibidas son *Streptococcus agalactiae* y *Enterococcus faecium*. En el caso de *Salmonella thypimurium* se observó una inhibición comparable en extractos metanólicos de hoja de *P. juliflora* (Figura 2). Por otro lado, en el caso de *P. juliflora*, se encontró una mayor capacidad inhibitoria en el extracto metanólico para *Staphylococcus aureus*, que la encontrada por *P. glandulosa* en extractos de origen metanolico (Thakur et al., 2014).

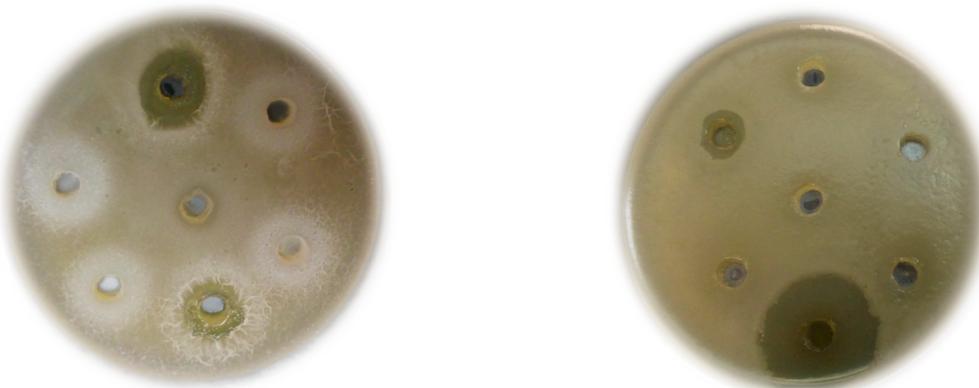


Figura 2. Actividad antibacteriana de extracto acuoso y metanólico respectivamente.

CONCLUSIONES

En el extracto de hoja se encontraron una actividad antimicrobiana contra bacterias Gram negativas, además de eso las hojas tienen una considerable actividad de fenoles, teniendo en cuenta estos resultados, es posible afirmar que el uso de estos extractos tendrá consecuencias benéficas.

En este punto tenemos un gran campo de investigación aún por descubrir, y en el cual se espera encontrar otras características que nos ayuden a aprovechar mejor estos recursos bioactivos con los que contamos en abundancia y de origen natural para el desarrollo de bioconservadores o productos bioterapéuticos que no generen resistencia como los antibióticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Barboza-Corona, J.E., De la Fuente-Salcido, N., Alva-Murillo, N., Ochoa-Zarzosa, A., López-Meza, J.E. 2009. Activity of bacteriocins synthesized by *Bacillus thuringiensis* against *Staphylococcus aureus* isolates associated to bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*. 138 (1-2), 179-83.
- Del Valle, F.R., Escobedo, M., Muñoz, M.J., Ortega, R., Borgues, H. 1983. *Journal of food science*. (48), 914-919.
- Olvera, N.M.A., Martínez, P.C.A., Real, L.E. 1993. Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. FAO: Italia.
- Palacios, R.A. 2006. Los Mezquites Mexicanos: Biodiversidad y Distribución Geográfica. *Argentina Biology Society and botanica*. 41, 99-121.

- Prabha, D.S., Dahms, H., Malliga, P. 2014. Pharmacological potentials of phenolic compounds from *Prosopis* spp.-a review. *Journal of Coastal Life Medecine*. 2: 918-924.
- Prokopiuk, D., Cruz, G., Grados, N., Garro, O., Chiralt, A., 2000. Estudio comparativo entre frutos de *Prosopis alba* y *Prosopis pallida*. *Multequina*. 9:35-45.
- Ríos, S.J.C., Martínez, S.M., Mojica, G.A.S. 2013. Caracterización ecológica y socioeconómica del mezquite (*Prosopis* spp.). En: *Ecología y usos de especies forestales de interés comercial de las zonas áridas de México*, Martínez, S.M. SAGARPA. pp. 42-66.
- Santhiya, M., Muthuchelian, K. 2008. Investigation of Phytochemical Profile and Antibacterial Potential of Ethanolic Leaf Extract of *Prosopis juliflora* DC. *Ethonobotanical Leaflets*. 12:1240-1245.
- Wajid, M., Mushtaq, A., Ahmad, M., Jabeen, Q., Rasheed, A., Bashir, K., Tulain, U. 2014. Evaluation of antimicrobial effects of *prosopis cineraria* leaves. *World Journa of Pharmaceutical Sciencies*. 2:469-478.