

**Título del Proyecto de Investigación
al que corresponde el Reporte Técnico:**

Actividad antimicrobiana del extracto *Quercus durifolia* contra bacterias transmitidas por alimentos.

Tipo de financiamiento

Sin financiamiento

Fecha de Inicio: 11/01/2021
Fecha de Término: 13/12/2023

Tipo de Reporte

Parcial

Final

Autor (es) del reporte técnico:

Yuridia Ortiz-Rivera
Marcela Soto García
Valeria Netzahuatl Bautista

TÍTULO DEL REPORTE TÉCNICO

Actividad antimicrobiana del extracto de *Quercus durifolia* contra bacterias transmitidas por alimentos.

Resumen del reporte técnico en español

La biopreservación es una técnica que ha adquirido popularidad en los últimos años, debido a la preocupación de la población por el consumo de alimentos mas naturales y saludables, debido a esto, surge la necesidad de explorar el potencial de compuestos provenientes de plantas como antioxidantes, conservadores, saborizantes para ser utilizados como aditivos alimentarios. En este proyecto se evaluaron extractos de corteza de árboles de la región como antimicrobianos para probar si son capaces de inhibir el crecimiento de bacterias patógenas transmitidas por alimentos. El extracto de *Quercus durifolia* fue capaz de inhibir al 50 % el crecimiento de las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, además fue capaz de inhibir en un 64 % el crecimiento de la bacteria *Salmonella sp.* lo que representa una importante ventaja debido a que este extracto disminuye el crecimiento de importantes patógenos transmitidos por alimentos y pudiera tener potencial como conservador.

Resumen del reporte técnico en inglés:

Biopreservation is a technique that has gained popularity in recent years, due to the population's concern for the consumption of more natural and healthy foods. Due to this, the need arises to explore the potential of compounds from plants as antioxidants, preservatives, flavorings to be used as food additives. In this project, extracts from trees from the region were evaluated as antimicrobials to test if they can inhibit the growth of foodborne pathogenic bacteria. The *Quercus durifolia* extract was able to inhibit the growth of the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by 50%, and it was also able to inhibit the growth of the bacteria *Salmonella sp.* by 64%. which represents an

important advantage because this extract reduces the growth of important foodborne pathogens and could have potential as a preservative.

Palabras clave:

Alimentos, extractos, antimicrobianos.

Usuarios potenciales

El proyecto puede generar información para tener mas opciones de conservadores naturales en la industria de los alimentos.

Reconocimientos

A la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez por la infraestructura facilitada.

1. Introducción

En México existe una gran diversidad de especies de pinos en diferentes regiones del país. Uno de los géneros más importantes son los *Quercus spp*, este roble se distribuye en las regiones montañosas del estado de Durango, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Veracruz y Chiapas. Estas especies han sido utilizadas por diferentes etnias como la tarahumara, tepehuano, purépecha y mixteco con fines medicinales y alimenticios. Informes etnobotánicos mencionan que el té de algunas especies de *Quercus*, en combinación con otras plantas tienen múltiples efectos fisiológicos debido a la presencia de polifenoles. Algunas de estas especies muestran efectos anticancerígenos en pacientes con cáncer gástrico, por lo cual a lo largo del tiempo esta especie ha sido investigada para obtener ingredientes alimentarios bioactivos y así aplicarlos en el desarrollo de nuevos alimentos funcionales o como medicina natural para el tratamiento de algunas enfermedades comunes.

2. Planteamiento

2.1 Antecedentes

La tendencia actual en la conservación de alimentos indica la utilización de alternativas más naturales, ya que se ha asociado inconvenientes en la utilización de conservantes

químicos como presentar enfermedades o daños en el estómago o hígado por ser potencialmente tóxicos (González, 2013). Por esto, se deriva cada vez más a analizar opciones de conservantes de origen natural.

Por lo anterior, uno de los objetivos en materia de procesamiento de alimentos es el proveer de alimentos seguros, nutricionalmente adecuados y con características sensoriales aceptables, por lo cual el estudio y posterior aplicación de aditivos conservantes de origen natural implica un reto ya que estos no deben modificar las características del alimento y deben ser efectivos en la actividad antimicrobiana a fin de hacer frente ante las enfermedades transmisibles por alimentos (ETA's).

Existen diversas fuentes potenciales en la generación de compuestos naturales con actividad antimicrobiana, básicamente los productos de origen vegetal o partes de estos que contienen antimicrobianos naturales, por ejemplo, los que incluyen compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas (Sauceda 2011). Con esto, se pretende la incorporación de este tipo de compuestos a los alimentos y propiciar que estos cuenten con calidad y seguridad microbiológica.

Por otra parte, los residuos de la industria agroforestal tal es el caso de la corteza de especies maderables se les ha reportado potencialidad como generadores de compuestos fenólicos debido a la alta concentración que poseen de estos. Investigaciones realizadas en cuando a la bioactividad de extractos polifenólicos de diversas especies del género *Quercus* han demostrado su capacidad antioxidante, hipogluceminate, anticáncer por mencionar algunas (Meziti et al 2019; Soto-García y Rosales-Castro 2016). Este hecho denota un particular interés en estudiar la actividad antimicrobiana de este género a fin de promover su posible uso como conservante natural, tal es el caso particular de la especie *Quercus durifolia*. Esta es una especie que se localiza en algunos estados de México como Chihuahua, Durango, Nuevo León, Sinaloa y Sonora. Tiene un crecimiento de 2-9 m de altura con una corteza negruzca. Representa una especie con importancia maderable y cuyos residuos de corteza no son utilizados. Por lo anterior, resulta conveniente el

estudiar el efecto de extractos polifenólicos de corteza de *Quercus durifolia* como antimicrobiano natural sobre bacterias patógenas transmisibles por alimentos.

2.1 Marco teórico

Compuestos químicos de los extractos

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos o fenoles son metabolitos secundarios que se encuentran ampliamente distribuidos en plantas y están presentes de diferentes formas, esto debido a su estructura química la cual consiste en un grupo fenol, un anillo aromático y un grupo hidroxilo. Gracias a su diversidad estructural tienen diferentes funciones y una de las principales es contribuir en el crecimiento de plantas y actuar como mecanismo de defensa contra ciertos patógenos. También se ha demostrado que tienen algunas propiedades antioxidantes, lo cual ha provocado un gran interés de estudio para implementar estos compuestos fenólicos en alimentos como contribución a la salud humana.

Flavonoides

Son pigmentos presentes en vegetales y plantas considerados altamente beneficiosos para la salud humana ya que han demostrado diversas propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antivirales y antialérgicas. También funcionan como tratamiento para ciertas enfermedades cardiovasculares, cáncer y otras patologías.

Uso de medicina tradicional

A lo largo del tiempo las plantas se han utilizado como medicina tradicional para mantener la salud e incrementar la vida de las personas, por lo cual la industria farmacéutica se ha dedicado a la investigación de diversas especies con fines medicinales. Dentro de la familia de las fagáceas se encuentra *Quercus durifolia*, este encino ha sido utilizado tradicionalmente como alimento y posteriormente empleado en herbolaria mexicana para el tratamiento de diferentes enfermedades como úlceras

gástricas y algunas inflamaciones locales. Actualmente se utiliza en infusiones para comprobar sus posibles propiedades anticancerígenas y antioxidantes ya que posee capacidad de atrapar el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Sanchez-Burgos, Ramírez-Mares, Larrosa, et. al, 2013).

Utilización de extracto en alimentos

Los extractos de plantas, verduras y hierbas han tenido una amplia aceptación como productos alimenticios gracias a sus propiedades antioxidantes, anticancerígenas y por su alto contenido fenólico. Estos compuestos se consumen principalmente en bebidas o como aditivo para mejorar algunas características en alimentos. El clavo (*Syzygium aromaticum*) es una especia ampliamente aprovechada en la perfumería, medicina y dentro de la industria alimentaria es utilizado como saborizante (Zheng, Kenney y Lam, 1992). Estudios recientes han concluido que especialmente las hojas del género *Quercus* pueden ser incluidas en dietas de ovinos para su mantenimiento de hasta un 30%, sin tener efectos negativos en el animal.

Capacidad antimicrobiana

Como se sabe las plantas producen metabolitos secundarios en forma de aceites esenciales que secretan como mecanismo de defensa al ataque microbiano, estos aceites contienen fitoalexinas, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y otros componentes aromáticos o alifáticos, los cuales son hidrofóbicos, por lo que permite intercalarse en los lípidos de la membrana celular bacteriana y de esa manera distorsionar la estructura celular haciéndola más permeable (Pérez-Urria, Ávalos, García, 2009). Las propiedades antimicrobianas de las plantas se encuentran frecuentemente en investigación en el área clínica y la industria de alimentos debido a su efecto en bacterias y hongos patógenos. Como ejemplo más conocido están los aceites de *Eucalyptus globulus* y *Pinus radiata* los cuales han reportado actividad antimicrobiana sobre ciertos patógenos Gram positivos y Gram negativos como *Escherichia coli*. En otros artículos, reportan que *Quercus pungens* ha sido utilizada para evaluar su capacidad antimicrobiana sobre algunos hongos fitopatógenos como *Botrytis sp.*, *Alternaria solani*, *Aspergillus flavus* y *Rhizopus sp.* donde se concluyó que esta especie tiene poca actividad antimicrobiana sobre hongos.

Uso de extracto como conservadores de alimentos

En la actualidad, cada vez son más los consumidores que buscan o prefieren adquirir productos naturales, orgánicos o mínimamente procesados, sin que se comprometa la inocuidad de los alimentos (Trajano, Lima, Souza y Travazzos, 2010). Gracias a esto los investigadores han puesto su atención hacia los productos naturales que se encuentran en plantas debido a que contienen propiedades que pueden aportar sabor, olor y otras cualidades medicinales, también pueden utilizarse como conservadores para evitar el deterioro de algunos alimentos. Actualmente los extractos de plantas se han propuesto en la industria de alimentos como aditivos naturales estos se han utilizado para inhibir el crecimiento de diversos microorganismos y de esta forma extender la vida de anaquel de distintos alimentos procesados.

Bacterias patógenas transmitidas por alimentos

En el mundo existen microorganismos patógenos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) los cuales se han convertido en un grave problema sanitario y económico de relevancia mundial. Los síntomas principales de estas enfermedades son diarrea, vomito, fiebre y dolor estomacal. Las principales bacterias implicadas en ETA corresponden a las especies *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y *Listeria monocytogenes* o a los géneros *Salmonella*, *Campylobacter* y *Shigella* (J. Ruiz, Colello, L. Padola, 2016). A lo largo del tiempo estos patógenos han desarrollado resistencia a los compuestos antimicrobianos utilizados en alimentos por lo cual este problema se ha convertido en un reto para el Sistema de Salud Pública.

3. Objetivos (general y específicos)

Objetivo general: Evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos de *Quercus durifolia* sobre las diferentes bacterias patógenas presentes en los alimentos.

Objetivos específicos:

Determinar el grado de inhibición que tiene el extracto de *Quercus durifolia* sobre bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Listeria*.

4. Metodología

Dilución del extracto Quercus durifolia

Se preparó una solución stock a 400 ppm empleando como solución diluyente del extracto agua inyectable estéril. Posteriormente, se realizaron diluciones a partir de la solución stock, a concentraciones de 50, 100 y 200 ppm.

Preparación de caldo nutritivo

Se pesaron 8g de caldo nutritivo y se disolvió en 1 litro de agua purificada. Luego, se dejó reposar durante 5 minutos sobre un mechero bunsen, para posteriormente ser esterilizado en autoclave a 120°C durante 15 minutos.

Resiembra de Escherichia coli, Staphylococcus aureus y Salmonella sp.

Se resembraron las diferentes cepas de estudio, añadiendo 150 µL de suspensión bacteriana en 5 mL de caldo nutritivo. Posteriormente, las cepas resembradas se incubaron a 37°C durante 48 horas.

Ajuste de concentración de cepas

Después de que se llevó a cabo la resiembra de las cepas y su periodo de incubación concluyó, se ajustó su concentración a una absorbancia de 0.06 utilizando la siguiente fórmula:

$$C_1V_1 = C_2 V_2$$

Ecuación 1

Donde:

C_1 = concentración molar inicial de la disolución

V_1 = volumen inicial

C_2 = concentración final

V_2 = volumen final

Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto Quercus durifolia

Para la determinación del efecto antimicrobiano, se realizó el método de concentraciones mínimas inhibitorias (MIC). Para tal efecto se inocularon dos diferentes las cepas bacterianas en una placa de 96 pozos de los cuales se usaron 18 pozos diferentes. Se utilizaron las filas A, B y C de las columnas 7, 8, 9, 10, 11 y 12. En donde a la columna 7 se le añadió 150 µL de dilución bacteriana y 150 µL caldo nutritivo. Este fungió como control positivo. En las columnas 8 – 11 se agregaron 150 µL de las diluciones correspondiente del extracto y dilución bacteriana, mientras que en la columna 12 se añadió 150 µL agua inyectable y caldo nutritivo el cual fue empleado como el control negativo.

Lectura de microplaca en espectrofotómetro

El crecimiento se evaluó después de un periodo de 24 horas en un espectrofotómetro donde se obtuvieron lecturas de absorbancia para determinar el crecimiento bacteriano en el MIC.

La concentración mínima inhibitoria (MIC) fue calculado tomando en cuenta el control positivo, es decir, se sembraron cada una de las bacterias sin extracto y se consideró como 100 %.

Análisis estadístico

Se realizó la prueba estadística de Tukey a una significancia de $p < 0.05$ para comparar el efecto antimicrobiano de las diluciones empleadas del extracto de *Quercus durifolia*.

5. Instituciones, organismos o empresas de los sectores social, público o productivo participantes (Si aplica)

No aplica.

6. Resultados

Evaluación antimicrobiana del extracto Quercus durifolia

Al momento de evaluar cada una de las concentraciones utilizadas del extracto *Quercus durifolia* se pudo demostrar un efecto antimicrobiano de aproximadamente 50% sobre el

crecimiento de las bacterias *Escherichia coli*. y *Staphylococcus aureus* (figura 1 y 2 respectivamente). Con respecto a *Salmonella sp.* se observó que el extracto logró disminuir el crecimiento de la bacteria en un 64 % (figura 3).

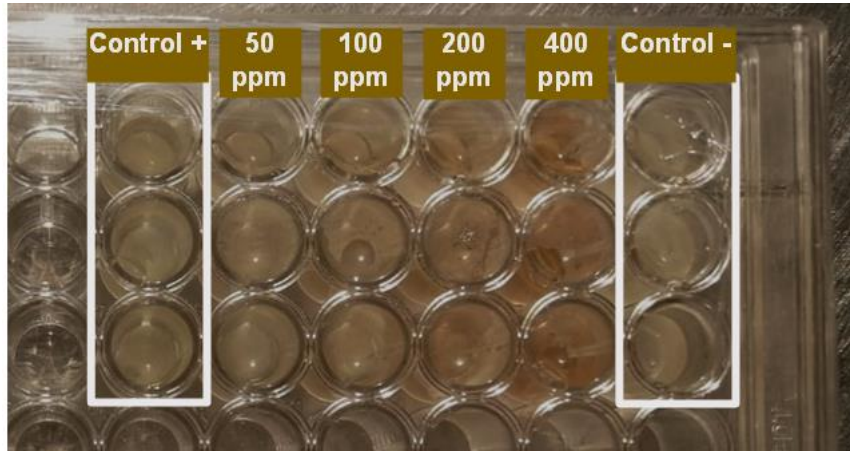


Figura 1. Microplaca de 96 pozos para probar la inhibición de *Q. durifolia* sobre el crecimiento de *E. coli*. Fuente: VALERIA 2023



Figura 2. Microplaca de 96 pozos para probar la inhibición de *Q. durifolia* sobre el crecimiento de *S. aureus*. Fuente: VALERIA 2023

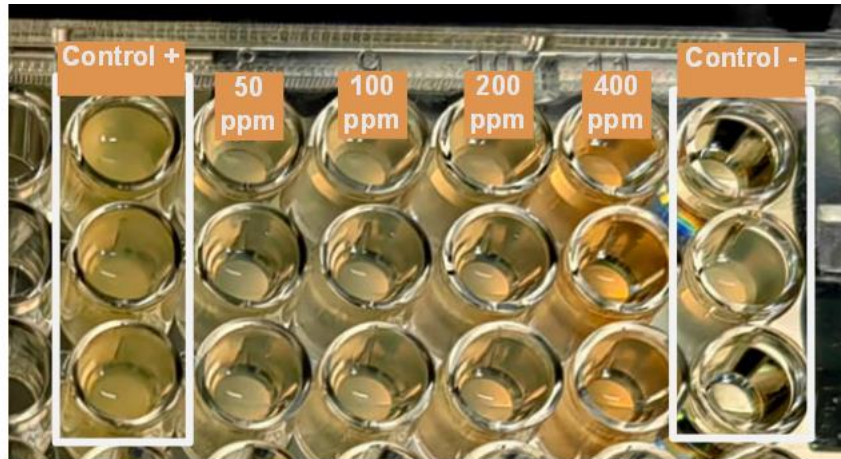


Figura 3. Microplaca de 96 pozos para probar la inhibición de *Q. durifolia* sobre el crecimiento de *Salmonella sp.* Fuente: VALERIA 2023

Con base a los resultados obtenidos en la prueba de Tukey se encontró que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el control positivo (la concentración 0) respecto al crecimiento de las bacterias con extracto de *Q. durifolia*, sin embargo, entre las concentraciones de *Q. durifolia* probadas (400 ppm, 200 ppm, 100 ppm y 50 ppm) no se encontró diferencia significativa, es decir, el extracto no inhibe más a mayores concentraciones, por lo cual se puede decir que en cualquier concentración utilizada del extracto hay un 50% de inhibición sobre las bacterias *E. coli* y *S. aureus* y una inhibición del 64 % del crecimiento de *Salmonella sp.*

7. Productos generados

- Reporte técnico final
- 1 tesis de licenciatura concluida

8. Conclusiones

El extracto *Q. durifolia* es capaz de inhibir el crecimiento de bacterias patógenas transmitidas alimentarias como *E. coli*, *S. aureus* y *Salmonella sp.* lo que representa una ventaja al poder ser utilizado como conservador de alimentos, aunque no inhiba

completamente el crecimiento de estas bacterias, lograr disminuir su crecimiento lo cual representa un logro importante que pudiera ayudar a la conservación de alimentos.

9. Mecanismos de transferencia. (Si aplica)

Las tesis y el reporte técnico terminados son los mecanismos de transferencia.

10. Contribución e impacto del proyecto

El proyecto contribuye a proporcionar evidencia de la actividad antimicrobiana del extracto de *Q. durifolia*, que potencialmente se puede utilizar como conservador de alimentos. El proporcionar evidencia de la efectividad de sustancias naturales con potencial para conservar alimentos conduce al desarrollo de alimentos mas inocuos y a reducir el uso de compuestos químicos en la conservación de alimentos.

11. Impacto económico, social y/o ambiental en la región

La biopreservación consiste en la conservación de alimentos mediante compuestos naturales, es ampliamente aceptada por los consumidores, quienes exigen cada vez alimentos de mejor calidad y mas naturales, por eso, es un reto importante encontrar sustancias naturales que puedan ser utilizadas como conservadores y aditivos alimentarios, incluso que algunas de estas sustancias tengan efectos benéficos en la salud del consumidor.

12. Referencias (bibliografía)

Quercus chihuahuensis. (s. f.). Robles del mundo. Recuperado 11 de mayo de 2021, de http://oaks.of.the.world.free.fr/quercus_chihuahuensis.htm

Martínez- Valverde, Isabel, Periago, María Jesús, & Ros, Gaspar. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos de

Nutrición, 50(1), 5-18. Recuperado en 25 de mayo de 2021, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222000000100001&lng=es&tlng=en.

Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, 17(6), 271-278.

De la Paz Naranjo, J., Guiamet, P. S., & De Saravia, S. G. G. (2009). Evaluación fitoquímica de extractos naturales de *Eucalyptus citriodora* y *Pinus caribaea* con actividad biocida. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(5), 445-448.

Gómez, M. R. (2018, 14 diciembre). Repositorio Institucional UAQ: Efecto de las infusiones de encino comestibles *Quercus sideroxyla* y *Quercus durifolia* sobre marcadores histopatológicos y moleculares en cáncer de colon. Universidad Autónoma de Querétaro Repositorio Institucional. <http://ri ng.uaq.mx/handle/123456789/831>

González Villalva, N. P. (2013). Extracción y caracterización de los antioxidantes secundarios del romero (*Rosmarinus officinalis* L.) para promover la obtención y la aplicación de antioxidantes naturales sobre grasas y aceites (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería en Alimentos).

Carillo Muro Octavio (2014, julio). Evaluación del uso de *quercus rugosa* née y *quercus resinosa liebm* en la alimentación de pequeños rumiantes - Repositorio Institucional UANL. Universidad Autónoma de Nuevo León. <http://eprints.uanl.mx/4066/>

Galván, J. V., Díaz, C. A. G., & Fernández, R. G. (2014). Efecto de los extractos acuosos de hojas de plantas de gobernadora (*Larreas tridentata*), hojasesen 14 (*Flourensia cernua*) y

encino (*Quercus pungens*), sobre el crecimiento micelial in vitro de hongos fitopatógenos. *Acta Universitaria*, 24(5), 13-19.

Meziti, H., Bouriche, H., Kada, S., Demirtas, I., Kizil, M., Senator, A., & Garrido, G. (2019). Phytochemical analysis, and antioxidant, anti-hemolytic and genoprotective effects of *Quercus ilex* L. and *Pinus halepensis* Mill. methanolic extracts. *J. Pharm. Pharmacogn. Res*, 7, 260-272.

Pérez-Urria Carril, E., & Ávalos García, A. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca*, 2(3), 119-145. Soto Varela, Z., Pérez Lavalle, L., & Estrada Alvarado, D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Revista Salud Uninorte*, 32(1), 105-122.

Ruiz, M. J., Colello, R., Padola, N. L., & Etcheverría, A. I. (2017). Efecto inhibitorio de *Lactobacillus* spp. sobre bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos. *Revista argentina de microbiología*, 49(2), 174-177.

Rojas-Herrera, R. A., & González-Flores, T. (2006). Detección e identificación de bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos mediante la reacción en cadena de la polimerasa. *Bioquímica*, 31(2), 69-76.

Sánchez-Burgos, J. A., Ramírez-Mares, M. V., Larrosa, M. M., Gallegos-Infante, J. A., González-Laredo, R. F., Medina-Torres, L., & Rocha-Guzmán, N. E. (2013). Antioxidant, antimicrobial, antitopoisomerase and gastroprotective effect of herbal infusions from four *Quercus* species. *Industrial Crops and Products*, 42, 57–62. doi:10.1016/j.indcrop.2012.05.01

Sauceda, E. N. R. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai: revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, 7(1), 153-170.

Soto-García, M., & Rosales-Castro, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxyla*. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 18(4), 701-714.

13. Anexos

13.1 Taxonomía de los Roles de Colaborador (con las actividades logradas)

Roles	Definición de los roles	Nombre del investigador	Figura	Grado de contribución	Actividades logradas durante el proyecto	Tiempo promedio semanal (en horas) dedicado al proyecto
Responsable	Principal	Yuridia Ortiz Rivera	Coordinador del proyecto	40 %	Se logró estandarizar las técnicas experimentales. Se logró comprobar que el extracto de <i>Q. durifolia</i> inhibe efectivamente el crecimiento de patógenos de alimentos.	4
Docente asociado	Secundario	Marcela Soto García	Apoyo técnico	20 %	Apoyo a la estudiante con la obtención del extracto. Apoyo en revisiones del escrito de tesis.	1

13.1.1 Estudiantes participantes en el proyecto

Nombre de estudiante (s)	Matrícula	Tiempo promedio semanal (en horas) dedicado al proyecto	Actividades logradas en la ejecución del proyecto
Valeria Netzahuatl Bautista	172468	3	La estudiante aprendió y estandarizó las técnicas. Logró comprobar la efectividad del extracto al inhibir a 3 bacterias patógenas transmitidas por alimentos. Escribió y presentó su proyecto de tesis.