



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



TRABAJO RECEPCIONAL BAJO LA MODALIDAD DE TESIS

TITULADO

**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE
HOJAS DE GUANÁBANA (*Annona muricata* L.) CON POTENCIAL EN LA
CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO EN ALIMENTOS**

**QUE PRESENTA
ADRIANA MISSHEL VILASECA VARGAS**

**DIRECTORES
Dra. ARELI CARRERA LANESTOSA
Dr. JUAN GUZMÁN CEFERINO**

VILLAHERMOSA, TAB.

Febrero de 2022



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS



Asunto: Autorización de impresión
de Trabajo Recepcional.
Fecha: 31 de mayo de 2021.

LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN Y
TITULACIÓN DE LA UJAT.
P R E S E N T E

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado(a), informo a usted que con base en el artículo 86 del Reglamento de Titulación Vigente en esta Universidad, la Dirección a mi cargo **autoriza** al (la) **C. Adriana Misshel Vilaseca Vargas** con matrícula **142C14026**, egresado(a) de la Licenciatura de Ingeniero en Alimentos de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, la impresión de su Trabajo Recepcional bajo la modalidad de Tesis, titulado: **"Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de guanábana (Annona muricata L.) con potencial en la conservación de alimentos"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Ph.D. ROBERTO ANTONIO CANTÚ GARZA
DIRECTOR

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente Alumno.
Archivo
Ph.D. RACG/MC.MRJ *RFJ*

CARTA DE CEDE DE DERECHOS

El que suscribe, Adriana Misshel Vilaseca Vargas del programa de estudios de Ingeniería en Alimentos, con número de matrícula 142C14026, adscrito a la División Académica de Ciencias Agropecuarias, manifiesto ser autora intelectual y titular de los Derechos de Autor del presente Trabajo de Tesis denominada "**Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de Guanábana (*Annona muricata* L.) con potencial en la conservación de los alimentos**", y autorizo a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice el presente trabajo con fines Académicos y de Investigación ya sea de forma física o digital para su difusión y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación Institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Nacajuca, Tabasco a los 11 días del mes de febrero del año 2022.

ATENTAMENTE



Adriana Misshel Vilaseca Vargas

142C14026

AGRADECIMIENTOS

A Dios.

Por haberme brindado vida y salud a lo largo de la trayectoria de este proyecto, por iluminarme para llegar a la conclusión de mi tesis e impulsarme a nunca desistir.

A mi hija.

Ariana Guadalupe Garrido Vilaseca. Porque ella fue mi motor más grande de superación profesional. Sé que necesitas de mi a como yo de ti.

A mi madre.

Rosa Elena Vargas Aquino. Por sus noches de desvelo junto conmigo y por ser siempre mi hombro de apoyo.

A mi Tío.

Pbro. Ignacio Vargas Aquino.

Por compartir conmigo sus cocimientos en biología, ya que esto me ayudó en este trayecto.

A mis abuelitos

Carmen Vargas Pérez y Martha Aquino Pérez. Mi segundo motor, mi impulso a superarme. Por enseñarme día con día que puedo salir adelante si me lo propongo. Porque, aunque no estén aquí a mi lado aun en la distancia no me dejaron sola.

A mi directora de tesis.

Dra. Areli Carrera Lanestosa. Por haberme tomado en cuenta en este proyecto. Por su apoyo incondicional, la dedicación y esmero hacia mi trabajo. Por tomarse el tiempo para realizar junto conmigo las revisiones y correcciones pertinentes para que este trabajo sea de calidad. E incluso sus jaladas de oreja para apurarme a sacar la carrera. Pero, sobre todo, por su valiosa amistad y enseñanzas transmitidas.

A mi Co-director.

Dr. Juan Guzmán Ceferino. Por su valioso apoyo, por transmitirme los conocimientos necesarios para activar, inocular y sembrar una bacteria siempre y cuando con las medidas de manejo apropiados.

A los maestros.

Dr. Carlos Alberto Corzo Sosa; M.C Lourdes Baeza Mendoza; M.A Judith Espinosa Moreno; M.C Dora Centurión Hidalgo, por ser parte de mi trayecto académico, dotándome de sus enseñanzas en las diferentes asignaturas impartidas, pero principalmente por ser parte de mi comité revisor y quiénes también se tomaron una

parte de su valioso tiempo para revisar mi trabajo. Porque sin ustedes la calidad de mi trabajo sería nula.

A mis compañeros de laboratorio.

Araceli Torres Martínez y Víctor Manuel Fuentes Martínez. Por los momentos compartidos dentro del Laboratorio de Productos Bióticos y el Laboratorio de Biotecnología de los Alimentos, por apoyarme en la elaboración de mis extractos cuando por desfortuna me ausenté por enfermedad. Pero sobretodo su amistad.

Mis más sinceros agradecimientos a todos y a los que me faltaron gracias por apoyarme en este camino” GRACIAS POR TODO”.

México.

de Tabasco.

Este trabajo de tesis fue realizado en el Laboratorio de Biotecnología de Alimentos, ubicado en el Centro de Investigación de Ciencias Agropecuarias (CICA) y el Laboratorio de Productos Bióticos, bajo la dirección de la Dra. Areli Carrera Lanestosa y el Dr. Juan Guzmán Ceferino. Fue financiado por el **Programa para el Desarrollo Profesional Docente (PRODEP)**, a través del proyecto denominado **"Evaluación de la actividad biológica *in vitro* y caracterización de metabolitos en extractos de plantas de uso medicinal tradicional cultivadas en Tabasco"**

ÍNDICE

	Página
INDICE DE FIGURAS	IV
INDICE DE TABLAS	V
RESÚMEN	VI
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1. Enfermedades de transmisión alimentaria (ETAS)	4
2.2. Enfermedades Infecciosas	6
2.3. Evaluaciones biológicas de las plantas medicinales	7
2.3.1. Constituyentes químicos de las plantas	7
2.3.1.1. Actividad antioxidante	7
2.3.1.2. Actividad antimicrobiana	8
2.4. Conservador natural alimentario	9
2.5. Generalidades de <i>A. muricata</i> L.	11
2.6. Constituyentes químicos de <i>A. muricata</i> L.	11
3. OBJETIVOS	13
3.1. Objetivo general	13
3.2. Objetivos específicos	13

4.	METODOLOGÍA	14
4.1.	Recolección de muestras	14
4.2.	Obtención de extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos de hojas de guanábana (<i>A. muricata</i> L.).	14
4.3.	Evaluación biológica de extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos de hojas de guanábana (<i>A. muricata</i> L.).	15
4.3.1.	Actividad antioxidante <i>in vitro</i>	15
4.3.1.1.	Ensayo DPPH	15
4.3.1.2.	Ensayo ABTS	16
4.3.2.	Actividad antimicrobiana <i>in vitro</i>	16
4.3.2.1.	Cepas bacterianas y condiciones de cultivo	16
4.3.2.2.	Difusión en disco	17
4.3.2.3.	Concentración mínima inhibitoria	18
5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	19
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
6.1	Evaluación biológica de extractos acuosos, alcohólicos e hidroalcohólicos de hojas de guanábana (<i>A. muricata</i> L.).	20
6.1.1.	Actividad antioxidante <i>in vitro</i>	20
6.1.1.1.	Ensayo DPPH	20

6.1.1.2. Ensayo ABTS	22
6.1.2. Actividad antimicrobiana <i>in vitro</i>	25
6.1.2.1. Difusión en disco	25
6.1.2.2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	27
7. CONCLUSIONES	29
8. BIBLIOGRAFÍA	30

ÍNDICE DE FIGURAS

No.	Título	Página
Figura 1.	Porcentaje de captación de radicales libres en extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos de hojas de <i>A. muricata</i> L.	21
Figura 2.	Capacidad antioxidante equivalente de trólox en extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos de hojas de <i>A. muricata</i> L.	23

ÍNDICE DE CUADROS

No.	Título	Página
Tabla 1.	Halo de inhibición antimicrobiano de EE de <i>A. muricata</i> L. (mm)	25
Tabla 2.	Concentración mínima inhibitoria (CMI) de EE de <i>A. muricata</i> L. sobre <i>E. coli</i> , <i>P. aureoginosa</i> y <i>A. baumannii</i> .	27

RESUMEN

Annona muricata Linn., comúnmente conocida como soursop o graviola, pertenece a la familia *Annonaceae*. Es un árbol tropical típico con frutos comestibles en forma de corazón y ampliamente distribuido en la mayoría de los países tropicales. La fruta de la guanábana contiene hidratos de carbono, además de abundante vitamina C y vitaminas del complejo B junto con el calcio, fósforo y hierro. Las hojas son lanceoladas, brillantes y de color verde oscuro que tradicionalmente se utilizaron para tratar los dolores de cabeza, úlceras, fiebres, hipertensión, tos, asma, diarreas y disenterías; además, se utilizaron como antiespasmódicos, sedantes y para las afecciones cardíacas. *A. muricata* L. generalmente, se toma el jugo de la fruta DE *A. muricata* L. para el tratamiento de lombrices y parásitos; esta planta se ha convertido en un importante cultivo debido a su sabor sabroso, alto contenido de pulpa y valor nutricional y propiedades antioxidantes.

Para conocer la capacidad antioxidante y antibacteriana *in vitro* en extractos de hojas de *A. muricata* L. cultivadas en Tabasco, se llevaron a cabo las técnicas antioxidantes 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) y ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS), y la actividad antimicrobiana por medio de técnicas *in vitro* de difusión en disco y concentración mínima inhibitoria (CMI). Se realizaron tres extractos de hojas de *A. muricata* L.: EE (extracto etanólico), EHA (extracto hidroalcohólico) y EA (extracto acuoso). Los resultados encontrados en este estudio mostraron que fueron EE y EHA los que obtuvieron mayor potencial antioxidante con un IC₅₀ de 345.25 y 386.26 µg/mL respectivamente, mientras que los resultados para EA fueron de (IC₅₀= 580.19 µg/mL). En cuanto a los resultados de la capacidad antioxidante equivalente de trólox (TEAC), se observó que EHA y EE mostraron un mayor TEAC de 408.76 y 406.07 mM/mg respectivamente, a una concentración de 1000 µg/mL; no presentando diferencias estadísticas mínimas significativas entre ambos (P<0.05). EA presentó mejores valores de TEAC a una concentración de 100, 500 y 750 µg/mL, en comparación con los demás extractos evaluados.

En las pruebas de sensibilidad *in vitro* mediante difusión en disco de los extractos evaluados, solo el EE presentó actividad antimicrobiana contra las bacterias

ensayadas. La actividad antimicrobiana de este extracto fue dependiente al aumento de su concentración (100 – 1000 µg/mL). Las concentraciones de EE a 750 y 1000 µg/mL fueron las que mostraron un mayor halo de inhibición con $18.0 \pm 0.11 / 18.1 \pm 0.12$, $13.0 \pm 1.0 / 13.4 \pm 0.51$ y $10.2 \pm 0.13 / 11.4 \pm 0.59$ mm para *A. baumannii*, *E. coli* y *P. aureoginosa*, respectivamente.

Con los resultados descritos de *A. muricata* L. en los diversos estudios revisados, esta planta medicinal podría ser una alternativa válida natural en la conservación de los alimentos.

1. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales son aquellas especies vegetales que se han utilizado de manera tradicional y sobre las que se ha demostrado científicamente los efectos benéficos sobre el organismo humano o al menos se han realizado estudios *in vitro* (Kaewpiboon et al., 2012), esto en virtud de algún compuesto químico (Teklay et al., 2013). Su uso representa el 80 % del arsenal terapéutico en los países en desarrollo. Debido a esto, las investigaciones están orientadas a la búsqueda primordial de nuevas fuentes de principios activos de origen vegetal y tienen en cuenta la amplia riqueza biótica presente en el planeta, donde existen aún regiones sin explorar (Fuente & Barboza, 2010).

En México, las plantas medicinales son el recurso terapéutico por excelencia en la medicina tradicional, es uno de los países de América con mayor tradición ancestral y riqueza en el uso de la herbolaria medicinal, donde se registran poco más de 3,000 especies que se emplean en remedios naturales y que tienen un potencial terapéutico. Aproximadamente el 1% de las plantas medicinales han sido estudiadas ampliamente por sus propiedades medicinales. Por lo tanto, es claro que debe realizarse una mayor investigación biológica y etnobotánica, en virtud de elucidar el posible beneficio medicinal de estas plantas.

Trabajos recientes han logrado determinar que los extractos de plantas contienen compuestos bioactivos o metabolitos secundarios que poseen actividad farmacológica y propiedades terapéuticas importantes para el tratamiento de diversas enfermedades gastrointestinales, dérmicas, del sistema nervioso central, diabetes, hipertensión y cáncer, así como actividades antioxidantes, antibacterianas, antimicóticas, antiprotozoarias, relajantes, sedativas, etc.

A. muricata L. es una fruta originaria de América central, donde todas las partes de esta fruta, se utilizan en medicina natural en los trópicos, incluyendo la corteza, hojas, raíces y frutos. Generalmente, se toma el jugo de la fruta de *A. muricata* L. para el tratamiento de lombrices y parásitos, para abatir la fiebre, para aumentar la leche materna después del parto y como terapéutico para la diarrea y disentería, además esta planta se ha convertido en un importante cultivo debido a su sabor

sabroso, alto contenido de pulpa, valor nutricional y propiedades antioxidantes (Adewole & Caxton-Martins, 2006).

Los antioxidantes son un grupo de metabolitos secundarios para combatir el cáncer y otros procesos que potencialmente conducen a enfermedades como la aterosclerosis, el Alzheimer, el Parkinson, diabetes y enfermedades del corazón. Los antioxidantes actúan durante la carcinogénesis, y pueden prevenir daño oxidativo a macromoléculas como proteínas, lípidos, enzimas y ADN (Gavamukulya et al., 2014).

Estos metabolitos secundarios en general han sido documentados como antitumorales, antiparasitarios, insecticidas y antimicrobianos; siendo las plantas utilizadas actualmente como antibióticos naturales (Vijayameena et al., 2013).

El uso de los antibióticos como la penicilina y amoxicilina se han utilizado extensamente, pero el uso irracional de estos en los últimos años ha creado resistencia por parte de las bacterias de ahí la importancia de emplear antibióticos naturales como alternativa terapéutica (Vieira et al., 2010).

Las cepas bacterianas multirresistentes son un problema de salud pública cada vez mayor en todo el mundo que justifica las inversiones en la búsqueda de formas alternativas de tratamiento para las infecciones. Como resultado, varias plantas medicinales utilizadas en la medicina indígena han sido probadas y se ha encontrado que poseen propiedades bactericidas (Vieira et al., 2010).

Es prioritario investigar sobre la medicina tradicional con los recursos disponibles en el estado de Tabasco para conseguir un aprovechamiento y uso de las mismas con un respaldo científico sólido. Para contribuir a la validación científica sobre la efectividad de las plantas usadas en la generación de nuevas alternativas terapéuticas y fuentes para fabricar alimentos nutraceuticos, la presente investigación se destaca como una actividad preliminar para el rescate y conservación de la medicina tradicional de la región, con el objetivo de conocer las plantas medicinales de uso tradicional, utilizadas en el municipio de Centro del estado de Tabasco, México, para determinar las especies de mayor uso o importancia en el control empírico del envejecimiento prematuro y las enfermedades infecciosas.

Es por ello que en el presente trabajo se evaluó la actividad biológica *in vitro* en extractos de hojas de guanábana (*Annona muricata* L.) cultivadas en el estado de Tabasco, México.

2. ANTECEDENTES

2.1. Enfermedades de transmisión alimentaria (ETAS)

La población está interesada en consumir alimentos libres de patógenos, con la menor cantidad de aditivos químicos, que sean sensorialmente aceptables, con un valor nutricional elevado y que representen una alternativa en la prevención de enfermedades. La inocuidad es uno de los cuatro grupos básicos de características que, junto con las nutricionales, las organolépticas y las comerciales, componen la calidad total de los alimentos (Fuente & Barboza, 2010).

Un alimento inocuo es aquel que no ocasiona un daño o enfermedad a la persona que lo consume. Debido a la fuerte relación que existe entre la inocuidad y la salud de los consumidores, el obtenerla adquiere importancia fundamental e indiscutible; durante su obtención, preparación, manipulación, transporte, almacenamiento o consumo y por causas provocadas no deliberadamente, los alimentos sufren variaciones en sus características organolépticas o sensoriales (color, aroma, textura, sabor), composición química o valor nutritivo, de tal manera que su aceptabilidad para el consumo queda suprimida o sensiblemente disminuida (Fuente & Barboza, 2010).

Los alimentos corren el riesgo de contaminación durante el proceso de producción, almacenamiento y consumo y pueden llegar a transmitir enfermedades, las cuales constituyen un problema importante de salud pública. Los riesgos de enfermedades transmitidas por alimentos dependen de la preparación, manipulación y almacenamiento de los alimentos, de la calidad de las materias primas y de los hábitos alimentarios (Flórez et al., 2007).

Durante los últimos años se han registrado aumentos significativos de la incidencia de enfermedades provocadas por microorganismos transmitidos por los alimentos, tales como como *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. Aunado a lo anterior, en la cadena alimentaria han surgido graves peligros microbiológicos que incluyen la presencia de bacterias muy agresivas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y de partículas infecciosas de naturaleza proteica (priones) que ocasionan

las enfermedades neurodegenerativas transmisibles conocidas como encefalopatías espongiformes (Fuente & Barboza, 2010).

A pesar del desarrollo de novedosas y sofisticadas tecnologías para obtener alimentos más seguros, persisten los riesgos microbiológicos, representados principalmente por las enfermedades transmitidas por alimentos. Éstas siguen siendo una de las razones por lo que los productores buscan alternativas de bioconservación de la calidad microbiológica de los alimentos que permitan asegurar alimentos inocuos y sin deterioro de sus propiedades nutritivas (Fuente & Barboza, 2010).

La implementación de tecnologías modernas en el procesamiento y aseguramiento de la seguridad microbiológica de los alimentos han disminuido, pero no eliminado los riesgos de las enfermedades relacionadas con el consumo de alimentos contaminados con microorganismos (Fuente & Barboza, 2010).

En México, un estudio gubernamental realizado en 2003 reportó 4,556 decesos causados por infecciones intestinales (Paniagua et al., 2007).

En 2001, la Secretaría de Salud (SSA) informó que las enfermedades gastrointestinales, ocasionadas por bacterias o parásitos, ocupaban la decimocuarta causa de fallecimientos en el nivel nacional y que los estados con mayor incidencia fueron: Chiapas, Oaxaca, Guanajuato, Veracruz, Puebla y el Distrito Federal. Tan solo en 2008, el Seguro Social brindó 2 millones 188 consultas por enfermedades gastrointestinales y los estados con mayor incidencia de estas infecciones fueron: Chihuahua, Coahuila, Jalisco, Michoacán, Guerrero y Oaxaca. De acuerdo con estadísticas del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), las infecciones, como gastroenteritis, salmonelosis, tifoidea, cólera y rotavirus, representan un severo problema de salud pública para nuestro país (Hernández-Cortés, 2011). Tradicionalmente, se consideraba que los alimentos para consumo humano únicamente servían como una fuente de energía. Sin embargo, con los avances que se han tenido en la nutrición y en el desarrollo de productos novedosos alimentarios funcionales, se ha observado que es posible para los consumidores no solamente seleccionar alimentos que satisfagan su paladar, sino que también contribuyan a mejorar su salud (Fuente & Barboza, 2010).

2.2. Enfermedades Infecciosas

Las enfermedades gastrointestinales son uno de los principales problemas de salud pública en México. Se transmiten, ya sea por vía fecal-oral, o bien por el consumo de agua y alimentos contaminados. Afectan principalmente a la población infantil, y tanto su incidencia como su prevalencia dependen del nivel socioeconómico de los pacientes. Los agentes patógenos involucrados son virus, parásitos y bacterias. La búsqueda e identificación de éstos, en los laboratorios clínicos, se centra en patógenos clásicos como: *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Vibrio*, *Campylobacter* y *Yersinia* (Hernández-Cortés, 2011).

Las enfermedades gastrointestinales son una de las primeras causas de consulta médica y también una de las primeras causas de muerte en México y en el mundo. Por ello, se las considera un problema de salud pública en el nivel mundial, que afecta a personas de cualquier edad y condición social, aunque los grupos más vulnerables son los niños y los ancianos (Hernández-Cortés, 2011).

Las infecciones agudas del tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes. Los cuadros gastrointestinales pueden presentarse en cualquier época del año, pero el riesgo de sufrir estas enfermedades se incrementa en la temporada de calor, las manifestaciones clínicas más destacadas de la gastroenteritis son: fiebre, vómito, dolor abdominal, diarrea moderada o intensa. La gastroenteritis es uno de los principales motivos de demanda de atención médica en los centros de salud y en las últimas décadas se han buscado diversas alternativas de tratamiento para las infecciones, encontrándose en las plantas medicinales una alternativa válida para el tratamiento de enfermedades causadas por las bacterias (Vieira et al., 2010; Hernández-Cortés, 2011).

2.3. Evaluaciones biológicas de las plantas medicinales

2.3.1. Constituyentes químicos de las plantas

Las plantas han sido una de las fuentes más importantes para la búsqueda de compuestos bioactivos con actividades funcionales. Se han aislado diferentes tipos de metabolitos con promisorio actividad inhibitoria entre los que sobresalen los

alcaloides, flavonoides y terpenos. A pesar de que las investigaciones en fitoquímica son cada vez más numerosas, aún existen muchas especies a las cuales no se les ha realizado ningún tipo de investigación, algunas están en peligro de extinción, por lo que su pérdida involucraría también la pérdida de los compuestos potencialmente útiles que estas contienen (Nitola et al., 2016).

Estos compuestos bioactivos o metabolitos secundarios poseen actividad farmacológica y propiedades terapéuticas importantes para el tratamiento de diversas enfermedades gastrointestinales, dérmicas, del sistema nervioso central, diabetes, hipertensión y cáncer, así como actividades relajantes, sedativas, antimicóticas, antiprotozoarias, antioxidantes, antibacterianas, etc. (Esquivel-Gutiérrez et al., 2012).

2.3.1.1. Actividad antioxidante

La oxidación es una reacción química natural del metabolismo que produce radicales libres, el aumento de la formación de estos radicales en el cuerpo induce daño en el ADN, peroxidación de lípidos y modificación de proteínas, dando lugar a diversas enfermedades como cáncer, aterosclerosis, trastornos neurológicos, endócrinos, entre otros (Gawel-Beben et al., 2015).

Los metabolitos secundarios encontrados en las plantas pueden proteger a las células del estrés oxidativo eliminando los radicales libres o impidiendo su generación excesiva en condiciones estresantes. Se demostró que el alto consumo de alimentos ricos en antioxidantes naturales reduce significativamente el riesgo de varios tipos de enfermedades (Gawel-Beben et al., 2015).

Las plantas medicinales son una fuente importante de metabolitos secundarios y en México se han encontrado diversas plantas con actividad antioxidante: *Calia secundiflora* (Barrón-Yáñez et al., 2011), *Cladoclea loniceroides* (Serrano-Maldonado et al., 2011), *Dahlia spp* (Lara-Cortés et al., 2014), *Lippia graveolens* HBK (Soto-Domínguez et al., 2012), entre otras.

2.3.1.2. Actividad antimicrobiana

En la actualidad, las enfermedades gastrointestinales son frecuentes en la población. La literatura internacional nos brinda información cada vez más inquietante sobre la elevada frecuencia de enfermedades infecciosas por estafilococos penicilino-rresistentes y por bacilos Gram-negativos pertenecientes a las enterobacterias (Padrón-Márquez et al., 2003).

El fácil acceso y el uso inapropiado de fármacos para combatir las infecciones causadas por microorganismos patógenos, facilita la selección, persistencia y diseminación de microorganismos resistentes (Rodríguez et al., 2010). El problema de la resistencia bacteriana está creciendo y la perspectiva de la utilización de fármacos antimicrobianos en el futuro es muy incierta. Esto justifica la búsqueda de formas alternativas para el tratamiento de las infecciones, como nuevos compuestos con propiedades bactericidas de fuentes naturales como las plantas (Rodríguez et al., 2010). La actividad antimicrobiana de los extractos vegetales y productos naturales ha revelado el potencial de las plantas y de esta manera va permitiendo un avance del uso empírico de las especies vegetales medicinales con una base científica (Rodríguez et al., 2010; Mahesh & Satish, 2008).

Por este motivo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) promueve la búsqueda constante de nuevos antibióticos que contrarresten la resistencia de los microorganismos ya existentes y los reemergentes, por lo que se ha incrementado el interés de las plantas medicinales debido a que contienen una gran cantidad de constituyentes químicos que pueden ser útiles en el desarrollo de antibióticos (Vega-Menchaca et al., 2013). En México, las que se han utilizado de forma tradicional para las infecciones gastrointestinales y que se han reportado son: *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia caryophyllata*, *Rosmarinus officinalis* (Ardila et al., 2009), *Ariocarpus kotschoubeyanus* (Lemaire), *Ariocarpus retusus* (Scheidweiler) (Cactaceae) (Rodríguez et al., 2010), *Leucophyllum frutescens* (Berl) (Vega-Menchaca et al., 2013), *Oedogonium capillare* (Pérez-Gutiérrez, 2007), *Melia azedarach*, *Syzgium aromaticum*, *Cinnamomum zeylanicum* (Padrón-Márquez et al., 2003).

2.4. Conservador natural alimentario

El término agente conservador alimentario se refiere a una sustancia de amplio espectro que, al ser añadida en determinada proporción a los alimentos, productos farmacéuticos o cosméticos, evitan la vida o proliferación de los microorganismos y de esta manera minimizan el deterioro o contaminación (inadvertida) de los productos, disminuyendo el riesgo para la salud de los consumidores (Oporta et al., 2009). Los sitios de acción de los agentes antimicrobianos en la célula microbiana, incluye a la membrana celular, pared celular, enzimas metabólicas, síntesis de proteínas y el sistema genético, todos ellos, sitios estratégicos para la supervivencia de los microorganismos y cualquier acción sobre ellos puede inactivar a la célula microbiana. Los compuestos utilizados como antimicrobianos tienen varios sitios de ataque dentro de las células microbianas y que, dependiendo de las concentraciones utilizadas, pueden causar la inactivación o inhibición de los microorganismos (Oporta et al., 2009).

Los productos naturales son una fuente prometedora para el desarrollo de nuevos conservadores alimentarios. Actualmente, el estilo de vida ha ocasionado interés por parte de los consumidores, industriales e investigadores sobre lo que podría denominarse el retorno a lo natural, buscando la forma de ayudar a mantener la salud humana. Ello trae como consecuencia la necesidad de buscar nuevas fuentes naturales de aditivos alimentarios con la denominación GRAS (Generalmente Reconocido Como Seguro, por sus en inglés), como una alternativa al uso de compuestos sintéticos (Vargas-Sánchez et al., 2013).

A pesar de que la mayor parte de los conservadores usados en alimentos son de origen químico, existen diversos productos de origen natural provenientes de plantas y microorganismos que pueden ser usados como bioconservadores en alimentos. Se estima que del 1 % al 10 % de las cerca de 500 000 especies de plantas que existen en el mundo, tienen uso como alimento o medicina (Barbosa & Corona et al., 2004). Existen diversos productos de origen botánico los cuales poseen una actividad antimicrobiana como el ajo, orégano, mostaza, canela, albahaca, tomillo, pimienta, mejorana, chile, achiote, cebolla, cilantro, té, limón y

naranja. En un estudio donde se marinó pollo con orégano y tomillo almacenado a 4 °C fue altamente tóxico a *Salmonella typhimurium*, *Campilobacter jejuni* y *Listeria monocytogenes* (Barbosa & Corona et al., 2004).

Plantas, hierbas y especias, así como sus aceites esenciales, contienen un gran número de sustancias con propiedades que inhiben la actividad metabólica de bacterias, levaduras y mohos, reportándose más de 1,340 plantas como potenciales fuentes de antimicrobianos. Estos compuestos pueden ser letales para las células microbianas o simplemente servir como inhibidores de la producción de metabolitos (Oporta et al., 2009).

Con respecto al modo de acción de los agentes antimicrobianos de origen natural, se sugiere que la actividad antimicrobiana de los agentes conservadores se basa en el deterioro de varios sistemas enzimáticos, incluidos aquellos involucrados en la producción de energía y en la síntesis de compuestos estructurales. Una vez que el compuesto cruza la membrana celular, puede interactuar con las enzimas y con las proteínas causando un flujo contrario de protones a través de ella, afectando así la actividad celular (Oporta et al., 2009).

Los efectos de estos compuestos pueden ser a dos niveles, sobre la integridad de la pared celular y membrana citoplasmática, así como sobre la respuesta fisiológica del microorganismo. Estos pueden desnaturalizar a las enzimas responsables del inicio de la germinación de las esporas o interferir con el uso de aminoácidos necesarios para iniciar el proceso de germinación (Oporta et al., 2009).

Existen pocos estudios enfocados a comprender el mecanismo involucrado en la inhibición microbiana por especies vegetales. Sin embargo, se supone que, dada la estructura fenólica de muchos de los compuestos con actividad antimicrobiana presentes en las especies, el modo de acción debe ser similar al de otros compuestos vegetales (Oporta et al., 2009).

2.5. Generalidades de *A. muricata*

Annona muricata Linn., comúnmente conocida como soursop o graviola, pertenece a la familia *Annonaceae*. Es un árbol tropical típico con frutos comestibles en forma de corazón y ampliamente distribuido en la mayoría de los países tropicales

(Abubacker & Deepalakshmi, 2013). La fruta de la guanábana contiene hidratos de carbono, además de abundante vitamina C y vitaminas del complejo B junto con el calcio, fósforo y hierro. Las hojas son lanceoladas, brillantes y de color verde oscuro que tradicionalmente se utilizaron para tratar los dolores de cabeza, úlceras, fiebres, hipertensión, tos, asma, diarreas y disenterías; además, se utilizaron como antiespasmódicos, sedantes y para las afecciones cardíacas (Elagbar et al., 2016). Informes a lo largo de los años han demostrado que los extractos de raíz, tallo, corteza, hojas y semillas de *A. muricata* L. son antibacterianos, antifúngicos y antipalúdicos, así como se encontró que su extracto de hoja posee actividad antioxidante (Abubacker & Deepalakshmi, 2013; Patel & Patel, 2016).

Es una planta medicinal que se ha utilizado como un remedio natural para una variedad de enfermedades. Varios estudios realizados por diferentes investigadores demostraron que tanto la corteza como las hojas tenían propiedades antihipertensivas, vasodilatadoras, antiespasmódicas y relajantes (Adeyemi et al., 2009). Se ha documentado por los usos tradicionales que incluye su uso como anticanceroso, antibacteriano, antifúngico, antipalúdico, anti mutagénico (protector celular), emético (inducir vómitos), anticonvulsivo y sedante (Adeyemi et al., 2009).

2.6. Constituyentes químicos de *A. muricata* L.

Entre los constituyentes químicos encontrados en la hoja de *A. muricata* L. se encuentran los alcaloides, los aceites esenciales y las acetogeninas. Todas las partes del árbol de *A. muricata* L. se usan en medicina natural en los trópicos, pero hay poca información disponible con respecto a las actividades antifúngicas del extracto de hoja de *A. muricata* L. (Abubacker & Deepalakshmi, 2013).

Doscientos doce compuestos bioactivos se encuentran en *A. muricata* L., los compuestos predominantes, son acetogeninas seguidas de alcaloides, compuestos fenólicos, entre otros. Los compuestos fenólicos más importantes encontrados en las hojas de *A. muricata* L. incluyen quercetina y ácido gálico y son considerados como los principales fitoquímicos responsables de la actividad antioxidante (Coria-Téllez et al., 2018).

La mayoría de los fitoquímicos han sido identificados a partir de extracto orgánico, pero recientemente el enfoque también se ha dirigido hacia extractos acuosos. Las hojas y semillas son los órganos principales estudiados en la planta, probablemente porque son los más utilizados tradicionalmente (Coria-Téllez et al., 2018).

A. muricata L. mostró actividad antibacteriana contra bacterias grampositivas y gramnegativas, comparada con el antibiótico estándar estreptomycin. La bioactividad antimicrobiana de los extractos de *A. muricata* L. se atribuye a los flavonoides, esteroides y alcaloides presentes en la planta. El mecanismo de acción es probablemente debido a una sinergia de estos compuestos (Coria-Téllez et al., 2018).

Las especies de la familia *Annonaceae*, han sido reportadas con un gran número de compuestos químicos, entre ellos están los flavonoides, alcaloides y acetogeninas. Los flavonoides y alcaloides han presentado propiedades antioxidantes y antimicrobianas, mientras que las acetogeninas han presentado propiedades anticancerígenas. Debido a lo anterior, la corteza, hojas y raíces de algunas especies de *Annona* se han utilizado tradicionalmente en el tratamiento de diversas afecciones intestinales, como antiparasitario y también se han utilizado en el tratamiento del cáncer. En este ámbito, la industria farmacéutica ha encontrado aplicaciones de las sustancias fitoquímicas presentes en las diversas especies de *Annona*, dentro de ellas se pueden mencionar aplicaciones antifúngicas y bacteriostáticas, entre otras (López-Arcadia, 2015).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

- ✓ Evaluar la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de guanábana (*Annona muricata* L.) con potencial en la conservación de alimentos

3.2. Objetivos específicos

- ✓ Determinar la actividad antioxidante de los extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos de hojas de guanábana (*A. muricata* L.) cultivada en Tabasco, México, utilizando ensayos *in vitro*.
- ✓ Conocer la actividad antimicrobiana de los extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos de hojas de guanábana (*A. muricata* L.) de uso tradicional cultivada en Tabasco, México, utilizando ensayos *in vitro*.

4. METODOLOGÍA

4.1. Recolección de muestras

Se obtuvieron muestras de hoja de *A. muricata* L. en la División Académica de Ciencias Agropecuarias, ubicada en el km 25 de la carretera Villahermosa-Teapa, Tabasco, México. Las hojas obtenidas fueron secadas dentro de un cuarto oscuro con un deshumidificador, colocándolas en anaqueles con papel de estraza hasta que el deshumidificador dejó de absorber el agua presente en ellas. Posteriormente se molieron por separado en una licuadora variable speed laboratory blender hasta obtener un tamaño de partícula reducido y finalmente fueron tamizadas en malla 40 mm. Las muestras se almacenaron en frascos de plástico de aproximadamente 500 mL y estos fueron llevados a un desecador con silica gel, la cual se cambiaba cada vez que esta pasaba a tonalidad rosa.

4.2. Obtención de extractos acuosos, alcohólicos e hidroalcohólicos de hojas de guanábana (*Annona muricata* L.).

Se obtuvieron los resultados al 5 % (p/v), de acuerdo a la metodología de Dutta et al. (2010), se pesaron 50 g de hojas secas y molidas, se suspendieron en 1000 mL de agua destilada, etanol al 99.9 % o una mezcla hidroalcohólica etanol/agua (70:30 v/v), dependiendo del extracto a obtener.

Para los extractos acuosos se utilizó un termoagitador MS1 minishaker IKA a 90 °C durante 30 minutos. Los extractos hidroalcohólicos y etanólicos se obtuvieron a temperatura ambiente con una agitación continua de 150 rpm, en un agitador orbital Orbit Shaker LAB-LINE durante 24 h.

Concluido el tiempo de extracción, se filtró al vacío con la ayuda de un matraz Kitasato colocándole un embudo büchner y un papel filtro marca Whatman No.1 (2 mm), todo esto se dejó accionar con una bomba de vacío para poder efectuarse la filtración. Se recuperaron los sobrenadantes y al residuo sólido nuevamente se le agregó 1000 mL del solvente correspondiente. Se repitió el proceso de extracción una vez más y el sobrenadante total obtenido de los extractos se centrifugó a 2,700 x g por 30 min a 10 °C. en una centrífuga mikro220R Hettich, Posteriormente, al

extracto hidroalcohólico se le eliminó el disolvente inorgánico por medio de un evaporador rotatorio; inmediatamente después se congelaron todos los extractos y se liofilizaron hasta eliminar totalmente el agua. Posteriormente, fueron guardados en un desecador a temperatura ambiente hasta su utilización. Se obtuvieron tres extractos: EE (Extracto etanólico), EHA (Extracto hidroalcohólico) y EA (Extracto acuoso).

4.3. Evaluación biológica de extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos de hojas de guanábana (*Annona muricata* L.).

4.3.1. Actividad antioxidante *in vitro*

4.3.1.1. Ensayo DPPH

Para determinar la capacidad de captación de radicales libres de los extractos se empleó la metodología propuesta por Shimada et al. (1992), la cual consiste en emplear el radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH). Se disolvieron los extractos liofilizados en agua o etanol al 95 %, según el tipo de extracto, a una concentración de 100, 250, 500, 750 Y 1000 µg/mL, de estos se tomaron alícuotas de 150 µL y se mezclaron con 1,350 µL de DPPH (0.1 mM en etanol). Las mezclas se agitaron en un vortex por 20 s y se dejaron reaccionar durante 30 min a temperatura ambiente protegidas de la luz. Concluida la reacción se determinó la absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 517 nm. Como control positivo se utilizó el ácido ascórbico y todos los análisis se realizaron por triplicado

El porcentaje de captación de radicales DPPH se calculó empleando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Captación radicales} = [(AC - AE) / AC] \times 100$$

Dónde: AC es la absorbancia del control y AE es la absorbancia en presencia del extracto.

4.3.1.2. Ensayo ABTS

Se determinó de acuerdo con el método de Pukalskas et al. (2002). Se preparó una solución stock de radical catión 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS), disolviendo 54.8 mg de ABTS (2 mM) en 50 mL de buffer salino de fosfatos (PBS 0.01 M, pH 7.4). El radical catión ABTS⁺ se originó al reaccionar 10 mL de la solución stock de ABTS con 40 µL de K₂S₄O₈ 70 mM preparado 16 h antes de su uso. Para estudiar los compuestos antioxidantes, se diluyeron 7 mL del radical ABTS⁺ en 52 mL de buffer PBS hasta alcanzar una absorbancia de 0.8 ± 0.030 medida a una longitud de onda de 734 nm. Se realizó una curva estándar de trólox, disolviendo inicialmente en microtubos de 2 mL, 990 µL de radical ABTS diluido y 10 µL de solución trólox a 0.5, 1, 1.5, 2.5 y 3.5 mM. Posteriormente, se colocó dicha solución en una celda de cuarzo y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro UV-VIS a 734 nm para cada concentración de trólox después de 6 min. Se llevaron a cabo los análisis de los distintos extractos por duplicado, a concentraciones de 100, 250, 500, 750 Y 1000 µg/mL. Se calculó el porcentaje de inhibición y se graficó la concentración de trólox vs el porcentaje de inhibición y se obtuvo la ecuación de la línea de tendencia ($y = mx + b$), así como su correlación (r). La medición de la actividad antioxidante de las muestras se efectuó mezclando 10 µL del extracto y 990 µL de radical ABTS diluido, en microtubos de 2 mL, y posteriormente se leyó la absorbancia a 734 nm después de 6 min.

4.3.2. Actividad antimicrobiana *in vitro*

4.3.2.1. Cepas bacterianas y condiciones de cultivo

Para evaluar el efecto antimicrobiano de los extractos se utilizaron tres bacterias Gram negativas. Las cepas de *Escherichia coli* (ATCC 11229), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 15308), y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) donadas por el cuerpo académico de Químicos Farmacobiólogos de la facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila.

Los medios utilizados para la actividad antimicrobiana fueron caldo Müeller Hinton (MH) para la reactivación de las cepas bacterianas en un tiempo de 24 h a 37°C y agar Müeller Hinton (MH) para la prueba de efecto antimicrobiano.

4.3.2.2. Difusión en disco

Los efectos inhibitorios de los extractos se evaluaron por el método de difusión en agar. Las bacterias conservadas en medio Müeller Hinton (MH) con arena de mar, se reactivaron 10 mL de caldo Müeller Hinton (MH) durante 24 h a 37 °C y se empleó la metodología de la escala McFarland para ajustar la concentración a 1.5×10^8 UFC/mL. Este ajuste se realizó midiendo la absorbancia un espectrofotómetro UV-VIS VELA LT600 a una longitud de 625 nm, donde un valor de absorbancia de 0.01 a 0.08 equivale a la UFC antes indicada, cuando los valores de absorbancia del inóculo sobre pasó este valor, se aplicó una regla de tres simple para realizar el ajuste correspondiente (Guzmán-Ceferino et al., 2019).

Posteriormente, sobre la superficie del agar se inocularon 100 µL de inóculo con la ayuda de una varilla de cristal y luego se colocaron discos de papel filtro Whatman No.1, de 8 mm de diámetro sobre los que se impregnaron individualmente 20 µL de cada extracto (100, 250, 500, 750 y 1000 µg/mL, respectivamente), 20 µL de gentamicina (control positivo) y 20 µL del solvente de cada extracto (control negativo). Finalmente, las cajas se incubaron durante 24 h a 37 °C. Al final de la incubación se realizó la medición del diámetro de la zona de inhibición con un vernier y éste se expresó en milímetros (Abadie et al., 2014).

4.3.2.3. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La Concentración Mínima Inhibitoria se realizó usando el método de difusión en disco previamente descrito. Las concentraciones que se utilizaron para esta variable fueron inferiores a donde se observó halos de inhibición; las concentraciones fueron de 100-250 µg/mL, para *E. coli*, de 550-750 µg/mL para *P. aureoginosa* y de 15-90

µg/mL para *A. baumannii*. Los resultados se expresaron en milímetros (Abadie et al., 2014).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos de la actividad antioxidante y antimicrobiana se analizaron mediante un diseño completamente al azar ($p \leq 0.05$) con arreglo factorial en el que el factor A estuvo representado por el extracto de hoja *A. muricata* L. (acuoso, etanólico e hidroalcohólico) y el factor B por las concentraciones de extracto (100, 250, 500, 750 y 1000 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente). Para determinar las diferencias estadísticas entre cada extracto y concentración se aplicó la prueba de comparación de Tukey ($p \leq 0.05$). Todos estos análisis se efectuaron utilizando el paquete computacional Statgraphics CENTURION XV.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Evaluación biológica de extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos de hojas de guanábana (*Annona muricata* L.)

5.1.1. Actividad antioxidante *in vitro*

5.1.1.1. Ensayo DPPH

La capacidad antioxidante de los alimentos está determinada por una mezcla de diferentes compuestos con propiedades antioxidantes que presentan diversos mecanismos de acción; por lo tanto, estos compuestos deben ser evaluados por lo menos con dos sistemas de medición que puedan abordar los diferentes mecanismos (Chel-Guerrero et al., 2018).

En el presente trabajo se han seleccionado dos sistemas basados en mediciones de degradación del color en DPPH o ABTS. El método DPPH es comúnmente utilizado para extractos acuosos/orgánicos con compuestos hidrófilos y lipófilos, mientras que el método ABTS generalmente está indicado para evaluar la actividad antioxidante de los compuestos hidrofílicos (Moo-Huchin et al., 2015).

Los extractos de hojas de *A. muricata* L. evaluados a distintas concentraciones (100, 250, 500, 750 y 1000 µg/mL) revelan que, a mayor concentración de extracto, existe una mayor captación de radicales libres (Figura 1). Se observa que fue el EHA el que mostró una mayor actividad antioxidante de 80.91 ± 0.5 % a una concentración de 1000 µg/mL en comparación con EA y EE, los cuales presentaron porcentajes de captación de radicales libres de 77.41 ± 0.41 y 77.49 ± 1.15 %, respectivamente, a esa misma concentración, no mostrando diferencias estadísticas mínimas entre ellos ($P < 0.05$). Es importante señalar que EHA y EE no mostraron diferencias estadísticas significativas entre ellos a una concentración de 100, 500 y 750 µg/mL.

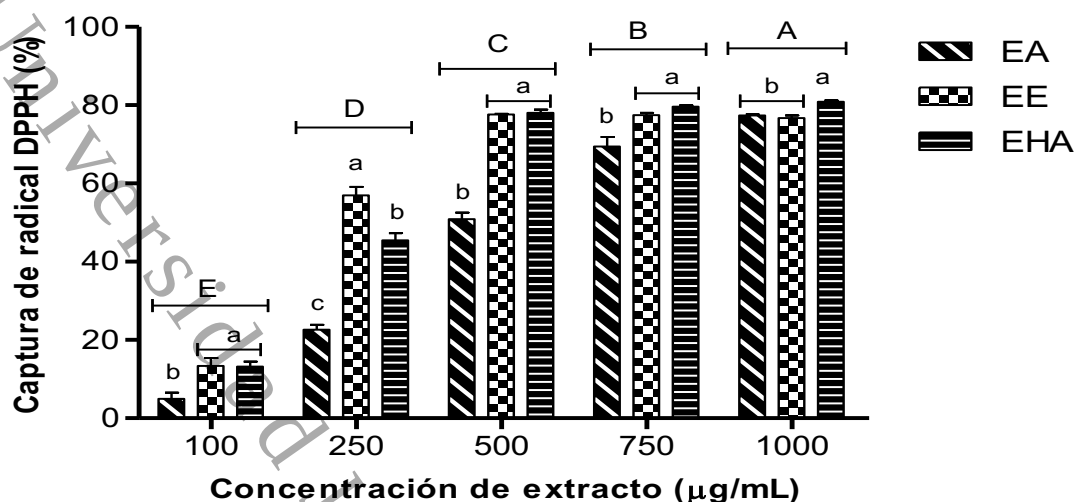


Figura 1. Porcentaje de captación de radicales libres en extractos acuosos (EA), etanólicos (EE) e hidroalcohólicos (EHA) de hojas de *A. muricata* L. Letras minúsculas indican diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre extractos y letras mayúsculas indican diferencias entre concentración de extractos.

Los resultados encontrados en este estudio mostraron que fueron EE y EHA los que obtuvieron mayor potencial antioxidante con un IC_{50} de 345.25 y 386.26 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, mientras que los resultados para EA fueron de ($IC_{50} = 580.19 \mu\text{g/mL}$). Los resultados obtenidos con EE son mayores a lo reportado por (Hasmila et al., 2019), los cuales obtuvieron un IC_{50} de 141 $\mu\text{g/mL}$ al evaluar un extracto etanólico de hojas. En otro estudio Adefegha et al. (2015), reportaron que el extracto de pericarpio tuvo una mayor capacidad captadora de radicales libres con un IC_{50} de 0.87 mg/mL, en comparación con extractos de pulpa ($IC_{50} = 2.24 \text{ mg/mL}$) y semilla ($IC_{50} = 5.44 \text{ mg/mL}$), estos últimos resultados encontrados por Adefegha et al. (2015) indican menores porcentajes de captación de radicales libres a lo reportado en el presente estudio, sin embargo hay que destacar que en este estudio se trabajó con hojas de *A. muricata* L. y ellos con el pericarpio, pulpa y semilla de la fruta. Justino et al. (2018), reporta que los extractos de hojas presentan fuerte potencial antioxidante ($IC_{50} = 28.1 \pm 4.4 \mu\text{g/mL}$) para extracto metanólico, ($IC_{50} = 43.1 \pm 6.3 \mu\text{g/mL}$) para extracto acuoso y mientras que Nguyen et al. (2020), señalan que el extracto etanólico presenta un efecto $IC_{50} = 20.75 \pm 0.28 \mu\text{g/mL}$.

Se observa en los estudios presentados en el párrafo anterior, que los extractos de hojas presentaron un mayor potencial antioxidante en comparación con las otras partes de la planta; esto podría deberse a que las hojas de *A. muricata* L. presenta un alto contenido de polifenoles y flavonoides, generados durante la fotosíntesis, los cuales pueden ser responsables de la actividad antioxidante (Raybaudi-Massilia et al., 2015; Nam et al., 2017).

Las hojas de *A. muricata* L. también contiene saponinas, alcaloides, terpenoides, acetogeninas, megastigmanes, ciclopéptidos y aceites esenciales (Badmus et al., 2020). Pero existe un interés creciente en el análisis de flavonoides y otros compuestos fenólicos en materiales vegetales porque estos tienen propiedades anticancerígenas, efectos cardioprotectores, antioxidantes y antidiabéticos en humanos (Choi et al., 2020).

El EE presentó un mayor potencial antioxidante en comparación con los extractos evaluados, esto puede deberse a que el etanol pudo extraer diversos metabolitos secundarios, debido a que este solvente puede penetrar la pared celular en la muestra, de modo que se pueden obtener compuestos de polaridad intermedia como flavonoides, acetogeninas y polifenoles (Hasmila et al., 2019; Alwan et al., 2020).

5.1.1.2. Ensayo ABTS

El método ABTS es un ensayo de decoloración aplicable a antioxidantes hidrofílicos, además mide la capacidad de los antioxidantes donantes de hidrógeno para eliminar el catión radical ABTS⁺. Se ha documentado previamente una jerarquía del potencial antioxidante entre los flavonoides y los compuestos fenólicos relacionada con la estructura de las moléculas que se encuentran en el extracto (Moo-Huchin et al., 2015; Coria-Téllez et al., 2018).

El rango de concentraciones utilizadas en la evaluación de los extractos, durante esta técnica *in vitro* fue de 100-1000 µg/mL. En la Figura 2 se observa que el EHA y EE mostraron una mayor capacidad antioxidante equivalente de trólox (TEAC) de

408.76 y 406.07 mM/mg respectivamente, a una concentración de 1000 µg/mL; no presentando diferencias estadísticas mínimas significativas entre ambos ($P<0.05$). EA presentó mejores valores de TEAC a una concentración de 100, 500 y 750 µg/mL, en comparación con los demás extractos evaluados.

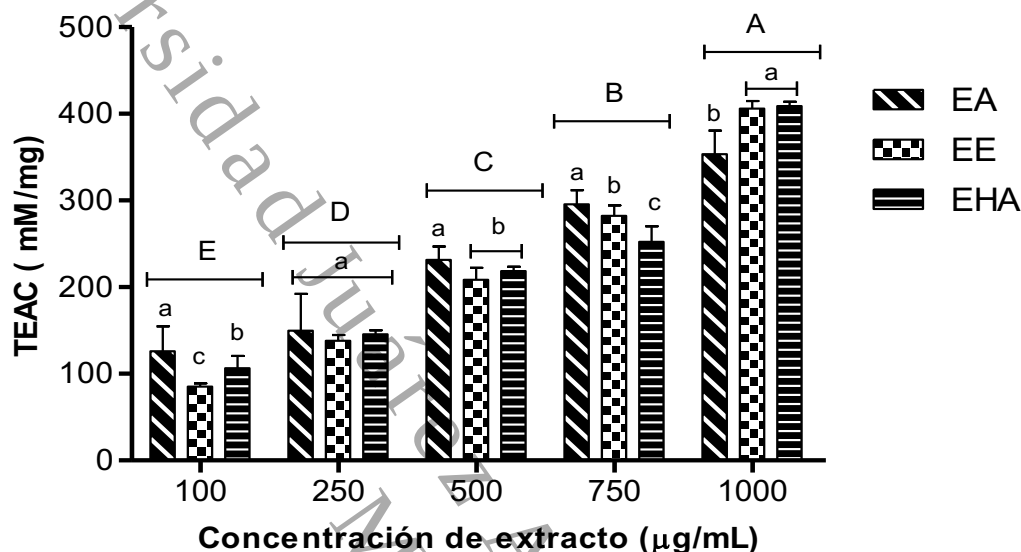


Figura 2. Capacidad antioxidante equivalente de trólox en extractos acuosos (EA), etanólicos (EE) e hidroalcohólicos (EHA) de hojas de *A. muricata* L. Letras minúsculas indican diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$) entre extractos y letras mayúsculas indican diferencias entre concentración de extractos.

Los resultados en cuanto a los valores de TEAC encontrados por cada extracto de hoja de *A. muricata* L. a distintas concentraciones, fueron analizados y presentados en la Figura 2. Sin embargo, se muestra ahora la concentración de extracto necesaria para inhibir el 50% de la actividad oxidante del radical, definido como IC₅₀. Los IC₅₀ más bajos presentados en el presente estudio fueron EE y EHA, con 251.56 y 263.73 mM/mg, respectivamente, seguidos por EA que presentó un IC₅₀ de 286.27 mM/mg. Estudios anteriores demostraron mayores capacidades antioxidantes, cuando evaluaron extractos de diferentes partes de *A. muricata* L. Se reportaron IC₅₀ de 12.84 ± 0.21 µg/mL y 24.91 ± 0.16 mm/TE g, para extracto etanólico de hojas por Nguyen et al. (2020) y Balderrama-Carmona et al. (2020), respectivamente.

En extractos acuosos de hoja de *A. muricata* L. se reportaron IC₅₀ de 17.93 ± 0.31 mM/TE g (Balderrama-Carmona et al., 2020), 28.3 y 34.9 mM/100g, de pulpa y

pericarpio, respectivamente (Adefegha et al., 2015). En otro estudio realizados en *Annona squamosa*, la cual es familia de las *Annonaceas*, Manochai et al. (2018), reportaron un IC50 de 1.57 mm/g en cáscara de un cultivar llamado “Fai keaw” cultivadas en Tailandia. Las diferencias entre las capacidades antioxidantes reportadas en este estudio y los estudios revisados en el párrafo anterior pudieron deberse a los diferentes métodos empleados para la obtención de los extractos, concentraciones analizadas y solventes utilizados.

Se observa que los extractos con solventes orgánicos fueron los que presentaron una mayor capacidad antioxidante en comparación con los extractos acuosos, esto puede deberse a que cada solvente utilizado presenta una polaridad diferente y estos pueden extraer compuestos bioactivos polares o menos polares con mayor facilidad según sea el caso (Orak et al., 2019; Carrera-Lanestosa et al., 2020).

Además de los compuestos bioactivos encontrados en la planta, las semillas y las hojas poseen antioxidantes enzimáticos, que incluyen *catalasa*, *superóxido dismutasa*, y antioxidantes no enzimáticos, que incluyen vitamina C y E (Moghadamtousi et al., 2015). El consumo de plantas y alimentos ricos en compuestos bioactivos y antioxidantes enzimáticos pueden reducir el estrés oxidativo y el envejecimiento prematuro (Bérawi et al., 2017).

5.1.2. Actividad antimicrobiana *in vitro*

5.1.2.1. Difusión en disco

En las pruebas de sensibilidad *in vitro* mediante difusión en disco de los extractos evaluados de *A. muricata* L., solo el EE presentó actividad antimicrobiana contra las bacterias ensayadas. Se observa en la Tabla 1, que la actividad antimicrobiana de este extracto es dependiente al aumento de su concentración (100 – 1000 µg/mL. Las concentraciones de EE a 750 y 1000 µg/mL fueron las que mostraron un mayor halo de inhibición con $18.0 \pm 0.11 / 18.1 \pm 0.12$, $13.0 \pm 1.0 / 13.4 \pm 0.51$ y $10.2 \pm 0.13 / 11.4 \pm 0.59$ mm para *A. baumannii*, *E. coli* y *P. aureoginosa*, respectivamente.

También se observó que, el control positivo no presentó efecto sobre *E. coli* y *A. baumannii*. Lo anterior puede deberse no solo a la afinidad reducida del antibiótico, sino también al hecho de que las moléculas no pueden alcanzar el objetivo debido al cambio en las propiedades físicas de éstas (Miao, Liu, Qiao, Li, & Xu, 2020).

Por su parte Qi et al. (2016) reportan que la alta resistencia a los antibióticos por parte de *A. baumannii* se debe a la formación una biopelícula, la cual se define como una acumulación de microorganismos que se encierran en una matriz. Esta matriz funciona como un consorcio cooperativo que preserva el microorganismo y mejora su capacidad para resistir ambientes estresados y a gran variedad de antibióticos, por lo que la capacidad de formación de biopelículas juega un papel vital en la supervivencia de *A. baumannii* (Al-shamiri et al., 2021).

También se ha señalado que en los últimos años que algunas cepas de *E. coli* tienen la presencia de genes de resistencia a los antibióticos como la ampicilina, tetraciclina y sulfametoxazol (100%) entre otros antibióticos. Por lo que la cepa trabajada en esta investigación podría no ser la excepción (Han et al., 2020).

Tabla 1. Halo de inhibición antimicrobiano de extracto etanólico de *A. muricata* L (mm).

(µg/mL)	Bacterias ATCC		
	<i>A. baumannii</i> (15308)	<i>E. coli</i> (11229)	<i>P. aureoginosa</i> (15442)
100	10.1±0.11 ^b	0	0
250	9.97±0.15 ^b	9.21±0.015 ^b	0
500	10.1±0.12 ^b	13.6±0.57 ^a	0
750	18.0±0.11 ^a	13.0±1.0 ^a	10.2±0.13 ^c
1000	18.1±0.12 ^a	13.4±0.51 ^a	11.4±0.59 ^b
C+	0	0	16.0±0.35 ^a
C-	0	0	0

Diferentes letras minúsculas superíndices en la misma columna (con la misma bacteria) indican diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$), con respecto a las concentraciones de extracto.

Los resultados encontrados en este estudio nos muestran que se obtuvieron mayores actividades antimicrobianas con respecto a los halos de inhibición encontrados en las concentraciones de 750 y 1000 µg/mL, para *A. baumannii* y *E. coli*, las cuales no mostraron diferencias estadísticas mínimas significativas entre ellas ($p<0.05$). En el caso de *E. coli*, el EE presentó halos de inhibición de 13.6±0.57 mm a partir de la concentración de EE a 500 µg/mL, no presentando diferencias mínimas estadísticas con las concentraciones de 750 y 1000 µg/mL, lo que se puede inferir que este extracto muestra una fuerte actividad antimicrobiana contra la bacteria gran negativa *E. coli*. El EA y EHA no mostraron actividad antimicrobiana frente a las bacterias; esto puede deberse a que en el EE pudieron extraerse compuestos de polaridad intermedia, como fenoles y flavonoides, los que le confieren la actividad antimicrobiana mostrada (Abadie et al., 2014).

En otros estudios realizados con extracto acuoso y etanólico de cáscara de *A. muricata* L., reportaron que estos extractos no presentaron actividad antibacteriana frente a *E. coli* (Viera et al., 2010). Sin embargo, Pathak et al. (2010), reportaron en

un estudio realizado en hojas de *A. muricata* L., actividad antimicrobiana de 13.06 ± 1.67 mm frente a esta bacteria en contraste de lo reportado por Viera et al. (2010). En otros estudios realizados con hojas de *A. muricata* L. se encontró también una actividad antimicrobiana con respecto al halo de inhibición de 11.05 ± 2.38 mm frente a *S. aureus* (Abadie et al., 2014), resultados semejantes a los encontrados en el presente estudio. Las diferencias encontradas en los estudios revisados pueden deberse a muchos factores, desde las sustancias activas encontradas en cada extracto, tipo de extracto y/o parte de la planta del que se obtiene, metodología, geografía, etc. (Abadie et al., 2014). Los efectos inhibitorios de los extractos de plantas se atribuyen al contenido de compuestos fenólicos y flavonoides (Vargas-Sánchez et al., 2013). Sin embargo, es importante resaltar que una de las sustancias activas predominante en las anonáceas son las acetogeninas con un amplio espectro de acción, incluido los efectos antibióticos. Estructuralmente las acetogeninas anonáceas son una serie de productos naturales C-35/C-37 derivados de ácidos grasos C-32/C-34 y combinados con una unidad de 2-propanol (Viera et al., 2010).

6.1.2.2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Los resultados encontrados en el presente estudio muestran que el EE presentó un mayor efecto antimicrobiano frente a *A. baumannii* con 15 y 30 $\mu\text{g/mL}$ de 8.66 ± 0.22 y 8.91 ± 0.04 mm, respectivamente. En cuanto a la actividad antioxidante frente a *E. coli*, la CMI fue de 150 $\mu\text{g/mL}$ con un halo de inhibición de 9.11 ± 0.11 mm, y por último la bacteria *P. aureoginosa*, la cual fue la más resistente a este extracto, mostrando un CMI de 500 $\mu\text{g/mL}$ con un halo de inhibición de 10.3 ± 0.11 mm (Tabla 2). Cabe destacar que frente a *P. aureoginosa* el rango de concentraciones de 500-750 $\mu\text{g/mL}$ mostraron halos de inhibición similares sin diferencias mínimas estadísticas entre ellos ($P < 0.05$).

Tabla 2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de EE de *A. muricata* L. sobre *E. coli*, *P. aureoginosa* y *A. baumannii*

($\mu\text{g/mL}$)	<i>E. coli</i> (mm)	($\mu\text{g/mL}$)	<i>P. aureoginosa</i> (mm)	($\mu\text{g/mL}$)	<i>A. baumannii</i> (mm).
100	0	550	10.3 ± 0.11^b	15	8.66 ± 0.22^d
150	9.11 ± 0.11^b	600	10.3 ± 0.09^b	30	8.91 ± 0.04^d
200	10.2 ± 0.12^a	650	10.1 ± 0.08^b	45	9.39 ± 3.95^c
250	10.3 ± 0.12^a	700	10.2 ± 0.08^b	60	10.40 ± 0.18^b
C+	0	750	10.3 ± 0.11^b	75	11.30 ± 0.12^a
C-	0	C+	16.1 ± 0.24^a	90	9.56 ± 0.29^b
		C-	0	C+	0
				C-	0

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre concentración de extracto.

La sensibilidad microbiana mostrada en el presente estudio por el EE de hojas de *A. muricata* L., es mucho mayor a la encontrada por Abadie et al. (2014), los cuales reportaron para extractos acuosos de hojas un CMI de 31.25 mg/mL frente a *S. aureus*; de igual manera la sensibilidad con el extracto orgánico utilizado en este estudio mostró una mayor sensibilidad frente a estas bacterias ensayadas en comparación con Abubacker & Deepalakshmi (2013), los cuales unos trabajaron con diversos hongos y reportaron CMI de 5.50, 6.75, 5.50, 8.75 y 9.50 mg/mL frente a *A. solani*, *A. albicans*, *A. erithrocephalus*, *A. fumigatus* y *P. chrysogenum*, respectivamente al utilizar extractos acuosos de hojas de *A. muricata* L. Se puede observar que, en ambos estudios discutidos anteriormente, la CMI es muy alta en comparación con el presente estudio; esto puede deberse a que Abadie et al. (2014) y Abubacker & Deepalakshmi (2013), utilizaron extractos acuosos de esta planta y se necesitó una mayor concentración de extracto para obtener la sensibilidad antimicrobiana deseada.

En otro estudio realizado en extractos acuosos y etanolitos de *Centella asiática* a una concentración de 500 mg/mL reportaron un CMI de 31.25 mg/mL frente a *E. coli*

con extracto etanólico de hojas, mientras que con extracto acuoso de hojas de *C. asiática* no se reportó actividad antimicrobiana (Wong & Ramli, 2021).

Con los resultados descritos de *A. muricata* L. en los diversos estudios revisados, esta planta medicinal podría ser una alternativa válida natural en la conservación de los alimentos (Vargas-Sánchez et al., 2013).

6. CONCLUSIONES

Los extractos de *A. muricata* L. con mayores capacidades antioxidante fueron EHA y EE, en comparación con EA, el cual mostró menor capacidad antioxidante. En cuanto al efecto antimicrobiano frente a tres distintas bacterias, solo EE mostró una actividad antimicrobiana en comparación con los demás extractos evaluados. El EE presentó un mayor efecto antimicrobiano frente a *A. baumannii*, en comparación con las otras bacterias evaluadas cuando se determinó la CMI. Se puede inferir entonces que el EE de *A. muricata* L. pudo presentar mayor cantidad de fitoquímicos que pudieron presentar altas capacidades antioxidante y efecto antimicrobiano frente a las bacterias ensayadas, en comparación con EHA y EA. Con los resultados descritos de *A. muricata* L., esta planta medicinal podría ser una alternativa válida natural en la conservación de los alimentos.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abadie, R. E., Medina O, R., Ruiz, L., & Tresierra-Ayala, A. (2014). Antibacterial activity of plant extracts against nosocomial strains, Iquitos-Peru. *Revista ECIPerú*, 11, 31–38.
- Abubacker, M.N. & Deepalakshmi, T. (2013). *In vitro* Antifungal Potentials of Bioactive Compound Methyl Ester of Hexadecanoic Acid Isolated from *Annona muricata* Linn. (*Annonaceae*) Leaves. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 10(2), 879-884.
- Adefegha, S. A., Oyeleye, S. I., & Oboh, G. (2015). Distribution of Phenolic Contents, Antidiabetic Potentials, Antihypertensive Properties, and Antioxidative Effects of Soursop (*Annona muricata* L.) Fruit Parts in Vitro. *Biochemistry Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/347673>
- Adeyemi, D.A., Komolafe, O.A., Adewole, O.S., Obuotor, F.M., & Adenowo, T.K. (2009) Antihyperglycemic activities of *Annona muricata* (linn). *Afr. J. Trad*, 6(1), 62 – 69.
- Adewole, S.O. & Caxton-Martins, E. A. (2006). Morphological Changes and Hypoglycemic Effects of *Annona muricata* Linn. (*Annonaceae*) Leaf Aqueous Extract on Pancreatic B-Cells of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. *African Journal of Biomedical Research*, 9 (2006), 173–187.
- Al-shamiri, M. M., Zhang, S., Mi, P., Liu, Y., Xun, M., Yang, E. & Chen, Y. (2021). Microbial Pathogenesis Phenotypic and genotypic characteristics of *Acinetobacter baumannii* enrolled in the relationship among antibiotic resistance , biofilm formation and motility. 155. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104922>
- Alwan, I. A., Lim, V., Samad, N. A., Widyawati, T., & Yusoff, N. A. (2020). Effect of *Annona Muricata* L. On metabolic parameters in diabetes mellitus: A systematic review. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.8.1.01>
- Ardila, M., Vargas A.F., Pérez, J.E. & Mejía, L.F. G. (2009) Ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*. *Biosalud*, 8, 47-57.
- Badmus, J. A., Oyemomi, S. A., Adedosu, O. T., Yekeen, T. A., Azeez, M. A., Adebayo, E. A., Lateef, A., Badeggi, U. M., Botha, S., Hussein, A. A., & Marnewick, J. L. (2020). Photo-assisted bio-fabrication of silver nanoparticles using *Annona muricata* leaf extract: exploring the antioxidant, anti-diabetic, antimicrobial, and cytotoxic activities. *Heliyon*, 6(11), e05413. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05413>

- Balderrama-Carmona, A.P., Valenzuela-Rincón, M., Zamora-Álvarez, L.A. (2020). Herbicide biomonitoring in agricultural workers in Valle del Mayo, Sonora Mexico. *Environ Sci Pollut Res* 27, 28480–28489.
- Barbosa-Corona, J. E.; Vázquez- Acosta, H.; Salcedo Hernández, R.; Bautista-Justo, M. (2004), Probióticos y conservadores naturales en alimentos. *Acta Universitaria*, 14(3), 32-38.
- Barrón-Yáñez, R.M., García-Mateos, M.R., Soto-Hernández, M.R., Colinas-León, T. & Kite, G. (2011). Flavonoids and antioxidant activity of *Calia secundilifora* (Ort.) Yakovlev. *Rev. Fitotec. Mex*, 34 (3), 151-157.
- Berawi, K. N., Shidarti, L., Nurdin, S. U., Lipoeto, N. I., Wahid, I., Sari, J., & Nurcahyani, E. (2017). Comparison effectiveness of antidiabetic activity extract herbal mixture of soursop leaves(*annona muricata*), bay leaves(*Syzygium polyanthum*) and pegagan leaves(*centella asiatica*). *Biomedical and Pharmacology Journal*, 10(3), 1481–1488. <https://doi.org/10.13005/bpj/1256>.
- Carrera-Lanestosa, A., Coral-Martínez, T., Ruíz-Ciau, D., Moguel-Ordoñez, Y., & Segura-Campos, M. R. (2020). Phenolic compounds and major steviol glucosides by HPLC-DAD-RP and invitro evaluation of the biological activity of aqueous and ethanolic extracts of leaves and stems: *S. rebaudiana* Bertoni (creole variety INIFAP C01): *S. rebaudiana* Bertoni (creole variet. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 199–212. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1716789>
- Chel-Guerrero, L. D., Sauri-Duch, E., Fragoso-Serrano, M. C., Pérez-Flores, L. J., Gómez-Olivares, J. L., Salinas-Arreortua, N., Sierra-Palacios, E. D. C., & Mendoza-Espinoza, J. A. (2018). Phytochemical profile, toxicity, and pharmacological potential of peels from four species of tropical fruits. *Journal of Medicinal Food*, 21(7), 734–743. <https://doi.org/10.1089/jmf.2017.0124>
- Choi, M., Kang, Y. R., Zu, H. D., Lim, I. S., Jung, S. K., & Chang, Y. H. (2020). Effects of Time on Phenolics and in vitro Bioactivity in Autoclave Extraction of Graviola (*Annona muricata*) Leaf. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 25(1), 9–15. <https://doi.org/10.1007/s12257-019-0259-3>
- Coria-Téllez, A.V., Montalvo-Gonzalez, E., Yahia, E.M., & Obledo-Vázquez, E.N. (2018). *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Arabian Journal of Chemistry*, 11, 662–691.
- Dutta, P. K.; Razu, M. M. T.; Alam, M. K.; Awal, M. A.; Mostofa, M. (2010). Comparative Efficacy of Aqueous Extract of Stevia (*S. Rebaudiana* Bertoni) Leaves and Metformin Hydrochloride (Comet®) in Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Rats. *Int. J. Biol. Res*, 2(8), 17–22.
- Elagbar, Z. A., Rajashri, R. N., Shakya A. K. & Bardaweel S. K. (2016). Fatty Acids Analysis, Antioxidant and Biological Activity of Fixed Oil of *Annona muricata*

- L. Seeds. *Journal of Chemistry*, 6pp., Article ID 6948098, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6948098>
- Esquivel-Gutiérrez, E.R., Noriega-Cisneros, R., Bello-González, M.A., Saavedra-Molina A., Salgado-Garciglia, R., (2012). Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas 14(1): 45–52.
- Flórez, A.C., Rincón, C., Garzón, P., Vargas, N., Enríquez, C. (2007) Factores relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes de cinco ciudades de Colombia, 2007. *Revista de la Asociación Colombiana de Infectología*, 12(4), 255-266.
- Fuente S.N.M. & Barboza C.J.E (2010) Inocuidad y bioconservación de alimentos *Acta Universitaria*, vol. 20, núm. 1, pp. 43-52 Universidad de Guanajuato Guanajuato, México Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=41613084005>
- Gavamukulya, Y., Abou-Ellella, F., Wamunyokoli, F. & AEI-Shemy, H. (2014). Phytochemical screening, anti-oxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Asian Pac J Trop Med*, 7(1), S355-S363. doi: 10.1016/S1995-7645(14)60258-3
- Gawel-Bęben, K., Bujak, T., Nizioł-Lukaszewska, Z., Antosiewicz, B., Jakubczyk, A., Karaś, M., & Rybczyńska, K. (2015). *Stevia rebaudiana* Bert. Leaf Extracts as a Multifunctional Source of Natural Antioxidants. *Molec*, 20, 5468-5486.
- Guzmán-Ceferino, J., Cobos-Puc, L. ., Sierra-Rivera, C., Contreras-Esquivel, J. ., Durán-Mendoza, T., & Silva Belmares., S. . (2019). Partial characterization of the potentially bioactive protein fraction of *Solanum marginatum* L. f. *Polibotánica*, 0(46), 137–151. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.47.10>
- Han, T., Zhang, Q., Liu, N., Wang, J., Li, Y., Huang, X. & Qi, K. (2020). Changes in antibiotic resistance of *Escherichia coli* during the broiler feeding cycle. *Poultry Science*, 99(12), 6983–6989. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.068>
- Hasmila, I., Natsir, H., & Soekamto, N. H. (2019). Phytochemical analysis and antioxidant activity of soursop leaf extract (*Annona muricata* Linn.). *Journal of Physics: Conference Series*, 1341(3). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1341/3/032027>.
- Hernández-Cortés, C., Aguilera-Arreola M. G., Castro-Escarpulli, G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enf Inf Microbiol* 31(4), 137-151.
- Justino, A. B., Miranda, N. C., Franco, R. R., Martins, M. M., Silva, N. M. da, & Espindola, F. S. (2018). *Annona muricata* Linn. leaf as a source of antioxidant compounds with in vitro antidiabetic and inhibitory potential against α -

- amylase, α -glucosidase, lipase, non-enzymatic glycation and lipid peroxidation. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 100(November 2017), 83–92.
- Kaewpiboon, C., Lirdprapamongkol, K., Srisomsap, C., Winayanuwattikun, P., Yongvanich, T., Puwaprisirisan, P., ... Assavalapsakul, W. (2012). Studies of the in vitro cytotoxic, antioxidant, lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 217. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-217>
- Lara-Cortés, E., Martín-Belloso, O., Osorio-Díaz, P., Barrera-Necha, L.L., Sánchez-López, J.A. & Bautista-Baños, S. (2014). Actividad antioxidante, composición nutrimental y funcional de flores comestibles de Dalia. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 20 (1), 101-116.
- López-Arcadia, L. A. (2015). Evaluación de la Actividad Antiviral y Antioxidante de los Extractos de Hojas de Guanábana (*Annona muricata* L). Tesis, Universidad de Sonora, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Ciencias de la Salud, 53pp.
- Mahesh, B. & Satish, S. (2008). Antimicrobial Activity of Some Important Medicinal Plant Against Plant and Human Pathogens. *World J Agric Sci*, 4 (S), 839-843.
- Manochai, B., Ingkasupart, P., Lee, S. H., & Hong, J. H. (2018). Evaluation of antioxidant activities, total phenolic content (TPC), and total catechin content (TCC) of 10 sugar apple (*Annona squamosa* L.) cultivar peels grown in Thailand. *Food Science and Technology*, 38(May), 294–300. <https://doi.org/10.1590/fst.22117>
- Moghadamtousi, S. Z., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., Ali, H. M., & Kadir, H. A. (2015). *Annona muricata* (*Annonaceae*): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(7), 15625–15658. <https://doi.org/10.3390/ijms160715625>.
- Moo-Huchin, V. M., Moo-Huchin, M. I., Estrada-León, R. J., Cuevas-Glory, L., Estrada-Mota, I. A., Ortiz-Vázquez, E., Betancur-Ancona, D., & Sauri-Duch, E. (2015). Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 166, 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.127>.
- Nam, J. S., Park, S. Y., Jang, H. L., & Rhee, Y. H. (2017). Phenolic compounds in different parts of young *Annona muricata* cultivated in Korea and their antioxidant activity. *Applied Biological Chemistry*, 60(5), 535–543. <https://doi.org/10.1007/s13765-017-0309-5>.
- Nguyen, M. T., Nguyen, V. T., Minh, L. V., Trieu, L. H., Cang, M. H., Bui, L. B., Le, X. T., & Danh, V. T. (2020). Determination of the phytochemical screening, total polyphenols, flavonoids content, and antioxidant activity of soursop leaves (*Annona muricata* Linn.). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 736(6). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/736/6/062011>.

- Nitola, L.Y., Muñoz, D.R., Patiño, O.J., Prieto, J.A. (2016). Caracterización fitoquímica y evaluación de actividad inhibitoria sobre acetilcolinesterasa de hojas de *Piper pesaresanum* C. DC. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 21(4), 1-10. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962016000400005&lng=es.
- Oporta-Leiva, R.E., Oporta-Oporta, E.M., Rodríguez-Dávila, I. F. (2009). Valoración de la efectividad antimicrobiana *in vitro* del extracto de semilla de toronja comercializado como agente conservador. Tesis, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León, 56 pp.
- Orak, H. H., Bahriseft, I. S., & Sabudak, T. (2019). Antioxidant activity of extracts of soursop (*Annona muricata* L.) leaves, fruit pulps, peels, and seeds. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 69(4), 359–366. <https://doi.org/10.31883/pjfn/112654>.
- Padrón-Márquez, B., Márquez, A.O., Rivas-Morales, C., Verde-Star, M.J. (2003). Identificación de compuestos de *Melia azedarach*, *Syzygium aromaticum* y *Cinnamomum zeylanicum* con efecto inhibitorio sobre bacterias y hongos. *Ciencia UANL*, VI (3), 333-338.
- Paniagua G.L, Monroy E, García-González O, Alonso J, Negrete E, Vaca S. (2007). Two or more enteropathogens are associated with diarrhoea in Mexican children. *Annals Clin Microbiol and Antimicrobials*, 6, 1-8.
- Patel, S., Patel, K.J. (2016) A review on a miracle fruits of *Annona muricata*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 5(1), 137-148.
- Pathak, P; Saraswaty, D; Vora, A & Savai, J. 2010. *In Vitro* Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of the Leaves of *Annona muricata*. *Rev Cubana Plant Med*.12, 2-12.
- Pérez-Gutiérrez, R. (2007). Actividad antimicrobiana de *Oedogonium capillare*. *Rev Mex Cienc Farm*, 38 (3), 26-29.
- Pukalskas, A., Van Beek, T.A., Venskutonis, R.P., Linsen, J.P.H., Van Veldhuizen, A. & Grood, A. (2002). Identification of radical scavengers in sweet grass (*Hierochloa odorata*). *J Agric and Food Chem*, 50, 2914-2919.
- Raybaudi-Massilia, R., Suárez, A., Arvelo, F., Sojo, F., Mosqueda-Melgar, J., Zambrano, A., & Calderón-Gabaldón, M. (2015). An Analysis In-vitro of the Cytotoxic, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Aqueous and Alcoholic Extracts of *Annona muricata* L. Seed and Pulp. *British Journal of Applied Science & Technology*, 5(4), 333–341. <https://doi.org/10.9734/bjast/2015/13587>.
- Rodríguez, R.G., Morales, M.E., Verde M.J., Oranday, A., Rivas, C., Núñez, M.A., González G.M. & Treviño J.F. (2010). Actividad antibacteriana y antifúngica de las especies *Ariocarpus kotschoubeyanus* (Lemaire) y *Ariocarpus retusus* (Scheidweiler) (Cactaceae). *Rev Mex Cienc Farm*, 41 (1), 55-59. •

- Serrano-Maldonado, M.J.; Guerrero-Legarreta, I.; Pérez-Olvera, C. De La Paz Y Soriano-Santos, J.. (2011). Actividad antioxidante y efecto citotóxico de *Cladocolea loniceroide* (van Tieghem) Kuijt (Loranthaceae). *Rev. Mex. Ing. Quím* [online]. 2011, vol.10, n.2, pp.161-170. ISSN 1665-2738.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. & Nakamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *J Agric and Food Chem*, 40, 945-948.
- Soto-Domínguez, A., García-Garza, R., Ramírez-Casas, Y., Morán-Martínez, J. & Serrano-Gallardo, L.B. (2012). The Aqueous Extract from Oregano (*Lippia graveolens* HBK) from the North of México Has Antioxidant Activity without Showing a Toxic effect *in vitro* and *in vivo*. (In Spanish). *Int J Morphol.*, 30 (3), 937-944.
- Teklay, A., Abera, B., & Giday, M. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants used in kilte awulaelo district, tigray region of ethiopia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-65>
- Vargas-Sánchez, R. D., Torrescano-Urrutia, G. R., Sánchez-Escalante, A., (2013). El propóleos: conservador potencial para la industria alimentaria. *Asociación Interciencia*, 38(10): 705-711.
- Vega-Menchaca, M.C., Verde-Star, J., Oranday-Cárdenas, A., Morales-Rubio, M.E., Núñez-González, M.A., Rivera-Guillén, M.A., Serrano-Gallardo, L.B., Rivas-Morales, C. (2013). Antibacterial and cytotoxic activity of *Leucophyllum frutescens* (Berl) I.M. Johnston from Northern México against *Staphylococcus aureus* clinical isolates. (In Spanish). *Rev Mex Cienc Farm*, 44 (2), 24-30.
- Vieira, G.H.F., Mourão, J.A., Angelo, A.M., Costa, R.A & Vieira, R.H.S. (2010). Antibacterial effect (*in vitro*) of *Moringa oleifera* and *Annona muricata* against gram positive and gram negative bacteria. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 52(3),129-132.
- Vijayameena, C., Subhashini, G., Loganayagi, M. & Ramesh, B. (2013). Phytochemical screening and assessment of antibacterial activity for the bioactive compounds in *Annona muricata*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 2(1), 1-8.
- Wong, J. X., & Ramli, S. (2021). Antimicrobial activity of different types of *Centella asiática* extracts against foodborne pathogens and food spoilage microorganisms. *Lwt*, 142(December 2020), 111026. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111026>

Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de guanábana (Annona muríca L.) con potencial en la conservación de alimentos

INFORME DE ORIGINALIDAD

15%
ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	docplayer.es Internet	470 palabras — 5%
2	riul.unanleon.edu.ni:8080 Internet	258 palabras — 3%
3	dspace.ups.edu.ec Internet	116 palabras — 1%
4	revplantasmedicinales.sld.cu Internet	72 palabras — 1%
5	www.redalyc.org Internet	45 palabras — < 1%
6	hdl.handle.net Internet	39 palabras — < 1%
7	www.uanl.mx Internet	35 palabras — < 1%
8	www.scielo.org.mx Internet	32 palabras — < 1%
9	www.repositorioinstitucional.uson.mx Internet	31 palabras — < 1%

10	seguridadalimentariauta.wordpress.com Internet	30 palabras — < 1 %
11	1library.co Internet	29 palabras — < 1 %
12	repositorio.lamolina.edu.pe Internet	29 palabras — < 1 %
13	ciencia.lasalle.edu.co Internet	27 palabras — < 1 %
14	somecta.org.mx Internet	27 palabras — < 1 %
15	ri.ujat.mx Internet	24 palabras — < 1 %
16	Ángela Beyra, María del Carmen León, Eldris Iglesias, Dania Ferrándiz et al. Anales del Jardín Botánico de Madrid, 2007 Crossref	24 palabras — < 1 %
17	digital.bl.fcen.uba.ar Internet	22 palabras — < 1 %
18	servicio.bc.uc.edu.ve Internet	22 palabras — < 1 %
19	www.thefreelibrary.com Internet	20 palabras — < 1 %