



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**MAESTRÍA EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS**

**TESIS DE MAESTRÍA**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO, ANTI-**

**INFLAMATORIO Y ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO**

**HIDROALCOHÓLICO DE *Vaccinium***

***leucanthum*(CAHUICHE)**

Para obtener el grado de maestra en ciencia de los alimentos

P R E S E N T A:

L.N. Izanami Hernández González

Director:

Dr. Rubén Jiménez Alvarado

Codirectora:

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Asesores:

Dra. Deyanira Ojeda Ramírez

Dr. Adrián Zaragoza Bastida

Tulancingo de Bravo, Hgo a 21 octubre 2022



COORDINACIÓN DE INVESTIGACION Y POSGRADO DEL ICAP

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos  
Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: "Evaluación del efecto antibacteriano, antiinflamatorio y antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Veccinium leucanthum*(cahuiche) ", que desarrolla el estudiante Izanami Hernández González

Asistentes:

Dr. Rubén Jiménez Alvarado  
Dra. Alma Delia Hernández Fuentes  
Dra. Dayanira Ojeda Ramírez  
Dr. Adrián Zaragoza Bastida

A. Revisión de Trabajo de Tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por la estudiante, comunicando a la estudiante, Izanami Hernández González, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. La estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentemente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que la estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE

"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 21 de octubre del 2022

Dr. Rubén Jiménez Alvarado

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Dra. Dayanira Ojeda Ramírez

Dr. Adrián Zaragoza Bastida



Handwritten signatures of the committee members on a set of horizontal lines.



## DEDICATORIAS

**A Dios**, por haberme permitido llegar hasta este momento, por todas y cada una de las bendiciones que nos ha otorgado.

**A la vida** porque me ha permitido ver, aprender y disfrutar todas las maravillas que en ella existen.

**A mi mamá María Irma**, porque a pesar de nuestras diferencias siempre has estado para mí, porque, aunque tu niñez no fue fácil tuviste la fortaleza para salir de toda esa influencia que estaba a tu alrededor y no dejaste de ser una maravillosa y extraordinaria persona te amo mamá.

**A mi papá Miguel**, aunque físicamente ya no estás aquí, sé que no te has apartado de nosotros, porque tus enseñanzas trascienden y porque cada día que pasa se refuerza la maravillosa persona que siempre fuiste, sin duda un hombre digno de admirarse, te amo papá.

**A mi hermano Miguel**, si bien tuvimos y tenemos diferencias sé que puedo contar contigo te admiro mucho por la persona tan creativa y noble que eres te amo.

**A mi Esposo Luis Enrique**, por llegar en el momento preciso, por ayudarme en momentos no agradables de mi vida y por seguir en ella, gracias por formar parte de ella, gracias por estar, por ayudarme a encontrar mi paz cuando parece que todo no tiene orden, te amo mucho.

**A mi maravillosa hija Xareni**, cada día que paso a tu lado aprendo cosas nuevas, porque me mostraste una manera diferente de amar, una manera que sin duda no conocía y que es extraordinariamente maravillosa y al mirar esos ojitos llenos de luz me hacen recordar lo bendecida que he sido, gracias por ser mi compañerita de vida, por tus abrazos, por tus risas, por tus detalles, te amo.

**A mis abuelos**, porque ellos formaron a mis maravillosos padres y son parte de lo que soy.

**A mí** por no dejarme vencer por mis heridas, por mostrarme que eso y mucho más fuerte de lo que pensaba, por tu esfuerzo y dedicación, me amo mucho.



## AGRADECIMIENTOS

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por la beca otorgada para realizar los estudios de Maestría en Ciencia de los Alimentos en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, inscrita en el Programa Nacional de Posgrado de Calidad (PNPC).

Gracias

**Al Dr. Rubén Jiménez Alvarado**, por su apoyo invaluable, por el amor que le pone a su profesión y que se extiende a sus alumnos, por sus asesorías tan enriquecedoras, por su ayuda cuando se requería, por su alegría. Gracias Dr.

**A la Dra. Alma Delia Hernández Fuentes**, por la oportunidad de realizar este trabajo, por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, y el conocimiento que posee.

**Al Dra. Deyanira Ojeda Ramírez**, por su apoyo y disposición, por sus aportaciones al trabajo, sus consejos, su tiempo, por permitir que trabajaré en su laboratorio, con su magnífica guía, por ese conociendo tan amplio que tiene, por la voluntad de compartirlo, por su calidad humana y trabajar en pro del conocimiento y el mejoramiento personal y académico de sus asesorados Gracias Dra, la admiro y respeto.

**Al Dr. Adrián Zaragoza Bastida**, por su gran apoyo y disposición, por no dejarme sola en las pruebas microbiológicas, por permitirme trabajar en su laboratorio, por sus adecuadas explicaciones, por su paciencia, por su profesionalismo y su alegría. Gracias Dr, lo admiro y respeto.

**A la Dra. Nallely Pérez Rivero**, por su apoyo en las pruebas microbiológica, su compromiso hacia el área académica y trabajar por un excelente nivel de los estudiantes, por su dedicación y responsabilidad a su labor la admiro y respeto.



**Al Dr. Sergio Soto Simental**, por su extraordinaria calidad humano y la disposición de ayudar a los demás de la mejor manera y con una actitud positiva y agradable.

**A la Dra. María del Rocío López Cuellar** por haberme escuchado y otórgame su consejo en el momento adecuado.

**A la M en C Anay Montaña Herrera** por su conocimiento, su paciencia, su disposición, su manera de ser, su nobleza e inteligencia, por tú amistad te quiero jefa.

**A mi compañera de maestría Mireya Ramírez Pérez** por los momentos de trabajo en equipo y también los momentos de apoyo, por las muchas risas compartidas y los buenos momentos

**A mi compañero y amigo de maestría Isidro Reyes Hernández**, por tu apoyo incondicional, eres un excelente amigo y ser humano.

Agradezco de corazón a todas aquellas personas, compañeros, amigos, conocidos que estuvieron involucrados directa e indirectamente en el desarrollo de esta investigación y que sin su apoyo no hubiera sido posible su realización.



## Tabla de contenido

RESUMEN .....	12
ABSTRACT .....	13
I.INTRODUCCIÓN .....	14
II. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1 Uso de productos naturales.....	6
2.1.1 Plantas medicinales en México.....	6
2.1.2 Frutas y sustancias bioactivas.....	7
2.1.2.3 Terpenos .....	8
2.1.2.4 Compuestos fenólicos.....	10
2.2. Bayas en México .....	14
2.3 Enfermedades transmitidas por alimentos de origen bacteriano y resistencia a antimicrobianos .....	17
2.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
2.3.2 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	19
2.3.3 <i>Salmonella typhi</i> .....	19
2.3.4 <i>Salmonella choleraesuis</i> .....	19
2.3.5 <i>Escherichia coli</i> .....	20
2.3.6 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	20
2.4 Mecanismos inmunitarios, inflamación frente a las enfermedades transmitidas por alimentos.....	32
2.3.1 Mediadores de la inflamación.....	22
2.3.2. Inflamación crónica y su relación con las enfermedades crónico no transmisibles .....	23



2.3.3 Género <i>Vaccinium</i> Actividad antibacteriana, antiinflamatoria y antioxidantes ..	23
III. JUSTIFICACIÓN.....	25
IV. OBJETIVOS.....	27
V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	28
VI. HIPÓTESIS .....	30
VII. MATERIALES Y MÉTODOS .....	31
7.1 Material vegetal .....	31
7.1.1 Obtención de extractos y fracciones .....	31
<b>7.2. Variables de estudio.....</b>	<b>32</b>
7.2.1 Actividad antibacteriana .....	32
7.2.2 Actividad antiinflamatoria.....	32
7.2.3 Contenidos de compuestos fenólicos totales .....	32
7.3 Actividad antibacteriana .....	33
7.4 Actividad antiinflamatoria.....	46
7.4.1 Animales.....	46
7.4.4 Bioensayo <i>in vivo</i> .....	47
7.5 Contenidos de compuestos fenólicos totales .....	49
7.5.1.Fenoles totales .....	49
7.5.2 Flavonoides.....	49
7.5.3 Antocianinas totales.....	50
7.6 Actividad antioxidante.....	51
7.6.1. Determinación de actividad antioxidante por ABTS <sup>•+</sup> .....	51
7.6.2. Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH <sup>•</sup> .....	51
7.7 Análisis de resultados .....	52



VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	40
8.1 Evaluación fisicoquímica del fruto de <i>Vaccinium leucanthum</i> .....	41
8.1.1 Color .....	41
8.1.2 Acidez titulable, Solidos solubles totales y pH .....	43
8.2. Actividad antibacteriana .....	44
8.3. Actividad antiinflamatoria.....	48
8.4. Compuestos bioactivos .....	52
8.4.1. Fenoles totales .....	52
8.4.2 Flavonoides.....	53
8.4.3 Antocianinas .....	53
8.5. Actividad antioxidante.....	54
IX CONCLUSIONES.....	57
X REFERENCIAS .....	58



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura de algunas antocianinas.....	13
<b>Figura 2.</b> Estructura del ácido ferúlico, cafeico y clorogénico .....	13
<b>Figura 3.</b> Imágenes de <i>Vaccinium leucanthum</i> . .....	17
<b>Figura 4.</b> Morfología de las bacterias.....	33
<b>Figura 5.</b> Grupos de tratamiento para la evaluación de la actividad antiinflamatoria.....	36
<b>Figura 6.</b> Imágenes del fruto <i>V. leucanthum</i> (cahuiche) .....	42
<b>Figura 7.</b> Coordenadas CIEL* a* b* <i>V. leucanthum</i> (cahuiche) Omitlán de Juárez Hidalgo.....	42
<b>Figura 8.</b> Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico y fracciones de <i>Vaccinium leucanthum</i> Omitlán Hidalgo, México.....	49



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Peso, eje transversal y longitudinal, color, acidez titulable, solidos solubles totales y pH del fruto <i>Vaccinium leucanthum</i> Omitlán de Hidalgo México. ....	43
<b>Tabla 2.</b> Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico del fruto y hoja de <i>Vaccinium leucantum</i> (cahuiche) (mg/mL) ..	44
<b>Tabla 3.</b> Relación de CMB/CMI de los extractos hidroalcohólicos del fruto y la hoja de <i>Vaccinium leucantum</i> (cahuiche).....	47
<b>Tabla 4.</b> Compuestos bioactivos (fenoles totales, flavonoides y antocianinas) del fruto <i>V. leucantum</i> Omitlán de Juárez Hidalgo. ....	52
<b>Tabla 5.</b> Actividad antioxidante (DPHH• y ABTS•+) del fruto <i>V. leucantum</i> Omitlán de Juárez Hidalgo reportados en mg ET/ g de extracto. ....	56



## ABREVIATURAS

**Abs:** Absorbancia

**ABTS<sup>•+</sup>:** Ácido 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolino-6-sulfónico)

**AT:** Antocianinas totales

**CFT:** Compuestos fenólicos totales

**CMB:** Concentración mínima bactericida

**CMI:** Concentración mínima inhibitoria

**EOH:** Etanol

**DPPH:** 2,2-difenil-1-picrilhidracilo

**EAG:** Equivalentes de ácido gálico

**ECNT:** Enfermedades crónico no transmisibles

**EHA F** Extracto hidroalcohólico fruto

**EHA H** Extracto hidroalcohólico hoja

**ERO:** Especies reactivas de oxígeno

**ET:** Equivalentes de Trolox

**ETAs:** Enfermedades transmitidas por alimentos

**EVI:** Extracto de *Vaccinium leucanthum*

**FANP** Fracción de acetonitrilo precipitado

**FANS** Fracción de acetonitrilo sobre nadante

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Peróxido de hidrógeno

**HPLC:** Cromatografía Líquida de Alta Resolución

**IDR:** Ingesta Diaria Recomendada

**i.p.:** intraperitoneal

**pf:** peso fresco

**ppm:** partes por millón

**TPA:** acetato de 12-O-tetradecanoil-forbol



## RESUMEN

El fruto de nombre científico *Vaccinium leucanthum*, mejor conocido como “Cahuiche”, crece de manera silvestre en el Estado de Hidalgo México. Los frutos del género *Vaccinium* han sido investigados por los beneficios a la salud que se le han atribuido, donde se han identificado compuestos empleados en el tratamiento y prevención de algunas enfermedades como: diabetes, hipertensión, enfermedades neurodegenerativas, cáncer, entre otras. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antibacteriana, anti-inflamatoria y antioxidante del extracto hidroalcohólico del cahuiche y sus fracciones obtenidas por acetonitrilo. Para ello, se prepararon dos extractos hidroalcohólicos a diferentes concentraciones, 60% para el fruto y 30% para la hoja, del primer extracto se obtuvieron dos fracciones con acetonitrilo; los cuales se evaluaron en un bioensayo *in vitro* en bacterias ATTC, y uno *in vivo* ratones CD1. Además, se evaluó la capacidad antioxidante de los extractos utilizando los radicales DPPH<sup>·</sup> y ABTS<sup>·+</sup>. Como resultados se obtuvieron que ambos extractos presentaron actividad antioxidante, teniendo un mejor resultado para ABTS<sup>·+</sup> el extracto de la fruta con un  $160.70 \pm 0.30$  mg ET/ g de extracto ; mientras que el extracto de la hoja fue más activo sobre DPPH<sup>·</sup> con un  $136.58 \pm 0.20$  mg ET/g de extracto. Con respecto a la actividad antibacteriana se las muestras fueron activas contra 4 de las 6 bacterias evaluadas, entre las que se encuentra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* ambas bacterias enlistadas como prioritarias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos de acuerdo a la OMS. Finalmente, el extracto íntegro del fruto presentó una actividad antiinflamatoria importante, con una inhibición de la inflamación en la oreja de ratón de un 60.17%. Como conclusión el extracto de cahuiche tiene actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y antioxidante, este efecto es posible a la cantidad de compuestos fenólicos encontrados en el fruto.

**Palabras clave:** *Vaccinium leucanthum*, Cahuiche, extracto hidroalcohólico, actividad antibacteriana, antiinflamatoria, antioxidante.



## ABSTRACT

The fruit with the scientific name *Vaccinium leucanthum*, better known as "Cahuiche", grows wild in the State of Hidalgo, Mexico. The fruits of the *Vaccinium* genus have been investigated for the health benefits that have been attributed to them, where compounds used in the treatment and prevention of some diseases such as: diabetes, hypertension, neurodegenerative diseases, cancer, among others, have been identified. The objective of this work was to evaluate the antibacterial, anti-inflammatory and antioxidant capacity of the hydroalcoholic extract and fractions obtained by acetonitrile from cahuiche. For this, two hydroalcoholic extracts were prepared at different concentrations, 60% for the fruit and 30% for the leaf. Two fractions with acetonitrile were obtained from the first extract, which were evaluated in an *in vitro* bioassay in ATTC bacteria and one *in vivo* CD1 mice. In addition, the antioxidant capacity of the extracts was evaluated using DPPH radicals. and ABTS<sup>+</sup>. As results, it was obtained that both extracts presented antioxidant activity, having a better result for ABTS<sup>+</sup> the fruit extract with 160.70 ±0.30 mg TE/g of extract; while the leaf extract was more active on DPPH. with a 136.58 ±0.20 mg ET/g of extract. Regarding antibacterial activity, the samples were active against 4 of the 6 bacteria evaluated, including *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, both bacteria listed as priorities for which new antibiotics are urgently needed according to the WHO. Finally, the whole extract of the fruit presented an important anti-inflammatory activity, with an inhibition of inflammation in the mouse ear of 60.17%. In conclusion, the cahuiche extract has antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant activity, this effect is possible due to the phenolic compounds found in the fruit.

Keywords: *Vaccinium leucanthum*, Cahuiche, hydroalcoholic extract, antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant activity.



## I.INTRODUCCIÓN

El cahuiche (*Vaccinium leucanthum*), pertenece a la familia Ericaceae, es un fruto de origen silvestre consumido localmente en fresco o seco y se utiliza para preparar conservas, atoles, dulces, jaleas, mermeladas, pastel, vino y agua fresca, presenta un sabor agridulce parecido al del arándano rojo. La producción de este fruto llega a ser 1-1.5 toneladas por año. Productores locales mencionan que este valor depende del temporal. Sánchez-Franco y colaboradores reportaron en 2019, que el fruto contiene un alto contenido de hidratos de carbono, siendo un 32.56% fibra del total de hidratos de carbono, en comparación con otros frutos rojos. Además, el autor menciona que el cahuiche tiene un alto contenido de vitamina C en comparación con la fresa y su contenido de fenoles totales es similar o mayor a lo reportado en otros frutos frescos como la mora azul, zarzamora y fresa.

En otro orden de ideas, el centro para el control de las enfermedades (CDC), reportó que en el año 2021 aproximadamente 48 millones de personas contraen enfermedades transmitidas por alimentos, de las cuales 128 mil son hospitalizadas y se contabiliza un número de decesos de aproximadamente 3000 individuos. Tales enfermedades son producidas por alimentos contaminados por microorganismos (Flores & Herrera, 2005), siendo consideradas como un problema de salud pública, debido a que su prevalencia está en aumento por el uso indiscriminado de antimicrobianos, generando una resistencia a dichos productos y conllevando complicaciones como el aumento en el periodo de hospitalización y el costo que este adquiere por el tiempo y tratamiento de estas enfermedades (Uriol & Espinoza, 2021). Las enfermedades más comunes de origen bacteriano son causadas por algunas cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, encontrándose dentro de la lista de patógenos prioritarios publicada por la OMS.

Al referirnos a una intoxicación alimentaria de origen bacteriano se hace referencia a la presencia de toxinas producidas por estos microorganismos, a la entrada de bacterias al cuerpo por la ingestión de alimentos contaminados y a la reacción que estas producen en el ser humano; por ejemplo, la inflamación de la mucosa del tracto gastrointestinal causada por la enterotoxina producida por *Staphylococcus aureus* la cual es una de las intoxicaciones con mayor frecuencia dentro de estas patologías.



El proceso inflamatorio ocurre como una respuesta a una lesión tisular ocasionada por bacterias, sustancias químicas, traumatismo, calor u otro fenómeno (Guyton *et al.*, 1971). Está acompañada de manifestaciones o síntomas (calor, rubor, dolor, edema) que varían dependiendo del área en el que se desarrolla y del agente que lo ocasiona; además evita que las sustancias dañinas se extiendan a los órganos cercanos (Fernández-Tresguerres *et al.*, 2009).

En estos procesos inflamatorio se producen especies reactivas del oxígeno y radicales libres que son contrarrestados por sustancias antioxidantes producidas por el cuerpo humano; sin embargo, cuando la cantidad de estos productos sobrepasa la actividad antioxidante se genera una condición conocida como estrés oxidativo. Hoy en día, las investigaciones que relacionan a la inflamación con el desarrollo de las enfermedades metabólicas y sus complicaciones como lo es la obesidad, la diabetes, la hipertensión, enfermedades neurodegenerativas y cáncer, entre otras (León *et al* 2015); las cuales se centran en un proceso inflamatorio sistémico crónico de bajo grado (González *et al.*, 2011) ocasionado por el estrés oxidativo (Sánchez & Méndez, 2018).

Por otra parte, el beneficio que aporta el consumo de productos de origen vegetal, parece estar relacionado con los metabolitos secundarios (Leyton & Majana, 2017) de las plantas conocidas como sustancias bioactivas, también se denominan fitoquímicos o fitonutrientes, que pueden llegar a prevenir algunos padecimientos.

Los metabolitos secundarios son sustancias desarrolladas por las plantas como medio para adaptación a su entorno, defensa para heridas, invasión por insectos y microorganismos patógenos; algunas de estas sustancias son enzimas que dañan la pared de los microorganismos o poseen la capacidad de inactivar algunas de las toxinas producidas por los mismo y actividad antioxidante (Jiménez a *et al.*, 2003).

Existe una relación muy estrecha entre el contenido de fenoles, actividad antibacteriana antiinflamatoria y antioxidante de estos productos naturales, los antioxidantes son responsables de mecanismo de defensa del organismo contra patologías asociadas a daño por radicales libres (Moharram *et al.*, 2014).



Por lo anterior, el objetivo del trabajo fue evaluar las actividades antibacterianas, anti-inflamatorias y antioxidantes de los extractos hidroalcohólicos de *Vaccinium leucanthum* (cahuiche) utilizando pruebas *in vitro* e *in vivo* para conocer los efectos de sus metabolitos bioactivos y de esta manera otorgar un mayor valor agregado al consumo y utilización del fruto.



## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Uso de productos naturales

El uso de productos naturales con fines medicinales proviene desde mucho tiempo atrás, se remonta a 400 años a. C. con la civilización sumeria. Se tiene registro de que Hipócrates conocido como el padre de la medicina, utilizó aproximadamente 400 plantas para uso medicinal.

Las sustancias de origen natural han tenido una gran importancia en la medicina tradicional antigua como lo es en la cultura china, hindú y egipcia las cuales son usadas en la actualidad. De acuerdo con lo reportado por la OMS aproximadamente un 75% de la población utilizan la medicina tradicional para la resolución de enfermedades en todo el mundo (Gray, 2006).

Los avances en la producción de medicamentos en la actualidad han ido en aumento, las plantas medicinales siguen teniendo una gran importancia y aporte en la producción de los mismo. Se han utilizado las plantas medicinales para la generación de los fármacos como es el caso de la aspirina la cual se obtiene de la corteza del Sauce y el vinca menor para el tratamiento del cáncer (Hoogesteger, 1994).

#### 2.1.1 Plantas medicinales en México

El uso de plantas medicinales en México forma parte de la historia y la cultura. Se utilizan diferentes partes de la planta como el tallo o la raíz, pero las más frecuentes son las hojas y las flores; esto depende del padecimiento a tratar o de la preparación, pueden ser consumidas de manera directa, en infusiones o en homeopatía (Guzmán *et al.*, 2017). Desde tiempos prehispánicos las plantas se utilizaban para combatir enfermedades debido a las cualidades especiales contenidas en ellas. Su utilización comenzó con la experimentación de diversas plantas las cuales no solo ofrecían aromas, sabores a los alimentos, sino que también aliviaban el dolor y curaban enfermedades. Hasta el siglo XIX las plantas junto con algunos productos minerales y de origen animal eran empleados como medicamentos por los seres



humanos en los países occidentales y en numerosas zonas del mundo aún sigue siendo de esta manera (Juárez *et al.*, 2013).

### **2.1.2 Frutas y sustancias bioactivas**

El beneficio que aporta el consumo de productos de origen vegetal entre los que encontramos a las frutas, parece estar relacionado con los metabolitos secundarios de las plantas conocidas como sustancias bioactivas, fitoquímicos o fitonutrientes, que pueden llegar a prevenir o coadyuvar en el tratamiento de algunos padecimientos (Leyton & Majana, 2017).

La herencia y el medio ambiente son agentes que regulan los procesos y las condiciones internas de las plantas repercutiendo en su crecimiento y desarrollo afectando su forma, tamaño y funcionamiento (Lira, 2010). Los metabolitos secundarios son sustancias desarrolladas por las plantas como adaptación a su entorno, defensa para heridas, invasión por insectos y microorganismos patógenos (Jiménez *et al.*, 2003).

Se pueden distinguir en el reino vegetal 4 grupos de compuestos bioactivos: a) las sustancias nitrogenadas, b) las azufradas, c) las terpénicas y finalmente d) las fenólicas, siendo los últimos dos grupos donde se encuentran la mayoría de los fitoquímicos presentes en las frutas (Martínez *et al.*, 2008).

Algunos de los colores de los frutos están asociados como es el caso de los colores verdes de la clorofila, los amarillos-naranjas-rojos con los carotenoides para las antocianinas los colores rojo-azul-morado y para las betalainas el color rojo (Rodríguez, 2016).

#### *2.1.2.1 Sustancias nitrogenadas*

Las biomoléculas nitrogenadas suelen ser muy activas, un ejemplo de ellas es la lectina que encontramos en la pulpa y cáscara de diversos frutos. La aglutinina (MIA) es una lectina encontrada y caracterizada de la *Mangífera indica* a la cual se le ha encontrado capacidad hipoglucemiante por presentar un efecto inhibitorio de la  $\alpha$ -amilasa (Ortiz *et al.*, 2013).



### **2.1.2.2 Sustancias azufradas**

Estos compuestos existen de forma natural en muchos alimentos de origen vegetal, muchos de ellos se han considerado como aditivos alimentarios seguros. Entre los compuestos azufrados podemos encontrar a la alicina y aliina. El ajo y otras especies de género *Allium* han sido fuente rica de estos compuestos y han sido estudiados por su efecto anticancerígeno (Ortiz *et al.*, 2013).

#### **2.1.2.2.1 Isotiocianatos**

Los isotiocianatos se encuentran en muchos vegetales *crucíferos* y son responsables del sabor característico de ciertos vegetales de este género, entre estos vegetales encontramos la col (*Brassica oleracea*) y los berros (*Nasturtium officinale*); se han encontrado que isotiocinatos aislados de estos vegetales poseen efecto quimiopreventivo contra el cáncer de pulmón, esófago, de glándulas mamarias, vesícula biliar, hígado y colon en ratas (Ortiz *et al.*, 2013).

#### **2.1.2.2.2 Glucosinolatos**

Los glucosinolatos provienen de la familia de las crucíferas su término hace referencia a fracción de glucósido y un grupo sulfato (Rincón, 2014). Otorga el sabor característico de la mostaza, los rábanos, coles y otros vegetales, y cuando estas verduras se cortan o trituran se liberan estas sustancias los isotiocianatos, tiocianatos e índoles a los cuales se les atribuye capacidad antibacteriana y anticancerígena (Ortiz *et al.*, 2013).

Los glucosinolatos son sustancias liposolubles por lo que el consumo de aceites aromáticos del rábano (*Raphanus sativus*) y los berros (*Nasturtium officinale*) son efectivos en la inflamación de vejiga y la tos (Ortiz *et al.*, 2013).

### **2.1.2.3 Terpenos**

Los terpenos junto con los terpenoides forman parte de un grupo de metabolitos secundarios conformadas por 5 átomos de carbono o unidades de isopreno. Funcionan como antioxidantes, protegen a la sangre, a los lípidos contra el efecto de los radicales libres; que



previenen la aparición de cáncer como el de las glándulas mamarias, pulmón, colon, estómago, próstata e hígado (Chasquibol *et al.*, 2003); así como también actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, antiviral, y como antídoto en el envenenamiento producido por el consumo de hongos venenosos del género *Amanita* (López Carreras *et al.*, 2012).

Los terpenos se pueden dividir en: a) monoterpenos, b) diterpenos y c) tetraterpenos (Ortiz *et al.*, 2013).

#### 2.1.2.3.1 Monoterpenos

Dentro del grupo de los monoterpenos encontramos a el limoneno, carvona, carveol, mentol, alcohol perillil y geraniol, los cuales presenta propiedades, expectorantes, antiinflamatorias, antimicoticobacterianas (Torrenegra *et al.*, 2019) y anticancerígena y pueden generar regresiones tumorales en piel, melanomas, mama, pulmón, estómago, páncreas, colon y leucemias (Ortiz *et al.*, 2013).

#### 2.1.2.3.2 Diterpenos

En el grupo de los diterpenos tenemos a los retinoides como la luteína, el licopeno y el todo-trans-retinol o vitamina A, que han mostrado tener un efecto importante anticancerígeno, antibacteriana, antiparasitaria, antibacteriana, antiinflamatoria, anticonceptiva, antioxidante entre otras (Núñez, 2018). Asimismo, estas moléculas han demostrado importantes efectos anticancerígenos; por ejemplo, la vitamina A sobre cáncer de la cavidad oral, piel, mama, próstata, vejiga, hígado y páncreas en modelos animales; la luteína sobre cáncer de colon y en estudios *in vitro* se reportó que la incorporación de licopeno disminuyó la apoptosis generada por etanol y el riesgo de cáncer en el pulmón, estómago y próstata.

Además, los carotenoides han resultado ser efectivos contra radicales libres y al ser conjuntados con los tocoferoles esta capacidad se ha visto aumentada (Ortiz *et al.*, 2013).

#### 2.1.2.3.3 Tetraterpenoides

Estos compuestos los podemos encontrar distribuidos en la naturaleza como la astaxantina; encargados de darle coloración a las plantas, hortalizas y alimentos, así como a los camarones



y la yema de huevo, y su espectro de colores va de amarillo al rojo. Son considerados pigmentos complementarios de la fotosíntesis, presentan su máximo de absorción en el ultravioleta y azul, algunos de ellos son precursores de la vitamina A. Entre los tetraterpenoides encontramos al  $\beta$ -caroteno (Lorena & Juliano, 2017).

#### **2.1.2.4 Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos han sido los más estudiados, se les ha atribuido actividad antioxidante, antimicrobiana, anticancerígena, antiinflamatoria entre otras (Martín, 2018). Se encuentran mayormente presentes en frutos y verduras. La mayoría de los compuestos fenólicos derivan de la fenilalanina, son obtenidos por la ruta metabólica del ácido shiquímico (Pérez & Ávalos, 2009).

Estos compuestos se encargan de proteger a la planta contra los procesos oxidativos y lo llevan a cabo de igual manera en el cuerpo humano. Otorgan los colores azul, rojo y violeta de ciertas variedades de cerezas y uvas y el color púrpura de la berenjena. Su principal característica es su habilidad para bloquear la función de ciertas enzimas que causan inflamación, también inhiben los carcinógenos y como consecuencia bloquean la iniciación de procesos de carcinogénesis. También son antioxidantes, atrapando a los radicales libres y evitan que estos dañen al ADN (Chasquibol *et al.*, 2003).

Se encuentran clasificados en cuatro familias de acuerdo al número de anillos fenólicos y de los elementos estructurales unidos a esos anillos: a) flavonoides, b) ácidos fenólicos, c) estilbenos y d) lignanos (Ortiz *et al.*, 2013).

##### *2.1.2.4.1 Flavonoides*

Los flavonoides son los compuestos fenólicos más abundantes, están formados por derivados del ácido acético y la fenilalanina, son de bajo peso molecular, presentan más de 5000 estructuras diferentes (Ortiz *et al.*, 2013). Las variaciones estructurales en los anillos dan lugar a 6 subgrupos: a) flavonoles, b) flavonas, c) flavanonas, d) isoflavonas, e) flavanoles (catequinas y proantocianidinas) y f) antocianidinas (Ortiz *et al.*, 2013).



Aquellos flavonoides que tienen un gran número de grupos hidroxilo o azúcares se consideran como compuestos polares y son moderadamente solubles en metanol, etanol, acetona y agua (Cartaya & Reynaldo, 2001).

Dentro de sus actividades biológicas se encuentran su acción contra las alergias, radicales libres, inflamación, hepatotoxicidad, aglomeración de plaquetas, úlceras, virus y tumores (Chasquibol *et al.* 2003). Son utilizados para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y prevenir algunos tipos de cáncer por la capacidad que tienen de neutralizar a las especies reactivas del oxígeno (ROS) ya sea atrapándolas o evitando que se propaguen las reacciones químicas que producen radicales libres (Ortiz *et al.*, 2013).

#### **2.1.2.4.1.1 Flavonoles**

Los flavonoles son capaces de neutralizar a las especies reactivas del oxígeno, están presentes en las, frutas, hortalizas, legumbres y especias como la uva, el mango, las fresas, cebolla, etc. (Valenzuela, 2002). Ejemplo de estos compuestos son rutina, quercetina y kaempferol (Cartaya & Reynaldo, 2001).

#### **2.1.2.4.1.2 Flavonas**

Las flavonas junto con los flavonoles son los flavonoides más comunes, se encuentran en los pigmentos amarillos de las plantas, son de naturaleza lipofílica, ejemplos de ellos tenemos a la tangeritina, luteolina y apigenina, que presentan una actividad antifúngica (Cartaya & Reynaldo, 2001).

#### **2.1.2.4.1.3 Flavanonas**

Las flavanonas se encuentran en menor cantidad en la naturaleza, carecen de color o poseen un color amarillo muy ligero, son de naturaleza lipofílica. Dentro de sus glucósidos se encuentra la hesperidina y naringina presente en la cáscara de las frutas cítricas. Son solubles en solventes no polares como ésteres y cloroformo (Cartaya & Reynaldo, 2001).



#### **2.1.2.4.1.4 Isoflavonas**

Las isoflavonas provienen de las leguminosas, principalmente de la soya, su función biológica está relacionada con el bloqueo de enzimas que se utilizan para el crecimiento de los tumores, además algunas pueden actuar hormonas. Como ejemplo de isoflavonas provenientes de la soya tenemos a la genisteina y la daizeina, las cuales son conocidas como fitoestrógenos, esto quiere decir que actúan de manera similar como lo hace el estrógeno pero con menos potencia (Chasquibol *et al.*, 2003). Son solubles en solventes no polares, de naturaleza lipofílica.

#### **2.1.2.4.1.5 Flavanoles (catequinas y proantocianidinas)**

Como la epicatequina presente en el cacao, los flavanoles parecen presentar actividad antidiabética, mediante la modulación del metabolismo de la glucosa y de los lípidos en las células del hígado mejorando la sensibilidad a la insulina y la tolerancia a la glucosa (Cordero, 2015).

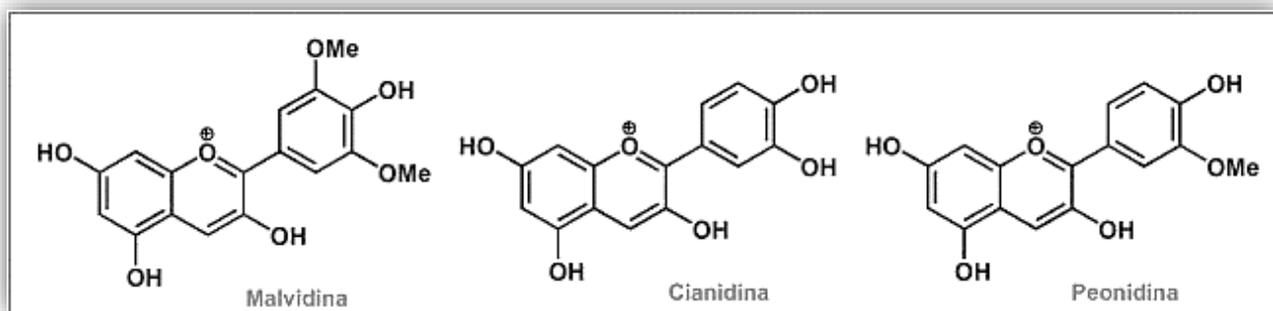
#### **2.1.2.4.1.6 Antocianinas**

Las antocianinas son glúcidos de las antocianidinas, además son hidrosolubles, responsables del color en el reino vegetal, principalmente rojo, naranja azul y morado perceptible por el ojo humano (Melquiades *et al.*, 2020). Su estructura química básica consiste en el ion flavilio (que generalmente actúa como un catión) formado por dos grupos aromáticos separados por un oxígeno: un benzopirilio y un anillo fenólico (figura 1). El nivel de hidroxilación y metilación en el anillo fenólico determinan el tipo de antocianidina. Se han descrito 12 antocianidinas de las cuales la cianidina, malvidina, petunidina, pelargonidina, peonidina y delfidina son las que se encuentra comúnmente en las plantas (Aguilera *et al.*, 2011).

Las antocianinas, así como sus derivados, presentan beneficios a la salud humana entre las que se encuentran actividad antioxidante, anticancerígena, efecto protector contra enfermedades degenerativas como la obesidad, diabetes y neurológicas. Además, se ha demostrado que captan radicales libres que se encuentran en los fluidos de los tejidos y puede



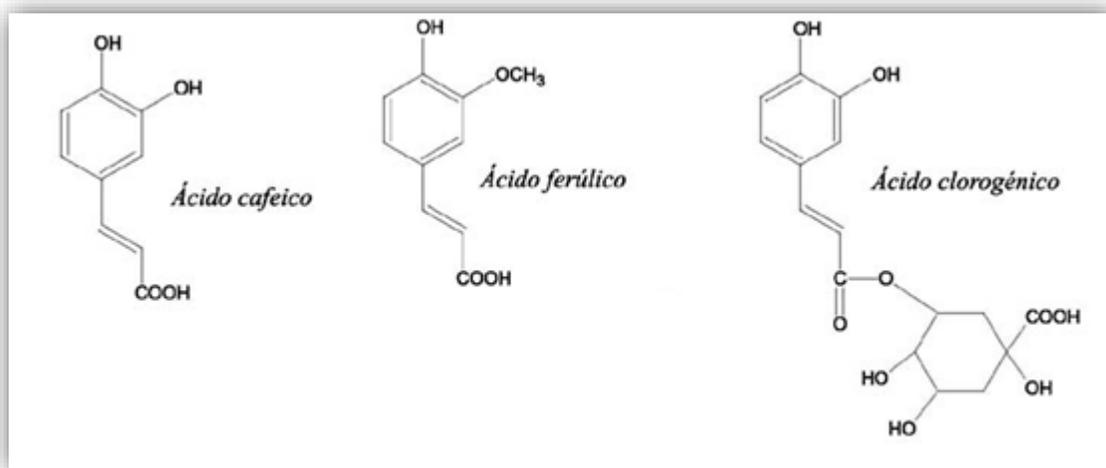
beneficiar ampliamente a los deportistas debido a que durante el ejercicio se producen gran cantidad de radicales libres (Chasquibol *et al.*, 2003).



**Figura 1.** Estructura de algunas antocianinas. Modificado de Espino, 2014

#### 2.1.2.4.2 Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos son parte de los compuestos fenólicos, presentan un anillo bencénico, un grupo carboxilo y uno o más grupos hidroxilo y/o metoxilo lo que le provee del efecto antioxidante, siendo la unión más frecuente la del ácido cafeico (figura 2) (Soares, 2002).



**Figura 2.** Estructura del ácido ferúlico, cafeico y clorogénico, modificado de Muñoz, 2007

#### **2.1.2.4.3 Estilbenos**

Los estilbenos están presentes en varias plantas y frutas como los cacahuates (*Arachis hypogaea*), las moras (*Morus spp.*), los arándanos (*Vaccinium spp.*); siendo proporción su mayor en la uva (*Vitaceae*) y el vino tinto (Gonçalves, 2013). El resveratrol también se encuentra en algunos árboles como el eucalipto (*Eucalyptus*), el abeto (*Abies alba*) y plantas con flor del género (*Veratrum*).

Las propiedades *in vitro* del resveratrol han sido ampliamente estudiadas y de las cuales destacan su actividad anticancerígena, antiagregante plaquetario, antiinflamatoria, antialérgico, entre otras (Gambini *et al.*, 2013).

#### **2.1.2.4.4 Lignanos**

Los lignanos, son biosintetizados a través de la ruta del ácido shiquímico, tienen una leve actividad estrogénica similar a los fitoestrógenos y evitan el crecimiento de tumores, están presente en muchas frutas y verduras (Chasquibol *et al.*, 2003).

### **2.2. Bayas en México**

Una alimentación rica en frutas y hortalizas ayuda a la prevención y al tratamiento de algunos padecimientos como las enfermedades crónico no transmisibles, este efecto positivo está relacionado con los compuestos bioactivos entre los que encontramos a los fenoles capaces de prevenir o hacer más lento el proceso oxidativo presente en numerosas patologías

Existen diferentes compuestos fenólicos en las bayas en inglés “berries”, frutos del bosque o simplemente frutillas, que han mostrado tener actividad antioxidante y las han colocado en la lista de los alimentos funcionales llamados súper frutos.

Dentro de los trabajos realizados para conocer estos beneficios se han llevado a cabo comparaciones entre variaciones de bayas tanto silvestres y cultivadas, observándose mejores resultados en las especies silvestres al presentar mayor cantidad y variedad de estos compuestos bioactivos (Vázquez *et al.*, 2012).



En México las frutillas que se desarrollan en forma silvestre han sido recolectadas por los habitantes de la región, el éxito de la producción de estas especies se debe a sus características sensoriales, sus beneficios a la salud, comercialización y rentabilidad económica (González *et al.*, 2019).

### **2. 2.1 Género *Vaccinium***

Debido a su importancia mundial y económica, las frutillas que más se han producido en el mundo son la fresas, las frambuesas y los arándanos. De acuerdo con lo reportado por la FAO, en el periodo de 2005 a 2013 en el mundo se produjo un total de 7.8 millones de toneladas de bayas con un total de 9.81% para el arándano (González *et al.*, 2019).

El arándano es una especie de nueva introducción en la cadena agroalimentaria de México, ocupa el cuarto lugar a nivel mundial, principalmente el arándano azul y el rojo. Se producen alrededor de 36.700 toneladas de arándano al año, principalmente en los estados de Jalisco, Michoacán y Sinaloa. Su producción inició en 1996 y en los últimos años ha tenido un incremento de casi un 800% debido principalmente a la demanda del producto en Europa, Asia y Norte América, siendo Estados Unidos el principal consumidor con un 95.4 % del total comercializado, favoreciendo el aumento en la producción del arándano (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2018) , y de acuerdo con el Sistema Integral de Información en 2021 Sistema Integral de Información en 2021 su producción en el 2020 fue de 50,295 toneladas.

### **2.2.2 *Vaccinium leucanthum* (cahuiche)**

Se conoce muy poco sobre el *Vaccinium leucanthum*; Sánchez-Franco y colaboradores en 2019 reportaron que es un árbol silvestre de estatura mediana que puede llegar a medir 6 m de altura y 20 cm de diámetro del tronco, el cual presenta una corteza con finas hendiduras de color castaño rojizo. Crece principalmente en bosques mesófilos, en el declive de los



montes en un clima templado-húmedo, en una altitud aproximadamente de 1,600 a 2,000 msnm.

Las hojas de los árboles pueden llegar a medir entre 2 a 4.5 cm de largo y de ancho entre 1.2 a 1.6 cm se encuentran distribuidas de manera alterna con un aspecto semejante al cuero oblongo-lanceoladas y la forma de los márgenes crenado – serrado. En los meses de abril y mayo se lleva a cabo la floración, la flor presenta una forma de jarrita de entre 2.5 a 3 cm de largo, son de color blanco y se encuentran juntas en racimos. La recolección del fruto se puede realizar en los meses de agosto y septiembre; el cual es una baya redonda globosa de color morado oscuro en su etapa de madurez con un diámetro de aproximadamente 5 mm de diámetro conocido con el nombre de “cahuiche”. En la figura 3 se muestran imágenes del árbol; así como de los frutos maduros e inmaduros.

El cahuiche es una fuente en fibra con un 8.36 g /100 g, el 15 % aproximadamente corresponde a la fibra soluble y el 85% a la fibra insoluble, presenta micronutrientes como sodio, fosforo, potasio, calcio, hierro, cobre, zinc y magnesio, estos últimos 4 encontrados con mayor proporción que la mora azul.

Con relación a los componentes bioactivos, el cahuiche presenta una buena fuente de ácido ascórbico, dentro de su contenido fenólico se pueden encontrar a los ácido clorogénico, gálico, cafeico y p-cumarico, los cuales están presentes en cantidades similares o mayores que el encontrado en otras bayas como el *Vaccinium corymbosum*.

Con referencia a las antocininas, este fruto posee 3-*O*-glucósido de cianidina, 3-*O*-glucósido de malvidina y 3-*O*-glucósido de petunidina, compuestos que presentan actividad antibacteriana, anti-inflamatoria, antioxidante(Sánchez-Franco *et al.*, 2019) .





**Figura 3.** Imágenes de *Vaccinium leucanthum* a) Árbol b) fruto inmaduro de cahuiche y c) fruto maduro de cahuiche

### 2.3 Enfermedades transmitidas por alimentos de origen bacteriano y resistencia a antimicrobianos

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son provocadas cuando se ingieren bebidas o alimentos contaminados. Para que las ETAs ocurran el microorganismo o sus toxinas debe de estar presentes en el alimento en una cantidad capaz de generar un proceso infeccioso o producir sus toxinas; además, el alimento debe de contar con las características específicas, encontrarse en una zona de peligro de temperatura, en un tiempo determinado que permitan el crecimiento y desarrollo del patógeno y este a su vez ser ingerido por un individuo en una cantidad suficiente para producir la enfermedad (OPS, 2020). Los



microorganismos después de ser ingeridos se adhieren a las células de la pared intestinal donde pueden multiplicarse, producir toxinas o invadir otros tejidos (Hernández, 2016).

Estas enfermedades presentan síntomas comunes entre los que encontramos la diarrea y el vómito, pero también puede presentarse cefalea, fiebre, visión doble, etc. (Flores & Herrera, 2005). La aparición de la sintomatología puede variar entre horas a días dependiendo de la cantidad y el tipo de microorganismo (Hernández, 2016).

De acuerdo con los Centros para Control y prevención de enfermedades (CDC) en julio del 2021 aproximadamente 48 millones de personas presentaron intoxicación alimentaria de los cuales 128 000 requirieron de hospitalización y 3000 fallecieron.

Las infecciones en las cuales los tratamientos son complicados han ido en aumento debido a la ineficacia de los antimicrobianos, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud la resistencia a los antimicrobianos, es una de las mayores amenazas para la salud y la seguridad alimentaria (OMS, 2020).

En México las enfermedades gastrointestinales son una de las principales causas de consulta médica, dentro de la etiología bacteriana destaca *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. (Hernández *et al.*, 2011). En 1993 Parrilla-Cerrillo y colaboradores realizaron una revisión de toxiinfecciones alimentarias de etiología microbiana y parasitaria, en un lapso de 10 años (1980 a 1989) encontrando que el principal microorganismo implicado fue el *Staphylococcus aureus* con una prevalencia del 48.2% (Parrilla-Cerrillo *et al.*, 1993) .

### 2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Se trata de un coco Gram positivo, facultativo, que se presenta en agregados parecidos a los racimos de uvas, en parejas o en cadena corta, son fermentativos y proteolíticos, aunque generalmente en los alimentos no producen ni aspecto ni olor desagradable en ellos. El intervalo de temperatura para su multiplicación y producción de la toxina esta aproximadamente entre los 4<sup>0</sup> y los 46<sup>0</sup> C, el pH puede variar entre los 4.5 y 8 y la a<sub>w</sub> entre 0.86 y 0.90 (Frazier & Westhoff, 1993). Es responsable de intoxicaciones ocasionadas por alimentos, estas intoxicaciones son dadas por la presencia de enterotoxina estable al calor. La causa más común de contaminación se debe al contacto directo con manipuladore de



alimentos portadores de la bacteria o por contaminación de los productos entre los que encontramos a las carnes, productos no refrigerados, huevos, tomates y papas (Jordá *et al.*, 2016).

### 2.3.2 *Listeria monocytogenes*

Es un bacilo corto, Gram positivo, que puede crecer a 4<sup>0</sup>C, saprofito, causal de la listeriosis humana causada por el consumo de alimentos contaminados, se encuentran en pocas cantidades en varios alimentos, incluidos de algunos que no necesitan cocción previa a su consumo. En la industria alimentaria representa un problema debido al difícil control de este microorganismo en las plantas procesadoras (López, *et al.*, 2006). La listeriosis presenta manifestaciones clínicas de importancia entre las que se encuentran las septicemias, meningitis, la encefalitis, infecciones neonatales o abortos; presentando una baja morbilidad y una alta mortalidad con una tasa que va del 20 al 30% la más alta de todas las infecciones transmitidas por alimentos(OMS, 2018) .

### 2.3.3 *Salmonella typhi*

Es un bacilo Gram negativo anaerobio facultativo, no produce esporas, produce ácido a partir de glucosa, maltosa y sorbitol, produce nitrito y ácido sulfhídrico, la temperatura óptima de crecimiento es a los 37<sup>0</sup>C (Calva, 2017). Esta bacteria es la causante de la fiebre tifoidea y causa con frecuencia salmonelosis (Madigan *et al.*, 2009). De acuerdo con la OMS en 2018 aproximadamente entre 11 y 20 millones de personas se enferman de fiebre tifoidea, de las cuales mueren entre 128,000 y 161,000, suele transmitirse por agua o alimentos contaminados. Es más común en países en vías de desarrollo se puede encontrar en la mantequilla de cacahuete, tomates y ensaladas de frutas (Massoc, 2008). En México la incidencia es de 10 por cada 100,000 habitantes, siendo los más afectados los adultos jóvenes de entre 19 a 44 años (Calva, 2017) .

### 2.3.4 *Salmonella choleraesuis*

Se trata de un bacilo Gram negativo anaeróbico facultativo, su infección se debe al consumo de carne de pollo, huevo y subproductos y esto se debe al desarrollo de la industrialización



en las fases de producción del alimento, en las prácticas de almacenamiento, distribución y preparación. Los alimentos contaminados tienen un impacto en la salud humana y no solo por las manifestaciones clínicas que presenta, sino por la presencia de antimicrobianos que pueden contribuir a la aparición de cepas resistentes a los mismos (Uribe & Suárez, 2006).

#### 2.3.5 *Escherichia coli*

Es un bacilo anaeróbico facultativo y es una de las bacterias más abundantes en el tracto digestivo (Flores & Herrera 2005). Puede llegar a producir gastroenteritis, infecciones de vías urinarias, pielonefritis, cistitis, bacteriemia, meningitis neonatal, infecciones intraabdominales asociadas con perforación intestinal. Fermenta la glucosa con producción de gas, por sus características son sensibles a la desecación, forma parte del microbioma intestinal de animales y humanos (Farias, 2015) . Puede propagarse por alimentos contaminados a un pH de 4.5, entre los que encontramos la carne no bien cocida, leche no pasteurizada, frutas, verduras crudas y por agua (CDC, 2022).

#### 2.3.6 *Pseudomonas aeruginosa*

Se trata de un bacilo Gram negativo aeróbico facultativo que mide de 0.5 a 0.8  $\mu\text{m}$  por 1.5 a 3.0  $\mu\text{m}$ . Se diferencia del resto de las *Pseudomonas* porque crece a temperaturas altas entre los 20 y los 43<sup>0</sup>C. Asociada con infecciones oportunistas y de mayor frecuencia involucrada en enfermedades humanas. Normalmente se encuentra en agua, suelo y vegetación, y a menudo colonizan comida, su propagación se da de persona a persona a través del contacto de objetos que pueden contaminarse con este microorganismo sobre todo a nivel hospitalario, por ingestión de alimentos o agua contaminada. Aunque muy pocas veces causa enfermedad en personas sanas, es una gran amenaza en personas hospitalizadas (Wu *et al.*, 2015 Paz-Zarza *et al.*, 2019).



## 2.4 Mecanismos inmunitarios, inflamación frente a las enfermedades transmitidas por alimentos

La supervivencia del hombre depende de la respuesta inmunitaria siendo un factor primordial para mantener fuera del cuerpo a microorganismos patógenos y sustancias tóxicas.

La inflamación se lleva a cabo cuando se produce una lesión tisular ocasionada por traumatismo, sustancias químicas, calor, bacterias o cualquier otro fenómeno (Guyton & Hall, 2019). La inflamación forma parte de los mecanismos de defensa de la inmunidad innata o natural (Tresguerres, 2009) y ha sido reconocida como una respuesta fundamental desde hace tiempo atrás, Hipócrates puede haber sido en primero en reconocer a la inflamación como un proceso de curación. La primera descripción médica se puede encontrar escrito por Aulus Celsus (25 a.C.) quien describió los síntomas de la inflamación: el ardor, rubor, tumor y calor, aproximadamente 100 años después Galeno de Pergamo añadió un quinto síntoma, el deterioro de la funcionalidad (Mohammed *et al.*, 2014).

Ante la presencia de un agente infeccioso la primera respuesta que se genera es la dada por la inmunidad innata, conocida como respuesta inflamatoria la cual es regulada por los mediadores solubles, las citocinas proinflamatorias, dentro de estas tenemos principalmente a 3 (Camps & Sirera, 2006).:

- a) La interleucina 1(IL1): Activación de los monocitos, macrófagos, regulación de los linfocitos T.
- b) La interleucina 6 (IL6): Importante regulados de la inflamación y la inmunidad, modifica otras citocinas y activa a las células T.
- c) El factor de necrosis tumoral (TNF): Inicia la cascada de citocinas proinflamatorias

Al inicio del proceso inflamatorio existe un aumento de neutrófilos en la sangre debido al estímulo que llega a la médula ósea secretados por los neutrófilos que se encuentran almacenados en el tejido inflamado y los macrófagos, procesos que ocurren en la inflamación aguda (Garduño y Albarrán, 2008).



Los macrófagos liberan las interleucinas como la interleucina-1 que estimula la producción de la proteína C reactiva que activa el sistema del complemento y sus fragmentos marcan a los microorganismos invasores, permitiendo su fagocitosis de una manera más efectiva (Tresguerres, 2009).

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ) y la interleucina-1 (IL1) son citoquinas que tienen efectos en el endotelio, leucocitos, fibroblastos y la respuesta inmune en la fase aguda. En el endotelio producen cambios a nivel de transcripción de genes en la síntesis de mediadores químicos entre los que se destaca la interleucina 6 (IL6) por su efecto en la resistencia a la insulina.

Como podemos observar, la inflamación es un proceso complejo que puede estar ocasionado por diferentes factores biológicos, químicos, físicos, alteraciones genéticas; es benéfica si es corta y trabaja en el sitio donde es necesaria, pero si esta tiene una extensión excesiva y duradera se vuelve patológica, por tal motivo el proceso inflamatorio puede ser agudo o crónico (Vega, 2008).

### **2.3.1 Mediadores de la inflamación**

A continuación, se describen las familias de mediadores químicos de la inflamación (Bordes *et al.*, 1994).

a) Histamina: Se encuentra principalmente en el mastocito y los basófilos actúa sobre el receptor de histamina 1 (H1) produciendo aumento de la permeabilidad y vasodilatación. En los receptores histamina 2 (H2) presenta un efecto regulador o inhibidor de la inflamación.

b) Enzimas proteolíticas: Dentro de ellas tenemos a la quininogenasa que actúa sobre los quinínógenos liberando estructuras más pequeñas llamadas quininas, las cuales inducen vasodilatación, mayor permeabilidad vascular y la estimulación del dolor.

c) Factores quimiotácticos: Inducen la atracción, activación de los eosinófilos y neutrófilos al lugar de inflamación.

d) Heparina: Inhibe la coagulación.



e) Prostaglandinas: La PGE2 produce vasodilatación y dolor.

f) Factor activador de plaquetas: Como su nombre lo indica activa a las plaquetas para su agregación, liberación de mediadores para los procesos de coagulación, vasodilatación y mayor permeabilidad vascular.

### **2.3.2. Inflamación crónica y su relación con las enfermedades crónico no transmisibles**

En la inflamación crónica los macrófagos y los linfocitos son las células que se encuentra en mayor abundancia en el área de inflamación (Garduño y Albarrán, 2008).

El TNF es sobre producido en el músculo y en el tejido adiposo de personas con obesidad, sus concentraciones a nivel plasmático se encuentran elevados junto con IL6, elevada también en diabetes, la proteína C reactiva (CRP) y el inhibidor de activador del plasminógeno-1 (PAI1). La inhibición de la señal del receptor de insulina por mediadores de la inflamación condiciona resistencia a la insulina y esto se vio en animales a los cuales se les administró TNF $\alpha$  recombinante (Garduño y Albarrán, 2008).

Estudios transcripcionales muestran que los genes del estrés y la inflamación son expresados abundantemente en el tejido adiposo de animales con obesidad. Los lípidos forman parte de la respuesta inflamatoria y metabólica. Niveles altos de lípidos en plasma se pueden observar no solo en la obesidad sino también en un proceso infeccioso como en otros estados inflamatorios y contribuir al desarrollo de arterioesclerosis.

Se puede notar que los procesos metabólicos de la repuesta aguda de la inflamación son proaterogénicos, y que cambios a corto plazo dotan de un beneficio para la lucha contra las infecciones, pero no así si se mantiene a largo plazo (Garduño y Albarrán, 2008).

### **2.3.3 Actividad antibacteriana, anti-inflamatoria y antioxidante del género *Vaccinium*.**

El género *Vaccinium* comprende alrededor de 450 especies, las cuales han sido consideradas como una alentadora elección para la prevención y el tratamiento de algunos padecimientos, entre los que se encuentran enfermedades infecciosas y crónico no transmisibles. Esto debido



a que son ricos en compuestos fenólicos dependiendo su cantidad a la especie y al área geográfica en que se desarrollan.

Este género es una de las especies vegetales que han sido utilizadas para el tratamiento natural de las infecciones a casusa de la resistencia a los antibióticos y han sido objeto de investigación a lo largo del siglo XX, como también su acción terapéutica. En un ensayo clínico se utilizó un extracto con proantocinidinas de *Vaccinium macrocarpon* por diferentes vías de administración (cápsula y jarabe) y se observó una inhibición de la adherencia de *E. coli* en células epiteliales(Muñoz, 2021).

Por otra parte, estudios han demostrado que las plantas contribuyen a la inhibición del proceso inflamatorio y el género *Vaccinium* no es la excepción, generando un gran interés científico en el área farmacológica, principalmente por la capacidad de ciertos compuestos para impedir la evolución de enfermedades que presentan procesos inflamatorios, los cuales pueden desarrollarse como parte de un mecanismo de defensa ante una lesión causada en un tejido, por microorganismos patógenos (bacterias, virus, parásitos) o productos químicos (Montes, 2019).

En otro orden de ideas dentro de las reacciones que realiza el cuerpo humano, como la cadena respiratoria, existe la formación de radicales libres, los cuales son moléculas que se caracterizan por presentar uno o más electrones desapareados, lo que les confiere una alta reactividad. Los seres vivos cuentan con un sistema antioxidante constituido por enzimas como la catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, etc., que evita la acción dañina de estos radicales libres (Guija *et al*, 2015). Sin embargo, cuando en el organismo existe un exceso de especies reactivas el oxígeno (radicales libres), que no pueden ser contrarrestadas por el sistema de defensa natural del cuerpo, se genera estrés oxidativo el cual se encuentra relacionado con la fisiopatología de varias enfermedades como artritis reumatoide procesos inflamatorios crónicos, cáncer, diabetes, neurológicas, cardiovasculares, entre otras (Ortiz *et al.*, 2013).



Como se ha mencionado anteriormente los frutos de origen *Vaccinium* son ricos en antioxidantes lo cual nos podría dar una idea de la existencia de una posible capacidad antiinflamatoria del *Vaccinium leucanthum* (cahuiche).



### III. JUSTIFICACIÓN

Los frutos rojos han sido de mucho interés, por su contenido químico y su capacidad antibacteriana, anti-inflamatoria y antioxidante que ayuda a prevenir ciertas patologías como lo son las enfermedades neurodegenerativas, cáncer, obesidad, diabetes, padecimientos del corazón, hipertensión, entre otras.

Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades en 2021 estimaron que aproximadamente 48 millones de personas al año contraen enfermedades transmitidas por alimentos de las cuales 128,000 son hospitalizadas y 3000 mueren. La resistencia a los antimicrobianos es considerada una de las mayores amenazas para la salud mundial.

Un manejo inadecuado de estos padecimientos podría traer como resultado un desequilibrio entre la producción de sustancias que dañan al organismo y los agentes encargados de contrarrestar dicho daño, generando así estrés oxidativo y el desarrollo de una inflamación crónica, relacionada con muchos de los padecimientos que aquejan a la salud humana en la actualidad entre las que encontramos, la obesidad, hipertensión, enfermedades neurodegenerativas y cáncer, entre otras.

Dentro de los compuestos antibacterianos se ubican a los fenoles como las antocianinas, ácidos orgánicos como el cafeico y clorogénico. Mientras que algunos de los antiinflamatorios de origen natural son los terpenos (tripterina, pristimerina, tingenona, aucubina, catalpol y los ginsenósidos) y los flavonoides (luteonina, silimarina, quercetina, hipericina y lignanos) (Gómez *et al* 2011). Además, la literatura menciona que existe una relación muy estrecha entre la capacidad antioxidante y actividad anti-inflamatoria de los compuestos contenidos en los productos naturales por su potencial, capacidad de activar o inhibir la expresión de genes involucrados en el proceso inflamatorio (Caballero & Gonzáles, 2016).

25

El fruto de *Vaccinium leucanthum* es un fruto rojo de origen silvestre, el fruto maduro es comestible y se consume en fresco o como jaleas, mermeladas y atoles, entre otros. El consumo se centra en la temporada y región en donde se produce y representa una fuente importante de carbohidratos, fibra, compuestos fenólicos y actividad antioxidante, superando



a *Vaccinium corymbosum* (mora azul) (Sánchez-Franco *et al.*, 2019). Las características nutrimentales y fisicoquímicas del cahuiche y su consumo representan un potencial benéfico para la salud humana.

La información obtenida en este trabajo será importante para conocer la capacidad antibacteriana, antiinflamatoria y antioxidante del cahuiche y sus beneficios a la salud, lo que contribuiría a aumentar su consumo y el valor agregado a la producción del fruto.



## IV. OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar el efecto antibacteriano, antiinflamatorio y antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium leucanthum* (cahuiche) utilizando modelos *in vitro* e *in vivo* como guía para conocer sus efectos y su posible beneficio a la salud

### Objetivos específicos

- Obtener los extractos hidroalcohólicos de la hoja y el fruto de *Vaccinium leucanthum* (cahuiche) así como dos fracciones de acetonitrilo del extracto del fruto.
- Determinar *in vitro* la actividad antibacteriana de los extractos de hoja y fruto contra las bacterias asociadas a ETAs.
- Evaluar en un bioensayo con ratones la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico y fracciones de acetonitrilo con mejor actividad en el ensayo *in vitro*.
- Evaluar el contenido de fenoles totales, flavonoides, antocianinas, capacidad antioxidante por ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup> de los extractos hidroalcohólicos y las fracciones de acetonitrilo de *Vaccinium leucanthum* por métodos colorimétricos.



## V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades transmitidas por los alimentos y el uso indiscriminado de los antimicrobianos han ocasionado la resistencia a estos la cual trajo como consecuencia periodos mas largos de tratamiento y mayor costo de los mismo. Cuando dicha infección ocasiona una lesión tisular y no presenta una resolución adecuada se produce inflamación. El proceso inflamatorio como se sabe, es una respuesta natural del cuerpo ante diversos agentes agresores, proporciona un medio por el cual factores encargados de la defensa del cuerpo como las células fagocitarias pueden acceder al sitio de lesión tisular o invasión microbiana. En la lesión se activan células como los monocitos y leucocitos polimorfonucleares donde se producen radicales libres como las especies reactivas del oxígeno (ROS), anión superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y óxido nítrico; su acción radical es habitualmente contrarestanda por compuestos antioxidantes producidos por el cuerpo (Bravo & López, 1998). Mantener en control estas moléculas permiten que a bajas y moderadas concentraciones tengan un beneficio dentro de los procesos celulares (Corrales & Muñoz, 2012). Cuando la producción de estas especies reactivas sobrepasa a la de los antioxidantes se produce lo que conocemos como estrés oxidativo (Viada & Campaña, 2017) el cual se encuentra relacionado con la iniciación y/o progresión de diversas enfermedades como el cáncer, gota, aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares, envejecimiento, respiratorias (Hariram & Won, 2013) y crónico no transmisibles. Estos padecimientos mencionados se han convertido en un problema de salud pública: de acuerdo con la CDC en 2021 aproximadamente 3000 personas mueren por ETAs; para la OMS la resistencia a los antimicrobianos es una de las mayores amenazas para la salud; mientras que la OPS reportó en 2019 que aproximadamente el 71% de las muertes registradas en el mundo son a causa de padecimientos crónicos no transmisibles. Los compuestos provenientes del reino vegetal y sus beneficios a la salud son una alternativa para coadyubar al tratamiento de las ETAs, disminuir el estrés oxidativo y la inflamación crónica (Medina *et al.*, 2020).



El genero *Vaccinium* sobre todo el *Vaccinium corymbosum* mejor conocido como arándano ha sido de interes científico debido a su capacidad antioxidante. *Vaccinium leucanthum* comúnmente conocido como cahuiche, es un árbol silvestre endémico del estado de Hidalgo que poco ha sido estudiado y que al pertenecer a este género podría proporcionar efecto benéfico para la salud humana de origen natural y endémica de la región, lo cual motivaría a aumentar su consumo y proporcionar un valor agregado a la producción de esta frutilla silvestre.



## VI. HIPÓTESIS

Los extractos hidroalcohólicos del fruto y de la hoja de *Vaccinium leucanthum* presentan actividad antibacteriana, anti-inflamatoria y antioxidante.



## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Material vegetal

Los frutos y las hojas de *Vaccinium leucanthum*, se recolectaron en Omitlán de Juárez, Hidalgo México, en el mes de octubre 2021. Este municipio se encuentra localizado a una altitud de 2.417 msnm, Latitud 20° 10' 11" norte, Longitud 98° 38' 52" oeste. Posteriormente los frutos se liofilizaron (Uniequip, Unicryo MC4L-60, Martinsried, Alemania) y molieron el polvo obtenido fue almacenado a 5 °C hasta realizar los análisis. Las hojas fueron lavadas y secadas a temperatura ambiente entre 18 a 20 grados Celsius en el laboratorio de postcosecha del Instituto de Ciencias Agropecuarias para su uso posterior para la obtención del extracto.

#### 7.1.1 Obtención de extractos y fracciones

Se tomaron los 380 g de polvo del fruto liofilizado de cahuiche y se maceraron con etanol acuoso al 60% a temperatura ambiente (18 a 21 grados aproximadamente) durante 24 horas en oscuridad, utilizando un total de 2430 mL de solución hidro alcoholada. Posteriormente el extracto crudo se filtró en papel Whatman No. 1, y se concentró en un rota vapor a una presión de 19mbar (Büchi R-3000, Flawil, Suiza) a 30 °C, posteriormente el extracto obtenido fue secado en un horno de vacío a 35 grados, 55 mmHg y almacenado en refrigeración hasta su uso(Sánchez-Franco *et al.*, 2019) .

El EHF integro se sometió a una segunda extracción con acetonitrilo (relación sólido:líquido, 1:25 *p/v*) a temperatura ambiente durante 24 h en oscuridad. Posteriormente la fracción soluble (FANS) se filtró en papel Whatman No. 1, y se concentró en un rota vapor a presión reducida (Büchi R-3000, Flawil, Suiza) a 35 °C. El precipitado (FANP) y FANS se mantuvieron en congelación hasta su utilización.

Para la obtención del extracto de la hoja, 270 g de hojas frescas se secaron a temperatura ambiente en el laboratorio de postcosecha del Instituto de Ciencias Agropecuarias, obteniéndose 135 g de base seca los cuales se maceraron con etanol acuoso al 70% a



temperatura ambiente (18 a 21 grados aproximadamente) durante 24 h en oscuridad, utilizando un total de 2000 mL de solución hidro alcoholada. Posteriormente se filtró en papel Whatman No. 1, y se concentró en un rota vapor a una presión de 19mbar (Büchi R-3000, Flawil, Suiza) a 30 °C. A continuación, el extracto hidroalcohólico de la hoja (EHH) obtenido fue secado en un horno de vacío a 35 °C y 55 mmHg y almacenado en refrigeración en un frasco ámbar hasta su utilización.

## 7.2. Variables de estudio

### 7.2.1 Actividad antibacteriana

La CMI se define como “la mínima concentración de antimicrobiano (en mg/mL) que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37°C” (Horna *et al.*, 2005).

La CMB se define como “la mínima concentración de antimicrobiano (en mg/mL) que elimina a más del 99,9% de los microorganismos viables después de un tiempo determinado de incubación (generalmente 24 horas)” (CLSI, 1999).

### 7.2.2 Actividad antiinflamatoria

El % de inhibición de inflamación de los extractos evaluados en las oreja de ratón mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = (\text{control } \Delta w - \text{tratamiento } \Delta w / \Delta w) \times 100$$

Donde  $\Delta w = wt - wnt$ , siendo wt el peso de la sección de la oreja tratada y wnt el peso de la sección de la oreja no tratada.

### 7.2.3 Contenidos de compuestos fenólicos totales

Mediante la evaluación del contenido de antocianinas totales y flavonoides



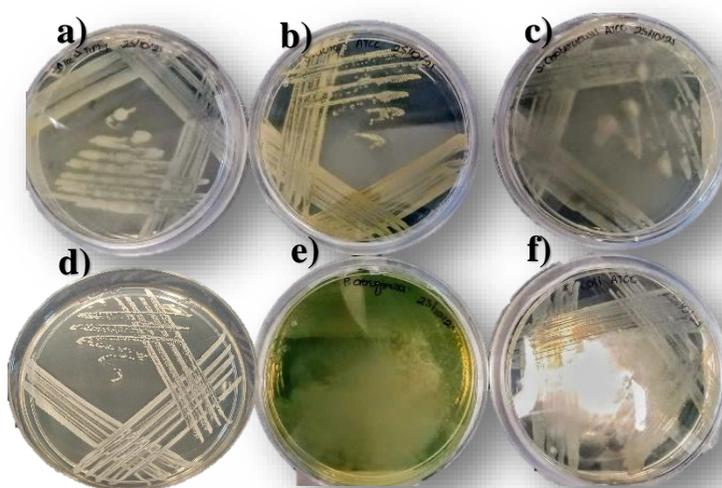
#### 7.2.4 Actividad antioxidante

Mediante la captación de radical ABTS<sup>•+</sup> y DPPH<sup>•</sup>

#### 7.3 Actividad antibacteriana

Para determinar la actividad antibacteriana se realizó mediante dos métodos, la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB).

Para la determinación de la (CMI y la CMB se utilizó el método de micro dilución en placa descrito por González-Alamilla *et al.* (2021), Se utilizaron 6 cepas ATCC *Staphylococcus aureus* 6538, *Listeria monocytogenes* 19113, *Salmonella typhi* 14028, *Salmonella choleraesuis* 10708, *Pseudomonas aeruginosa* 9027 y *Escherichia coli* 35218 (Fig. 4), las concentraciones evaluadas fueron 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12 y 1.56 mg / mL, de los extractos hidroalcohólico de fruto (EHF) y hoja (EHH) de *Vaccinium leucantum*.



**Figura 4.** Morfología de las bacterias evaluadas. **a)** *Salmonella typhi*, **b)** *Staphylococcus aureus*, **c)** *Salmonella choleraesuis*, **d)** *Listeria monocytogenes*, **e)** *Pseudomonas aeruginosa* y **f)** *Escherichia coli*

En una placa de 96 pozos se colocaron 100  $\mu$ L de cada una de las diluciones del extracto más 10  $\mu$ L de la suspensión bacteriana, previamente ajustada a 0.5 McFarland (Remel, R20421,

Lenexa, KS,USA). Una vez realizada la inoculación, la placa se incubó a 37 ° C durante 24 horas a 70 rpm en agitación constante, el control positivo fue Kanamicina (AppliChem 4K10421) a concentraciones de 64, 32, 16, 8.0, 4.0, 2.0, 1.0 y 0,5 µg / mL y el control negativo fue caldo nutritivo.

Para la determinación de la CMI se utilizó un método colorimétrico, basado en el uso de sales de tetrazolio. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se añadió a cada pocillo 20 µL de una solución al 0,04% (p/v) de *p*-yodonitrotetrazolio; se incubó durante 30 minutos a 37 ° C y se realizó la lectura, la CMI se determinó aquella concentración a la que la solución cambia a una coloración rosa.

Para determinar la CMB, previo a colocar el *p*-yodonitrotetrazolio, se colocaron 5 µL de cada pocillo en agar Mueller Hinton, se incubaron a 37 ° C durante 24 horas, pasado el tiempo de incubación, se realizó la lectura para determinar la CMB del extracto, el cual será la concentración más baja del extracto al que mata al 99.9% de la población bacteriana inicial y donde no se observará crecimiento visible de las bacterias en las placas.

Para determinar si los compuestos evaluados presentaban un efecto bactericida o bacteriostático, se obtuvo la relación entre al CMB y CMB, un valor igual o menor a 4 el extracto presenta una actividad bactericida, por el lado contrario si el valor es igual o mayor a 4 indica una actividad bacteriostática (Djihane *et al.*, 2017) .

#### 7.4 Actividad antiinflamatoria

##### 7.4.1 Animales

Se utilizaron 20 ratones CD1 machos de 8 a 10 semanas de edad, con un peso aproximado de 25-30 g, proporcionados por el bioterio de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Al término del tratamiento los animales se sacrificaron por dislocación cervical.

Los ratones se agruparon al azar en lotes de 4 animales los cuales se mantuvieron en condiciones normales de laboratorio: 22 °C ± 3 °C, humedad 70% ± 5%, 12 h de luz/oscuridad ciclo, alimento y agua *ad libitum*. Se mantubieron un día bajo la condiciones del laboratorio, previo a la realización del experimento para su adaptación.



El procedimiento fue realizado bajo los lineamientos establecidos por el Bioterio del ICSa, UAEH, basados en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio y el protocolo fue aprobado por el Comité Institucional de Lineamientos Éticos para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (Folio: CICUAL/010/021).

#### 7.4.2. Extractos a evaluar

Para esta determinación se utilizó el extracto hidroalcohólico al 60% y las fracciones obtenidas por acetonitrilo del fruto de *Vaccinium leucanthum*.

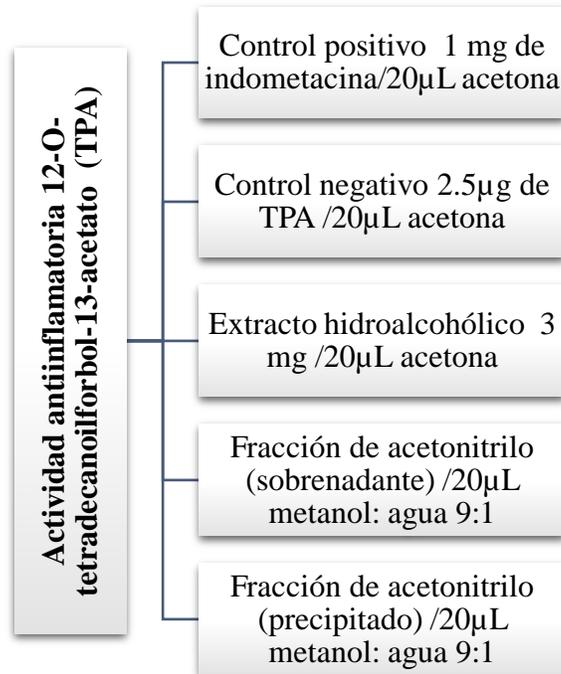
#### 7.4.3. Determinación de la actividad anti-inflamatoria *in vivo*

Para la determinación de la actividad anti-inflamatoria *in vivo* del extracto hidroalcohólico y las fracciones de acetonitrilo (3 mg/oreja) se utilizó el método descrito por Rivero-Pérez y colaboradores en 2016, mediante un modelo de inflamación aguda inducida en la oreja de los ratones con 2.5 µg de 12-*O*-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) administrado por vía tópica.

#### 7.4.4 Bioensayo *in vivo*

Se consideró un grupo por tratamiento a evaluar con 4 ratones cada uno, de acuerdo con la figura 5.





**Figura 5.** Grupos de tratamiento para la evaluación de la actividad anti-inflamatoria.

Los ratones fueron anestesiados vía intraperitoneal con una mezcla de Ketamina (100 mg/kg) y Xilacina (10 mg/kg), la cual tuvo un tiempo de acción de 10 a 15 min aproximadamente. Una vez que el ratón se encontraba anestesiado, se aplicaron los tratamientos de manera tópica con una micropipeta, 20 µL de cada tratamiento sobre la superficie interna y externa de la oreja izquierda del ratón (10 µL/lado).

Seis horas después de la aplicación del agente irritante (TPA), los animales fueron sacrificados y se obtuvo un segmento circular de aproximadamente 6 mm de diámetro de las orejas tratadas (t) y no tratadas (nt), con la ayuda de una pinza de un orificio y colocados en tubo eppendorf previamente tarado, se realizó el pesaje de cada muestra para determinar la diferencia de pesos de las secciones obtenidas para finalmente determinar el % de inhibición mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = (\text{control } \Delta w - \text{tratamiento } \Delta w / \Delta w) \times 100$$

Donde  $\Delta w = wt - wnt$ , siendo wt el peso de la sección de la oreja tratada y wnt el peso de la sección de la oreja no tratada.

Los cadáveres fueron remitidos al almacén temporal de RPBI's del Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

## 7.5 Contenidos de compuestos fenólicos totales

### 7.5.1. Fenoles totales

El método Folin-Ciocalteu es utilizado para la determinación de compuestos fenólicos totales (CFT) el cual se realizó de acuerdo con lo descrito por Georgé *et al* (2005). El reactivo de Folin-Ciocalteu es una mezcla de los ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico, de coloración amarilla la cual reacciona con los compuestos fenólicos a un pH alcalino otorgado por la presencia de carbonato de sodio, al ocurrir la reacción, se presenta una coloración azul, dada por la reducción del reactivo a óxidos de tungsteno y molibdeno, la cual puede ser medida a 765 nm.

Se disolvió 0.1 gramos (100mg) del extracto liofilizado en 10 mL de etanol puro, posteriormente se centrifugaron por 10 minutos a 500 rpm. A continuación, se tomaron 0.5 mL de sobrenadante y se vertieron 0.5 mL de solución de Folin-Ciocalteu (1:10 en agua desionizada). Los tubos se dejaron reposar por 2 minutos, posterior a eso se agregó 1.5 mL de solución de carbonato de sodio al 7.5%. Las muestras se agitaron en vórtex y se dejaron reaccionar a temperatura ambiente durante 30 min, para posteriormente realizar la lectura de absorbancia a  $\lambda$  de 765 nm (Espectrofotómetro marca Génesis). Los resultados se reportaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por 1 g de extracto (mg EAG/ g).

### 7.5.2 Flavonoides

La cantidad de flavonoides se estimó según Zhishen *et al.*, (1999). Se utilizó 0.5 mL de la muestra diluida en etanol con 4 mL de agua destilada, a la solución obtenida se le agregó 0.3 mL de nitrito de sodio al 5%, se dejó reaccionar durante 5 min, transcurrido el tiempo se adicionó 0.3 mL de tricloruro de aluminio al 10% y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 6 min, después se agregó 2 mL de hidróxido de sodio 1 M, se aforó con agua destilada a 10 mL.



Se leyó a una absorbancia a 510 nm. Las lecturas de esta variable fueron leídas en la curva de calibración preparada con quercetina (10mg/100mL). Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de quercetina por 1 g de extracto (mg EQ/ g).

### 7.5.3 Antocianinas totales

Para la determinación de antocianinas se empleó el método de pH diferencial (Giusti & Wrolstad, 2001). Las antocianinas sufren transformaciones estructurales reversibles con un cambio en el pH. Este método de pH diferencial se basa en esta reacción y permite la medición precisa y rápida de antocianinas monoméricas, incluso en la presencia de pigmentos degradados y otros compuestos de interferencia.

Se prepararon reactivos de cloruro de potasio a 0.025 M (pH de 1.0) y buffer de sodio a 0.4 M (pH de 4.5). Se tomaron 500 µL el sobrenadante de la muestra y se vertieron en 2 tubos de plástico con capacidad de 15 mL con los reactivos: el tubo No. 1 con 4.5 mL de cloruro de potasio y en tubo 2 con 4.5 mL de acetato de sodio. Posteriormente, se agitaron en vórtex para dejarlos en reposo a 25 °C durante 15 min. Se tomaron 200 µL de cada tubo para su lectura. La absorbancia se midió a 510 nm y 700 nm (Espectrofotómetro marca Génesis) para ambos tubos, en donde se empleó la siguiente ecuación para el cálculo de antocianinas:

$$\text{Antocianinas totales (mg/L)} = (A * MW * DF * 10,000) / (\epsilon * Tc)$$

Donde:

A = absorbancia de la resta entre valores (510–700 nm) correspondiente a cloruro de potasio menos la absorbancia de la resta de valores (510–700 nm) de acetato de sodio, MW = tamaño de la molécula de cianidina-3-glucósido (449.2 g/mol),

DF= factor de dilución (1:100),

$\epsilon$ = coeficiente de absortividad molar (26,900 L/cm/mg), Tc= tamaño de la celda de la microplaca (1 cm).

Los resultados se reportaron como miligramos de 3-*O*-glucósido de cianidina por 1 g de extracto (mg 3-*O*-glucósido de cianidina/g).



## 7.6 Actividad antioxidante

### 7.6.1. Determinación de actividad antioxidante por ABTS<sup>•+</sup>

La determinación de actividad antioxidante por ABTS<sup>•+</sup> se realizó de acuerdo con el método propuesto por Re *et al.* (1999), la cual implica la reacción entre ABTS<sup>•+</sup> y el persulfato de potasio produciendo el cromóforo ABTS<sup>•+</sup> verde-azul. La adición de los antioxidantes al radical preformado lo reduce a ABTS<sup>•+</sup>.

Se preparó una solución de ABTS<sup>•+</sup> al 7 mmol/L con persulfato de potasio al 2.45 mmol/L, se dejó reaccionar durante 16 h en completa oscuridad a temperatura ambiente, transcurrido el tiempo, se diluyó en el solvente (proporción 1:15) hasta obtener una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$ . Se realizaron una curva estándar, de etanol con Trolox (10mg/100mL).

Se tomaron 100  $\mu$ L (0.1 ml) de la muestra en viales se le agregó 3.9 mL de solución ABTS<sup>•+</sup> previamente diluida con agua desionizada, se agitó el vial por vórtex y se dejó reposar durante 7 min, posteriormente se midió la absorbancia a 734 nm (Espectrofotómetro marca Génesis). Se utilizó etanol como blanco. Los resultados se expresaron como micro mol equivalentes de Trolox por 1 g de extracto ( $\mu$ mol ET/ g).

### 7.6.2. Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH<sup>•</sup>

Para la determinación de actividad antirradical se empleó el método DPPH<sup>•</sup> (Morales & Jiménez-Pérez, 2001), el cual, es un radical libre estable que en una solución etanólica presenta una coloración violeta intenso, sí a esta solución se le agrega una sustancia susceptible de atrapar radicales libres (Trolox), el electrón no apareado del DPPH se aparea e inmediatamente presenta una decoloración que puede ir hasta un tono amarillo.

Para realizar el procedimiento, se tomaron 300  $\mu$ L de la muestra diluida y 2.7 mL de la solución de DPPH<sup>•</sup> ajustado a una absorbancia de  $0.7 \pm 0.02$ , se agitaron en vórtex y se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 60 min, transcurrido el tiempo se realizó la lectura una absorbancia de 517 nm. Se utilizó etanol como blanco. Los resultados se expresaron como micro mol equivalentes de Trolox por 1 g de extracto ( $\mu$ mol ET/g).



### 7.7 Análisis de resultados

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, mediante un análisis de varianza (ANOVA), y una prueba de comparaciones múltiples de Tukey con una  $P \leq 0.05$  mediante el programa estadístico de SPSS System for Windows versión 9.



## VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1 Evaluación fisicoquímica del fruto de *Vaccinium leucanthum*

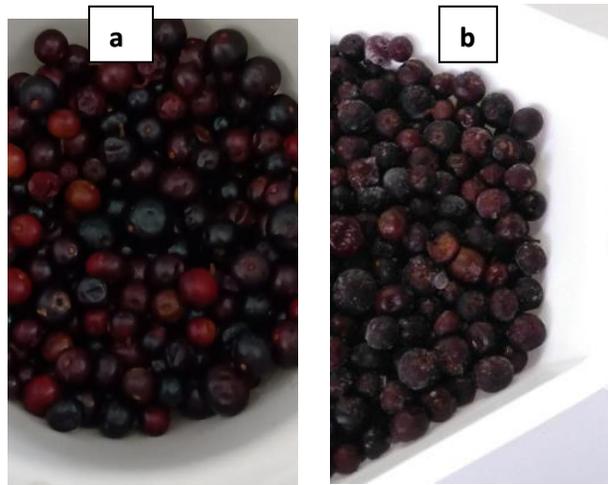
En la tabla uno se observa los resultados obtenidos de la evaluación fisicoquímica del fruto *Vaccinium leucanthum*.

El peso registrado del cahuiche fue de  $340.91 \pm 10.52$  mg y su medida transversal y longitudinal fue de  $8.71 \pm 0.82$  mm y  $7.75 \pm 0.94$  mm, respectivamente. Estas proporciones fueron mayores a lo reporta por Sánchez en 2019, el cual realizó una evaluación del fruto *Vaccinium leucanthum* obtenido de la región de Huasca de Ocampo en el estado de Hidalgo obteniendo para sus frutos un peso de  $180.0 \pm 12.68$  mg y un diámetro de  $6.75 \pm 0.42$  mm, estas variabilidades se pueden atribuir a los factores genéticos, fisiológicos, agronómicos y ambientales (Villací, & Minoshka 2016).

#### 8.1.1 Color.

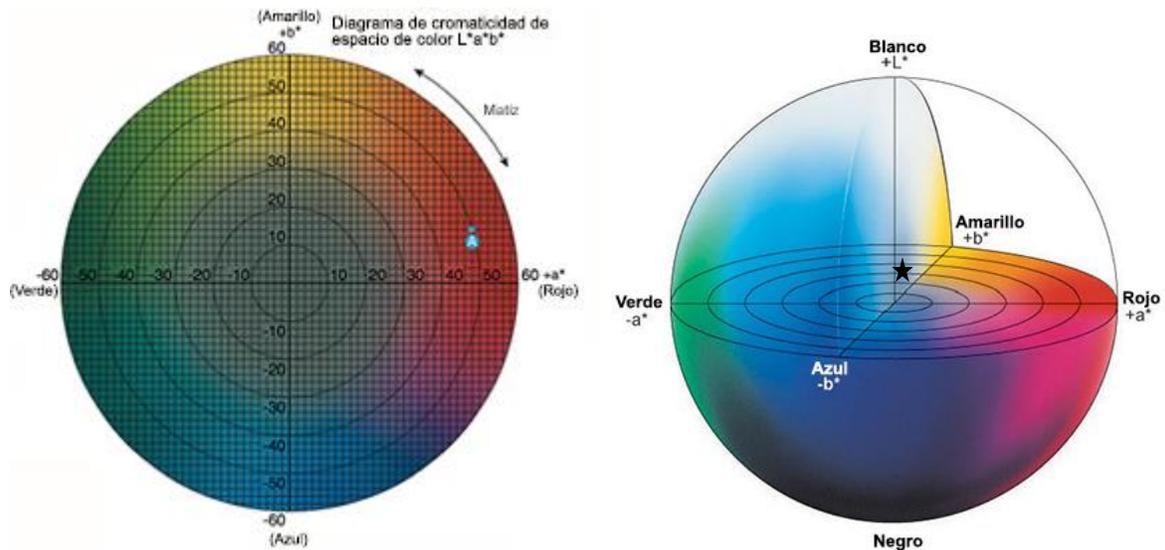
En el espacio de color CIEL\*  $a^*$   $b^*$  el parámetro L indica la luminosidad o brillo, por lo que el color del cahuiche obtenido en la región de Huasca de Ocampo resultó ser más luminoso que el que se obtuvo en Omitlán de Juárez (figura 6). En la figura 7 se observan los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  son las coordenadas cromáticas mostrando resultados positivos en ambos frutos, siendo mayor el valor encontrado en cahuiche de Huasca en la coordenada  $a^*$ , no así para la coordenada  $b^*$  la cual muestra un valor mayor en el de Omitlán. Los valores positivos indican una tonalidad roja y valores negativos indican una coloración verde para el del parámetro  $a^*$  y de amarillo al azul del positivo al negativo respectivamente para el parámetro  $b^*$ .





**Figura 6.** Imágenes del fruto *V. leucanthum* (cahuiche) a) *V. leucanthum* Omitlan de Juarez ; b) *V. leucanthum* Huasca de Ocampo

El color de los frutos depende de la composición y concentración de compuestos fenólicos, entre los que se encuentran las antocianinas, las cuales absorben a diferentes longitudes de onda, produciendo una gama de colores que va desde el amarillo naranja hasta el rojo y el azul (Li *et al.*, 2011; Zielinska & Michalska, 2016).



**Figura 7.** Coordenadas CIEL\* a\* b\* *V. leucanthum* (cahuiche) Omitlán de Juárez Hidalgo

### 8.1.2 Acidez titulable, Sólidos solubles totales y pH

La acidez titulable evalúa la concentración de total de ácidos contenidos en el fruto, el valor que se obtuvo en el fruto para *V. leucanthum* fue de  $1.28 \pm 0.11$  g/100 mL ácido cítrico. Por otra parte, los sólidos solubles totales determinan la cantidad de sacarosa disuelta en un líquido y junto con la acidez titulable nos indican un parámetro de maduración del fruto. El fruto utilizado en este experimento tuvo  $15.24 \pm 0.93$  °Brix y un valor de pH  $3.06 \pm 0.06$ . En cuanto a los parámetros evaluados los resultados obtenidos fueron mayores para acidez titulable y similares para sólidos solubles totales y pH a los reportados por Sánchez en 2019 con valores de  $1.06 \pm 0.02$ ,  $14.67 \pm 0.38$  y  $3.08 \pm 0.10$  respectivamente para *V. leucanthum* Huasca de Ocampo Hidalgo.

Estas variaciones encontradas se pueden deber a que la composición y la funcionalidad de los frutos se encuentra influenciada por la variedad, las condiciones del medioambiente y el estado de su madurez (Vázquez *et al.*, 2012).

**Tabla 1.** Peso, eje transversal y longitudinal, color, acidez titulable, sólidos solubles totales y pH del fruto *Vaccinium leucanthum* Omitlán de Hidalgo México

Parámetros	<i>Vaccinium leucanthum</i>
Peso	$340.91 \pm 10.52$ mg
Longitud	$7.75 \pm 0.94$ mm.
Color	
L*	$26.46 \pm 2.99$
a*	$3.01 \pm 0.85$
b*	$21.08 \pm 3.60$
Sólidos solubles (°Brix)	$15.24 \pm 0.93$
pH	$3.06 \pm 0.06$
Acidez titulable (g/100 mL Ácido cítrico)	$1.28 \pm 0.11$

Los resultados se expresan como promedio (n=3).



## 8.2. Actividad antibacteriana

Los resultados obtenidos en la CMI de los extractos hidroalcohólicos de *Vaccinium leucanthum* indican que los extractos la capacidad para inhibir el crecimiento bacteriano y matar a las bacterias a diferentes concentraciones, con diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida del extracto hidroalcohólico del fruto y hoja de *Vaccinium leucanthum* (cahuiche) (mg/mL).

Bacteria	Extracto hidroalcohólico fruto		Extracto hidroalcohólico hoja	
	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>Staphylococcus aureus</i>	12.5 <sup>ba</sup>	25 <sup>aA</sup>	12.5 <sup>ba</sup>	100 <sup>cB</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	12.5 <sup>ba</sup>	25 <sup>aA</sup>	12.5 <sup>ba</sup>	25 <sup>aA</sup>
<i>Salmonella typhi</i>	3.12 <sup>aA</sup>	100 <sup>ba</sup>	12.5 <sup>bB</sup>	100 <sup>cA</sup>
<i>Salmonella choleraesuis</i>	50 <sup>cB</sup>	100 <sup>ba</sup>	6.25 <sup>aA</sup>	100 <sup>cA</sup>
<i>Escherichia coli</i>	3.12 <sup>aA</sup>	200 <sup>cA</sup>	6.25 <sup>aB</sup>	200 <sup>dA</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12.5 <sup>ba</sup>	25 <sup>aA</sup>	25 <sup>cB</sup>	50 <sup>bB</sup>

CMI (Concentración mínima inhibitoria), CMB (Concentración mínima bactericida). Los resultados se expresan como promedio (n=3). <sup>abc</sup> Letras distintas en cada columna representan diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ). <sup>ABC</sup> Letras distintas en cada fila representan diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ).

Con respecto a la actividad inhibitoria para *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre ambos extractos a una concentración de 12.5 mg/mL; para *Salmonella typhi* la mejor actividad se obtuvo con EHF (3.12 mg/mL) seguido del EHH (12.5 mg/mL); este último tuvo efecto similar contra



*Salmonella choleraesuis* con una concentración de 12.5 mg/mL siendo menos efectivo el EHF (50 mg/mL).

Para *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* se observó una mejor actividad inhibitoria por parte del EHF con una concentración de 3.12 y 12.5 mg/mL, seguido del EHH con 6.25 y 25 mg/mL respectivamente.

En estudios similares realizados por Côté y colaboradores en 2011, determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias sobre *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* y *S. typhi* para un extracto hidrometanolicos (metanol:agua 85:15 v/v) de *Vaccinium oxycoccus* (arándano rojo) a 20 mg/mL y 40 mg/mL; sin embargo fue mejor el efecto obtenido en este trabajo para los extractos de fruto y hoja de *V. leucnathum* sobre las mismas bacterias. Para el caso de *P. aeruginosa* solo el EHF presentó la actividad antibacteriana a una concentración menor de la reportada por los autores mencionados (20mg/mL); para la hoja se requirieron 5 mg/mL más de EHH para la obtención del mismo efecto que del extracto de *Vaccinium oxycoccus*.

Martínez-Alemán y colaboradores (2019)Martínez-Alemán y colaboradores (2019) reportaron un efecto inhibitorio para *S. aureus*, *L. monocytogenes* y *S. typhi* a una concentración de 54.95 mg/mL para el extracto acuoso de la pulpa de café, en el cual se determinó la presencia de ácidos orgánicos como el ácido cafeico, ácido clorogénico y ácido ferúlico, estando los dos primeros presentes en el EHF de *V. leucnathum* de acuerdo a lo reportado por Sánchez-Franco y colaboradores en 2019.Sánchez-Franco y colaboradores en 2019.

Por otra parte, Junqueira-Gonçalves y colaboradores (2015) encontraron actividad antibacteriana sobre *S. aureus* y *E. coli* para el extracto metanólico de *Ugni molinae* (Murta) a una concentración de 100 mg/mL, en el cual se encuentra presente el ácido cafeico y antocianinas como la 3-O-glucósido de cianidina, presente también en el EHF de *V. leucnathum*.

Además, en 2020 EscobarEscobar determinó un efecto antibacteriano para los extractos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) y *Vaccinium floribundum* (mullaca) sobre



*Staphylococcus aureus* a 500 y 750 mg/mL, siendo estas concentraciones mayores a las determinadas en el presente estudio.

Con respecto a la Concentración Mínima Bactericida para *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* no se observaron diferencias estadísticas ( $P \leq 0.05$ ) sobre ambas bacterias; mientras que el EHH tuvo un CMI sobre *L. monocytogenes* de 25 mg/mL y un efecto inhibitorio cuatro veces menor sobre para *S. aureus* (100 mg/mL).

En cuanto al efecto bactericida de los extractos sobre *S. typhi* y *S. choleraesuis* se obtuvo a una concentración de 100 mg/mL para ambos extractos sin mostrar diferencias estadísticas significativas ( $P \leq 0.05$ ); sin embargo, para *E. coli* la CMB fue de 200 mg/mL sin presentar diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ) entre ambos extractos (fruto y hoja). Al respecto Mattos-Campos en 2020 determinó una CMB a 100 mg/mL para el extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum*, resultado similar a la obtenido para el extracto de la fruta de *V. leucanthum* para *E. coli*.

Por otra parte, para *P. aeruginosa* el extracto del fruto presentó su mejor actividad a una concentración de 25 mg/mL, seguido del extracto de la hoja con 50 mg/mL, un estudio realizado por Silva y colaboradores en 2013 encontró una CMB mayor a 50 mg/mL para el extracto acuoso de la fruta de *V. corymbosum* sobre *P. aeruginosa*.

Para determinar el efecto neto de los extractos sobre las bacterias, se determinó el coeficiente de la relación CMI y CMB (Tabla 3).



**Tabla 3.** Relación de CMB/CMI de los extractos hidroalcohólicos del fruto y la hoja de *Vaccinium leucantum* (cahuiche).

Bacteria	Relación CMB/CMI		Relación CMB/CMI	
	EHF	Interpretación	EHH	Interpretación
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	Bactericida	8	Bacteriostático
<i>Listeria monocytogenes</i>	2	Bactericida	2	Bactericida
<i>Salmonella typhi</i>	32	Bacteriostático	8	Bacteriostático
<i>Salmonella choleraesuis</i>	2	Bactericida	16	Bacteriostático
<i>Escherichia coli</i>	64	Bacteriostático	32	Bacteriostático
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	Bactericida	2	Bactericida

EHAH (Extracto hidroalcohólico de la fruta), EHAH (Extracto hidroalcohólico de la hoja), CMI (Concentración mínima inhibitoria), CMB (Concentración mínima bactericida). Los resultados se expresan como promedio (n=3). Letras distintas en cada columna representan diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ).

El EHF tuvo una actividad bactericida para *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. choleraesuis* y *P. aeruginosa* y bacteriostático para *S. typhi* y *E. coli*; mientras que el EHH mostró actividad bactericida contra *L. monocytogenes* y *P. aeruginosa* y bacteriostática para *S. aureus*, *S. choleraesuis*, *S. typhi* y *E. coli*.

Efectos similares fueron reportados para un extracto de *Vaccinium corymbosum* sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* por Reyes en 2019. A pesar de que los resultados no son comparables en su totalidad debido a la diferencia de técnicas utilizadas y especie, dichos resultados confirman la actividad antibacteriana, de extractos obtenidos de especies del género *Vaccinium*.

En un estudio previo se reportó la composición química de extracto hidroalcohólico de *Vaccinium leucantum*, determinado como compuesto mayoritario al ácido



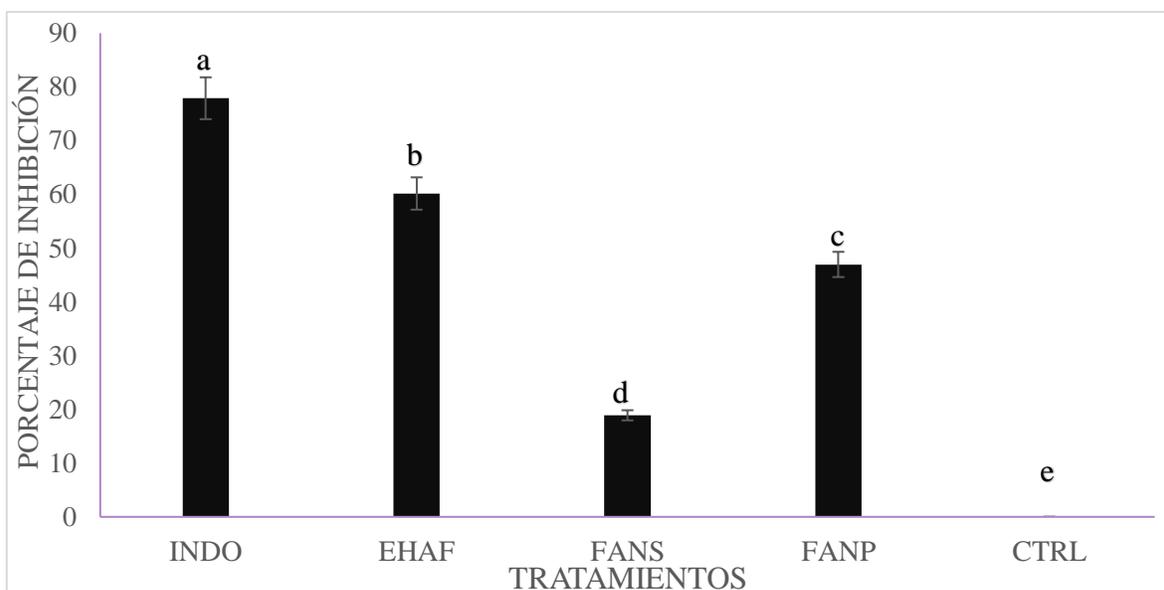
clorogénico(Sánchez-Franco *et al.* , 2019). Al respecto, Lou y colaboradores en 2011 reportaron que este compuesto posee un efecto antibacteriano ya que es capaz de interactuar con la membrana de la bacteria modificando el tamaño de poro y el consiguiente aumento de la permeabilidad de esta, permitiendo así la salida de  $K^+$  y nucleótidos. Además, el autor sugiere que las sustancias aniónicas podrían eliminar los cationes divalentes de los sitios de unión de los lipopolisacáridos dañando la función y estructura de membrana, primero interrumpiendo la permeabilidad de la membrana y luego despolarizándola. En el mismo sentido, Llivisaca y colaboradores en 2018 refieren que estos compuestos fenólicos contienen grupos hidroxilo que pudieran inhibir la actividad de las enzimas, alterando el metabolismo de la prolina en *L. monocytogenes*, causando la inhibición o muerte del microorganismo.

Finalmente, de acuerdo con la lista de patógenos multirresistentes a antimicrobianos prioritarios para la OMS, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli* se encuentran en los grupos de prioridad crítica y grupo, razón por la cual este organismo ha expresado su interés para el desarrollo de nuevas alternativas de tratamiento, en este sentido, el EHH al exhibir efectos bactericidas sobre dichos patógenos representa una alternativa viable de tratamiento(OMS, 2017).

### 8.3. Actividad anti-inflamatoria

En la figura número ocho se observa el porcentaje de inhibición que se obtuvo mediante la aplicación del modelo de inflamación inducido por TPA en oreja de ratón.





**Figura 8.** Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico y fracciones de *Vaccinium leucanthum* Omitlán Hidalgo, México. Indo (indometacina), EHAF (Extracto hidroalcohólico de la fruta), FANP (Fracción de acetonitrilo precipitado), FANS (Fracción de acetonitrilo sobrenadante) y CTRL (Grupo control). Los resultados se expresan como promedio (n=4)  $\pm$  desviación estándar Letras distintas en cada barra representan diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ) de acuerdo con la comparación de medias de Tukey.

Como se muestra en la figura existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, teniendo un mayor porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico del fruto integro en comparación con las fracciones menos complejas, lo que nos indica que existe una relación aditiva entre los compuestos obtenidos en las fracciones (García & Moreno, 1998). Sin embargo, el extracto integro no fue mayor que el efecto obtenido con el control la indometacina.

No se encontraron reportes del efecto anti-inflamatorio de extractos obtenidos de partes áreas o frutos de plantas del género *Vaccinium* en el modelo de inflamación inducida en oreja de ratón por TPA; sin embargo, Torri y colaboradores en 2010 determinaron la actividad anti-inflamatoria del extracto hidroalcohólico de *V. corymbosum* en edema inducido por carragenina en pata de rata, encontrando un 65.9% de inhibición a una dosis de 300 mg/kg. Recientemente, Vilickyte y colaboradores (2022) determinaron la actividad anti-

inflamatoria de fracciones ricas en proantocianidinas triméricas y diméricas del extracto acetona acuosa al 70% de *Vaccinium vitis-idaea* sobre la producción de peróxido de hidrógeno por los macrófagos.

De acuerdo con lo reportado por Sánchez-Franco y colaboradores en el 2019, el extracto hidroalcohólico de *V. leucantum* posee ácidos orgánicos como el cafeico, ferúlico, gálico y clorogénico, así como las antocianinas 3-*O*-glucósido de cianidina, 3-*O*-glucósido de petunidina y 3-*O*-glucósido de malvidina. Algunos de estos compuestos han demostrado efecto anti-inflamatorio.

Por ejemplo, BenSaad y colaboradores en 2017 reportaron que el ácido gálico, obtenido de la granada a 200 µg/mL disminuye la producción de óxido nítrico (ON), prostaglandina E2 (PGE-2 ) e interleucina-6 (IL-6) inducidas por lipopolisacárido (LPS) en las células RAW264.7, en 75, 85 y 100%, respetivamente. Además, Kroes y colaboradores en 1992 encontraron que este compuesto interfiere en el funcionamiento de los leucocitos polimorfonucleares y la actividad de la mieloperoxidasa, la cual presenta una actividad catalítica mediante la formación del hipoclorito (HClO<sup>-</sup>) el cual es un potente oxidante, halogenate proteico teniendo entre otras actividades las bactericidas (Sierra *et al.*, 2006) ; así como también en la eliminación de aniones superóxido y una posible interferencia en la unión de la NADPH-oxidasa activa, dicho efecto es atribuido al grupo *o*-dihidroxilo del ácido gálico.

Así mismo, el ácido cafeico administrado vía tópica (15 mg/kg) a cobayos con pulpitis, redujo el proceso inflamatorio con una disminución de la infiltración de macrófagos y neutrófilos. El ácido cafeico es conocido por su efecto inhibidor de la lipooxigenasa disminuyendo los metabolitos del ácido araquidónico (Morones *et al.*, 2016).

Otro compuesto con importante efecto anti-inflamatorio es el ácido clorogénico (AC). En este sentido, Shin y colaboradores en 2017, evaluaron el efecto anti-inflamatorio del AC en células intestinales humanas e informaron que las propiedades anti-inflamatorias de esta molécula están asociadas a la presencia de núcleos de catecol en su estructura. Además, se ha reportado que este compuesto disminuye la expresión de ARNm de la proteína



inflamatoria de macrófagos 2 (MIP-2, un homólogo de IL-8 de ratón) en un modelo de colitis inducida por sulfato de sodio. Dicha inhibición se debe a la activación de la vía de señalización de IL-8 y PKD-IKK-NFκB mediante la eliminación de ROS intracelulares (Naveed *et al*, 2018).

En otro orden de ideas, diversos reportes han evidenciado el efecto anti-inflamatorio de antocianinas. Por ejemplo, Zanhg y colaboradores (2020) determinaron la actividad anti-inflamatoria de antocinidinas obtenidas de *Vaccinium myrtillus* (arándano silvestre) y *Ribes nigrum* (grosellero negro) a través de su administración oral (360 mg/día) a pacientes con dislipidemia. En este estudio se encontró que las antocianidinas causaron la disminución de IL-6 y NF-α (de  $2.34 \pm 0.19$  pg/mL a  $1.06 \pm 0.18$  pg/mL y  $6.39 \pm 0.55$  nmol/mL a  $4.92 \pm 0.53$  nmol/L, respectivamente). En el mismo año Jian y colaboradores, determinaron la actividad anti-inflamatoria de una fracción rica en antocianinas unidas a proteína obtenidas de la papa morada en un modelo de macrófagos RAW264.7 inducidos por lipopolisacáridos, y encontraron que a una concentración de 200 µg/mL dicha fracción redujo en 53.3% la producción de ON y en 30.8% el α-TNF. Además, recientemente Pattananandecha y colaboradores (2021) determinaron la actividad anti-inflamatoria de un extracto rico en antocianinas obtenido de arroz morado sobre células macrófagas murinas RAW 264.7 activadas con lipopolisacárido e interferón-γ. El extracto fue capaz de suprimir la producción de óxido nítrico ( $CI_{50} = 18.32 \pm 0.82$  µg/mL) e inhibir a la óxido nítrico sintasa ( $CI_{50} = 23.43 \pm 1.21$  µg/mL).

Finalmente, por el modelo utilizado para evaluar la actividad anti-inflamatoria en este trabajo, los compuestos activos presentes en el extracto hidroalcohólico del fruto de cahuiche pudieran actuar en la fase aguda del proceso inflamatorio inhibiendo la síntesis de prostaglandinas y leucotrieno actuando en las enzimas implicadas en la producción de estos mediadores las ciclooxigenasas (Rivero *et al.*, 2016).



## 8.4. Compuestos bioactivos

Los valores obtenidos de fenoles, flavonoides y antocianinas de los extractos y sus fracciones de *Vaccinium* se presentan en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Compuestos bioactivos (fenoles totales, flavonoides y antocianinas) del fruto *V. leucanthum*. Omitlán de Juárez Hidalgo.

Parámetros	EHAF	FANP	FANS	EHAH
<b>Fenoles totales</b> (mg EAG/ g de extracto)	77.40 ± 0.64 <sup>b</sup>	51.16 ± 0.08 <sup>d</sup>	58.19 ± 0.49 <sup>c</sup>	88.14 ± 0.50 <sup>a</sup>
<b>Flavonoides</b> (mg EQ/ g de extracto)	43.37 ± 0.25 <sup>b</sup>	30.20 ± 0.33 <sup>d</sup>	42.36 ± 0.25 <sup>c</sup>	63.46 ± 0.08 <sup>a</sup>
<b>Antocianinas</b> (mg 3-glucósido de cianidina /g de extracto)	2.9 ± 0.30 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.16 <sup>b</sup>	0.20 ± 0.43 <sup>d</sup>	1.27 ± 0.39 <sup>c</sup>

Los resultados se expresan como promedio (n=3). Letras distintas en cada columna representan diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ) de acuerdo a la comparación de medias de Tukey. EHAF (Extracto hidroalcohólico de la fruta), FANP (Fracción de acetonitrilo precipitado), FANS (Fracción de acetonitrilo sobrenadante), EHAH (Extracto hidroalcohólico de la hoja).

### 8.4.1. Fenoles totales

En lo que corresponde al contenido de fenoles totales, el extracto del fruto de cahuiche presentó un contenido mayor que la hoja ( $77.40 \pm 0.64$  mg EAG/ g  $88.14 \pm 0.50$  mg EAG/g, respectivamente, además, los valores presentaron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

Estos compuestos fenólicos presentan varias funciones como se ha mencionado con anterioridad dentro las que se encuentran la capacidad antioxidante, anti-inflamatoria y antibacteriana (Gimeno, 2004).



Por otra parte, las variaciones en el contenido de compuestos fenólicos en la hoja y el fruto se pueden deber al mayor tiempo de exposición de la hoja que el fruto a factores que propicien al desarrollo de una mayor cantidad de compuestos bioactivos (Jiménez *et al.*, 2003).

#### 8.4.2 Flavonoides

La concentración de flavonoides totales fue de  $63.46 \pm 0.08$  mg EQ/ g para el EHH, seguido de  $43.37 \pm 0.25$  mg EQ/ g de EHF,  $30.20 \pm 0.33$  y  $42.36 \pm 0.25$  mg EQ/1 g; para las fracciones del extracto hidroalcohólico de la fruta los valores presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ).

A pesar de que se necesitan más estudios para establecer una ingesta diaria recomendada (IDR) para los flavonoides y para cada subclase de flavonoides, actualmente la IDR de flavonoides totales están entre 250-400 mg/día (Peluso & Palmery, 2015), por lo que el consumo del extracto del fruto de cahuiche contribuiría a un aporte significativo de estos compuestos.

#### 8.4.3 Antocianinas

En lo que a antocianinas totales se refiere los valores encontrados fueron estadísticamente significativos ( $P \leq 0.05$ ), siendo mayor el contenido en el extracto del fruto comparado con la hoja  $2.9 \pm 0.30$  y  $1.27 \pm 0.39$  mg 3-*O*-glucósido de cianidina/g, respectivamente).

En 2019 Sánchez-Franco y colaboradores determinaron la composición del extracto hidroalcohólico de *V. leucanthum* encontrando que este fruto es una rica fuente de los ácidos orgánicos y antocianinas. Los ácidos orgánicos presentes en el fruto de cahuiche son el ácido clorogénico, cafeico, *p*-cumárico y gálico, siendo este último el de mayor concentración en el extracto (2.19 mg/g). Mientras que, las antocianinas encontradas fueron 3-*O*-glucósido de malvidina, 3-*O*-glucósido de petunidina y 3-*O*-glucósido de cianidina; siendo esta última el compuesto de mayor contenido (3.26 mg/g).

Las antocianinas son estructuralmente dependientes de las características del medio donde se encuentran y se generan interacciones entre ellas o con otros compuestos que influye en su equilibrio químico y pueden ocasionar una modificación en su color. La copigmentación es



un proceso que consiste en el acoplamiento de una molécula orgánica denominada copigmento sobre las fracciones polarizables coloreadas de las antocianinas. Estos copigmentos pueden ser ácidos orgánicos, aminoácidos, nucleótidos, metales, compuestos fenólicos y proporciona estabilidad a la antocianina adoptando una configuración tipo sándwich mediante uniones tipo  $\pi$ - $\pi$  y OH- $\pi$  (Escribano-Bailon & Santos-Buelga, 2012)..

Con el objetivo de separar los ácidos orgánicos de las antocianinas contenidos en los extractos se realizó una resuspensión del EHF acetonitrilo y de esta manera lograr una modificación del momento dipolar y poder romper las uniones tipo  $\pi$ - $\pi$ , encargadas de la formación del complejo de copigmentación, gracias a las propiedades fisicoquímicas que presenta este enlace no covalente (Baranac *et al.*, 1996). De este modo se obtuvieron 0.595 g de la fracción soluble en acetonitrilo de color café denominada FANS y 20.45 g de un precipitado rojo (FANP).

Para corroborar la eficiencia de la separación y pérdida de los complejos de copigmentación, se cuantificó el contenido de antocianinas totales en ambas fracciones, encontrando que la FANS contenía una cantidad insignificante de estos compuestos ( $0.20 \pm 0.43$  mg 3-*O*-glucósido de cianidina/g); mientras que FANP tuvo un valor de  $1.5 \pm 0.16$  y  $1.27 \pm 0.39$  mg de 3-*O*-glucósido de cianidina por g. Estos resultados indicaron que FANP es una fracción rica en antocianinas, mientras que los ácidos hidroxicinámicos se quedaron el sobrenadante (FANS).

#### 8.5. Actividad antioxidante

De acuerdo con los valores obtenidos de actividad antioxidante para las determinaciones de DPPH $\bullet$  y ABTS $\bullet^+$  (tabla 5) podemos observar que el extracto de fruto de cahuiche presentó mayor actividad antioxidante para ABTS $\bullet^+$ , con un valor de  $160.70 \pm 0.30$  mg ET/g de extracto y mientras que EHH  $136.580 \pm 0.20$  mg ET/g de extracto fue más activo contra DPPH $\bullet$  siendo los resultados significativos ( $P \leq 0.05$ ).



Con respecto a las fracciones menos complejas, FANP tuvo mejor actividad sobre DPPH• y ABTS•<sup>+</sup> que la fracción suspendida (FANPS), con valores de  $88.80 \pm 0.82$  y  $68.28 \pm 0.90$  mg ET/g de extracto respectivamente.

El ensayo ABTS•<sup>+</sup> se basa en la generación de un ABTS•<sup>+</sup> azul/verde el cual es aplicable a sistemas antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos; mientras que el DPPH• utiliza un radical disuelto en medios orgánicos y por lo tanto es, aplicable a sistemas hidrofóbicos (Floegel *et al.*, 2011). De acuerdo con lo observado en la tabla 5, el mayor efecto sobre ABTS•<sup>+</sup> se observó para el EHAF, FANS, FANP; mientras que para DPPH• el EHAH fue el más efectivo. Esta actividad se puede deber a los compuestos presentes en el fruto (fenoles totales de  $77.40 \pm 0.64$  mgEAG/g, flavonoides  $43.3 \pm 0.25$ mgEQ/g y atocianinas de  $2.9 \pm 0.30$  mg de 3-*O*- glucósido de cianidina).

En este sentido Yen y colaboradores en 2002 determinaron la actividad antioxidante del ácido gálico a una concentración de 4.17 mM obteniendo un 43.9 % de efecto secuestrantes sobre el radicle DPPH• y una eliminación del 60 % sobre el peróxido de hidrógeno

Por otra parte, Naveed y colaboradores (2018) en una revisión sistemática reportaron el efecto antioxidante del ácido clorogénico de extractos obtenidos de *Hypericum hircinum L.* por la propiedad que presenta para atrapar radicales libres debido a la presencia de grupos hidroxilo que actúan como fracciones positivas para sus propiedades antioxidantes. Además, en un estudio publicado por Shin y colaboradores (2015), se informó que la secreción inducida por estrés de interleucina-8 (IL-8) y expresión de ARNm fue significativamente inhibida por el ácido clorogénico en un modelo de colitis inducida por sulfato de sodio.

El año siguiente (2019) Spagnol y colaboradores determinaron la actividad antioxidante del ácido cafeico mediante captura del anión radical superóxido; ensayo de blanqueo con crocina; capacidad de captura del ácido hipocloroso; capacidad de captación del ABTS•<sup>+</sup>/DPPH• con una concentración efectiva requerida para obtener el 50 % del efecto antioxidante (EC<sub>50</sub>, µg/mL) de 1.96 µg/mL para ABTS•<sup>+</sup>; 2.39 µg/mL para DPPH•, 0.37 µg/mL para SOD, 41.11 µg/mL para O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>, 1.64 µg/mL para ROO• y de de 0.84 µg/mL para HOCl/OCl<sup>-</sup>.



Finalmente, Wang y colaboradores (1999) encontraron que la 3-*O*-glucósido de cianidina obtenida de la cereza impedía la peroxidación lipídica. Huang y colaboradores (2016) observaron que la 3-*O*-glucósido de malvidina interfería en las reacciones de las especies reactivas del oxígeno. Asimismo, Nobre y colaboradores (2019) determinaron la actividad antioxidante del ácido gálico obtenido en semillas de trigo, el cual aumentó la vida de anaquel. Además, recientemente Pattananandecha y colaboradores (2021) determinaron la actividad antioxidante de antocianinas obtenidas de arroz morado observando un efecto sobre la peroxidación lipídica ( $CI_{50} = 19.70 \pm 0.31 \mu\text{g/mL}$ ), producción de aniones superóxido ( $IC_{50} = 11.20 \pm 0.25 \mu\text{g/mL}$ ) y sobre el radical  $ABTS^{\bullet+}$  ( $524.26 \pm 4.63 \text{ mg ácido ascórbico/g de extracto}$ ). Además, el extracto presentó niveles significativamente altos de 3-*O*-glucósido de cianidina, 3-*O*-glucósido de peonidina, 3-*O*-glucósido de delphinidina.

**Tabla 5.** Actividad antioxidante (DPHH• y  $ABTS^{\bullet+}$ ) del fruto *Vaccinium l.* Omitlán de Juárez Hidalgo reportados en mg ET/ g de extracto.

Parámetros	EHAF	FANP	FANS	EHAH
Actividad antioxidante $ABTS^{\bullet+}$	$160.70 \pm 0.30^a$	$88.80 \pm 0.82^d$	$68.28 \pm 0.90^c$	$121.94 \pm 0.09^b$
Actividad antioxidante DPPH•	$64.64 \pm 0.22^b$	$27.86 \pm 0.21^c$	$23.87 \pm 0.21^d$	$136.58 \pm 0.20^a$

Los resultados se expresan como promedio (n=3). Letras distintas en cada columna representan diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ) de acuerdo a la comparación de medias de Tukey. EHAF (Extracto hidroalcohólico de la fruta), FANP (Fracción de acetonitrilo precipitado), FANS (Fracción de acetonitrilo sobrenadante), EHAH (Extracto hidroalcohólico de la hoja).



## IX CONCLUSIONES

Los extractos hidroalcohólicos del fruto y la hoja del *Vaccinium leucantum* presentan actividad antibacteriana contra las seis bacterias evaluadas, teniendo un mayor efecto el extracto hidroalcohólico del fruto. El extracto hidroalcohólico del fruto presentó un mayor efecto anti-inflamatorio (60.7% de inhibición de la inflamación) comparado con sus fracciones de acetonitrilo; sin embargo, este efecto fue menor que el de la indometacina (77.9% II). Los extractos hidroalcohólicos de cahuiche tienen mayor contenido de fenoles, flavonoides en comparación con las fracciones con  $88.14 \pm 0.50$  y  $77.40 \pm 0.64$  mg EAG/g;  $63.46 \pm 0.08$  y  $43.37 \pm 0.25$  mg EQ/g para el extracto de la hoja y el fruto, respectivamente. El contenido de antocianinas totales fue mayor en el extracto de la fruta, seguido de la fracción de acetonitrilo precipitado. El extracto hidroalcohólico integro de la fruta y la hoja presentan una mayor capacidad antioxidante que la de las fracciones obtenidas del extracto hidroalcohólico del fruto; de las fracciones obtenidas la más activa la fracción de precipitado de acetonitrilo para DPPH $\cdot$  y ABTS $\cdot^+$ .

Los resultados sugieren que los extractos hidroalcohólicos de *Vaccinium leucantum* pueden ser una alternativa para prevenir el estrés oxidativo y el tratamiento de algunas enfermedades provocadas por bacterias que afectan a la salud humana. Considerando estas características podría ser llamado un alimento funcional; sin embargo, previo a su aplicación en modelos *in vivo* se requiere de pruebas de toxicidad



## X REFERENCIAS

- Aguilera Otíz, M., del Carmen Reza-Vargas, M., Chew Madinaveita, R. G., & Meza Velázquez, J. A. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Biotecnia*, 13(2), 16-22.
- Baranac J. M., Petranovic N. A., Dimitric-Markovic J. M. Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. 4. Malvin and apigenin 7-glucoside. *J Agric Food Chem*. 1997, 45, 1701-1703.
- Barreda, J. A. F. T. M. Á. V. B. A. L.-C. (2009). *Anatomía y fisiología del cuerpo humano*. Madrid: McGraw-Hill.
- BenSaad, L. A., Kim, K. H., Quah, C. C., Kim, W. R., & Shahimi, M. (2017). Anti-inflammatory potential of ellagic acid, gallic acid and punicalagin A&B isolated from *Punica granatum*. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 1-10.
- Bordés González, R., Martínez Beltrán, M., García Olivares, E., & Guisado Barrilao, R. (1994). El proceso inflamatorio.
- Bravo, M., & López-Ortega, A. (1998). Radicales Libres e inflamación. *Gaceta deficiencias veterinarias*, 4(2).
- Caballero Gutiérrez, L., & Gonzáles Gustavo, F. (2016). Alimentos con efecto anti-inflamatorio. 33(1), 50-64.
- Calva, E. (2012). Salmonella typhi y la fiebre tifoidea: de la biología molecular a la salud pública. Recuperado de: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap4>.
- Camps, C., Sánchez, P. T., & Sirera, R. (2006). Inmunología, estrés, depresión y cáncer. *Psicooncología*, 3(1), 35-48.
- Cartaya, O., & Reynaldo, I. J. C. t. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. 22(2), 5-14.



Chasquibol, N., Lengua, L., Delmás, I., Rivera, D., Bazán, D., Aguirre, R., & Bravo, M. J. R. P. d. Q. e. I. Q. (2003). Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. *6*(2), 9-20.

Cazar Villacís, Irina Minoshka (2016). *Análisis físico-químico para la determinación de la calidad de las frutas* (Bachelor's thesis, PUCE).

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (16 de julio 2021) *Microbios y enfermedades transmitidos por los alimentos*.

<https://www.cdc.gov/foodsafety/es/foodborne-germs-es.html>

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (9 mayo 20213) *La E. coli y la seguridad de los alimentos*

<https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/ecoli-and-food-safety.html>

Condori, M. B., Aro Aro, J. M., Muñoz Cáceres, A. E., & Rodríguez Mendoza, J. (2020). Determinación de antocianinas y capacidad antioxidante en extractos de (*Muehlenbeckia volcanica*). *Revista de Investigaciones Altoandinas*, *22*(2), 161-169.

Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. J. R. c. d. n. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *42*(2), 206-212.

Dávalos, J., Lomelí, M., López, F., Sahagún, A., Del Río, J. A., Medina, P. J. & Del-Toro-Sánchez, C. L. (2013). Screening fitoquímico y capacidad antiinflamatoria de hojas de *Tithonia tubaeformis*. *Biotecnia*, *15*(2), 53-60.

Djihane, B., Wafa, N., Elkhamssa, S., Maria, A. E., & Mihoub, Z. M. (2017). Chemical constituents of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don essential oil and their antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, filamentous fungi and *Candida albicans*. *Saudi Pharmaceutical Journal*, *25*(5), 780-787.

Corrales, L. C., & Muñoz Ariza, M. M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova*, *10*(18), 213-225.



- Côté, J., Caillet, S., Doyon, G., Dussault, D., Sylvain, J. F., & Lacroix, M. (2011). Antimicrobial effect of cranberry juice and extracts. *Food Control*, 22(8), 1413-1418.
- Escribano-Bailon, M., & Santos-Buelga, C. (2012). Anthocyanin copigmentation-evaluation, mechanisms and implications for the colour of red wines. *Current Organic Chemistry*, 16(6), 715-723.
- Estrada, H. A., González, K., & Medina, J. (2011). Actividad antiinflamatoria de productos naturales. *10(3)*, 182-217.
- Espino, G. (2014). Antocianinas: los otros pigmentos del reino vegetal. *Obtenido de <http://ubuscientia.blogspot.com.ar/2014/01/antocianinas-los-otros-pigmentos-del.html>*.
- Felipe, L. O., & Bicas, J. L. (2017). *Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. Química Nova na Escola*, 39(2), 120-130.
- Fernández-Tresguerres Hernández, J. A., López-Calderón Barreda, A., & Villanúa Bernúes, M. Á. (2009). *Anatomía y fisiología del cuerpo humano*. McGraw-Hill.
- Floegel, A., Kim, D.-O., Chung, S.-J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043–1048. doi:10.1016/j.jfca.2011.01.008.
- Flores, T. G., & Herrera, R. A. R. (2005). Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud pública de México*, 47(5), 388-390.
- Flores, T., & Herrera, R. (2005). Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud pública de México*, 47(5), 388-390.
- Frazier, W. C., Westhoff, D. C., & Vergés, M. R. (1993). Microbiología de los alimentos. In *Microbiología de los alimentos* (pp. 681-681) .



García, R. C., & Moreno, A. H. (1998). Utilidad de las asociaciones farmacológicas a dosis fijas. *Atención primaria: Publicación oficial de la Sociedad Española de Familia y Comunitaria*, 21(4), 240-244.

Georgé, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M. J. (2005). Rapid determinations of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(5): 1370-1373.

González Razo, F. d. J., Rebollar Rebollar, S., Hernández Martínez, J., Morales Hernández, J. L., & Abarca Ramírez, O. (2019). *Situación actual y perspectivas de la producción de berries en México*.

González-Chávez, A., Elizondo-Argueta, S., Gutiérrez-Reyes, G., & León-Pedroza, J. I. J. C. y. C. (2011). *Implicaciones fisiopatológicas entre inflamación crónica y el desarrollo de diabetes y obesidad*. 79(2), 209-216.

García, R. C., & Moreno, A. H. (1998). Utilidad de las asociaciones farmacológicas a dosis fijas. *Atención primaria: Publicación oficial de la Sociedad Española de Familia y Comunitaria*, 21(4), 240-244.

Gray, A. I., Igoli, J. O., & Edrada-Ebel, R. (2012). *Natural products isolation in modern drug discovery programs*. In *Natural Products Isolation* (pp. 515-534): Springer.

Gray, Satyajit D. Sarker L. A. (2006). *Natural Products Isolation* Totowa New Jersey: Humana Press.

Giusti, M., & Wrolstad, R. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. F1.2.1-F1.2.13.

Guzmán Maldonado Horacio S., Díaz Huacuz Rocío S., González Chavira Mario M. (2017) *Plantas medicinales la realidad de una tradición ancestral*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México D.F.



Guyton, A. C., Hall, J. E., & Moreno, M. J. (1971). *Tratado de fisiología médica: Interamericana México*.

Hariram Nile, S., & Won Park, S. J. M. (2013). *Optimized methods for in vitro and in vivo anti-inflammatory assays and its applications in herbal and synthetic drug analysis. Mini reviews in medicinal chemistry* 13(1), 95-100.

Hernández Cortez C., Aguilera Arreola M. G., Castro Escarpulli G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades infecciosas y microbiología*, 31(4), 137

Hernández Urzúa M. A. (2016). *Microbiología de los Alimentos: Panamericana México*.

Hoogesteger, C. (1994). *Uso de plantas medicinales*. Editorial Pax México.

Horna Quintana, G., Silva Díaz, M., Vicente Taboada, W., & Tamariz Ortiz, J. (2005). Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Revista Médica Herediana*, 16(1), 39-45.

Jiang, T., Zhou, J., Liu, W., Tao, W., He, J., Jin, W., ... Li, Y. (2020). *The anti-inflammatory potential of protein-bound anthocyanin compounds from purple sweet potato in LPS-induced RAW264.7 macrophages. Food Research International*, 109647. doi:10.1016/j.foodres.2020.109647

Jiménez, G. S., Ducoing, H. P., & Sosa, M. R. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista mexicana de fitopatología*, 21(3), 355-363.

Jiménez, C. I. E., Martínez, E. Y. C., & Fonseca, J. G. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 52(2), 73-75.

Jordá, Graciela B, Marucci, Raúl S, Guida, Adriana M, Pires, Patricia S, & Manfredi, Eduardo A. (2012). Carriage and characterization of Staphylococcus aureus in food handlers. *Revista argentina de microbiología*, 44(2), 101-104.



Juárez Rosete, C. R., Aguilar Castillo, J. A., Juárez Rosete, M. E., Bugarin Montoya, R., Juárez Lopez, P., & Cruz Crespo, E. J. C. (2013). Hierbas aromáticas y medicinales en México: tradición e innovación.

Junqueira-Gonçalves, M. P., Yáñez, L., Morales, C., Navarro, M., Contreras, R. A., & Zúñiga, G. E. (2015). Isolation and characterization of phenolic compounds and anthocyanins from murta (*Ugni molinae* Turcz.) fruits. Assessment of antioxidant and antibacterial activity. *Molecules*, 20(4), 5698-5713.

Kroes, B. V., Van den Berg, A. J. J., Van Ufford, H. Q., Van Dijk, H., & Labadie, R. P. (1992). Anti-inflammatory activity of gallic acid. *Planta médica*, 58(06), 499-504.

León-Pedroza, J. I., González-Tapia, L. A., del Olmo-Gil, E., Castellanos-Rodríguez, D., Escobedo, G., & González-Chávez, A. J. C. y. C. (2015). Inflamación sistémica de grado bajo y su relación con el desarrollo de enfermedades metabólicas: de la evidencia molecular a la aplicación clínica. 83(6), 543-551.

Leyton, M. R., & Majana, L. S. (2017). Consumo de frutas y verduras: Beneficios y retos Consumo de frutas y verduras. *Alimentos Hoy*, 25(42), 30-55.

Lira Saldivar Ricardo H. (2010). *Fisiología vegetal*. Editorial Trillas.

Llvisaca, S., Manzano, P., Ruales, J., Flores, J., Mendoza, J., Peralta, E., & Cevallos-Cevallos, J. M. (2018). Chemical, antimicrobial, and molecular characterization of mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) fruits and leaves. *Food science & nutrition*, 6(4), 934-942.

López-Carreras, N., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Propiedades beneficiosas de los terpenos iridoides sobre la salud.

López, V., Suárez, M., Chico-Calero, I., Navas, J., & Martínez-Suárez, J. V. (2006). *Listeria monocytogenes* en alimentos: ¿son todos los aislamientos igual de virulentos? *Revista argentina de microbiología*, 38(4), 224-234.



Lou, Z., Wang, H., Zhu, S., Ma, C., & Wang, Z. (2011). Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. *Journal of food science*, 76(6), M398-M403.

Madigan Michael T; Martinko Jonh M. Dunlap Paul V.; Clark David P. (2009). *Brock biología de microorganismos*. Pearson educación.

Martín Gordo, D. A. (2018). Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. *Revista De Investigación Agraria Y Ambiental*, 9(1), 81–104. <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>

Martínez-Alemán, S. R., Hernández- Castillo, F. D., Aguilar-González, C. N., & Rodriguez-Herrera R. (2019). Extractos de pulpa de café: Una revisión sobre antioxidantes polifenólicos y su actividad antimicrobiana. *Investigación y Ciencia: de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, (77), 73-79.

Martínez-Navarrete, N., Vidal, M. D. M. C., & Lahuerta, J. J. M. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad dietética*, 12(2), 64-68.

Massoc P, Alejandra. (2008). Enfermedades asociadas a los alimentos. *Revista chilena de infectología*, 25(5), 395-397.

<https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182008000500015>

Mattos Campos, Fernando N. G. (2020). Susceptibilidad in vitro de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae al extracto acuoso de Vaccinium corymbosum (Arándano azul).

Mohammed, Mona S., Osman, Wadah. J., Garelnabi, Elrashed A., Osman, Zuheir Osman Bashier, Khalid, Hassan S., & Mohamed Magdi A. J. (2014). Secondary metabolites as anti-inflammatory agents. 3(4), 275-285.



Moharram, H. A., & Youssef, M. M. (2014). Methods for determining the antioxidant activity: a review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 11(1), 31-42.

Montes Flores, M. A. Efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium floribundum* Kunth (MULLACA) sobre la inflamación inducida por carragenina en *mus musculus* var. *Albinus*.

Morales-Ubaldo, A., Hernández-Alvarado, J., Valladares-Carranza, B., Velázquez-Ordoñez, V., Delgadillo-Ruiz, L., Rosenfeld-Miranda, C., & Zaragoza-Bastida, A. (2020). Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico *Croton draco* sobre bacterias de importancia sanitaria. *Abanico veterinario*, 10.

Morones Alba, J. D., Macías Hernández, S. I., Villanueva López, G. C., & Aragón Flores, M. (2016). Efecto antiinflamatorio del ácido cafeico sobre la pulpitis en un modelo experimental en Cobayos. *Revista ADM*, 73(5).

Muñoz Cumbal, K. A. (2021). *Revisión de la actividad farmacológica de las especies del género Vaccinium en enfermedades infecciosas* (Bachelor's thesis, Quito: UCE).

Muñoz, A., Ramos-Escudero, F., Alvarado-Ortiz, C., Castañeda, B. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Revista de la Sociedad Química del Perú*; 73(3), 142-149.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobials. 1999; M 26-A.

Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, M. & XiaoHui, Z. (2018). Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97, 67-74.

Núñez González, S. (2018). Diterpenos de *Azorella Compacta*: transformaciones químicas y actividad biológica. Disponible en <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/151832>



OMS (2017) La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Centro de Prensa Organización Mundial de la Salud <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.

OMS (2018) Listeriosis <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>

OMS (2018) Fiebre tifoidea <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/typhoid>

Organización Mundial de la Salud (2020) Resistencia a los antibióticos <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

Organización Panamericana de la Salud. Enfermedades no transmisibles: hechos y cifras. Washington, D.C. : OPS, (2019). <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51482>.

Organización Panamericana de la Salud. Enfermedades transmitidas por alimentos. Washington, D.C. : OPS,(2020). <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-transmitidasporalimentos#:~:text=La%20infecci%C3%B3n%20transmitida%20por%20alimentos,A%2C%20Trichinella%20spirallis%20y%20otros>.

Ortíz, M., Baca, P., Cadillo, M. G., Velázquez, J. A., & Rivera, J. R. (2013) Compuestos bioactivos en los alimentos. *Avances deficiencia y tecnología alimentaria en México*.

Paz-Zarza, V. M., Mangwani-Mordani, S., Martínez-Maldonado, A., Álvarez-Hernández, D., Solano-Gálvez, S. G., & Vázquez-López, R. (2019). Pseudomonas aeruginosa: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Revista chilena de infectología*, 36(2), 180-189.

Pattananandecha, T., Apichai, S., Sirilun, S., Julsrigival, J., Sawangrat, K., Ogata, F. & Saenjum, C. (2021). Anthocyanin Profile, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antimicrobial against Foodborne Pathogens Activities of Purple Rice Cultivars in Northern Thailand. *Molecules*, 26(17), 5234.



- Pérez, A. R. (2014). Biosíntesis de los glucosinolatos e importancia nutricional humana y funciones de protección a las plantas. *Alimentos hoy*, 22(31), 64-80.
- Pérez, J. R., & Núñez, V. M. M. (2007). Mini-revisión: Inflamación crónica y estrés oxidativo en la diabetes mellitus. *32(2)*, 58-69.
- Pérez-Urria Carril, E., & Ávalos García, A. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca*, 2(3), 119-145.
- Ponce-Vargas, A., Luna-Vega, I., Alcántara-Ayala, O., & Ruiz-Jiménez, C. A. J. (2006). Florística del bosque mesófilo de montaña de Monte Grande, Lolotla, Hidalgo, México. *77(2)*, 177-190.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., *et al.* (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26(9-10):1231-1237.
- Reyes Castañeda, G. S. (2019). Efecto antibacteriano in vitro de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.
- Rivero-Perez, N., Ayala-Martinez, M., Zepeda-Bastida, A., Meneses-Mayo, M., & Ojeda-Ramirez, D. J. I. (2016). Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of spent *Pleurotus ostreatus* substrates in mouse ears treated with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *48(2)*, 141.
- Robledo, G. B. (2008). Inmunología para el médico general. *Rev Fac Med UNAM* 51(6).
- Rodríguez-Amaya, D. B. (2016). Pigmentos y colorantes alimentarios naturales. *Opinión actual en la ciencia de los alimentos*, 7, 20-26.
- Sánchez-Franco, J., Ayala-Niño, A., Cariño-Cortés, R., Hernández-Fuentes, A., Castañeda-Ovando, A., Campos-Montiel, R., Jiménez-Alvarado, R. J. R. M. d. I. (2019). *Vaccinium leucanthum* schlechtendahl fruit, a new source of dietary fiber.



Sánchez-Valle, V., & Méndez-Sánchez, N. (2018). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Médica Sur*, 20(3), 161-168.

Shin, H. Satsu, M.-J. Bae, M. Totsuka, M. Shimizu, Catechol groups enable reactive oxygen species scavenging-mediated suppression of PKD-NFkappaB-IL-8 signaling pathway by chlorogenic and caffeic acids in human intestinal cells, *Nutrients* 9 (2) (2017) 165.

Silva, S., Costa, E. M., Pereira, M. F., Costa, M. R., & Pintado, M. E. (2013). Evaluation of the antimicrobial activity of aqueous extracts from dry *Vaccinium corymbosum* extracts upon food microorganism. *Food Control*, 34(2), 645-650.

Sistema Integral de Información (2021). La producción de arándanos en México crece por quinto año consecutivo.

<https://prod.senasica.gob.mx/ALERTAS/inicio/pages/single.php?noticia=12943#:~:text=La%20producci%C3%B3n%20de%20ar%C3%A1ndanos%20en%20M%C3%A9xico%20en%202020%20fue%20de,anual%20de%20crecimiento%20del%2025.1%25.>

Soares, S. E. (2002). Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de nutrição* 15(1), 71-81.

Spagnol, C. M., de Assis, R. P., Brunetti, I. L., Isaac, V. L. B., Salgado, H. R. N., & Corrêa, M. A. (2019). *In vitro methods to determine the antioxidant activity of caffeic acid. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. doi:10.1016/j.saa.2019.04.025

Torrenegra AME, Granados CC, León MG. Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. *Rev Cubana Farm*. 2019;52(1):1-12.

Tresguerres, J. A., López-Calderón, A., & Bernues, M. Á. V. (2009). *Anatomía y fisiología del cuerpo humano*. McGraw Hill.



Uribe, Catalina, & Suárez, Martha Cecilia. (2006). Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. *Colombia Médica*, 37(2), 151-158. Retrieved May 18, 2022, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1657-95342006000200011&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95342006000200011&lng=en&tlng=es):

Sierra Vargas, Martha Patricia, Mendoza Atencio, Remy del Socorro, Fernández Vega, Margarita, Fabián San Miguel, Ma. Guadalupe, & Hicks Gómez, Juan José. (2006). Incremento de la actividad de mieloperoxidasa plasmática en pacientes con asma asociada a diabetes mellitus tipo 2. Indicador de mayor desequilibrio homeostático. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 19(3), 201-205. Recuperado en 28 de junio de 2022, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-75852006000300005&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-75852006000300005&lng=es&tlng=es).

Uriol Plasencia, Diana E, & Espinoza Salcedo, María V. (2021). Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de frutos de "aguaymanto" (*Physalis peruviana* L.) y de hojas de "eucalipto" (*Eucalyptus globulus* Labill.) frente a *Staphylococcus aureus*. *Arnaldoa*, 28(1), 115-124. <https://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.281.28106>

Us-Medina, U., Millán-Linares, M. d. C., Arana-Argaes, V. E., & Segura-Campos, M. R. J. N. H. (2020). Actividad antioxidante y antiinflamatoria in vitro de extractos de chaya (*Cnidoscolus aconitifolius* (Mill.) IM Johnst). 37(1), 46-55.

Valenzuela, J. J. A. T. (2002). Contenido de flavonoles en uvas para vino cultivadas en el valle de Casablanca, Chile. 62(1), 79-86

Vázquez-Castilla, S., Guillén-Bejarano, R., Jaramillo-Carmona, S., Jiménez-Araujo, A., & Rodríguez-Arcos, R. (2012). Funcionalidad de distintas variedades de arándanos. In *Presentación de poster en el VII Congreso Español de Ingeniería en Alimentos, Ciudad Real, Madrid*.



Vázquez, J. L., Saldate, E. O., Nava, L. M., & Parrilla, M. C. (1993). Brotes de toxiinfecciones alimentarias de origen microbiano y parasitario. *Salud Pública de México*, 35(5), 456-463.

Viada Pupo, E., Gómez Robles, L., & Campaña Marrero, I. R. (2017) *J Correo Científico Médico*. Estrés oxidativo. 21(1), 171-186.

Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. In *Molecular medical microbiology* (pp. 753-767). Academic Press.

Yen, G.-C., Duh, P.-D., & Tsai, H.-L. (2002). *Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid*. *Food Chemistry*, 79(3), 307–313. doi:10.1016/s0308-8146(02)00145-0

Zhang, H., Xu, Z., Zhao, H., Wang, X., Pang, J., Li, Q., ... & Ling, W. (2020). Anthocyanin supplementation improves anti-oxidative and anti-inflammatory capacity in a dose–response manner in subjects with dyslipidemia. *Redox biology*, 32, 101474. Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 64(4): 555-559.

Zoratti, L., Jaakola, L., Häggman, H., Giongo, L.(2015). Anthocyanin profile in berries of wild and cultivated *Vaccinium* spp. along altitudinal gradients in the Alps. *Journal of agricultural & food chemistry* 63(39)

