

Actividad antioxidante in vitro y antimicrobial de extractos metanólicos de cuatro albahacas cultivadas en Ibagué

ELIZABETH MURILLO, KATHERINE FERNÁNDEZ, AMPARO VIÑA y JONH JAIRO MÉNDEZ*

* Departamento de Química. Facultad de Ciencias.
Universidad del Tolima. Ibagué. Colombia

Resumen

Después de extraer el aceite esencial de cuatro albahacas cultivadas en Ibagué, el material vegetal residual se evaluó para determinar el potencial antimicrobial y antioxidante de los extractos metanólicos obtenidos a partir de la parte aérea de las plantas. Los constituyentes químicos de las albahacas no mostraron actividad antimicrobial frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, pero el potencial antioxidante revelado es garantía del uso dado a estos vegetales en la medicina folclórica como antidiabéticos, el cual podría derivar de sus constituyentes fenólicos. Este es el primer estudio, hasta ahora reportado, relacionado con la actividad antioxidante y antimicrobial de residuos de alguna albahaca.

Palabras clave: Albahaca, *Ocimum*, actividad antioxidante, actividad antimicrobial.

Abstract

After extracting the essential oil of four basils grown in Ibagué, the residual vegetal material was evaluated to determine the antimicrobial and antioxidant potential of the methanolic abstracts obtained from the aerial part of the plants. The basil chemical components did not show antimicrobial activity in front of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, but the revealed antioxidant activity potential is guarantee of uses given to this vegetable in folk medicine, such as anti-diabetics, which could derive from its phenolic constituents. This is the first study reported, up to now, related to the antioxidant and antimicrobial activity of any basil residues.

Key words: Basil, *Ocimum*, antioxidant activity, antimicrobial activity.

Correo electrónico: emurillo8@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La albahaca (*Ocimum sp.*), perteneciente a la familia *Lamiaceae*, es una de las hierbas aromáticas con una gran variedad de especies y subespecies. Se colecta en forma silvestre o cultivada en diferentes países y conocida por sus múltiples aplicaciones en alimentos, cosmética, perfumería, productos orales y dentales, licores e incluso, en uso ornamental, además de una diversidad de usos etnofarmacológicos (Sánchez et ál., 2000; Javanmardi et ál., 2003).

Estas plantas han sido investigadas por su propiedad nematocida (Chatterjee et ál. 1982), antimicrobial (Barbieri et ál., 2002; Rojas et. ál., 2006), antibacterial (Nascimento et ál., 1999; Santos et ál., 2004; Singh et ál., 2005) y antifúngica (Murillo et ál., 2002; Oxenham et ál., 2005), entre otras. Estas propiedades se han atribuido a sus constituyentes mayoritarios como metil chavicol, eugenol, linalol, alcanfor y cinamato de metilo.

En los años recientes ha aparecido un incrementado interés hacia el estudio de la actividad antioxidante de los aceites esenciales de las especies de albahaca (Juliani and Simon, 2002; Mahesh et ál., 2005; Bozin et ál., 2006), y de los extractos de diferentes polaridades (Gülçin et ál., 2003; Jayasinghe et ál., 2003; Cosio et ál., 2006).

Los antioxidantes son sustancias que, cuando están presentes en los alimentos o en el organismo, a bajas concentraciones en relación con un sustrato oxidable, disminuyen o previenen la oxidación de este último. Las sustancias antioxidantes pueden ayudar a proteger el organismo humano o animal contra varios tipos de daños oxidativos, ocasionados por especies reactivas del oxígeno (anión superóxido, radical hidroxilo, peróxido de hidrógeno, ozono, oxígeno singlete, entre otras) y del nitrógeno (óxido nítrico, dióxido de nitrógeno, radical peroxinitrito). Oxidantes y antioxidantes juegan papel importante en la patogenia de un número importante de enfermedades (cáncer, diabetes, artritis, envejecimiento prematuro, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, aterosclerosis) y lesiones tisulares como las úlceras y la inflamación (Arnao et ál., 2001; Javanmardi et ál., 2003; Saha et ál., 2004; Tepe et ál., 2007).

Muchos de los trabajos publicados relacionados con la albahaca tienen que ver con el aceite esencial, o bien, con extractos de diferentes polaridades derivados del material crudo; muy poco se conoce sobre la bioactividad de extractos elaborados a partir del material vegetal después de haber sido sometido a obtención del aceite esencial. Este trabajo se propuso explorar el residuo acuoso, una vez se haya extraído el aceite esencial, de cuatro albahacas cultivadas en Ibagué (querendona morada, canela, zancona morada y crespita blanca), como una posible fuente de antioxidantes o como coadyuvantes del tratamiento existente para el control de *Candida albicans* L., *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Nuestra investigación también valoró una posible relación entre el contenido fenólico y la actividad antioxidante.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal

La parte aérea de las albahacas Canela blanca (CA), Querendona morada (QM), Zanco-na morada (ZN) y Crespa morada (CR) se colectaron en época de floración en Ibagué (1390 m.s.n.m., 29° C). Su identificación se realizó en el Herbario Toli de la Universidad del Tolima. El material vegetal se secó a temperatura ambiente, se trituró, se guardó en recipientes de vidrio debidamente rotulados y se almacenó en sitio fresco hasta su utilización.

2.2 Preparación de los extractos

La parte aérea de cada planta, seca y molida, se sometió a calentamiento dos horas en un equipo Clevenger para la extracción del aceite esencial, aplicando el método de hidrodestilación. El residuo vegetal obtenido se secó a temperatura ambiente (27-29°C), y cincuenta gramos se expusieron a la acción continua (48 h) de metanol (grado analítico) en un proceso de maceración (1:10, vegetal-solvente). El extracto se filtró y concentró en un evaporador rotatorio (30-40°C) hasta obtener un material semisólido. El residuo viscoso así preparado se guardó en frascos ámbar (4 °C) para realizar, a partir de él, los ensayos antimicrobiales y las pruebas antioxidantes.

2.3 Reactivos químicos

El 1,1-difenil-2-picrilhidracil, DPPH) se obtuvieron de Sigma Aldrich. La Gentamicina, Eritromicina, Cloranfenicol y Ketoconazol, utilizados como control positivo en los ensayos antimicrobiales, se adquirieron en el comercio. Los demás reactivos aplicados en las pruebas de actividad antioxidante fueron grado analítico Merck.

2.4 Microorganismos

La actividad antimicrobial se evaluó sobre las bacterias *Escherichia coli*, ATCC 25922 (gram negativa), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (gram positiva) y sobre la levadura *Candida albicans* obtenida de muestra clínica patológica.

2.5 Determinación del contenido fenólico total

La cantidad de compuestos fenólicos en los extractos metanólicos de cada planta se determinó con el reactivo de Folin-Ciocalteu (FC), de acuerdo con la metodología descrita por Singleton & Rossi (1965). Un mililitro del extracto se aforó con agua a 50 ml; 1 ml de esta solución se mezcló con 2.5 ml del reactivo FC (diluido 1:1 con agua destilada) y con 2 ml de carbonato de sodio (7.5%); la mezcla se llevó a baño maría (10 min, 50°C), después de lo cual se permitió alcanzar la temperatura ambiente; finalmente se leyó la absorbancia a 760 nm contrastada contra un blanco de reactivos. El ácido gálico se utilizó como estándar para elaborar la curva de calibración. El contenido fenólico de

los extractos se expresó como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco (mg EAG/g p.s.).

2.6 Capacidad atrapadora del radical DPPH

La actividad atrapadora de radicales libres de los extractos de albahaca se evaluó midiendo la capacidad de atrapar el radical estable 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH), aplicando el método descrito por Brand-Williams, et ál. (1995), con algunas modificaciones. A 1 ml de una solución de DPPH (0.1mM) en metanol se adicionaron 3 ml del extracto vegetal (40 ppm) y de α -tocoferol (10 ppm), utilizado como patrón. La absorbancia de la mezcla reaccionante se leyó a 517 nm después de 15 minutos de incubación a temperatura ambiente. Valores bajos de absorbancia de la mezcla indican una alta capacidad atrapadora de radicales libres (CARL), expresada numéricamente mediante la ecuación (1):

$$\%CARL = [Abs\ DPPH - Abs\ muestra / Abs\ DPPH] \times 100 \quad (1)$$

2.7 Medida del poder antioxidante por reducción del Fe (III)

La evaluación del poder reductor del ion férrico (Fe, III) se realizó aplicando un método modificado de Oyaizu (1986). Un ml del extracto original, 20-120 μ g/ml, se mezcló con buffer de fosfato (5 ml, 0.2 M, pH 6.6) y con ferricianuro de potasio [$K_3Fe(CN)_6$] (5 ml, 1%). Después de un período de incubación de 20 min (50°C), a la mezcla reaccionante se le adicionaron 5 ml de ácido tricloroacético (10%) y se centrifugó a 4500 r.p.m. (15 min). El sobrenadante de la solución (5 ml) se mezcló con agua destilada (5 ml) y cloruro férrico (1 ml, 1%). La absorbancia se midió a 700 nm. El incremento de esta variable da a entender un aumento en el poder reductor de los extractos. Se utilizó ácido gálico como referencia.

2.8 Actividad atrapadora de peróxido de hidrógeno

La habilidad de los extractos metanólicos de las cuatro albahacas colectadas en Ibagué para inhibir el peróxido de hidrógeno, se determinó de acuerdo con el método de Ruch et ál. (1989). Una solución de peróxido de hidrógeno (2 mM) se preparó en buffer de fosfato (pH 7.4). La concentración de peróxido de hidrógeno se midió espectrofotométricamente a partir de la absorción de radiación de 230 nm con una absortividad molar de 81 mol L⁻¹ cm⁻¹. 3.6 ml de los extractos metanólicos se adicionaron a 2.4 ml de la solución de H₂O₂. La absorbancia del peróxido remanente por los antioxidantes de la muestra se determinó a 230 nm, después de 10 minutos de incubación a temperatura ambiente. Una solución del buffer de fosfato, sin peróxido de hidrógeno, se utilizó como blanco. El mayor poder de inhibición del peróxido de hidrógeno se revela con lecturas más bajas de absorbancia. El ácido ascórbico (15 μ g/ml) fue el patrón de referencia. La actividad inhibidora el peróxido de hidrógeno se calculó a partir de la fórmula: $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$, donde A₀ es la absorbancia del peróxido de hidrógeno sin la muestra y A₁ es la absorbancia del extracto con peróxido.

2.9 Actividad antioxidante sobre una emulsión de ácido linoléico

El ensayo se efectuó utilizando un sistema modelo de ácido linoléico; el grado de peroxidación lipídica del sistema se evaluó aplicando el método del tiocianato férrico, de acuerdo con el método descrito por Huang et ál. (2005). 4 ml del extracto (40 µg/ml) se mezclaron en un vial con tapa rosca con 4.1 ml de ácido linoléico (2.51%, v/v) en etanol (96%, w/v), 8 ml de buffer de fosfato 0.05 M (pH 7.0) y 3.9 ml de agua destilada. La mezcla se incubó a temperatura ambiente (27 °C) en la oscuridad. Después de este tiempo se tomaron 0.1 ml de esta solución, se agregó 9.7 ml de etanol (75% v/v) y 0.1 ml de tiocianato de amonio (30% w/v). A esta mezcla reaccionante se adicionaron 0.1 ml de cloruro ferroso (20mM) en ácido clorhídrico (3.5% v/v), y exactamente 3 minutos después se leyó la absorbancia de la mezcla resultante (Fe (SCN)₃, color rojo) a 500 nm. La lectura se repitió cada 24 horas hasta un día después de que el control (ácido linoléico y todos los reactivos sin extracto) alcanzaran el valor máximo de absorbancia. El porcentaje de inhibición se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$[1 - (\text{absorbancia de la muestra a 500 nm}) / (\text{absorbancia del control a 500 nm}) \times 100]$$

La disminución en la absorbancia se interpreta como mayor inhibición de la peroxidación lipídica.

2.10 Actividad antimicrobial

El ensayo de bioactividad se efectuó por el método de difusión de disco de papel en agar sobre Muller-Hinton para la valoración de los halos de inhibición. Los discos se impregnaron con los extractos metanólicos, utilizando cajas de Petri (9 cm diámetro). Soluciones etanólicas de Gentamicina (120 mg), Eritromicina (600 mg), Cloranfenicol (250 mg) y Ketoconazol (200 mg) se utilizaron como control positivo.

2.11 Análisis estadístico

Todos los resultados experimentales in Vitro se expresan como la media de tres determinaciones ± D.S. El análisis de regresión se efectuó a fin de calcular la relación dosis-respuesta de las muestras analizadas. Al mismo se hace referencia a través del coeficiente de regresión lineal r_{xy}^2 .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido fenólico total en los extractos

Los compuestos fenólicos totales extraídos de las cuatro albahacas se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco (mgEAG/g p.s.). La figura 1 deja ver que el extracto etanólico de Canela (CA) tiene la más alta cantidad de fitofenoles (3.2 mgEAG/g p.s.), seguido por Zancona morada (ZN) y Crespa (CR), las cuales revelan 2.0 y 1.9 mgEAG/g p.s, respectivamente, resultando Querendona morada (QM) con el

contenido más bajo entre las cuatro (1.3 mgEAG/g p.s). Es de amplio conocimiento que los constituyentes fenólicos de las plantas conforman uno de los mayores grupos de compuestos que actúan como antioxidantes primarios, entendiéndose como tal que pueden prevenir la formación de nuevos radicales libres, dado que los convierten en moléculas menos perjudiciales antes de que puedan reaccionar o bien, pueden evitar la formación de radicales libres a partir de otras moléculas; en general, estas propiedades dependen de la habilidad para donar Hidrógeno o un electrón a un radical libre.

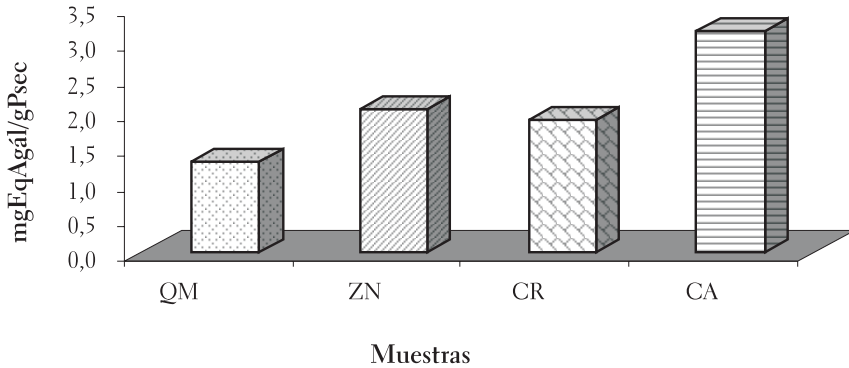


Figura 1. Contenido fenólico total de los extractos metanólicos de cuatro albahacas cultivadas en Ibagué.

Juliani and Simón (2002), determinaron el contenido fenólico de los extractos de varias albahacas, y encontraron que los cultivares de hojas moradas mostraron significativamente mayor contenido de compuestos de naturaleza fenólica que las variedades verdes, entre ellas la Canela. Los resultados de estos investigadores son contrariamente opuestos a los obtenidos en este trabajo, lo que podría atribuirse fundamentalmente a factores genéticos y a las diferentes condiciones de clima y suelo. El valor bajo de QM, frente a las restantes albahacas, podría ser justificado por las pérdidas por solubilidad sufridas durante el proceso de extracción de aceites esenciales (hidrodestilación).

Los resultados se obtuvieron a partir de la curva de calibración $Y = 0.0169X - 0.061$. $r^2 = 0.999$. Los valores que se muestran son la media de tres determinaciones realizadas en forma simultánea.

Actividad atrapadora del radical DPPH

DPPH es un radical libre estable, usualmente utilizado para evaluar el potencial antioxidante de un producto. La mayor habilidad de un extracto vegetal para decolorar la solución de este radical, de púrpura a amarillo, por formación de difenilhidracina, da a entender que es más alto su poder antioxidante. En la figura 2 aparece ilustrada la capacidad atrapadora del radical libre expresada como porcentaje (%CARL), de los extractos y del α -tocoferol (estándar). Se observa que la acción de los antioxidantes de las cuatro albahacas puede inhibir hasta del 90% del radical y que la CARL resulta

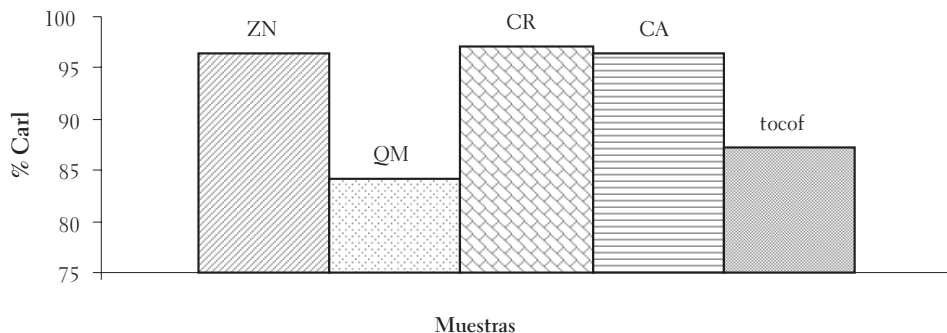


Figura 2. Capacidad atrapadora del radical libre DPPH de cuatro albahacas cultivadas en Ibagué comparada con el α -tocoferol.

comparable a la del alfa-tocoferol. Concordante con los menores contenidos de fitofenoles, QM deja ver los valores más bajos, en tanto que la acción de las tres restantes albahacas resulta semejante.

Las diferencias observadas con el patrón son justificables, teniendo en cuenta que se compara una mezcla de antioxidantes contra un compuesto puro; no obstante, los extractos debieron aumentar la concentración del tocoferol cuatro veces para igualar o superar la actividad del estándar. Los radicales libres resultan comprometidos en un buen número de enfermedades humanas, incluyendo alteraciones cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Deighton et ál., 2000). Se ha encontrado que la cisteína, el glutatión, el ácido ascórbico, el alfa-tocoferol, los fitofenoles y algunas aminos aromáticas reducen y decoloran el DPPH por su habilidad para donar hidrógenos (Kumaran and Karunakaran, 2007). Los compuestos de naturaleza fenólica de las cuatro albahacas estudiadas están probablemente involucrados con su actividad antirradical.

Poder reductor

La figura 3 muestra la capacidad de los extractos metanólicos para reducir el Fe^{+3} a Fe^{+2} , comparados con el ácido gálico. La propiedad reductora se evidencia midiendo la cantidad de fotones absorbidos a 700 nm, por el complejo formado $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ (azul de Prusia). En la figura se observa una correlación directa dosis-respuesta del poder reductor de los extractos. El comportamiento químico de CA, ZN y CR parece semejante; no obstante, esta última supera las otras dos a 60 ppm. De nuevo QM muestra la capacidad reductora más baja en todas las concentraciones probadas (20-80 ppm).

Importa mencionar que el máximo poder reductor se encontró a 60 ppm, observándose una disminución considerable de la actividad al incrementar la concentración, fundamentalmente en CA, CR y ZN; sin embargo, su potencial reductor es superado en gran manera por el ácido gálico. Los reductores en los vegetales ejercen su actividad antioxidante rompiendo la etapa de propagación de radicales libres por donación de átomos de hidrógeno (Gordon, 1990), o bien mediante reacción con algunos precursores de peróxidos, con lo cual previenen la formación de estos últimos. El poder reductor se ha asociado con la actividad antioxidante. No obstante, esta actividad puede también

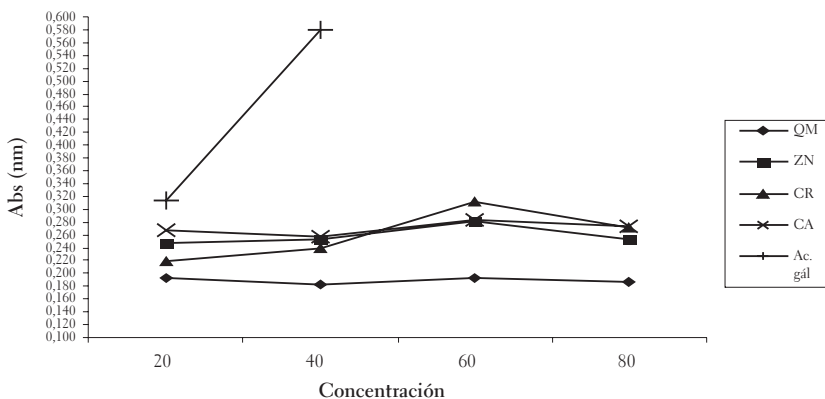


Figura 3. Actividad antioxidante de los extractos metanólicos de cuatro albahacas medida por el poder reductor.

manifestarse enlazando metales de transición que actúan como catalizadores de algunas reacciones (reacción de Fenton), atrapando radicales libres o descomponiendo peróxidos formados (Diplock, 1997). Los resultados obtenidos en este trabajo, relacionados con el poder reductor, sugieren que las cuatro albahacas son contribuyentes fuertes de la acción antioxidante de los vegetales.

Interacción con el peróxido de hidrógeno

La habilidad de los cuatro extractos metanólicos para inhibir el peróxido de hidrógeno se muestra en la figura 4 comparado con el ácido gálico y el ascórbico (estándares). La figura deja ver que todos los extractos pueden atrapar el peróxido de hidrógeno en proporción superior al 90% a la concentración probada (40µg/ml). Pese a que el contenido fenólico de CA es mayor (3.2%) que el de CR (1.9%), la capacidad de CR para interactuar con el H₂O₂ superó la actividad de la otra albahaca; lo anterior induce a pensar poca

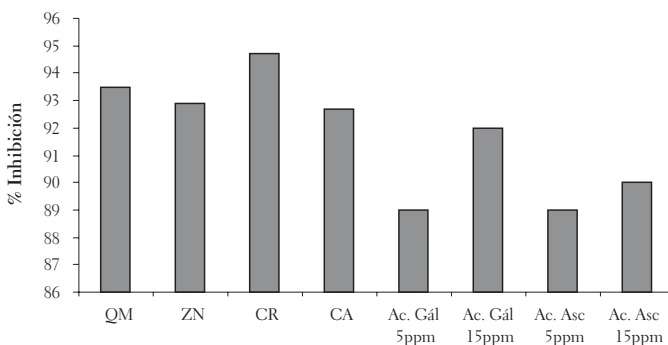


Figura 4. Actividad inhibitoria de peróxido de hidrógeno de los extractos metanólicos de cuatro albahacas cultivadas en Ibagué comparada con el ácido gálico y el ácido ascórbico.

relación directa: contenido fenólico-poder inhibitorio H_2O_2 . Se observa además que los extractos superan la actividad de los estándares.

La reactividad del peróxido de hidrógeno no es muy alta. Su importancia como especie prooxidante, radica en que en presencia de Fe^{+2} genera radical hidroxilo (OH^*) a través de reacciones tipo Fenton ($Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+3} + OH^- + OH^*$). El resultado final es generación de toxicidad a nivel celular, ocasionada fundamentalmente por el radical OH^* , considerado el más dañino de todos los radicales libres. Entonces, remover H_2O_2 es importante como un mecanismo de protección antioxidante de la célula y de los alimentos.

Compuestos de naturaleza fenólica han mostrado su acción protectora de la citotoxicidad inducida por el peróxido de hidrógeno en mamíferos y bacterias, particularmente compuestos con la estructura orto-hidroxifenólica: quercetina, catequina, ésteres del ácido caféico y del gálico (Nakayama, 1994; Nakayama et ál., 1993). Nuestros resultados inducen a pensar que los constituyentes fenólicos de las albahacas en estudio están involucrados de alguna manera con la remoción de peróxido de hidrógeno.

Inhibición de peroxidación de la emulsión de ácido linoléico

La peroxidación lipídica conduce al desarrollo de rancidez y formación de sabores y olores desagradables, lo cual es considerado como un proceso de deterioro primario de la calidad de grasas y aceites (Mathew and Abraham, 2006). Se acostumbra adicionar antioxidantes sintéticos a los alimentos, tales como hidroxianisol butilado (BHA) o α -tocoferol, con el propósito de prevenir la peroxidación lipídica y en consecuencia mejorar la calidad del alimento. De otra parte, la peroxidación de las LDL se ha reportado que contribuye al desarrollo de aterosclerosis (Steinbrecher, 1987), por lo que impedir o prevenir la peroxidación de estas lipoproteínas resulta siendo una importante acción antioxidante.

La tabla 1 deja ver que los antioxidantes contenidos en los extractos actúan básicamente a las 24 horas, presentando incrementos poco significativos en su actividad después de este tiempo.

Tabla 1. Inhibición de la peroxidación del ácido linoléico por los extractos metanólicos de cuatro albahacas comparada con el α -tocoferol, medida por el método del ferricianuro férrico

Tiempo (horas)	% inhibición de peroxidación del ácido linoléico				
	QM	ZN	CR	CA	α -Tocoferol
24	65,2	66,6	55,6	59,8	65,8
48	65,4	66,6	56,6	60,3	65,6
72	64,7	65,6	57,4	61,2	66,5

Se notan dos subgrupos: uno constituido por QM y ZN (las más activas), y otro conformado por CR y CA (menos activas). La similitud en el poder inhibitorio del primer subgrupo (QM y ZN) con el alfa tocoferol podría ser aparente si se tiene en cuenta la diferencia de concentraciones entre los extractos (40 ppm) y el estándar de referencia (10 ppm). Sin embargo, las cuatro albahacas evidencian capacidad para evitar la formación de peróxidos como producto del deterioro del ácido linoléico, ya que, a pesar del grado de dilución en el que fueron probadas (40 ppm), su potencial alcanza, en todos los casos, valores superiores al 50%.

Los estudiosos de la actividad antioxidante de los fitofenoles proponen que estos exhiben actividad antioxidante/prooxidante, dependiendo de factores como el potencial reductor de metales, el comportamiento quelante, el pH, las características de solubilidad, la estructura, el número y posición de los sustituyentes, de la naturaleza del prooxidante (Mathew and Abraham, 2006) y, adicionalmente, del tipo de prueba a la que es sometido para evidenciar su potencial. Esto justifica el uso de una batería de ensayos de laboratorio (in Vitro e in Vivo) a fin de evaluar la acción antioxidante de un producto vegetal llámese compuesto, extracto, aceite esencial o bien la planta como tal. La actividad antioxidante observada en los extractos metanólicos de las cuatro albahacas, después de haberles extraído el aceite esencial, puede explicarse no sólo tomando como base los diferentes mecanismos ejercidos por los compuestos fenólicos, sino además el efecto sinérgico del conjunto de metabolitos secundarios contenidos en la planta.

Se ha reportado que los fitofenoles contribuyen en gran manera en los procesos relacionados con la inhibición de especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno, promotoras del llamado estrés oxidativo. La composición química de los extractos metanólicos de las albahacas *Querendona morada*, *Zancona morada*, *Crespa blanca* y *Canela* es una garantía del uso que se les da a estos vegetales en la medicina folclórica como antidiabéticos.

Actividad antimicrobial

Para evidenciar la actividad antimicrobial se sometieron los extractos (12- 100%) a la acción de las bacterias *Escherichia coli* (Gram negativa) y *Staphylococcus aureus* (Gram positiva) y de la levadura *Candida albicans*, comparando su bioactividad contra la de la Gentamicina (120 mg), Eritromicina (600 mg), Cloranfenicol (250 mg) y Ketoconazol (200 mg), utilizados como control positivo. En ningún caso los extractos ejercieron actividad antibacterial o fúngica, dado que no se observaron halos inhibitorios del crecimiento de los microorganismos, como sí sucedió con los controles. Entonces, se podría pensar que el potencial antimicrobial de las cuatro albahacas reside fundamentalmente en los constituyentes volátiles (aceites esenciales) o que, tal vez, sean de polaridad baja y no pudieron ser extraídos por el metanol (solvente extractor).

CONCLUSIONES

Nuestros resultados evidencian que el material vegetal residual, después de la extracción del aceite esencial, es una rica fuente de antioxidantes, la cual puede derivarse de


sus constituyentes fenólicos y de los diferentes mecanismos de acción; entonces, este residuo puede ser utilizado en preparaciones farmacéuticas o bien como aditivo en productos alimenticios. Los antioxidantes de los vegetales estudiados podrían clasificarse como primarios por su alta habilidad para atrapar radicales libres. Este es el primer estudio, hasta ahora reportado, relacionado con la actividad antioxidante y antimicrobial de residuos de alguna albahaca.

REFERENCIAS

- ARNAO M. B., CANO A., ACOSTA M. (2001). *The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity*. Food Chemistry, 73:239-244.
- BARBIÉRI H.F., PESSINI G.L., SÁNCHEZ N. R., GARCÍA A. D., NAKAMURA V. C., DIAS P.B. (2002). *Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases*. Mem fast Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. Vol. 97 (7):1022-1031.
- BOZIN B., MIMICA-DUKIC N., SIMIN N., and ANACKOV G. (2006). *Characterization of the Volatile Composition of Essential Oils of Some Lamiaceae Spices and the Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Entire Oils*. J. Agric. Food Chem., 54 (5): 1822 -1828
- BRAND-WILLIAMS W., CUVELIER M. E., BERSET C. (1995). *Use of free radical method to evaluate antioxidant activity*. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie 28:25-30.
- COSIO M. S., BURATTI S., MANNINO S., BENEDETTI S. (2006). *Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the Labiatae family*. Food Chemistry, 97: 725-731.
- DEIGHTON N., BRENNAN R., FINN C., & DAVIES H.V. (2000). *Antioxidant properties of domesticated and wild Rubus species*. Journal of Science and Food Agriculture. 80:1307-1313.
- DIPLOCK A.T. (1997). *Will the good fairies please prove us that vitamin E lessens human degenerative disease?*. Free Radical Research, 27:511-532.
- GORDON M. H. (1990). *The mechanism of antioxidant action in vitro*. B.J. F. Hudson (Ed.), Food antioxidants. Pp 1-18. London: Elsevier Applied Science.
- GÜLÇİN I., Büyükokurođlu M.E., Münir O., Küfreviođlu I. (2003). Antioxidant and analgesic activities of turpentine of *Pinus nigra* Arn. Subsp. *pallsiana* (Lamb.) Holmboe. Journal of Ethnopharmacology 86: 51-58.
- HUANG D. J., CHEN H. J., LIN Ch .D., and LIN Y. H. (2005). *Antioxidant and antiproliferative activities of water spinach (Ipomoea aquatica Forsk) constituents*. Bot. Bull. Acad. Sin. 46: 99-106.
- JAVANMARDI J., STUSHNOFF C., LOCKE E., VIVANCO J.M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. Food Chemistry, 83: 547-550.
- JAYASINGHE C., GOTOH N., AOKI T., and WADA S. (2003). Phenolics Composition and Antioxidant Activity of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.). Agric. Food Chem., 51 (15): 4442 -4449.

- JULIANI H.R. and SIMON J.E. (2002). Antioxidant activity of Basil. J. Janick and A. Whipkey (eds), Trends in new crops and new uses.: 575-579.
- KUMARAN A., KARUNAKARAN R. (2007). In Vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. Science Direct, 40: 344-352.
- MAHESH S., GAJANAN J.Ch., SUBRATA Ch. (2005). Antioxidant and radioprotective properties of an *Ocimum sanctum* polysaccharide. Redox Report, 10 (5): 257-264.
- MATHEW S. and ABRAHAM E. (2006). In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. Food and Chemical Toxicology. Vol 44: 198–206.
- MURILLO E., VIÑA A. y CORREA I.L. (2002). Actividad antifúngica y composición química del aceite esencial de doce variedades de *Ocimum sp.* cultivadas en Ibagué-Colombia. Información Tecnológica. Vol.13 (1): 77-85.
- NASCIMENTO G.G., LOCATELLI J., FREITAS P.C., SILVA G.L. (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. Brazilian Journal of Microbiology. 31:247-256.
- OXENHAM S.K., SVOBODA K.P., WALTERS D.R. (2005) Antifungal Activity of the Essential Oil of Basil (*Ocimum basilicum*) Journal of Phytopathology 153 (3), 174–180
- OYAZU M. (1986). Studies on the products of browning reaction prepared from glucose amine. Japan Journal of Nutrition. Vol. 44:307–315.
- ROJAS J.J., OCHOA V.J., OCAMPO S.A. and MUÑOZ J.F. (2006). Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine : A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. BMC Complementary and Alternative Medicine. 6 :1-6.
- RUCH R.J., CHUNG S.U., & KLAUNIG J.E. (1984). Spin trapping of superoxide and hydroxyl radicals. Methods in Enzymology, 105 : 198-209.
- SAHA K., LAJIS N.H., ISRAF D.A., HAMZAH A.S., KHOZIRAH S., KHAMIS S., SYAHIDA A.S. (2004). Evaluation of antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of selected Malaysian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, 92 :263-267.
- SÁNCHEZ E.G., LEAL L.I., FUENTES H.L. y RODRÍGUEZ C.A. (2000). Estudio farmacognóstico de *Ocimum basilicum* L. (Albahaca blanca). Rev. Cubana Farm, 2000 : 187-195.
- SANTOS P. R., SUMITA T. C., FURLAN M. R., CARDOSO A. O., UENO M. (2004). Antibacterial activity of essential oils on microorganisms isolated from urinary tract infection. Rev. Saúde Pública, 38 (2): 326-328.
- SINGH S., MALHOTRA M., MAJUMDAR D.K. (2005). Antibacterial activity of *Ocimum sanctum* L. fixed oil. Indian J Exp Biol., 43 (9):835-837.
- SINGLETON V. L. and ROSSI JOSEPH A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. Am. J. Enol. Vitic. 16 (3):144-158.

STEINBRECHER U.P. (1987). Oxidation of human low-density lipoprotein results in derivatization of lysine residues of apolipoprotein B by lipid peroxide decomposition products. *J. Biol. Chem.* 262:3603-3608.

TEPE B., SIHOGLU-TEPE A., DAFERERA D., POLISSIOU M., SOKMEN A. (2007). Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Clinopodium vulgare* L. *Food Chemistry*, 103:766-770. 

Referencia	Fecha de recepción	Fecha de aprobación
MURILLO, E.; FERNÁNDEZ, K.; VIÑA, A. y MÉNDEZ, J. J. Actividad antioxidante in vitro y antimicrobial de extractos metanólicos de cuatro albahacas cultivadas en Ibagué. <i>Revista Tumbaga</i> (2007), 2, 72-84.	Día/mes/año 01/03/2007	Día/mes/año 17/07/2007