



**Perfil fitoquímico, actividad antimicrobiana y antioxidante de extractos de *Gnaphalium oxyphyllum* y *Euphorbia maculata* nativas de Sonora, México**



Priscilia Yazmín Heredia-Castro <sup>a</sup>

Claudia Vanessa García-Baldenegro <sup>a</sup>

Alejandro Santos-Espinosa <sup>a</sup>

Iván de Jesús Tolano-Villaverde <sup>a</sup>

Carmen Guadalupe Manzanarez-Quin <sup>b</sup>

Ramón Dolores Valdez-Domínguez <sup>c</sup>

Cristina Ibarra-Zazueta <sup>c</sup>

Reyna Fabiola Osuna-Chávez <sup>c</sup>

Edgar Omar Rueda-Puente <sup>c</sup>

Carlos Gabriel Hernández-Moreno <sup>c</sup>

Susana Marlene Barrales-Heredia <sup>c</sup>

Jesús Sosa-Castañeda <sup>c\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad Estatal de Sonora (UES). Ingeniería en Horticultura. Sonora, México.

<sup>b</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. (CIAD, A. C.) Tecnología de Alimentos de Origen Animal. Sonora, México.

<sup>c</sup> Universidad de Sonora (UNISON). Departamento de Agricultura y Ganadería. Carretera 100 a Bahía de Kino km 21, 83000. Sonora, México.

\* Autor de correspondencia: [jesus.sosa@unison.mx](mailto:jesus.sosa@unison.mx)

**Resumen:**

El uso de compuestos químicos sintéticos para conservar alimentos o tratar enfermedades de origen bacteriano está limitado debido a que pueden ocasionar daños en la salud. Por ello, las industrias alimentaria y pecuaria buscan estrategias naturales para conservar alimentos y mantener la salud de los animales destinados a consumo humano. En este sentido, algunos extractos de plantas provenientes de Sonora, México podrían ser una alternativa debido a la gran diversidad de plantas y que algunas de ellas se utilizan tradicionalmente para tratar enfermedades. Por otro lado, son pocos los estudios que sustentan la actividad biológica de los extractos etanólicos de *Gnaphalium oxyphyllum* (E1) y *Euphorbia maculata* (E2). En este estudio, el contenido de fitoquímicos se determinó por espectrofotometría, la actividad antimicrobiana se determinó por difusión en agar y la actividad antioxidante se evaluó por ABTS, DPPH y FRAP. Los resultados mostraron que los extractos E1 y E2 presentaron fenoles totales, flavonoides totales, flavonas y flavonoles, flavanonas y dihidroflavonoles totales, así como, taninos totales, ácido clorogénico total y polisacáridos totales. Además, ambos extractos mostraron mayor actividad antimicrobiana contra *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella entérica* serovar Typhimurium ATCC 14028 cuando se utilizó 1 mg ml<sup>-1</sup> ( $P < 0.05$ ). Además, presentaron actividad antioxidante por los métodos de ABTS, DPPH y FRAP. Por lo anterior, el potencial antimicrobiano y antioxidante de estas plantas representa una alternativa natural para controlar algunas bacterias Gram positivas y Gram negativas en la industria pecuaria, así como para la conservación de alimentos.

**Palabras clave:** *Gnaphalium oxyphyllum*, *Euphorbia maculata*, Actividad antimicrobiana, Antioxidante, Alternativa natural, Industria alimentaria.

Recibido: 16/08/2021

Aceptado: 05/05/2022

## Introducción

El interés de los consumidores por evitar alimentos con compuestos químicos sintéticos ha aumentado, debido a su potencial daño en la salud. En la comunidad científica hay un creciente interés en la búsqueda de estrategias naturales para la conservación de los alimentos; así como, en la producción pecuaria para prevenir las enfermedades recurrentes de los animales domésticos<sup>(1)</sup>. Algunas de las alternativas naturales que se han considerado en la industria alimentaria y en la medicina veterinaria incluye el uso de probióticos, bacteriocinas, antioxidantes y compuestos químicos derivados de las plantas<sup>(1,2)</sup>. Considerando lo anterior, los extractos de plantas presentan ventajas, ya que en algunas de ellas se ha evidenciado su potencial antioxidante y antimicrobiano<sup>(3)</sup>. En este contexto, México es uno de los países a nivel mundial con gran biodiversidad de

plantas, ocupa el cuarto lugar con aproximadamente 31,000 especies diferentes de plantas. De éstas, se estima que más de 3,350 se usan en la elaboración de tratamientos de medicina tradicional<sup>(4)</sup>, y en algunas de estas plantas se ha visto que presentan el mismo ingrediente activo que se utiliza en la elaboración de medicamentos comerciales<sup>(5)</sup>. Sin embargo, las investigaciones realizadas con plantas nativas de México son incipientes, ya que los compuestos fitoquímicos y su actividad biológica carecen de evidencia científica de su actividad. Además, son pocos los estudios científicos que han caracterizado la actividad antimicrobiana de plantas nativas de Sonora, México<sup>(6-9)</sup> y los que evalúan su actividad antioxidante son muy pocos. Particularmente, *Gnaphalium oxyphyllum* es una planta conocida en Sonora como “Gordolobo” y es endémica del noroeste de México. Se utiliza tradicionalmente en el tratamiento de algunos padecimientos, como la gripe, asma, tos, fiebre, bronquitis, hinchazones, enfermedades estomacales, heridas, dolor lumbar, en la prevención de malaria y en problemas de vías urinarias derivados de prostatitis y neuritis. Así como para el dolor de angina, antipirético y para disminuir la presión arterial<sup>(10,11)</sup>. Además, se ha demostrado su capacidad para inhibir el crecimiento de algunas bacterias patógenas y hongos<sup>(11,12)</sup>. Sin embargo, la actividad antimicrobiana y antioxidante de los extractos etanólicos de esta planta no ha sido evaluada<sup>(11)</sup>. Por otro lado, *Euphorbia maculata* es una planta nativa del noroeste de México conocida localmente como “Golondrina”. Se utiliza tradicionalmente para tratar malestares estomacales y problemas en ojos, además, en la medicina China es utilizada en trastornos sanguíneos como la hematuria, hemoptisis, epistaxis y hemafecia, para el tratamiento del ántrax y algunas heridas. Sin embargo, la actividad antimicrobiana, antifúngica y antioxidante ha sido escasamente documentada, y no existen estudios que evalúen su potencial antimicrobiano en extractos etanólicos<sup>(13,14)</sup>. La evidencia indica que estas plantas son de alto valor biológico, pero han sido poco estudiadas y no han sido cosechadas en Sonora, México, por lo que, la actividad biológica de las plantas puede verse comprometida, debido a que su perfil fitoquímico puede variar dependiendo de factores como la altitud, sitio de cultivo, condiciones agronómicas y ambientales en las que crecen<sup>(15)</sup>. Por lo anterior, y tomando en cuenta que las plantas también pueden utilizarse como suplemento alimenticio<sup>(16)</sup>, resulta interesante evaluar el valor nutricional, la actividad antimicrobiana, antioxidante y perfil fitoquímico de estas plantas crecidas en Sonora, México.

## Material y métodos

### Preparación de los extractos etanólicos

Los extractos fueron obtenidos de *Gnaphalium oxyphyllum* (E1) y *Euphorbia maculata* (E2), las plantas se cosecharon en el Departamento de Agricultura y Ganadería (DAG) de la Universidad de Sonora (DAG-UNISON). Los tallos y las hojas de cada planta se deshidrataron a 34 °C en una estufa de aire caliente (Thelco, Precision Science, modelo 28, USA). Después, el material vegetal deshidratado se pulverizó en un molino (Pulvex Mini 100, Mx) hasta un tamaño de partícula de 100 micras. Posteriormente, se mezclaron

100 g del material vegetal pulverizado con 100 ml de etanol al 99 % de pureza (Sigma-Aldrich, St. Louis MO) en un frasco de vidrio color ámbar y se almacenaron por 5 días<sup>(17)</sup>. Finalmente, los extractos se filtraron con papel filtro Whatman No. 41 y el alcohol remanente en el material vegetal fue evaporado. El rendimiento se calculó por diferencia de peso del material vegetal, y finalmente, los extractos etanólicos se almacenaron a 4 °C en la oscuridad.

### Perfil fitoquímico de los extractos etanólicos

El contenido de fenoles totales y flavonoides totales se cuantificaron por las metodologías utilizadas por Al-Rifai *et al*<sup>(18)</sup> y los datos se expresaron como miligramos de equivalente de ácido gálico por gramo de extracto (mg Eq.AG g<sup>-1</sup>) para fenoles totales, mientras que, para flavonoides totales los datos fueron expresados como miligramos de equivalente de quercetina por gramo de extracto (mg Eq.Q g<sup>-1</sup>). El contenido de flavonas y flavonoles, así como el contenido de flavanonas y dihidroflavonoles totales se determinaron siguiendo las metodologías propuestas por Popova *et al*<sup>(19)</sup> y los resultados se expresaron como miligramos de equivalente de hesperetina por gramo de extracto (mg Eq.H g<sup>-1</sup>). El contenido de taninos totales se determinó por la metodología reportada por Price y Butler<sup>(20)</sup> y los resultados se expresaron en miligramos de equivalente de catequina por gramo de extracto (mg Eq.C g<sup>-1</sup>), mientras que, el contenido de ácido clorogénico se cuantificó siguiendo la metodología reportada por Griffiths *et al*<sup>(21)</sup>, donde los resultados se expresaron como miligramos de ácido clorogénico por gramo de extracto (mg AC g<sup>-1</sup>). Finalmente, el contenido de polisacáridos totales se determinó por la metodología reportada por DuBois *et al*<sup>(22)</sup> y los datos se expresaron como miligramos de equivalente de glucosa por gramo de extracto (mg Eq.G g<sup>-1</sup>). En todas las determinaciones se utilizaron curvas de calibración y las absorbancias fueron leídas en un espectrofotómetro (Spectro Max MD, EU).

### Actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos

Se utilizaron las bacterias Gram positivas *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y las bacterias Gram negativas *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella entérica* serovar Typhimurium ATCC 14028 del Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad de Sonora. Las bacterias se reactivaron en medio de cultivo caldo BHI (infusión cerebro-corazón, BD Difco, Sparks, MD), y se utilizaron dos placas con agar BHI (infusión cerebro-corazón, BD Difco, Sparks, MD) para cada bacteria. Luego, en cada placa se colocaron cuatro discos estériles de papel filtro Whatman No. 41 de 6 mm de diámetro y se adicionaron 20 µl de extracto etanólico a cada disco. Posteriormente, las placas se incubaron a 37 °C por 24 h y la actividad antimicrobiana se midió en halos de inhibición, donde los halos mayores a 3 mm fueron considerados como inhibición<sup>(23)</sup>.

## **Análisis fisicoquímico de las plantas**

Se utilizaron los métodos analíticos de la AOAC<sup>(24)</sup>. Los sólidos totales se determinaron por el método de secado en horno (990.19); cenizas por el método gravimétrico (945.46); grasa bruta por el método de extracción con éter (920.39); proteína bruta por el método micro-Kjeldahl (991.20) y humedad por diferencia numérica. Los datos se expresaron en gramos por 100 gramos de materia seca ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ). Adicionalmente, el pH fue medido con un potenciómetro electrónico (Hanna Instruments pH 211, Cluj, Rumania).

## **Determinación de minerales en las plantas**

La cantidad de calcio (Ca), magnesio (Mg), sodio (Na) y potasio (K) de cada planta se determinó en un espectrofotómetro de absorción atómica de llama modelo 5000 (PerkinElmer®, CT, EE. UU.)<sup>(25)</sup>, mientras que, la concentración de fósforo (P) se determinó por un método colorimétrico de molibdovanadato de amonio en un espectrofotómetro modelo 3030 (PerkinElmer®, CT, EE. UU.)<sup>(26)</sup>. Los resultados se expresaron en gramos por 100 gramos de materia seca ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ).

## **Método de inhibición del radical 2,2-difenil-1-picrylhidrazil (DPPH)**

Las concentraciones de cada extracto se ajustaron a 0.1, 0.5, 1.0 y 2.0  $\text{mg ml}^{-1}$ , luego se mezcló 1 ml de cada extracto con 2 ml de una solución metanólica preparada con el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH<sup>•</sup>) a una concentración de  $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ . La mezcla se dejó reaccionar durante 16 min en la oscuridad a temperatura ambiente. Finalmente, la absorbancia se midió en un espectrofotómetro (Spectro Max MD, EU) a una longitud de onda de 517 nm y la solución DPPH<sup>•</sup> fue utilizada como testigo<sup>(27)</sup>.

## **Método de inhibición del radical 2,2'-Azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS)**

Se preparó una mezcla en relación 1:1 (v/v) del radical 2,2'-Azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfónico (ABTS<sup>•+</sup>) (7 mM) y persulfato de potasio (4.95 mM) y se mantuvo en la oscuridad por 16 h a temperatura ambiente. Luego, la mezcla se diluyó con metanol hasta que se obtuvo una absorbancia de 1 a 1.5. Después, se mezclaron 0.1 ml de cada extracto a diferentes concentraciones (0.1, 0.5, 1.0 y 2.0  $\text{mg ml}^{-1}$ ) con 3.9 ml de la solución ABTS<sup>•+</sup>. Finalmente, los valores de absorbancia se midieron en un espectrofotómetro (Spectro Max MD, EU) a una longitud de onda de 734 nm. La solución ABTS<sup>•+</sup> fue utilizada como testigo<sup>(27)</sup>.

## **Método del poder antioxidante reductor del hierro (FRAP)**

El reactivo FRAP se preparó mezclando 10 partes de solución amortiguadora de acetato de sodio (300 mM) a pH de 3.6, con una parte de TPTZ (10 mM) (2,4,6-tri (2-piridil)-s-

triazina) y una parte de  $\text{FeCl}_3$  hexahidratado (20 mM). Luego, se mezclaron 0.2 ml de extracto con 3.8 ml de reactivo FRAP y la mezcla se dejó reaccionar por 30 min a 37 °C. Finalmente, la absorbancia se midió en un espectrofotómetro (Spectro Max MD, EU) a una longitud de onda de 593 nm<sup>(27)</sup>.

### Análisis estadístico

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar de una vía al 95 % de confianza con tres repeticiones por tratamiento. La prueba de comparación de medias se realizó por Tukey-Kramer a un nivel de significancia de 0.05 y el coeficiente de correlación de Pearson se realizó con un 95 % de confianza. El software estadístico utilizado fue el NCSS versión 11.

### Resultados y discusión

Los resultados del análisis proximal de las plantas mostraron en E2 mayor humedad, menos sólidos totales y cenizas con respecto a la planta E1 ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 1), mientras que, no se encontraron diferencias en la cantidad de grasa y proteína de ambas plantas ( $P > 0.05$ ). Los resultados en la cantidad de humedad, sólidos totales y cenizas de este estudio son similares a los encontrados en plantas comestibles silvestres de Bangladesh y en plantas consumidas por tribus nativas de la India<sup>(28,29)</sup>. La variabilidad en los resultados se puede atribuir a factores biológicos, ambientales o la edad de las plantas<sup>(30)</sup>. Además, el contenido de humedad de las plantas podría depender de la humedad y de la temperatura del medio ambiente, así como de la época de cosecha de la planta, mientras que, el contenido de cenizas hace referencia a la parte inorgánica de la planta, donde se incluyen las sales (fosfatos, sulfatos, cloruros) y algunos minerales (sodio, potasio, calcio, magnesio, hierro y manganeso), y su cantidad puede depender del contenido mineral del suelo donde se encuentra establecida la planta<sup>(31)</sup>. Así mismo, los lípidos de las plantas se encuentran principalmente en forma de triacilgliceroles, fosfolípidos, galactolípidos y esfingolípidos, y su cantidad suele ser muy escasa en las plantas<sup>(30,32,33)</sup>, lo cual coincide con lo encontrado en las plantas E1 y E2, y con lo reportado en plantas de Bangladesh y de la India<sup>(28,29,30)</sup>. Aunque en este estudio no se encontró diferencia en la cantidad de lípidos entre las plantas E1 y E2 ( $P > 0.05$ ), se ha reportado que la variación en el contenido de lípidos puede depender de la especie y de las condiciones ambientales en las que se encuentre la planta<sup>(30,34)</sup>.

**Cuadro 1:** Análisis proximal de las plantas E1 y E2

Planta	Humedad	Sólidos totales	Cenizas	Grasa	Proteína
E1	61.53 ± 2.24 <sup>a</sup>	38.47 ± 2.23 <sup>a</sup>	5.74 ± 0.63 <sup>a</sup>	2.12 ± 0.12 <sup>a</sup>	11.98 ± 0.85 <sup>a</sup>
E2	68.22 ± 1.22 <sup>b</sup>	31.78 ± 1.13 <sup>b</sup>	4.56 ± 0.73 <sup>b</sup>	2.05 ± 0.15 <sup>a</sup>	11.17 ± 0.73 <sup>a</sup>

E1 = *Gnaphalium oxyphyllum*; E2 = *Euphorbia maculata*; Datos expresados en g 100 g<sup>-1</sup> de materia seca.

<sup>ab</sup> Diferente literal indica diferencia entre los datos de la misma columna ( $P < 0.05$ ).

Así mismo, el contenido de proteína de las plantas E1 y E2 fue similar a lo encontrado en plantas de hortalizas de hoja verde<sup>(35)</sup>, y se ha reportado que la cantidad de proteína en las plantas puede depender del estado fisiológico, edad, condiciones ambientales y nutrientes presentes en el suelo<sup>(36)</sup>. Por otro lado, el contenido de P, Na y K fue mayor en la planta E1 con respecto a la planta E2 ( $P < 0.05$ ), mientras que, el contenido de Mg fue mayor en la planta E2 ( $P < 0.05$ ) y no se encontraron diferencias en el contenido de Ca entre ambas plantas ( $P > 0.05$ ) (Cuadro 2). Estos resultados son similares a los encontrados en plantas de Irán e India<sup>(30,37)</sup>, y se ha reportado que la variabilidad en el contenido mineral de las plantas podría estar relacionada con la composición mineral del suelo, así como al área geográfica donde se encuentran establecidas las plantas<sup>(38)</sup>.

**Cuadro 2:** Contenido mineral de las plantas E1 y E2

Planta	Ca	P	Mg	Na	K
E1	1.12 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.33 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.21 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.63 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.23 ± 0.05 <sup>b</sup>
E2	1.15 ± 0.14 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.02 <sup>b</sup>	1.22 ± 0.33 <sup>a</sup>	1.07 ± 0.33 <sup>a</sup>

E1 = *Gnaphalium oxyphyllum*; E2 = *Euphorbia maculata*; Datos expresados en g 100 g<sup>-1</sup> de materia seca.

<sup>ab</sup> Diferente literal indica diferencia entre los datos de la misma columna ( $P < 0.05$ ).

Los resultados de la actividad antimicrobiana mostraron que los extractos E1 y E2 inhibieron el crecimiento de los cuatro patógenos evaluados ( $P < 0.05$ ) y la mayor inhibición se presentó cuando los patógenos fueron expuestos a 1 mg ml<sup>-1</sup> de cada extracto (Cuadro 3). Por otro lado, el extracto E1 fue más eficiente para inhibir a *S. aureus* y *L. monocytogenes* con respecto al extracto E2 ( $P < 0.05$ ), mientras que, ambos extractos no presentaron diferencias en la inhibición contra *E. coli* y *S. entérica* serovar Typhimurium. Resultados similares fueron reportados en el extracto de hexano de las flores de *Gnaphalium oxyphyllum*, el cual fue capaz de inhibir el crecimiento de *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* y *S. entérica* serovar Typhimurium, además, el extracto metanólico de esas flores inhibió el crecimiento de *S. aureus* y *B. cereus*, mientras que, el extracto de hexano de las hojas de *Gnaphalium oxyphyllum* presentó actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, *B. cereus* y *E. coli*<sup>(10)</sup>. En otro estudio se observó que los extractos de hexano y cloroformo de la parte aérea de *Gnaphalium oxyphyllum* inhibieron el crecimiento de *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli* y *Candida albicans*<sup>(12)</sup>. Además, se ha reportado que el extracto hidroetanólico de hojas de *Euphorbia maculata* mostró actividad antimicrobiana contra *S. aureus*<sup>(39)</sup>, mientras que, los extractos metanólicos de otras plantas del género *Euphorbia* mostraron actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, *Bacillus megaterium*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*, *Candida*

*glabrata*, *Epidermophyton* spp. y *Trichophyton* spp.<sup>(40)</sup>, lo cual se asemeja a lo encontrado en este estudio. La actividad antimicrobiana de los extractos se asocia con daño en la pared celular y disminución del pH citoplasmático en bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas, además, la actividad antimicrobiana de las plantas se le atribuye a una amplia variedad de metabolitos secundarios, como taninos, alcaloides, compuestos fenólicos, flavonoides, xantonas e hiperforina<sup>(41,42)</sup>.

En este contexto, los resultados mostraron que el contenido de fenoles totales, flavonoides totales, flavonas y flavonoles, ácido clorogénico total y polisacáridos totales fue mayor en el extracto E1 con respecto a E2 ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 4), mientras que, no se encontró diferencia en el contenido de flavanonas y dihidroflavonoles totales, y taninos totales entre el extracto E1 y E2 ( $P > 0.05$ ). Por otra parte, el extracto E1 presentó un pH de 4.18 y el extracto E2 de 5.26, mientras que, el rendimiento de los extractos de estas plantas varió de 12.24 a 15.68 %, respectivamente. Resultados similares fueron reportados por Rojas *et al*<sup>(12)</sup>, quienes reportaron rendimientos de 1.76 y 5.64 % en extractos de hexano y cloroformo de la planta *Gnaphalium oxyphyllum*. Las diferencias en el rendimiento de esta planta se pueden deber a la polaridad del tipo de solvente que fue utilizado para la extracción de los compuestos fitoquímicos. Además, la variación en el pH de los extractos de las plantas se puede deber al carácter ácido de los compuestos presentes, tales como, flavonoides, taninos, ácido benzoico, oleico, esteárico, lignocérico, entre otros<sup>(43)</sup>. En este sentido, se ha reportado que en *Gnaphalium oxyphyllum* y otras especies del género *Gnaphalium* se encontró la presencia de diterpenoides, flavonoides, compuestos acetilénicos y carotenoides<sup>(10,44)</sup>, mientras que, en *Euphorbia maculata* se ha reportado la presencia de polifenoles y flavonoides<sup>(45,46,47)</sup>, y en otras especies de *Euphorbia* se ha reportado la presencia de sesquiterpenos, diterpenos, esteroides, flavonoides y otros polifenoles<sup>(14)</sup>.

**Cuadro 4:** Perfil fitoquímico, pH y rendimiento de los extractos E1 y E2

Fitoquímicos	Extractos	
	E1	E2
Fenoles totales, mg Eq.AG g <sup>-1</sup>	181.62 ± 0.04 <sup>a</sup>	173.22 ± 0.06 <sup>b</sup>
Flavonoides totales, mg Eq.Q g <sup>-1</sup>	114.30 ± 0.05 <sup>a</sup>	103.42 ± 0.04 <sup>b</sup>
Flavonas y flavonoles, mg Eq.H g <sup>-1</sup>	110.15±2.35 <sup>a</sup>	98.33±2.44 <sup>b</sup>
Flavanonas y dihidroflavonoles totales, mg Eq.H g <sup>-1</sup>	23.68±1.89 <sup>a</sup>	21.58±2.16 <sup>a</sup>
Taninos totales, mg Eq.C g <sup>-1</sup>	8.21±0.16 <sup>a</sup>	7.92±0.67 <sup>a</sup>
Ácido clorogénico total, mg AC g <sup>-1</sup>	33.14±1.01 <sup>a</sup>	28.78±1.11 <sup>b</sup>
Polisacáridos totales, mg Eq.G g <sup>-1</sup>	257.92±2.19 <sup>a</sup>	236.59±2.16 <sup>b</sup>
pH del extracto	5.26	4.18
Rendimiento del extracto, %	12.24	15.68

E1 = *Gnaphalium oxyphyllum*; E2 = *Euphorbia maculata*.

<sup>ab</sup> Diferente literal indica diferencia entre los datos de la misma columna ( $P < 0.05$ ).

La actividad antioxidante de las plantas está asociada a la presencia de vitaminas, compuestos fenólicos, carotenoides, entre otros. Particularmente, en este estudio se encontró que los extractos E1 y E2 presentaron mayor actividad antioxidante por los métodos DPPH y FRAP cuando fueron evaluados a una concentración de 1 mg ml<sup>-1</sup> ( $P<0.05$ ) (Cuadro 5), mientras que, en el método ABTS se observó la mayor actividad antioxidante de los extractos E1 y E2 cuando fueron evaluados a una concentración de 0.5 mg ml<sup>-1</sup> ( $P<0.05$ ). A la fecha, no existe un método universal para medir la actividad antioxidante de las plantas debido a que los reactivos químicos utilizados por estos métodos no reaccionan igual con los diferentes tipos de antioxidantes presentes en las plantas. Por ejemplo, ABTS• reacciona con antioxidantes de carácter lipofílicos e hidrofílicos, lo cual permite que sea aplicable en sistemas acuosos y lipídicos, mientras que DPPH•, solo puede disolverse en un medio orgánico por lo reacciona bien con compuestos poco polares o no polares, y ambos métodos se basan en la capacidad de los antioxidantes para neutralizar radicales libres de referencia (ABTS• y DPPH•). Por lo anterior, en los extractos E1 y E2 podrían existir más compuestos fenólicos de carácter hidrofóbico que hidrofílico. Así mismo, el método FRAP se basa en la capacidad de los antioxidantes para reducir el ion férrico al estado ferroso y mide la capacidad antioxidante total de la muestra, lo cual evidencia la presencia de compuestos fenólicos en los extractos E1 y E2<sup>(48)</sup>. Estos resultados de la actividad antioxidante se asemejan a los reportados por Luyen *et al*<sup>(49)</sup>, quienes observaron alto poder antioxidante en los extractos metanólicos, acetato de etilo y acuosos de *Euphorbia maculata* utilizando el método ORAC, mientras que, en otros estudios se ha evidenciado la actividad antioxidante de las plantas del género *Euphorbia*, donde Basma *et al*<sup>(50)</sup> evaluaron la actividad antioxidante de hojas, tallos, flores y raíces de *Euphorbia hirta* mediante las técnicas DPPH y FRAP. Además, Upadhyay *et al*<sup>(51)</sup> encontraron actividad antioxidante en hojas de *Euphorbia hirta* por los métodos DPPH y FRAP, mientras que, Zhang *et al*<sup>(52)</sup> reportaron actividad antioxidante en tallos, raíces, semilla y cubierta de la semilla de *Euphorbia lathyris* utilizando los métodos DPPH y FRAP.

**Cuadro 5:** Actividad antioxidante de los extractos E1 y E2

Extracto (mg ml <sup>-1</sup> )	DPPH (mg Eq.Q g <sup>-1</sup> )		ABTS (mg Eq.Q g <sup>-1</sup> )		FRAP (mg Eq.FeSO4 g <sup>-1</sup> )	
	E1	E2	E1	E2	E1	E2
0.1	0.028±0.001 <sup>a</sup>	0.025±0.003 <sup>a</sup>	0.008±0.0001 <sup>a</sup>	0.005±0.0002 <sup>a</sup>	0.062±0.002 <sup>a</sup>	0.054±0.004 <sup>a</sup>
0.5	0.127±0.004 <sup>b</sup>	0.128±0.006 <sup>b</sup>	0.035±0.0002 <sup>b</sup>	0.032±0.0002 <sup>b</sup>	0.084±0.004 <sup>b</sup>	0.072±0.006 <sup>b</sup>
1	0.146±0.004 <sup>c</sup>	0.140±0.004 <sup>c</sup>	0.037±0.0002 <sup>b</sup>	0.035±0.0003 <sup>b</sup>	0.099±0.003 <sup>c</sup>	0.095±0.005 <sup>c</sup>
2	-	-	-	-	-	-

E1= *Gnaphalium oxyphyllum*; E2= *Euphorbia maculata*; (-)= no cuantificable.

<sup>ab</sup> Diferente literal indica diferencia significativa entre los datos de la misma columna y entre los tratamientos del mismo método ( $P<0.05$ ).

Finalmente, los métodos ABTS, DPPH y FRAP suelen utilizarse comúnmente para medir la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos por la alta correlación que se puede encontrar entre ellos. Por ello, se ha sugerido que no es necesario aplicar más de un método para medir actividad antioxidante; sin embargo, se ha reportado que no siempre

suele ser así, debido a la naturaleza de los fitoquímicos presentes en las plantas<sup>(27)</sup>. En este estudio se encontró un coeficiente de correlación alto ( $R^2$ ) entre los métodos DPPH, ABTS y FRAP (DPPH vs ABTS= 0.99; DPPH vs FRAP= 0.93; ABTS vs FRAP= 0.88), lo cual confirma la presencia de los compuestos fenólicos antioxidantes encontrados en los extractos E1 y E2, y evidencia la precisión de los métodos utilizados.

## Conclusiones e implicaciones

Los extractos de *Gnaphalium oxyphyllum* y *Euphorbia maculata* mostraron la presencia de los fitoquímicos fenoles totales, flavonoides totales, flavonas y flavonoles, flavanonas y dihidroflavonoles totales, taninos totales, ácido clorogénico total y polisacáridos totales. Además, ambos extractos presentaron actividad antimicrobiana contra bacterias patógenas Gram positivas y negativas, así como, actividad antioxidante por los métodos de DPPH, ABTS y FRAP. Por lo tanto, los extractos de las plantas nativas de Sonora, México *Gnaphalium oxyphyllum* y *Euphorbia maculata* representan una alternativa natural en la industria alimentaria y pecuaria para reducir el uso de compuestos químicos sintéticos.

## Agradecimientos

A la Universidad de Sonora y a la Universidad Estatal de Sonora por el apoyo en el uso de materiales e instalaciones, así como al Lic. Gerardo Reyna Cañez por su apoyo técnico. Este trabajo de investigación se realizó en colaboración con el proyecto UES-PII-20-UAH-IH-02.

## Literatura citada:

1. Aguilar CN, Ruiz HA, Rubio RA, Chávez-González M, Sepúlveda L, Rodríguez-Jasso RM, *et al.* Emerging strategies for the development of food industries. *Bioengineered* 2019;10(1):522-537.
2. Lillehoj H, Liu Y, Calsamiglia S, Fernandez-Miyakawa ME, Chi F, Cravens RL, *et al.* Phytochemicals as antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health. *Vet Res* 2018;49(1):1-18.
3. Mateos-Maces L, Chávez-Servia JL, Vera-Guzmán AM, Aquino-Bolaños EN, Alba-Jiménez JE, Villagómez-González BB. Edible leafy plants from Mexico as sources of antioxidant compounds, and their nutritional, nutraceutical and antimicrobial potential: A review. *Antioxidants* 2020;9(6):541.
4. Mata R, Figueroa M, Navarrete A, Rivero-Cruz I. Chemistry and biology of selected Mexican medicinal plants. *Prog Chem Org Nat Prod* 2019;108:1-142.
5. García de Alba GJE, Ramírez HBC, Robles AG, Zañudo HJ, Salcedo RAL, García de Alba VJE. Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Desacatos* 2012;39:29-44.

6. Moreno-Salazar SF, Verdugo AE, López CC, Martínez EB, Candelas TM, Robles-Zepeda RE. Activity of medicinal plants, used by native populations from Sonora, Mexico, against enteropathogenic bacteria. *Pharm Biol* 2008;46(10-11):732-737.
7. Ruiz-Bustos E, Velázquez C, Garibay-Escobar A, García Z, Plascencia-Jatomea M, Cortez-Rocha MO, *et al.* Antibacterial and antifungal activities of some Mexican medicinal plants. *J Med Food* 2009;12(6):1398-1402.
8. Robles-Zepeda RE, Velázquez-Contreras CA, Garibay-Escobar A, Gálvez-Ruiz JC, Ruiz-Bustos E. Antimicrobial activity of Northwestern Mexican plants against *Helicobacter pylori*. *J Med Food* 2011;14(10):1280-1283.
9. Robles-Zepeda RE, Coronado-Aceves EW, Velázquez-Contreras CA, Ruiz-Bustos E, Navarro-Navarro M, Garibay-Escobar A. *In vitro* anti-mycobacterial activity of nine medicinal plants used by ethnic groups in Sonora, Mexico. *BMC Complement Altern Med* 2013;13(1):329.
10. Villagómez-Ibarra JR, Sánchez M, Espejo O, Zúñiga-Estrada A, Torres-Valencia JM, Joseph-Nathan P. Antimicrobial activity of three Mexican *Gnaphalium* species. *Fitoterapia* 2001;72(6):692-694.
11. Ortega-Ramírez LA, Rodríguez-García I, Leyva JM, Cruz-Valenzuela MR, Silva-Espinoza BA, González-Aguilar GA, *et al.* Potential of medicinal plants as antimicrobial and antioxidant agents in food industry: a hypothesis. *J Food Sci* 2014;79(2):R129-R137.
12. Rojas G, Lévaro J, Tortoriello J, Navarro V. Antimicrobial evaluation of certain plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of respiratory diseases. *J Ethnopharmacol* 2001;74(1):97-101.
13. Kwon SU, Cha JY, Lee HY, Xin M, Ji SJ, Kim DK, *et al.* Chloroform fraction of *Euphorbia maculata* has antiplatelet activity via suppressing thromboxane B2 formation. *Mol Med Rep* 2015;11(6):4255-4261.
14. Salehi B, Iriti M, Vitalini S, Antolak H, Pawlikowska E, Kręgiel D, *et al.* Euphorbia-derived natural products with potential for use in health maintenance. *Biomolecules* 2019;9(8):337.
15. Skouta R, Morán-Santibañez K, Valenzuela CA, Vázquez AH, Fenelon K. Assessing the antioxidant properties of *Larrea tridentata* extract as a potential molecular therapy against oxidative stress. *Molecules* 2018;23(7):1826.
16. Arteaga S, Andrade-Cetto A, Cárdenas R. *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. *J Ethnopharmacol* 2005;98(3):231-239.

17. Khan A, Jan G, Khan A, Gul FJ, Bahadur A, Danish M. *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of *Ephedra gerardiana* (root and stem) crude extract and fractions. *Evid Based Complementary Altern Med* 2017;2017:1-6.
18. Al-Rifai A, Aqel A, Al-Warhi T, Wabaidur SM, Al-Othman ZA, Badjah-Hadj-Ahmed AY. Antibacterial, antioxidant activity of ethanolic plant extracts of some *Convolvulus* species and their DART-ToF-MS profiling. *Evid Based Complementary Altern Med* 2017;2017:1-9.
19. Popova M, Bankova V, Butovska D, Petkov V, Nikolova-Damyanova B, Sabatini AG, *et al.* Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochem Anal* 2004;15:235-240.
20. Price ML, Butler LG. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *J Agric Food Chem* 1977;25:1268-1273.
21. Griffiths DW, Bain H, Dale MFB. Development of a rapid colorimetric method for the determination of chlorogenic acid in freeze-dried potato tubers. *J Sci Food Agric* 1992;58:41-48.
22. DuBois M, Gilles K, Hamilton J, Rebers P, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem* 1956;28:350-356.
23. Heredia-Castro PY, Méndez-Romero JI, Hernández-Mendoza A, Acedo-Félix E, González-Córdova AF, Vallejo-Cordoba B. Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocin-like inhibitory substances produced by *Lactobacillus spp.* isolated from artisanal Mexican cheese. *J Dairy Sci* 2015;98:8285-8293.
24. AOAC. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Arlington, VA, USA: Association of Official Analytical Chemists. 2000.
25. Hernández AF, Mateos R, Mesa JAG, Beltrán G, Escobar RF. Determination of mineral elements in fresh olive fruits by flame atomic spectrometry. *Span J Agric Res* 2010;4:1183-1190.
26. Walsh MI, Metwally MES, Eid MI, El-Shaheny RN. Spectrophotometric determination of Risedronate and Etidronate in pharmaceutical formulations via the Molybdovanadate Method. *Anal Lett* 2009;42(11):1571-1587.
27. Chaves N, Santiago A, Alías JC. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants* 2020;9(1):76.
28. Satter MMA, Khan MMRL, Jabin SA, Abedin N, Islam MF, Shaha B. Nutritional quality and safety aspects of wild vegetables consume in Bangladesh. *Asian Pac J Trop Biomed* 2016;6(2):125-131.

29. Seal T, Pillai B, Chaudhuri K. Evaluation of nutritional potential of five unexplored wild edible plants consumed by the tribal people of Arunachal Pradesh State in India. *J Food Nutr Res* 2017;5(1):1-5.
30. Datta S, Sinha BK, Bhattacharjee S, Seal T. Nutritional composition, mineral content, antioxidant activity and quantitative estimation of water soluble vitamins and phenolics by RP-HPLC in some lesser used wild edible plants. *Heliyon* 2019;5(3):e01431.
31. Gopalan C, Sastri RBV, Balasubramanian SC. *Nutritive Value of Indian Foods*. National Institute of Nutrition, Indian Council of Medical Research, Hyderabad-500 007, India. 2004.
32. Suh MC, Hahne G, Liu JR, Stewart CN. Plant lipid biology and biotechnology. *Plant Cell Rep* 2015;34:517-518.
33. Haslam RP, Sayanova O, Kim HJ, Cahoon EB, Napier JA. Synthetic redesign of plant lipid metabolism. *Plant J* 2016;87(1):76-86.
34. Li Q, Shen W, Zheng Q, Fowler DB, Zou J. Adjustments of lipid pathways in plant adaptation to temperature stress. *Plant Signal Behav* 2016;11(1):e1058461.
35. Gupta S, Lakshmi AJ, Manjunath MN, Prakash J. Analysis of nutrient and antinutrient content of underutilized green leafy vegetables. *LWT-Food Sci Technol* 2005;38(4):339-345.
36. Datta S, Sinha BK, Bhattacharjee S, Seal T. Management of invasive alien species (IAS) of West Bengal via bioprospecting for a potential source of food supplement. *Int J Food Sci Nutr* 2018;3(2):89-94.
37. Rahmatollah R, Mahbobeh R. Mineral contents of some plants used in Iran. *Pharmacogn Res* 2010;2(4):267.
38. Stein RJ, Höreth S, de Melo JRF, Syllwasschy L, Lee G, Garbin ML, *et al*. Relationships between soil and leaf mineral composition are element-specific, environment-dependent and geographically structured in the emerging model *Arabidopsis halleri*. *New Phytol* 2017;213(3):1274-1286.
39. Borchardt JR, Wyse DL, Sheaffer CC, Kauppi KL, Ehlke RGFNJ, Biesboer DD, *et al*. Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *J Med Plants Res* 2008;2(5):098-110.
40. Kirbag S, Erecevit P, Zengin F, Guvenc AN. Antimicrobial activities of some *Euphorbia* species. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 2013;10(5):305-309.
41. Egamberdieva D, Wirth S, Behrendt U, Ahmad P, Berg G. Antimicrobial activity of medicinal plants correlates with the proportion of antagonistic endophytes. *Front Microbiol* 2017;9:199.

42. Manandhar S, Luitel S, Dahal RK. *In vitro* antimicrobial activity of some medicinal plants against human pathogenic bacteria. *J Trop Med* 2019;2019:1-5.
43. Ochoa PA, Marin MJ, Rivero BD, Saborít A. Caracterización física, físico-química y química de extractos totales de hojas frescas de *Petiveria alliacea* L. con acción antimicrobiana. *Rev Mex Cienc Farm* 2013;44(1):52-59.
44. Zheng X, Wang W, Piao H, Xu W, Shi H, Zhao C. The genus *Gnaphalium* L.(Compositae): phytochemical and pharmacological characteristics. *Molecules* 2013;18(7):8298-8318.
45. Agata I, Hatano T, Nakaya Y, Sugaya T, Nishibe S, Yoshida T, *et al.* Tannins and Related Polyphenols of Euphorbiaceous Plants. VIII. Eumaculin A and Eusupinin A, and Accompanying Polyphenols from *Euphorbia maculata* L. and *E. Supina* RAFIN. *Chem Pharm Bull* 1991;39(4):881-883.
46. Liu S, Jiang DS, Li L. Research on the total flavonoids' content and antioxidant activity of *Euphorbia maculata* and *Euphorbia humifusae*. *J Hunan Agric Univ* 2007;33(3):287.
47. Elmore CD, Paul RN. Phenolic deposits and kranz syndrome in leaf tissues of spotted (*Euphorbia maculata*) and prostrate (*Euphorbia supina*) spurge. *Weed Sci* 1983;31:131-136.
48. León MG, Osorio FMDR, Torrenegra ME, Gil GJ. Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Plectranthus amboinicus* L. *Rev Cubana Farm* 2015;49(4):708-718.
49. Luyen BTT, Tai BH, Thao NP, Lee SH, Jang HD, Lee YM, *et al.* Evaluation of the anti-osteoporosis and antioxidant activities of phenolic compounds from *Euphorbia maculata*. *J Korean Soc Appl Bi* 2014;57(5):573-579.
50. Basma AA, Zakaria Z, Latha YL, Sasidharan S. Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia hirta* L. *Asian Pac J Trop Med* 2011;4(5):386-390.
51. Upadhyay A, Chattopadhyay P, Goyary D, Mazumder PM, Veer V. *Euphorbia hirta* accelerates fibroblast proliferation and Smad-mediated collagen production in rat excision wound. *Pharmacogn Mag* 2014;10(39):534-542.
52. Zhang L, Wang C, Meng Q, Tian Q, Niu Y, Niu W. Phytochemicals of *Euphorbia lathyris* L. and their antioxidant activities. *Molecules* 2017;22(8):1335.

**Cuadro 3:** Actividad antimicrobiana de los extractos E1 y E2 contra bacterias Gram positivas y negativas

CONC	Gram positivas				Gram negativas			
	<i>S. aureus</i>		<i>L. monocytogenes</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. typhimurium</i>	
	E1	E2	E1	E2	E1	E2	E1	E2
0.1	8.43±0.42 <sup>Da</sup>	6.10±0.52 <sup>Ca</sup>	7.50±0.20 <sup>Ca</sup>	4.32±0.31 <sup>Ba</sup>	3.00±0.70 <sup>Aa</sup>	2.30±0.21 <sup>Aa</sup>	2.50±0.15 <sup>Aa</sup>	2.50±0.12 <sup>Aa</sup>
0.5	12.10±0.61 <sup>Eb</sup>	10.13±0.42 <sup>Db</sup>	9.50±0.36 <sup>CDb</sup>	8.11±0.43 <sup>Cb</sup>	5.50±0.70 <sup>Bb</sup>	4.20±0.32 <sup>ABb</sup>	3.50±0.20 <sup>Ab</sup>	3.50±0.14 <sup>Ab</sup>
1	16.00±0.32 <sup>Fc</sup>	14.00±0.36 <sup>Ec</sup>	13.24±0.43 <sup>Dc</sup>	10.34±0.41 <sup>Cc</sup>	8.50±0.70 <sup>Bc</sup>	8.10±0.34 <sup>Bc</sup>	5.52±0.40 <sup>Ac</sup>	6.52±0.22 <sup>Ac</sup>
2	16.22±0.28 <sup>Ec</sup>	14.10±0.51 <sup>Dc</sup>	13.53±0.38 <sup>Dc</sup>	10.40±0.36 <sup>Cc</sup>	8.55±0.70 <sup>Bc</sup>	8.30±0.41 <sup>Bc</sup>	5.54±0.32 <sup>Ac</sup>	6.54±0.32 <sup>Ac</sup>
3	16.31±0.53 <sup>Ec</sup>	14.23±0.39 <sup>Dc</sup>	13.56±0.41 <sup>Dc</sup>	10.48±0.38 <sup>Cc</sup>	8.57±0.70 <sup>Bc</sup>	8.35±0.42 <sup>Bc</sup>	5.56±0.45 <sup>Ac</sup>	6.55±0.31 <sup>Ac</sup>

CONC= concentración de los extractos (mg ml<sup>-1</sup>); E1= *Gnaphalium oxyphyllum*; E2= *Euphorbia maculata*; Datos expresados en mm de halo de inhibición.

Diferente literal en mayúscula indica diferencia significativa entre los datos en la misma fila y diferente literal en minúscula indica diferencia significativa entre los datos en la misma columna ( $P < 0.05$ ).