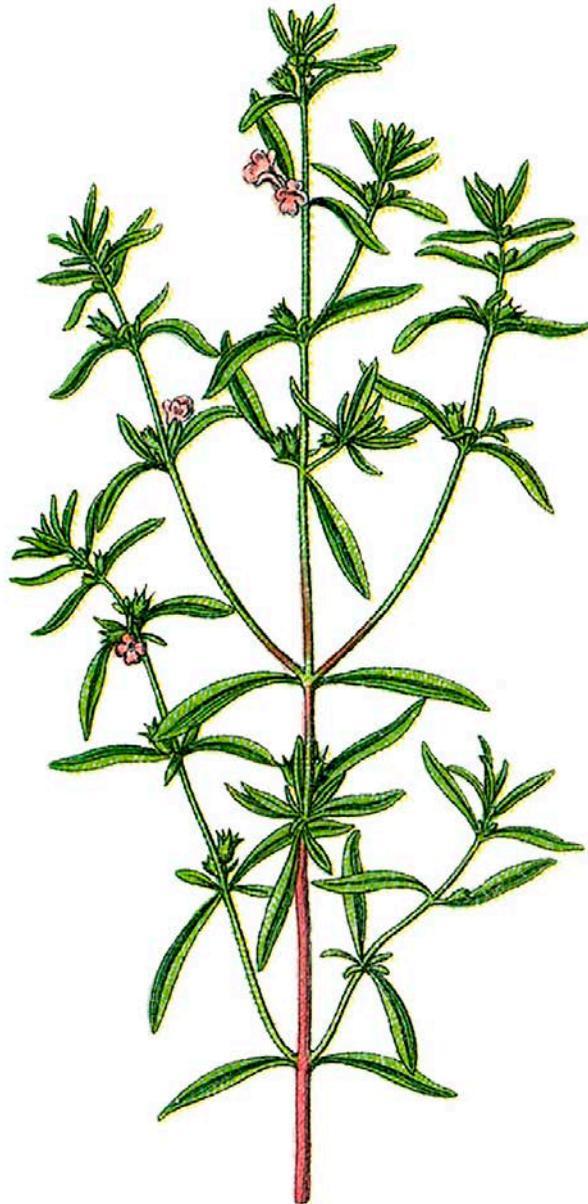


Dominguezia

Museo de Farmacobotánica
"Juan A. Domínguez"

Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires



Satureja hortensis L. (Lamiaceae)

Dominguezia

Vol. 37(2) - 2021

Director Responsable:

Dr. Marcelo Luis Wagner

Comisión Redactora:

Dr. Arnaldo L. Bandoni
Dr. Alberto A. Gurni
Dr. Marcelo L. Wagner

Comisión Científica Asesora:

Dr. Pastor Arenas (Instituto de Botánica Darwinion, Argentina)
Dr. Néstor Caffini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dra. María T. Camargo (Universidad de San Pablo, Brasil)
Dr. Rodolfo Campos (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. Salvador Cañigueral Folcará (Universidad de Barcelona, España)
Dr. Eduardo Dellacassa Beltrame (Universidad de la República, Uruguay)
Dra. Martha Gattuso (Universidad Nacional de Rosario, Argentina)
Dr. Héctor Alejandro Keller (Universidad Nacional del Nordeste, Argentina)
Dr. José Luis López (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dr. José María Prieto-García (University of London, Gran Bretaña)
Dr. Lionel G. Robineau (Universidad de las Antillas y de la Guyana)
Dra. Edda C. Villaamil (Universidad de Buenos Aires, Argentina)

Comisión Científica Honoraria:

Dr. Ramón A. de Torres (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Marta Nájera (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)
Dr. Otmaro Rosés (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. María L. Tomaro (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
Dra. Etilde Spegazzini (Universidad Nacional de La Plata, Argentina)

Editores Científicos:

Dr. Ignacio J. Agudelo
Dra. Graciela B. Bassols
Dra. Cecilia B. Dobrecky
Dr. José María Prieto-García
Dr. Rafael A. Ricco
Dra. Catalina M. van Baren
Dra. Beatriz G. Varela

Secretaría, Edición Electrónica y Webmaster:

Fernando Gabriel Ranea

Edición financiada por
el **Museo de Farmacobotánica “Juan Aníbal Domínguez”** y la **Cátedra de Farmacobotánica**,
Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires

Dominguezia se distribuye por canje con otras publicaciones dedicadas a temas afines.

This publication is sent to individuals or institutions by exchange with similar ones, devoted to
Pharmaceutical Botany, Pharmacobotany or related subjects.

Lámina de Tapa:

***Satureja hortensis* L. (Lamiaceae)**

Lámina extraída de Deutschlands Flora in Abbildungen (1796)

Incluida en el Directorio de LATINDEX por el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT - CONICET) con el número de Folio 2787 Dominguezia, y en SISBI, BVS MTCI Americas, CABI, LIS, UBL, PKP Index, Electronic Sites of Leading Botany, Plant Biology and Science Journals.
Providing links to the world's electronic journals.

Registro de la Propiedad Intelectual N° 5353064.

Se terminó de editar en diciembre de 2021.

Índice de contenido

| | |
|--|----|
| <i>Satureja boliviana</i> (Lamiaceae). Una puesta al día de “muña blanca” | 5 |
| María de los Ángeles Salcedo Ríos, Jorge R. Alonso | |
| Parámetros micrográficos en frutos de <i>Ficus carica</i> L. para controles de calidad en alimentos derivados | 13 |
| Leila A. Giménez, Nilda D. Vignale, Alberto A. Gurni | |
| Rendimiento, secado, almacenamiento y calidad de cálices de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. de Misiones (República Argentina) | 19 |
| Mercedes L. Stein, Ana E. Hanske | |
| Evaluación preliminar de la fitoquímica, actividad antibacteriana y toxicidad <i>in vitro</i> de <i>Lantana camara</i> L. (Verbenaceae) | 29 |
| María I. Aguado, Carola A. Torres, Carlos A. Vonka, María B. Nuñez | |

Index

| | |
|--|----|
| <i>Satureja boliviana</i> (Lamiaceae). An update of “muña blanca” | 5 |
| María de los Ángeles Salcedo Ríos, Jorge R. Alonso | |
| Identification of micrographic parameters in <i>Ficus carica</i> L. fruits for quality controls in derived food products | 13 |
| Leila A. Giménez, Nilda D. Vignale, Alberto A. Gurni | |
| Yield, drying, storage, and quality of calyxes of <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. from Misiones (Argentina) | 19 |
| Mercedes L. Stein, Ana E. Hanske | |
| Preliminary evaluation of the phytochemistry, antibacterial activity and toxicity <i>in vitro</i> of <i>Lantana camara</i> L. (Verbenaceae) | 29 |
| María I. Aguado, Carola A. Torres, Carlos A. Vonka, María B. Nuñez | |

***Satureja boliviana* (Lamiaceae). Una puesta al día de “muña blanca”**

María de los Ángeles Salcedo Ríos¹, Jorge R. Alonso^{2*}

¹ Universidad de Loyola (Bolivia). Miembro de la Sociedad Latinoamericana de Fitomedicina.

² Presidente de la Sociedad Latinoamericana de Fitomedicina. Docente de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: fitomedic@gmail.com

Resumen

Se realizó una búsqueda de documentación relacionada a las investigaciones de la composición fitoquímica, de los trabajos preclínicos y clínicos de la especie *Satureja boliviana* (Benth.) Brig. (Lamiaceae), para luego asociar sus actividades más representativas y presentarlas en grupos de acción. La búsqueda incluyó todos los estudios disponibles en internet, en revistas científicas y libros que documentan su efectividad, avalada en el uso por la medicina tradicional. Se encontraron 45 fuentes bibliográficas que fueron incluidas y se redactó la revisión en acápites correspondientes a sinonimias, descripción botánica, usos etnomedicinales, composición química, farmacodinamia, farmacocinética, toxicología, interacciones, contraindicaciones, estatus legal y formas de uso.

***Satureja boliviana* (Lamiaceae). An update of “muña blanca”**

Summary

A search for documentation related to investigations of phytochemical composition, preclinical and clinical works of the species *Satureja boliviana* (Benth.) Brig. (Lamiaceae) was carried out, to later associate their most representative activities and present them in action groups. The search included all the studies available on the internet in scientific journals and books, that document its proven effectiveness in use by traditional medicine. 45 bibliographic sources were found that were included and the review was written in sections corresponding to synonyms, botanical description, ethnomedicinal uses, chemical composition, pharmacodynamics, pharmacokinetics, toxicology, interactions, contraindications, legal status and forms of use.

Introducción

Se estima que existen en el mundo unas 250 mil especies vegetales, de las cuales sólo se conocen desde el punto de vista de sus actividades biológicas alrededor del 15 % y se consideran medicinales cerca de 25 mil especies en total (Alonso, 2020).

Teniendo en cuenta el escaso conocimiento de las especies que pueblan el planeta y la creciente demanda de la población sobre las plantas medicinales, es importante realizar estudios sistemático de estas especies que abarque todas aquellas ciencias relacionadas con la vida y el hombre: agronomía, antropología, bioética, biología, biotecnología, botánica, ecología, etnomedicina, farmacología, toxicología, entre otras. Del aporte de cada una de estas disciplinas se podrán obtener drogas vegetales o fármacos novedosos de importancia medicinal.

Este trabajo tiene por objeto poner al alcance de los profes-

sionales de la salud las últimas investigaciones que se viene desarrollando sobre *Satureja boliviana* (Benth.) Brig. (Lamiaceae) que se viene desarrollando en diferentes áreas incluyendo ensayos clínicos controlados. De esta manera, los sistemas de salud podrán contar con una monografía de una especie que potencialmente puede emplearse en la atención primaria de salud.

Nombre científico

Satureja boliviana (Benth.) Brig. (Lamiaceae)

Sinonimias

Clinopodium bolivianum Kuntze, *Clinopodium kuntzeanum* Kuntze, *Micromeria boliviana* Benth., *Micromeria boliviana*

Palabras clave: “muña blanca” – “muña” – *Satureja boliviana* – *Helicobacter pilory*.

Key words: “muña blanca” – “muña” – *Satureja boliviana* – *Helicobacter pilory*.

Benth. var. *angustifolia* Weddel, *Satureja brevicalyx* Epling, *Satureja kuntzeana* Briq.; *Xenopoma bolivianum* Gris.

Nombres populares

Español: *muña blanca, inca muña, Martín muña, orégano de los incas, té de los incas, té del indio.*

Quechua y otras lenguas nativas: *cjuñuca, cjuñu muña, k'oa, kha, konoc, Q'oa, pichysuisa, sacha muña, saiqa muña, urqu muña, wayra muña, yurac muña.*

Descripción botánica

Se trata de un arbusto perennifolio, erguido de 1,0 a 1,5 metros de altura, aromático y pubescente. Presenta tallos cuadrangulares, glabros. Hojas muy pequeñas, espatuladas, sésiles, verticiladas, compuestas y opuestas, de margen entero. Las flores son blancas, abundantes después de la estación lluviosa, solitarias, axilares, tetrámeras, bilabiadas; cáliz gamosépalo; corola gamopétala; androceo con estambres didínamos; gineceo con ovario súpero, estilo apical y estigma simple. El fruto es una drupa oblonga, de 1,5 mm de longitud (Reynel, 1988; Orfila y Farina, 1996).

La época de floración es diferente en cada zona ya que está influenciada por las condiciones climáticas en las que se desarrolla. En las zonas cercanas a los lagos la especie cobra mayor porte (Cachuta Quispe, 2010). En la ciudad de La Paz, en la zona de Cota Cota y Alto Ovejuno, se observó la floración desde el mes de julio a octubre y la semilla a partir de ramas con flores secas desde agosto (Santa Cruz, 2004). En otras regiones puede florecer entre primavera e inicios del verano. Se reproduce en forma natural a través de semillas, como también desde la base de la raíz. No se tiene mayores informaciones relacionadas acerca de su germinación ni de otro tipo de propagación que no sea la de semillas (Torrice y col., 1994).

Figura 1.- *Satureja boliviana* (Benth.) Brig. (Lamiaceae)



Hábitat - Distribución geográfica

La especie es endémica de las regiones altoandinas sureñas de Perú y Bolivia, especialmente en los departamentos de La Paz (localidades de Larecaja, Sorata, Achacachi, Tiahuanacu, Huarina, Copacabana, Zongo, Villa Fátima y Unduavi), Oruro y Potosí (Salcedo, 1980; Cachuta Quispe, 2010). En el valle de La Paz, puede encontrarse en varios sectores, por ejemplo, al norte en las partes bajas del valle de Kaluyo, Chuquiaguillo, Cerro Calvario y en el noreste de la ciudad de La Paz. También es común encontrarla en las laderas relativamente cálidas y pedregosas que se ven bajando del Alto hacia Achocalla (Beck y García, 1991). Se la encuentra por lo general en altitudes comprendidas entre los 2.700 m.s.n.m. a 3.300-3.800 m.s.n.m (máximo 4.000 m.s.n.m).

Tiene predilección por las laderas de suelos areno-arcillosos y pedregosos, así como taludes de carreteras, en las cercanías de muros y pideras, formando matorrales densos, frecuentemente acompañada de la especie *Calceolaria parviflora* Gillies ex Benth. (Lamiaceae) (Cachuta Quispe, 2010; Salcedo, 1980). En la Argentina habita la región del noroeste y parte de Cuyo, en las provincias de Tucumán, Salta, Jujuy y San Luis (Balderrama, 1988).

Adulterantes

Generalmente no hay adulteraciones, sino más bien confusiones con otras “muñas” como es el caso de *Minthostachys mollis* (Benth) Griseb. (Lamiaceae) (“peperina” en la Argentina) o con *Minthostachys spicata* (Benth) Epling, que en términos cuali-cuantitativos y de rendimiento del aceite esencial, es superada por *Satureja boliviana* (Tejada Rodríguez, 1990).

Usos etnomedicinales

Esta planta ha sido empleada durante centurias a través de varios usos. La infusión o cocimiento de su parte aérea (especialmente la sumidad florida) para el tratamiento de dolores de estómago, indigestiones, acidez, meteorismo y cólicos intestinales (Salcedo, 1980; De Lucca y Zalles, 1992). La infusión también es indicada para tratar el apunamiento, cefaleas, mareos, resfríos (machacando las hojas para luego olerlas) y parásitos intestinales. En las mujeres aliviaría los dolores menstruales (Teodoro, 2003). Los baños hechos con la decocción de *Satureja boliviana* son considerados como remedio eficaz para la anemia y el raquitismo infantil (Urrunaga Soria y col., 1995). Popularmente aconsejan consumirla como mate a las mujeres en el momento del parto (Orfila y Farina, 1996). En altas dosis se ha indicado como abortiva (De Lucca y Zalles, 1992; Figueroa y col., 1995).

Los Kallawayas (curanderos originarios de la provincia de Bautista Saavedra en el Dpto. de La Paz) utilizan medicinalmente *Satureja boliviana* de la siguiente manera: las hojas frescas, molidas y hervidas en forma de cataplasma para el tratamiento del reumatismo (Teodoro, 2003); en decocción para eliminar parásitos intestinales en los niños; mezcladas con las hojas de *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) en decocción contra la migraña, mareos, "soroche" (mal de altura o de montaña); también emplean las hojas y flores para envolver la carne y el pescado, y así evitar su descomposición. Las hojas y flores frescas en infusión tres veces al día como estomáquico; con polvo de alumbre en infusión para lavar las heridas infectadas; las hojas y flores frescas o secas quemadas para sahumeros como insecticidas en las casas; frescas, en decocción muy caliente (sin endulzar) como sudorífico en caso de fiebres benignas (Girault, 1987; 1995).

Otros usos

Las raíces forman parte de las ceremonias mágico-religiosas de la cultura Aymara, incluyendo sahumeros. La parte aérea se utiliza como especie condimentaria (da sabor a los pescados) y en la preparación de comidas (*wallaque*). La hierba fresca es usada para cocinar la sopa de *chuñu* (sopa hecha de papas deshidratadas). También en la fabricación de utensilios (escobas), como repelente de insectos, para el establecimiento de barreras o cercos vivos y para la estabilización de muros empircados. Los tubérculos almacenados preservan del ataque de gusanos [*Premnotrypes* spp. (Coleoptera-Curculionidae), "gorgojo de los Andes"] y hongos, especialmente en la conservación de papas (al lado del "*ichu*" = *Festuca* spp. -Poaceae-) y cultivos de "quinua" (*Chenopodium quinoa* Willd. -Amaranthaceae-) (Salgueiro y col., 2006; Cachuta Quispe, 2010).

Parte utilizada

Hojas, sumidades floridas (Salcedo, 1980; De Lucca y Zalles, 1992; Oblitas, 1992).

Historia

"Muña" fue una especie muy empleada por las diferentes comunidades andinas desde épocas precolombinas, siendo utilizada para la conservación de tubérculos y granos, para la recuperación y conservación de suelos, en construcciones rurales, en la elaboración de herramientas, artesanías, como medicina tradicional y para la alimentación (Cachuta Quispe, 2010).

Composición química

Parte aérea

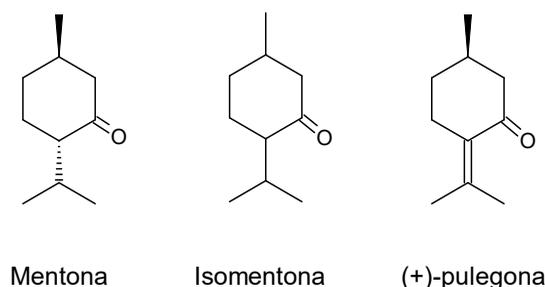
Compuestos fenólicos. En los análisis de las partes aéreas (principalmente de especímenes colectados en la provincia de Tucumán, República Argentina), los compuestos fenólicos mayoritarios fueron: kaempferol 3-O-glucósido, kaempferol 3-O-xilosil glucósido, kaempferol 7-O-ramnósido, quercetina 3-O-soforósido y ácido ursólico (Lizárraga y Abdala, 2004; Mamani Cuenca, 2011). En ejemplares de Perú se han hallado compuestos fenólicos con similitud a los derivados de ácidos hidroxicinámicos del tipo cafeico, *p*-cumárico, flavanonas del tipo eriodictiol y flavonoles tipo rutina, haciendo un total de compuestos fenólicos de 2,89 mg/g (Yapuchura, 2010).

Aceite esencial (0,22 - 1,03 %). A través del método de destilación por arrastre de vapor de agua se han obtenido unos 35 compuestos, de los cuales 97,1 % corresponde a: monoterpenos oxigenados (74,8 %), hidrocarburos sesquiterpénicos (16 %), hidrocarburos monoterpénicos (4,1 %) y sesquiterpenos oxigenados (1,5 %). De los monoterpenos oxigenados los componentes mayoritarios fueron pulegona (27,2 %), linalol (20,3 %), mentona (11,1 %), isomentona (8,3 %), *cis*-isopulegona (2,7 %), *trans*-isopulegona (0,9 %), carvacrol (0,6 %), timol (0,6 %) y α -terpineol (0,5 %).

Entre los hidrocarburos sesquiterpénicos destacan: biciclogermacreno (8,2 %), β -cariofileno (6,5 %) y bicicloelemeno (0,5 %). Entre los hidrocarburos monoterpénicos se identificaron: *p*-cimeno (2,0 %), limoneno (0,7 %) y γ -terpineno (0,6 %). Por último, entre los sesquiterpenos oxigenados (1,5 %) aparece principalmente el espatulenol (0,8 %) (Acurio Usca, 1993; Urrunaga Soria y col., 1995; Carhuapoma Yance, 2007).

En ejemplares obtenidos en la Argentina, el estudio por cromatografías de gases acoplada a espectrometría de masas y cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-MS y GC-FID, por sus siglas en inglés) determinó la presencia de γ -terpineno, β -cariofileno, germacreno-D, biciclogermacreno, 1,8-cineol y linalool (Viturro, 2000). Respecto al aceite esencial obtenido de la planta entera fresca por arrastrarse de vapor de agua, mostró ser traslúcido, con aspecto límpido, de olor característico a menta y sabor alcanforado (Torres Mamani, 2012).

Estudios previos (Balderrama, 1988) habían hallado que el aceite esencial de *Satureja boliviana* presenta mayoritariamente mentol y un alto contenido en mentona, lo cual representaría el 50 % del total de la esencia. Al respecto, por el método de destilación por arrastre de vapor de agua se halló que la fracción de punto de ebullición 90 °C presenta más del 90 % de mentona, mientras que la fracción de 110 °C es una mezcla de mentona y mentol. Estas divergencias pueden obedecer a diferentes factores (altitud, época del año, región, periodo vegetativo, entre otros). Por ejemplo,

Figura 2.- Principales monoterpenos oxigenados

en Oruro (Altiplano, 3,700 m.s.n.m.) se analizó el aceite esencial obtenido por hidrodestilación mediante cromatografías de gases (GC) y GC-MS. Los resultados indicaron baja presencia de sesquiterpenos (9,2 %) y gran presencia de monoterpenos (81,5 %), entre los que destacaron: pulegona (41,8 %), alfa-felandreno (11,2 %) y mirceno (8,1 %) (Salgueiro y col., 2006). En ejemplares recolectados en Jujuy (Argentina) el rendimiento del aceite esencial se situó entre 0,22 % y 0,31 %, destacando la presencia de los sesquiterpenos hidrocarbonados E-cariofileno y germacreno-D como componentes mayoritarios (Viturro y col., 2007).

Otros compuestos de interés. En extractos hidroalcohólicos se ha evidenciado la presencia de resinas, azúcares reductores, catequinas, lactonas sesquiterpénicas, triterpenos, esteroides, saponinas, taninos, flavonoides (Carhuapoma Yance, 2007; Lizárraga y Abdala, 2004; Mamani Cuenca, 2011).

Farmacodinamia - Acciones farmacológicas

La mayoría de los estudios realizados con esta especie se centran en la actividad antimicrobiana de los componentes del aceite esencial y de los extractos (especialmente sobre *Helicobacter pylori*), así como de los efectos benéficos en el área digestiva e inflamación, en concordancia con su uso tradicional. Merece destacarse, además, la actividad antioxidante y el efecto ansiolítico del aceite esencial demostrado este último por medio de un ensayo clínico.

Estudios preclínicos

Actividad antibacteriana. Se demostró actividad antibacteriana *in vitro* frente a *Salmonella enteritidis*, acción atribuida a los monoterpenos de la especie (Figuroa y col., 1995). El aceite esencial en dosis de 7,5 mg/ml inhibió *in vitro* el crecimiento de *Sigella flexnerii* (Flores y col., 1999). Estudios *in vitro* mostraron que tanto el eugenol como el cinamaldehído del aceite esencial (en concentraciones de 2 µm/ml) ejercen actividad inhibitoria frente a *Helicobacter pylori* (Ali y col., 2005).

De modo similar, otro estudio *in vitro* demostró una buena actividad anti-*Helicobacter pylori* de parte del aceite esencial, en esta instancia comparado al accionar de amoxicilina, uno de los antibióticos de elección frente a esta bacteria. A medida que se incrementa la concentración del aceite esencial, la actividad inhibitoria fue *in crescendo*. A 10 µg/mL el porcentaje de inhibición alcanzó el 33,33 %, mientras que con 50 µg/mL logró el 45,45 %. La concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM), se determinó en 1,00 µg/mL y 2,00 µg/mL, respectivamente, frente a 0,02 µg/mL que requirió el antibiótico amoxicilina (Carhuapoma Yance, 2009). Por su parte, los extractos diclorometano, hidroalcohólico y acuoso de las partes aéreas secas de *Satureja boliviana* demostraron actividad anti-*Helicobacter pylori*, mediante el método de difusión de discos de cultivo bacteriológico, de cuatro cepas aisladas de biopsias de pacientes con patologías gástricas. La actividad de los extractos fue determinada según el halo de inhibición (Claros y col., 2007).

Se constató que el extracto acuoso no ejerce actividad antimicrobiana *in vitro* frente a *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ni *Salmonella enteritidis*. Solo hubo una respuesta moderada frente a *Shigella sonnei*. Tampoco resultaron efectivos frente a los mismos microorganismos, el extracto clorofórmico y las fracciones de n-hexano, salvo una moderada actividad frente a *S. aureus*. En cambio, el extracto total (etanólico) de flavonoides de la parte aérea mostró actividad inhibitoria *in vitro* frente a todos los gérmenes precedentes, mostrando una CIM = 5 mg/mL, excepto sobre *Shigella flexneri* cuya CIM fue de 10 mg/mL. En tanto, la fracción acetato de etilo demostró una buena actividad inhibitoria contra *S. aureus* y *Shigella sonnei*, la cual fue comparable a la ejercida por antibióticos frecuentemente utilizados frente a estos gérmenes (Hernández y col., 2001; 2005).

Actividad antimicótica. El extracto hidroalcohólico de las hojas y los tallos, así como el aceite esencial, demostraron actividad inhibitoria *in vitro* frente a *Candida albicans*, siendo la nistatina la droga control. Al respecto, el aceite esencial mostró mayor halo de inhibición (empleando una concentración del 10 %), siendo esta actividad menor a la ejercida por el extracto hidroalcohólico (al 0,5 %). En ambos casos los efectos inhibitorios fueron inferiores a los demostrados por la nistatina. La CIM y la CFM (Concentración Fungicida Mínima) para el aceite esencial fueron de 1,198 mg/ml y 2,396 mg/ml respectivamente; en tanto que para el extracto hidroalcohólico la CIM y la CFM fueron de 0,046 mg/ml y 0,093 mg/ml respectivamente. Por todo esto se concluye que el extracto hidroalcohólico de "muña blanca" posee mayor actividad anticandidiásica que el aceite esencial de dicha planta (Carhuapoma Yance, 2007; Montes Casavilla, 2013).

El aceite esencial, extraído por arrastre de vapor en agua, demostró efecto antimicótico *in vitro* frente a *Neu-*

rospora crassa (Figueroa y col., 1995). El estudio realizado por Salgueiro y col. (2006) determinó una actividad antimicrobica *in vitro* del aceite esencial (ejemplares obtenidos en Oruro, 3700 m.s.n.m.) frente al dermatofito *Trichophyton rubrum* con una CIM = 0,64 µL/mL.

Actividad antiviral, molusquicida e insecticida. Se constató la actividad antiviral *in vitro* de los extractos etanólico y acuoso (especialmente este último) contra herpes simple tipo I (HSV-1) y el virus de la estomatitis vesicular (VSV) (Abad y col., 1999). Pruebas sobre pulgones y moluscos reportaron para el aceite esencial (en concentraciones de 200 ppm) actividad inhibitoria significativa (Cachuta Quispe, 2010). El aceite esencial demostró actividad insecticida frente a larvas de *Aedes aegypti* lo cual estaría relacionado con la presencia de los monoterpenos, anetol y nerolidol. Dicho aceite presentó altos porcentaje de actividad insecticida sobre larvas y huevos de *Triatoma infestans*, vector de la enfermedad de Chagas (Beck y col., 1999; Santa Cruz, 2004).

Actividad digestiva. Uno de los principales usos medicinales de esta especie es en el área digestiva. En tal sentido se comprobó actividad antiespasmódica sobre el intestino aislado de cobayo, a partir de una infusión acuosa al 5 % de las hojas y sumidades floridas (al modo del uso tradicional), la actividad antiespasmódica es algo menor a la demostrada por N-butilbromuro de hioscina (Diez, 2002). El aceite esencial, en concentración del 5 %, redujo la amplitud y frecuencia de las contracciones inducidas experimentalmente en el músculo liso del íleon del roedor *Cavia porcellus* (Salvador y col., 2015). La actividad inhibitoria reportada sobre *H. pilory* (reportada en ítems anteriores) sumado a la actividad gastroprotectora demostrada por los ácidos oleánico y ursólico, contribuyen a reforzar su uso popular en los casos de gastritis y reflujo (Ali y col., 2005; Claros, 2007).

Se realizó un *screening* para determinar la actividad citoprotectora, en el modelo de inducción de úlceras por etanol, sobre mucosa gástrica de roedores a partir de las partes aéreas de *S. boliviana*. El extracto etanólico fue el que demostró la mayor actividad, identificándose en él los compuestos ácido rosmarínico, éster metílico del ácido rosmarínico, hiperósido e isoquercitrósido como los máximos responsables de dicho efecto (Gonzales Dávalos, 1997). En tanto, los ácidos ursólico, oleanólico y maslínico mostraron, a nivel experimental, mecanismos de hepatoprotección mediante la inhibición de la actividad tóxica de xenobióticos y activación del sistema inmune del organismo (Lui, 2005).

Actividad antioxidante. El extracto acuoso liofilizado de las hojas de "muña blanca" posee capacidad de captación de los radicales libres comparable a la vitamina C. Además, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de lipoperoxidación, glutatión y proteínas hepáticas, utilizados como medida de estrés oxidativo (Palomino, 2005).

Estudios efectuados en ratas en condiciones de hipoxia e hipoxia experimental, demostraron que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Satureja boliviana* ejerce una disminución significativa de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), lo cual es sugerente de un efecto neuroprotector, mediado por la mitigación de la lipoperoxidación como parámetro del daño oxidativo, y con la participación del glutatión total y SOD (superóxido dismutasa) como mecanismos antioxidantes. Entre las moléculas responsables de la actividad antioxidante destacan los compuestos fenólicos, los cuales al tener grupos hidroxilo e insaturaciones, permiten interactuar con los electrones despareados de los radicales libres, neutralizando así su alta reactividad tóxica (Arias-Rodríguez y col., 2012).

Actividades analgésica y antiinflamatoria. El extracto hidroalcohólico de las sumidades floridas mostró actividad antiinflamatoria y analgésica en los animales de experimentación, en dosis de 400 mg/kg de peso, siendo dicha actividad similar a la demostrada por el ácido acetilsalicílico e inferior a la del ketorolac (Soto Vásquez, 1999). Por su parte, los extractos diclorometánicos y hexánicos de partes aéreas de *Satureja boliviana* mostraron actividad antiinflamatoria en roedores, en el modelo de inducción de edema de pata por carragenina (Gonzales Dávalos, 1997). En tanto, el ácido ursólico mostró efectos antiinflamatorios en roedores en dosis de 5 mg/kg (Mamani Cuenca, 2011).

En otro estudio se evaluó el efecto del extracto liofilizado de *Satureja boliviana* sobre la respuesta inflamatoria inducida por el aceite de crotón, en el modelo de oreja de ratón. Los animales fueron divididos en seis grupos y testeados versus fármacos de referencia: el primer grupo recibió aceite de crotón; el segundo indometacina (1 mg/oreja); el tercero dexametasona (0,08 mg/oreja); al cuarto grupo se le aplicó gel de diclofenac (0,1 ml/oreja), al quinto grupo se le aplicó el extracto liofilizado (26 mg/oreja) y al sexto grupo se le aplicó un gel de extracto de *Satureja boliviana* (0,1 ml/oreja). Los resultados mostraron que los animales que tuvieron como tratamiento al extracto liofilizado de *Satureja boliviana* obtuvieron una reducción significativa en el peso del tejido, con un 40 % de inhibición de la inflamación. El grupo tratado con gel de *Satureja boliviana* obtuvo un 45 % de inhibición de la inflamación. Estos resultados constituyen una evidencia del efecto antiinflamatorio de la "muña" en concordancia a su uso tradicional (Limachi Viadez y col., 2011).

Oncología experimental. El extracto acuoso de las partes aéreas demostró una fuerte actividad antitumoral, en ensayos *in vitro*, en los modelos A2058 (melanoma metastásico humano), HEP-2 (carcinoma epidermoide humano de laringe), L5178Y (linfoma de ratón) y otras líneas celulares. Aplicado a una concentración de 80 mg/ml redujo la supervivencia celular en 1,0; 5,6 y 6,6 %, respectivamente. Las concentraciones del extracto acuoso que lograron inhibir el crecimiento de las líneas tumorales A2058, HEP-2 y células L5178Y en un

50 % (valores de CI_{50}) se calcularon en 20,0; 10,0 y 17,8 mg/ml, respectivamente. Se detectaron dos grupos de sustancias activas, la primera, probablemente derivada de la combinación de glucósidos, con adhesión influenciada, mientras que la segunda causó vacuolización celular masiva. El extracto de cloroformo, el cual contenía ácido ursólico y gentriacotano, exhibió también efecto citotóxico, aunque un poco más débil (Dzhambazov y col., 2012).

Es interesante destacar que los ácidos ursólico (en modo principal) y oleanólico actúan en varios estadios del desarrollo de las células tumorales (por ejemplo, sobre células de leucemia mieloide crónica y linfomas tanto humanos como de roedores), incluyendo inhibición de tumor, inhibición de los promotores tumorales y de las metástasis (Chiang y col., 2003; Ovesná y col., 2006) e inhibición de la angiogénesis (Shon y col., 1995).

Ensayos clínicos

Se llevó a cabo un estudio para el control de la ansiedad, mediante el empleo de meditación por la técnica de *mindfulness* y el uso del aceite esencial de *Satureja boliviana* mediante inhalación. Se observó una disminución de la ansiedad en la fase de estudio posterior a la prueba (en comparación con la prueba previa) en todos los grupos experimentales ($p < 0,005$), especialmente en aquellos en los que la aromaterapia y la meditación se usaron juntas. Las puntuaciones de la escala de Cohen fueron > 1 , lo que significa un efecto ansiolítico significativo. Los porcentajes de reducciones de la variable ansiedad oscilaron entre el 20 % y el 47 % (Soto Vásquez y Alvarado García, 2016).

Farmacocinética

No se han llevado a cabo estudios en esta área.

Toxicidad - Efectos adversos

La citotoxicidad del aceite esencial de "muña blanca" fue analizado estadísticamente por el programa Probit, presentando una concentración letal media (CL_{50}) de 13.354 g/mL, con un intervalo de confianza del 95 % entre 2.517 mg/mL y 70.832 mg/mL. El ensayo de toxicidad oral en roedores reportó una dosis letal media (DL_{50}) de 655.263 mg/kg, con un intervalo de confianza del 95 % entre 256.308 y 1675.209 mg/kg (Carhuapoma, 2007).

Contraindicaciones

No está demostrada la seguridad de su empleo en el embarazo, especialmente teniendo en cuenta los niveles de

aceite esencial de las partes aéreas, y su empleo folclórico como abortivo y favorecedor del parto en las últimas semanas del embarazo (De Lucca y Zalles, 1992).

Interacciones medicamentosas

No se señalaron al momento.

Estatus legal

La planta no se encuentra dentro del listado de "Recursos Naturales Aceptados" de Bolivia, enmarcados en el reglamento de la Ley del Medicamento N° 1737 promulgada el 17 de diciembre de 1996.

Formas galénicas

Infusión: Popularmente se emplea una cucharada mediana de la droga vegetal para una taza de agua hervida. Se deja reposar de tres a cinco minutos, para luego colarlo. Se bebe una taza cada ocho horas después de las comidas (como digestivo). Asimismo, se emplea la infusión de un trozo de hoja (del tamaño del dedo meñique) sumado a una ramita de la planta (del mismo tamaño), para un jarro de agua hirviendo. Se toma a razón de dos veces al día, para combatir los cólicos renales (Salcedo, 1984).

Referencias bibliográficas

- Abad, M.; Bermejo, P.; Gonzáles, E.; Iglesias, I.; Irurzun, A.; Carrasco, L. (1999). "Antiviral activity of Bolivian plant extracts". *Gen Pharmacol.* 32 (4):499-503.
- Acurio Usca, L. (1993). "Obtención y Ensayos Físico-Químicos en el Aceite Esencial de *Satureja boliviana*". Tesis para optar el título profesional de Químico. UNSAAC.
- Ali, M.; Khan, A.; Tiwari, S.; Ahmed, N.; Rao, L.; Habibullah, C. (2005). "Association between cag-pathogenicity island in *Helicobacter pylori* isolates from peptic ulcer, gastric carcinoma, and non-ulcer dyspepsia subjects with histological changes". *World J Gastroenterology* (43): 6815-6822.
- Alonso, J. (2020). *Tratado de fitomedicina y nutraceuticos*. Corpus, Ciudad Autónoma de Buenos Aires: 1116.
- Arias-Rodríguez, R.; Toma-Zárate, J.; Aguilar-Felices, E.; Ramírez-Roca, E.; Shimabuku-Azato, R.; Suárez-Cunza, S. (2012). "Neuroprotección del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Satureja brevicalyx* ('wayra muña') en un modelo animal de hiperoxia e hipoxia-isquemia". *Anales de la Facultad de Medicina* 73 (3): 215-220.
- Balderrama, L. (1998). *Contribución al estudio químico de la Satureja boliviana*. Tesis de grado. UMSA. Facultad de Ciencias Puras y Naturales. Departamento de Química, La Paz, Bolivia.

- Beck, S.G.; García, E. (1991). "Flora y vegetación en los diferentes pisos altitudinales" en E. Forno & M. Boudin (eds.) *Historia natural de un valle en los Andes: La Paz*. Instituto de Ecología Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia: 59-108.
- Beck, S.; Paniagua, N.; Paz, C. (1999). "Potencialidades de los recursos fitogenéticos nativos de Bolivia". *Segunda reunión boliviana sobre recursos fitogenéticos de cultivos andinos*. La Paz, Bolivia.
- Cachuta Quispe, R. (2010). *Caracterización y uso de la Q'oa (Satureja boliviana) en tres localidades del norte de La Paz (Bolivia)*. Tesis para optar al grado académico de Magister Scientiae en Agricultura Andina con mención en Agroecología. Universidad Nacional del Altiplano.
- Carhuapoma Yance, M. (2007). *Composición química, actividad anti-Helicobacter pylori y antioxidante del aceite esencial de Satureja brevicalyx Epling "urqu muña"*. Tesis para optar al grado académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor San Andrés, Lima, Perú.
- Carhuapoma Yance, M. (2009). Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb 'ruyaq muña'. *Ciencia e Investigación* 12 (2): 83-89.
- Chiang, L.; Chiang, W.; Chang, M.; Lin, C. (2003). "Antileukemic activity of selected natural products in Taiwan". *American J Chinese Med* 31 (1): 37-46.
- Claros, M.; Bilbao, P.; Damiani, E.; Gonzáles, E. (2007). "Actividad anti-*Helicobacter pylori* de *Plantago major*, *Clinopodium bolivianum*, *Calendula officinalis*, *Piper angustifolium* por el método de difusión de disco". *Biofarbo* 15: 37-42.
- De Lucca, D.; Zalles, A. (1992). *Satureja boliviana. Flora medicinal boliviana*. Editorial Los amigos del libro, La Paz, Bolivia: 335.
- Diez, M. (2002). *Efecto antiespasmódico de la wayra muña Satureja brevicalyx Epling sobre intestino aislado de cobayo*. UNSCH, Ayacucho.
- Dzhambazov, B.; Daskalova, S.; Montevea, A.; Popva, N. (2002). "In vitro Screening for Antitumour Activity of *Clinopodium vulgare* L. (Lamiaceae) Extracts". *Biol. Pharm. Bull.* 25 (4): 499-504.
- Figueroa Solís, N.; Estévez, T.; Giménez, A. (1995). "Propiedades antibacterianas, antimicóticas e insecticidas de aceites esenciales de especies vegetales aromáticas nativas de Bolivia". *Congreso Internacional de Medicina Alternativa. La Paz, Bolivia*. Resumen P-199.
- Flores, E.; Velasco, P.; Figueroa, N.; Giménez, A. (1999). "Aceites esenciales con propiedades antimicrobianas". *Biofarbo* 7: 5-8.
- Girault, L. (1987). *Investigaciones sobre prácticas medicinales y mágicas*. Ira. Ed. Quipus. La Paz, Bolivia: 340
- Girault, L. (1994). *Kallawayas: Curanderos Itinerantes de los Andes*. Ed. UNICEF-OPS-OMS. Ed. Quipus, La Paz, Bolivia: 60 - 64.
- Gonzales Dávalos, E. (1997). "Especies antiinflamatorias de la Flora Boliviana". *Programa de doctorado de farmacología de productos naturales*. Universidad Complutense de Madrid.
- Hernández, N.; Castillo, M.; Abdala, L. (2001). "Actividad antibacteriana de extractos de flavonoides de *S. boliviana*". *VII Simposio Argentino de Farmacobotánica Chubut*, Argentina. Resumen 24.
- Hernández, N.; Saab, O.; Abdala, L.R.; Castillo, M. (2005). "Antibacterial Activity of *Satureja boliviana*". *Int J Molecular Medicine & Advance Science* 1 (1): 25-28.
- Limachi Viadez, G. (2011). *Estudio de preformulación de una forma farmacéutica semisólida "gel" con actividad antiinflamatoria a base de extracto de Satureja boliviana* (Tesis en revisión). Instituto de Investigaciones Fármaco-Bioquímicas, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.
- Lizárraga, E.; Abdala, L. (2004). "Compuestos Fenólicos Mayoritarios en *Satureja boliviana* (Benth.) Briq. (Lamiaceae)". *Acta Farm. Bonaerense* 23 (2): 198-200.
- Lui, J. (2005). "Oleanolic and ursolic acid: Research perspectives". *J Ethnopharmacol* 100 (1-2): 92-94.
- Mamani Cuenca, B. (2011). *Hemisíntesis del compuesto mayoritario de la Satureja boliviana y evaluación preliminar de la actividad antiinflamatoria*. Universidad Mayor de San Andrés. Carrera de Ciencias Químicas. La Paz, Bolivia.
- Montes Casavilca, E. (2013). *Actividad antimicótica del aceite esencial del extracto hidroalcohólico de Satureja brevicalyx Epl. "wayra muña" sobre una cepa de Candida albicans ATCC 10231, Ayacucho*. Tesis doctoral. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2483>
- Oblitas, P. (1992). *Plantas medicinales de Bolivia*. Edit. Los amigos del libro. La Paz, Bolivia: 36-38.
- Orfila, E.; Farina, E. (1996). *Flora del Valle de Lerma. Lamiaceae Barnh. Herbario MCNS*. Vol. 4. Universidad Nacional de Salta, Facultad de Ciencias Naturales. Salta, Argentina: 69.
- Ovesná, Z.; Kozics, K.; Slamenová, D. (2006). "Protective effects of ursolic acid and oleanolic acid in leukemic cells". *Mutat Res.* 600 (1-2): 131-137.
- Palomino, P. (2005) *Efecto antioxidante del extracto acuoso liofilizado de las hojas de la Satureja brevicalyx Epl "wayra muña"*. Tesis de grado. UNSCH, Ayacucho.
- Reynel, C. (1998). *Plantas para la leña en el sur-occidente de Puno*. Ed. Proyecto Árbol Andino, Puno, Perú: 164.
- Salcedo, M. (1980). *Un Herbolario de Ch'ajaya devela sus secretos. Muña*. Ediciones Sempas. La Paz: 27.
- Salgueiro, L.; Salinas, M.; Cavaleiro, C.; Gonçalves, M. (2005). "Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Satureja boliviana*". *Rev Fitoterapia* 6 (S1): 111.
- Sare Salvador, O.E.; Varas Moran, S.L. (2015). *Características fisico-químicas y efecto de aceite esencial de las hojas de Satureja brevicalyx sobre ileon aislado en Cavia porcellus*. Universidad Nacional de Trujillo. <https://es.scribd.com/document/380839642/Sare-Salvador-Osmer-Eduar-1>
- Santa Cruz, M. (2004). *Introducción de la muña en el cultivo "in vitro" (Clinopodium bolivianum Syn: Satureja boliviana)*. Tesis de grado. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Ciencias Naturales, Carrera de Biología. La Paz Bolivia: 78.
- Shon, K.; Lee, H.; Chung, H.; Young, H.; Yi, S.; Kim, K. (1995). "Antiangiogenic activity of triterpene acid". *Cancer Lett.* 94 (2): 213-218.
- Soto Vásquez, M. (1999). *Estudio fitoquímico y determinación de la actividad analgésica en diferentes extractos de la Satureja brevicalyx Epling "wayra muña"*. UNSCH, Ayacucho: 63-70.
- Soto Vásquez, M.; Alvarado García, P. (2016). "Aromatherapy with two essential oils from *Satureja* genere and mindfulness meditation to reduce anxiety in humans". *J Tradit Complement Med.* 7 (1): 121-125.

- Tejada Rodríguez, M. (1990). *Ensayos Químicos en el Aceite Esencial de Mintostachys spicata (Benth) Epl.* Cusco, Perú: 19.
- Teodoro, A. (2003). *Fitomedicina, 1100 plantas medicinales.* Edit. Isabel. Lima, Perú: 271.
- Torres Mamani, J. (2012). *Caracterización físico-química de los aceites esenciales obtenidos a nivel laboratorio y piloto para el control de áfidos.* Proyecto de grado para obtener el título de licenciado en química industrial. Universidad Mayor San Andrés. La Paz, Bolivia: 76-84.
- Torrico, G.; Peca, C.; Beck E.; García, E. (1994). *Leñosos útiles de Potosí.* Ed. Proyecto. FAO-Holanda, Potosí, Bolivia: 469
- Urrunaga Soria, R.; Urrunaga Soria, E.; Acurio Usca, L. (1995). "Investigación de la *Satureja boliviana*. Planta medicinal andina". *Situa* 3 (5): 1-2.
- Vituro, C.; Molina, A.; Guy, I.; Charles, B.; Guinaudeau, H.; Fournet, A. (2000). "Essential oils of *Satureja boliviana* and *S. parvifolia* growing in the region of Jujuy, Argentina". *Flavour Frugr. J.* 15: 377-382.
- Vituro, C.; Molina, C.; Heit, C.; Elechosa, M.; Molina, A.; Juárez, M. (2007). "Evaluation of the composition of the essential oils of *Saturejaboliviana*, *S. odora* and *S. parvifolia* obtained from samples collected in Tucumán, Argentina". *Blacpma* 6 (5): 288-289.
- Yapuchura, M. (2010). *Estudio de los componentes antioxidantes de las hojas de muña (Mintostachys mollis) e Inca muña (Clinopodium bolivianum).* Universidad Nacional Agraria La Molina. Escuela de Postgrado. Maestría en Tecnología de Alimentos, Lima, Perú: 32, 48 - 52, 68.

Parámetros micrográficos en frutos de *Ficus carica* L. para controles de calidad en alimentos derivados

Leila A. Giménez ^{1,2*}, Nilda D. Vignale ^{1,2}, Alberto A. Gurni ¹

¹ Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Jujuy.

² Instituto de Ecorregiones Andinas, Universidad Nacional de Jujuy, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

* Autor a quien dirigir la correspondencia: gimenezleila94@gmail.com

Resumen

Ficus carica L. (Moraceae), “higo”, es valorado en la industria por sus componentes nutricionales, su valor energético y su capacidad antioxidante y antiinflamatoria. El objetivo del presente trabajo fue definir el patrón de identificación micrográfico de sus frutos. Se aplicaron las técnicas micrográficas de disociación leve y raspado. Los parámetros micrográficos diagnósticos están representados por pelos tectores 1-2-celulares cónicos de base ancha, tubos laticíferos articulados anastomosados, drusas y aquenios. Dichos elementos son útiles para efectuar el control de calidad botánico en productos alimenticios donde el fruto puede ser sometido a diferentes tratamientos de procesamiento mecánico y físico. De esta manera se refuerza la aplicación de la microscopía como una herramienta de diagnóstico por medio de la cual es posible realizar aportes para mejorar el control de calidad de productos comestibles derivados de vegetales.

Identification of micrographic parameters in *Ficus carica* L. fruits for quality controls in derived food products

Summary

Ficus carica L. (Moraceae), “fig”, is valued in the industry for its nutritional components, energy value, antioxidant and anti-inflammatory properties. The aim of this paper was to define the micrographic identification pattern of the fruits. Micrographic techniques include mild dissociation and scraping. Diagnostic micrographic parameters are represented by broad-based conical 1-2-cellular tector hairs, anastomosed articulated latex ducts, druses and achenes. These elements are useful to carry out botanical quality control in food products where the fruit can be subjected to different mechanical and physical processing treatments. In this way, the application of microscopy as a diagnostic tool is reinforced, through which it is possible to make contributions to improve the quality control of edible products derived from vegetables.

Introducción

Los controles de calidad en productos para consumo (alimenticio o medicinal) son fundamentales para garantizar la salud de la población, siendo necesarios a lo largo de toda la cadena de producción y distribución (Shigler Siles, 2016).

La calidad botánica generada a partir de la farmacobotánica (centrada en plantas medicinales) y totalmente replicable a los alimentos, es de primordial valor en el área de la bromatología y en la industria de la alimentación. Constituye una estrategia que amplía el espectro de análisis de calidad típicos (físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales), cuyos fundamentos los aporta la botánica desde su multidimensionalidad (Varela y col., 2014; Souto

da Rosa y col., 2015; Anconatani y col., 2016; Acosta y col., 2017; Gimenez y col., 2019; Altamirano y Yajía, 2020).

La certificación de calidad botánica de un producto establece su carácter genuino y surge de la confirmación de la presencia de la materia prima, en articulación con las especificaciones del etiquetado, en un recorrido que abarcará diferentes etapas sucesivas (Souto da Rosa y col., 2015; Anconatani y col., 2016; Gimenez y col., 2019; Gimenez y col., 2020).

Los caracteres exomorfológicos revisten particular importancia para lograr la identificación taxonómica de cualquier material vegetal desconocido, del cual se disponga de un ejemplar de herbario o una fracción de

Palabras clave: *Ficus carica* L. – elementos micrográficos – control de calidad.

Key words: *Ficus carica* L. – micrographic elements – quality control.

la planta equivalente, que revele sus detalles; resulta de limitada o nula aplicabilidad cuando el propósito es conocer la materia prima que ha dado origen a un alimento. A lo largo del proceso de elaboración se suceden acciones combinadas, mecánicas y físicas, que provocan la destrucción de dichos caracteres (Vignale y Gurni, 2001; Acosta y col., 2017; Gimenez y col., 2019).

El desafío de la botánica consiste en ofrecer alternativas para lograr la identificación de los materiales que han dado origen al alimento, cuando ya está elaborado y se encuentra formando parte del circuito de comercialización (Flores, 2013; Varela y col., 2014; Rivas, 2015; Souto da Rosa y col., 2015; Anconatani y col., 2016; Gimenez y col., 2019; Altamirano y Yajía, 2017; 2020; Agudelo y col., 2020).

Implica recurrir al análisis de los caracteres anatómicos. Para ello es necesario aplicar el método micrográfico y seleccionar las técnicas apropiadas a la naturaleza del material original (WHO, 1998; Gurni, 2014). De este modo se definen los caracteres de valor diagnóstico, aquellos que presentan una relación unívoca con la especie a la cual pertenecen, que demuestran constancia y que por lo tanto adquieren un valor taxonómico. El conjunto define el patrón micrográfico, que combina caracteres aportados por los diferentes tejidos y por los productos del metabolismo celular, variables según el órgano vegetal empleado como materia prima (Cañigual y col., 1998; Vignale, 2001). Dichos patrones son requeridos para certificar la presencia de una especie en productos elaborados y, además, abordar el control de calidad botánico que posibilita definir su condición de genuinidad o, eventualmente, su contaminación o adulteración (Vignale, 2002; Rivas y col., 2009; Varela y col., 2012).

Las investigaciones de Flores (2013) sobre productos alimenticios derivados de especies hortícolas, de Acosta y col. (2017) acerca de plantas medicinales y de Agudelo y col. (2020) en el análisis de *Baccharis spicata* (Lam.) Baill. —Compositae— en muestras comerciales rotuladas como “carqueja”, plantean y convalidan la importancia de adquirir productos alimenticios y medicinales que atraviesen instancias de control de calidad botánico.

La fruticultura constituye un rubro agronómico generador de materias primas destinadas a la elaboración de alimentos. Entre las especies cuyas áreas de cultivo se encuentran en franco crecimiento merece citarse *Ficus carica* L. -Moraceae-, “higo”.

Se localizan cultivos de esa especie en el noroeste (Salta, Tucumán, Catamarca, Santiago del Estero y Jujuy), en la región de Cuyo (La Rioja y San Juan) y en la provincia de Buenos Aires. La producción nacional alcanzada hasta el año 2017 fue de 870 toneladas (FAOSTAT, 2019).

Se emplea al estado fresco, en almíbar, desecados y glaseados. Se elaboran dulces, mermeladas, arrope, vino y budines. Además, pueden ser empleados como sustitutos del café y en pasteles. Por otra parte, se les atribuyen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (Murillo Ro-

dríguez y González Baquerizo, 2016; Hurrell y col., 2010).

El “higo” es un fruto compuesto denominado sicono, resultante de una inflorescencia comprimida que se desarrolla dentro de un receptáculo carnoso y hueco que contendrá numerosos aquenios (fruto seco, indehisciente, uniseminado con pericarpio coriáceo no soldado a la semilla) de forma globosa de 3 a 8 cm de largo, cuyo receptáculo carnoso contiene en su interior numerosos aquenios. La epidermis (“piel” o “cáscara”) es purpúrea a negruzca, áspera al tacto (Figura 1. A). La parte media e interna del receptáculo constituyen la parte blanca, roja, carnosa y con restos de la inflorescencia y los aquenios, de 1 a 2 mm de diámetro, numerosos, de color marrón, representan todos en conjunto la “pulpa”, que provee un aroma intenso y jugo dulce (Figura 1. B).

Existen antecedentes botánicos, particularmente anatómicos, en las obras de Winton y Winton (1935) y Gassner (1973).

El objetivo del presente trabajo es definir los caracteres micrográficos de valor diagnóstico del fruto de *F. carica* L. y establecer su estabilidad y constancia para realizar un aporte a la perspectiva de control de calidad botánico de productos destinados al consumo humano elaborados con esta especie.

Materiales y Métodos

Los frutos de *F. carica* L. (var. “higos turcos”) proceden del mercado Municipal de la ciudad de San Salvador de Jujuy y puestos de venta ambulantes. Se conservan en alcohol al 70 % y se encuentran depositados en el Muestrario de materiales Etnobiológicos y Micrográficos del Grupo de Etnobiología y Micrografía Aplicada, cuya sigla es M-GE-MA. Se adquirieron diez (10) unidades al azar.

Método micrográfico

Se aplicaron diferentes técnicas basadas en D’ Ambrogio de Argüeso (1986), Gattuso y Gattuso (1999) y Gurni (2014).

a. Técnica de disociación (o disgregado) leve: recomendada para el estudio de órganos herbáceos o constituidos por tejidos blandos. Consiste en tratar el material con solución acuosa de hidróxido de sodio (NaOH) al 5 %, a ebullición, durante 5 min, para luego lavar con agua destilada varias veces y observar al microscopio óptico. Los aquenios fueron incluidos en el disociado leve ya que integran la parte comestible, y además porque su consistencia, inferior al nivel de leñosa, puede ofrecer detalles.

b. Técnica de raspado: se practica directamente sobre el fruto fresco y consiste en raspar, con un elemento cortante, la superficie externa (cáscara) y la pulpa con o sin semillas, y colocar dicho material, en agua destilada, sobre un portaobjetos para su observación al microscopio óptico.

c. Reacciones histoquímicas. Caracterización de cristales de oxalato de calcio y de carbonato de calcio: se utiliza ácido clorhídrico (HCl) al 2 %, en este caso ambos compues-

tos se disuelven, aunque las concreciones de carbonato de calcio (CaCO_3) liberan dióxido de carbono (CO_2) observándose desprendimiento gaseoso. Se coloca una porción del material de estudio sobre un portaobjetos, se agregan 2-3 gotas de solución, se coloca el cubreobjetos y se observa al microscopio óptico.

d. Observación microscópica y registro fotográfico: las fotomicrografías se tomaron con cámara compacta de fotografía digital Canon, modelo Powershot A640, adosada a un microscopio trinocular Carl Zeiss modelo Axioskop 2 Plus.

e. Selección de los parámetros micrográficos: son los elementos relevantes que permiten reconocer la especie cuando, en el material de estudio, la exomorfolología está ausente. Se analizaron doscientas (200) fotomicrografías (veinte (20) aleatorias, seleccionando dos (2) por cada preparado transitorio, obteniendo una muestra sin repeticiones) a las cuales se les atribuyó el 100 % de las observaciones. Con base en ellas se contabilizó el número de veces que un carácter se mantenía constante, es decir aparecía de forma repetida. Como medida arbitraria se consideró el 70 % \geq de su presencia en la totalidad de las fotomicrografías. Se descartaron aquellos que poseían porcentajes menores.

f. Medición: el registro del tamaño de los elementos de valor referencial se realizó por el programa ImageJ que está escrito en lenguaje de programación Java®. Se tomaron - para cada carácter seleccionado - treinta datos ($n=30$) de diferen-

tes fotomicrografías; tres (3) fotografías aleatorias por cada fruto adquirido [una (1) por preparado transitorio], de la especie en estudio (Rasband, 2016). Se aplicó la varianza (2), desviación estándar (DS) y el coeficiente de variación (CV) para establecer la uniformidad de los caracteres medidos.

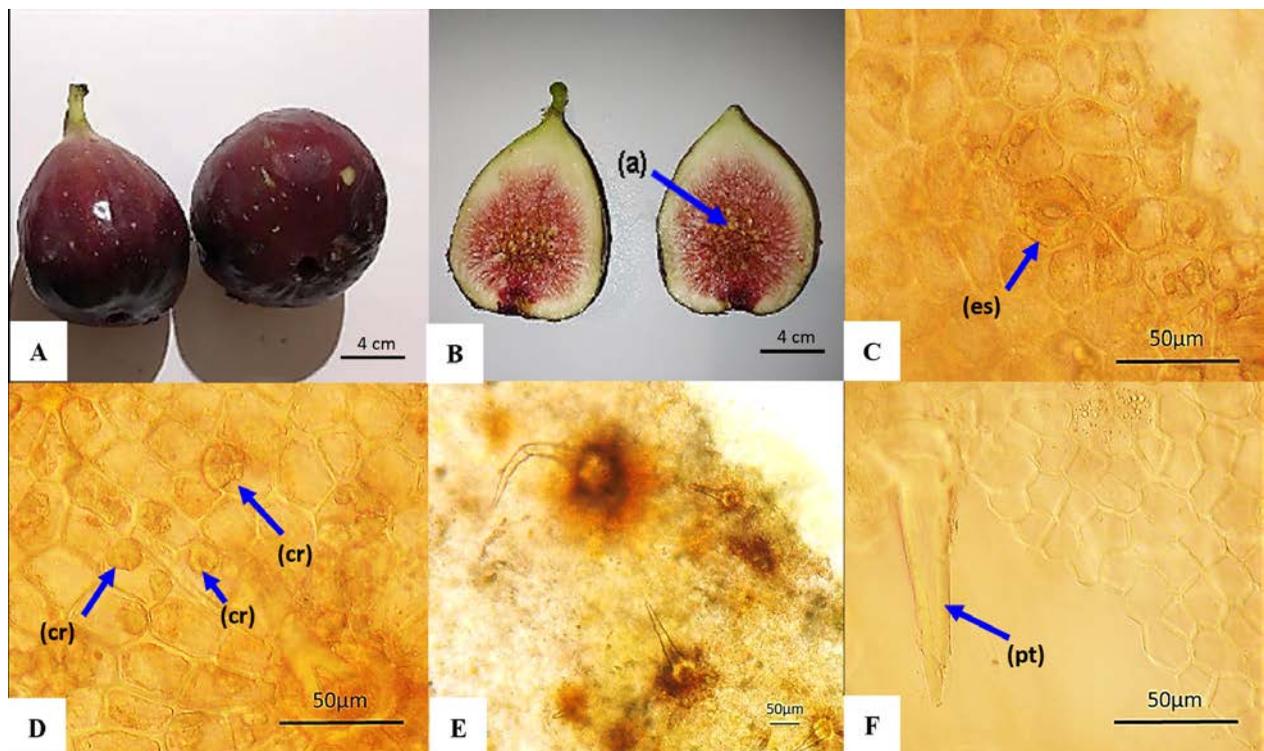
Las técnicas se aplicaron diez (10) veces; del producto obtenido de cada aplicación se confeccionaron diez (10) preparados transitorios, generando mil (1000) observaciones al microscopio óptico.

Resultados

El disociado leve permite observar células epidérmicas del receptáculo, poligonales con paredes rectas ligeramente engrosadas (1,8 a 2,5 μm) y estomas anomocíticos (Figura 1 C), con cristales (oxalato de calcio) tipo drusas (Figura 1 D) y pelos tectores (Figura 1 E y F), cónicos de base ancha, largos y cortos unicelulares (Figura 3 A).

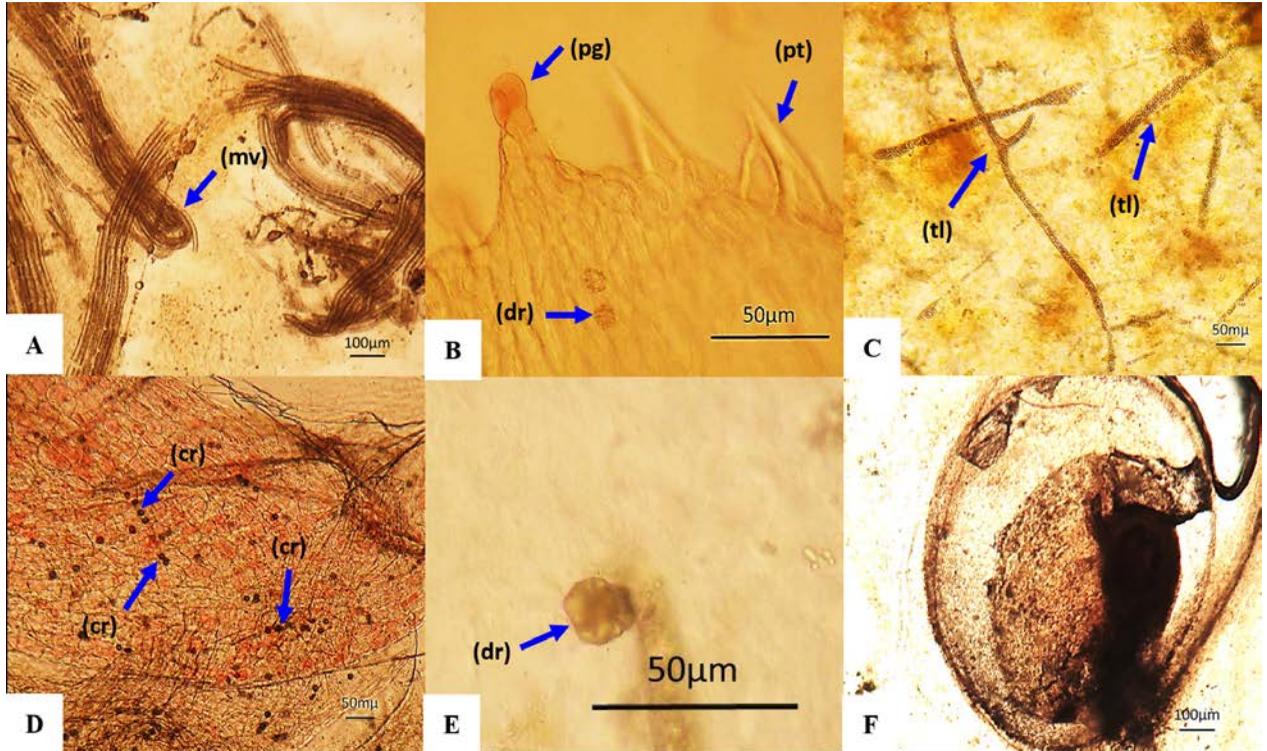
En el resto del fruto se identifican fragmentos de haces vasculares con miembros de vaso espiralados (Figura 2. A. y Figura 3. B), pelos tectores unicelulares, cortos, estrechos, cónicos, escasos pelos glandulares con pie pluricelular y cabeza secretora unicelular y células poligonales redondeadas de paredes delgadas (Figura 2 B), abundantes tubos laticíferos anastomosados (Figura 2 C y Figura 3 C), parén-

Figura 1.-



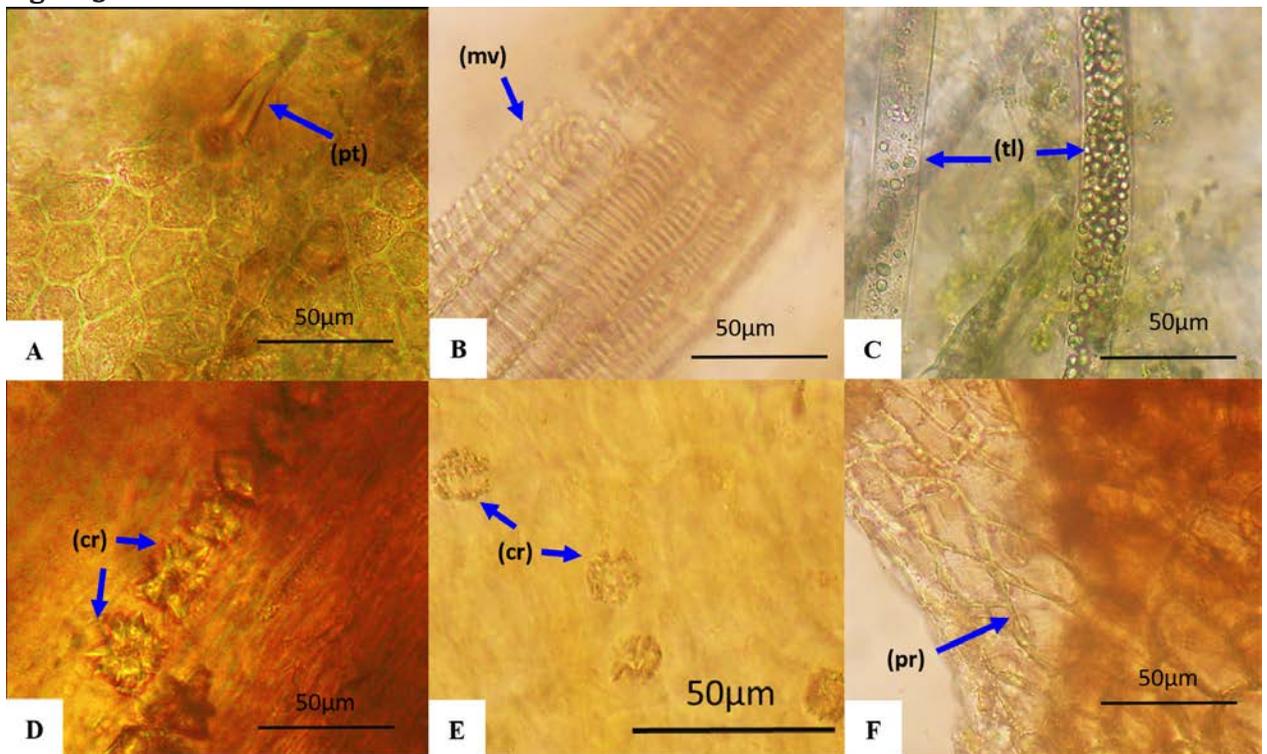
A: Observación de frutos var. "Higos turcos". **B:** Frutos en sección longitudinal, mostrando numerosos aquenios (a). **C:** Células epidérmicas poligonales y estoma (es). **D:** Epidermis con cristales (cr). **E:** Epidermis y pelos tectores 1- celulares. **F:** Epidermis con pelo tector (pt).

Figura 2.-



A: Miembros de vasos (mv). **B:** Células de paredes delgadas, pelos tectores unicelulares (pt) y pelo glandular (pg) con cabeza secretora unicelular y pie pluricelular. **C:** Tubos laticíferos anastomosados (tl). **D:** Drusas (cr) en parénquima. **E:** Drusa (dr). **F:** Aquenio.

Figura 3.-



A: Células epidérmicas y pelo tector (pt). **B:** Miembros de vasos espiralados (mv). **C:** Tubos laticíferos anastomosados (tl). **D:** Drusas (cr) en parénquima. **E:** Cristales sometidos a reacción histoquímica (cr). **F:** Células isodiamétricas de la pared del aquenio (pr).

Tabla 1.- Datos de parámetros. Promedio, desviación estándar y coeficiente de variación de frutos de *F. carica* L.

| | Elementos | | |
|--|----------------|-------------------|--------|
| | Pelos tectores | Pelos glandulares | Drusas |
| Promedio de longitud (μm) | 147,55 | 36,04 | 10,77 |
| Desvío estándar | 87,69 | 9,88 | 2,84 |
| C. V. | 0,5942 | 0,2742 | 0,2634 |

quima y drusas en cantidad (Figuras 2 D-E y Figura 3 D).

Mediante el raspado se observaron los aquenios enteros (Figura 2 F), los cuales poseen una pared recta y epidermis delgada conformada por células isodiamétricas (Figura 3 F). Se observó cantidad significativa de cristales que en presencia de ácido clorhídrico se disolvieron paulatinamente sin desprendimiento gaseoso (Figura 3 E).

Se calcularon los tamaños promedios (μm) para elementos celulares del fruto de *F. carica* como pelos tectores, pelos glandulares y drusas y se estableció su uniformidad a través de la desviación estándar y coeficiente de variación (Tabla 1).

Los resultados de la medición mostraron variabilidad moderada para los pelos glandulares y las drusas, mientras que los pelos tectores presentaron alta variabilidad. Los tubos laticíferos son de tamaños notablemente diversos por dicha razón no fueron considerados.

Por otro lado, los pelos tectores y tubos laticíferos se encontraron en el 100 % de los preparados transitorios analizados. Los cristales (drusas) se observaron en el 98 % de los preparados. En el caso de los pelos glandulares solo fueron observados en el 25 % de los preparados en baja cantidad (Tabla 2).

Discusión

Los análisis basados en caracteres anatómicos de especies vegetales aportan información relevante para la definición de los elementos de valor diagnóstico que, desde la aplicación de la micrografía, facilitan la identificación taxonómica. Dichos elementos han sido considerados en incontables publicaciones para establecer, en productos alimenticios derivados de las especies analizadas, su condición de genuinidad, contaminación o adulteración, quedando manifiesta su importancia en estudios de esta

índole (Cañigueral y col., 1998; Varela y Ricco, 2012; Rivas, 2015; Acosta y col., 2017; Gimenez y col., 2019).

Las obras de Gassner (1973) y Winton y Winton (1935) reportaron, para frutos de "higo", la presencia de pelos tectores unicelulares, cónicos de base ancha, pelos glandulares pluricelulares, tubos laticíferos y drusas, referencias que pudieron ser verificados en el presente trabajo. Los pelos glandulares, identificados en un bajo porcentaje, no constituyen referencia suficiente para asignarles valor diagnóstico.

Este fruto, debido a la particularidad de su constitución botánica morfológica, se caracteriza por proporcionar su aprovechamiento máximo, es decir del 100 %, ya que tanto cáscara como pulpa y semillas son siempre utilizadas, de modo que todos los caracteres propuestos se encontrarán en dulces y mermeladas.

En concordancia con Vignale y Gurni (2001) estos elementos referenciales resultan indispensables a la hora de realizar controles de calidad botánico.

Conclusiones

El presente trabajo cumplimenta con el objetivo planteado y de esta manera provee los fundamentos básicos para afrontar el control de calidad botánico de productos elaborados con frutos de *Ficus carica*, dado que propone sus caracteres micrográficos específicos. El conjunto de elementos de valor diagnóstico está comprendido por pelos tectores unicelulares, tubos laticíferos y drusas y como elementos sobresalientes los aquenios.

La metodología utilizada para el estudio resulta simple y adecuada para ser llevada a cabo por organismos de control, o en laboratorios de complejidad media como los que poseen las industrias alimenticias.

Tabla 2.- Abundancia porcentual de parámetros en frutos de *F. carica* L.

| | Elementos | | | |
|----------------------------------|----------------|-------------------|--------|-------------------|
| | Pelos tectores | Pelos glandulares | Drusas | Tubos laticíferos |
| Abundancia (%) en los preparados | 100 | 25 | 98 | 100 |

Referencias bibliográficas

- Acosta, M.E.; Ladio, A.; Vignale, N.D. (2017). "Plantas Medicinales Comercializadas en la Ciudad de San Salvador de Jujuy (Argentina) y su Calidad Botánica." *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 16 (1): 34–52.
- Agudelo, I.J.; Varela, B.; Wagner, M.L.; Ricco, R.A. (2020). "Presencia de *Baccharis spicata* (Lam.) Baill. en Muestras Comerciales Rotuladas Como 'Carqueja' adquiridas en La Ciudad Autónoma de Buenos Aires". *Dominguezia* 36 (1): 25–29.
- Anconatani, L.; Varela, B.; Ricco, R.; Wagner, M.L. (2016). "Parámetros Farmacobotánicos Para El Control de Calidad de *Heteropterys glabra* (Malpighiaceae)". *Lilloa* 53 (2): 1–12.
- Cañigual, S.; Vila, R.; Wichtl, M. (1998). *Plantas Medicinales y Drogas Vegetales Para Infusión y Tisana. 1º Edición Española. (Traducción de Edición Original: Teedrogen: Ein Handbuch für Die Praxis Auf Wissenschaftlicher Grundlage)*. Española. Milán: 606.
- D' Ambrogio de Argüeso, A. (1986). *Manual de Técnicas En Histología Vegetal*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 83.
- FAOSTAT. (2019). Consulta: 5/04/2021. <http://faostat3.fao.org>
- Flores, E. (2013). "Aplicación de La Micrografía Comparativa para el Control de Calidad de Especies Hortícolas y Productos Derivados de La Quebrada de Humahuaca (Jujuy, Argentina). Tesis de Grado." Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy: 85.
- Gassner, G. (1973). *Mikroskopische Untersuchung Pflanzlicher Lebensmittel*. Gustav Fischer Verlag. Vol. 21: 396.
- Gattuso, M.A.; Gattuso, S.J. (1999). *Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas En Polvo. 1º Ed.* Vol. 1. RIPROFITO. Universidad Nacional de Rosario. Rosario: 87.
- Gimenez, L.A.S.; Varela, B.; Vignale, N.D.; Gurni, A.A. (2020). "Caracterización Micrográfica Del Fruto de *Punica granatum* y Su Importancia En El Control de Calidad Botánica". *Dominguezia* 36 (1): 11–15.
- Gimenez, L.A.S.; Vignale, N.D.; Gurni, A.A. (2019). "Micrografía del fruto de Maracuyá (*Passiflora edulis* Sims) y su aplicación en Calidad Botánica Alimentaria." *ASAHO* 38 (96): 6–19.
- Gimenez, L.A.S.; Vignale, N.D.; Gurni, A.A. (2019). "Calidad Botánica de Seis Plantas Andinas, Condimenticias y Medicinales, comercializadas en la ciudad de San Salvador de Jujuy, Argentina". *Dominguezia* 35 (2): 15–22.
- Gurni, A.A. (2014). "Técnicas Histológicas en Investigación. El Microscopio Como Auxiliar En Control de Calidad" en Zarlavsky, G. E. (ed.) *Histología Vegetal. Técnicas Simples y Complejas*. Sociedad Argentina de Botánica, Buenos Aires. Vol. 7: 135–40.
- Hurrell, J.A.; Ulibarri, E.A.; Delucchi, G.; Pochettino, M.L. (2010). *Fruitas frescas, secas y preservadas. 1º edición*. LOLA. Buenos Aires: 304
- Rasband, W.S. (2016). "Image J, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 1997- 2016." <https://imagej.nih.gov/ij>.
- Rivas, M.A.; Gurni, A.A.; Vignale, N.D. (2009). "Caracterización Micrográfica de *Solanum betaceum* Cav. (SOLANACEAE), Un Cultivo Andino Medicinal". En: Vignale, N.D. y Pochettino, M.L. (Eds.) *Avances Sobre Plantas Medicinales Andinas*, CYTED, S.S. de Jujuy: 205–229.
- Rivas, M.A. (2015). "Estudios Micrográficos, Nutricionales y Funcionales de especies de Cultivos Andinos Pertenecientes a Las Familias Solanaceae y Cucurbitaceae." Universidad Nacional de Tucumán: 219.
- Murillo Rodríguez, F.A.; González Baquerizo, L.X. (2016). "Procesamiento y evaluación de los parámetros de la fruta *Ficus carica* (higo) referido a conserva, troceado, deshidratado, empacado al vacío y congelado." Universidad de Guayaquil: 81.
- Shigler Siles, W.K. (2016). "Evaluación de La Calidad Botánica y Química de Polifenoles de Los Productos Comercializados Como "Yerba Mate Aromatizada" En La Ciudad de Buenos Aires". Tesis de Maestría, Universidad de Buenos Aires: 125.
- Souto da Rosa; Numata, R.; Marovic, M.E.; Montenegro, J.; Gurni, A.A.; Rugna, A.; Bassols, G. (2015). "Análisis Micrográfico y Fitoquímico de Muestras Comerciales de Canela". *Dominguezia* 31 (2): 11–15.
- Varela, B.; Ricco, R. (2012). "Hojas de Olivo (*Olea europaea* –Oleaceae–) como adulterante en Oréganos (*Origanum* spp –Lamiaceae–) comercializados en la ciudad de Buenos Aires, Argentina." *Dominguezia* 28 (2): 5-10.
- Varela, B.G.; Bosco, P.; Ganopol, M.J.; Agostinelli, L.; Gurni, A.A. (2014). "Morpho-Anatomical Analysis for the Quality Evaluation in 'Oregano' Commercial Samples of Buenos Aires City (Argentina)." *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 13 (1): 20–30.
- Vignale, N.D. (2002). "Relevamiento y Análisis Exomorfológico y Micrográfico de Plantas Medicinales de La Puna y Prepuña Jujeñas, Con Especial Referencia a La Reserva de Biosfera Laguna de Pozuelos". Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires: 118.
- Vignale, N.D.; Gurni, A.A. (2001). "Diferenciación de especies equisetiformes utilizadas en medicina tradicional en la Provincia de Jujuy, Argentina." *Dominguezia* 17: 23–30.
- Winton, A.L.; Winton, K.B. (1935). *The Structure and Composition of Foods. Volume II. Vegetables and Fruits*. Vol. II. John Wiley. New York: 605.

Rendimiento, secado, almacenamiento y calidad de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. de Misiones (República Argentina)

Mercedes L. Stein^{1,2*}, Ana E. Hanske^{1,2}

1 Laboratorio de Especialidades Medicinales de Misiones (LEMis).

2 Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones (UNaM).

* Autor a quien dirigir la correspondencia: mbellendier@gmail.com

Resumen

Hibiscus sabdariffa L. (Malvaceae) se cultiva en la región nordeste de la Argentina. Sus cálices rojos y carnosos son utilizados con fines alimenticios en estado fresco o seco. Su uso medicinal no está muy difundido en la región. El objetivo del trabajo fue analizar el proceso de obtención y almacenamiento de cálices secos de *H. sabdariffa* cultivados en la provincia de Misiones y la calidad de los mismos, así como evaluar muestras comerciales locales, y compararlos con los requisitos de calidad farmacéuticos. Se analizaron los ácidos orgánicos, intensidad de color y pérdida por secado según la monografía de Roselle (*Hibiscus sabdariffae flos*) de la Farmacopea Europea y el contenido de antocianinas por el método del pH diferencial sobre muestras recién cosechadas sometidas a diferentes temperaturas de secado y tiempos de almacenamiento, así como sobre muestras comerciales. El rendimiento de obtención de cálices secos fue 4,5 %. Cumplieron el ensayo de valoración de ácidos e intensidad de color. El contenido de antocianinas se vio afectado significativamente por la temperatura de secado pero los valores iniciales son altos y superan los 450 mg/100 g (droga seca). Luego de 12 meses de almacenamiento se observan cambios de color de rojo intenso a un color pardo amarillado, reducción del aroma y pérdida de la consistencia crujiente; acompañados por incrementos en el porcentaje de pérdida por secado (superiores al 11,0 %), incremento de compuestos ácidos, reducción de intensidad de absorción de luz a 520 nm, y una drástica reducción del tenor de antocianinas. Iguales resultados pudieron constatarse en las muestras comerciales. El envasado y almacenamiento convencional de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. no asegurarían el mantenimiento de su calidad farmacéutica a pocos meses de su procesamiento, por lo que las recomendaciones generales de uso de drogas vegetales secas por 24 meses no serían aplicables.

Yield, drying, storage, and quality of calyxes of *Hibiscus sabdariffa* L. from Misiones (Argentina)

Summary

Hibiscus sabdariffa L. (Malvaceae) is cultivated in the northeast region of Argentina. Its red and fleshy calyxes are used for food purposes; in a fresh or dry state. Its medicinal use is not very widespread in the region. The objective of the work is to analyze the process of obtaining and storing dry calyxes of *H. sabdariffa* grown in the province of Misiones and their quality, as well as evaluating local commercial samples by comparing them with the pharmaceutical quality requirements. Organic acids, color intensity, and loss on drying were analyzed according to the Roselle (*Hibiscus sabdariffae flos*) monograph of the European Pharmacopoeia, and the anthocyanin content by the differential pH method on freshly harvested samples, subjected to different drying temperatures and storage times, as well as on commercial models. The yield of obtaining dry calyxes was 4,5 %. They fulfilled the test for acid titration and color intensity. The anthocyanin content was significantly affected by the drying temperature, although the initial values were high and exceeded 450 mg/100 g (dry drug). After 12 months of storage, the color changed from deep red to a brownish-brown color, the aroma decreases, and the crunchy consistency disappears. Moreover, there is an increase of acid compounds and loss on drying (over 11,0 %), with a reduction in the anthocyanin content and light absorption intensity at 520 nm. The commercial samples verify the same results. The conventional packaging and storage of *Hibiscus sabdariffa* L. calyxes would not ensure their pharmaceutical quality within a few months of their processing, so the general recommendations for using dried herbal drugs for 24 months would not be applicable.

Palabras clave: *Hibiscus sabdariffa* L. – almacenamiento – secado – rendimiento – antocianinas – ácidos titulables.

Key words: *Hibiscus sabdariffa* L. – storage – drying – yield – anthocyanin – total acidity.

Introducción

Hibiscus sabdariffa L. es una planta anual herbácea de la familia Malvaceae rica en compuestos fenólicos y con múltiples efectos beneficiosos para la salud. Se la conoce también como “rosa de Jamaica”, o “rosa de Abisinia”. Sus cálices y epicálices rojos y carnosos colectados en época de fructificación constituyen su estructura vegetal más valorada porque en ellos se acumulan numerosos compuestos bioactivos. Contienen un alto porcentaje de polisacáridos y ácidos orgánicos, son ricos en compuestos fenólicos (principalmente antocianinas y flavonoides), vitaminas, minerales y aminoácidos; son fuente de calcio, magnesio y oligoelementos. Su intenso color rojo característico se debe principalmente al alto contenido de antocianinas producidas en la etapa de maduración (Da-Costa-Rocha y col., 2014).

Las antocianinas son metabolitos secundarios de las plantas que se encuentran principalmente en las flores, con una distribución cuantitativa y cualitativa específica. Debido a esta especificidad, a menudo se usan como marcadores quimiotaxonómicos (Beye y col., 2017). Delfinidina 3-O-sambubiósido y cianidina 3-O-sambubiósido son las principales antocianinas encontradas en “rosella” (Beye y col., 2017; Grajeda-Iglesias y col., 2016; Wong y col., 2002). El principal uso comercial de los cálices de *H. sabdariffa* es alimenticio por su contenido de antioxidantes, pigmentos y ácidos orgánicos (Patel, 2014).

Existe evidencia científica sobre la importancia medicinal de esta droga por sus efectos farmacológicos, sustentadas por estudios preclínicos y clínicos realizados en las últimas décadas. Shalgum y col. (2019) avalan su potencialidad neuroprotectora y para reducir riesgos neurodegenerativos por sus efectos antioxidantes y antiapoptóticos. Ojulari y col. (2019) destacan su potencialidad como droga para el tratamiento de la obesidad, por la evidente reducción en el peso corporal y por la inhibición de la acumulación de lípidos y supresión de la adipogénesis. Sus acciones vasodilatadoras, antitrombóticas, antiinflamatorias, antiapoptóticas, antilipídémicas y antiaterogénicas se explicarían por su contenido de polifenoles (Da-Costa-Rocha y col., 2014; Guardiola y Mach, 2014).

Los cálices y epicálices de *Hibiscus sabdariffa* L. secos, enteros o molidos, constituyen la droga vegetal identificada como “Roselle” en la octava edición de la Farmacopea Europea (European Pharmacopoeia, 2013). La monografía correspondiente establece los ensayos y requisitos de calidad a los que debe responder.

La industria alimentaria, por su parte, también establece requisitos de calidad, especialmente para el comercio exterior. La calidad de *H. sabdariffa* depende en gran medida del origen geográfico. Los cálices más deseables provienen de Tailandia y Sudán, sin embargo, el proveedor dominante del mercado mundial es China (Da-Costa-Rocha y col., 2014; Özdoğan y col., 2011). El genotipo, el ambiente y su interacción tienen efectos significativos

en la variación de su calidad (Sánchez-Feria y col., 2017). En América es un cultivo no tradicional que se desarrolla en clima cálido seco (Cid-Ortega y Guerrero-Beltrán, 2012).

El secado es una de las principales operaciones poscosecha que permite la preservación de órganos vegetales para ampliar su período de uso, manteniendo las propiedades nutricionales o medicinales. Tradicionalmente los cálices de “rosella” se secan de manera natural por radiación solar directa extendiéndolos sobre superficies de áreas abiertas; este proceso requiere entre tres a cuatro días para el secado, dependiendo de la temperatura ambiente y las condiciones de humedad relativa. La temperatura es un factor que afecta drásticamente el tiempo de secado. Se reporta el secado de cálices por 27 horas en túneles construidos con coberturas de plástico de polietileno reducidos a 4,5 horas con recirculación de aire a 70 °C (Saeed, 2010). Tham y col. (2018) estudiaron la cinética de secado de cálices de “rosella” utilizando diferentes estrategias, y analizaron su efecto en el mantenimiento del color y de los compuestos bioactivos. Una vez secos, los cálices pueden rehidratarse absorbiendo la humedad del entorno; esto se traduce en una pérdida del carácter crujiente y en la posibilidad de enmohecimiento. Una textura crujiente puede ser un indicador fiable de un buen almacenamiento y de la retención de compuestos bioactivos (Maldonado-Astudillo y col., 2019).

En la provincia de Misiones, ubicada cerca del trópico de Capricornio, las condiciones climáticas son favorables para el cultivo de *H. sabdariffa*, donde se la conoce con el nombre de “rosella”.

El cultivo se realiza en primavera y la cosecha se inicia en verano, extendiéndose hasta el comienzo de las primeras heladas del otoño. Se utilizan los cálices para consumo familiar y algunos productores los comercializan en la provincia, en baja escala, a través de cooperativas. La madurez de los frutos se reconoce por el color rojizo (I. Rauh, comunicación personal, 13 de septiembre de 2020).

La transición de floración a fructificación de *H. sabdariffa* es gradual, y es importante conocer en qué tiempo se alcanza la madurez para la cosecha. El tiempo de madurez óptima depende de la variedad y de la finalidad del cultivo. Se reportan períodos de colecta de 7 semanas luego de la floración para evitar la pérdida de compuestos fenólicos antioxidantes (Christian y Jackson, 2010), y colectas realizadas de 20 a 24 días luego de la floración para alcanzar un tamaño óptimo de fruto y evitar la pérdida de antocianinas (Ramírez-Cortés y col., 2011), para citar algunos ejemplos.

En Misiones, los frutos maduros se comercializan frescos en las ferias de agricultura familiar que funcionan en todo el territorio provincial. El principal uso de los cálices es la preparación de jugos y mermeladas.

Pequeños productores los comercializan secos, y en

este estado se los emplean principalmente para la preparación de infusiones y decocciones. Algunas cooperativas industrializan y comercializan cálices secos y molidos, envasados en saquitos para su empleo como infusión o "té". Se podría afirmar que hay una tendencia generalizada por parte de los productores de asignar a los cálices secos (enteros o molidos) un período de uso de 24 meses desde la fecha de envasado.

Estudios recientes de muestras colectadas de la zona norte y sur de la provincia de Misiones (municipios de Posadas y Eldorado), correspondientes a tres períodos de fructificación, demostraron la conformidad de los cálices con los requisitos botánicos y fisicoquímicos de la Farmacopea Europea 8^o. Edición (Stein y col., 2017). Estos estudios fueron realizados antes de cumplidos los 6 meses desde la cosecha y secado e indicarían la potencialidad de uso con fines medicinales.

El objetivo del presente trabajo fue determinar parámetros de calidad fisicoquímicos de cálices de "rosella" cultivados y comercializados en la provincia de Misiones con diferentes tiempos de almacenamiento, empleando ensayos de la Farmacopea Europea con el fin de evaluar el mantenimiento de los requisitos de calidad y analizar algunas condiciones de proceso como el rendimiento y la temperatura de secado y sus efectos sobre la calidad final.

Se determinó el contenido de antocianinas de todas las muestras estudiadas con fines informativos y comparativos.

Materiales

Se estudiaron muestras comerciales que declaran contener *Hibiscus sabdariffa* L. (HS) adquiridas en la ciudad de Posadas (Misiones) que comprenden:

Muestra 1 (M1)-Cálices secos molidos, envasados en saquitos de 2 gramos de contenido neto, contenidos en estuches de 25 unidades, de una misma marca comercial, adquiridos en un hipermercado, y que corresponden a 2 lotes (Lotes identificados como A y B). Uno de los lotes contiene saquitos ensobrados (Lote A).

Muestra 2 (M2)-Cálices secos enteros envasados en bolsas de polietileno translúcido adquiridos en una exposición forestal. El elaborador declara un contenido neto de 40 gramos.

Por otra parte, se evaluaron cálices obtenidos de una plantación perteneciente a la Sra. Irmgard H. M. Rauh, de la localidad de 9 de Julio de la provincia de Misiones (geolocalizado a 26°27'04S 54°28'38 W), cultivados a partir de semillas seleccionadas de cada cosecha propia anual. Las muestras corresponden a colectas de 4 años de producción. Una colecta de este material vegetal fue objeto de identificación botánica y fisicoquímica en estudios simultáneos y demostraron conformidad a los requisitos de la Farmacopea Europea 8^o Edición (Stein y col., 2019). Para su análisis, estas muestras fueron procesadas desde el estado fresco.

Métodos

Análisis de muestras comerciales

Las muestras comerciales se evaluaron en cuanto a su presentación, aspecto, estado del material (molido/trozado) y rotulación (datos de identificación, período de validez, tiempo transcurrido desde el envasado). Se determinó el contenido neto y se caracterizó la granulometría de las muestras molidas siguiendo los lineamientos de la Farmacopea Argentina Séptima Edición (Farmacopea Argentina, 2013), utilizando tamices de acero inoxidable provistos de malla 1,7 y 355 (ISO 3310-1990). Sobre estas muestras se efectuaron los ensayos fisicoquímicos que se describen.

Ensayos fisicoquímicos

Todos los ensayos descriptos se realizaron sobre polvo fino (100 % de cernido por malla 355 ISO 3310-1990). Para realizar los ensayos de cuantificación de ácidos orgánicos, intensidad de color y antocianinas (ensayos 2, 3 y 4) de la muestra M2, ésta requirió ser secada (a 45 °C, hasta un porcentaje de pérdida por secado menor o igual a 11,0 %) y molida (por molino a martillo).

1. *Pérdida por secado*: 1,000 gramo de droga vegetal molida fue secada en estufa a 105 °C por 2 horas, determinándose el % de pérdida (European Pharmacopoeia, 2013).
2. *Cuantificación de ácidos orgánicos*, según la Farmacopea Europea 8va. Edición (European Pharmacopoeia, 2013): 1,0 gramo de droga exactamente pesada, se transfirió a un erlenmeyer de 200 ml, y se adicionaron 100 ml de agua destilada hervida y enfriada. Se agitó la mezcla durante 15 minutos, y luego se filtró por malla de acero inoxidable N° 60 ASTM (250 micras de orificio), plisada a modo de embudo. Se tituló una alícuota de 25,0 ml del filtrado, adicionada de 50 ml de agua destilada hervida, utilizando hidróxido de sodio 0,1 M como titulante (1 ml de hidróxido de sodio 0,1 M equivale a 6,4 mg de ácido cítrico). Se empleó una bureta y se determinó el punto final potenciométricamente. Los porcentajes se calcularon sobre droga seca, considerando el porcentaje de pérdida por secado (% expresado sobre droga seca).
3. *Determinación de intensidad de color*, según la Farmacopea Europea 8va. Edición (European Pharmacopoeia, 2013): 1,0 g de la droga en polvo fino, exactamente pesada, se transfirió a un erlenmeyer de 100 ml, incorporando 25 ml de agua destilada en ebullición, y se mantuvo el recipiente en un baño termostático a baño María durante 15 minutos, agitando frecuentemente. Se filtró la solución caliente haciéndola atravesar por una malla de acero inoxidable N° 60 ASTM (250 micras de orificio), plisada a modo de embudo, lavando el residuo y el frasco con agua destilada caliente (3 fracciones de 5 ml). Una vez frío, se transfirió el filtrado a un matraz de 50 ml y

se llevó a volumen con agua destilada. Se filtró la solución por filtro cuantitativo, descartando los primeros 15 ml de filtrado; 5 ml del filtrado recogido se diluyeron a 50 ml con agua destilada en matraz aforado. Se efectuó una corrida espectral de la solución resultante, entre 400 y 800 nm, se constató la longitud de onda del pico de absorción a 520 nm (máximo de referencia), y se efectuaron las mediciones a la longitud de onda de máxima absorción utilizando agua como líquido de compensación. Las mediciones se efectuaron en un espectrofotómetro Shimadzu UV 1603.

4. *Determinación del contenido de antocianinas monoméricas totales*, siguiendo el método del pH diferencial de Giusti y Wrolstad (Giusti y Wrolstad, 2005): alrededor de 2,5 g de droga en polvo fino, exactamente pesados, se transfirieron a un matraz de 25 ml, llevando a volumen con una mezcla de partes iguales de alcohol 96 ° y agua. Se agitó la mezcla manualmente durante 15 minutos, y se filtró la solución extractiva haciéndola atravesar por una malla de acero inoxidable N° 60 ASTM E11-70 para retener el material sólido. Posteriormente la solución libre de material grosero se filtró a través de filtro jeringa de 0,45 micras. El filtrado obtenido se diluyó separadamente con buffer pH 1,0 (ácido clorhídrico/cloruro de potasio) y buffer pH 4,5 (ácido acético glacial 6 % P/V /acetato de sodio dihidrato): a) se transfirió 1 ml de filtrado a un matraz de 50 ml y se llevó a volumen con buffer de pH 1; b) se transfirió 1 ml de filtrado a un matraz de 50 ml y se llevó a volumen con buffer pH 4,5. Se midió la absorbancia de cada una de estas soluciones a 520 nm y 700 nm utilizando agua destilada como líquido de compensación. Se trabajó por duplicado, y las mediciones se efectuaron en un espectrofotómetro Shimadzu UV 1603. Para el caso de muestras con valores bajos de intensidades de absorbancia, se sustituyó la dilución 1:50 por una dilución 1:25. Las antocianinas monoméricas totales (AMT) expresadas como mg cianidin-3-glucósido por gramo de material analizado se calcularon con:

$$A = (A_{520} - A_{700})_{(pH 1)} - (A_{520} - A_{700})_{(pH 4.5)}$$

$$AT \left(\frac{mg}{100 g} \right) = \frac{(A \cdot MM \cdot FD)}{\epsilon \cdot b \cdot P} \cdot 100$$

Donde A es el valor de absorbancia promedio de cada solución a la longitud de onda y pH correspondientes; MM es la masa molecular de cianidina-3-glucósido (449,2 g/mol); ϵ es la absorptividad molar de cianidina-3-glucósido = 26900 (mol/L)⁻¹ cm⁻¹; FD es el factor de dilución (25 x 50 o 25 x 25, según la dilución final); b es el ancho de la celda de medición (1 cm), y P es el peso de la muestra tal cual (cálices secos y molidos), expresado en gramos. El valor de AT expresadas en mg/100 g sobre droga seca (SDS) se calculó considerando el % de pérdida por secado (% PPS):

$$AT \left(\frac{mg}{100 g} \right)_{SDS} = AT \left(\frac{mg}{100 g} \right) \cdot \frac{100}{100 - \% PPS}$$

Análisis de muestras de procesamiento propio

Los frutos maduros obtenidos de la plantación fueron cosechados en 4 años consecutivos. En cada caso, los cálices y epicálices frescos se separaron manualmente con ayuda de un cuchillo, se lavaron, escurrieron y secaron, hasta alcanzar un porcentaje de pérdida por secado inferior o igual al 11,0 %. Las condiciones de secado, molienda, almacenamiento y ensayos efectuados sobre estas muestras se describen a continuación:

a. Colectas de 3 años diferentes fueron secadas a 45 °C, y se determinaron los rendimientos porcentuales de cálices frescos, de cálices secos y el rendimiento total, los cuales se calcularon con:

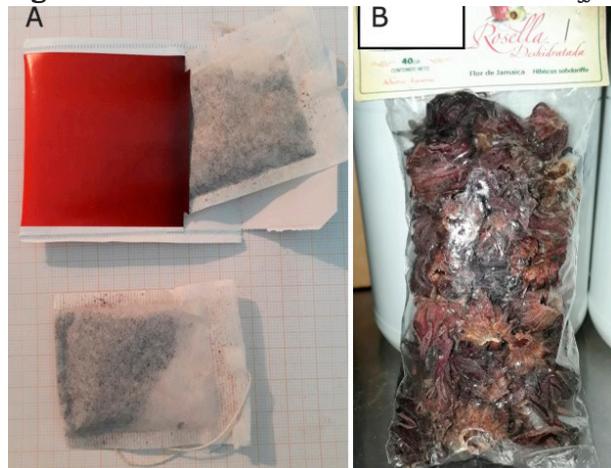
$$\text{Rendimiento \% cálices frescos} = \frac{\text{Peso cálices frescos}}{\text{Peso frutos frescos}} \cdot 100$$

$$\text{Rendimiento \% cálices secos} = \frac{\text{Peso cálices secos}}{\text{Peso cálices frescos}} \cdot 100$$

$$\text{Rendimiento \% total} = \frac{\text{Peso cálices secos}}{\text{Peso frutos frescos}} \cdot 100$$

b. La fracción de una colecta fue sometida a 4 temperaturas de secado diferentes: 40 °C, 50 °C, 60 °C y 80 °C. El proceso de secado se inició de manera simultánea para las distintas condiciones. El secado a 40 °C se realizó en una estufa industrial con circulación de aire; para las demás temperaturas se utilizaron estufas de secado de laboratorio sin circulación y se secaron en cada caso 200 gramos de cálices. Inmediatamente después de secadas, las muestras se molieron a polvo grueso y se envasaron en bolsas de polietileno de 18 micrones, y se colocaron dentro de potes plásticos opacos de cierre perfecto, conservándolas en condiciones ambientales. Estas muestras fueron analizadas durante el primer mes de almacenamiento, efectuándose sobre ellas los ensayos fisicoquímicos descriptos de pérdida por secado, cuantificación de ácidos orgánicos, intensidad de color, y cuantificación de antocianinas.

c. Cálices y epicálices secos de diferentes colectas fueron secados a 45 °C y molidos hasta polvo grueso; el producto molido se acondicionó en bolsas de polietileno de 18 micrones, dentro recipientes plásticos opacos de cierre perfecto, y se almacenaron a temperatura ambiente. Muestras almacenadas por 44, 33, 21 y 7 meses fueron evaluadas en sus características organolépticas de aroma y color, y sobre otras fracciones almacenadas durante 1, 3 y 14 meses se efectuaron los ensayos fisicoquímicos descriptos de pérdida por secado, cuantificación de ácidos orgánicos, intensidad de color, y cuantificación de antocianinas.

Figura 1.- Muestras comerciales de *Hibiscus sabdariffa***A:** Muestra molida en saquitos; **B:** Deshidratada en bolsa de polietileno.

En todos los casos, las moliendas se efectuaron con un molino a martillos provisto de malla 2 según Normas ISO 3310-1990 (Farmacopea Argentina, 2013).

Todos los ensayos fisicoquímicos se realizaron por triplicado. Se reportan la media y el desvío estándar. Con fines comparativos, se determinó la significancia por comparación de los intervalos de confianza para un nivel del 95 %.

Resultados y Discusión

Las muestras comerciales se muestran en la Figura 1 y los resultados de su análisis se presentan en la Tabla 1. El material molido extraído de los saquitos comerciales (M1) se clasificó como “polvo grueso” según los criterios de la Farmacopea Argentina 7ma Edición: el 100 % del polvo atravesó el tamiz N° 1, 7 y 60 % o más fue retenido por tamiz N° 355.

Mientras que los cálices de *Hibiscus sabdariffa* comercializados como material molido envasado cumplieron

con el valor declarado de contenido neto, los cálices secos enteros presentaron una cantidad significativamente inferior al peso declarado (65 % del valor declarado).

Las muestras procesadas y almacenadas del cultivo en estudio mostraron un cambio de color y aroma notable con el tiempo, variando de un color rojo vibrante, a un color marrón que se vuelve opaco y se intensifica a mayores tiempos de almacenamiento. El olor intensamente aromático y característico inicial (que recuerda a la miel), se vuelve muy poco intenso luego del segundo año de almacenamiento. Los cambios de color e intensidad pueden observarse en la Figura 2.

Los frutos frescos estudiados, que contienen los cálices envolviendo a la cápsula seminífera, presentaron un peso promedio igual a $7,299 \pm 0,194$ g (IC 95,0 %; n=150). La distribución de pesos se presenta en la Figura 3. Los cálices exhibieron un color rojo oscuro, brillante (Figura 4). Los rendimientos porcentuales de obtención de cálices frescos, cálices secos y rendimiento total a partir de frutos completos se presentan en la Tabla 2. Wong y col. (2002) reportan un rendimiento de cálices frescos de Malasia de 54,11 %, Chumsri y col. (2008), de $47,45 \pm 0,71$ % para cálices frescos y $9,58 \pm 0,77$ % para secos de Sudán; el rendimiento de cálices secos reportado por Nahed fue cercano al 15 % (Nahed, 2016). Los valores promedios de rendimientos de cálices del cultivo misionero estudiado hallado en este estudio fueron $51,1 \pm 1,2$ % y $8,9 \pm 0,5$ % para cálices frescos y secos respectivamente, y el rendimiento total promedio fue $4,55 \pm 0,26$ %.

Los resultados de los ensayos fisicoquímicos sobre todas las muestras se presentan en la Tabla 3.

Las muestras comerciales M1 y M2 declaran fechas de envasado en meses del año que no se corresponden con períodos de cosecha (julio, agosto y septiembre), por lo cual se estima que los cálices pudieron haberse almacenado por un período de tiempo variable, en estado seco, enteros o molidos, antes de su envasado. Ninguna de las muestras cumple con el parámetro de intensidad de color (mínimo de 0,250 según la Farmacopea Europea para drogas trozadas/molidas), y su contenido de antocianinas totales cuantificado es muy bajo y representa, en promedio, alrededor de un 20 % del contenido determinado para las muestras recién colectadas del cultivo estudiado. Se observa en general una reducción del contenido de antocianinas y un aumento de los ácidos titulables a medida que transcurre el período de almacenamiento. Resultados en este mismo sentido obtuvo Nahed luego de 8 meses de almacenamiento (Nahed, 2016).

En relación al contenido de antocianinas, en la Tabla 4 se presentan datos comparativos de otros autores que trabajaron sobre diferentes variedades de *Hibiscus sabdariffa*, provenientes de distintas regiones del mundo. Los métodos de extracción y cuantificación empleados en cada caso, y las variedades de “rosella” son factores de variabilidad que afectan los resultados y deben ser considerados. El contenido de antocianinas del cultivo misionero estudiado es comparable al obtenido con la variedad “Koor” nativa de

Figura 2.- Cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. procesados y almacenados varios meses**A:** 44 meses de almacenamiento; **B:** 33 meses de almacenamiento; **C:** 21 meses de almacenamiento; **D-E:** 7 meses de almacenamiento.

Tabla 1.- Características generales de los productos comerciales de cálices secos de *Hibiscus sabdariffa* L. adquiridos en Misiones

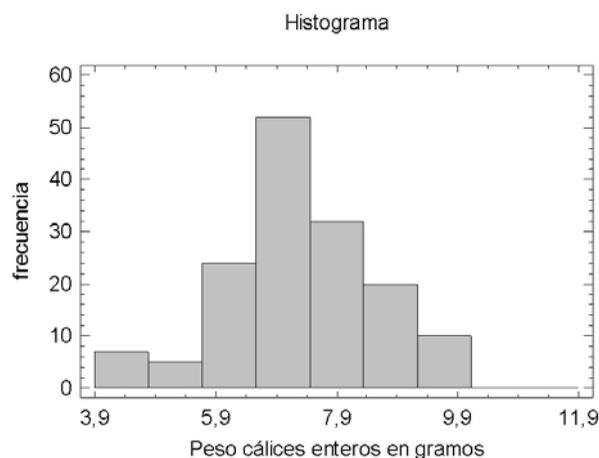
| | M1 | M2 |
|---|---|--|
| Presentación de la droga (cálices) | Seca, molida, en saquitos Estuchados Polvo grueso | Entera, seca En bolsa de polietileno |
| Identificación del producto | “Té de Rosella. Hibiscus” | Rosella deshidratada Flor de Jamaica <i>Hibiscus sabdariffa</i> |
| Período de validez declarado | 24 meses desde la fecha de envasado | 24 meses desde la fecha de envasado |
| Tiempo transcurrido desde fecha de envasado | Lote A: 20 meses Lote B: 9 meses | 10 meses |
| Aspecto del producto | Lote A: polvo de tonalidad marrón, levemente rojiza Lote B: polvo de tonalidad rojiza amarronada | Cálices deshidratados, de color oscuro, con tonalidad marrón, levemente rojiza |
| Caracteres | Lote A: Olor aromático característico Lote B: Olor aromático característico | Olor aromático característico |
| Contenido Neto declarado | 2 g/saquito | 40 g/bolsa |
| Contenido Neto promedio | Lote A: 2,15 g (DS 0,05; n=10) Lote B: 2,16 g (DS 0,05; n=10) | 26 g (DS 1,0; n = 2) |
| Peso promedio de cálices secos | - | 0,6943 ± 0,0691g (IC 95 %; n = 22) |

Tabla 2.- Rendimiento de procesos poscosecha de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L.

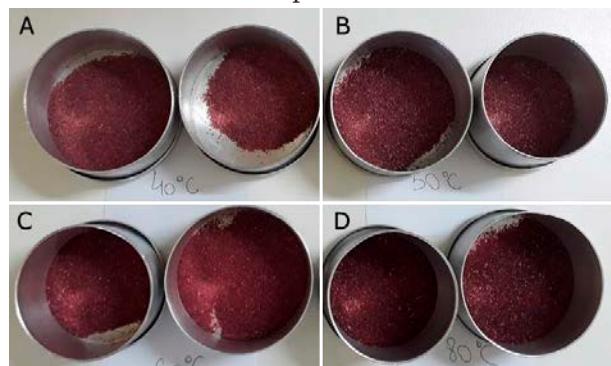
| <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. | Año de cosecha | | |
|---|----------------|-------|-------|
| | 2020 | 2018 | 2015 |
| Peso frutos frescos completos (cápsula/cálices/epicállices) (g) | 10520 | 10870 | 17390 |
| Peso de cálices y epicállices frescos (g) | 5512 | 5425 | 8867 |
| Peso de cálices y epicállices secos (g) | 494,7 | 511,2 | 740 |
| Rendimiento % cálices frescos | 52,4 | 49,9 | 51,0 |
| Rendimiento % cálices secos | 9,0 | 9,4 | 8,3 |
| Rendimiento % total | 4,7 | 4,7 | 4,3 |

Tabla 3.- Control de calidad físico-químico farmacéutico de muestras de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. de Misiones

| Muestra | Descripción | Tiempo de almacenamiento hasta el momento del análisis (meses) | % Pérdida por secado (a) | | % ácidos orgánicos SDS (como ácido cítrico) (b) | | Intensidad de color (c) | | AMT mg/100 g SDS (Como cianidin-3-glucósido) | |
|--|----------------------------------|--|--------------------------|------|---|-------|-------------------------|-------|--|-------|
| | | | Prom | DS | Prom | DS | Prom | DS | Prom | DS |
| Cálices secos, molidos, en saquitos, ensobrados, estuchados (M1-Lote A) | Producto comercial (alimentario) | 20 meses | 11,7 | 0,04 | 19,99 | 0,104 | 0,093 | 0,004 | 90,5 | 13,18 |
| Cálices secos, molidos, en saquitos, estuchados (M1-Lote B) | Producto comercial (alimentario) | 9 meses | 11,9 | 0,13 | 16,75 | 0,138 | 0,073 | 0,006 | 158,3 | 43,22 |
| Cálices secos, enteros/trozados, en bolsa de polietileno (M2) | Producto comercial (alimentario) | 10 meses | 13,0 | 0,20 | 19,09 | 0,066 | 0,101 | 0,007 | 114,1 | 25,75 |
| Cálices secos, molidos, de procesamiento propio, en bolsa de polietileno contenida dentro de un cuñete de cartón | Cultivo familiar | < 3 meses | 10,2 | 0,07 | 15,61 | 0,056 | 0,341 | 0,032 | 577,7 | 8,39 |
| | Cultivo familiar | < 1 mes | 8,2 | 0,14 | 17,15 | 0,119 | 0,358 | 0,010 | 633,8 | 9,32 |
| | Cultivo familiar | 14 meses | 13,7 | 0,07 | 17,73 | 0,066 | 0,204 | 0,010 | 317,5 | 37,13 |

Figura 3.- Peso de frutos completos de *H. sabdariffa* L.**Figura 4.-** *H. sabdariffa* L. de un cultivo de Misiones

A: planta en estado de fructificación; **B:** material fresco cosechado; **C:** separación manual de cálices y epicálices; **D:** cálices y epicálices frescos separados de su cápsula seminífera.

Figura 5.- Muestras de *Hibiscus sabdariffa* L. molidas, secadas a diferentes temperaturas

A: 40 °C; **B:** 50 °C; **C:** 60 °C; **D:** 80 °C.

Senegal, y es superior al de las muestras mexicanas y sudanesas que se presentan (Beye y col., 2017; Diessana y col., 2015; Cid-Ortega y Guerrero-Beltrán, 2014; Salazar-González y col., 2012; Abou-Arab y col., 2011; Galicia-Flores y col., 2008; Chumsri y col., 2008; Wong y col., 2002).

Los resultados analíticos sobre muestras de una misma colecta de cálices que fueron secados a diferentes temperaturas se presentan en la Tabla 5. El tiempo de secado se reduce considerablemente al incrementar la temperatura. Nahed reporta el secado de cálices a 55 °C por 36 horas (Nahed, 2016). La cantidad de material que se dispone en el equipo de secado es un parámetro que afecta la cinética del proceso y que debe ser considerado.

Las temperaturas de secado en las condiciones de estudio no afectaron la coloración observable. Todas las muestras conservan un intenso color rojizo brillante (Figura 5) y cumplen con el ensayo de intensidad de color de la Farmacopea Europea.

Los resultados indican que no hay diferencias significativas (NC 95 %) para el contenido de antocianinas de las muestras secadas a 40 °C y 50 °C. Sin embargo, el secado a 60 °C y 80 °C redujo significativamente el contenido de estos bioactivos (Figura 6). A pesar de ello, los valores siguen siendo elevados y comparables con productos comercializados a nivel mundial. El porcentaje de ácidos totales se vio incrementado significativamente con el incremento de la temperatura (Figura 6). Este mismo efecto se observó con el tiempo de almacenamiento, resultado que también ha sido reportado por Nahed para muestras almacenadas durante 8 meses (Nahed, 2016).

Las muestras secadas entre 40 °C y 80 °C grados presentaron una intensidad de color mayor o igual al requerido de 0,350, y un contenido porcentual de ácidos mayor o igual al requerido de 12,5 %, de acuerdo con lo establecido en la monografía de la droga de la Farmacopea Europea 8ª Edición.

Conclusiones

Los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. cultivados en la provincia de Misiones cumplen con parámetros de calidad farmacéuticos al momento de la cosecha, lo cual los posiciona como producto candidato al mercado internacional. Sin embargo, el mantenimiento de la calidad depende críticamente del tratamiento poscosecha y de las condiciones de envasado y mantenimiento.

El rendimiento productivo de cálices secos obtenido en este estudio fue de 4,5 % partiendo de frutos maduros completos; este rendimiento puede incrementarse mejorando el porcentaje de epicálices en el recorte.

Cálices secados entre 40 °C y 80 °C cumplieron con los requisitos de calidad de la Farmacopea Europea 8va. Edición en relación a los ensayos de intensidad de color y

ácidos titulables. El incremento de temperatura de secado de 40 °C a 80 °C redujo considerablemente el tiempo del proceso de 39 horas a 8,5 horas. Sin embargo, las muestras secadas a 60 °C y 80 °C evidenciaron un contenido de antocianinas significativamente menor que a temperaturas de secado menores. El contenido de ácidos titulables mostró diferencias significativas para todas las temperaturas.

Si bien el contenido de compuestos bioactivos de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* se ve afectado por la temperatura de secado, el tiempo de almacenamiento define su calidad en las condiciones de envasado habituales del mercado. Esto se evidencia por un cambio de color del rojo intenso a un color pardo amarronado con una muy leve tonalidad rojiza, y la pérdida de la consistencia crujiente en muestras enteras o semitrozadas, y se detecta analíticamente con un porcentaje de pérdida por secado superior al 11,0 %, un incremento de compuestos ácidos,

una reducción de intensidad de absorción de luz a 520 nm, y una drástica reducción del tenor de antocianinas.

El envasado convencional de productos alimenticios (saquitos estuchados, bolsas de polietileno) no asegura el mantenimiento de la calidad en términos farmacéuticos a pocos meses de su almacenamiento.

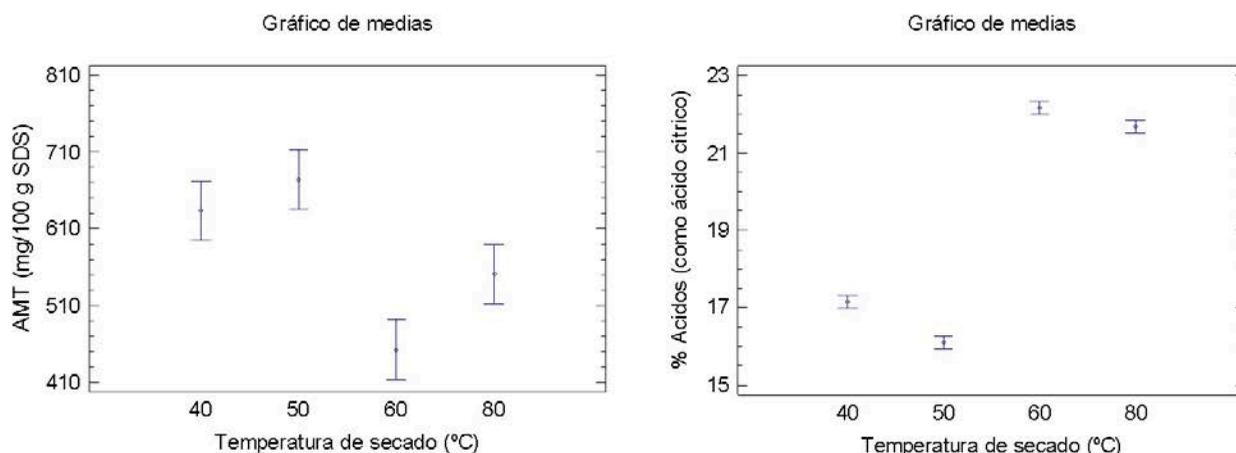
Si se pretende establecer un período de validez recomendado para los cálices secos de *Hibiscus sabdariffa* con fines medicinales, deberán evaluarse las condiciones de secado y seleccionarse adecuadamente el material de envasado, de modo que brinde protección adicional frente a las condiciones ambientales. Estos períodos de uso deberán ser establecidos por estudios de estabilidad convenientemente diseñados. Las recomendaciones generales de uso de drogas vegetales secas por 24 meses no serían aplicables a los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L.

Tabla 4.- Contenido de antocianinas en cálices de *H. sabdariffa* L. de los principales países productores del mundo

| Investigadores | Origen | Contenido de Antocianinas | Acidez titulable (sobre droga seca) |
|--------------------------------------|--------------------------|--|---|
| Beye y col. (2017) | Senegal | 1529 ± 347 mg/100 g (variedad Vimto) | |
| | | 688 ± 45 mg/100 g (variedad Koor) | |
| Diessana y col. (2015) | Burkina Faso | 2610 ± 110 mg/100 g variedad "dark red" | 15,44 ± 0,15 g/100 g variedad "dark red" |
| | | 2980 ± 20 mg/100 g variedad "bright red" (como delfinidina-3-sambubiósido) | 12,66 ± 0,15 g/100 g Variedad roja "bright red" (como ácido málico) |
| Cid Ortega y Guerrero-Beltrán (2014) | México | 451,4 ± 28,1 mg/100 g (como cianidin-3-glucósido) | |
| Salazar González y col. (2012) | México | 209 ± 21 mg/100 g (como cianidin 3-glucósido) | |
| Abou-Arab y col. (2011) | Egipto | 622,91 ± 2,0 mg/100 g | |
| Galicia-Flores y col. (2008) | China México Sudán | 172,58 a 296,99 mg/100 g (usando agua como extractante) | |
| Chumsri y col. (2008) | Sudán | 340,97 ± 0,15 mg/100 g (como cianidin-3-galactósido) | |
| Wong y col. (2002) | Malasia | 2520 ± 50 mg/100 g (como delfinidina-3-glucósido) | 2,42 ± 0,03 g/100g (como ácido málico) |

Tabla 5.- Control de calidad de muestras de cálices de *H. sabdariffa* L. sometidas a diferentes temperaturas de secado

| Condiciones de secado | | % Pérdida por secado | | | | % ácidos orgánicos SDS (como ácido cítrico) | | Intensidad de color | | AT mg/100 g SDS (como cianidin-3-glucósido) | |
|-----------------------|----------------|----------------------|-------|-------------|------|---|-------|---------------------|-------|---|-------|
| | | t = 0 | | t = 15 días | | t = 15 días | | t = 15 días | | t = 15 a 20 días | |
| Temp. (°C) | Tiempo (horas) | Prom | DS | Prom | DS | Prom | DS | Prom | DS | Prom | DS |
| 40 | 39 | 7,7 | 0,041 | 8,2 | 0,14 | 17,15 | 0,119 | 0,358 | 0,010 | 633,8 | 9,32 |
| 50 | 35 | 7,2 | 0,037 | 10,6 | 0,04 | 16,10 | 0,064 | 0,351 | 0,011 | 673,4 | 27,66 |
| 60 | 22,5 | 5,7 | 0,019 | 8,4 | 0,12 | 22,17 | 0,063 | 0,359 | 0,008 | 452,1 | 45,97 |
| 80 | 8,5 | 6,4 | 0,174 | 8,1 | 0,99 | 21,68 | 0,063 | 0,380 | 0,007 | 570,0 | 38,99 |

Figura 6.- Contenido de antocianinas totales (AMT) y de porcentaje de ácidos orgánicos titulables de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. secados a diferentes temperaturas

Referencias bibliográficas

- Abou-Arab, A.; Abu-Salem, F.M.; Abou-Arab, E. (2011). "Physico-chemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from Roselle calyces (*Hibiscus sabdariffa*)". *Journal of American Science* 7 (7): 445–456.
- Beye, C.; Hiligsmann, S.; Tounkara, L.; Thonart, P. (2017). "Anthocyanin content of two *Hibiscus sabdariffa* cultivars grown in Senegal". *Agronomie Africaine* 29 (1): 63–68.
- Christian, K.R.; Jackson, J.C. (2010). "Changes in total phenolic and monomeric anthocyanin composition and antioxidant activity of three varieties of sorrel (*Hibiscus sabdariffa* L.) during maturity". *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 663–667.
- Chumsri, P.; Sirichote, A.; Itharat, A. (2008). "Studies on the optimum conditions for the extraction and concentration of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) extract". *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 30 (1): 133–139.
- Cid-Ortega, S.; Guerrero-Beltrán, J. A. (2012). "Propiedades funcionales de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)". *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 6 (2): 47–63.
- Cid-Ortega, S.; Guerrero-Beltrán, J. A. (2014). "Roselle Calyces Particle Size Effect on the Physicochemical and Phytochemicals Characteristics". *Journal of Food Research* 3 (5): 83.
- Da-Costa-Rocha, I.; Bonnlaender, B.; Sievers, H.; Pischel, I.; Heinrich, M. (2014). "*Hibiscus sabdariffa* L. - A phytochemical and pharmacological review". *Food Chemistry* 165: 424–443.
- Diessana, A.; Parkouda, C.; Cissé, M.; Diawara, B.; Dicko, M. H. (2015). "Optimization of Aqueous Extraction of Anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. Calyces for Food Application". *Food Science and Quality Management* 45: 23–31.
- European Pharmacopoeia (2013). Council of Europe. Strasbourg (8° ed.): 1368–1369.

- Farmacopea Argentina, 7ª Edición compilada (2013), Volumen I, p. 173-174. Ministerio de Salud de la Nación; Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos; ANMAT (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica) e INAME (Instituto Nacional de Medicamentos). Buenos Aires, Argentina [en línea] <https://www.argentina.gob.ar/anmat/farmacopea-argentina/libro>.
- Galicia-Flores, L.; Salinas-Moreno, Y.; Espinoza-García, M., Sánchez-Feria, C. (2008). "Caracterización fisicoquímica y antioxidante de extractos de (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada". *Revista de Chapingo Serie Horticultura* 14 (2): 121-129.
- Grajeda-Iglesias, C.; Figueroa-Espinoza, M.C.; Barouh, N.; Baréa, B.; Fernandes, A.; De Freitas, V.; y Salas, E. (2016). "Isolation and Characterization of Anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* Flowers". *Journal of Natural Products* 79 (7): 1709-1718.
- Giusti, M.; Wrolstad, R.E. (2005). "Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-visible Spectroscopy". *Handbook of Food Analytical Chemistry* 2 (2): 19-31.
- Guardiola, S.; Mach, N. (2014). "Therapeutic potential of *Hibiscus sabdariffa*: A review of the scientific evidence". *Endocrinología y Nutrición* 61 (5): 274-295.
- Maldonado-Astudillo, Y. I.; Jiménez-Hernández, J.; Arámbula-Villa, G.; Flores-Casamayor, V.; Álvarez-Fitz, P.; Ramírez-Ruano, M.; Salazar, R. (2019). "Effect of water activity on extractable polyphenols and some physical properties of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces". *Journal of Food Measurement and Characterization* 1 (1): 687-696.
- Nahed, M.R. (2016). "Post-Harvest Studies on Reducing Losses and Maintaining Quality of Packaging Roselle Calyxes". *Journal of Sustainable Agricultural Sciences* 42 (4): 68-86.
- Ojulari, O.V.; Lee, S.G.; Nam, J.O. (2019). "Beneficial Effects of Natural Bioactive Compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. on obesity". *Molecules* 24 (1): 1-14.
- Özdoğan, F.P.; Orhan, N.; Ergun, F. (2011). "Studies on the conformity of *Hibiscus sabdariffa* L. samples from turkish market to European Pharmacopeia". *Fabád Journal of Pharmaceutical Sciences* 36 (1): 25-32.
- Patel, S. (2014). "*Hibiscus sabdariffa*: An ideal yet under-exploited candidate for nutraceutical applications". *Biomedicine & Preventive Nutrition* 4 (1): 23-27.
- Ramírez-Cortés, B.; Caro-Velarde, F.J.; Valdivia-Reynoso, M.G.; Ramírez-Lozano, M.H., Machuca-Sánchez, M.L. (2011). "Cambios en tamaño y características de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) durante su maduración". *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17 (2): 19-31.
- Saeed, I. E. (2010). "Solar Drying of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Part I: Mathematical Modelling, Drying Experiments, Effects of the Drying Conditions". *CIGR Journal* 12 (3-4): 1-13.
- Salazar-González, C., Vergara-Balderas, FT., Ortega-Regules, A.E., Beltrán, J.Á. (2012). Antioxidant properties and color of *Hibiscus sabdariffa* extracts. *Ciencia e Investigación Agraria* 39 (1): 79-90.
- Sánchez-Feria, C., González-Hernández, V.A., Salinas-Moreno, Y., y Cruz-Huerta, N. (2017). "Efecto de genotipo y ambiente en la calidad fisicoquímica de variedades Mexicanas de *Hibiscus sabdariffa* L.". *Agrociencia* 51 (5): 525-541.
- Shalgum, A.; Govindarajulu, M.; Majrashi, M.; Ramesh, S.; Collier, W. E.; Griffin, G.; Amin, R.; Bradford, C.; Moore, T.; Dhanasekaran, M. (2019). "Neuroprotective effects of *Hibiscus sabdariffa* against hydrogen peroxide-induced toxicity". *Journal of Herbal Medicine*: 17-18. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.100253>
- Stein, M.L.; Hanske, A.E.; Neudeck, G.; Gallo, M.F.; Gaona, M. (2019). "Control de calidad farmacéutico de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae) cultivados en la Provincia de Misiones (Argentina)". *Revista BIFASE* 32 (3): 25-32.
- Stein, M.; Neudeck, G.; Macaya, H.; Olocco, P. (2017). "Estudios de conformidad a los requisitos de la Farmacopea Europea y determinación del contenido de antocianinas de *Hibiscus sabdariffa* L. ("rosella") cultivada en la Provincia de Misiones". *Dominguezia* 33 (1): 46.
- Tham, T.C.; Ng, M.X.; Gan, S.H.; Chua, L.S.; Aziz, R.; Abdullah, L.C.; Ong, S.P.; Chin, N.L.; Law, C.L. (2018). "Impacts of different drying strategies on drying characteristics, the retention of bio-active ingredient and colour changes of dried Roselle". *Chinese Journal of Chemical Engineering* 26 (2): 303-316.
- Wong, P.; Yusof, S.; Ghazali, H. M.; Che Man, Y.B. (2002). "Physicochemical characteristics of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)". *Nutrition y Food Science* 32 (2): 68-73.

Evaluación preliminar de la fitoquímica, actividad antibacteriana y toxicidad *in vitro* de *Lantana camara* L. (Verbenaceae)

María I. Aguado¹, Carola A. Torres^{1,2}, Carlos A. Vonka¹, María B. Nuñez^{1,2*}

¹ Departamento de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional del Chaco Austral.

² Instituto de Investigaciones en Procesos Tecnológicos Avanzados (INIPTA), Universidad Nacional del Chaco Austral. Comandante Fernández 755, 3700 Presidencia Roque Sáenz Peña, Provincia de Chaco, República Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: mbnunez@uncaus.edu.ar

Resumen

Lantana camara Linn. (Verbenaceae) es nativa de América tropical y subtropical y naturalizada como especie invasiva en otras áreas de América, Asia, Australia, África, Caribe e islas del Pacífico y Nueva Zelanda. En la Argentina se la encuentra en al menos 11 provincias, y se emplea como digestiva, carminativa, febrífuga, diurética, analgésica, antitusiva y en baños contra el reumatismo. En la Argentina y algunos países limítrofes se informa toxicidad para el ganado bovino. Los objetivos de este trabajo son reportar los metabolitos secundarios hallados en el tamizaje fitoquímico, la toxicidad (aguda *in vitro* y genotoxicidad) y actividad antimicrobiana del extracto etanólico de hojas de esta planta. Se investigaron metabolitos secundarios mediante reacciones colorimétricas, cromatografía en capa delgada, cromatografía en papel y espectrofotometría. El contenido de fenoles totales y flavonoides totales se determinó por los métodos colorimétrico (con el reactivo Folin-Ciocalteu) y de complejación (con cloruro de aluminio), respectivamente. Además, se analizaron la toxicidad aguda *in vitro* (test de *Artemia salina*), la genotoxicidad (test de Ames) y la actividad antimicrobiana. Los resultados revelaron la presencia de flavonoides, polifenoles, polisacáridos, proteínas, taninos, triterpenos/esteroides y saponósidos. El contenido de fenoles totales fue $3,04 \pm 6.10^{-2}$ mg EAG/ml extracto y el de flavonoides $0,82 \pm 4.10^{-2}$ mg EQ/ml extracto. La concentración letal media superior a 1000 $\mu\text{g/ml}$ extracto y el índice mutagénico menor a 2, permitirían inferir que este extracto sería prácticamente no tóxico. La actividad frente a bacterias Gram positivas, principalmente del género *Staphylococcus*, resultaría promisoriosa (CIM = 125-500 $\mu\text{g/ml}$). Los resultados del trabajo contribuyen a ampliar el conocimiento científico de la especie en la Argentina, siendo necesarios estudios de mayor complejidad para acrecentar su caracterización química.

Preliminary evaluation of the phytochemistry, antibacterial activity and toxicity *in vitro* of *Lantana camara* L. (Verbenaceae)

Summary

Lantana camara Linn. (Verbenaceae) is native to tropical and subtropical America and naturalized as an invasive species in other areas of America, Asia, Australia, Africa, Caribbean and Pacific Islands, and New Zealand. In Argentina, it is found in at least 11 provinces and is used as a digestive, carminative, febrifuge, diuretic, analgesic, antitussive, and in baths against rheumatism. In Argentina and some neighboring countries, toxicity to cattle is reported. The aims of this work are to report the secondary metabolites found in the phytochemical screening, the toxicity (acute *in vitro* and genotoxicity) and antimicrobial activity of the ethanolic extract of leaves of this plant. Secondary metabolites were examined by colorimetric reactions, thin-layer chromatography, paper chromatography, and spectrophotometry. The content of total phenols and total flavonoids was determined by colorimetric (with the Folin-Ciocalteu reagent) and complexation (with aluminum chloride) methods, respectively. Besides, acute *in vitro* toxicity (*Artemia salina* test), genotoxicity (Ames test), and antimicrobial activity were analyzed. The results revealed the presence of flavonoids, polyphenols, polysaccharides, proteins, tannins, triterpenes/steroids, and saponosides. The content of total phenols was 3.04 ± 6.10^{-2} mg EAG/ml extract and that of flavonoids 0.82 ± 4.10^{-2} mg EQ/ml extract. The mean lethal concentration higher than 1000 $\mu\text{g/ml}$ extract and the mutagenic index lower than 2, would allow us to infer that this extract would be practically non-toxic. The activity against Gram-positive bacteria, mainly of the *Staphylococcus* genus, would be promising (MIC = 125-500 $\mu\text{g/ml}$). The results of the work contribute to broadening the scientific knowledge of the specie in Argentina requiring more complex studies to enhance its chemical characterization.

Palabras clave: actividad antimicrobiana – genotoxicidad – tamizaje fitoquímico – toxicidad aguda.

Key words: antimicrobial activity – genotoxicity – phytochemical screening – acute toxicity.

Introducción

Lantana camara Linn. (Verbenaceae) es nativa de América tropical y subtropical y naturalizada como una especie invasiva en otras áreas de América, Asia, Australia, África, Caribe e islas del Pacífico y Nueva Zelanda (Grilli y Galetto, 2009; Torres y Galetto, 2014). En la Argentina se la encuentra en Buenos Aires, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Jujuy, Misiones, Salta, Santiago del Estero, Santa Fe y Tucumán (De la Peña y Pensiero, 2017).

Es un arbusto, de 1,5-3 m, generalmente aculeado, hispídulo o pubescente con tricomas glandulares y no glandulares. Hojas de lámina membranácea, cordada, crenado-serrada, haz reticulada-rugosa a áspero-escabroso y envés densamente velutino-pubescente o hispídulo sobre los nervios. Florescencias parciales en espigas capituliformes densas; brácteas angostamente elípticas. Cáliz truncado, pubescente; corola amarillo-anaranjada. Fruto carnoso-jugoso, negro a la madurez (Rotman, 2009). Algunos de los nombres vulgares de la especie son: bandera española, *camará*, *camará de dos colores*, *cambará* y yerba de la cruz (De la Peña y Pensiero, 2017).

Es usada generalmente como una planta ornamental y, en muchos lugares del mundo se utiliza para tratar una amplia variedad de trastornos, en remedios populares contra tumores y cáncer, fiebre, gripe y dolor de estómago. En América Central y América del Sur, las cataplasmas de las hojas se emplean para tratar herpes, varicela, sarampión, reumatismo y, preparaciones de la planta, para tratar el asma y la hipertensión arterial (Kalita y col., 2012; Nurul y Abdul, 2013). En la Argentina, la infusión de la planta fresca se emplea como digestiva, carminativa, febrífuga, diurética, analgésica, antitusiva y en baños contra el reumatismo (Hurrell y Bazzano, 2003; Rondina y col., 2008; Hernández y col., 2010).

Acercas de la toxicidad de *L. camara* en Brasil, los investigadores Brito, Tokarinia y Döbereiner (2004) señalaron como tóxicas para el ganado bovino y ovino, a las muestras provenientes de seis de los catorce estados en los que se realizó el estudio. Por su parte, Bevilacqua y col. (2011) refieren baja toxicidad aguda de fracciones apolares y polares de extractos crudos en ratones, la que se atribuiría a triterpenos de la familia lantadenos. Según González y Recalde (2006), en Paraguay la especie está incorporada a una lista de plantas tóxicas para los humanos; los frutos inmaduros contendrían los compuestos antes mencionados. De acuerdo con la bibliografía (Rodríguez y col., 2018), en Uruguay también la mencionan como tóxica para el ganado. En la Argentina se ha reportado la toxicidad en bovinos, en Jujuy (Marin y col., 2005) y en Corrientes (Casper y col., 2012). Sin embargo, en una publicación conjunta de UMSA y otras instituciones (2002), se comenta que en algunas comunidades guaraníes del Chaco boliviano (provincia Cordillera) se emplea como forraje en la alimentación animal.

En este artículo la búsqueda de la información ha sido orientada hacia el conocimiento fitoquímico y toxicidad *in*

vitro de la especie, reportados particularmente en la Argentina y países limítrofes. Si bien es un arbusto muy difundido y estudiado mundialmente, son escasas las publicaciones encontradas en relación a la composición química, toxicidad y actividad antimicrobiana *in vitro* en extractos etanólicos de la especie en la Argentina. En la actualidad, se encuentran reportes de actividad antimicrobiana *in vitro* de esta especie en distintas partes del mundo, probando extractos de hojas con distintos solventes orgánicos como metanol, etanol, acetona, éter de petróleo, diclorometano y metanol, como también del aceite esencial (Ayub y otros, 2017; Carvajal Tesorero y col., 2013; Kumar y col., 2006; Navarrete Barragán y col., 2020; Saraf y col., 2011; Venegas del Castillo y Vásquez-Valles, 2016). En particular se reportó que los extractos etanólicos de hojas mostraron fuerte actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y los extractos etanólicos de los tallos mostraron también actividad frente a bacterias Gram negativas (Saraf y col., 2011). El presente estudio se focaliza en probar la actividad biológica usando las hojas para un uso sustentable de la especie y utilizar como solvente el etanol por su menor toxicidad y su capacidad extractiva de metabolitos de polaridad media como los flavonoides y terpenos, los cuales tienen reconocida actividad antimicrobiana.

Por lo tanto, los objetivos de este trabajo son reportar los principales metabolitos secundarios hallados en el tamizaje fitoquímico, así como la toxicidad (aguda *in vitro* y genotoxicidad) y la actividad antimicrobiana de un extracto etanólico de hojas de *L. camara*.

Materiales y métodos

Material vegetal

Las ramas de la especie vegetal se recolectaron durante el mes de diciembre de 2018, en zona rural de los alrededores de la ciudad de Presidencia Roque Sáenz Peña, ubicada en el centro de la provincia del Chaco (República Argentina). La localización por coordenadas es 26°44'44.888" S 60°24' 8.817 O.

Un ejemplar con flores, previamente identificado por medio de técnicas taxonómicas de rutina por un especialista del área de Farmacobotánica, se separó, se herborizó y se depositó en el Herbario del Instituto de Botánica del Nordeste (IBONE-CONICET), voucher Aguado MI 01, Corrientes-Argentina.

De las ramas frescas del arbusto se separaron las hojas, se acondicionó el material (lavado, enjuague, escurrimiento) y se secó a temperatura ambiente y a la sombra (7 días).

Obtención del extracto y su fraccionamiento

La elaboración del extracto se realizó por maceración (Farmacopea Argentina, 2013), para esto la droga vegetal (DV)

(seca y molida, tamaño de partícula entre 355 y 850 μm) se dejó en contacto con etanol (EtOH) 96 % (v/v) a 65 °C, durante 2,5 horas. Se filtró el líquido, se prensó el residuo, y se lavó el recipiente y el residuo con pequeñas porciones del etanol 96 %, reuniendo los filtrados para obtener un extracto etanólico (EE) al 20 % (p/v).

Para la separación del EE en distintas fracciones se siguió la técnica propuesta por Rondina y Coussio (1969), descripta por Ardoino y col. (2013) y Soro y col. (2019). El extracto EE filtrado constituyó la primera fracción (fracción A). Un tercio de ese filtrado se secó, se trató con ácido clorhídrico al 1 % y se filtró. Al residuo de la filtración se le agregó cloroformo y se filtró (fracción B). Al filtrado ácido anterior se lo alcalinizó con amoníaco y se controló el pH con papel de tornasol, luego se extrajo con cloroformo. Esta fracción se concentró y se recuperó el volumen con ácido clorhídrico al 1 % (fracción C). El extracto inicial se secó y recuperó con ácido clorhídrico al 1 % y se neutralizó (fracción D).

Material biológico

Los aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* y de *Escherichia coli* fueron provistos por el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital "4 de Junio" y el de la Unidad Médica Educativa de la Universidad Nacional del Chaco Austral. Todos los microorganismos fueron mantenidos a -20 °C en caldo infusión cerebro corazón (BHI, Laboratorios Britania, Argentina) conteniendo glicerol al 30 % (v/v).

Los huevos de *Artemia salina* L. (Artemiidae) fueron adquiridos como presentación comercial (marca Vitafish) en un acuario de la ciudad.

Análisis cualitativos

Investigación de metabolitos por reacciones fitoquímicas

La determinación de los grupos de metabolitos se efectuó, según correspondiese a la naturaleza del ensayo, en DV, EE y sus fracciones. Los principales grupos de metabolitos se reconocieron mediante reacciones colorimétricas o de precipitación (Lock de Ugaz, 2001; Murillo y Méndez, 2008).

Las reacciones directas en DV permitieron explorar metabolitos como antraquinonas y derivados (reacción de Bornträger), cumarinas (prueba de Legal, prueba de Erlich), glucósidos cianogenéticos (reacción de Guignard), proteínas/grupos amino (reacción de la ninhidrina), lípidos (Sudán III, reacción con yodo) y saponinas (prueba de la espuma, Norma IRAM 37514).

En la fracción A (etanólica) se investigaron: flavonoides (reacción de Shinoda, vapores de amoníaco), hidratos de carbono (prueba de Molisch), lípidos (Sudán III, reacción con yodo) y taninos/grupos OH- fenólicos (prueba de la gelatina-sal, tratamiento con butanol, ácido clorhídrico y carbonato de sodio).

La fracción B (clorofórmica, ácida) se empleó para in-

vestigar antraquinonas y derivados (reacción de Bornträger) y triterpenos/esteroides (prueba de Liebermann-Burchard, prueba de Salkowski).

En la fracción C (clorofórmica, neutra) se investigaron alcaloides (reactivo de Dragendorff, prueba de Mayer), glucósidos cardiotónicos (prueba de Legal, prueba de Baljet), triterpenos/esteroides (idem fracción B), y leucoantocianinas (reacción de Rosenheim).

En la fracción D (acuosa) se buscaron glucósidos cardiotónicos (idem fracción C), hidratos de carbono (idem DV), polifenoles/taninos (reacción del cloruro férrico, ensayo con reactivo Folin-Ciocalteu, prueba de la gelatina-sal) y proteínas/grupos amino (idem DV).

Investigación de metabolitos por cromatografía en capa delgada

El EE también se investigó por cromatografía en capa delgada (CCD); las fases móviles y reveladores fueron tomados de las alternativas que plantean Wagner, Bladt y Zgainski (2001) y Murillo y Méndez (2008). Para alcaloides se utilizó el sistema de fase móvil: tolueno, acetato de etilo, dietilamina (7:2:1) y revelado con reactivo de Dragendorff. Para flavonoides se usó el sistema de fase móvil: acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético, agua (10:1,1:1,1:2,7) y la solución reveladora difenil-boriloxietilamina - polietilenglicol-28 (NP-PEG 28). Para polifenoles/taninos en general se empleó el sistema: butanol, ácido acético, agua (4:1:5) y los reveladores luz UV, ferricianuro de potasio y cloruro férrico. Para terpenos y esteroides se ocupó el sistema: cloroformo, metanol, agua (6,4:5:1) y como reveladores los reactivos de Liebermann-Burchard y anisaldehído-ácido sulfúrico.

Ensayos complementarios

A pequeñas porciones de DV en polvo se le practicaron procedimientos generales de extracción (Ringuelet y Viña, 2013) a fin de explorar metabolitos potencialmente tóxicos: alcaloides (por mezcla hidroalcohólica ácida y por solvente orgánico en medio alcalino) y triterpenos/esteroides (procedimientos para saponósidos y para heterósidos cardiotónicos). Los extractivos para ensayos complementarios (EEC) de alcaloides se exploraron en CCD con el sistema solvente y reactivos reveladores antes mencionados, contrastando con sulfato de atropina como testigo. Para saponósidos se recurrió al sistema de fase móvil: butanol- ácido acético glacial-agua (4:1:5), el revelado se hizo con el reactivo de Liebermann-Burchard y se usó como testigo el extracto de corteza de *Quillaja saponaria* (Rosaceae) en etanol 70 %. Para los heterósidos se empleó el sistema: acetato de etilo, metanol, agua (8:1:1:8), como revelador el reactivo de Liebermann-Burchard, y como testigos digitalina en cloroformo y extracto de *Q. saponaria* en etanol 70 %.

Caracterización preliminar de los flavonoides mayoritarios por espectrofotometría UV-visible

En placa de sílica gel se sembró una muestra del EE, empleando las fases móvil y estacionaria ya citadas en el ensayo de flavonoides. Se observó con luz UV a 366 nm (con y sin empleo de vapores de amoníaco) y con el revelador NP-PEG 28. Se rasparon los sectores de la placa donde se localizaron las manchas mayoritarias y se solubilizaron en metanol (EM).

Por otra parte, a partir de DV sometida a una hidrólisis ácida (HA) con HCl 2 M durante 40 minutos a 100 °C y posterior partición con acetato de etilo, se obtuvieron flavonoides, los cuales se analizaron y separaron por cromatografía en papel (CP) (Cartaya, 2001; Harborne, 1973), fase móvil: agua, con el mismo revelado que la placa anterior. Las muestras de HA fueron solubilizadas en metanol (EHM).

Tanto EM como EHM se sometieron a un barrido espectral en un espectrofotómetro UV-visible Shimadzu UV-1800 (200 a 400 nm), determinando los valores de las bandas I y II para luego compararlos con bibliografía de referencia como Markham (1982).

Cuantificación de fenoles y de flavonoides

El contenido de fenoles totales se determinó por el método colorimétrico (Singleton y col., 1999) con el reactivo Folin-Ciocalteu. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico/ml de extracto etanólico (mg EAG/ml EE). Los flavonoides se cuantificaron con el método del cloruro de aluminio (Popova, 2005) y su contenido se expresó como miligramos equivalentes de quercetina/ml de extracto etanólico (mg EQ/ml EE). En ambos casos las determinaciones se efectuaron por triplicado; los valores presentados corresponden a la media \pm desviación estándar.

Actividad antimicrobiana

La evaluación cualitativa de esta actividad se realizó mediante bioautografía puntual, cargando 60 μ g de extracto seco disuelto en EtOH, en cromatoplasas de sílica gel. Todas las placas se cubrieron con 2 ml de medio de cultivo (infusión cerebro corazón con 0,6 % de agar) conteniendo 10^5 UFC/ml de la cepa de bacteriana (Nieva Moreno y col., 1999). Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h y se midieron los halos de inhibición formados luego del revelado con la sal 3-(4,5-dimetiltiazol 2yl)-2,4-difenilbromuro de tetrazolio (MTT). Los ensayos se hicieron por duplicado.

La evaluación cuantitativa se realizó mediante la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM). Ambas pruebas se efectuaron mediante microdilución en caldo (CLSI, 2006). Al EE obtenido originalmente se le eliminó el solvente por evaporación y el residuo seco se disolvió en DMSO, y el extracto resultante se designó

como ED. El rango de concentraciones probado fue de 31,25-1000 μ g/ml. Los microorganismos utilizados fueron bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y cinco aislamientos clínicos de *S. aureus*: Sa 5289, Sa 5347, Sa 5307, Sa 5627, Sa 5246, Sa 5621, Sa 5357) y Gram negativas (*Escherichia coli* ATCC 35218 y dos aislamientos clínicos resistentes a ampicilina: *E. coli*: Ec 1763, Ec 1785). Como control positivo se usó ampicilina (en un rango de concentraciones de 102,4 a 0,2 μ g/ml) y como control negativo DMSO. Los ensayos se realizaron por duplicado.

Ensayo de toxicidad aguda in vitro

Con el ED también se desarrolló el *Test de la Artemia salina*. Los huevos se incubaron en una cámara con agua de mar artificial (ajustada a pH 9,0) a 25 °C, con aireación y luz artificial directa (Zampini y col., 2008), durante 24 h. Luego se dispuso una serie de 10 larvas en tubos conteniendo diferentes concentraciones del extracto (10 -1000 μ g/ml) en el agua de mar. Se incluyó un grupo control con todos los elementos del ensayo, excepto la muestra, y como control positivo una solución de dicromato de potasio (3,75 - 60 μ g/ml). Después de 24 h, se contó el número de larvas muertas (sin motilidad) con ayuda de una lupa estereoscópica y se determinaron la mortalidad y la Concentración Letal 50 (CL_{50}). Los ensayos se efectuaron por triplicado y los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar. Para la clasificación se consideró la escala referenciada por el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, mencionada por Bussmann y col. (2011).

Ensayo de genotoxicidad

Este ensayo se realizó según la técnica de Maron y Ames (1983). Las cepas de *Salmonella typhimurium* TA98 y TA100 fueron cultivadas en caldo nutritivo y expuestas a diferentes concentraciones del ED (500, 250 y 125 μ g/ml). El ED se agregó a 2 ml de agar blando suplementado con L-histidina y D-biotina, luego fue mezclado con 100 μ l de la suspensión bacteriana y se incubó a 37 °C durante 48 h. También se realizó un control negativo (sin extracto), un control positivo con 4-NPD (4-nitro-o-fenilendiamina) y un control de solvente con DMSO. Las muestras se analizaron por triplicado con dos réplicas. El control negativo permite evaluar el número de colonias que reversion espontáneamente. Los resultados se expresaron como el número de revertantes por placa y como el índice mutagénico (IM) de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$IM = \frac{\text{número de revertantes en la muestra}}{\text{número de revertantes espontáneos}}$$

Resultados y discusión

Análisis cualitativo

En la tabla 1 se incluyen los resultados obtenidos en la marcha fitoquímica con los metabolitos reconocidos en DV y en EE. En las condiciones de ensayo, se detectaron presencia de flavonoides, hidratos de carbono, polifenoles/taninos, proteínas/grupos amino, taninos/grupos OH-, saponinas triterpénicas (mancha púrpura) y esteroides (mancha azul/azul verdoso), en tanto que resultó dudosa la presencia de cumarinas. No se detectó la presencia de alcaloides, antraquinonas, glucósidos cardiotónicos, glucósidos cianogenéticos y leucoantocianinas y lípidos.

En la tabla 2 se muestran los grupos de metabolitos cuya exploración se realizó por CCD a partir del EE y de los extractivos EEC. Se determinó la presencia de triterpenos saponósidos y se corroboró la ausencia de alcaloides y de heterósidos cardiotónicos.

El análisis preliminar de los grupos de metabolitos presentes en el extracto EE es, en parte, coincidente con lo referido por Oliveira de Sousa y col. (2015) en extractos con hojas de la especie del estado de Ceará, Brasil. En este caso determinaron presencia de fenoles, flavonoides, taninos, saponinas, esteroides y terpenos. Bevilacqua y col. (2011), con material vegetal de San Pablo, Brasil, para el extracto etanólico de hojas de *L. camara* reportaron la presencia de glicósidos y ácidos grasos como componentes mayoritarios.

Caracterización preliminar de flavonoides mayoritarios

En la tabla 3 se reporta acerca de la composición de los flavonoides mayoritarios del EM según los análisis por CCD y espectrofotometría UV-visible. La información obtenida sugeriría que los compuestos mayoritarios en forma de glicósidos corresponderían al grupo de las flavonas. En la tabla 4 se reporta el tipo de flavonoides hallados en EHM, donde los componentes por su escasa movilidad en la CP serían glicoflavonas, ya que debido a la resistencia de la unión heterosídica C-C pueden permanecer como compuesto no hidrolizado (Harborne, 1973).

Entre las flavonas aisladas de hojas de *Lantana camara* que han sido reportadas, pueden mencionarse la flavona glucósido camarasida (Ghisalberti, 2000). La hidrólisis ácida de la flavona pectolinarina produjo una aglicona denominada pectolinarigenina y se reconoció D-glucosa y L-ramnosa (Juang y col., 2005). Otras flavonas obtenidas de un extracto metanólico fueron acacetin-7-O-β-D-rutinosido, tricina, hispidulina, 3,5,7,8-tetra hidroxil-6-3'-dimetoxi flavona (Patil y col., 2015). En un ensayo de aislamiento bioguiado a partir de un extracto metanólico de *L. camara* se informó la presencia de la glicoflavona vitexina (Qureshi y col., 2019).

Tabla 1.- Exploración de metabolitos mediante reacciones fitoquímicas

| Metabolitos | Droga vegetal | Extracto (EE) |
|---------------------------|---------------|---------------|
| Alcaloides | nr | - |
| Antraquinonas y derivados | - | - |
| Cumarinas | +/- | +/- |
| Flavonoides | nr | + |
| Glucósidos cardiotónicos | nr | - |
| Glucósidos cianogenéticos | - | nr |
| Hidratos de carbono | nr | + |
| Leucoantocianinas | nr | - |
| Lípidos | - | - |
| Polifenoles/taninos | nr | + |
| Proteínas/grupos amino | + | + |
| Saponinas | + | + |
| Taninos y grupos OH- | nr | + |
| Triterpenos/esteroides | nr | + |

EE: extracto etanólico; **+**: presencia; **-**: ausencia; **+/-**: dudoso; **nr**: no realizado.

Tabla 2.- Exploración de metabolitos mediante cromatografía en capa delgada

| Metabolitos | Extracto (EE) | Extractivos (EEC) |
|--|---------------|-------------------|
| Alcaloides | - | - |
| Flavonoides | + | nr |
| Polifenoles/taninos | + | nr |
| Triterpenos/esteroides | + | nr |
| Esteroides (heterósidos cardiotónicos) | nr | - |
| Triterpenos (saponósidos) | nr | + |

EE: extracto etanólico; **EEC:** extractivos para ensayos complementarios; **+**: presencia; **-**: ausencia; **nr**: no realizado.

Análisis cuantitativo

El contenido de fenoles totales fue de $3,04 \pm 6.10^{-2}$ mg EAG/ml EE; el de flavonoides, $0,82 \text{ mg} \pm 4.10^{-2}$ mg EQ/ml EE. Existen publicaciones que informan acerca del contenido de fenoles y de flavonoides totales de extractos acuosos y etanólicos de la especie que se desarrolla en algunos lugares de Brasil (Sousa y col., 2015) y de la Argentina (Michelsoni y col., 2018), pero los resultados se expresan de manera diferente. Los investigadores Sousa y col. (2015) sugieren que el potencial uso de este arbusto en el tratamiento de varias enfermedades se debería a su capacidad de actuar como antioxidante, atribuible particularmente a los flavonoides.

Tabla 3.- Caracterización preliminar de los flavonoides mayoritarios en EM

| Rf | Color UV (366 nm) | | Longitud de onda UV-vis. (nm) | | Tipo de compuesto |
|------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|---------|----------------------|
| | Sin vapores NH ₃ | Con vapores NH ₃ | Banda II | Banda I | |
| 0,25 | Celeste claro | Amarillo verdoso | 292 | 332 | Glicósido de flavona |
| 0,65 | Celeste claro | Amarillo verdoso | 291 | 337 | Glicósido de flavona |

EM: extracto metanólico; **fase móvil:** acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético, agua (10:1,1:1,1:2,7); **revelador:** NP-PEG 28 (difetilboriloxietilamina - polietilenglicol-28).

Actividad antimicrobiana

El extracto de *L. camara* sólo fue activo frente a *Staphylococcus aureus*, presentando halos de inhibición mayores a 10 mm, similar a lo registrado en Perú (Distrito de La Libertad) por Requelme Bautista y Leal-Vera (2019), para extractos obtenidos por percolación de hojas frescas con los solventes EtOH 50 ° y EtOH 75 °.

Los valores de CIM (tabla 5) estuvieron comprendidos entre 125 y 500 µg/ml y de CBM entre 500 y 1000 µg/ml frente a las bacterias Gram positivas ensayadas, excepto en tres cepas que no se detectó CBM. Los valores hallados mostrarían una aceptable actividad antibacteriana y los valores de CIM determinados en este trabajo resultaron similares a los informados por investigadores de Brasil, tales como Barreto y col. (2010) y Oliveira de Sousa y col. (2015), quienes reportaron CIM = 512 µg/ml para *S. aureus*. Los extractos investigados en ese país sí resultaron activos frente a *E. coli* (CIM = 256 µg/ml), en tanto que el extracto aquí estudiado no fue activo. Estas diferencias podrían depender de diversos factores, tales como: estado de las hojas (frescas o secas), método de extracción (maceración en frío o en caliente, agotamiento por solvente, percolación), la sensibilidad de las cepas bacterianas y la técnica microbiológica usada para la determinación de la CIM/CBM. Otras causas que podrían explicar estas discrepancias estarían relacionadas con factores inherentes a la planta, tales como su distribución geográfica o sus características genéticas.

De acuerdo con Salada y col. (2015), un compuesto se considera bactericida cuando el valor de CBM es inferior a 4 veces el valor de CIM. Por lo tanto, si CBM/CIM da un valor igual o mayor a 4 se considera bacteriostático.

Tabla 4.- Caracterización preliminar de flavonoides mayoritarios en EHM

| Rf | Longitud de onda UV-vis. (nm) | | Tipo de compuestos |
|------|-------------------------------|---------|--------------------|
| | Banda II | Banda I | |
| 0,10 | 260 | 349 | Glicoflavona |
| 0,25 | 256 | 332 | Glicoflavona |

EHM: extracto de hidrólisis ácida en metanol; **fase móvil:** agua; **revelador:** NP-PEG 28 (difetilboriloxietilamina-polietilenglicol-28).

Los resultados del presente estudio permiten decir que el extracto presenta actividad bacteriostática frente a todos los aislamientos de *S. aureus* usados en este ensayo y bactericida frente a las cepas de *S. epidermidis* y *E. faecalis*. La actividad antibacteriana podría atribuirse a los flavonoides, taninos y terpenos presentes en este extracto; ya que estos componentes han sido reportados con esa acción (Oliveira de Sousa y col., 2015; Girish, 2017).

Ensayo de toxicidad aguda in vitro

En cuanto al ensayo de letalidad, el valor de CL₅₀ fue 1358 ± 16 µg/ml, infiriéndose que sería prácticamente no tóxico (entre 1000 y 1500 µg/ml), de acuerdo con los estándares establecidos por CYTED (Retuerto-Figueroa y col., 2020). Este valor resulta similar a lo establecido por Baldera Paico y Dejo Tovar (2018, en Lambayeque, Perú) para un extracto etanólico de hojas (CL₅₀ = 1625 µg/ml, considerado relativamente inocuo).

El valor de CL₅₀ no muestra una actividad fisiológica o biológica en particular, es indicador de toxicidad a nivel celular (Sánchez y Neira, 2005). Este valor orienta en la búsqueda de nuevos componentes bioactivos en las plantas, pero representa una evaluación preliminar de la toxicidad.

Tabla 5.- CIM y CBM (µg/ml) de ED *L. camara* sobre bacterias Gram positivas

| Cepa bacteriana | <i>L. camara</i> | | Ampicilina |
|-----------------|------------------|------|------------|
| | CIM | CBM | CIM |
| Sa 5289 | 250 | 1000 | 25,6 |
| Sa 5347 | 250 | 1000 | 25,6 |
| Sa 5307 | 500 | nd | 51,2 |
| Sa 5627 | 250 | 1000 | 25,6 |
| Sa 5246 | 500 | nd | 51,2 |
| Sa 5621 | 500 | nd | 51,2 |
| Sa 5357 | 500 | 1000 | 51,2 |
| Sa ATCC 29213 | 125 | 500 | 0,8 |
| Se ATCC 12228 | 250 | 500 | 0,8 |
| Ef ATCC 29212 | 250 | 500 | 0,4 |

ED: extracto seco de *L. camara* diluido en DMSO; **CIM:** concentración inhibitoria mínima; **CBM:** concentración bactericida mínima; **Sa:** *Staphylococcus aureus*; **Se:** *S. epidermidis*; **Ef:** *Enterococcus faecalis*; **nd:** No detectado.

Tabla 6.- Genotoxicidad de ED *L. camara* sobre *Salmonella typhimurium*

| Muestra | Concentración (µg/placa) | <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 | | <i>Salmonella typhimurium</i> TA100 | |
|------------------|--------------------------|------------------------------------|------|-------------------------------------|------|
| | | N° rev/placa | IM | N° rev/placa | IM |
| Control negativo | --- | 29 ± 1 | --- | 123,5 ± 4,9 | --- |
| Control DMSO | --- | 27 ± 2 | --- | 125,0 ± 1,5 | --- |
| 4-NPD | 10 | 560,0 ± 22,6 | 19,3 | 536,0 ± 56,6 | 4,34 |
| ED | 500 | 24,5 ± 2,1 | 0,84 | 90,5 ± 2,1 | 0,73 |
| | 250 | 31,0 ± 1,3 | 1,06 | 112,5 ± 3,5 | 0,91 |
| | 125 | 27,0 ± 6,9 | 0,93 | 99,5 ± 7,8 | 0,80 |

ED: extracto seco de *L. camara* diluido en DMSO; N° rev/placa: número de revertantes por placa; IM: índice mutagénico; 4-NPD: 4-nitro-o-fenilendiamina.

Ensayo de genotoxicidad

El extracto ED frente a *Salmonella typhimurium* TA98 y TA100 a concentraciones de 500, 250 y 125 µg/ml de extracto no evidenció genotoxicidad, pues los valores de IM fueron menores a 2 (Tabla 6). Esto indicaría que el ED es seguro a las concentraciones bioactivas determinadas en este estudio. Si bien no se encontraron trabajos recientes sobre estudios de genotoxicidad en extractos alcohólicos de hojas de *L. camara*, la ausencia de mutagenicidad hallada en este trabajo coincide con lo informado por Alkofahi y col. (1990) quienes trabajaron con extractos etanólicos de 40 plantas medicinales de Jordania, entre las que se encontraba *L. camara*.

Sin embargo, aunque estos resultados indican baja toxicidad aguda *in vitro* y ausencia de genotoxicidad, es necesario recordar que se encontraron estudios *in vivo* que revelan toxicidad con el extracto etanólico (Bevilacqua y col., 2011) y extracto metanólico (Pour y col., 2011) de *Lantana camara*. Por ello, se considera necesario otros estudios de toxicidad *in vivo* para extractos etanólicos de esta especie.

Conclusiones

En las condiciones de este estudio exploratorio, el extracto etanólico de las hojas de *Lantana camara* revelaría la presencia de polifenoles/taninos, flavonoides, hidratos de carbono, proteínas, saponósidos triterpenos y esteroides. En los ensayos *in vitro* se determinó ausencia de toxicidad aguda y de genotoxicidad, de modo concordante con lo reportado en algunas regiones de Brasil y de Perú. Con respecto a la actividad antibacteriana, los resultados son prometedores, principalmente frente a bacterias Gram positivas.

Los resultados del trabajo contribuirían a ampliar el conocimiento científico de un extracto etanólico de la especie en la Argentina, aunque resultan imprescindibles estudios de mayor complejidad para caracterizar los saponósidos esteroides y triterpenoides.

El aislamiento bioguiado de compuestos de interés y la combinación del extracto con antibióticos comerciales constituyen los nuevos desafíos propuestos por el grupo.

Referencias bibliográficas

- Alkofahi, A.S.; Abdelaziz, A.; Mahmoud, I.; Abuirjie, M.; Hunaiti, A.; El-Oqla, A. (1990). "Cytotoxicity, Mutagenicity and Antimicrobial Activity of Forty Jordanian Medicinal Plants". *International Journal of Crude Drug Research*, 28 (2) 139-144. <https://doi.org/10.3109/13880209009082798>
- Ardoino, S.M.; Boeris, M.A.; Toso, R.E. (2013). "Caracterización fitoquímica de *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa* (algarrobo) y *Prosopis flexuosa* var. *depressa* (alpataco), plantas con acción farmacológica". *Revista Ciencias Veterinarias*, 15 (1): 115-125.
- Ayub A., Tauseef S., Zehra S.Q., Begum S., Siddiqui B.S., Ahmed A. (2017). "Antimicrobial activity of *Lantana camara* Linn". *FUFAST J. BIOL.* 7 (1): 127-130. https://www.researchgate.net/publication/320290212_ANTIMICROBIAL_ACTIVITY_OF_LANTANA_CAMARA_LINN_13
- Baldera Paico, C.J.; Dejo Tovar, A.M. (2018). "Efecto biocida del extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* (Lantana) sobre el estadio adulto de *Aedes aegypti* y toxicidad sobre *Artemia salina* (Camarón salino) en condiciones de laboratorio". Tesis. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Facultad de Ciencias Biológicas. Lambayeque, Perú. <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/3021>
- Barreto, F.S.; Sousa, E.O.; Campos, A.R.; Costa, J.G.M.; Rodrigues, F.F.G. (2010). "Antibacterial activity of *Lantana camara* Linn and *Lantana montevidensis* Briq. extracts from Cariri-Ceará, Brazil". *Journal of Young Pharmacists* 2: 42-44.
- Bevilacqua A.H.V.; Suffredini I.B.; Romoff P.; Lago J.H.G.; Bernardi M.M. (2011). "Toxicity of apolar and polar *Lantana camara* L. crude extracts in mice". *Research in Veterinary Science* 90: 106-115.
- Brito, M.F.; Tokarinia, C.H.; Döbereiner, I. (2004). "A toxidez de diversas lantanas para bovinos e ovinos no Brasil". *Pesquisa Veterinária Brasileira* 24: 45-51.
- Bussmann, R.W.; Malca, G.; Glenn, A.; Sharon, D.; Nilsen, B.; Paris, B.; Dubose, D.; Ruiz, D.; Saleda, J.; Martinez, M.; Carillo, L.; Walker, K.; Kuhlman, A.; Townesmith, A. (2011). "Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru". *Journal of Ethnopharmacology* 137 (1): 121-40.
- Cartaya, O.; Reynaldo, I. (2001). "Flavonoides: Características químicas y aplicaciones". *Cultivos Tropicales* 22 (2): 5-14.

- Carvajal Tesorero, Z.; Ramírez Zambrano, L.; Ducurú, M.; Gómez, V.; Cabrera, G.; Méndez, J.; Rodríguez Ortega, M. (2013). "Actividad biológica de extractos de tres plantas sobre bacterias patógenas para el humano". *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 33 (1): 35-39.
- Caspe, S.G.; Ramirez, J.C.; Pereyra, M.; Sala, J.M.; Sarmiento, N.F. (2012). "Intoxicación natural en bovinos con *Lantana camara* en la provincia de Corrientes". *Noticias y Comentarios* 484. Ediciones INTA, Corrientes: 1-4. <https://inta.gob.ar/documentos/intoxicacion-natural-en-bovinos-con-lantana-camara-en-corrientes.-noticias-y-comentarios-484>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2006). *Methods for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals*. CLSI, Pennsylvania.
- De la Peña, R.; Pensiero J.F. (2017). *Las plantas como recurso alimenticio de las aves*. Ediciones UNL, Santa Fe: 189.
- Farmacopea Argentina, Séptima Edición compilada (2013), Volumen IV, p. 239. Ministerio de Salud de la Nación. Buenos Aires, Argentina. <https://www.argentina.gob.ar/farmacopea-argentina/libro-farmacopea-argentina-7a-ed>
- Ghisalberti, E.L. (2000). "*Lantana camara* L. Verbenaceae. Review". *Fitoterapia* 71: 467-486.
- Girish K. (2017). "Antimicrobial activities of *Lantana camara* Linn". *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 10(3):57-67. DOI-10.22159/ajpcr.2017.v10i3.16378
- González Y.; Recalde L. (2006). "Plantas tóxicas de Asunción y Gran Asunción". *Rojasiana* 7 (2): 79-89.
- Grilli, G.; Galetto, L. (2009). "Remoción de frutos en el bosque chaqueño". *Ecología Austral* 19: 149-156.
- Harborne, J.B. (1973). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Technique of Plant Analysis*. Chapman A & Hall, London, 57.
- Hernández, M.P.; Civitella, S.M.; Rosato, V.G. (2010). "Uso medicinal popular de plantas y líquenes de la Isla Paulino, Provincia de Buenos Aires, Argentina". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 9: 258-269. <https://www.redalyc.org/pdf/1994/199428471008.pdf>
- Hurrell, J.; Bazzano, D. (2003). *Biota Rioplatense VIII. Arbustos I. Nativos y exóticos*. Literature of Latin America, Buenos Aires: 233.
- Instituto Argentino de Normalización y Certificación (1997). Norma IRAM 37514. *Drogas vegetales. Detección de saponósidos en plantas medicinales*. Argentina.
- Juang, F.C., Chen, Y.F., Lin, F.M., Huang, K.F. (2005). "Constituents from the leaves of *Lantana camara* (IV)". *J Chin Med* 16 (2-3): 149-155.
- Kalita, S.; Kumar, G.; Karthik, L.; Bhaskara Rao, K.V. (2012). "A review on medicinal properties of *Lantana camara* Linn". *Research Journal of Pharmacy and Technology* 5 (6): 711-715.
- Kumar, V.P.; Chauhan, N.S.; Padh, H.; Rajani, M. (2006). "Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants". *J Ethnopharmacol.* 107: 182-8
- Lock de Ugaz, O. (2001). "Análisis fitoquímico y metabolitos secundarios". En: Villar López, M.; Mesa Ramos, M.; Pimentel, O.G. (ed). *Manual de Fitoterapia* Cap. IV. OPS. Perú: 41-43.
- Marin, R.E.; Erquiaga, R.; Sernia, C.; Morrel, E.; Scicchitano, S.; Odriozola, E. (2005). "Intoxicación natural y experimental de bovinos por consumo de *Lantana camara*". *Veterinaria Argentina* 22 (215): 332-343.
- Markham, K.R. (1982). *Techniques of flavonoid identification*. Academic Press, London: 85.
- Maron, D.M.; Ames, B.N. (1983). "Revised methods for the Salmonella mutagenicity test". *Mutation Research* 11: 173-215. <https://www.replace.be/sites/default/files/Revised%20methods%20for%20the%20Salmonella%20mutagenicity%20test.pdf>
- Micheloni, O.B.; Gonzalez, E.; Leclercq, B.; Rolandelli, G.; Oackley, L.; Farroni, A.E. (2018). "Estudio de la actividad biológica y toxicidad de extractos naturales obtenidos a partir de especies vegetales silvestres". En INTA, *Desarrollos tecnológicos en el marco del Programa Nacional de Agroindustria y Agregado de Valor*. Argentina: 58-65.
- Murillo, E.; Méndez, J. (2008). *Guía metodológica para la detección rápida de algunos núcleos secundarios y caracterización de una droga cruda*. Facultad de Ciencias. Universidad del Tolima. Colombia. <http://es.scribd.com/doc/276763755/Guia-Para-Deteccion-Rapidas-de-Algunos-Nucleos-Secundarios>
- Navarrete Barragán, N.A.; Pita-Ospina, E.F.; Sánchez Mora, R.M.; Giraldo Quintero, S.E.; Bernal Lizarazú, M.C. (2020). "Actividad *in vitro* de los extractos etanólicos de *Lantana camara* L., *Petiveria alliacea* L. y *Lippia dulcis* T. frente a bacterias patógenas". *NOVA* 18 (33): 53-71. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v18n33/1794-2470-nova-18-33-53.pdf>
- Nieva Moreno, M.I.; Isla, M.I.; Cudmani, N.G.; Vattuone, M.A.; Sampietro, A.R. (1999). "Screening of antibacterial activity of Amaicha del Valle (Tucumán, Argentina) propolis". *Journal of Ethnopharmacology* 68: 97-102.
- Nurul, F.; Abdul, P. (2013). "Extraction of *Lantana camara* for wound healing application". Thesis. Faculty of Chemical & Natural Resources Engineering University Malaysia Pahang. <https://core.ac.uk/reader/159182150>
- Oliveira de Sousa, E.; Fernandez Galvão Rodrigues, F.; Rolim Campos, A.; Martins da Costa, J. G. (2015). "Phytochemical analysis and modulation in aminoglycosides antibiotics activity by *Lantana camara* L". *Acta Scientiarum. Biological Sciences* 37 (2): 213-218.
- Patil, G.; Khare, A.B.; Huang, K.F.; Lin, F.M. (2015). "Bioactive chemical constituents from the leaves of *Lantana camara* L.". *Indian Journal of Chemistry* 54B: 691-697.
- Popova, M.; Silicib, S.; Kaftanogluc, O.; Bankov, V. (2005). "Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition". *Phytomedicine* 12: 221-228.
- Pour, B.M.; Latha, L.Y.; Sasidharan, S. (2011). "Cytotoxicity and Oral Acute Toxicity Studies of *Lantana camara* Leaf Extract". *Molecules* 16: 3663-3674. <https://doi.org/10.3390/molecules16053663>
- Qureshi, H.; Anwar, T.; Ali, Q.; Haider, M.Z.; Habib, N.; Fatima, S.; Waseem, M.; Bibi, Y.; Arshad, M.; Adkins, S.W. (2019). "Isolation of natural herbicidal compound from *Lantana camara*". *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 101 (5): 631-638. <https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1670822>
- Requelme-Bautista, M.C.; Leal-Vera, C.A. (2019). *Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de hojas de *Lantana camara* (hierba de la maestranza) sobre *Staphylococcus aureus**. Tesis. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Perú. <http://repositorio.uladec.edu.pe/handle/123456789/17081>

- Retuerto-Figueroa, M.G.; Ramos-Llica, E.; Gorriti-Gutiérrez, A.R.; Gallardo-Jugo, T.; Ortega-Romero, E.; Calixto-Cotos, M.; Cosquillo-Rafael, M.; Fuertes-Ruitón, C.; Quispe-Jacobo, F.; Villafuerte-Montes, U. (2020). "Estudio farmacognóstico, antioxidante y citotóxico de *Sinningia warmingii* 'papa madre'". *Rev. Toxicol* 37: 6-10. <http://rev.aetox.es/wp/index.php/estudio-farmacognostico-antioxidante-y-citotoxico-de-sinningia-warmingii-papa-madre/>
- Ringuelet J.; Viña S. (2013). *Productos naturales vegetales*. Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires: 54.
- Rodríguez, E.E.; Aceñolaza, P.G.; Picasso, G.; Gago, J. (2018). *Plantas del bajo Río Uruguay: Árboles y Arbustos*, volumen I. Comisión Administradora del Río Uruguay, Uruguay: 69.
- Rondina, R.V.D.; Bandoni A.L.; Coussio, J.D. (2008). "Especies medicinales argentinas con potencial actividad analgésica". *Dominguezia* 24 (1): 47-69.
- Rondina, R.V.D.; Coussio, J.D. (1969). "Estudio fitoquímico de plantas medicinales argentinas (I)". *Revista de Investigaciones Agropecuarias* 2 (6): 352-366.
- Rotman, A.D. (2009). "El género *Lantana* L. (Verbenaceae-Verbenoideae) en Paraguay: sinopsis y novedades". *Candollea* 64 (2): 297-301.
- Salada, J.; Balala, L.; Vásquez, E. (2015). "Phytochemical and antibacterial studies of *Lantana camara* L. leaf fraction and essential oil". *International Journal of Scientific and Research Publications* 5 (3): 1-5.
- Sánchez, L.; Neira, A. (2005). "Bioensayo general de letalidad en *Artemia salina*, a las fracciones del extracto etanólico de *Psidium guajava* L y *Psidium guineense* Sw". *Cultura Científica*, 3: 40-45. https://www.jdc.edu.co/revistas/index.php/Cult_cient/article/view/469
- Saraf, A.; Qureshi, S.; Sharma, K.; Khan, O.A. (2011). "Antimicrobial activity of *Lantana camara* L.". *Journal of Experimental Sciences* 2 (10): 50-54. https://www.researchgate.net/publication/261224269_Antimicrobial_activity_of_Lantana_camara_L
- Singleton, V.L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventos, R.M. (1999). "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent". *Methods Enzymology* 299: 152-178.
- Soro, A.S.; Valenzuela, G.M.; Nuñez, M.B. (2019). "Caracterización fitoquímica y actividad antioxidante de las especies *Sapium haematospermum* Müll Arg. (Euphorbiaceae) y *Baillonina amabilis* Bocq. (Verbenaceae)". *Dominguezia* 35 (1): 87-92.
- Sousa, E.O.; Miranda, C.M.B.A.; Nobre, C.B.; Boligon, A.A.; Athaydec, M.L.; Costa, J.G.M. (2015). "Phytochemical analysis and antioxidant activities of *Lantana camara* and *Lantana montevidensis* extracts". *Industrial Crops and Products* 70: 7-15.
- Torres C.; Galetto L. (2014). "Nectar sugar composition and flower visitors for the naturalized exotic *Lantana camara* (Verbenaceae) at Central Argentina". *The International Journal of Plant Reproductive Biology* 6 (2): 174-180.
- UMSA - Fundación Kaa-Iya - IRD CABI - WCS Bolivia - HNB CYTED – OEA (Editores). (2002). *Plantas del Chaco II. Usos tradicionales Izoceño-guaraní*. Bolivia: 348. https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/diversio-04/010029501.pdf
- Venegas del Castillo, A.; Vásquez-Valles, M.N. (2016). Efecto del aceite esencial de *Lantana camara* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *REBIOL* 36 (1): 29 - 37. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccbiol/article/view/1311>
- Wagner, H.; Bladt, S.; Zgainski, E.M. (2001). *Plant Drug Analysis. A thin layer chromatography atlas*. Springer-Verlag, Berlín: 43, 82, 119.
- Zampini, I.C.; Villarini M.; Moretti M.; Dominici L.; Isla, M.I. (2008). "Evaluation of genotoxic and antigenotoxic effects of hydroalcoholic extracts of *Zuccagnia punctata* Cav". *Journal of Ethnopharmacology* 115 (2): 330-335.

Dominguezia

Índice acumulado

Dominguezia 36(2) 2020

Los sistemas vegetales como plataformas de producción de proteínas de interés para la industria farmacéutica
María Alejandra Álvarez

Características y contenido de extractivos del leño de *Discaria chacaye* y *Ochetophila trinervis* (Rhamnaceae) de zonas de ecotono del suroeste de la provincia de Neuquén

Andrea Alejandra Medina, Antonela Pampiglioni, Evelyn Riquelme

Artefactos, saberes y prácticas científico-educativas de la farmacobotánica argentina (siglo XIX y XX). Nuevas miradas sobre las colecciones históricas del Museo de Farmacobotánica "Juan A. Domínguez" de la Universidad de Buenos Aires

Gabriela Mayoni

Nuestra edición y traducción de las Observaciones Fitológicas sobre algunas plantas exóticas introducidas en Roma de Gaspar Juárez y Filippo Gilii (1789, 1790, 1792)

José Luis Narvaja S. J., Miguel de Asúa

Dominguezia 37(1) 2021

Revisión de constituyentes químicos y propiedades biológicas en especies del género *Eugenia* (Myrtaceae)

Viviana S. Bravi, María Elena del Valle

Estudio Farmacobotánico, Etnofarmacológico y Micrográfico de drogas vegetales utilizadas para las afecciones de mayor índice de mortalidad, comercializadas en la ciudad de Posadas, Misiones Argentina. II parte.

Carlos Gustavo Altamirano, Marta Yajía

Nuevo soporte para obtención de cortes de material vegetal con micrótopo rotativo

María Inés Mercado, Graciela Inés Ponessa