

## Evaluación antimicrobiana de extractos obtenidos de los residuos de la corteza de Teca (*Tectona grandis* L.f).

Meribary, Monsalve-Paredes<sup>1\*</sup>; Adonis, Bello-Alarcón<sup>2</sup>

### Resumen

La madera de la Teca se caracteriza por su alta resistencia a microorganismos e insectos, característica atribuida a su composición química que hace que su cultivo, desarrollo y explotación incrementen constantemente generando residuos que no son tratados adecuadamente, por tal motivo se planteó evaluar la actividad antimicrobiana de extractos de diferentes polaridades obtenidos de la corteza residual generada en la industria maderera de la Teca empleando el método de extracción por Soxhlet, determinando las sustancias extraíbles y sus rendimientos. El extracto etéreo presenta un rendimiento considerablemente mayor con un valor del 69.01% sugiriendo que la composición de la Teca es principalmente por compuestos apolares, incluyendo resinas y otras sustancias presentes en la corteza solubles en dicho solvente, modificando el rendimiento. Al trabajar con Cromatografía en Capa Fina (CCF), la mezcla del eluyente usado (N-butanol, ácido acético, agua 4:1:5) permitió la corrida de solutos que fueron visibles por radiación UV a 365nm, emitiendo una coloración azul fluorescente que ha sido reportada para compuestos fenólicos. En la evaluación de la actividad antimicrobiana se empleó el método de difusión de Kirby-Bauer modificado (pozos) con cada uno de los extractos, frente a los patógenos: *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Aspergillus niger*.

**Palabras claves:** Teca, *Tectona grandis*, antimicrobiana, extractos.

## Antimicrobial evaluation of Teca (*Tectona grandis* L.f) extracts obtained from residues of the bark

### Abstract

The Teak wood is characterized by its high resistance to microorganisms and insects, a characteristic attributed to its chemical composition, which makes its cultivation, development and exploitation constantly increase the generation waste that is not treated properly. For that, it was proposed to evaluate the antimicrobial activity of extracts of different polarities obtained from the residual bark generated in the wood industry using the Soxhlet extraction method, determining the extractables and their yields. The ethereal extract it presents a higher yield with a value of 69.01% suggesting that the composition of Teak is mainly by apolar compounds, including resins and other substances present in the bark, modifying the yield. In the Thin Layer Chromatography (TLC) the eluent mixture used (N-butanol, acetic acid, water 4: 1: 5) allowed the run of solutes that were visible by UV radiation at 365 nm, emitting a fluorescent blue coloration that has been reported for phenolic compounds. In the evaluation of the antimicrobial activity, the modified Kirby-Bauer method was used with each extracts, against the pathogens: *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Aspergillus niger*.

**Key words:** Teca, *Tectona grandis*, antimicrobial, extracts.

**Recibido:** 13 de junio de 2019  
**Aceptado:** 30 de octubre de 2019

<sup>1</sup> Dra. Química de Polímeros; Docente en la Universidad de Guayaquil-Ecuador; meribary.monsalvep@ug.edu.ec

<sup>2</sup> Dr. Ciencias Farmacéuticas especialidad en Química Farmacéutica; Docente en la Universidad de Guayaquil-Ecuador; adonis.belloa@ug.edu.ec

\*Autor para correspondencia: meribary.monsalvep@ug.edu.ec

## I. INTRODUCCIÓN

En la mayoría de los países resalta constantemente la importancia de los recursos naturales renovables, tal como ocurre con los forestales, haciendo que continuamente se revisen políticas de reforestación que ayuden a desarrollar proyectos de investigación agroforestales con el fin de que a futuro se mejore la economía en países de bajos recursos (Pérez & Fariño, 2015).

La especie *Tectona grandis L.f* tiene reputación mundial como madera de alta calidad debido a sus notables propiedades físicas y mecánicas, particularmente elasticidad, resistencia, durabilidad y resistencia a la descomposición (Vyas, Yadav, & Khandelwal, 2018). Pero una de las características que la hace tan atractiva es su resistencia a plagas y enfermedades que suelen afectar a otras especies vegetales, dando lugar a que se generen investigaciones que permitan determinar y evaluar su composición química (Blanco, Trugilho, Lima, Gherardi & Moreira, 2014) y las aplicaciones que pueda tener cada uno de sus componentes en áreas que pueden beneficiar al ser humano de forma directa, como por ejemplo la curación de heridas (Varma & Giri, 2013) o propiedades analgésicas (Giri & Varma, 2015) y también de forma indirecta como es la protección de cultivos de otras especies vegetales (Das et al., 2012)

En Ecuador, la especie teca fue introducida hace 50 años en la Estación Experimental Tropical Pichilingue, adaptándose al clima seco y a unas temperaturas entre 22° y 28°C (Armijos, 2014). Con el tiempo ha aumentado tanto su producción que en el año 2004 se instauró la Asociación Ecuatoriana de Productores de teca y maderas tropicales (ASOTECA), que desde el 2008 empezó con la valoración de las haciendas productoras de esta madera, para elaborar un programa de diagnósticos de plantaciones que habían instalado y monitoreado más de 380 parcelas hasta el año 2013, es de ahí donde se ha extraído gran cantidad de información, logrando manejar de mejor manera el cultivo y desarrollo así como la comercialización de dicha madera (Holguín, 2015).

En la actualidad la explotación de la madera produce un gran beneficio comercial, pero a su vez hace que la industria genere grandes cantidades de residuos durante el procesamiento de la misma, aproximadamente un 50% del total. Esos residuos

en muchas ocasiones son tratados inadecuadamente por los campesinos y empresarios de la industria al no disponer de una alternativa que permita establecer un posible aprovechamiento. Por ello se debe considerar beneficiarse de las propiedades atribuidas a esta especie con algún tipo de aplicación (Abreu, Hardt, Branco de Freitas, & Moura, 2016). Tal como fue demostrado por Rojas y Rodríguez (2008) que evidenciaron el efecto antibacteriano y bacteriostático del follaje de *Tectona grandis L.f*, sobre bacterias Gram positivas, como *B. subtilis* ATTC 6633, *S. aureus*, *S. aureus* (Camp) y *M. luteus* (Rojas & Rodríguez, 2008)

En este trabajo se decidió continuar dichos estudios microbiológicos, pero evaluando específicamente la actividad antimicrobiana de los extractos de la corteza con disolventes de distintas polaridades: etanol, metanol, propanona y éter de petróleo sobre especies de microorganismos frecuentes como; *Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y el hongo *Aspergillus niger*.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra de corteza se recolectó en el cantón Rio Verde, Recinto el Achiote Provincia de Esmeraldas, Ecuador. Se fragmentó en trozos pequeños, se trituró y se conservó en desecadora hasta su utilización.

Para la preparación de los extractos se utilizó el método de extracción por Soxhlet, técnica desarrollada en 1897 y una de las más utilizadas para la obtención de extractos a partir de especie vegetal. en la actualidad utilizada como procedimiento de referencia para la validación de otras técnicas más actuales (Fidalgo-Used, Blanco-González, & Sanz-Medel, 2007).

Para las extracciones se pesaron 25 g de la muestra y 250 ml de disolvente por un tiempo de 4h. Al cabo de ese tiempo se retiró el extracto y se filtró. Finalmente, el líquido se rotaevapora en un equipo Heidolph Laborota 4001, hasta obtener un concentrado. El procedimiento se repitió por triplicado con cada disolvente: metanol, etanol, acetona y éter de petróleo.

A cada uno de los extractos se le determinó el contenido de sólidos solubles, para ello se usaron 3 cápsulas de porcelana limpias y secas, en cada una de ellas se colocaron 2ml de los extractos y se

introdujeron en la estufa VWR Scientific 1350 a la temperatura de 60°C durante 1h. Cumplido el tiempo se dejaron enfriar a temperatura ambiente para proceder a su pesado, repitiendo este último paso las veces que sea necesario hasta obtener peso constante. Todo el procedimiento fue realizado por triplicado con el extracto de cada solvente. Los valores obtenidos de sólidos solubles, se extrapolan para 250 mL, volumen inicial, y se calcula el rendimiento total de cada extracto con respecto al material vegetal empleado.

Los extractos además se evaluaron por Cromatografía de Capa Fina (CCF) técnica factible, rápida y económica (Vyas et al., 2018). Como fase estacionaria se utilizaron placas de alúmina marca FLUKA de 20 x 20 cm. La fase móvil usada fue n-butanol: ácido acético: agua en proporciones (4:1:5), que se seleccionó luego de realizar pruebas preliminares. Las muestras de los extractos fueron diluidas en proporciones 3:1 solvente-extracto y aplicadas. Para el revelado se empleó una lámpara de rayos UV a con longitud de onda a 365nm.

Para desarrollar la evaluación de la actividad antimicrobiana se utilizó el método de Kirby-Bauer modificado con las cepas de *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 85273), *Staphylococcus aureus* (ATCC 07184), *Escherichia coli* (ATCC 47396) y *Aspergillus niger* (ATCC 20577). Para cada una de ellas se

preparó en suspensiones con caldo infusión cerebro corazón, luego se inoculó cada bacteria y hongo de acuerdo al caso, con ayuda de la pipeta automática se colocaron 100 µl de las concentraciones preparadas (100% y 80 %) a partir de una solución elaborada con Tween 80 (9ml) y 5mL de extracto etanólico, metanólico y acetónico ó 2 ml en el caso del extracto de éter de petróleo. Las cajas se incubaron a 37 °C por 24 horas. La lectura de los halos de inhibición (mm) fueron interpretados de acuerdo a las técnicas de comprobación de actividad terapéutica de las plantas medicinales: actividad antibacteriana positiva o sensible (S) si el halo > a 9 mm; actividad intermedia o moderada (I) halo entre 6 - 9 mm y actividad bacteriana negativa o resistente (R) si el halo < 6 mm (Tapia & Armas, 2014)

### III. RESULTADOS

Los valores de porcentaje de rendimiento obtenidos para cada uno de los extractos (Tabla 1) disminuyen marcadamente a medida que la polaridad del disolvente aumenta, sugiriendo que la composición de teca está dada principalmente por compuestos apolares. El extracto de éter de petróleo presentó un rendimiento superior (69,01%), probablemente coincidiendo con los reportes de la literatura científica donde se plantea en la corteza la presencia de resinas y otros compuestos de polaridad similar (Yamamoto, Simatupang, & Hashim, 1998).

Tabla 1. Rendimiento y coloración de cada extracto.

Solvente	Metanol	Etanol	Acetona	Éter de petróleo
Sólido solubles (g/2mL)	0.0232	0.0477	0.0704	0.2999
Rendimiento (%)*	11.63	23.85	35.20	69.01
Coloración	Ámbar claro	Ámbar	Ámbar	Café verdoso oscuro

\*Rendimiento calculado para los 25g de muestra inicial

En el caso de los extractos polares el contenido de sólidos se atribuyen a la presencia de compuestos fenólicos (Berrocal J. & Rojas A., 2007). Dentro de esta variedad de compuestos se reportan la presencia de derivados de los ácidos fenólicos, cumarinas, catequinas, fenoles condensados o taninos entre otros (Maestro D. & Borja P., 1993).

Las variaciones en los colores de los extractos es consecuencia de la variabilidad antes presentada de los metabolitos secundarios (Gierlinger et al., 2004).

El análisis cualitativo de los extractos apoyó lo

anteriormente expuesto sobre la variabilidad de la composición química. La luz ultravioleta a 254 nm mostró manchas azules de alto Rf en todas las fracciones con excepción del extracto de éter de petróleo, sin embargo a pesar que se aplicó la misma cantidad de los extractos las manchas más numerosas e intensas se observan en los extractos de etanol y acetona. Este resultado está en correspondencia con los informes de composición química para la especie pues los compuestos fenólicos en general son mejor extraído con estos disolventes (A. El-Baky, E. Baz, &

El-Baroty, 2009; Mendiola L., 2008).

La evaluación microbiológica de los extractos su capacidad de inhibición se estableció por las medidas (mm) de los halos, los resultados son señalados en

la tabla 2. Para los extractos de éter de petróleo y acetona no se evidenció actividad antimicrobiana respecto ninguno de los microorganismos evaluados ni en las concentraciones preparadas.

**Tabla 2.** Efecto antimicrobiano de los extractos de residuos de *Tectona grandis* con solventes de distintas polaridades en diferentes microorganismos.

Extracto Micro organismo	Metanol		Etanol	
	100%	80%	100%	80%
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	2mm (R)	0,6mm (R)	2mm (R)	0,6mm (R)
<i>Escherichia coli</i>	4mm (R)	1mm (R)	7mm (I)	0,6mm (R)
<i>Staphylococcus aureus</i>	18mm (S)	8mm (I)	9mm (I)	4mm (R)
<i>Aspergillus niger</i>	1mm (R)	-	4mm (R)	-

(S) actividad antibacteriana positiva o sensible; halo > a 9 mm;

(I) actividad intermedia o moderada: halo entre 6 - 9 mm;

(R) actividad bacteriana negativa o resistente; halo < 6 mm

La resistencia de los microorganismos a los extractos de éter de petróleo y acetona puede ser atribuida al hecho de que en su composición química podría encontrarse una muy baja proporción de aquellos componentes a los cuales se les atribuye la actividad antimicrobiana, como los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos (Nayeem & Karvekar, 2010) y una mayor proporción de compuestos orgánicos de otra naturaleza como resinas y gomas, lo cual concuerda con lo mencionado previamente respecto al color.

En el caso de las bacterias *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* ambas Gram-negativas, la resistencia registrada frente a los extractos alcohólicos pueden ser atribuida al conjunto de mecanismos de resistencia que ellas tienen a su disposición, entre ellos las alteraciones de permeabilidad que se producen en la bicapa lipídica del microorganismo, por cambios en las porinas, proteínas encargadas de constituir canales llenos de agua en la membrana externa que regulan la entrada de moléculas, hasta el punto de que su conformación pueda llevar a que no permita el paso de algunas sustancias y por esa razón su acción antibacteriana será intermedia o nula (Tafur, Torres, & Villegas, 2008).

Para los ensayos realizados con *Staphylococcus aureus* se observó un crecimiento notable en el diámetro del halo de inhibición en comparación con las otras especies de bacterias estudiadas. De acuerdo a lo señalado en la bibliografía la *S.*

*aureus* es una bacteria Gram-positiva, que posee una estructura hidrofílica simple (una sola capa de peptidoglicano), que permite el paso de moléculas específicamente polares y por lo tanto presenta una menor resistencia en su pared celular en comparación con las bacterias Gram-negativas (Lanka & Parimala, 2017). Adicionalmente por la polaridad del extracto metanólico y etanólico se debe considerar el hecho de la posible presencia de compuestos fenólicos (lignina, naftoquinona, antroquinonas) que pueden ejercer efectos sinérgicos, constituyendo un fito-complejo de carácter activo en la inhibición antimicrobiana (Espinosa R et al., 2012)

En esta investigación se realizó la evaluación del extracto etanólico y metanólico sobre el hongo *Aspergillus niger*, mostrando resistencia en ambos casos. Comparándolo con el trabajo de Lanka (2017) en el que se utiliza una técnica similar (técnica de Kirby-Bauer modificado) de valoración y los extractos son preparados a partir de los mismos solventes pero por el método maceración, los halos de inhibición reportados son de 20 mm y 18mm respectivamente, resultados que indican actividad positiva, demostrando la influencia que tiene el método de extracción sobre las características composición y propiedades de los mismos y por ende sus posibles aplicaciones (Vyas et al., 2018)

#### IV. CONCLUSIONES

Los extractos obtenidos con disolventes de diferentes polaridades mostraron rendimientos

similares excepto el extracto etéreo que tuvo un rendimiento considerablemente mayor del 69.01%.

Cada uno de los extractos fue caracterizado por CCF, evidenciando en el momento del revelado con lámpara UV que en los extractos alcohólicos y acetónicos, hay presencia de compuestos fenólicos, mientras que para el extracto etéreo por su color se le atribuye presencia de compuestos resinosos principalmente.

Los extractos alcohólicos mostraron actividad antimicrobiana para el *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli.*, pero no antifúngica frente al hongo *Aspergillus niger*.

## V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A. El-Baky, H. H., E. Baz, F. K., & El-Baroty, G. S. (2009). Characterization of nutraceutical compounds in blue green alga *Spirulina maxima*. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 8(11), 1113–1126.
- Abreu, F., Hardt, V., Branco de Freitas, C., & Moura, M. (2016). Biochar in substrate composition for production of teak seedlings. *Pesq. Agropec. Bras*, (9), 1449–1456. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000900043>
- Armijos, L. (2014). Modelo de negocios y fuente de financiamiento a través de un fideicomiso de inversión en el cultivo de teca (*Tectona grandis*). *Qualitas*, 7, 4–29. Retrieved from file:///C:/Users/Dr. Mery/Downloads/04\_volumen-7-Seccin-3-Artculo-Armijos (1).pdf
- Berrocal J., A., & Rojas A., L. V. (2007). Resistencia de la madera de teca (*Tectona grandis* L. f.) proveniente de plantaciones forestales ante el ataque de termitas de madera seca *Cryptotermes brevis* (Walker). *Kurú*, 4(10), 1–15. <https://doi.org/10.1051/0004-6361/200912739>
- Das, C. R., Mondal, N. K., Aditya, P., Datta, J. K., Banerjee, A., & Das, K. (2012). Allelopathic Potentialities of Leachates of Leaf Litter of Some Selected Tree Species on Gram Seeds under Laboratory Conditions. *Asian J. Exp. Biol. SCI.*, 3(1), 59–65.
- Espinosa R, R., Herrera I., L., Bravo S., L. R., Hernandez A, M., Torres G, S., Ramos G, Y., & M, Espinosa, M. (2012). Efecto sinérgico de taninos y flavonoides presentes en *terminalia catappa* l. Sobre el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani kühn* y *Sclerotium rolfsii sacc*. *Fitosanidad* (Vol. 16). Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/2091/209125190006.pdf>
- Fidalgo-Used, N., Blanco-González, E., & Sanz-Medel, A. (2007). Sample handling strategies for the determination of persistent trace organic contaminants from biota samples. *Analytica Chimica Acta*, 590(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2007.03.004>
- Gierlinger, N., Jacques, D., Grabner, M., Wimmer, R., Schwanninger, M., Rozenberg, P., & Paques, L. E. (2004). Colour of larch heartwood and relationships to extractives and brown-rot decay resistance. *Trees - Structure and Function*, 18(1), 102–108. <https://doi.org/10.1007/s00468-003-0290-y>
- Giri, S. P., & Varma, S. B. (2015). Analgesic and anti-inflammatory activity of *Tectona grandis* Linn. stem extract. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 26(5), 479–484. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2014-0043>
- Holguín, E. A. (2015). Análisis de la comercialización de la teca caso: china, período 2010-2014 y promoción de productos elaborados en teca para la exportación. Universidad de Guayaquil. Retrieved from [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/12018/1/tesis\\_de\\_maestria\\_-\\_esther\\_holguin.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/12018/1/tesis_de_maestria_-_esther_holguin.pdf)
- Lanka, S., & Parimala. (2017). Antimicrobial activities of *tectona grandis* leaf and bark antimicrobial activities of *Tectona grandis* leaf and bark. *European journal of pharmaceutical and medical research*, 4(12), 245–248.
- Maestro D., R., & Borja P., R. (1993). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. *Grasas y Aceites*, 44(2), 101–106. <https://doi.org/10.3989/gya.1993.v44.i2.1105>

- Mendiola L., J. A. (2008). *Extracción de compuestos bioactivos de microalgas mediante fluidos supercríticos*. Universidad Autónoma de Madrid. Retrieved from [https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/2016/5260\\_mendiola\\_leon.pdf?sequence=1](https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/2016/5260_mendiola_leon.pdf?sequence=1)
- Nayeem, N., & Karvekar, M. (2010). Isolation of phenolic compounds from the methanolic extract of *Tectona grandis* Naira. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 1(2), 221–225.
- Pérez, M. A., & Fariño, L. (2015). *La aplicación de beneficios tributarios en nuevas inversiones en el cantón el empalme. Caso: cultivo, industrialización y comercialización de madera de teca* (*Tectona Grandis* L.F). Universidad de Guayaquil. Retrieved from <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/8972/1/TesisTeca.pdf>
- Rojas, N. M., & Rodríguez, M. (2008). Actividad antimicrobiana de *Tectona grandis* L. f., *Bursera simaruba* (L.) Sarg. y *Cedrela odorata* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 13(4). Retrieved from [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962008000400005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962008000400005)
- Tafur, J. D., Torres, J. A., & Villegas, M. V. (2008). Mechanisms of antibiotic resistance in Gram negative bacteria. *Asociación Colombiana de Infectología*, 12(3), 217–226.
- Tapia, W., & Armas, G. (2014). Estudio de la actividad antibacteriana y tóxica del Kuiship (*Jacaranda copaia*). *La Granja*, 19(1), 12–20. Retrieved from <http://lagranja.ups.edu.ec/volumen-no.-19>
- Varma, S. B., & Giri, S. P. (2013). Study of wound healing activity of *Tectona grandis* Linn. leaf extract on rats. *Ancient Science of Life*, 32(4), 241–244. <https://doi.org/10.4103/0257-7941.131984>
- Vyas, P., Yadav, D. K., & Khandelwal, P. (2018). *Tectona grandis* (teak) – A review on its phytochemical and therapeutic potential. *Natural Product Research*, 6419, 1–17. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1440217>
- Yamamoto, K., Simatupang, M. H., & Hashim, R. (1998). Caoutchouc in teak wood (*Tectona grandis* L. f.): Formation, location, influence on sunlight irradiation, hydrophobicity and decay resistance. *Holz Als Roh - Und Werkstoff*, 56(3), 201–209. <https://doi.org/10.1007/s001070050299>