

CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE EXTRACTOS DE *JUSTICIA SPICIGERA*

Rafael Manuel de Jesús Mex-Álvarez

Profesor e investigador de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

Yolanda Guadalupe Nuñez-Pinto

Química egresado de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

María Guadalupe Maldonado-Velázquez

Profesora e investigadora jubilada de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

Patricia Margarita Garma-Quen

Profesora e investigadora de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

María Magali Guillen-Morales

Profesora e investigadora de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

Betty Sarabia-Alcocer

Profesora e investigadora de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Campeche

David Yanez-Nava

Docente de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

María Isabel Novelo-Pérez

Estudiante de Químico Farmacéutico Biólogo de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

All content in this magazine is licensed under a Creative Commons Attribution License. Attribution-Non-Commercial-Non-Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).



Resumen: *Justicia spicigera* es una planta medicinal de amplio uso en México, sus extractos acuosos presentan una coloración intensa azul oscura; con el fin de optimizar el proceso de extracción y estimar el efecto de diferentes disolventes, secado y métodos de extracción se realizó la caracterización fisicoquímica de extractos de *J. spicigera*; los espectros de absorción UV-visibles obtenidos indican la presencia de pigmentos de distinta naturaleza química que pueden emplearse como referencia en el proceso de extracción para medir la calidad del extracto obtenido.

Palabras clave: Pigmentos, polifenoles, metabolitos secundarios.

INTRODUCCIÓN

La planta *Justicia spicigera* Schltl. (Familia Acanthaceae) es una planta medicinal nativa de México que se emplea en el tratamiento de diabetes, leucemia, anemia, enfermedades gastrointestinales así como acción antimicrobiana contra bacterias y hongos; también es una especie vegetal tintórea y sus extractos muestran colores intensos, especialmente el acuoso que es de color azul oscuro.¹⁻⁴ La principal forma de uso medicinal de la planta es la decocción acuosa de sus hojas y se ha demostrado que las hojas contienen una alta concentración de polifenoles totales, hidrolizables y solubles, estos compuestos polifenólicos les confieren a los extractos de *J. spicigera* propiedades antioxidantes pero estos metabolitos al ser extraídos son sensibles a factores como la radiación UV, el oxígeno y la temperatura que reducen sus beneficios medicinales y afectan su estabilidad.^{4,5}

Los colorantes extraídos de *J. spicigera* se han utilizado desde tiempos prehispánicos, aunque no se ha esclarecido correctamente la estructura del componente principal del tinte se piensa que el color azul se debe al índigo y también se ha informado la presencia de antocianinas como la kaempferitrina

y el glucósido de kaemferol, además de criptoxantina y alantoína^{6,7}. No obstante, los compuestos extraídos de *J. spicigera* dependerá del disolvente empleado y por ello los diferentes extractos presentan diversos colores, así la fracción hexánica es un líquido amarillo y la etanólica verde-rojizo⁹. En consecuencia a lo planteado anteriormente, el objetivo de este trabajo fue caracterizar fisicoquímicamente los extractos de la hoja de *Justicia spicigera* con el fin de estandarizar los procesos de obtención de principios activos para la industrias farmacéuticas y biotecnológicas.

METODOLOGÍA

La planta se colectó en un poblado del Municipio de Campeche (Campeche, México) y se llevó un ejemplar al Herbario de la Universidad Autónoma de Campeche para su identificación taxonómica; el material vegetal se limpió y se secó en estufa, posteriormente se trituró en un molino y se tamizó el polvo para obtener un sólido uniforme de partículas menores a 250 μ m que se analizó para determinar su índice de hinchamiento e índice de espuma. Por separado, se tomaron porciones de la hoja fresca y del polvo de *J. spicigera* y se extrajeron por maceración estática en proporción 1:10 (W/V) de disolvente (agua, metanol, etanol absoluto y al 70%, acetato de etilo, acetona y éter etílico) a temperatura ambiente durante 48 horas; igualmente se obtuvieron los extractos acuosos por decocción durante 15 minutos. Los extractos obtenidos se analizaron en un espectrofotómetro Lambda XLS[®] para obtener los espectros de absorción UV-visible. A los decoctos se les determinó densidad, índice de refracción, conductividad eléctrica (CE), sólidos solubles totales y porcentaje de extracción; también se realizó el tamizaje fitoquímico a los extractos acuosos, de acetato de etilo y de éter etílico.

RESULTADOS

El índice de hinchamiento del polvo fue de 0 (n=10), es decir, no aumentó su volumen cuando se adiciona agua; de igual forma, el índice de espuma fue 2.00.8 mm (n=10). A cada uno de los extractos obtenidos se realizó su espectro UV-Vis para determinar principalmente pigmentos disueltos en ellos (figuras 1-3), los datos espectrales se reportan en la tabla 1.

De acuerdo al espectro UV-Visible del extracto acuoso se puede apreciar que existe un pigmento que absorbe entre 580-590 nm (color rojo); para saber su comportamiento espectrofotométrico del metabolito se realizaron mediciones de la absorbancia a diferentes concentraciones del extracto usando dos diferentes longitudes de onda (580 y 590 nm); los resultados se describen en la figura 4, en la cual se puede apreciar que hubo una mejor correlación lineal a $\lambda=580\text{nm}$ ($R^2=0.9967$ para el extracto de la hoja seca).

Al realizar los ensayos seleccionados para el tamizaje fitoquímico de los extractos se obtuvieron los resultados presentados en la tabla 2. Se realizó la prueba de Dragendorff para alcaloides a todos los extractos pero no se encontraron estos metabolitos en ningún extracto, a los extractos etéreos se realizó la prueba de Börtranger para determinar quinonas pero dieron negativo, la prueba de Baljet para lactonas se ensayó en los extractos etéreos y de acetato de etilo pero ninguno dio positiva la prueba, tampoco hubo saponinas en los extractos acuosos y de acetato de etilo (prueba de espuma); la prueba de ninhidrina (aminoácidos) y de Kedde (glicósidos cardiotónicos) se desarrolló en los extractos de acetato pero dieron negativo.

Se determinaron los parámetros de densidad, índice de refracción, conductividad eléctrica (CE) sólidos solubles totales y porcentaje de extracción a los decoctos de las hojas (tabla 3).

Extracto	Hoja	$I_{\text{máx}}$	Abs	Extracto	Hoja	$I_{\text{máx}}$	Abs
Etanol 70%	Fresca	596	0.270	Acetona	fresca	331	0.222
		666	0.273			432	0.116
						662	0.056
Etanol 70%	Seca	436	0.669	Acetona	Seca	310	0.080
		596	1.550			425	0.319
		665	0.392			662	0.137
Acetato de etilo	Fresca	425	0.213	Metanol	Fresca	601	0.291
		662	0.092			666	0.273
Acetato de etilo	Seca			Metanol	Seca	420	2.144
			0.231			531	0.149
		425	0.102			601	0.160
		662				654	0.528
Agua destilada	fresca	581	0.440	Agua destilada	Seca	586	0.556

Tabla 1. Datos espectrales obtenidos de los diferentes extractos de hoja de Damiana.

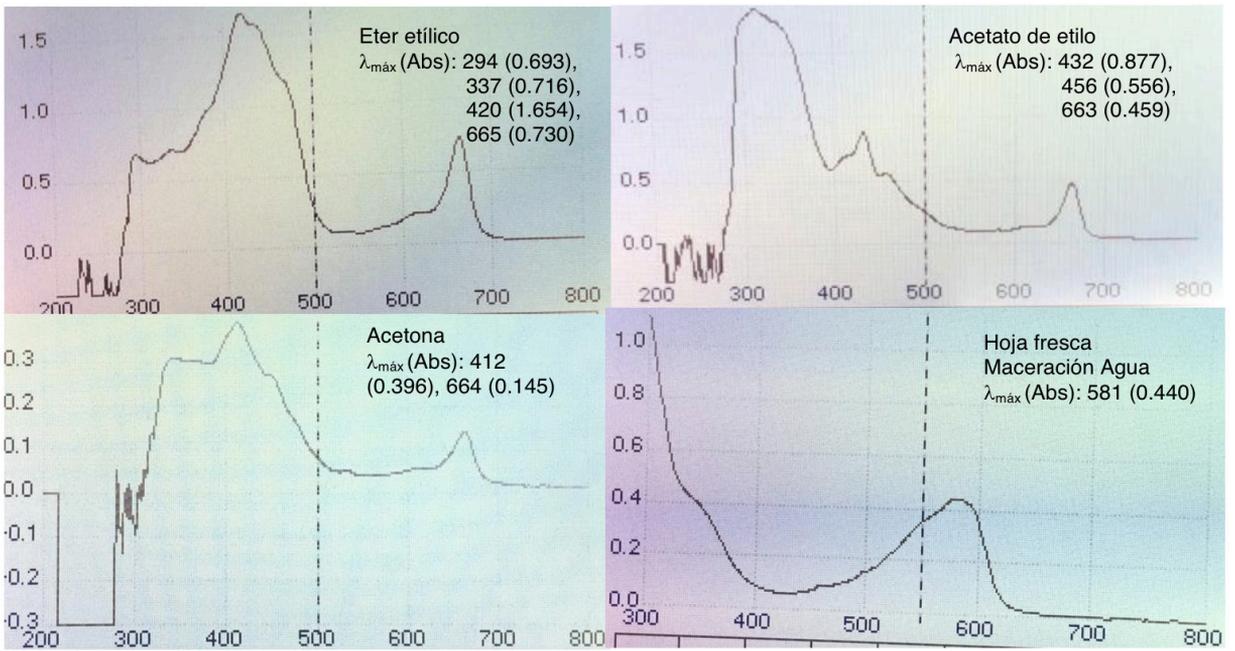


Fig. 1. Espectro UV visible de los extractos obtenidos por maceración de hoja de Damiana (se reportan la longitud de onda en nm y entre paréntesis la absorbancia).

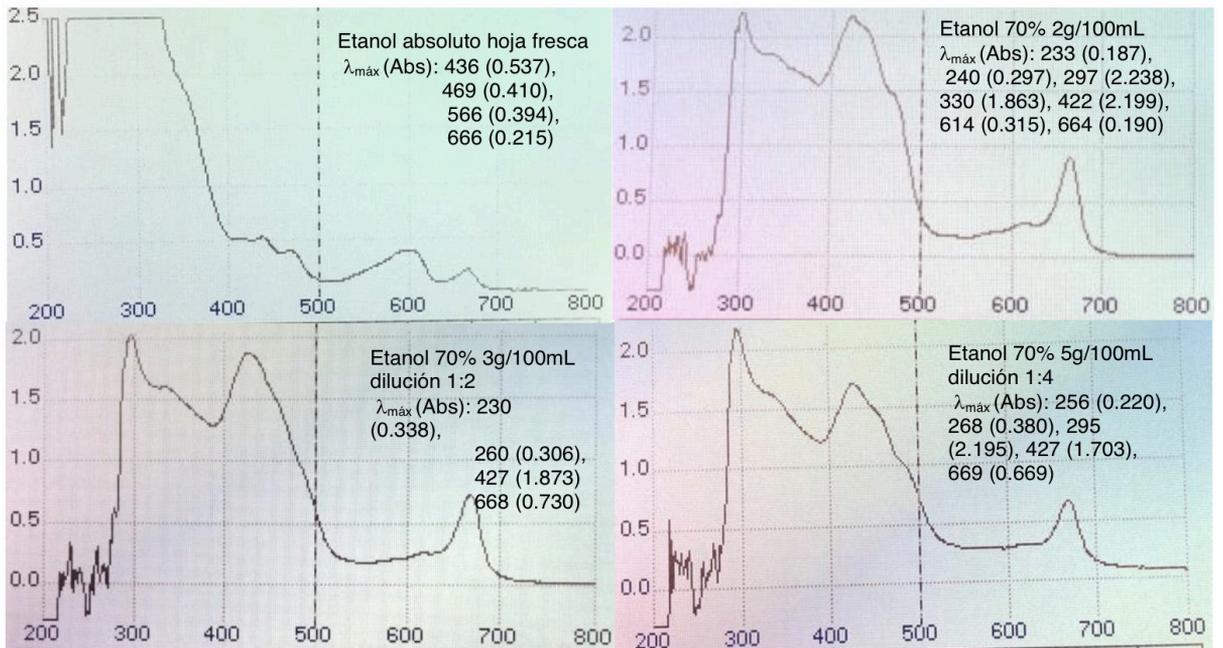


Fig. 2. Espectro UV visible de los extractos etanólicos de hoja de Damiana (se reportan la longitud de onda en nm y entre paréntesis la absorbancia).

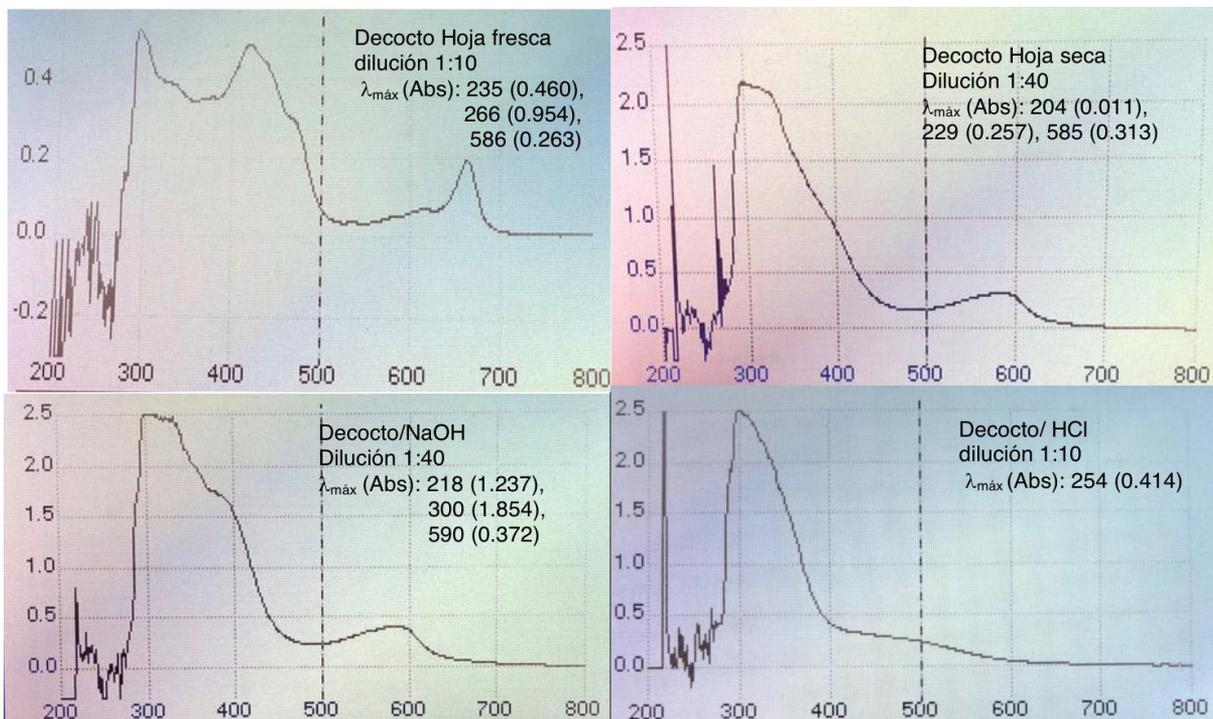


Fig. 3. Espectros UV Visibles de los decoctos de la hoja de Damiana (se reportan la longitud de onda en nm y entre paréntesis la absorbancia).

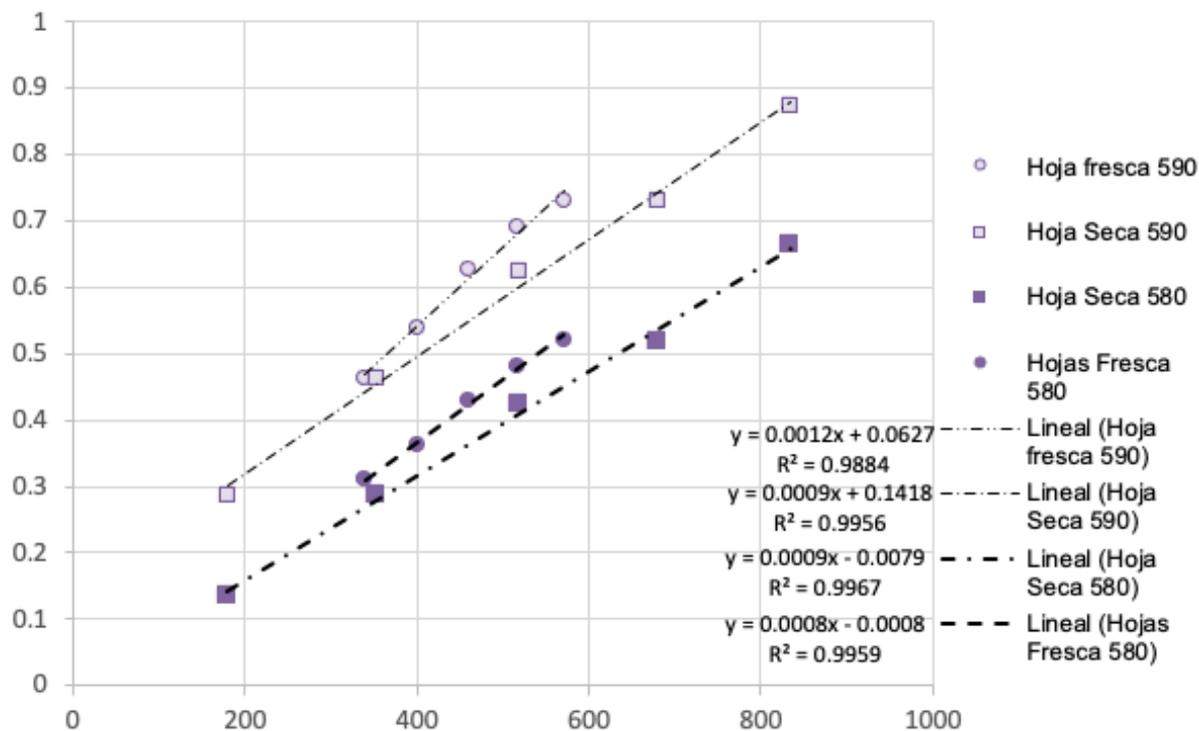


Fig. 4. Correlación entre las concentraciones de los extractos acuosos de la hoja de Damiana y su absorbancia a 580 y 590 nm.

Ensayos	Metabolito	Extracto con éter etílico		Extracto con acetato de etilo		Extracto con agua	
		Hoja fresca	Hoja seca	Hoja fresca	Hoja seca	Hoja fresca	Hoja seca
Lieberman-Burchard	Triterpenos	+	+++	+	+++	NR	NR
Sudán	Lípidos	++	+	NR	NR	NR	NR
Molish	Azúcares reductores	NR	NR	++	+++	+++	+++
Cloruro Férrico	Polifenoles totales	NR	NR	+++	++	+++	+++
Shinoda	Flavonoides	NR	NR	-	-	+	+
Precipitación proteínas	Taninos	NR	NR	NR	NR	-	+

Interpretación: NR significa que esos ensayos no se le realizaron al extracto, el signo (-) indica ausencia de ese metabolito en el extracto, el signo (+) representa la presencia de ese metabolito en el extracto, el signo (++) presencia marcada y el signo (+++) indica la presencia del metabolismo en abundancia.

Tabla 2. Resultados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos de hoja de Damiana.

Hoja	Densidad (g/mL)	Índice de refracción	pH	CE (mS/cm)	SST (mg/100mL)	%Extracción
Fresca	1.0235 ^a	1.333 ^a	8.3 ^a	1452 ^a	374.2 ^a	7.48 ^a
Seca	1.0361 ^a	1.333 ^a	8.7 ^b	1552 ^b	918.5 ^b	18.37 ^b

Valores expresados como X Letras diferentes en la misma columna significa que existen diferencias significativas (p<0.05)

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos de los decoctos de las hojas de Damiana.

DISCUSIÓN

En investigación de plantas medicinales con fines de obtención de metabolitos secundarios bioactivos es importante estudiar cuál es el disolvente que mejor extrae principios activos de interés pues la calidad del extracto obtenido depende de la naturaleza del disolvente empleado y de variables empleadas en el proceso como el secado y el uso de temperaturas elevadas para facilitar la extracción porque las células vegetales contienen una pared celular gruesa que impide la obtención de metabolitos intracelulares; sin embargo, la principal objeción a estos métodos de extracción es la termoestabilidad de los principios activos^{10,11}. Un punto a favor que se tiene que considerar es que en medicina tradicional casi exclusivamente se usan el etanol y el agua como disolventes y aunque los métodos empleados con etanol pueden incluir la maceración, con el agua se usa frecuentemente métodos como la decocción o infusión que implican someter al material vegetal al calor del agua hirviendo; en este sentido, se hace necesario estudiar el efecto de estos métodos de extracción en cada caso en particular para poder definir si el calor resulta benéfico o perjudicial para la obtención de metabolitos activos.¹⁰⁻¹³

En este estudio se ensayaron diferentes formas de extracción y disolventes para determinar la calidad de los extractos obtenidos y conocer sus potenciales uso según las necesidades particulares, la decocción permitió obtener más del pigmento de *J. spicigera* que absorbe a 586 nm que posiblemente sea el índigo^{7,13} y que presenta una naturaleza muy polar que se extrae preferente con agua y no se observó en el espectro UV-visible con los otros disolventes empleados, incluido el etanol; también explicaría el efecto hiper y batocrómico en álcalis y de desaparición de la absorción a

586 en medio ácido; esta naturaleza polar y tipo de pigmentación se relaciona bien con pigmentos de tipo betalainas; este metabolito puede ser un buen indicador de otros metabolitos cuando se evalúe la eficiencia métodos de extracción en *Justicia spicigera* con agua como disolvente pues mostró una buena correlación espectrofotométrica a 580 nm¹²⁻¹⁴. El pico a 660 nm observado en los extractos no polares y de mediana polaridad correspondería a las clorofilas, pigmentos verdes que absorben en esta región del espectro; igualmente los pico a 420 y 469 nm se puede deber a pigmentos terpénicos como los carotenoides de color amarillo o naranja y el pico a 566 nm correspondería a un metabolito rojizo, todo esto se corresponde bien con los reportes que establecen que los extractos no polares son amarillos y el extracto etanólico verde rojizo.^{9,15-21}

Estos extractos aún necesitan ser evaluados por diferentes bioensayos para determinar para cada actividad biológica cuál es el tipo de metabolito que presenta la acción; en el tamizaje fitoquímico se ensayaron tres extractos, el etéreo de baja polaridad, el acetato de etilo de mediana polaridad y el acuoso de alta polaridad; el secado mejoró el proceso de extracción y no afectó el contenido cualitativo de metabolitos secundarios que coinciden con los estudios reportados con anterioridad; la presencia de compuesto como los polifenoles son de importancia medicinal porque a estos metabolitos se les atribuyen propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antidiabéticas y otras de interés sanitario²²⁻²⁴. Los parámetros fisicoquímicos de los decoctos de *J. spicigera* demuestran que se la extracción mejoró utilizando las hojas secas porque los sólidos solubles totales y el porcentaje de extracción fue significativamente mayor comparado con el extracto obtenido a partir de hojas frescas; la conductividad eléctrica mayor

también implica una mayor presencia de iones en el decocto obtenido del polvo seco de *J. spicigera*²⁵⁻²⁷.

CONCLUSIONES

El pigmento principal de *J. spicigera* es de carácter polar y se obtiene mejor por decocción del polvo seco de la planta, presenta

un pico de absorción entre 585 y 586 nm que desaparece en medio ácido y en medio básico; tiene un ligero efecto hiper y batocrómico; las características fisicoquímicas de los extractos no se modificaron por efecto del secado o por el uso de calor en la extracción de metabolitos.

REFERENCIAS

1. Ángeles-López, G. E., González-Trujano, M. E., Rodríguez, R., Déciga-Campos, M., Brindis, F., & Ventura-Martínez, R. (2021). Gastrointestinal activity of *Justicia spicigera* Schltdl. in experimental models. *Natural product research*, 35(11), 1847–1851. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1637873>
2. Baqueiro-Peña, I., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2017). Physicochemical and antioxidant characterization of *Justicia spicigera*. *Food chemistry*, 218, 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.078>
3. Bernardo-Mazariegos, E., Valdez-Salas, B., González-Mendoza, D., Abdelmoteleb, A., Tzintzun Camacho, O., Ceceña Duran, C., & Gutiérrez-Miceli, F. (2019). Silver nanoparticles from *Justicia spicigera* and their antimicrobial potentialities in the biocontrol of foodborne bacteria and phytopathogenic fungi. *Revista Argentina de microbiología*, 51(2), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.05.002>
4. Castro-Alatorre, N. C., Gallardo-Velázquez, T., Boyano-Orozco, L. C., Téllez-Medina, D. I., Meza-Márquez, O. G., & Osorio-Revilla, G. (2021). Extraction and Microencapsulation of Bioactive Compounds from Muicle (*Justicia spicigera*) and Their Use in the Formulation of Functional Foods. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(8), 1747. <https://doi.org/10.3390/foods10081747>
5. Anaya-Esparza, L. M., Ramos-Aguirre, D., Zamora-Gasga, V. M., Yahia, E., & Montalvo-González, E. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Justicia spicigera* leaves. *Food science and biotechnology*, 27(4), 1093–1102. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0350-0>
6. Arberet, L., Pottier, F., Michelin, A., Nowik, W., Bellot-Gurlet, L., & Andraud, C. (2021). Spectral characterisation of a traditional Mesoamerican dye: relationship between *in situ* identification on the 16th century *Codex Borbonicus* manuscript and composition of *Justicia spicigera* plant extract. *The Analyst*, 146(8), 2520–2530. <https://doi.org/10.1039/d1an00113b>
7. Baqueiro-Peña, I., Guerrero-Beltrán, J.A. (2014). Uses of *Justicia spicigera* in medicine and as a source of pigments. *Functional Foods in Health and Disease*, 4(9), 401-404.
8. Castro-Muñoz, Roberto, Elizabeth León-Becerril, and Octavio García-Depraect. (2022). Beyond the Exploration of Muicle (*Justicia spicigera*): Reviewing Its Biological Properties, Bioactive Molecules and Materials Chemistry. *Processes* 10(5), 1035. <https://doi.org/10.3390/pr10051035>
9. Vega-Avila, Elisa, Tapia-Aguilar, Rafaela, Reyes-Chilpa, Ricardo, Guzmán-Gutiérrez, Silvia Laura, Pérez-Flores, Javier, & Velasco-Lezama, Rodolfo. (2012). Actividad antibacteriana y antifúngica de *Justicia spicigera*. *Revista latinoamericana de química*, 40(2), 75-82.
10. Soto-García, Marcela, & Rosales-Castro, Martha. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxylla*. *Maderas. Ciencia y tecnología*, 18(4), 701-714. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-221X2016005000061>
11. García, Yaima Henry, Salomón Izquierdo, Susleby, Acosta Esquijarrosa, Jhoany, Romero Díaz, Aylema, López, Marilín, & Mercado Vidal, Josué. (2016). Optimización de las variables de extracción de flavonoides a partir de hojas de *Annona muricata* L.. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(3), 298-308.
12. Ramírez, Lucía Constanza Corrales, & Lozano, Liliana Caycedo. (2020). Principios fisicoquímicos de los colorantes utilizados en microbiología. *Nova*, 18(33), 73-100. Epub December 29, 2020. <https://doi.org/10.22490/24629448.3701>

13. Meléndez-Martínez, Antonio J, Vicario, Isabel M, & Heredia, Francisco J. (2007). Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57(2), 109-117.
14. Marañón-Ruiz, V.F, Rizo de la Torre, L.C. (2011). Caracterización de las propiedades ópticas de Betacianinas y Betaxantinas por espectroscopía Uv-Vis y barrido en Z. *Superficies y vacío*, 24(4), 113-120.
15. Sanhokwe, Marcia, Mupangwa, Johnfisher, Masika, Patrick J, Maphosa, Viola, & Muchenje, Voster. (2016). Medicinal plants used to control internal and external parasites in goats. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 83(1), 1-7. <https://dx.doi.org/10.4102/ojvr.v83i1.1016>
16. Reyes-Matamoros, J., Martínez-Moreno, D., Fuentes-López, J. G., & Basurto-Peña, F. (2022). Importancia relativa de las especies medicinales ofertadas En el mercado de Tepeaca, Puebla, México. *Polibotánica*, (54), 271-289. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.54.17>
17. Meneses-Reyes, José C., Soto-Hernández, Ramón M., Espinosa-Solares, Teodoro, & Ramírez-Guzmán, Martha E. (2008). Optimización del proceso de extracción de flavonoides de flor de manzanilla (*Matricaria recutita* L.). *Agrociencia*, 42(4), 425-433.
18. Zaccari, Fernanda, Puerto, Marta Del, Vignale, Beatriz, & Pritsch, Clara. (2017). Parámetros colorimétricos y contenido de pigmentos en cinco colores de cáscara de fruto de guayabo [Acça sellowiana (Berg) Burret]. *Agrociencia (Uruguay)*, 21(2), 23-30.
19. Figueroa-Cares, Inés, Martínez-Damián, María T., Rodríguez-Pérez, Enrique, Colinas-León, María T., Valle-Guadarrama, Salvador, Ramírez-Ramírez, Sweetia, & Gallegos-Vázquez, Clemente. (2010). Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de tuna (*Opuntia* spp.) de México. *Agrociencia*, 44(7), 763-771.
20. Herrera-Martínez, Silvia Lizbeth, Mora-Herrera, Martha Elena, García-Velasco, Rómulo, Gomora-Rasso, Janet, & Rogel-Millán, Gloria. (2013). Efecto del ácido ascórbico sobre crecimiento, pigmentos fotosintéticos y actividad peroxidasa de plantas de rosal. *Terra Latinoamericana*, 31(3), 193-199.
21. Salinas, Nancy, & Pacheco-Delahaye, Emperatriz. (2003). PIGMENTOS CAROTENOIDES IDENTIFICADOS Y PURIFICADOS EN ACEITE DE PALMA. *Agronomía Tropical*, 53(4), 53-60.
22. Rivas Pérez, Bernarda Nohemy, Leal Granadillo, Iván Antonio, Loaiza Cuauro, Luris Francis, Morillo, Yonatta Ernesto, & Colina Chirinos, Jean Carlos. (2017). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante en extractos de cuatro especies de orégano. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería Universidad del Zulia*, 40(3), 134-142.
23. Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A.. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89
24. Hernández-Rodríguez, Saúl, Quiroz-Reyes, Cinthya Nathaly, Ramírez-Ortiz, María Eugenia, Ronquillo-de-Jesús, Elba, & Aguilar-Méndez, Miguel Ángel. (2020). Optimización del proceso de extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de Justicia spicigera Schltdl. mediante la metodología de superficie de respuesta. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 23, e20200246. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.246>
25. Anaya-Esparza, Luis M., Méndez-Robles, María D., Pérez-Larios, Alejandro, Yahia, Elhadi M., & Montalvo-González, Efigenia. (2018). Nutritional composition and physicochemical parameters of thermosonicated soursop nectar. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21(1), 5-13. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.08.001>
26. Grosso Mascaro, Hermano, Buszniez, Patricia, Estrada, Ezequiel, & Riquelme, Bibiana. (2017). Estudio comparativo de los parámetros reológicos, ópticos y fisicoquímicos de extractos acuosos de hojas de *Bauhinia forficata*. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 58(2), 83-85. <https://dx.doi.org/10.4321/s2340-98942017000200006>
27. Naranjo, Julie, Dueñas, Yenny, Caicedo, Obradith, & Castrillón, Arjuna. (2015). Evaluación de propiedades fisicoquímicas de aceite de girasol (*Helianthus annuus*) adicionado con extracto de achiote (*Bixa orellana*) durante calentamiento en horno microondas. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 17(2), 115-124. <https://doi.org/10.17533/udea.penh.v17n2a02>