



Obtención de compósitos con propiedades antibacterianas a base de tela no tejida y extractos de romero *Rosmarinus officinalis*

Obtaining composites with antibacterial properties based on non-woven fabric and extracts of rosemary *Rosmarinus officinalis*

Wendy Y. Villastrigo López^{1*}, Aide Sáenz Galindo¹, Miriam D. Dávila Medina¹,
Adali O. Castañeda Facio¹, Juan A. Ascacio Valdes¹, Christian J. Cabello Alvarado²

¹Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Saltillo, Coahuila, Blvd. Venustiano Carranza y José Cárdenas Valdés. C.P. 25280. Saltillo, Coahuila. México

²CONACYT, Centro de Investigación en Química Aplicada, Enrique Reyna H. No.140, San José de los Cerritos, C.P. 25294, Saltillo Coahuila, México

*wendy_lopez@uadec.edu.mx

Resumen

Se llevó a cabo la extracción de compuestos orgánicos a partir del romero (*Rosmarinus officinalis*) encontrando que las mejores condiciones de extracción se obtuvieron al usar etanol como disolvente, mostrando un porcentaje de rendimiento del 10.42%, empleando temperatura ambiente por 72 horas. Se realizó la caracterización de los extractos por espectroscopia de infrarrojo FTIR-(ATR) y cromatografía líquida de alta resolución acoplada a masas HPLC, en donde se logró identificar el ácido carnósico, ácido rosmarínico y carnosol, entre otros. Los materiales compuestos que se obtuvieron a base de tela no tejida de Nylon y extractos de romero (*Rosmarinus officinalis*) se caracterizaron por FTIR-(ATR), destacando que la tela no tejida a base de Nylon no presentó modificación química, por lo que se logró obtener un compósito con propiedades antibacterianas.

Palabras claves: Compuestos bioactivos, romero, Nylon, compósito, tela no tejida.

Abstract

The extraction of organic compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) was carried out, finding that the best extraction conditions were obtained by using ethanol as a solvent, showing a yield percentage of 10.42%, using room temperature for 72 hours. The extracts were characterized by FTIR-(ATR) infrared spectroscopy and high-resolution liquid chromatography coupled to HPLC masses, in which carnosic acid, rosmarinic acid and carnosol were identified, among others. Composite materials that were obtained from non-woven Nylon fabric and rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis*) were characterized by FTIR-(ATR), highlighting that the non-woven Nylon fabric did not present chemical modification, so it was possible to obtain a composite with antibacterial properties.

Keywords: Bioactive compounds, rosemary, Nylon, composite, non-woven.

Recibido: 05 de junio de 2023. Aceptado: 18 de agosto de 2023. Publicado: 04 de septiembre de 2023.

1.Introducción

Actualmente la extracción de compuestos naturales es un área de gran interés debido a los diferentes beneficios y múltiples aplicaciones que presentan. En nuestro país existen innumerables especies



naturales que han sido estudio para extracción de compuestos naturales, entre los cuales se destacan la menta, yerbabuena, mejorana, orégano, cilantro, perejil, romero, entre otras. El romero (*R. officinalis*) una planta medicinal y aromática con diversas propiedades medicinales. Pertenece a la familia *Labiatae*. Este arbusto puede llegar a alcanzar un metro y medio de altura, originario de la región mediterránea, es comúnmente usado en la medicina tradicional [1].

Las vías de extracción de los compuestos naturales son diversas, hasta el momento se conocen gran variedad de metodologías, las cuales presentan ventajas y desventajas en función de tiempo, costos, equipos, rendimientos, uso de disolventes, entre otros factores. En la actualidad se utiliza la extracción asistida por ultrasonido, se ha comprobado que brinda mayores rendimientos de extracción y reduce el consumo de energía, una de las principales ventajas de este método es el control preciso de los parámetros, como: la potencia ultrasónica, temperatura, tiempo de tratamiento, presión, frecuencia, etc. [2].

Reportes en la literatura, han demostrado que los compuestos polifenólicos han presentado propiedades interesantes, destacándose la actividad antibacteriana. Por tal razón se les conoce como compuestos bioactivos, los cuales, al incorporarse a diferentes materiales, como polímeros, cerámicos o metales brindan esta propiedad en la mayoría de los casos [3].

Los compuestos bioactivos extraídos de plantas se utilizan en la industria textil aprovechando al máximo las propiedades antibacterianas que estos poseen, de modo que el agente biocida pueda destruir o inhibir el crecimiento de bacterias y otros microorganismos. Con su incorporación en textiles se obtiene materiales de utilidad para la fabricación de nuevos productos, por ejemplo, apósitos, gasas, paños quirúrgicos y toallitas higiénicas con efectos favorables sobre la piel en el cuidado diario, en el proceso de curación de heridas, quemaduras, etc. [4].

El objetivo de esta investigación es obtener un compósito con propiedades antibacterianas a base de tela no tejida de Nylon, empleando extractos de *R. officinalis*, estudiando las condiciones más idóneas de extracción.

2. Teoría

2.1 *R. officinalis*

La planta de *R. officinalis* fue identificada por Linneo en 1753 [5]. Es un arbusto de hasta dos metros de altura, generalmente erguido, aunque en ocasiones achaparrado y cuya vida media oscila entre 5 y 15 años. Su floración puede variar, mientras que algunos autores afirman que las flores pueden estar presentes en la planta durante todo el año [6], otros declaran que no hay floración durante los meses más calurosos del año [7]. *Rosmarinus officinalis* es una especie vegetal común en la península Ibérica, es perenne, frondoso y muy ramificado. Los principios activos se concentran en las hojas y en algunas ocasiones en la flor. Se utiliza desde la antigüedad en la medicina tradicional, gracias a las propiedades que se le han atribuido históricamente, de todas, son sus aplicaciones externas las más populares. Sin embargo, el interés que despierta esta planta aromática en la actualidad radica en el potente efecto antimicrobiano de algunos de sus componentes [8]. En la Figura 1 se muestra la planta de *R. officinalis*, en floración.



Fig. 1. Planta de romero (*Rosmarinus officinalis*) [8].

2.2 Actividad antibacteriana

El extracto de hojas de *R. officinalis* actúa a nivel de membrana celular en las bacterias aumentando su permeabilidad y generando desconfiguración de la pared celular tanto de Gram positivas como de Gram negativas. Se han realizado estudios *in vitro*, en donde se evaluó algunos de los potenciales efectos terapéuticos del extracto, incluyendo su actividad antimicrobiana, las cepas utilizadas fueron: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa*. Los resultados obtenidos mediante el ensayo de difusión en agar indican la existencia de actividad antimicrobiana del extracto frente a *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, obteniéndose halos de inhibición de 9 y 10 mm, respectivamente, por otra parte, no se observaron halos de inhibición para las bacterias gram negativas evaluadas [9].

2.3 Composición química de *R. officinalis*

En la planta se han identificado diversos compuestos químicos los cuales han sido agrupados de manera general por diversos autores en ácidos fenólicos, flavonoides, aceite esencial, ácidos triterpenicos y alcoholes triterpenicos [10].

2.3.1 Ácido rosmarínico

Es un compuesto fenólico natural, es un éster de ácido cafeico y ácido láctico 3,4-dihidroxifenil. Se encuentra en plantas de la familia Lamiaceae y Boraginaceae, incluyendo romero, tomillo, salvia y orégano. De este modo el ácido rosmarínico se ha convertido en un producto valioso en la industria de alimentos, cosméticos y la industria farmacéutica. En la Figura 2, se muestra la estructura química del ácido rosmarínico [10].

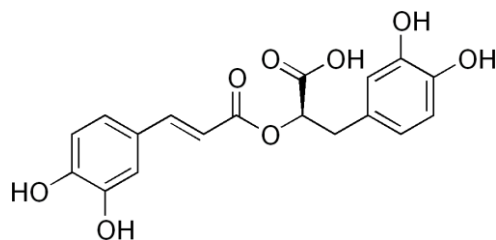


Fig. 2. Estructura química del ácido rosmarínico [10].

2.3.2 Ácido carnósico

Es un diterpeno fenólico, fue descubierto por primera vez en *Salvia officinalis*, más tarde, Wenkert, encontró ácido carnósico a niveles muchos altos en hojas de *Rosmarinus officinalis* L. [11]. En la Figura 3, se muestra la estructura química del ácido carnósico.

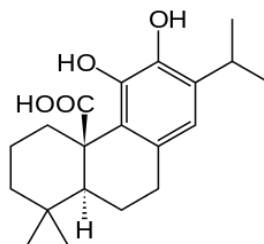


Fig. 3. Estructura química del ácido carnósico [11].

2.3.3 Carnosol

Se ha convertido en una de las principales moléculas bioactivas del extracto de romero. Fue aislado por primera vez en 1942 a partir de *Salvia carnosa* y posee una amplia gama de actividades biológicas, es decir, antimicrobiana, neuroprotector, antioxidante, antiinflamatorio y propiedades anticancerígenas [12]. En la Figura 4, se muestra la estructura química del carnosol.

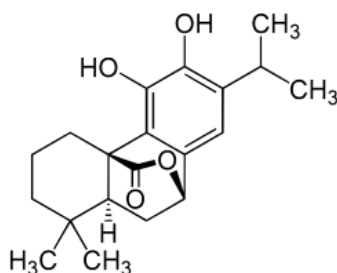


Fig. 4. Estructura química del carnosol [12].

2.4 Método de extracción

2.4.1 Extracción por ultrasonido

En años recientes, ha cobrado un gran impulso el desarrollo de tecnologías de extracción de gran eficiencia que permiten el aislamiento efectivo de componentes biológicamente activos, sin que ocurra pérdida de la actividad biológica, con un buen rendimiento y una elevada pureza, dentro de ellos se encuentra la extracción asistida por ultrasonido. El ultrasonido (US) se basa en el fenómeno de la cavitación dado por la formación, crecimiento y colapso de burbujas de vapor o gas debido a la acción del campo ultrasonoro dentro de un líquido. El tiempo de vida de la burbuja es del orden de los microsegundos, su implosión violenta genera, de manera localizada y transitoria, elevadas temperaturas (5000 °C) en el interior de la burbuja, presiones (100 MPa) y la formación de especies muy reactivas tales como los radicales hidroxilos (OH), hidroxiperoxilo (OOH) y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂). La extracción asistida por ultrasonido utiliza ondas de una frecuencia determinada que facilitan la extracción de los compuestos bioactivos del material vegetal. Las partículas sólidas y líquidas del medio vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica, como resultado, el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al disolvente. La intensificación en la eficacia de la extracción de productos naturales ha sido atribuida a la propagación de la onda de presión ultrasónica a través del disolvente, lo que genera la cavitación, así como efectos térmicos y mecánicos. La implosión de las burbujas de cavitación genera micro turbulencias, colisiones entre partículas a gran velocidad y perturbaciones en partículas microporosas de la biomasa, lo que acelera la difusión interna en forma de remolino. Debido al espacio limitado, la mayoría de las burbujas colapsan de forma asimétrica durante la expansión lo que genera intensas turbulencias y un aumento de la circulación de la corriente



líquida. La cavitación también erosiona la superficie del material vegetal y provoca la ruptura de las partículas en la superficie erosionada [13].

2.5 Generalidades de la tela no tejida

2.5.1 Composición

Los no-tejidos son una hoja o red de fibras o filamentos artificiales o naturales, excluyendo al papel, que no fue tejida y donde las fibras están adheridas entre sí, usando alguno de los siguientes métodos: agregando un adhesivo, fusionando las fibras con calor, fusionando las fibras, disolviendo y resolidificando su superficie, creando “mechones” en las fibras y usando puntadas para poner las fibras en su lugar.

Los materiales no-tejidos se producen principalmente de fibras artificiales. Los principales polímeros sintéticos que actualmente dominan el mercado son el polipropileno (spubond) y poliéster (comúnmente conocido como “curamex”). El poliéster y el polipropileno son dominantes; mientras que el Nylon, la fibra de vidrio, las meta-aramidas, los fluoropolímeros (TEFLON), el sulfato de polifenileno (PPS) y otros polímeros, son usados también debido a sus propiedades especiales [14].

2.5.2 Aplicaciones de la tela no tejida

Los materiales no-tejidos son usados en numerosas aplicaciones, incluyendo: higiene, pañales de bebé, ropa desechable médica, higiene femenina, entre otras. A nivel industrial se presenta en: filtros de aire, trapos domésticos/industrial y protección desechable industrial/alimenticia. Están diseñados para tener un número de beneficios funcionales, tales como resistencia a la permeabilidad o alta presión y a la temperatura. Pueden también ofrecer características de protección viral y bacteriana, reducción de la contaminación y propiedades de neutralización de olor en ambientes domésticos y automotores, y además de ser ligeros y reciclables [15].

3. Metodología

3.1 Extracción de compuestos bioactivos de *R. officinalis*

Se trabajó con hojas de *R. officinalis* secas y frescas, para las hojas secas, se recolectaron de una planta de 1.5 metros de altura, se dejaron secar a temperatura ambiente por una semana, una vez secas se pesó un gramo. Las hojas secas se colocaron en un tubo de ensayo y se le agregó 10 mL de etanol. Este mismo procedimiento se llevó a cabo para las hojas de *R. officinalis* frescas.

Las extracciones se llevaron a cabo por dos diferentes metodologías, temperatura ambiente y asistida por ultrasonido, trabajando a diferentes condiciones, empleando como disolvente etanol. En la Tabla 1, se muestran las condiciones de extracción para las hojas secas y frescas de *R. officinalis* empleando etanol.

Metodología de extracción	Tiempos de extracción			
	24 horas	48 horas	72 horas	
Temperatura ambiente	24 horas	48 horas	72 horas	
Ultrasonido	5 minutos	10 minutos	15 minutos	60 minutos

Tabla 1. Condiciones de extracción de hojas secas y frescas de *R. officinalis* empleando etanol.

3.2 Caracterización de compuestos bioactivos

3.2.1 Análisis por espectroscopia de infrarrojo FTIR (ATR)

Todos los extractos obtenidos (24, 48, 72 horas y 15, 60 minutos, de hojas secas y frescas de romero) con cada una de las metodologías (temperatura ambiente y asistida por ultrasonido), fueron caracterizadas por espectroscopia infrarroja (FT-IR), usando un espectrofotómetro IR Spectrum GX- Perkin-Elmer, utilizando la técnica de Reflexión total Atenuada (ATR), usando un aditamento de punta de diamante.



Del análisis de los espectros del FTIR-(ATR), se logró realizar la comparación de los enlaces presentes en los grupos funcionales característicos de las hojas de *R. officinalis* que se han reportado hasta el momento, con cada una de las metodologías empleadas.

3.2.2 Cromatografía líquida de alta resolución acoplado a masas (HPLC)

Los compuestos obtenidos (temperatura ambiente 24, 48, 72 horas, ultrasonido 15 minutos, tanto de hojas secas como frescas de romero) se analizaron por HPLC (Varian Prostar) con detector de matriz de diodos (280 nm). Se filtró 1,8 mL de muestra (membranas de 0,45 μm). La separación de los compuestos se realizó en una columna Grace Denali c-18 (5 μm , 250 x 4,6 mm) a 30 ° C. La fase móvil A era metanol (lavado), B acetonitrilo y ácido acético C al 3% (inicial 3% B y 97% C, 0-5 min 9% B y 91% C, 5-15 min 16% B y 84% C, 15-30 min 33% B y 67% C, 30-33 min 90% B y 10% C, 33-35 min 90% B y 10% C, 35-42 min 3% B y 97% C), flujo 1 ml / min, volumen de inyección 10 μL . El análisis de masa se realizó utilizando un equipo de trampa de iones Varian 500-MS, ionización por electropulverización (ESI), voltaje capilar 90 V, modo negativo ([M-H] - m/z), rango de adquisición de masa 100-2000 m/z.

3.3 Bioensayos de antibiosis *in vitro* de extractos de *R. officinalis* contra bacterias patógenas

3.3.1 Cultivos bacterianos

Para la preparación del cultivo de *Escherichia coli* (ATCC-11229) y *Staphylococcus aureus* (ATCC-6538) se inoculó cada cepa a un matraz Erlenmeyer que contenía 100 mL de caldo nutritivo, y se dejó por 24 horas en agitación constante a 150 rpm.

3.3.2 Preparación de diluciones de los extractos de *R. officinalis*

Se pesó 0.05 g de cada uno de los extractos (temperatura ambiente 72 horas, ultrasonido 1 hora, tanto de hojas secas como frescas de romero, se colocaron en tubos de ensayo y posteriormente se le agregó 5 mL de etanol.

3.2.3 Bioensayo de antibiosis *in vitro*

Se realizaron diluciones de los cultivos de las bacterias patógenas hasta 1×10^{-3} . Posteriormente se colocaron 300 μL de la última dilución sobre la caja Petri con agar nutritivo, se esparció con una varilla de vidrio, se colocaron 4 discos de papel filtro estériles sobre la caja Petri, en los cuatro puntos cardinales y por último se colocaron 7 μL de la dilución de cada tratamiento (temperatura ambiente de 72 horas, ultrasonido 1 hora, tanto para *R. officinalis* fresco y seco) sobre cada uno de los papeles filtro. Cada tratamiento se realizó por duplicado con *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, además se sembró un control positivo y un testigo solo con el disolvente utilizado, se dejaron incubar por 24 horas y transcurrido el tiempo se observaron para verificar la presencia o ausencia de inhibición, determinada por un halo de inhibición alrededor del disco comparado con el testigo.

3.4 Tela no tejida de Nylon 6

La obtención de tela no tejida se realizó mediante el proceso de hilado en fundido, empleando el equipo denominado Línea Combinada de Extrusión de Fibras (LCEF) – FET.

3.5 Impregnación de extractos de *R. officinalis* en tela no tejida

Se realizaron diluciones de cada tratamiento, mezclando 5mg de cada tratamiento (temperatura ambiente 72 horas y asistida por ultrasonido 1 hora, tanto para hojas frescas y secas de *R. officinalis*) con 5mL de etanol, agitándose hasta su completa homogenización. Posteriormente se cortaron cuadros de 3 cm x 3 cm de la tela no tejida y se colocaron en los diferentes tratamientos, en los cuales se dejaron por 1, 8 y 24 horas, transcurrido el tiempo se sacaron las telas de los diferentes tratamientos, se colocaron en cajas Petri y se dejaron secando a temperatura ambiente.



3.6 Caracterización del compósito

3.6.1 Análisis por espectroscopia de infrarrojo FTIR (ATR)

Todas las telas obtenidas (temperatura ambiente 72 horas, ultrasonido 1 hora, tratadas a 1, 8 y 24 horas tanto para hojas secas como frescas de romero) fueron caracterizadas por espectroscopia infrarroja (FT-IR), usando un espectrofotómetro IR Spectrum GX- Perkin-Elmer, utilizando la técnica de Reflexión total Atenuada (ATR), usando un aditamento de punta de diamante, para realizar la comparación de los grupos funcionales característicos de las hojas de *R. officinalis*.

3.6.2 Bioensayo de antibiosis *in vitro* de los compósitos contra bacterias patógenas

Se realizaron diluciones de los cultivos de las bacterias patógenas hasta 1×10^{-3} . Posteriormente se colocaron 300 μ L de la última dilución sobre la caja Petri con agar nutritivo, se esparció con una varilla de vidrio, se colocaron 4 discos de cada una de las telas impregnadas con los extractos sobre la caja Petri, en los cuatro puntos cardinales. Se realizó por triplicado con *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, además se sembró un control positivo y un testigo de la tela impregnada con etanol, se dejaron incubar por 24 horas y transcurrido el tiempo se observaron para verificar la presencia o ausencia de inhibición, determinada por un halo de inhibición alrededor del disco comparado con el testigo.

4. Resultados y discusión

4.1 Porcentajes de rendimiento de los extractos de *R. officinalis*

En la Tabla 2 se muestran los resultados de los porcentajes de rendimientos obtenidos de los extractos utilizando etanol como disolvente extractor en los diferentes tratamientos. Se observan los mayores rendimientos en el tratamiento de temperatura ambiente a 72 horas y en el caso de la extracción asistida por ultrasonido, se presentan los mayores rendimientos a 1 h, ambos con hojas secas de *R. officinalis*.

Hojas de <i>R. officinalis</i> fresco		Hojas de <i>R. officinalis</i> seco	
Tratamiento	Rendimiento (%)	Tratamiento	Rendimiento (%)
Temperatura ambiente 72 horas	6.06	Temperatura ambiente 72 horas	10.42
Ultrasonido 1 hora	7.81	Ultrasonido 1 hora	7.93

Tabla 2. Porcentajes de rendimiento de los extractos obtenidos utilizando como disolvente extractor etanol en los diferentes tratamientos.

Al emplear etanol como disolvente, se obtuvieron rendimientos aceptables en los diferentes tratamientos y el tratamiento que presentó mayor rendimiento, fue el de temperatura ambiente a 72 horas y en caso del ultrasonido a 1 hora, en hojas secas de *R. officinalis*.

En la Figura 5 se muestran las diferentes tonalidades obtenidas de los extractos bioactivos, en el caso de las hojas del romero seco a temperatura ambiente se obtuvieron colores amarillos (a), color claro en el tratamiento asistido por ultrasonido (b) y en el caso de las hojas del romero fresco a temperatura ambiente se obtuvieron colores verdes (c) y en el tratamiento asistido por ultrasonido colores verdes claros (d). Consideramos que la tonalidad que presenta cada uno de los extractos depende de la presencia de los compuestos orgánicos que se lograron extraer. Las tonalidades concuerdan con lo reportado por Cerpa [16], quien describe las tonalidades de los extractos "color amarillo pálido con un fuerte aroma fresco, alcanforado o mentolado". Otro compuesto importante que se encuentra en las hojas frescas de *R. officinalis* es la clorofila, la cual se clasifica en clorofila a, b y es la responsable del color verde [17].

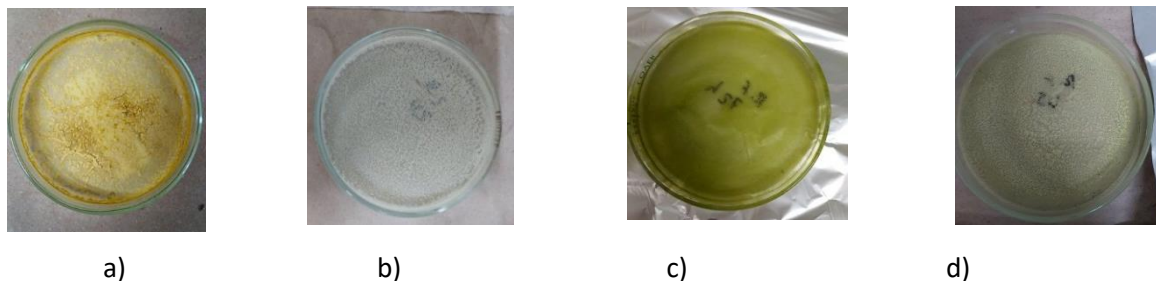


Fig. 5. Fotografías de las diferentes tonalidades obtenidas de los extractos bioactivos: a) extracto obtenido de hojas de *R. officinalis* seco a temperatura ambiente, b) extracto de hojas de *R. officinalis* seco obtenido por ultrasonido, c) extracto de hojas de *R. officinalis* fresco obtenido a temperatura ambiente y d) extracto de hojas de *R. officinalis* fresco obtenido por ultrasonido.

4.2 Caracterización de extractos de *R. officinalis*

4.2.1 Análisis por espectroscopia de infrarrojo FTIR (ATR)

Todos los compuestos extraídos fueron caracterizados mediante FTIR-(ATR) encontrando similitud en la mayoría de los espectros, en la Figura 6, se muestran los espectros de FTIR-(ATR), del tratamiento de ultrasonido a 1 hora, en el a) se muestra el de hojas secas de *R. officinalis* y en el b) se muestra el de hojas frescas de *R. officinalis*, también se obtuvieron los espectros empleando ultrasonido por 15 minutos, tanto de hojas secas como frescas de *R. officinalis*, destacando que en ambos tiempos de ultrasonido se presentan las mismas bandas. En 3345 cm^{-1} se cuenta con una banda correspondiente a estiramientos O-H, en 2930 y 2850 cm^{-1} presentándose dos bandas correspondientes a estiramientos de los enlaces C-H, así mismo la banda en 1670 cm^{-1} correspondiente a los estiramientos del enlace C=O, en 1456 cm^{-1} bandas características de las torsiones de los enlaces C-O-H y aproximadamente en 1000 cm^{-1} , se hacen notar bandas correspondientes a enlaces C-O [18]. En ambos tratamientos se tiene como variante el tiempo de sonicación, sin embargo, no es determinante para la obtención de diferentes compuestos químicos, ya que en ambos casos se presentan las mismas absorciones, lo que conlleva a deducir que el tiempo de sonicación no es determinante en la pureza de los compuestos extraídos.

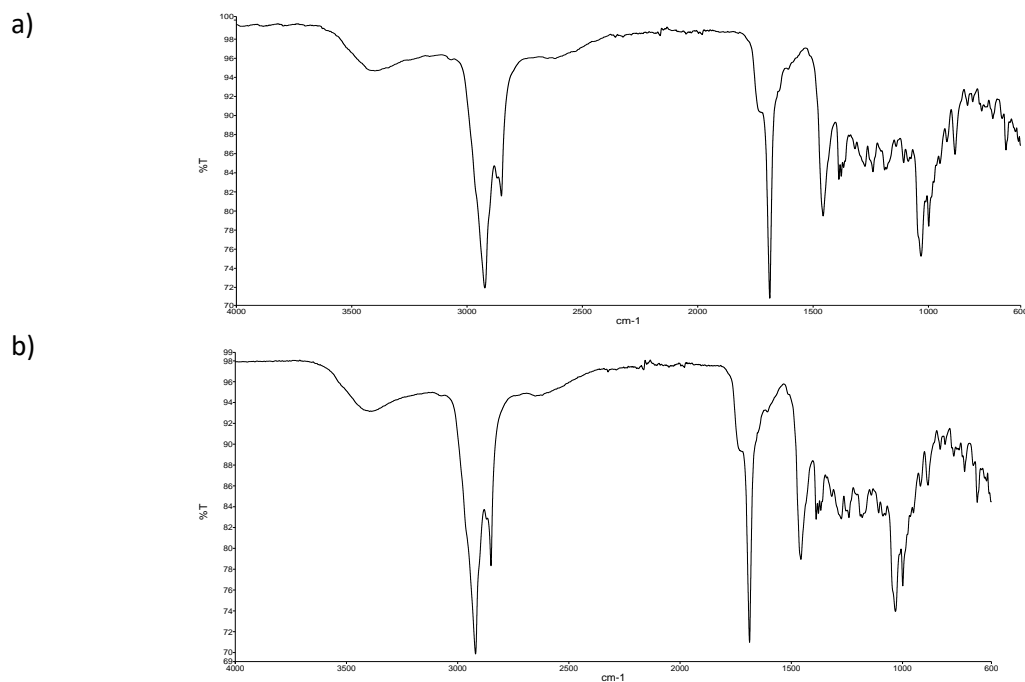


Fig. 6. Espectros de FTIR(ATR), de los compuestos extraídos empleando ultrasonido por 1 hora: a) hojas secas de *R. officinalis* y b) hojas frescas de *R. officinalis*.

En la Figura 7, se observan los espectros de FTIR (ATR) obtenidos mediante temperatura ambiente a 72 horas, en el a) se muestra el espectro de hojas secas de *R. officinalis* y en el b) hojas frescas de *R. officinalis*, también se realizaron los espectros del tratamiento de temperatura ambiente a 24 y 48 horas. En 3350 cm^{-1} se observa una banda correspondiente al enlace O-H, no se descarta que pueda ser restos del mismo disolvente, en 2930 cm^{-1} aproximadamente, se observan una banda con dos picos correspondiente a estiramientos de los enlaces C-H, en 1687 cm^{-1} , se presenta una banda correspondiente al estiramiento del enlace C=O, en 1450 cm^{-1} se presentan las torsiones C-O-H y confirmando la banda en 1000 cm^{-1} correspondiente a los enlaces C-O, destacando un comportamiento muy similar, lo que lleva a deducir que el tiempo como variable en el tratamiento no presenta una incidencia importante, en cuanto a la pureza de los extractos, ya que químicamente se presentan los mismo compuestos, sin embargo, se destaca que el tiempo es un factor importante en los porcentajes de rendimientos.

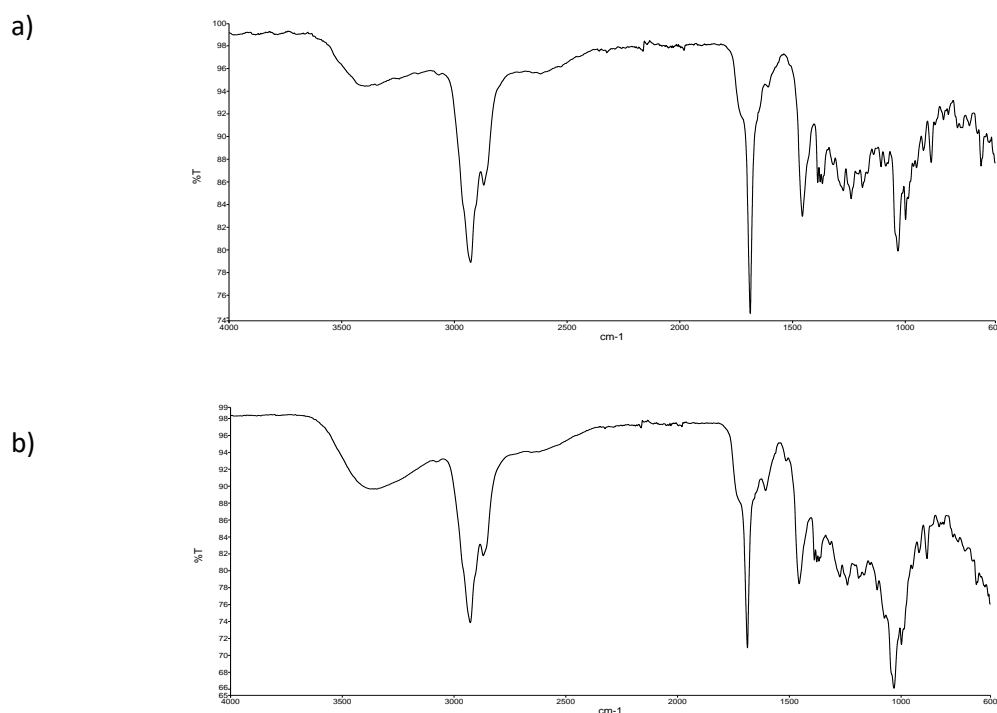


Fig. 7. Espectros de FTIR(ATR) empleando temperatura ambiente 72 horas: a) hojas secas de *R. officinalis* y b) hojas frescas de *R. officinalis*.

4.2.2 Cromatografía líquida de alta resolución acoplada a masas (HPLC)

Los extractos mostraron un perfil cromatográfico similar en los tratamientos empleados y la identificación se realizó mediante la retención de su masa carga (m/z) correspondiente al ion mayoritario. Como se observa en la Tabla 3, el componente de interés tuvo un tiempo de retención de 38.23 y masa de 359.1, lo cual concuerda con lo publicado por Sánchez-Camargo y colaboradores [19], donde reportan la identificación del ácido rosmarínico en hojas de romero mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas.

Tabla 3. Resultados de los compuestos obtenidos en la base de datos del equipo HPLC acoplado a masas de los extractos de hojas frescas y secas de *R. officinalis*

Extractos de hojas frescas de <i>R. officinalis</i>				
Tiempo de retención	Masa G/mol	(%) abundancia	Compuesto	Familia
38.58	385.3	100	5-5'-ácido deshidrodiferulico	Dímeros de ácido metoxicinámico
Extractos de hojas secas de <i>R. officinalis</i>				
34.17	469.5	70	dilactona de ácido valoneico	dímeros de ácido hidroxibenzoico
36.23	563.2	90	arabinósido-glucósido de apigenina	flavonas
38.06	371.3	25	sinensetina	metoxiflavonas
38.23	359.1	98	ácido rosmarínico	Ácidos hidroxicinámicos
45.22	611.5	90	cianidina 3,5-O-diglucósido	antocianinas

4.3 Bioensayos de antibiosis *in vitro* de los extractos contra bacterias patógenas

4.3.1 Extractos de *R. officinalis*

En la Figura 8 se muestran los bioensayos realizados utilizando los extractos de *R. officinalis* frente a *Staphylococcus aureus*, se puede determinar cualitativamente que existe actividad antimicrobiana, ya que presentó un halo de inhibición.

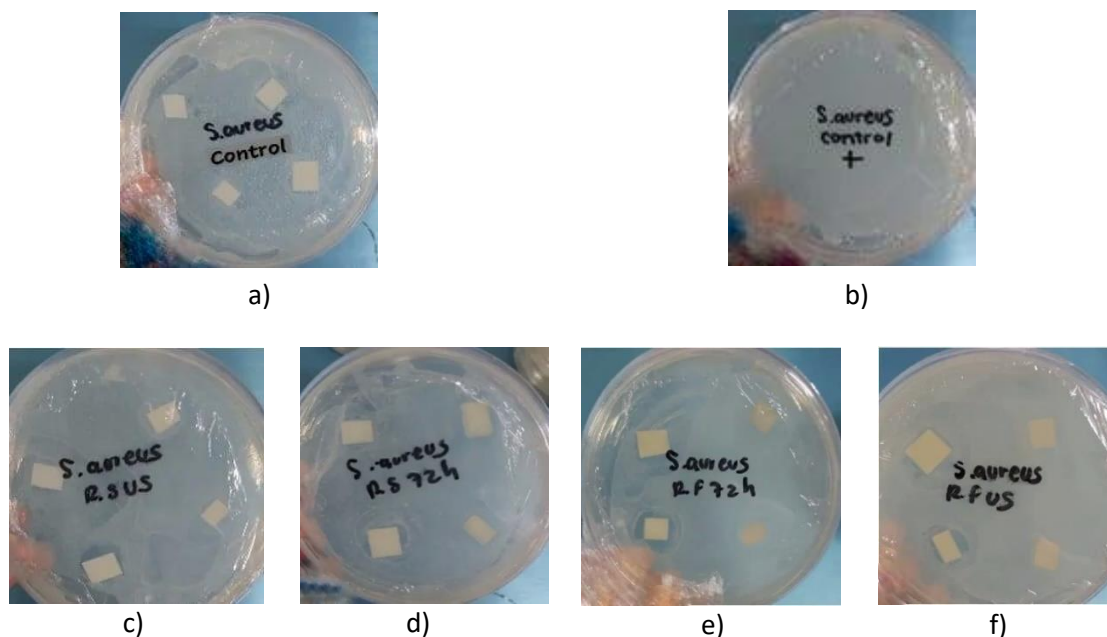


Fig. 8. Bioensayos de extractos frente a *Staphylococcus aureus*: a) control con etanol, b) control (+), c) *R. officinalis* seco ultrasonido 1 hora, d) *R. officinalis* seco temperatura ambiente 72 horas, e) *R. officinalis* fresco temperatura ambiente 72 horas y f) *R. officinalis* fresco ultrasonido 1 hora.

La actividad inhibitoria del extracto etanolico de *R. officinalis* se debe a la estructura propia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y a los compuestos fenólicos, particularmente al ácido rosmarínico, el cual se logró obtener en hojas secas de *R. officinalis*. El mecanismo de acción de dichos compuestos estaría ligado a inhibir la síntesis de la pared y membrana celular e interferir también en la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos. El ácido rosmarínico es el principal compuesto al que se le atribuyen las propiedades antimicrobianas de *R. officinalis* y las cuales son potenciadas por los flavonoides, ya que aumentan el grado de liposolubilidad, lo cual ocasiona la separación de lípidos de la membrana celular de las bacterias desordenando su estructura y haciéndola más permeable, permitiendo de esta manera la filtración de iones y otros componentes celulares por difusión pasiva [20]. Sin embargo, en el presente estudio al igual que el trabajo de Barrera et al., 2013, los halos de inhibición no son extensos, lo cual concuerda con estos investigadores, que mencionan que la capacidad antibacteriana frente a bacterias gram positivas y negativas, se les atribuye a los compuestos polifenólicos presentes en *R. officinalis* [21]. En los trabajos desarrollados por Rashidaie et al., 2019, se menciona la actividad antibacteriana en contra de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* de los extractos hidroalcohólicos de *R. officinalis* obtenidos mediante sonicación, destacando una menor resistencia por parte de *S. aureus* [22]. En la Figura 9 se muestran los resultados de los bioensayos realizados con los extractos de *R. officinalis* frente a *Escherichia coli*, y se puede observar cualitativamente que se presenta inhibición.

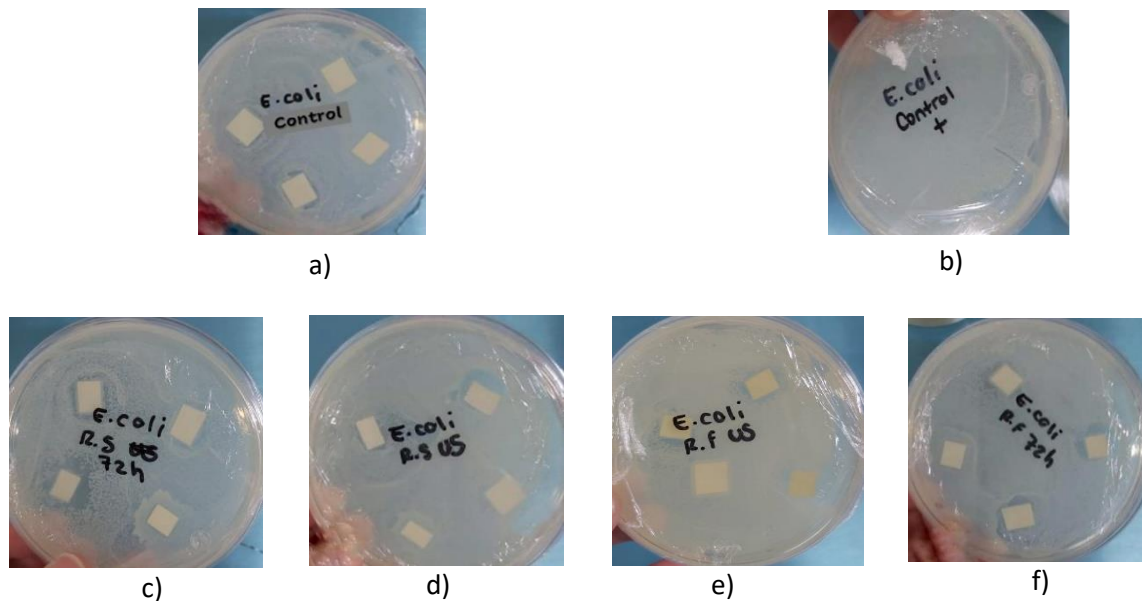


Fig. 9. Fotografías de los bioensayos realizados con los extractos bioactivos frente a *Escherichia coli*, obtenidos: a) testigo con etanol, b) control (+), c) *R. officinalis* seco temperatura ambiente 72 horas, d) *R. officinalis* seco ultrasonido 1 hora, e) *R. officinalis* fresco ultrasonido 1 hora y f) *R. officinalis* fresco temperatura ambiente 72 horas.

4.4 Tela no tejida

4.4.1 Impregnación de tela no tejida de Nylon 6 con extractos de *R. officinalis*

Una vez obtenidos los extractos de las hojas de *R. officinalis* y de llevar a cabo la caracterización química, se llevó a cabo la impregnación de la tela no tejida a base de Nylon, con la finalidad de proporcionar las propiedades antibacterianas que presentan los extractos a la tela no tejida.

En la Figura 10, se muestran las telas de nylon impregnadas por una hora con los extractos bioactivos de *R. officinalis* y se observan diferentes tonalidades de amarillo claro para el caso de las hojas frescas y colores claros y blancos para las hojas secas, independientemente del tiempo que se dejaron

impregnando las telas en los extractos, se colorearon de la misma manera, tanto en 8 horas como en 24, como se puede observar en las Figuras 11 y 12.

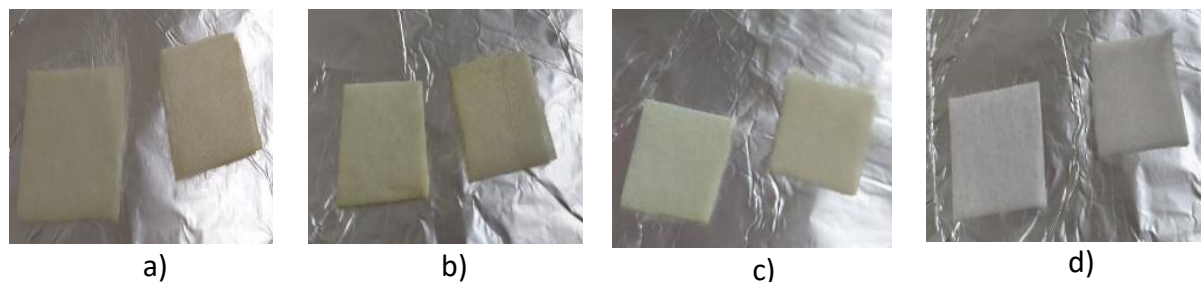


Fig. 10. Telas de nylon impregnadas por una hora con los extractos bioactivos obtenidos: a) *R. officinalis* fresco temperatura ambiente 72 horas, b) *R. officinalis* seco temperatura ambiente 72 horas, c) *R. officinalis* fresco ultrasonido 1 hora y d) *R. officinalis* seco ultrasonido 1 hora.

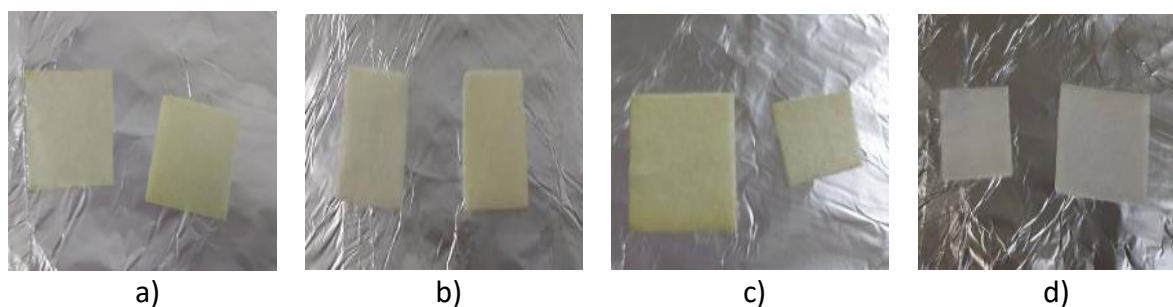


Fig. 11. Telas de nylon impregnadas por 8 horas con los extractos bioactivos obtenidos: a) *R. officinalis* fresco temperatura ambiente 72 horas, b) *R. officinalis* seco temperatura ambiente 72 horas, c) *R. officinalis* fresco ultrasonido 1 hora y d) *R. officinalis* seco ultrasonido 1 hora.

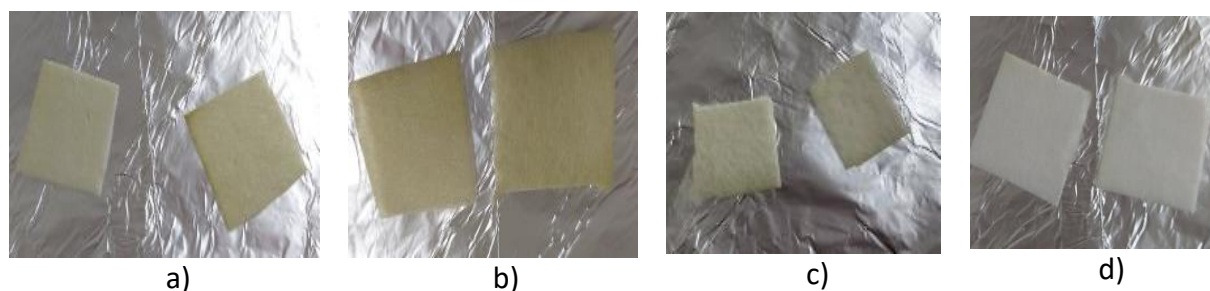


Fig. 12. Telas de nylon impregnadas por 24 horas con los extractos bioactivos obtenidos: a) *R. officinalis* seco temperatura ambiente 72 horas, b) *R. officinalis* fresco temperatura ambiente 72 horas, c) *R. officinalis* fresco ultrasonido 1 hora y d) *R. officinalis* seco ultrasonido 1 hora.

4.4.2 Caracterización del compuesto

Una vez llevadas a cabo las impregnaciones de las telas no tejidas a base de Nylon, se realizaron diferentes caracterizaciones, destacando las espectroscopias del FTIR-(ATR), encontrando que todos los espectros obtenidos presentan los mismos comportamientos, en la Figura 13 se muestra la estructura química del Nylon 6 y el espectro de infrarrojo de la tela no tejida de Nylon sin modificar.

En la Figura 14, se muestran los espectros de FTIR (ATR) de las telas impregnadas con extractos obtenidos por temperatura ambiente 72 horas de hojas secas de *R. officinalis*, en el a) se observa el espectro de la tela impregnada por 1 hora con el extracto, en el b) tela impregnada por 8 horas con el extracto y c) tela impregnada por 24 horas con el extracto. También se realizaron los espectros de las telas impregnadas por 1, 8 y 24 horas de los extractos obtenidos por temperatura ambiente 72 horas de hojas frescas de *R. officinalis* y los extractos obtenidos por ultrasonido 1 hora de hojas secas y frescas de *R. officinalis*, en los cuales se obtuvieron las mismas bandas. Aparece una banda en 3295 cm^{-1} , correspondiente a tensiones N-H, en 2931 y 2859 cm^{-1} , se destaca la presencia de los estiramientos C-H, en 1653 y 1634 cm^{-1} , bandas correspondientes a flexiones N-H y 1539 cm^{-1} aproximadamente, se presentan las torsiones N-H y estiramientos C-N [18]. Se observa que no hay cambios en la tela impregnada al compararla con el blanco, Figura 13, los extractos bioactivos no alteran la estructura química del polímero sintético.

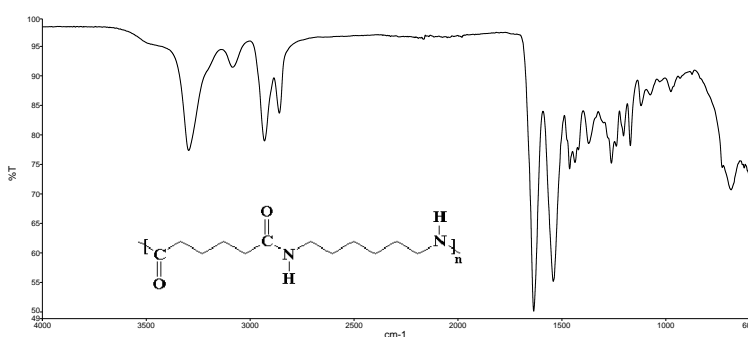


Fig. 13. Estructura química del Nylon y espectro de infrarrojo de la tela no tejida de Nylon sin modificar.

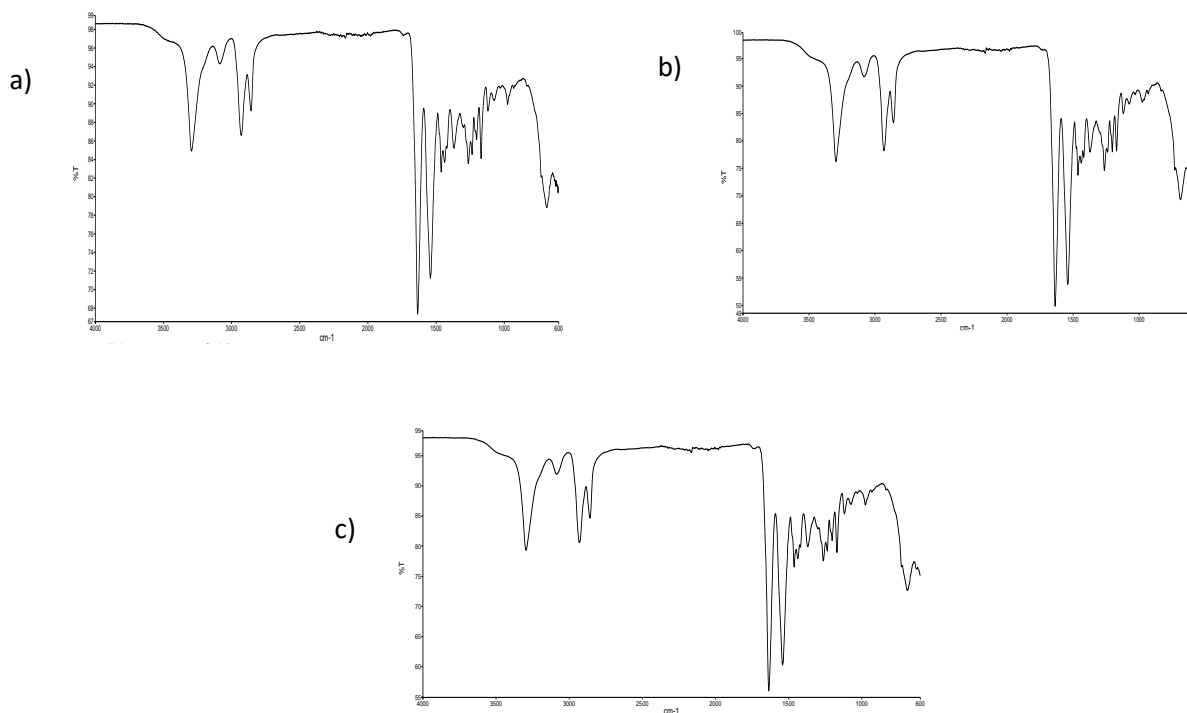


Figura 14. Telas impregnadas con extractos obtenidos por temperatura ambiente 72 horas de hojas secas de *R. officinalis*: a) tela impregnada por 1 hora con extracto, b) tela impregnada por 8 horas con extracto y c) tela impregnada por 24 horas con extracto.

4.4.2.1 Bioensayos de antibiosis *in vitro* del compósito contra bacterias patógenas

En la Figura 15 se muestran las fotografías de los bioensayos realizados frente a *Staphylococcus aureus* y como se puede observar el crecimiento de la caja que contiene las telas impregnadas por 8 horas con los extractos de *R. officinalis* seco obtenidos por ultrasonido de 1 hora, disminuye el crecimiento en comparación con el control positivo sembrado con *Staphylococcus aureus*.

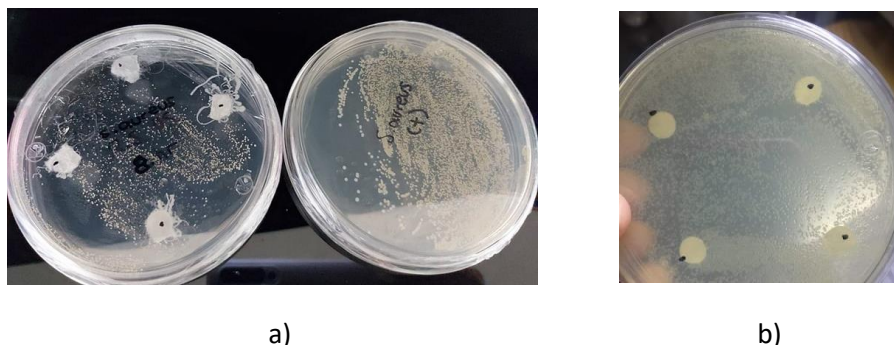


Fig. 15. Fotografías de los bioensayos realizados con las telas impregnadas frente a *Staphylococcus aureus*: a) tela impregnada durante 8 horas con el extracto de *R. officinalis* obtenido por ultrasonido a 1 hora y b) testigo de tela impregnada con etanol.

En la Figura 16 se muestran las fotografías de los bioensayos realizados frente a *Escherichia coli* y como se puede observar en la imagen a, b y c solo se presenta una pequeña inhibición, las telas fueron impregnadas previamente por 8 horas con *R. officinalis* seco obtenido por ultrasonido 1 hora. La actividad antibacteriana se les atribuye a los compuestos fenólicos, terpenos, alcoholes alifáticos, ácidos e isoflavonoides, ya que actúan inhibiendo los sistemas enzimáticos, como la producción de energía y la síntesis de sistemas enzimáticos. Una vez que el compuesto activo cruza la membrana bacteriana, puede interactuar con las enzimas y con las proteínas causando una desestabilización de la capa lipídica debido a los metabolitos secundarios del extracto de *R. officinalis* con las moléculas de la membrana [23].

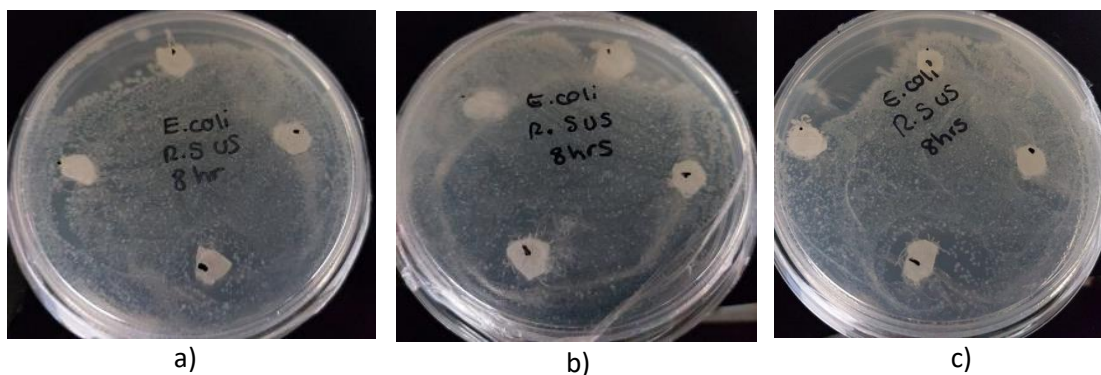


Fig. 16. Fotografías de los bioensayos realizados con las telas impregnadas durante 8 horas con *R. officinalis* seco ultrasonido 1 hora frente a *Escherichia coli*.

Con la incorporación de sustancias bioactivas en textiles se podrían obtener materiales de utilidad para la fabricación de nuevos productos, por ejemplo, apósitos, gasas, vestimenta quirúrgica, entre otros, con efectos favorables sobre la piel y con propiedades antibacterianas, de los cuales no se cuenta con suficiente información hasta el momento.

5. Conclusiones

Se concluye que al realizar la extracción de los compuestos bioactivos de *R. officinalis* utilizando como disolvente etanol, el mejor tratamiento respecto al porcentaje de rendimiento fue el de temperatura



ambiente por 72 horas, ya que se obtuvo un 10.42% en hojas secas de *R. officinalis*. Se logró identificar ácido rosmarínico, ácido carnósico y carnosol presentes en los extractos, encontrando que presentan inhibición frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Así mismo se logró obtener el compósito a base de tela no tejida de Nylon y extractos de *R. officinalis*, encontrando en la caracterización que una vez que son incorporados los extractos a la tela no tejida de Nylon, estos siguen conservando los grupos funcionales y en la tela no se genera ninguna modificación química lo que conlleva a concluir que, si se logró obtener un compósito con propiedades antibacterianas, a base de tela no tejida de Nylon con extractos de *R. officinalis*, los cuales se pueden utilizar para fabricar vestimenta quirúrgica, apósitos, paños desinfectantes, cubrebocas, etc., teniendo como base los resultados obtenidos.

6. Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Químicas, al Centro de Investigación en Química Aplicada y al apoyo por parte SEP-CONACyT a través del proyecto SEP-CONACyT Ciencia Básica 2017-2018 CB2017-2018 A1-S-44977."

7. Referencias

- [1] Tránsito, A., "El romero, planta aromática con efectos antioxidantes", Elsevier, 27, 2008, 60-63.
- [2] Flores, E., Saéñz, A., Castañeda, A. O., Narro, R. I., "Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios", TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 23, 2020, 1-17.
- [3] Abo, M., Elsadek, M., Taha, A., Abd, M., Elsabrout, K., "Effect of housing system and rosemary and cinnamon essential oils on layers performance egg quality, haematological traits, blood chemistry, immunity, and antioxidant", Animal, 10, 2020, 1-16.
- [4] Serna M., González L., Restrepo A., "Compuestos antimicrobiales para textiles y sus métodos de caracterización", Ingenierías Universidad de Medellín, 16, 2017, 33-54.
- [5] Fidan, H., Stankov, S., Ivanova, T., Stoyanova, A., Damyanova, S., Ercisli, S., "Characterization of aromatic compounds and antimicrobial properties of four spice essential oils from family Lamiaceae", Ukrainian Food Journal, 8, 2019, 227-238.
- [6] Calvo, M., Angulo, E., Costa, P., Shiva, C., Adelantado, C., Vicente, A., "Natural Plant Extracts and Organic Acids: Synergism and Implication on Piglet's Intestinal Microbiota", Biotechnology, 5, 2, 2006, 137-142.
- [7] Ávila, S., Meza, P., Melgoza N., "Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): una revisión de sus usos no culinarios", Ciencia, 15, 2011, 23-36.
- [8] Vargas, I., Sanz, I., Moya, P., Yufera, E., "Antimicrobial and antioxidant compounds in the nonvolatile fraction of expressed orange essential oils", Journal food, 62, 8, 1999, 929-932.
- [9] Mounchi, K., Bourjilat, F., Dersi, N., Aboussaouira, T., Rachidai, A., Tantaoui, A., "The susceptibility of *Escherichia coli* strains to essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Eucalyptus globules*" African Journal of Biotechnology, 4, 10, 2005, 1175-1176.
- [10] Sik, B., Hanczue, E., Kapcsandi, V., Ajtony, Z., "Conventional and nonconventional extraction techniques for optimal extraction processes of rosmarinic acid from six Lamiaceae plants as determined by HPLC measurement", Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 184, 2020, 1-8.
- [11] Brown, N., John, J., Shahidi, F., "Polyphenol composition and antioxidant potential of mint leaves", Food Production, Processing and Nutrition, 1, 2019, 1-14.
- [12] Ali, A., Chua, B., Chow, Y., "An insight into the extraction and fractionation technologies of the essential oils and bioactive compounds in *Rosmarinus officinalis* L: past, present and future", Trends in Analytical Chemistry, 188, 2019, 338-351.
- [13] Zhang, W., Lin, L., Ye, W., "Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review", Chinese Medicine, 13, 20, 2018, 1-26.



- [14] Hernández, J., “Desarrollo de tela no tejida antimicrobiana a base de poliéster/Cu”, Tesis de maestría, Universidad Tecnológica de Querétaro, Santiago de Querétaro, 2017.
- [15] Cabello, C., Caicedo, C., Melo, L., Andrade, M., Cruz, V., Ávila, C., “Revisión de métodos para la obtención de textiles técnicos. Textiles técnicos y su obtención”, Revista Iberoamericana de Polímeros y Materiales, 20, 3, 2019.
- [16] Burt, S., “Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review”, Journal Food Microbiol, 94, 2, 2004, 223-253.
- [17] Demontes-Mainard, S., Boumaza, R., Meyer, S., Cerovic, Z., “Indicators of nitrogen status for ornamental woody plants based on optical measurements of leaf epidermal polyphenol and chlorophyll contents”, Scientia Horticulturae, 115, 2008, 377-385.
- [18] Silverstein, R., Webster, F., Kiemle, D.J., “Spectrometric Identification of Organic Compounds” Seventh Edition, Editorial John Wiley & Sons, Inc. USA, 2005.
- [19] Khorshidi, J., Rahmat, F., Mohamed, Himan, N., “Influence of drying methods, extraction time, and organ type on essential oil content of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)”, Natural Science, 7, 11, 2009, 42-44.
- [20] Nieto, G., Ros, G., Castillo, J., “Antioxidant and antimicrobial properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): a review”, Medicines, 5, 2018, 1-13.
- [21] Barrera, C., Acosta, G., “Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia”, Revista Cubana de Plantas, 18, 2, 2013.
- [22] Rashidaie, S. S., Ariaii, P., Charmchian, L., “Effects of encapsulated rosemary extract on oxidative and microbiological stability of beef meat during refrigerated storage”, Food Science y Nutrition, 7, 2019, 3969-3978.
- [23] Alvarez, F. J., Barrajon, E., Herranz, M., Micol, V., “Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action”, Phytomedicine, 90, 2021.