

Evaluación de la actividad antimicrobiana, antiinflamatoria y antioxidante de subproductos de *Opuntia ficus-indica* y *Mangifera indica*.

D. L. Lozoya Castillo^{1*}, S. L. Castillo-Hernández², D. A. Hernández-Marín¹, C. Rivas-Morales¹, E. Sánchez-García¹.

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. ¹Departamento de Química. ²Departamento de Alimentos. Av. Universidad s/n, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, CP 66455, México. lizi.lozoya@hotmail.com

RESUMEN:

Hoy en día existe un gran desarrollo en la industria alimentaria que da origen a residuos de diversas frutas y vegetales, dichos residuos, también conocidos como subproductos poseen propiedades funcionales que pueden ser aprovechadas por la industria debido a diversos beneficios derivados de los mismos. El objetivo de esta investigación es determinar las posibles propiedades antimicrobianas, antioxidantes e antiinflamatorias de las cáscaras (subproductos) de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) y del mango (*Mangifera indica*), esto con la finalidad de aprovechar la generación de subproductos y buscar un bien común tanto para el ser humano como para la industria. La actividad antimicrobiana encontrada para la cascara del mango fue de 3.44 ± 0.52 mg/mL y de la tuna de >15 mg/mL en *Staphylococcus aureus*. En cuanto a la actividad antiinflamatoria ambas plantas presentan buena actividad *in vitro*, donde los valores obtenidos para la cascara de mango y de la tuna fueron de $0.2864 \pm 0.005\%$ y $49.32 \pm 1.39\%$ respectivamente a una concentración de 1000 ppm. En el ensayo de actividad antioxidante por el método de DPPH el mango presento la mayor capacidad antioxidante con 149.1476 ± 13.942 mm Trolox/g extracto mientras que para la tuna fue de 108.101 ± 1.78 μ m Trolox/g extracto. Concluyendo así; que los subproductos del mango obtuvieron mayor capacidad antimicrobiana frente a *S. aureus*, mayor capacidad antioxidante y así mismo mayor capacidad antiinflamatoria con respecto al extracto de Tuna.

Palabras clave: Antimicrobiano, Antiinflamatorio, Antioxidante.

ABSTRACT:

There is a great development in the food industry that have been increase the residues generation of various fruits and vegetables, these residues, also known as byproducts possess functional properties that can be used by the industry due to diverse benefits derived from them. The objective of this research is to determine the possible antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory properties of the byproducts of tuna (*Opuntia ficus-indica*) and mango (*Mangifera indica*), in order to take advantage of the properties of these by-products and search a common good for both the human being and industry. The antimicrobial activity found for the mango husk was 3.44 ± 0.52 mg/mL and for the tuna was >15 mg/mL against *Staphylococcus aureus*. As for anti-inflammatory activity, both plants had good *in vitro* activity, where the values obtained for mango and tuna husk were $0.2864 \pm 0.005\%$ and $49.32 \pm 1.39\%$ respectively at a concentration of 1000 ppm. In the test of antioxidant activity by the DPPH method the mango had the highest antioxidant capacity with 149.1476 ± 13.942 mm Trolox /g extract while for the tuna was 108.101 ± 1.78 μ m Trolox / g extract. Concluding thus; That the by-products of the mango obtained greater antimicrobial capacity against *S. aureus*, greater antioxidant capacity and also a greater anti-inflammatory capacity with respect to the extract of tuna.

Keywords: Anti-inflammatory, Antimicrobial, Antioxidant.

INTRODUCCIÓN

En el proceso de la producción de alimentos nutritivos, en los cuales se utilizan frutas y vegetales para la obtención de productos funcionales, se generan desperdicios conocidos como subproductos los cuales son potencialmente fuente de compuestos bioactivos con diversas propiedades y actividades biológicas. Dichos compuestos pueden ser aprovechados debido a diversos beneficios derivados de los mismos.

Sin embargo la mayoría de las industrias no tienen un plan para el aprovechamiento de estos residuos, debido al desconocimiento de los beneficios de su reutilización, por lo que desechan junto con la basura en los rellenos sanitarios (Milena, 2008).

Los subproductos agroindustriales presentan, sin embargo, un amplio potencial de aprovechamiento que debe ser rentabilizado de manera eficiente (Arvanitoyannis y Varzakas ,2008). Ya que cada día es mayor el número de empresas y grupos de investigación que tratan de obtener un beneficio de estos subproductos y reducir la generación del residuos contaminantes (Martín-Luengo et al, 2011; Martín Belloso, 2009). Hasta la fecha, entre las principales vías de aprovechamiento de dichos subproductos vegetales destacan: (i) su uso como bioadsorbentes durante la etapa de pre-tratamiento de aguas residuales; (ii) agentes fitoquímicos en agricultura; (iii) alimentación directa del ganado o para la fabricación de piensos; (iv) utilización en la industria del papel por su alto contenido en celulosa; (v) fabricación de biocombustibles; y recientemente, (vi) aislamiento de ingredientes bioactivos funcionales y, (vii) obtención de alimentos con un valor nutricional añadido(Gracia R.A, 2004).

Se conoce que muchas de estos subproductos debido a su atractivo color y sabor pudieran contener grandes cantidades de ácido ascórbico, polifenoles y con gran capacidad antioxidante y antimicrobiana que puede prevenir algunas enfermedades degenerativas así como atacar diversos microorganismos. Sin embargo es necesaria la búsqueda de nuevas tecnologías para complementar las investigaciones y tener un aprovechamiento total (Siller et al, 2013).

Lo que se busca encontrar en esta investigación son subproductos de frutas (*Opuntia ficus-indica* y *Mangifera indica*) con propiedades antimicrobianas, antioxidantes y antiinflamatorias para reducir la generación de residuos contaminantes.

Los resultados obtenidos de actividad antimicrobiana para Mango fue de 3.44 ± 0.52 mg/mL y de Tuna de >15 mg/mL en *Staphylococcus aureus*. En cuanto a la actividad antiinflamatoria los valores reportados para Mango y Tuna fueron de $0.2864 \pm 0.005\%$ y $49.32 \pm 1.39\%$ a una concentración de 1000 ppm respectivamente, en capacidad hemolítica, lo que demuestra que ambas plantas presentan actividad antiinflamatoria in vitro; pero el Mango presenta mayor actividad que la Tuna. En el ensayo de actividad antioxidante por el método de DPPH el Mango presento la mayor capacidad antioxidante con 149.1476 ± 13.942 μ m Trolox/g extracto mientras que para la Tuna fue un valor de 108.101 ± 1.78 μ m Trolox/g extracto. Concluyendo así; que los subproductos del Mango obtuvieron mayor capacidad antimicrobiana frente a *S. aureus*, mayor capacidad antioxidante y así mismo mayor capacidad antiinflamatoria con respecto al extracto de Tuna.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del material vegetal

Los frutos utilizados (tuna y mango) fueron obtenidos en centros comerciales de la localidad. Fueron lavados con agua corriente de grifo para posteriormente retirar la cascara, las cuales fueron colocadas en charolas de aluminio las cuales fueron sometidas a un proceso de secado durante 5 días en un secador de tunel a una temperatura de 50 °C. Una vez secas las cáscaras fueron trituradas con la ayuda de un molino manual para grano (Victoria).

Obtención de los extractos.

Se pesaron 80 gramos de las cascaras los cuales fueron colocados en matraces Erlenmeyer de 500 mL. Posteriormente se agregaron 250 mL de metanol y se procedió a realizar la maceración a temperatura ambiente

Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

(23±2°C) durante 24 h. La extracción se realizó tres veces sobre el mismo material vegetal. Después de este tiempo las maceraciones obtenidas fueron filtradas con la ayuda de papel filtro Whatman No.1. Por último, los extractos fueron concentrados a presión reducida en un rotavapor (Yamato Scientific).

Actividad antimicrobiana preliminar

La actividad antimicrobiana preliminar se realizó utilizando el bioensayo de difusión del pozo en agar de acuerdo al método mencionado por Sánchez et al 2016. En el cual 100 µL de cultivo fresco de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (aproximadamente 10⁶ UFC/mL) fueron sembrados por extensión sobre placas de agar Mueller-Hinton con la ayuda un asa Driglasky estéril. Después de eso, se realizaron pozos de 6 mm de diámetro en el agar con la ayuda de un tubo de ensayo invertido en condiciones de esterilidad, después el agar fue retirado y se agregaron 100 µL (50 mg/mL) de cada extracto en los pozos. Como control fue utilizando el solvente empelado para la realización de los extractos (metanol). Las placas se incubaron a 37°C durante 24 h. La actividad inhibitoria se evidenció por la presencia de halos de inhibición alrededor de cada pozo.

Concentración mínima bactericida (CMB)

Para esto se utilizó la técnica de dilución en microplaca de 96 pozos, en los cuales se colocaron diferentes concentraciones de los extractos (1 a 15 mg/mL) y la bacteria previamente activada (*S. aureus*) a un volumen final de 200 µL por pozo. El metanol fue utilizando como control. La microplaca fue incubada a 37 °C por 24 horas. La CMB fue determinada mediante la tecnica de goteo sobre placas de agar Mueller-Hinton; dichas las placas fueron incubadas a 37 °C por 24 horas definiéndose la CMB como la concentración en la cual ya no se registró crecimiento de la bacteria (Sánchez, 2012).

Capacidad antiinflamatoria *in vitro*

Tubos Eppendorf conteniendo 250 µL de una suspensión de eritrocitos humanos al 5%, 20 µL de las concentraciones de los extractos (100 a 1000 ppm) y 980 µL de PBS (volumen final de 1250 µL). Los tubos se incubaron a 37°C por 30 min y después fueron centrifugados por 5 min a 14,000 rpm. El sobrenadante fue recuperado y se leyó a 540 nm en un lector de microplaca (Epoch). Agua destilada y PBS fueron utilizando como controles. (Vinjamuri, et al. 2015).

El porcentaje de hemólisis fue calculado con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ hemólisis: } \frac{\text{Abs muestra} - \text{Abs control (-)}}{\text{Abs control (+)} - \text{Abs control (-)}} \times 100$$

Capacidad antioxidante

Para determinar la capacidad antioxidante de los extractos se utilizó la tacnica de DPPH, en la cual se tomaron 100 µL de estos a diferentes concentraciones. Las lecturas obtenidas de 515 nm fueron comparadas con una curva de calibración previamente obtenida con la cual fueron calculados los µmoles o nmoles equivalentes de trolox/g de extracto utilizado (Amador, et al. 2015).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la concentración mínima bactericida se muestran en la Tabla I, donde se observa que el extracto con mayor actividad fue el de la cascara de mango con un resultado de 3.44 ± 0.52 mg/mL. A este respecto en un estudio realizado por Mushore y Takudzwa (2013) encontraron que los extractos metanólicos de la corteza de *Mangifera indica* presentaron un rango de entre 0.62 mg/mL a 4.17 mg/mL de actividad bactericida en contra de *S. aureus*. Aunque ellos no evaluaron la cascara del mango se observa una correlación entre la actividad bactericida obtenida en la corteza y la cascara.

La actividad antimicrobiana preliminar mostró que el extracto de la cascara de tuna resulto ser efectiva teniendo halos de inhibición ante *S. aureus* entre 7 y 10 mm (datos no mostrados); pero al determinar la CMB se observa que es necesario más del 15 mg/mL para inhibir a esta bacteria (Tabla I). Hasta el momento no se ha encontrado información que mencione dicho comportamiento. Pero por otro lado Centurión *et al.*, (2012) evaluó la concentración mínima bactericida de diversas inflorescencias comestibles de México ante *S. aureus* en donde obtuvo valores mayores a 30 mg/mL. Por lo que de acuerdo al criterio establecido por Salinas *et al.*, (2009) estos extractos vegetales no se consideran compuestos antimicrobianos debido a la cantidad de mg/mL necesarios para inhibir a la bacteria.

Tabla I. Concentración mínima bactericida de los extractos frente a <i>S. aureus</i>		
Planta		CMB en mg/mL
Nombre científico	Nombre común	
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Tuna	>15
<i>Mangifera indica</i>	Mango	3.44 ± 0.52

En la que respecta a la capacidad antioxidante de los extractos de las cáscaras de tuna y mango se muestra que el extracto de tuna presentó mayor actividad antioxidante en comparación con el del mango (Tabla 2). A este respecto, Siller *et al.*, (2013) señalan que los valores obtenidos de la capacidad antioxidante del mango ataulfo se atribuyen a una combinación de propiedades quelantes de hierro y secuestradores de radicales libres, además de la inhibición de oxidasas que al mismo tiempo estimulan el incremento de catalasa, lo que podría indicar que estas propiedades pudieran estar presentes de la misma manera en el Mango manila. Por otro lado, Escobar *et al.* (2010) reportan capacidad antioxidante de la cáscara de Tuna roja, mencionando que se puede utilizar como alimento funcional, lo que repalda los resultados obtenidos en este trabajo de investigación.

Tabla II. Contenido total de capacidad antioxidante en equivalente de Trolox de los subproductos.	
Cáscara de tuna (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	108.10 ± 1.78 μ m eq. Trolox/g extracto
Cáscara de mango (<i>Mangifera indica</i>)	149.14 ± 13.942 mm eq. Trolox/g extracto

Como se observa en la gráfica 1 el porcentaje de hemólisis del mango fue el más bajo en comparación con el de la tuna (200 a 1000 ppm). Según la clasificación y los datos obtenidos por Mohamed, et al. (2011) la tuna se considera con baja actividad inflamatoria, mientras el Mango con alta actividad debido a que la membrana de los eritrocitos es similar a la membrana lisosomal y su estabilización implica que el extracto puede estabilizar las membranas lisosómicas, esto limita la respuesta inflamatoria evitando la liberación de enzimas bactericidas y proteasas que causan una mayor inflamación en los tejidos y una liberación extracelular.

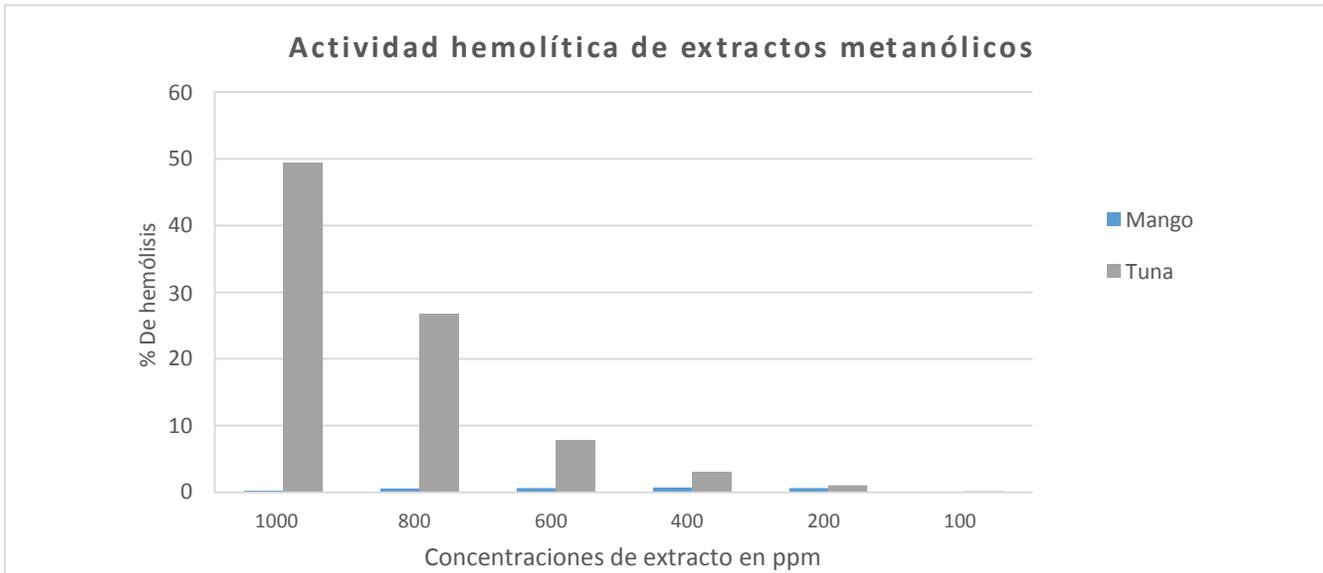


Figura 1. Porcentaje de hemólisis causado por los extractos de *Opuntia ficus-indica* y *Mangifera indica*

BIBLIOGRAFÍA

- Albarrán, G.; Mendoza, E.; Beltrán, J. M. 2014 .Influence of concentration on the radiolytic decomposition of thiamine, riboflavin, and pyridoxine in aqueous solution. *Rev Colomb Quim.* 43(3): 41-48.
- Amador, K., Martínez, F., Pérez, L, Ch'avez, N., Guevara, F., (2015) Effect of huitlacoche (*Ustilago maydis* DC Corda) paste addition on functional, chemical and textural properties of tortilla chips. *Food Sci. Technol, Campinas*, 35(3): 452-459.
- Arvanitoyannis S. y Varzakas H. 2008. Fruit/Fruit Juice Waste Management: Treatment Methods and Potential Uses of Treated Waste. *Waste Management for the Food Industries*: 569–628.
- Benites, J., Díaz, R., López, J., Gajardo S., Kusch, F., Rojas M. 2011. Actividad antioxidante y antibacteriana de seis cáscaras de frutos del oasis de Pica. *BIOFARBO*.
- Centurión, D., Espinosa, J., Mayo, A., Frías, A., & Velázquez, J. 2013. Evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos hexánicos de las inflorescencias de palmas comestibles de la Sierra de Tabasco, México. *Polibotánica*, (35), 133-142.
- Escobar B., Bautista, R., Pérez, G. 2010. Evaluación de la actividad antimicrobiana de cactáceas mexicanas *Hylocereus* sp. Y *Opuntia ficus*. *Memorias del VII. Encuentro Nacional de Biotecnología de IPN. Memorias. Mazatlán. México.* 12
- Gracia R.A. 2004. Evolución de la Industria Agroalimentaria Española en las dos últimas décadas. *Economía Industria*, 355(6): 197-200.
- López, M., Jimééz, A., Welti, Ch. 2012. Caracterización fitoquímica de cáscaras y semillas de tuna (*Opuntia ficus-indica*). XXXIII Encuentro Nacional y II Congreso Internacional AMIDIQ. Sn José del Cabo. Méxco.
- Martín-Belloso, O. 2009. Control of pathogenic and spoilage microorganism in fresh-cut fruit juices by traditional and alternative natural antimicrobials. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(3): 157-18.
- Martin-Luengo M.A., Yates M., Diaz M., Saez Rojo E., Gonzales Gil L. 2011. Renewable fine chemicals from rice and citric subproducts: *Ecomaterials. Applied Catalysis B: Environmental*, 106(3-4):488-493.
- Milena, S., Montoya, L., Orozco, F. (2008) Valorización De Residuos Agroindustriales – Frutas – En Medellín Y El Sur Del Valle De Aburrá, Colombia. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellin* 61(1):4422-4431.
- Mohamed, T., Azeem, A., Dilip. C., Sankar, C., Prasant, N., Duraisami, R. 2011. Anti-inflammatory activity of the leaf extracts of *Gendarussa vulgaris* Nees. *Asian Pac J Trop Biomed* 2011; 1(2): 147-149.
- Muchore, J., Takudzwa, M. (2013) Antibacterial Properties Of *Mangifera Indica* On *Staphylococcus Aureus*. *African Journal Of Clinical And Experimental Microbiology*. VOL 14(2).
- Salinas, S., Arteaga, R., León, R., Dorado, C.M. Valladares, M., y Navarro, G. 2009. "Antimicrobial activity of medicinal plants from the Huautla sierra biosphere reserve in Morelos (Mexico)". *Polibotánica*, 28: 213-225.
- Sánchez, E. 2012. Efecto de compuestos fotoquímicos sobre microorganismos de importancia en alimentos. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Siller, A., Álvarez, O., Aguilar, C., Rojas, R. 2013. Polifenoles de Cáscara de Mango (*Mangifera caesiavar. Ataulfo*): Una Alternativa var. *Ataulfo*): Una Alternativa Antioxidante y Antimicrobiana Vol 5 No 10.
- Vinjamuri, S., Chanker, D., Shreesha, R., Nagrajan, S. (2015) In vitro evaluation of hemolytic activity and cell viability assay of hexanoic extracts of *bridelia ferruginea* benth. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* Vol 4, Issue 07.