

PERFIL FENOLICO, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DE LA SEMILLA DE AIRAMPO (*OPUNTIA SOHERENSII*)

Reátegui Ochoa, Kevin^a; Ccanque Pacco, Isidro^a; Vega, Natalia^b; Silva Jaime, Marcial^a

a: Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Facultad de Industria Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina. Av. La Molina, Lima, Perú.

b: Empresa New Markets Latin America S.A.C.

Correo corresponsal: Kevin.reate.ochoa@gmail.com

RESUMEN

El género *Opuntia* es rico en polifenoles, debido a ello posee capacidad antioxidante y antimicrobiana. Se desconoce respecto a la semilla de ayrampo (*Opuntia soherensii*). El objetivo fue cuantificar e identificarlo el contenido fenólico, asimismo, comprobar si posee actividad antioxidante y antimicrobiana. Respecto a los compuestos fenólicos, su contenido es 11,02 GAE/g ayrampo, b.s y se identificó los siguientes compuestos: ácido gálico (5,17); catequina (18,25); epicatequina (2,82); rutina (0,32); quecertina (0,28) y kaemferol (0,33), todos expresados en mg/100g ayrampo b.s. Además, la actividad antioxidante es 61,02 Trolox equivalente/ g ayrampo, b.s y el extracto etanólico inhibe a la *Escherichia coli*, *Staphilococcus aureus* y *Bacillus cereus*. Los responsables de la inhibición serian el ácido gálico y la catequina al ser los únicos compuestos con actividad antimicrobiana documentada.

Palabras Claves: Opuntia, compuestos fenólicos, semilla, ácido gálico, catequina

PHENOLIC PROFILE, ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE AIRAMPO SEED (*OPUNTIA SOHERENSII*)

SUMMARY

The genus *Opuntia* is rich in polyphenols, because of this it has an antioxidant and antimicrobial capacity. It is unknown with respect to the ayrampo seed (*Opuntia soherensii*). The objective was to quantify and identify the phenolic content, also, verify

if it has antioxidant and antimicrobial activity. With respect to the phenolic compounds, their content is 11.02 GAE / g of ayrampo, b.s and the following compounds were identified: gallic acid (5,17); catechin (18.25); epicatechin (2.82); routine (0.32); Quecetin (0.28) and kaemferol (0.33), all expressed in mg / 100 g of ayrampo b.s. In addition, the antioxidant activity is 61.02 Trolox equivalent / g of ayrampo, b.s and the ethanolic extract inhibits *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. The responsible for the inhibition would be the gallic acid and the catechin, being the only compounds with documented antimicrobial activity.

Key Words: Opuntia, Phenolic compound, seed, gallic acid, catechin

INTRODUCCIÓN

El airampo (*Opuntia soherensii*) es una planta silvestre de la sierra central y sur, se distribuye por las zonas altas de Perú, Bolivia y Argentina. Pertenece al género *Opuntia*, es pariente de la tuna (*Opuntia ficus-indica*). Se la describe como una planta herbácea pequeña de tallos aplanados ovoides; cuyos frutos son pequeñas bayas rojas carnosas (Lock, 1994). Crece óptimamente entre los 1700 y 2500 m.s.n.m y un rango de temperatura de 17 a 23°C. Su fruto consiste en un conglomerado de semillas unidas por un tejido parenquimatoso, este tejido y estas semillas representan el 3,5 y 27,2% del peso total, respectivamente (Sarmiento, 2003). Se utiliza el fruto como colorante natural para postres y como medicina natural para combatir la fiebre, conjuntivitis, gastritis, antiinflamatorio, fatiga entre otros (Sarmiento, 2003).

La capacidad antioxidante de los frutos es altamente valorada para combatir males y enfermedades crónicas, se recomienda su consumo para disminuir su aparición (López, 2014). Mientras que la actividad antimicrobiana de diversas plantas se ha vuelto material de estudio como posible sustitución al empleo de antibióticos (Gyawali *et al.*, 2015). Frutos con alto contenido de polifenoles tiende a poseer ambas capacidades, mas no necesariamente en la misma proporción. El género *Opuntia* es rica en polifenoles, nutrientes y vitaminas (Stintzing & Carle, 2005). Trabajos anteriores han demostrado

que este género posee su capacidad antioxidante y antimicrobiana: el extracto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) ha demostrado actividad antimicrobiana para *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* entre otros, y se ha señalado que los compuestos fenólicos, entre ellos el ácido pinelico, podría ser los responsables de su actividad (Cristina *et al.*, 2019). La estructura química de los compuestos fenólicos, entre ellos, destaca los grupos (OH) y el anillo fenólico, confieren la actividad antimicrobiana y la capacidad antioxidante. Estas estructuras poseen la capacidad de dañar la membrana celular (Lima *et al.*, 2019). Estas evidencias corroboran sus propiedades curativa que se le presume a esta planta.

No existe información documentada respecto a la actividad antimicrobiana y los posibles responsables de esta actividad de la semilla de airampo. Si bien se ha comprobado la capacidad antioxidante de la pulpa de fruta. No se ha realizado una investigación respecto a la semilla. El fruto del airampo consiste en si en semillas unidas por un tejido, la semilla representa el 27,2% del peso seco del fruto (Sarmiento, 2003). Se ve necesario realizar una investigación sobre la semilla para esclarecer dudas.

PARTE EXPERIMENTAL

Muestra: La semilla de ayrampo fue recolectada en los mercados de la Victoria, Lima, Perú.

Determinación de compuestos fenólicos por HPLC: Los extractos fueron pasadas por un filtro Whatman 0,45 μm y luego inyectadas directamente al HPLC. La detección de rutina, quercetina, ácido elágico, y otros flavonoides en plantas fueron determinadas por HPLC bajo las condiciones cromatográficas del método propuesto por Lamuela-Raventós *et al.* (2010). El flujo fue de 1 mL/min y la fase móvil consistió de una mezcla de eluyente A (ácido fórmico al 2%) y eluyente B (acetonitrilo) bajo la siguiente condición de gradiente: A: 90% a 40% por 26 minutos, 40% a 10% por 4 minutos. La longitud de onda de monitoreo: $\lambda_{\text{monitoreo}}$: 254 nm.

Reactivo: El equipo utilizado fue Cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC) Elite LaChrom, bomba L-2130, detector DAD L-2455, Software EZChrom Elite Client/Server versión 3.2 y Columna HPLC: Purospher® STAR RP-18e, 250 mm x 4.6 mm x 5 µm.

Obtención del extracto: se empleó 200g de materia prima. Se secó y molió hasta obtener polvo fino. Se sumergió 100g de material seco en alcohol al 96 por 72 horas, mientras que otros 100g en agua destilada a baño maría a 80°C por 01 hora. Todo se realizó en una proporción de 1g_{muestra}: 10mL_{solvente}. Se centrifugo a 5000 rpm por 10 minutos y se filtró con papel whatman N° 2.

Obtención de cepa: se obtuvo las cepas de *E.coli*, *St. aureus*, *Bacillus cereus*, *Aspergillus niger* y *Saccharomyces cerevisiae* del Laboratorio de Microbiología de Calidad Total.

Preparación del inculo: Las bacterias se cultivaron en agar nutritivo por 24 horas a 37° C; mientras que los hongos se cultivaron en agar sauborand por 48 horas a 25° C. Se tomó colonias de las cepas cultivadas y se las diluyó en un tubo con solución salina al 0,85% hasta alcanzar la turbidez recomendada. Se logró cuando la absorbancia alcanzo un valor entre 0,09-0,13 a 625 nm para bacteria; mientras que para hongos, la absorbancia alcanzo entre 0,12-0,15 a 530nm.

Método de difusión en agar: Se colocó 100uL de inculo y se esparció en placas con agar Mueller-Hilton para las bacterias y agar Sauborand Dextrose para las levaduras y mohos. Se hizo seis hoyos con un sacabocado de 5mm de diámetro. Cuatros hoyos se llenaron con 50uL de extracto. Mientras que uno se llenó con agua y otro con alcohol. Se incubo por 24 horas para bacterias y 48 horas para hongos; se midió el halo de inhibición.

Método de microdilución en caldo: Se llenó con 90uL caldo Mueller-Hilton a los 96 pocillos de la placa. A la segunda columna, se le añadió 90uL de extracto y a partir de esta se realizó diluciones seriadas hasta la columna 11. Posteriormente, se añadió 10uL de inculo de 10⁶ UFC/mL desde la columna 2 hasta la 12. Se incubo a 37°C por 24 horas y se determinó la concentración mínima inhibitoria visualmente.

RESULTADOS Y DISCUSION

Tabla 1. Contenido de fenoles en semilla de ayrampo

Compuestos fenólicos totales	
Ayrampo	11,02 ± 0.39 GAE/g ayrampo, b.s

Tabla 2. Capacidad antioxidante en semilla de ayrampo

Capacidad antioxidante	
Ayrampo	61,02 ± 1.83 Trolox equivalente/ g ayrampo, b.s

De acuerdo a la Tabla 1, el contenido de compuestos fenólicos se halla dentro del rango entre 9,1- 16,51mgGAE/g (Christina *et al.*, 2019). Asimismo, el valor de contenido fenólicos y capacidad antioxidante supera al valor de la tuna, tomate, miel y aguacate (Moreno *et al.*, 2014; Muñoz *et al.*, 2014). Estos resultados demuestran que la semilla de ayrampo posee un alto contenido de fenoles y posee capacidad antioxidante significativa. Esto podría ayudar a impulsar su uso en la preparación de bebidas u postres. Los compuestos fenólicos posee la capacidad de neutralizar los radicales libres, causante de la aparición de enfermedades crónicas (López, 2014).

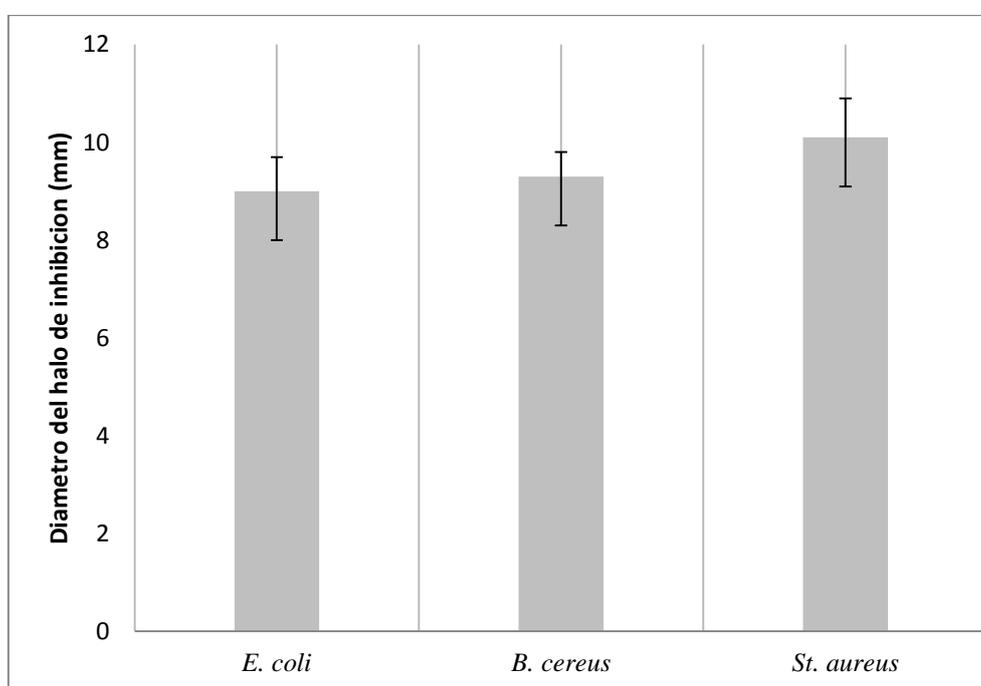


Figura 1. Actividad antimicrobiana del extracto

Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria del extracto

Extracto	Microorganismo	<i>E.coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>St. aureus</i>
Etanólico(mg/mL)		16±	16±	8±

De acuerdo a la Figura 1 y Tabla 3; el extracto etanólico presenta capacidad antimicrobiana para *E.coli*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*, mientras que el extracto acuoso no. Se corrobora los resultados obtenidos por Polo (2014). En este caso, los diámetros del halo de inhibición supera los 8mm, se puede clasificar como moderada (Mothana y Lindequist; 2005). Asimismo, se puede atribuir su capacidad antimicrobiana a los compuestos fenólicos; el etanol facilita su extracción a comparación de los demás solventes, específicamente, los flavonoles y ácidos fenólicos (Cowan, 1999). Los grupos hidroxilo (OH) de estos dos últimos están asociados a la capacidad antimicrobiana reportada en varios extractos (Wafa *et al.*, 2017).

Por otro lado, se puede observar que un mayor diámetro del halo de inhibición en las bacterias gram-positiva que las gram negativa, es decir, el extracto suele ser más efectivo frente a las bacterias gram-positivas, esto concuerda con varios trabajos (Guimarães *et al.*, 2010). Se ha reportado que la causa principal se debe a la fuerte electronegatividad de la membrana externa de las gram negativas que debilita las interacciones con los grupos hidroxilo y por lo tanto, disminuye la capacidad de disrupción de la membrana celular de estos grupos (Wafa *et al.*, 2017).

Se procedió a determinar la concentración mínima inhibitoria para las tres cepas, se halló que una concentración de 16 mg/mL es suficiente para inhibir el crecimiento bacteriano de las tres cepas, para *St. aureus* solo es necesario 8 mg/mL (Tabla 3). Estos valores está dentro de rango de 2,5-18,75 mg/mL reportado por Christiana *et al.* (2019) para el género *Opuntia*. Por otra parte, Polo (2014) menciona que el extracto de la pulpa de airampo presenta un rango de 25-50 mg/mL para inhibir *E.coli* y *St. aureus*. La diferencia con los resultados obtenidos radican en el empleo de la semilla, esta concentra una mayor cantidad de compuestos, por ende, se extrajo una mayor cantidad de compuestos químicos y se requirió un menor dosis para obtener resultado similares (Bedascarrasbure *et al.*, 2004; Moulehi *et al.*, 2012).

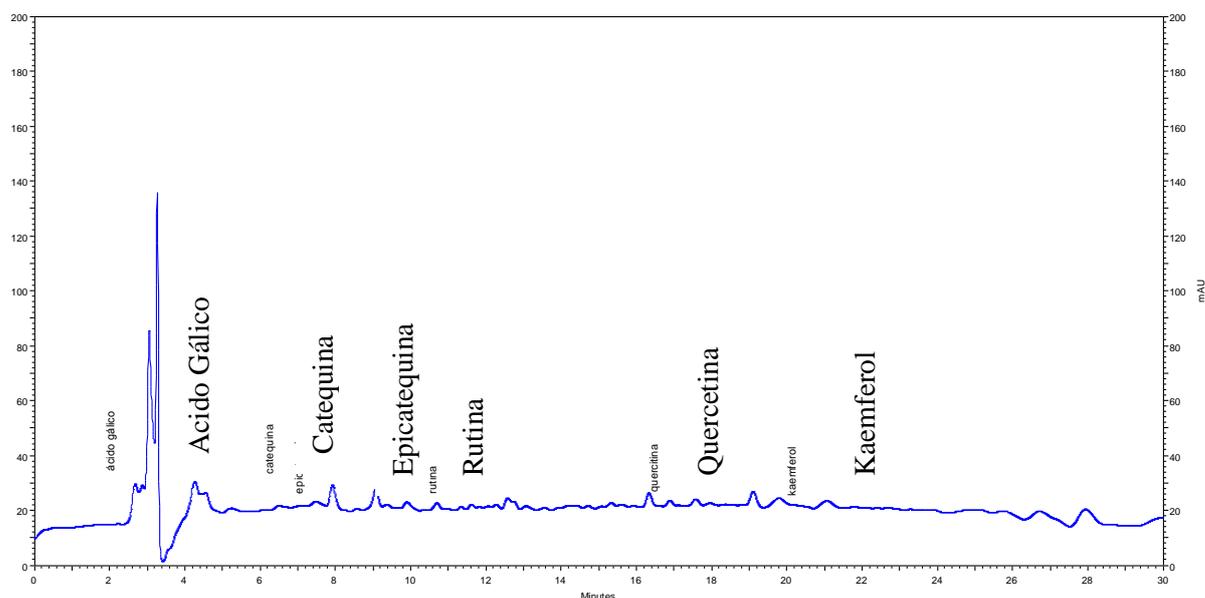


Figura 2. Cromatograma HPLC del extracto de airampo

Tabla 4. Concentración de compuestos fenólicos en el extracto de airampo

Compuesto	Contenido (mg/100g ayrampo b.s)
Ácido gálico	5,17±0,17
Catequina	18,25±0,25
Epicatequina	2,82±0,05
Rutina	0,32±0,01
Quercetina	0,28±0,01
Kaempferol	0,33±0,01

Examinado la Figura 2, se identificó el ácido gálico, catequina, epicatequina, rutina, quercetina y kaempferol. De acuerdo a la Tabla 4, el extracto de airampo presenta el ácido gálico y la catequina en mayores cantidades a comparación de los demás compuestos. Resulta interesante hallar ácido gálico, quercetina, catequina y epicatequina; un trabajo anterior en plantas del genero *Opuntia*, no se halló ninguno de esos cuatros compuestos, al ser especies diferentes y lugares distintos los compuestos de las plantas pueden variar significativamente (Christiana *et al.*, 2019; Bedascarrasbure *et al.*, 2004)

Se presume que los compuestos fenólicos hallados son los responsable de la inhibición de las bacterias, se ha reportado que la presencia de los grupos OH y el anillo fenólico

de los compuestos fenólicos está asociada a la capacidad antimicrobiana del extracto (Wafa *et al.*, 2017). De los seis compuestos, solo el ácido gálico, la quercetina y la catequina posee actividad antimicrobiana (Velásquez-Zavala *et al.*, 2016). Esto se refuerza si se tiene en cuenta que se ha demostrado que el ácido gálico, la catequina y quercetina son efectivas para las cepas de *E.coli* y *Staphylococcus aureus* (Sanhueza *et al.*, 2017; Díaz-Gómez *et al.*, 2014). Además, Christiana *et al.* (2019) comprobó la presencia de ácido pinelico, rutina y kaemferol en frutas del género *Opuntia*. De estas tres, el ácido pinelico posee capacidad antimicrobiana por ser un ácido, se descartó la rutina y el kaemferol como posibles responsables.

Analizando los resultados obtenidos, se puede sugerir que el ácido gálico y la catequina como principal responsable de la actividad antimicrobiana, ya que ambos están presentes en grandes cantidades y son considerados antibacterianos (Velásquez-Zavala *et al.*, 2016). Se sugieren mayores investigaciones sobre el extracto de airampo. Se necesita identificar que otros componentes se hallan en el extracto y que propiedades estas podría tener.

CONCLUSIONES

- El contenido de fenoles totales es 11,02 GAE/g ayrampo, b.s.
- Se identificó los siguientes compuestos: ácido gálico (5,17); catequina (18,25); epicatequina (2,82); rutina (0,32); quercetina (0,28) y kaemferol (0,33), todos expresados en mg/100g ayrampo b.s.
- La actividad antioxidante es 61,02 Trolox equivalente/ g ayrampo, b.s.
- El extracto etanólico inhibe a la *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*.

AGRADECIMIENTOS

Se dedica especiales agradecimientos al proyecto de Innovate Perú 046-FIDECOM-INNOVATEPERU-PIMEN-2017 que permitió el financiamiento de esta investigación.

BIBLIOGRAFIA

- Bedascarrasbure, E.; Mmaldonado, L.; Alvarez, A. & Rodríguez E. 2004. Contenido de Fenoles y Flavonoides del Propoleos Argentino. *Acta Farm. Bonaerense* 23 (3):369-72
- Christiana Eleojo Aruwa, Stephen Amoo, Tukayi Kudanga. 2019. Phenolic compound profile and biological activities of Southern African *Opuntia ficus-indica* fruit pulp and peels, *LWT*, Volume 111, 2019, Pages 337-344, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.028>.
- Coman, M. M A.M. Oancea, M.C. Verdenelli, C. Cecchini, G.E. Bahrim, C. Orpianesi, A. Cresci, S. Silvi, 2018. Polyphenol content and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial and prebiotic properties of red fruit extracts, *Eur. Food Res. Technol.* 244 (2018) 735–745. doi:10.1007/s00217-017-2997-9.
- Díaz-Gómez, R., H. Toledo-Araya, R. López-Solís, E. Obreque-Slier, 2014. Combined effect of gallic acid and catechin against *Escherichia coli*, *LWT - Food Sci. Technol.* 59 (2014) 896–900. doi:10.1016/j.lwt.2014.06.049.
- Jorge, P & Troncoso, Luzmila. 2016. Capacidad antioxidante del fruto de la *Opuntia apurimacensis* (ayrampo) y de la *Opuntia ficus-indica* (tuna). *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(2), 105-109. <https://dx.doi.org/10.15381/anales.v77i2.11812>
- Lima. M.C, C. Paiva de Sousa, C. Fernandez-Prada, J. Harel, J.D. Dubreuil, E.L. de Souza. 2019. A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria, *Microbial Pathogenesis*, Volume 130, 2019, Pages 259-270, ISSN 0882-4010, <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.03.025>.
- Lock de Ugaz O. 1994. Investigación fitoquímica. Método en el estudio de productos naturales. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima; 1994:8-10.
- López A. 2014. Efecto del zumo de mandarina sobre el estrés oxidativo: estudio experimental y en patologías mediadas por radicales libres [Tesis Doctoral]. Valencia – España: Universidad de Valencia; 2014: 287 pp.
- Moreno, E; Ortiz, Blanca L.; Restrepo, Luz P.. Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales. **Revista Colombiana de Química**, [S.l.], v. 43, n. 3, p. 41-48, sep. 2014. ISSN 2357-3791.
- Mothana, R. & Lindequist, U. 2005. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 96, n. 1-2, p. 177-181, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.006>. PMID:15588668.
- Moulehi, I; Bourgou, S; Ourghemmi, I & Tounsi, M. 2012. Variety and ripening impact on phenolic composition and antioxidant activity of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) and bitter orange (*Citrus aurantium* L.) seeds extracts. *Industrial Crops and Products*, v. 39, n. 1, p. 74-80, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.02.013>

Muñoz Jáuregui, Ana María, Alvarado-Ortíz Ureta, Carlos, Blanco Blasco, Teresa, Castañeda Castañeda, Benjamín, Ruiz Quiroz, Julio, & Alvarado Yarasca, Ángel. 2014. Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 80(4), 287-297.

Oliveira, Flávia Cíntia de, Marques, Tamara Rezende, Machado, Gustavo Henrique Andrade, Carvalho, Thaís Cristina Lima de, Caetano, Aline Aparecida, Batista, Luis Roberto, & Corrêa, Angelita Duarte. 2018. Jabuticaba skin extracts: phenolic compounds and antibacterial activity. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21, e2017108. Epub May 17, 2018. <https://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.10817>

Polo, H. 2014. Efecto antibacteriano y antifúngico comparativo de los extractos acuosos *del Zea mays L, Rubus glaucus, Opuntia soherensii* y diseño de un gel de limpieza cutánea. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional San Marcos. Perú. Pág. 85.

Repo de Carrasco, Ritva, & Encina Zelada, Christian René. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 74(2), 108-124.

Sanhueza, L., Melo, R., Montero, R., Maisey, K., Mendoza, L., & Wilkens, M. 2017. Synergistic interactions between phenolic compounds identified in grape pomace extract with antibiotics of different classes against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *PloS one*, 12(2), e0172273. doi:10.1371/journal.pone.0172273

Sarmiento VH. 2003. Estabilidad Físicoquímica y Actividad antioxidante de las Betalainas en el Extracto hidrosoluble del Ayrampo (*Opuntia soehrensii*) durante el proceso de Atomizado. [Tesis para Optar el Grado de: Magister Scientiae]. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima - Perú.

Stintzing F C., Carle R. 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. *Mol. Nutr. Food Res.* 49: 175 – 194

Velázquez-Zavala, M, Peón-Escalante, I., Zepeda-Bautista, R, & Jiménez-Arellanes, M. 2016. Moringa (*Moringa oleifera* Lam.): potential uses in agriculture, industry and medicine. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 22(2), 95-116. <https://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2015.07.018>

Wafa B. A, M. Makni, S. Ammar, L. Khannous, A. Ben Hassana, M. Bouaziz, N.E. Es-Safi, R. Gdoura, 2017. Antimicrobial effect of the Tunisian Nana variety *Punica granatum L.* extracts against *Salmonella enterica* (serovars Kentucky a Enteritidis) isolated from chicken meat and phenolic composition of its peel extract, *Int. J. Food Microbiol.* 241 (2017) 123–131. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.007.