

20. Productos Naturales Bioactivos y sus Aplicaciones
**Actividad Antibacteriana y Antioxidante de Extractos de Pulpa y Cáscara de
*Diospyros kaki***

Calderón, Valeska; valeskacalderonf@gmail.com ; Díaz, Katy; katy.diaz@gmail.com ; Jara, Carlos; carlos.jara@uv.com ; Madrid, Alejandro; alejandro.madrid@upla.cl

Facultad de Ciencias Naturales y Exactas

Universidad de Playa Ancha

Resumen

Diospyros kaki, conocido popularmente como “caqui”, es una especie originaria de Asia. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad antioxidante y antibacteriana del fruto de *Diospyros kaki*. La muestra fue obtenida en la ciudad de Nogales, Región de Valparaíso, Chile. Fue separada en pulpa y cáscara, a partir de éstas se obtuvieron los extractos etanólicos. En primer lugar se determinó el contenido de fitoconstituyentes (fenoles, flavonoides y antraquinonas). Además, se determinó la capacidad antioxidante mediante ensayos de DPPH y TRAP. Para determinar la capacidad antibacteriana se realizaron ensayos de concentración mínima de inhibición antibacteriano (CMI), en diferentes bacterias (*Basilus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas syringae*). Se observó que el extracto etanólico de pulpa fue más activo como agente antioxidante en todos los ensayos realizados con valores de CI_{50} de 5,43 frente al extracto de cáscara 6,10 respectivamente contra DPPH. Por otra parte, el extracto de pulpa de caqui presentó una mayor capacidad de inhibición bacteriana para las *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, con una CMI de 800 ppm y un porcentaje de inhibición mayor a 80% para ambas bacterias. La cantidad de antraquinonas se relaciona fuertemente con la actividad antibacteriana. Los resultados presentados muestran que la fruta podría ser útil como fuente de agente antioxidante, antibacteriano y de productos nutraceuticos. Promoviendo a su vez el consumo, producción y exportación de este fruto.

Palabras clave: *Diospyros kaki*, Actividad Antioxidante, Actividad Antibacteriana, Fitoconstituyentes.

Introducción

El estrés oxidativo es un desequilibrio entre el sistema de defensa antioxidante y la formación de especies reactivas al oxígeno. Existen estudios que demuestran que es un riesgo para las membranas celulares y el ADN, además de la peroxidación de los lípidos de la membrana y de esta forma reducir la fluidez de ésta (Finkel y Holbrook, 2000; Melov et al, 2000). Otra consecuencia son las enfermedades que se pueden producir, incluyendo la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y enfermedades cardíacas.

Hoy en día existe un consumo elevado de antioxidantes artificiales, pero estudios demuestran que son perjudiciales a lo largo de la vida, ya que pueden acumularse en el hígado u otros órganos (valentão et al, 2002;. Luo y Fang, 2008).

Es por esto que los antioxidantes naturales son considerados grandes alimentos funcionales que son capaces de aportar muchos beneficios a nuestro organismo, como por ejemplo el alivio de la peroxidación de los lípidos (Scherer y Godoy, 2009). Además, no son nocivos para el organismo

El caqui (*Diospyros kaki*) pertenece a la familia de las Ebenáceas. Es originario de Asia, muy cultivado en extremo oriente, se

consumen en fresco o desecados y constituyen un importante recurso alimenticio y retardar muchas enfermedades crónicas como la parálisis y para las hemorrageas (Carbó & Vidal, 1976).

Es necesario mencionar que hay algunos informes que han afirmado que la diferenciación de osteoblastos es inhibida por el estrés oxidativo (Mody et al., 2001), por esta razón los antioxidantes pueden ser grandes rehabilitadores de la complicada enfermedad de la osteoporosis.

Existen estudios de fitoconstituyentes y de actividad antioxidante sobre las hojas de *Diospyros kaki* dando resultados importantes. (Sun, 2011). Sin embargo, no existen investigaciones relacionadas al fruto como tal, órgano que se encuentra directamente relacionado con el consumidor. En el presente trabajo se realizará un estudio antioxidante y antibacteriano de la pulpa y de la cáscara de *D. kaki*.

Objetivos

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad antioxidante y antibacteriana de los extractos etanólicos de cáscara y pulpa del fruto de *D. kaki*.

Materiales y Métodos

Muestra: La muestra fue recolectada en Nogales, ciudad de Valparaíso, Chile. Las

frutas fueron separadas en pulpa y cáscara

y

se obtuvieron los extractos etanólicos de ambos órganos.

Determinación de Fitoconstituyentes

Totales: Se midieron los siguientes fitoconstituyentes: fenoles, flavonoides y antraquinonas.

Ensayo Antioxidantes: Se midió la capacidad antioxidante mediante los siguientes métodos espectroscópicos:

- DPPH distribuidos en diferentes concentraciones, utilizando la concentración inhibitoria media (CI_{50})
- Capacidad antioxidante total. (TRP). Distribuidos en diferentes concentraciones y utilizando la capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC).

Ensayo Antibacterianos: A partir de bacterias ATCC se replicaron en un medio de cultivo Agar de Papa Dextroza Agar (APD) durante 48 hrs a 27° C para obtener cultivos puros de las bacterias. Posteriormente se prepararon soluciones madre de 20 mg de cada extracto en 500 mL DMSO, por separado. Luego se realizaron las soluciones seriadas de cada extracto 1600ppm, 800ppm, 400ppm, 200ppm, 100ppm, 50ppm y 25ppm. Finalmente, se realizaron ensayos

de concentración mínima de inhibición antibacteriano (CMI) para cada una de las bacterias.

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se aprecian los resultados del contenido de fitoconstituyentes totales (fenoles, flavonoides y antraquinonas) de extractos etanólicos provenientes de *Diospyros kaki* (Caqui)

Tabla 1. Estimación de Fitoconstituyentes totales de extractos etanólicos provenientes de *Diospyros kaki* (Caqui)

Muestra	Fenoles (GAE mg/L)	Flavonoides (QE mg/L)	Antraquinonas (EE mg/L)
Pulpa Caqui Etanol	5,125 ± 0,172	16,42 ± 0,86	12,28 ± 0,60
Cáscara Caqui Etanol	5,491 ± 0,047	17,04 ± 0,77	11,78 ± 0,23

El extracto etanólico de cáscara de Caqui presenta una mayor cantidad de flavonoides (17,04 mg/L) frente al extracto etanólico de pulpa de Caqui (16,42 mg/L), éste coincide también con la menor cantidad de fenoles totales (5,12 mg/L) frente al extracto de cáscara (5,49). Sin embargo, en cuanto al contenido de antraquinonas, es posible afirmar que se encuentra en mayor cantidad en el extracto de pulpa (12,28 mg/L) frente al extracto de cáscara (11,78 mg/L)

En la tabla 2 se presenta la actividad antioxidante de los extractos del fruto de *Diospyros kaki*.

Tabla 2. Actividad antioxidante de extractos etanólicos provenientes del fruto de *Diospyros kaki* (Caqui)

Muestra	DPPH• Cl ₅₀ (mg·mL ⁻¹)	TRAP TEAC (mM)
Pulpa Caqui Etanol	5,43 ± 0,38	0,0022 ± 0,001
Cáscara Caqui Etanol	6,10 ± 0,45	0,0025 ± 0,0005
TROLOX®	0,10 ± 0,005	–
Ácido gálico	–	0,11 ± 0,01

En el ensayo de DPPH Se logra apreciar que el extracto de pulpa posee una mayor capacidad antioxidante con un valor de Cl₅₀ de 5,43 mg·mL⁻¹ frente al otro órgano con un valor de 6,10 mg·mL⁻¹.

En el ensayo de TRAP con un valor TEAC de 0,0025 mM para cáscara frente a 0,0022 mM para pulpa.

La cantidad de compuestos antioxidantes se relaciona claramente con la actividad antioxidante ya que es determinante la presencia de sustancias multifuncionales como los fenoles y flavonoides (ROJANO, et. al, 2005).

En la tabla 3 se puede observar la capacidad antibacteriana de los extractos estudiados.

Se realizó un ensayo de concentración mínima de inhibición.

Tabla 3. Mínima Concentración Inhibitoria (CMI) de extractos etanólicos provenientes de *Diospyros kaki* (Caqui) frente a distintas bacterias patógenas.

Bacterias patógenas	CMI (mg·mL)	
	PulpaCaqui Etanol	Cáscara Caqui Etanol
<i>Bacillus subtilis</i>	1600	1600
<i>Escherichia coli</i>	800	1600
<i>Listeria monocitogenes</i>	1600	>1600(ND)*
<i>Staphylococcus aureus</i>	800	1600
<i>Pseudomonas syringae</i>	1600	1600

* >1600ND: No se observó inhibición. Es posible que la inhibición se encuentre en una concentración más alta.

La parte con mejor respuesta es la pulpa frente a diferentes bacterias, con valores de CMI de 800 ppm frente a *Escherichia coli*, con un porcentaje de inhibición de 96% y frente a *Staphylococcus aureus* con una CMI de 800 ppm con un 87% de inhibición. Respecto a las tres bacterias restantes estudiadas presentan una CMI de 1600 ppm con porcentajes de inhibición de 50% para *Bacillus subtilis*, 95% para *Listeria monocitogenes* y 74% para *Pseudomonas*

syringae.

En cuanto el extracto de cáscara posee una CMI de 1600 ppm frente a todas las bacterias, pero con porcentajes de inhibición de 54% para *Bacillus subtilis* 81% para *Escherichia coli*, 65% para *Staphylococcus aureus* y 81% para *Pseudomonas syringae*. Para para *Listeria monocitogenes* no se determinó, se espera que la CMI sea más alta.

Los resultados observados en ensayo de actividad antibacteriana se relacionan directamente con los resultados de fitoconstituyentes totales (antraquinona). En ambos se determina el extracto etanólico de pulpa con mayor actividad.

Esto podría deberse a que en la pulpa del fruto de *Diospyros kaki* se concentra la mayor cantidad de antraquinonas, teniendo en cuenta que éstas, tienen una gran capacidad antibacteriana (Saavedra, et.al, 2012).

A su vez La cantidad de fitoconstituyentes totales se relaciona también de manera importante con la maduración del fruto, teniendo en cuenta que existe la posibilidad de generar una disminución de la capacidad antioxidante a mayor cantidad de azúcares totales en el fruto, en relación a la maduración de éste y generar que los fitoconstituyentes se adhieran a los azúcares presentes, generando una disminución en la actividad antioxidante tal

como ocurrió en platanos (Goldstein & Swain, 1963).

La pigmentación es otro de los factores influyentes en la cantidad de fitoconstituyentes y la capacidad antioxidante. *D. kaki* es un importante portador de antocianinas (Mendonça, et. al, 2015) y es posible que la cantidad de fenoles y flavonoides se adhieran también a cadenas de antocianinas y no generar antioxidación tal como ocurrió en frutas de guayaba (Bashir y Abu-Goukh, 2003).

Conclusiones

La cantidad de compuestos antioxidantes se relaciona fuertemente con la actividad antioxidante ya que es determinante la presencia de sustancias multifuncionales como los fenoles y flavonoides (Rojano, et. al, 2005). Influyendo de manera importante factores que se han evidenciado en otros estudios como la pigmentación y la maduración

Existiendo a su vez una relación de estos fitoconstituyentes con la actividad antibacteriana para las bacterias estudiadas.

A partir de los resultados presentados es posible afirmar que este fruto podría ser útil como fuentes antioxidantes, antibacterianas y nutraceuticas para distintas enfermedades. Promoviendo de esta forma el consumo interno y la exportación de éste.

Bibliografía

1. Bashir, H. A., & Abu-Goukh, A. B. A. (2003). Compositional changes during guava fruit ripening. *Food Chemistry*, 80(4), 557-563.
2. Carbó Gómez, A., & Vidal, M. O. (1976). El caqui (No. Folleto 5438).
3. Finkel, T., Holbrook, N.J., 2000. Oxidant, oxidative stress and biology of ageing. *Nature* 408, 239–247.
4. Goldstein, JL, y Swain, T. (1963). Cambios en los taninos en frutas maduras. *Phytochemistry* , 2 (4), 371-383.
5. Luo, D.H., Fang, B.S., 2008. Structural identification of ginseng polysaccharides and testing of their antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers* 72, 376– 381.
6. Melov, S., Ravenscroft, J., Malik, S., Gill, M.S., Walker, D.W., Clayton, P.E., et al., 2000. Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics. *Science* 289, 1567–1569.
7. Mendonça, V. Z. D., Daiuto, É. R., Furlaneto, K. A., Ramos, J. A., Fujita, E., Vieites, R. L., ... & Carvalho, L. R. D. (2015). Aspectos físico-químicos e bioquímicos durante o armazenamento refrigerado do caqui em atmosfera modificada passiva. *Nativa*, 16-21.
8. Mody, N., Parhami, F., Saraflan, T.A., Demer, L.L., 2001. Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells. *Free Radical Biology and Medicine* 31, 509–519.
9. ROJANO B., MONSALVE C. E., DOMINGUEZ K., YANEZ I., LONDOÑO V., CARDONA P., ZAPATA M. (2005) Actividad antioxidante de frutas tropicales. VIII congreso colombiano de Fitoquímica.
10. Saavedra, F., López, B. C., Yrei, V. J., Gallardo, G. C., Ale, N., & Gordillo, G. (2012). Actividad antibacteriana y fungicida de las antraquinonas de Aloe vera L. combinadas con cationes cobre, hierro, plata y bismuto. *Cien Invest*, 15(1), 30-35.
11. Scherer, R., Godoy, H.T., 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* 112, 654–658.
12. Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L., y Zhang, Y. (2011). Evaluación de la actividad antioxidante del extracto total

de flavonoides de hojas de caqui (*Diospyros kaki* L.). Food and Chemical Toxicology , 49 (10), 2689-2696.

13. Valentao, P., Fernandes, E., Carvalho, F., Andrade, P.B., Scabra, R.M., Bastos, M.L., 2002. Antioxidative properties of cardoon (*Cynara cardunculus* L.) infusion against superoxide radical, hydroxyl radical, and hypochlorous acid. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50, 4989–4993



Asociación de Universidades
GRUPO MONTEVIDEO



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

