

**TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICO Y ETÉREO DE LA
SEMILLA DE *Mammea americana* DE ECUADOR
PHYTOCHEMICAL SCREENING AND EVALUATION OF ANTIMICROBIAL
ACTIVITY OF ALCOHOLIC AND ETHEREAL EXTRACTS OF AMERICAN
MAMMEA SEED FROM ECUADOR**

Patricia Manzano¹, Tulio Orellana¹, David Catagua¹, Karen Viteri¹, Elisa Cedeño¹, Omar Ruiz¹,
Esther Peralta¹

¹Centro de Investigaciones Biotecnológicas de la ESPOL (CIBE). Escuela Superior Politécnica del Litoral
(ESPOL) Km. 30.5 Vía Perimetral, Campus Prosperina, Apartado: 09-01-5863.
Fax: (593-4) 2 854629. Guayaquil – Ecuador
Contacto: manzanopatricia@hotmail.com

Resumen

En el presente trabajo investigativo se muestran los resultados del tamizaje fitoquímico y la evaluación del estudio de inhibición antimicrobiana de los extractos obtenidos de la almendra y policarpo de la semilla de *Mammea americana* L (Mamey Cartagena) del Ecuador. Los procesos de secado y molido se realizaron por el método de Martínez (2000); el tamizaje fitoquímico por el método de Miranda y Cuéllar (2000), mientras que la actividad inhibitoria se ensayó mediante la prueba de sensibilidad por difusión con discos (Winn, 2008). En el análisis estadístico para comprobar la normalidad de los resultados obtenidos se utilizó el test de Shapiro-Wilks y Kruskal-Wallis para determinar diferencias estadísticas entre los rangos de los tratamientos. En el tamizaje fitoquímico se determinó la presencia de los siguientes compuestos químicos: aceites/grasas; alcaloides; flavonoides; quinonas; saponinas; lactonas; azúcares/reductores y taninos. El extracto alcohólico mostró inhibición frente a *Pseudomonas* spp, *Salmonella* spp y *E. Coli*; y, el extracto etéreo inhibió *E.coli*. Estos resultados son los primeros informados para la especie ecuatoriana, lo que conlleva a la elaboración de una línea base sólida para estudios posteriores.

Palabras claves: *Mammea americana*, *Pseudomonas* spp, *Salmonella* spp, *E. Coli*.

Abstract

In this paper the results of the phytochemical screening and evaluation of antimicrobial inhibition study of extracts obtained from almond and seed policarpo American *Mammea* L (Mamey Cartagena) of Ecuador are shown. The dried and milled processes were performed by the method of Martínez (2000), the phytochemical screening by the method of Miranda and Cuéllar (2000), while the inhibitory activity was assayed by susceptibility testing by disk diffusion (Winn, 2008). In the statistical analysis to test the normality of the results, Shapiro-Wilks test and Kruskal-Wallis test were used to determine statistical differences between treatments ranges. The phytochemical screening indicated the presence of the following chemicals: oils / fats, alkaloids, flavonoids, quinones, saponins, lactones, sugars / reducers and tannins. The alcoholic extract showed inhibition against *Pseudomonas* spp, *Salmonella* spp and *E. Coli*, and the ether extract inhibited *E.coli*. These results are the first reported for the Ecuadorian species, leading to the development of a solid baseline for further studies.

Keywords: American *Mammea*, *Pseudomonas* spp, *Salmonella* spp, *E. Coli*.

Introducción

Mammea americana pertenece a la familia Clusiaceae (o Guttiferae), probablemente originario de las Antillas, conocido en Centroamérica, norte de Sudamérica y actualmente se cultiva también en otras áreas tropicales y húmedas del mundo¹. Fruta exótica de agradable sabor, aroma, fuente de vitaminas A y C, con un elevado contenido de carotenoides².

En el Ecuador se conoce como mamey Cartagena, siendo las zonas del cantón Chone en la provincia de Manabí; y los cantones Yaguachi, Milagro, Balzar, Mocache y Palenque de la Provincia de Guayas, lugares donde más predomina esta especie que por falta de cultivo está en peligro de desaparecer.

Los usos en medicina popular han incluido el tratamiento de las infecciones del cuero cabelludo, diarrea, problemas oculares y digestivos. El látex extraído de la corteza, fruta verde y de las infusiones de las semillas pulverizadas es utilizado como insecticidas para eliminar las garrapatas y las niguas en animales domésticos y en los humanos (Morton, 1987; Rojas y Chávez, 2007).

De la especie se reportan compuestos con actividad insecticida en las hojas, raíz, y tallos (Pino, 2007); en las semillas presencia de los compuestos: 2-Hydroxyxanthone (Finnegan 2006), cumarinas y sus derivados con actividad antitumoral (Finnegan " 2006); se incluyen además estudios sobre la caracterización de la cera del aceite de *M. americana* (Finnegan, 2006).

Teniendo en cuenta estos antecedentes en la presente investigación se propone determinar cualitativamente los principales compuestos químicos y evaluar la actividad

antimicrobiana de los extractos de la semilla (policarpo y almendra) de *Mammea americana* de procedencia ecuatoriana para el mejor aprovechamiento de los desechos de esta fruta, como un potencial fitofármaco.

Materiales y Métodos

Se trabajó con la almendra y endocarpo de las semillas *Mammea americana* L (Mamey Cartagena), adquiridas al medio día dentro del mercado mayorista, ubicado en la ciudad de Guayaquil en el mes de marzo del 2009 y herborizada con el código CIBE003, dentro del CIBE-ESPOL.

El secado del material vegetal se realizó en estufa con circulación de aire a temperatura de 45° C por 24 horas. Posteriormente se pulverizaron en un molino de cuchillas y se tamizó, recolectando la fracción que permaneció en el tamiz de 2 mm de diámetro (Martínez, 2000).

El tamizaje fitoquímico se realizó a partir de la droga cruda usando solventes de polaridad creciente como éter de petróleo grado analítico, alcohol de 96,4% y agua destilada Tipo II, siguiendo lo descrito por Miranda y Cuéllar (2000).

Se midió la capacidad inhibitoria de los extractos alcohólicos y etéreos de *M. americana* frente a cepas de *Pseudomonas* spp, *Salmonellas* spp y *E. coli* aisladas y preservadas en el área de microbiología del CIBE-ESPOL, mediante la prueba de sensibilidad por difusión con discos (Winn, 2008).

Se aplicó la prueba de Shapiro Wilks, determinándose la ausencia de normalidad de los datos analizados (valor $p < 0.05$) y se efectuó pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis para determinar diferencias estadísticas entre los rangos de los tratamientos. Se realizaron las comparaciones entre cada tratamiento (Producto + Extracto + Microorganismo); además de las

¹ http://es.wikipedia.org/wiki/Mammea_americana

² http://www.elcomercio.com/agromar/mamey_0_589141248.html

comparaciones entre Producto + Extracto, particionado por Microorganismos.

Tabla I. Resultados del Tamizaje fitoquímico de los extractos etanólico, alcohólico y acuoso de la almendra y endocarpo de las semillas del *Mammea americana*.

| Metabolitos | Método | Extracto etéreo | | Extracto alcohólico | | Extracto acuoso | |
|--------------------------|---------------------|-----------------|-----------|---------------------|-----------|-----------------|-----------|
| | | Almendra | Endocarpo | Almendra | Endocarpo | Almendra | Endocarpo |
| Alcaloides | Dragendorff | - | - | ++ | ++ | + | + |
| | Wagner | - | - | +++ | ++ | + | ++ |
| | Mayer | - | - | + | - | + | + |
| Flavonoides | Shinoda | | | + | - | - | - |
| | Catequinas | | | - | - | | |
| | Antocianidinas | | | vestg | - | | |
| Saponinas | Espuma | | | + | - | - | + |
| Mucilagos | Mucilagos | | | | | - | - |
| Taninos | Cloruro Férrico | | | | | + | + |
| Azúcares reductores | Fehling | | | + | + | + | + |
| Aceites & grasas | Sudan | + | + | | | | |
| Lactonas | Baljet | - | - | + | - | | |
| Triterpenos & esteroides | Lieberman & Buchard | - | - | - | - | | |
| Aminoácidos | Ninhidrina | | | - | - | | |
| Quinonas | Borntrager | | | + | + | | |
| Resinas | | | | - | - | | |

Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos en el Tamizaje fitoquímico realizados a la almendra y endocarpo de las semillas de *M. americana* se presentan en la tabla I.

Los alcaloides y azúcares reductores son los compuestos de mayor presencia en los extractos alcohólicos y acuosos de la semilla de *M. americana*.

Las diferencias de los compuestos químicos presentes entre la almendra y el endocarpo se pueden apreciar en el extracto alcohólico y acuoso, donde podemos observar que compuestos como: alcaloides (mayer), flavonoides (shinoda), saponinas (espuma) y lactonas (baljet), presentes en la almendra no se encuentran en el endocarpo. Sin embargo en el extracto acuoso la presencia saponinas (espuma) se reporta para el endocarpo y no así para la almendra.

Ensayo de extractos de *Mammea americana* en cepas de *Pseudomonas spp*, *Salmonella spp* y *E. coli*.

Todos los extractos del endocarpo y almendra presentaron actividad antimicrobiana frente a *E. coli*, sin embargo se evidencia una mayor inhibición de los extractos alcohólicos de la almendra para este patógeno observados a las 24 y 48 horas de incubación. Para *Pseudomona spp.* y *Salmonella spp.*, se observó actividad inhibitoria sólo en los extractos alcohólicos a las 24 y 48 horas de incubación (Gráfico # I).

Los resultados de la actividad antimicrobiana de los extractos de las diferentes partes de la semilla (almendra y endocarpo) de *M. americana* frente a los patógenos ensayados no se han descritos para la especie ecuatoriana, existiendo una evaluación frente a *E. coli* de los extractos de la semilla total de la especie (Yasunaka y col., 2005),

informes que dan relevancia al presente estudio.

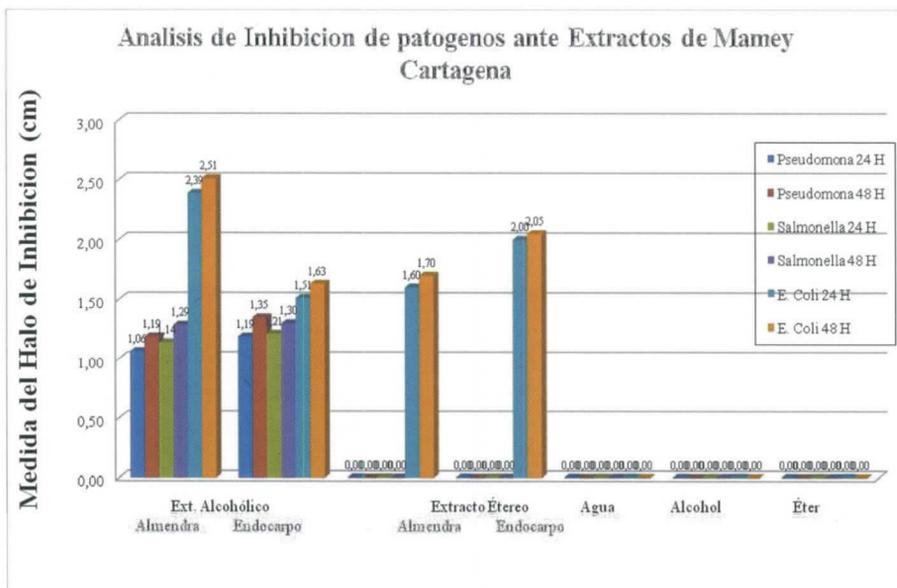


Grafico I. Estudio comparativo del efecto inhibitorio de los extractos etéreo y alcohólico de *M. americana* frente a cepas de *Salmonella* spp., *Pseudomona* spp., *E. coli* observados a 24 y 48 horas de incubación

Tabla II. Análisis estadístico del efecto inhibitorio de los extractos etéreo y alcohólico de *M. americana* frente a cepas de *Pseudomonas* spp, *salmonella* spp y *E coli*, a las 24 y 48 horas de inhibición

| Microorganismo | Muestras | Extractos | Halo de inhibición (cm) | Comparación por tiempo de incubación | | |
|-------------------------|----------|-----------|-------------------------|--------------------------------------|----------|---|
| | | | \bar{X} | 24 horas | 48 horas | |
| <i>Escherichia coli</i> | Blanco | Agua | 0 | A | A | |
| | | Alcohol | 0 | A | A | |
| | | Éter | 0 | A | A | |
| | semilla | Endocarpo | Alcohólico | 1.51 | B | B |
| | | | Etéreo | 1.60 | BC | B |
| | | Almendra | Alcohólico | 2.39 | C | C |
| | | Etéreo | 2.0 | BC | BC | |
| <i>Pseudomona</i> spp. | Blanco | Agua | 0 | A | A | |
| | | Alcohol | 0 | A | A | |
| | | Éter | 0 | A | A | |
| | semilla | Endocarpo | Alcohólico | 1.19 | B | B |
| | | | Etéreo | 0 | A | A |
| | | Almendra | Alcohólico | 1.06 | B | B |
| | | Éter | 0 | A | A | |
| <i>Salmonella</i> spp. | Blanco | Agua | 0 | A | A | |
| | | Alcohol | 0 | A | A | |
| | | Éter | 0 | A | A | |
| | semilla | Endocarpo | Alcohólico | 1.21 | B | B |
| | | | Etéreo | 0 | A | A |
| | | Almendra | Alcohólico | 1.14 | B | B |
| | | Etéreo | 0 | A | A | |

Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

En los análisis estadísticos de la actividad antimicrobiana de los extractos alcohólicos del endocarpo y almendra frente a *E. coli* tienen diferencias significativas ($p < 0.05$) observadas a las 24 y 48 horas de incubación, mientras que de los extractos etéreos evaluados el del endocarpo, es el único que muestra diferencias significativas para esta misma cepa, a las 48 horas de incubación.

Los extractos alcohólicos del endocarpo y almendra frente a *Pseudomonas* spp., y *Salmonella* spp no muestran diferencias significativas igual comportamiento se observó en los extractos etéreos de éste material frente a los dos patógenos mencionados a las 24 y 48 horas de incubación

Conclusiones:

- Los extractos alcohólicos del endocarpo y la almendra del *M americana*, mostraron tener actividad inhibitoria para todas las cepas ensayadas (*E. coli*, *Pseudomonas* spp, *Salmonellas* spp).
- El extracto alcohólico de la almendra frente a *E. coli*, fue la que mostró la mayor capacidad inhibitoria a las 48 horas de incubación.
- Los extractos etéreos mostraron tener actividad inhibitoria sólo frente a cepas de *E. coli*.
- La prueba de Shapiro Wilks determinó la ausencia de normalidad de los datos analizados (valor $p < 0.05$).

Recomendaciones.

Continuar con los estudios de la actividad inhibitoria de estos extractos y determinar su CCI50, para darle una potencial utilidad como un prototipo de pre formulado farmacéutico.

Referencias bibliográficas:

Finnegan R, Bachman P. Natural occurrence of 2-hydroxyxanthone. Journal of Pharmaceutical Sciences. publicado on line 2006.

Finnegan, R.; Merkel, K.; Back, N. Constituents of *Mammea Americana* L. VIII: Novel structural variations on the mammein theme and antitumor activity of mammein and related coumarin and phloroglucinol derivatives. Journal of Pharmaceutical Sciences. publicado on line 2006.

Finnegan R, Eisenbraun E. Constitution of mamey wax. Journal of Pharmaceutical Sciences. Publicado on line 2006.

Martínez JV, Yesid B, Caceres B. Fundamentos de Agro tecnología de cultivo de plantas medicinales Iberoamericanas. CYTED. 2000; pág. 75.

Martínez M, Cuellar Armando. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Universidad de La Habana. Instituto de Farmacia y Alimento 2000.

Morton J. Fruits of warm climates, Miami – USA, 1987

Pino O; Jorge F, Tacoronte J, Bhupinder P.S. Isolation and characterization of active compounds from *Mammea americana* Lin. Revista Cubana de Química 2007; 19 (1) 74-77.

Rojas M., Chávez J. La etnobiología en el control de plagas en la horticultura de Sololá, municipio de Sololá y Almolonga, Municipio de Quetzaltenango, Guatemala. Informe técnico del Proyecto FODECYT, 2007, pp 22-23.

Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schrenckenberger P, Woods G. Koneman. Diagnostico Microbiológico.

Texto y Atlas en color. Editorial Médica panamericana 2008.

Yasunaka K., Abe F., Nagayama A., Okabe H., Pérez L., López E., Estrada Elizabeth, Aguilar A., Reyes-Chilpa R. La actividad antibacteriana de los extractos crudos de plantas medicinales mexicanas y cumarinas purificadas y xantonas. Journal Ethnopharmacology 2005. 97(2), 293-299