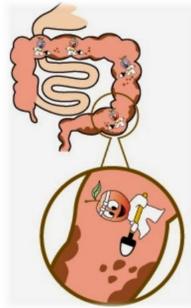


# EMPLEO DE EXTRACTOS DE CIRUELA SOMETIDOS A DIFERENTES PROCESOS DE SECADO COMO INGREDIENTES PARA LA MEJORA DE LA SALUD GASTROINTESTINAL

Silvn, J. M.<sup>1</sup>, Cuno, A.<sup>1</sup>, Michalska, A.<sup>2</sup>, Martínez-Rodríguez, A. J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM), Departamento de Biotecnología y Microbiología de Alimentos, Grupo de Microbiología y Biocatálisis de Alimentos (MICRO-BIO). C/ Nicolás Cabrera 9, 28049, Madrid.

<sup>2</sup> Institute of Agricultural Engineering, Wroclaw University of Environmental and Life Sciences  
Str. Chelmonskiego 37a, Wroclaw 51-630, Poland



## Introducción

Las frutas y las verduras son componentes esenciales de una dieta saludable y un consumo diario suficiente podría contribuir a la prevención de ciertas enfermedades. Un informe de la OMS publicado recientemente recomienda como objetivo poblacional la ingesta de un mínimo de 400 g diarios de frutas y verduras para prevenir enfermedades crónicas como las cardiopatías, el cáncer, la diabetes, la obesidad y alteraciones gastrointestinales, así como para prevenir y mitigar carencias de micronutrientes, sobre todo en los países menos desarrollados [1]. Entre las frutas de temporada consumidas en España, la ciruela (*Prunus domestica*) ha recibido especial atención por sus potenciales propiedades beneficiosas debido a su alto contenido en compuestos fenólicos [2, 3]. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad anti-bacteriana, anti-inflamatoria y antioxidante de extractos secos de zumo de ciruela obtenidos por diferentes métodos de secado y su impacto en la salud gastrointestinal.

## Materiales y Métodos

### Obtención de los extractos

- Zumo de ciruela
- Métodos de secado:
  - ✓ Liofilización
  - ✓ Secado a vacío 40C, 60C y 80C
  - ✓ Atomización

### Especies bacterianas utilizadas:

- *Escherichia coli* (*E. coli*)
- *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*)
- *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)
- *Lactobacillus casei* (*L. casei*)
- *Lactobacillus paracasei* (*L. paracasei*)
- *Saccharomyces boulardii* (*S. boulardii*)

### Actividad antibacteriana y carácter selectivo

#### 1) Obtención de los inóculos bacterianos:

- Siembra en medio Muller Hinton Sangre 5% (MHS)
- Incubación a 37C
- Inóculo líquido en Brucella Broth (BB)
- Incubación 24 h a 37C, 130 rpm
- Uso del inóculo bacteriano en fase estacionaria

#### 2) Ensayo de la actividad antibacteriana:

- Mezcla del ensayo:
  - 4 mL medio BB
  - 1 mL extractos secos de ciruela (1 mg/mL)
  - 50 L cultivo bacteriano en fase estacionaria
- Incubación 24 h, agitación 130 rpm, 37C
- Diluciones decimales y siembra en MHS
- Incubación 24-48 h, 37C
- Recuento y cculo de UFC/mL

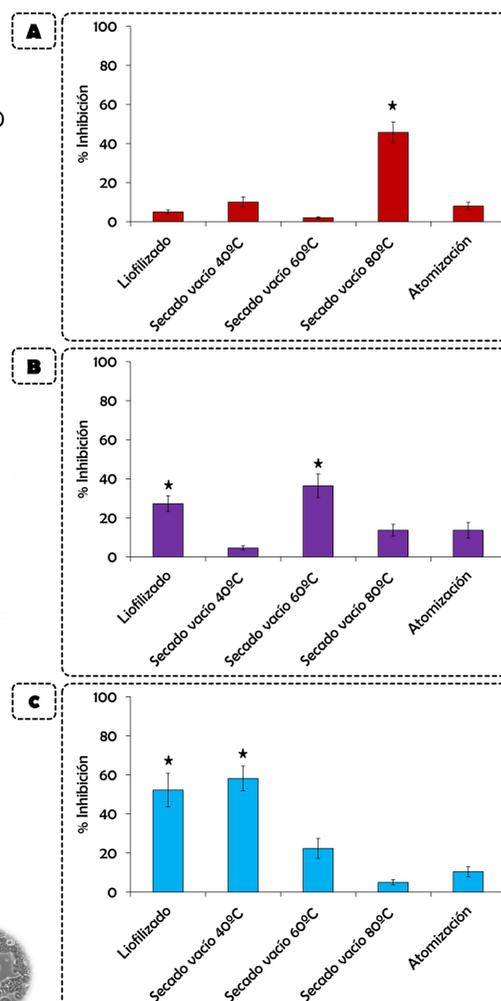
### Actividad anti-inflamatoria

- Siembra celular línea RAW264.7 (~5x10<sup>4</sup> células/pocillo) placa 96w
- Incubación 24h, 37C, 5% CO<sub>2</sub> (confluencia celular ~75%)
- Incubación celular con los diferentes extractos secos de ciruela (1 mg/mL) y lipopolisacárido (LPS) (10 g/mL) durante 24h, 37C, 5% CO<sub>2</sub>
- Recogida sobrenadante celular
- cuantificación óxido nítrico (NO)

### Actividad antioxidante

- Siembra celular línea HT-29 (~5x10<sup>4</sup> células/pocillo) placa 96w
- Incubación 24h, 37C, 5% CO<sub>2</sub> (confluencia celular ~75%)
- Pre-incubación celular con los diferentes extractos secos de ciruela (1 mg/mL) durante 24h, 37C, 5% CO<sub>2</sub>
- Lavado celular con PBS
- Incubación celular con sonda fluorescente (DCFDA) 30 min, 37C, 5% CO<sub>2</sub>
- Lavado celular con PBS
- Incubación con agente pro-oxidante t-BOOH (2,5 mM) 3h, 37C
- Lectura fluorescencia  $\lambda_{exc} = 485 \text{ nm}$   $\lambda_{em} = 530 \text{ nm}$

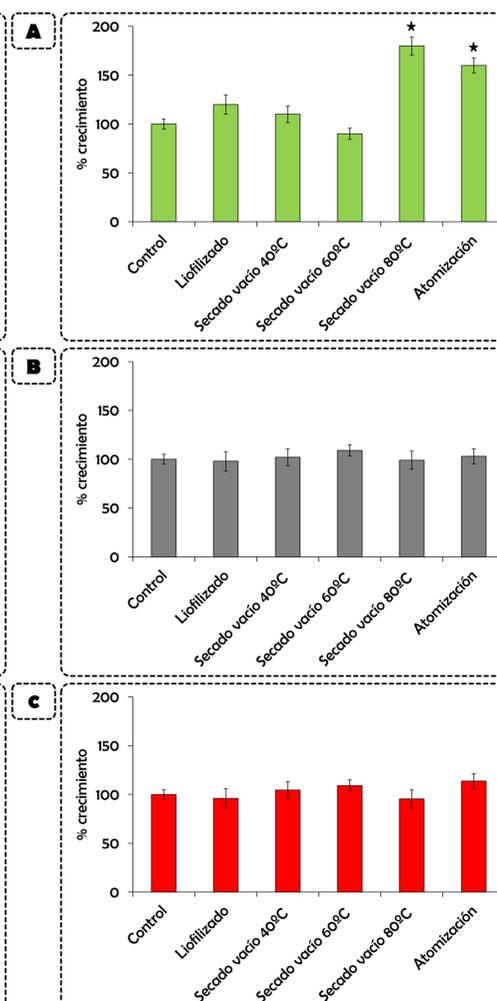
## Actividad antibacteriana y carácter selectivo



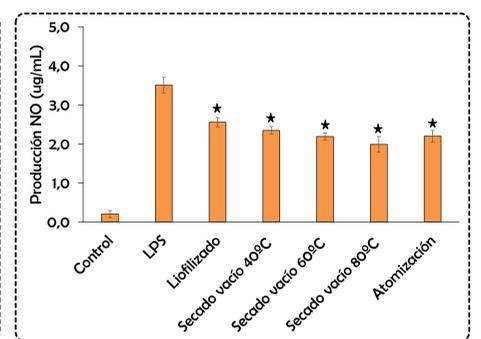
**Figura 1.** Actividad antibacteriana de los extractos secos de ciruela (1 mg/mL) frente a *E. coli* (A), *C. jejuni* (B) y *S. aureus* (C) tras 24 h de incubación. Los resultados se expresan como porcentaje de inhibición del crecimiento calculado respecto del control y estn representados por la media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ). Las barras con asterisco indican diferencias significativas respecto al control de crecimiento ( $p < 0.05$ ) mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido del test de Dunnett para múltiples comparaciones.

## Resultados

### Actividad anti-inflamatoria

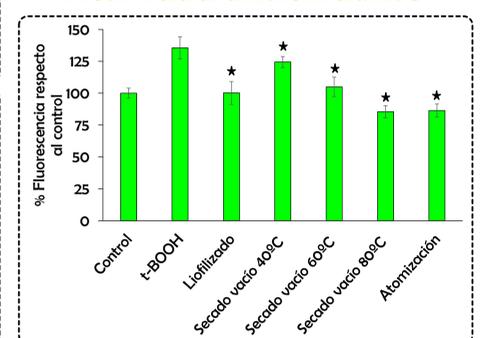


**Figura 2.** Efecto de los extractos secos de ciruela (1 mg/mL) sobre la viabilidad de *L. casei* (A), *L. paracasei* (B) y *S. boulardii* (C) tras 24 h de incubación. Los resultados se expresan como porcentaje de crecimiento en función del control y estn representados por la media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ). Las barras con asterisco indican diferencias significativas respecto al control de crecimiento ( $p < 0.05$ ) mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido del test de Dunnett para múltiples comparaciones.



**Figura 3.** Efecto de los extractos secos de ciruela (1 mg/mL) sobre la producción de NO en macrófagos RAW264.7 estimulados por LPS (10 g/mL) tras 24h de incubación. Los resultados expresan los valores medios  $\pm$  desviación estándar ( $n=3$ ). Las barras con asteriscos representan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la producción de NO respecto al control celular estimulado con LPS mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido del test de Dunnett para múltiples comparaciones.

### Actividad antioxidante



**Figura 4.** Actividad antioxidante de los extractos secos de ciruela sobre la línea celular HT-29 de intestino humano. Las células fueron pre-tratadas con los extractos de ciruela (1 mg/mL) durante 24h y posteriormente expuestas al agente pro-oxidante t-BOOH (2,5 mM) durante 3 h para inducir la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Los valores se expresan como el porcentaje relativo de emisión de fluorescencia respecto al control celular sin oxidar. Las barras con asterisco indican una reducción significativa ( $p < 0.05$ ) en la producción de ROS en comparación con las células expuestas al t-BOOH sin ningún pretratamiento con los extractos de ciruela mediante análisis de varianza (ANOVA) seguido del test de Dunnett para múltiples comparaciones.

## Conclusiones

- Los extractos secos de ciruela obtenidos por liofilización y secado a vacío a diferentes temperaturas, presentaron actividad antimicrobiana frente a patógenos relacionados con los alimentos (*E. coli*, *C. jejuni* y *S. aureus*), por otro lado no afectaron a la viabilidad de microorganismos considerados como beneficiosos para la salud (*L. casei*, *L. paracasei* y *S. boulardii*), incluso en el caso de *L. casei* se observó un aumento de su crecimiento cuando fue incubado con los extractos obtenidos por secado a vacío 80C y atomización, lo que sugiere que estos extractos podrían tener un efecto selectivo frente a microorganismos beneficiosos y perjudiciales.
- Todos los extractos secos de ciruela presentaron actividad anti-inflamatoria siendo capaces de reducir la producción de NO celular, destacando el extracto obtenido por secado a vacío 80C.
- Los extractos obtenidos por secado a vacío 80C y atomización presentaron mejores propiedades antioxidantes, posiblemente debido a la composición del extracto.
- Los resultados obtenidos sugieren que los extractos secos de ciruela obtenidos por diferentes métodos de secado son una fuente potencial de compuestos bioactivos que podrían contribuir a la mejora de la salud gastrointestinal por sus propiedades antibacterianas, anti-inflamatorias y antioxidantes

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado a través de los proyectos AGL 2013-47694-R y AGL 2017-89566-R.

**Bibliografía:** [1] OMS (2004). Fruit and vegetables for health report of a joint FAO/WHO workshop. <http://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/en/>  
[2] Gil y col. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4976-4982.  
[3] Igwe & Charlton (2016). A systematic review on the health effects of plums (*Prunus domestica* and *Prunus salicina*). *Phytother. Res.*, 30, 701-731.

