

# Evaluación de usos potenciales del desecho del fruto del algarrobo (*HYMENAEA COURBARYL L*) -cáscara y semillas- como conservante natural para alimentos\*

Luz María Alzate Tamayo\*\*, Diana María Arteaga González\*\*\*, Yamilé Jaramillo Garcés\*\*\*\*

## Resumen

**Introducción.** *Hymenaea courbaril* Linneaus o algarrobo<sup>1</sup> es conocida por sus múltiples propiedades antibacteriales, antifúngicas y nutricionales debido a sus características químicas y bromatológicas, por lo que constituye un interesante recurso para la investigación de su fruto como fuente natural con propiedades conservantes para la industria de alimentos. **Objetivo.** El objetivo de la investigación fue evaluar la capacidad antimicrobiana del fruto del algarrobo sobre un microorganismo indicador de calidad en alimentos; se escogió la cepa *Escherichia coli* (ATCC 25922) por ser reportada como uno de los microorganismos más implicados en las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA). **Materiales y métodos.** La metodología consistió en definir las concentraciones necesarias en extractos alcohólico y acuoso de la pulpa, la cáscara y las semillas para inhibir el crecimiento del microorganismo. Utilizando la técnica de difusión en pozos con algunas modificaciones, la cepa de *E. coli* se sometió a la acción de los diferentes extractos. **Resultados.** En los ensayos preliminares, los mejores resultados se obtuvieron con la semilla en extracto alcohólico por lo que se descartaron los extractos acuosos debido a su poca o nula acción inhibitoria. El espectro antibacterial se determinó por medio de la concentración mínima inhibitoria del 20% para el extracto alcohólico de la semilla. Esto se logró durante pruebas en las que el extracto fue empleado durante intervalos semanales. **Conclusión.** De acuerdo con los resultados, es posible afirmar que la parte de la fruta del algarrobo que presenta mejor actividad antimicrobiana es la semilla con diámetros de halos entre 15 y 25 mm, comparados con los de la cáscara y la pulpa que no presentaron halos de inhibición significativos (menores a 15 y cero, respectivamente), por lo que se concluye la existencia de

sustancias con potencial inhibidor de fuente natural en el algarrobo para la industria de alimentos.

**Palabras clave:** algarroba, conservante, antimicrobianos, aditivo, estabilidad.

## Evaluation to potential uses of the carob tree's fruit (*HYMENAEA COURBARYL L*) –shell and seeds- as a natural preserver for food

### Abstract

**Introduction.** *Hymenaeacourbaril* Linneaus, or carob tree<sup>1</sup>, is well known given its multiple anti-bacterial, anti fungal and nutritional properties caused by its chemical and dietetic characteristics, thus being an interesting resource to make research works about its fruit as a natural source with preservation properties for the food industry. **Objetivo.** The objective of this research work was to evaluate the anti microbial capacity of the carob tree's fruit over a microorganism that acts as a quality indicator in food. The *Escherichia coli* (ATCC 25922) strain was chosen because it is reported as one of the most common microorganisms involved in foodborne diseases. **Materials and methods.** The method used was a definition of the concentrations necessary in alcohol and aqueous extracts of the pulp, the shell and the seeds, in order to inhibit the microorganism's growth. By the use of the well diffusion technique with some modifications, the *E. coli* strain was subjected to the action of the extracts. **Results.** In the preliminary tests the best results were those obtained with the seed in alcoholic extract, and, therefore, the aqueous extracts were disregarded given their little or null inhibitory action. The anti bacterial spectrum

\* Artículo derivado del proyecto de investigación "Determinación de las propiedades conservantes de la fruta del algarrobo (*HYMENAEA COURBARIL LINNEAUS*) para la industria de alimentos. Trabajo de Investigación realizado entre febrero de 2008 y febrero de 2009 y financiado por el fondo de investigación de la Corporación Universitaria Lasallista.

\*\* Ingeniera de Alimentos. Especialista en microbiología de los alimentos. Docente de la Facultad de Ingenierías de la Corporación Universitaria Lasallista.

\*\*\* Ingeniera de Alimentos

\*\*\*\* Ingeniera de Alimentos

Correspondencia: Luz María Alzate Tamayo. e-mail: lualzate@lasallistadocentes.edu.co  
Artículo recibido: 15/03/2010; Artículo aprobado: 25/04/2011

was determined by the minimal inhibitory concentration at 20% for the alcoholic extract of the seed. This was achieved during tests in which the extract was used in weekly intervals. **Conclusion.** According to the results, it is possible to say that the part of the carob tree's fruit with the highest anti microbial activity is the seed with halo diameters between 15 and 25 mm, compared to those of the shell and the pulp, which did not show significant inhibition halos (under 15 and zero, respectively). Hence the existence of substances with an inhibitory potential from a natural source from the carob tree's fruit can be concluded.

**Key words:** carob tree's fruit, preservative, antimicrobial, additive, stability.

### Avaliação de usos potenciais do refugo do fruto do algarobeira (*HYMENAEA COURBARYL L*) -casca e sementes- como conservante natural para alimentos

#### Resumo

**Introdução.** *Hymenaea courbaril* Linneaus ou algarobeira<sup>1</sup> é conhecida por suas múltiplas propriedades anti-bacteriais, antifúngicas e nutricionais devido a suas características químicas e bromatológicas, pelo que constitui um interessante recurso para a investigação de seu fruto como fonte natural com propriedades conservantes para a indústria

de alimentos. **Objetivo.** O objetivo da investigação foi avaliar a capacidade antimicrobiana do fruto do algarobeira sobre um microorganismo indicador de qualidade em alimentos; escolheu-se a cepa *Escherichia coli* (ATCC 25922) por ser reportada como um dos microorganismos mais implicados nas doenças transmitidas pelos alimentos (ETA). **Materiais e métodos.** A metodologia consistiu em definir as concentrações necessárias em extratos alcoólico e aquoso da polpa, a casca e as sementes para inibir o crescimento do microorganismo. Utilizando a técnica de difusão em poços com algumas modificações, a cepa de *E. coli* se submeteu à ação dos diferentes extratos. **Resultados.** Nos ensaios preliminares, melhores resultados se obtiveram com a semente em extrato alcoólico pelo que se descartaram os extratos aquosos devido a sua pouca ou nula ação inibitória. O espectro anti-bacterial se determinou por meio da concentração mínima inibitória de 20% para o extrato alcoólico da semente. Isto se conseguiu durante provas nas que o extrato foi empregado durante intervalos semanais. **Conclusão.** De acordo com os resultados, é possível afirmar que a parte da fruta do algarobeira que apresenta melhor atividade antimicrobiana é a semente com diâmetros de halos entre 15 e 25 mm, comparados com os da casca e a polpa que não apresentaram halos de inibição significativos (menores a 15 e zero, respectivamente), pelo que se conclui a existência de substâncias com potencial inibidor de fonte natural no algarobeira para a indústria de alimentos.

**Palavras importantes:** algarobeira, conservante, antimicrobianos, aditivo, estabilidade.

---

## Introducción

Algunos de los componentes de la pulpa de la algarroba (*Hymenaea courbaril* Linneaus) tienen, en la industria farmacéutica, propiedades terapéuticas (antidiarreicas y catarrales), y en la industria alimentaria, propiedades quimioprolifáticas<sup>2,3</sup>. Estas propiedades están relacionadas con su composición química y bromatológica<sup>4-10</sup>.

La tendencia al uso de conservantes naturales en la industria alimenticia se ha incrementado en los últimos años como reemplazo de los de origen sintético, cuyo uso por encima de las dosis permitidas puede ocasionar efectos antitiroideos, efectos sobre el comportamiento y sobre la reproducción, efectos mutágenos, productos de carácter cancerígeno, ocasionar desórdenes en el organismo tipo alergias e hi-

peractividad en los niños<sup>11</sup>, y en la actualidad son los de mayor empleo. Por ello, esta investigación representa un paso muy importante para la industria de alimentos, en el sentido que se podrán ofrecer alternativas saludables de conservación de los alimentos, y como consecuencia inherente, la protección de las personas que consuman los productos alimenticios que lo contengan.

La presente investigación pretendió evaluar la capacidad antimicrobiana de la fruta del algarrobo midiéndola sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, un microorganismo indicador de calidad en alimentos. Se ensayaron los extractos acuosos y alcohólicos de la pulpa, cáscara y semilla a diferentes concentraciones sobre el microorganismo, utilizando la técnica de difusión en pozos modificada.

## Materiales y métodos

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Ciencias Biológicas (Microbiología y Biotecnología) de la Corporación Universitaria Lasallista de Caldas, Antioquia.

Se emplearon para los estudios la cepa ATCC 25922 de *Escherichia coli* liofilizada, agar nutritivo y caldo cerebro corazón de Merck y agar sangre de MDM Científica.

La metodología empleada para determinar la capacidad antimicrobiana fue una técnica combinada entre discos impregnados y difusión de pozos: se preparó el microorganismo indicador a una concentración de  $10^6$  células/ml en agua peptonada y se adicionó un ml al agar, aún líquido en la caja de Petri. Una vez solidificada, se realizaron los pozos en los que se colocaron discos de papel de filtro y se adicionaron 32  $\mu$ l del extracto. Los controles utilizados fueron agua destilada estéril para los extractos acuosos y etanol al 90% para los alcohólicos.

Los extractos de pulpa, semilla y cáscara fueron preparados a concentraciones de 10% al 50% en agua y alcohol etílico al 90%. Los ensayos se realizaron con el solvente escogido en tiempos de preparación del extracto entre cero y 1032 horas para determinar la conservación de la capacidad inhibitoria con el tiempo. Cada serie se repitió tres veces.

Se trabajó con un diseño de experimentos factorial en donde las variables fijas son los solventes, y las variables independientes son el diámetro del halo de inhibición y la concentración del extracto.

Los halos de inhibición de referencia se tomaron de los empleados en pruebas para antibiogramas. Se considera que hay sensibilidad a una sustancia en el caso de Enterobacterias como la *Escherichia coli*, si se presentan halos entre 15 y 25 mm de diámetro<sup>12,13</sup>. La presencia de estos halos permite definir la CMI (concentración mínima inhibitoria).

## Resultados

Los resultados preliminares permitieron desear pulpa y cáscaras por no presentar acción inhibitoria.

Se descartó el agua como solvente debido a la no presencia significativa de halos de inhibición.

Se presentaron halos en todas las concentraciones del extracto alcohólico de las semillas, pero solo son significativos en aquellas mayores a 20%.

Se observó que el diámetro del halo de inhibición tiende a disminuir a los pocos días de preparación del extracto, pero vuelve a aumentar después de varios días. Esto puede deberse a que el solvente continúa con su acción extractora a través del tiempo, siendo mejor su resultado a mayor número de horas, en este caso, después de las 1032 horas.

En la tabla 1 se muestran los datos obtenidos para diferentes concentraciones y extractos de la semilla; en las concentraciones de 25–50% en el extracto acuoso no se pudieron realizar los ensayos debido a que la semilla absorbió toda el agua y no quedó fase acuosa para la prueba. La gráfica 1 describe los coeficientes de determinación,  $R^2$  de los promedios de los halos.

En la fotografía 1 puede observarse cómo se forman los halos de inhibición. El punto blanco es el control. Las flechas muestran el diámetro del halo.

La CMI encontrada para el extracto alcohólico de semillas de algarrobo es de 20% en adelante, concentración en la que se presentaron los diámetros de los halos entre 15 y 25 mm.

## Conclusiones

La pulpa no posee actividad inhibitoria para el microorganismo estudiado, la cáscara presenta una discreta actividad inhibitoria en el extracto alcohólico y el extracto de semillas de algarrobo tiene un alto poder inhibitorio.

Es posible que exista una CMI menor al 20% debido a que el principio activo que da la característica inhibitoria no ha sido identificado ni purificado.

Se presume que las sustancias químicas con poder antimicrobiano presentes en las semillas

del algarrobo no son hidrosolubles, ya que sólo se lograron resultados positivos en los extractos alcohólicos.

Estadísticamente se concluye que los promedios de las réplicas no son representativos debido a una desviación estándar alta, la cual es posible resultado de una distribución aleatoria de la sustancia inhibitoria en el extracto, motivo por el cual se presentan halos de inhibición diferentes entre las repeticiones a iguales condiciones.

Los resultados del coeficiente de determinación ( $R^2$ ) indican que hay una relación causa- efecto entre la concentración del extracto investigado y el poder inhibitorio.

En este caso en particular, el método de difusión en pozos modificado no permitió una réplica uniforme por lo cual se obtiene una

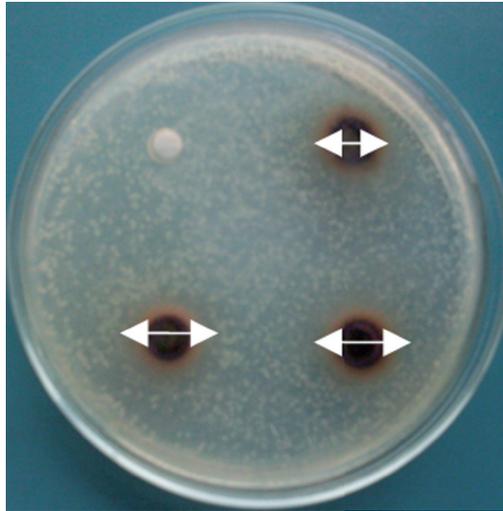
desviación estándar alta. Sin embargo, por los resultados positivos de los halos y su tamaño mayor a 15 mm, la tesis queda demostrada: la fruta del algarrobo tiene propiedades conservantes.

Puesto que no existe una reglamentación ni estandarización de la metodología para la evaluación de la capacidad inhibitoria de extractos de plantas, como sí existe para los antibióticos, los ensayos preliminares se realizaron basados en estas pruebas con varias modificaciones, y se llegó a la conclusión de que entre las técnicas empleadas, la mejor modificación para el extracto del algarrobo es la combinación de difusión en pozos con discos impregnados.

Los halos de inhibición de referencia para determinar la capacidad inhibitoria de la algarroba fueron también los que se emplean en pruebas para antibiogramas.

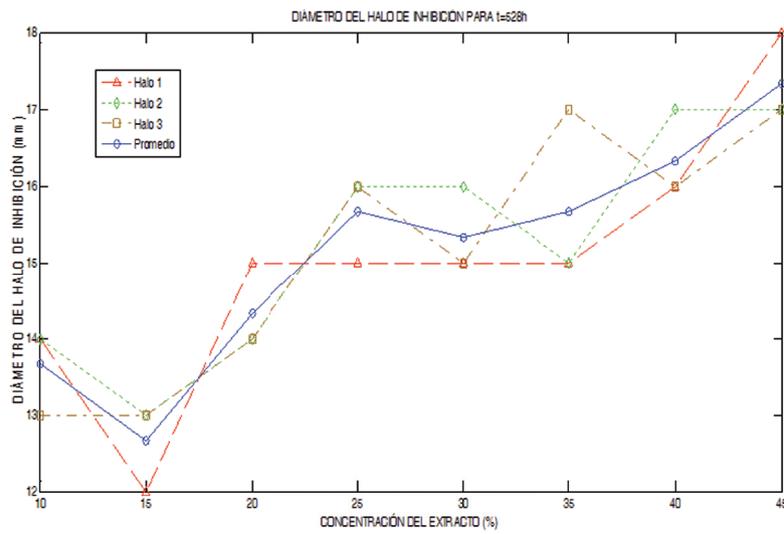
**Tabla 1. Resultados según el solvente utilizado.**

Extracto (%)	Diámetro del halo de inhibición (mm)					
	Extracto en agua			Extracto en etanol		
	N° Ensayos			N° Ensayos		
	1	2	3	1	2	3
Control	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	15	15	17
15	0	0	0	17	20	14
20	0	0	0	16	15	14
25				14	17	15
30				20	23	17
35				11	13	17
40				21	15	19
45				21	22	20
50				24	20	25



**Fotografía 1. Halos de inhibición**

Fuente: construcción propia



**Gráfica 1. Diámetros de halos de inhibición**

obtenidos en T= 528 horas

Fuente: construcción propia

## Referencias

1. GALERA, Francisca María. Las especies del género prosopis (algarrobos) de América Latina con especial énfasis en aquellas de interés económico. [on line] Argentina: FAO, 2000. [citado el 30 de julio de 2008] URL disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/ad314s/ad314s00.HTM>
2. RAIN TREE NUTRITION. Jatobá. [on line] Carson city: Rain Tree, s.f, rev. enero 18 de 2007. [citado el 24 de junio de 2008] URL disponible en: <http://www.rain-tree.com/jatoba.htm>
3. SPINA, Paolo. El algarrobo. Mundi prensa: Madrid, 1989. 158 p.
4. BARRERO BARRERO, Delfín; et al. Vegetación del Territorio CAR: 450 Especies de sus Llanuras y Montañas. Bogotá: Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca CAR, 2004. p. 32-33.
5. ACERO DUARTE, Luis Enrique. Plantas útiles de la Cuenca del Orinoco. Bogotá: Ecopetrol y Corporinoquia, 2005. p. 206
6. ZAMORA, Nelson. *Hymenaea courbaril*. [on line] Costa Rica: Instituto nacional de la biodiversidad, 2004. [citado el 15 de junio de 2008] URL disponible en: <http://darnis.inbio.ac.cr/FMPPro?-DB=UBIpub.fp3&-lay=WebAll&-Format=/ubi/detail.html&-Op=bw&id=1444&-Find>
7. RAMOS PALACIOS, Yan Arley; et al. El Algarrobo (*Hymenaea courbaril* L.) y el castaño (*Composneura atopa* (A.C. Sm.): dos especies alimenticias del Departamento del Chocó en peligro de extinción. En: Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó. N° 15, (2002); p. 72-77
8. MAHABIR P., Gupta. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Bogotá: Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED, 1995. p. 359-361.
9. FONT QUER, Pío. Plantas Medicinales: Dioscórides renovado. 4ª ed.
10. Barcelona: Península, 2002. p. 350-352.
11. Algarroba. [On line] sine loco: La Herbloguistería, s.f. [citado el 8 de mayo de 2008] URL disponible en: <http://laherbloguisteria.blogspot.com/feeds/posts/default>
12. VALLEJO, María del Carmen. Toxicología y seguridad de los alimentos. Bogotá: Fondo Nacional Universitario, 1993. 227 p.
13. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. Guías de prácticas de microbiología. Práctica 11: Antibiograma por difusión en Agar. Departamento de Microbiología. España: Universidad Complutense, 2005. p. 18.
14. \_\_\_\_\_. Guías de prácticas de Microbiología clínica. Práctica 6: Antibiograma por difusión en Agar. Departamento de Microbiología. España: Universidad Complutense, 2006-2007. p. 27 y 28