

## FUNCIONALIDADES BIOLÓGICAS DE *Passiflora maliformis* DEL SUR MACIZO COLOMBIANO

Angie C. Sabogal-Palma<sup>1</sup>, Jacqueline Chávez-Marín<sup>1</sup>, Diego F. Oliveros-Gómez<sup>1</sup>,  
Elizabeth Murillo-Perea<sup>1</sup> y Jonh J. Méndez-Arteaga<sup>1</sup>

### RESUMEN

Este estudio propone reconocer y evaluar las características químicas y biológicas de la semilla, arilo y la cáscara (pericarpio) de *Passiflora maliformis* (cholupa) del Sur Macizo Colombiano, lo que permitirá determinar su potencial bioactivo y/o agroindustrial, en comparación con *Passiflora edulis* var. Flavicarpa (maracuyá). Los frutos fueron obtenidos en el municipio de Rivera-Huila y su análisis fitoquímico inicial dejó ver abundante contenido de taninos, pigmentos antocianicos, al igual que constituyentes de naturaleza terpénica. Al evaluar la funcionalidad antioxidante se encontró que los compuestos de la cáscara y la semilla de cholupa poseen una ligera habilidad para captar radicales libres y bloquear en alguna etapa la cadena de oxidación, habilidad que se incrementó a medida que aumentó la concentración del extracto, alcanzando su máxima capacidad en un tiempo de 6 a 11 minutos. Se detectó una importante actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos del fruto la cual fue máxima a la concentración de 10.000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  y responde a la abundancia de metabolitos secundarios y a otros compuestos bioactivos y muestra a la cholupa con un alto potencial bacteriostático, siendo la semilla la parte de mayor actividad. La bacteria *Klebsiella pneumoniae* fue la cepa más sensible a la acción de los compuestos presentes en este fruto. Ni aun en sus máximas concentraciones los productos derivados de la cáscara y la semilla de esta pasiflora superaron el 10 % de toxicidad en humanos.

**Palabras clave adicionales:** Antimicrobial, antioxidante, metabolitos secundarios, toxicidad

### ABSTRACT

#### Biological characteristics of *Passiflora maliformis* from South Colombian Massif

This study set out to recognize and evaluate the chemical and biological characteristics of the seeds, pulp (aryl) and peel (pericarp) of *Passiflora maliformis* (cholupa) from the South Colombian Massif, thus contributing to the determination of their bioactive and/or agro-industrial potential, in comparison to *Passiflora edulis* var. Flavicarpa (passion fruit). The fruits were obtained in the Municipality of Rivera-Huila, and their initial phytochemical analysis showed abundant content of tannins, anthocyanic pigments, and nature terpene constituents. When evaluating the antioxidant functionality it was found that the compounds of the peel and seed of cholupa have a slight ability to scavenge free radicals and block the oxidation chain, ability that increased as extract concentration increased, reaching the maximum capacity in a time of 6 to 11 minutes. It was revealed an important antimicrobial activity of the fruit ethanolic extracts which was maximum at the concentration of 10,000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , and responds to the abundance of secondary metabolites and other bioactive compounds and shows the cholupa with high bacteriostatic potential, being the seed the part with greater activity. The bacterium *Klebsiella pneumoniae* was the most sensitive strain to the action of the compounds present in the fruit. Not even at their maximum concentrations, products derived from peel and seed of *P. maliformis* exceeded 10 % toxicity in humans.

**Additional key words:** Antimicrobial, antioxidant, secondary metabolites, toxicity

### INTRODUCCIÓN

Las especies de la familia Passifloraceae se distribuyen en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo, principalmente en América, con 26 géneros y 910 especies (Stevens, 2012). De la totalidad de géneros, cinco crecen en el Nuevo Mundo, de los cuales cuatro son exclusivamente

americanos, destacándose Colombia con la mayor diversidad de germoplasma y reconocido como el país con el mayor número de especies de esta familia, asociado a la variedad de hábitats y climas. En el caso particular del Tolima, importa mencionar que este departamento, conjuntamente con el Huila, Cauca, Nariño, Caquetá, Putumayo, y Valle del Cauca, hace parte del Macizo

Recibido: Junio 20, 2015

Aceptado: Diciembre 1, 2015

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Productos Naturales (Gipronut). Universidad del Tolima. Santa Helena Parte Alta. Ibagué, Tolima, Colombia. e-mail: acsabogalp@hotmail.com

Colombiano, conocido también como Nudo de Almaguer, sitio de gran biodiversidad biológica y cultural, donde confluyen los ecosistemas Andino, Amazónico y Pacífico que le otorgan una gran complejidad biofísica y socioeconómica a esta región. Es de esperarse, entonces, que en la región tolimese exista una variabilidad alta de pasifloras.

La importancia de las frutas tropicales está en su aporte de constituyentes químicos tales como antocianinas, flavonoides, vitamina C, A, E, taninos y ácidos orgánicos (Restrepo, 2008). Partiendo de la base de que a estos compuestos en pasifloras se les han encontrado múltiples funcionalidades biológicas (Jiménez et al., 2011), se considera que este género posee propiedades antibacteriales, insecticidas, sedativas, anti-envejecimiento y antiespasmódicas (Li et al., 2011; López, 2013), que posibilitan su aplicación en la industria cosmética, alimenticia o farmacológica (Ota y Yokoyama, 2010).

El uso de las hojas y arilo de algunas pasifloráceas en la industria farmacológica se asocia a la gran disponibilidad de componentes bioactivos (Rudnicki et al., 2007). A pesar de ello, estas investigaciones han sido selectivas e inclinadas hacia *Passiflora edulis* var. *Flavicarpa* (maracuyá) con estudios referentes a su caracterización química (Rudnicki et al., 2007; Sunitha y Devaki, 2009) y sus potenciales usos en la agroindustria (Malacrida y Neuza, 2012). Pero de *Passiflora maliformis* (cholupa) se tiene limitado conocimiento científico en cuanto a su caracterización química y funcionalidad biológica; la poca información existente es más bien transmitida a través del conocimiento popular (Barragán, 2010). *P. maliformis* es una planta trepadora originaria del departamento del Huila, donde la producción es significativamente de economía de pequeños productores. El fruto fresco se consume y utiliza en la industria de alimentos debido a su aporte de proteínas, carbohidratos y ácido ascórbico, lo que le confiere un valor nutritivo importante. Investigadores como Dhawan et al. (2003), muestran la utilización de los bejucos para el rejuvenecimiento de la piel y para el control de la presión arterial. Este estudio se propuso para conocer las características químicas y actividades biológicas del arilo, semilla y cáscara (pericarpio) de

*Passiflora maliformis* del Sur Macizo Colombiano y aportar de esta manera a su conocimiento y conocer su posible aplicación agroindustrial.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con frutos de *P. maliformis* (cholupa) en buen estado fitosanitario, colectados en la región montañosa del municipio de Rivera-Huila (2°46'N, 75°15'W, 25 °C, 62 % HR), ubicada en la vertiente occidental de la cordillera oriental, enclavada en el Sur Macizo Colombiano.

El material colectado se empaqué y transportó hasta el laboratorio en bolsas plásticas en donde se retiró el material orgánico en mal estado. Las cáscaras o pericarpios y las semillas se sometieron por separado a secado en estufa (42 °C, 3 días); seguidamente se trituró una porción de la muestra en un mortero y se pasó por un tamiz (2 mm), luego se trataron con etanol (96 %, proporción 1:10) la mezcla se sometió a agitación mecánica en baño maría (300 rpm, 40 °C, 3 horas).

Por otra parte, con la molturación del arilo del fruto se obtuvo una mezcla fina que al pasarla a través de un colador comercial de malla plástica (4 mm) permitió separar el zumo del residuo sólido; la subsecuente filtración al vacío del zumo dio un producto homogéneo, el cual se congeló a -80 °C y liofilizó. El zumo liofilizado y el extracto etanólico se almacenaron a -80 °C y 4 °C, respectivamente, en frascos de vidrio ámbar hasta su utilización. Todo el procedimiento anterior se aplicó tanto a *P. maliformis* como a *P. edulis*.

**Tamizaje fitoquímico inicial.** Se llevó a cabo para la obtención cualitativa de los compuestos fenólicos a partir del extracto etanólico de la cáscara y semilla de la fruta siguiendo las metodología recomendada por Lock (1994).

**Actividad antioxidante de los extractos etanólicos.** Se aplicó el método propuesto por Granados et al. (2012) con algunas modificaciones: se tomaron 17,5 mg de ABTS (ácido 2,2', azino-bis 3-etil benzotiazolina-6-sulfónico) y se disolvieron en 9,9 mL de agua destilada y 34 mg de persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ) disueltos en 1 mL de agua; luego se mezclaron estas dos soluciones para constituir la solución madre, la cual fue almacenada durante 24 horas en oscuridad; posteriormente se tomaron alícuotas de la solución madre con el radical

formado (ABTS<sup>+</sup>) que fueron diluidas con buffer fosfato (pH 7,4) hasta obtener una absorbancia ajustada de  $0,700 \pm 0,05$  a 734 nm. Se evaluaron los extractos a concentraciones de 312,5; 625; 1250; 2500; 5000 y 10.000  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  con tres réplicas, mezclando el radical y las soluciones a evaluar en proporción 1:5.

Con la solución que mostró la mayor capacidad de estabilización del radical se siguió la cinética durante 16 minutos, midiendo los valores de absorbancia cada minuto. En todos los casos se utilizó un espectrofotómetro Thermo Evolution 260 BIO UV-Vis. Mediante la siguiente ecuación, propuesta por Marquina et al. (2008), se calculó la capacidad de las muestras para estabilizar el radical ABTS<sup>+</sup>.

$$AEABTS = \left( \frac{A_{ABTS} - A_{6\text{min}}}{A_{ABTS}} \right) \cdot 100$$

donde:

AEABTS: Actividad estabilizante del radical ABTS<sup>+</sup>, en porcentaje

A<sub>ABTS</sub>: Absorbancia del ABTS<sup>+</sup> antes de agregar la muestra

A<sub>6 min</sub>: Absorbancia de la mezcla reaccionante a los 6 minutos

**Actividad citotóxica en leucocitos.** Esta determinación evaluó el posible efecto tóxico de los extractos etanólicos en humanos y se basó en el hecho que un compuesto citotóxico interfiere en el proceso de división y/o multiplicación celular. Dado que la capacidad de las células para reducir el compuesto bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol (MTT) constituye un indicador de la integridad de las mitocondrias, entonces su actividad funcional puede ser interpretada como una medida de la viabilidad celular (Reinecke y Helling, 2002).

La determinación evaluó la reducción metabólica del MTT por la enzima mitocondrial succinato-deshidrogenasa. La formación de un compuesto coloreado de color azul (formazán) permitió determinar la funcionabilidad mitocondrial de las células tratadas, en donde el nivel de células vivas es proporcional a la cantidad de formazán producido y refleja la citotoxicidad del producto.

Para el aislamiento de células mononucleares humanas (leucocitos) por gradiente de Ficoll, se aplicó el protocolo propuesto por el Laboratorio de Genómica Viral y Humana (2013), de la Universidad de San Luis Potosí, México. Para la

viabilidad celular y la reducción del MTT en leucocitos, se utilizó el método colorimétrico propuesto por Mosmann (1983). El MTT se disolvió en agua destilada y se obtuvo una solución madre ( $0,04 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) que sirvió para preparar diferentes concentraciones (312,5; 625; 1250; 2500; 5000 y  $10.000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) de cada extracto. Este ensayo fue realizado en microplacas de 96 pozos, en cada pozo se colocó 25  $\mu\text{L}$  de las soluciones diluidas, 25  $\mu\text{L}$  de los leucocitos separados y 50  $\mu\text{L}$  del MTT; la microplaca fue incubada a 37 °C, 2 h. Finalmente se añadió dimetilsulfóxido a todos los pozos y se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente para asegurar la disolución de los cristales de formazán, las placas se leyeron a 570 nm en un lector de microplacas Thermo Scientific UV/VIS Multiskan GO. La viabilidad celular se cuantificó utilizando la siguiente fórmula (Patel et al., 2009).

$$Viabilidad (\%) = \frac{(At - Ab)}{(Ac - Ab)} \cdot 100$$

donde:

At: Absorbancia de la muestra

Ab: Absorbancia del blanco

Ac: Absorbancia del control

**Actividad antibacteriana.** Para ampliar el espectro de agentes antibacterianos de los recursos naturales de interés en este trabajo, se seleccionaron tanto la cáscara y semilla como el zumo del fruto. La determinación se hizo por el método de microdilución en caldo nutritivo BHI (infusión cerebro-corazón) actualmente recomendado por el Clinical and Laboratory Standards Institute, empleando la metodología M7-A8 del CLSI (2012).

A partir de todas las partes vegetales del fruto (cáscara, semilla y zumo) a concentraciones de 312,5; 625; 1250; 2500; 5000 y  $10.000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  se evaluó el efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, obtenidas a partir de la colección del Laboratorio de Microbiología del Grupo de Investigación en Productos Naturales (Gipronut), de la Universidad del Tolima.

Los ensayos se efectuaron en microplacas de 96 pozos, tomando 50  $\mu\text{L}$  del inóculo del patógeno bacteriano ajustado a 0,5 en la escala de McFarland, 150  $\mu\text{L}$  de medio líquido (BHI) y 50  $\mu\text{L}$  de la muestra. Se utilizó como blanco el

medio BHI. Todas las soluciones fueron sometidas a incubación (37 °C, 12 h). El crecimiento bacteriano fue evaluado por espectrofotometría, midiendo los valores de absorbancia a 460 nm en el lector de microplacas y se determinó la pendiente (población bacteriana cada 12 h). El porcentaje de inhibición se calculó aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición (\%)} = \left( \frac{PcB - PcBM}{PcB} \right) \cdot 100$$

donde:

PcB: Pendiente de la cinética del crecimiento bacteriano.

PcBM: Pendiente de la cinética del crecimiento bacteriano frente a la acción de la muestra

**Actividad fúngica.** Las cepas escogidas para este ensayo fueron *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. y *Aspergillus niger*; obtenidas a partir de la colección del Laboratorio de Microbiología del Gipronut, y se aplicó la metodología M38-A2 del CLSI (2008). La determinación se hizo por el método de microdilución en caldo nutritivo SDB (Sabouraud Dextrose Broth) para cada inóculo, preparando suspensiones de esporas de los patógenos a una concentración de  $1 \times 10^4$  conidias  $\cdot \text{mL}^{-1}$  en tween 80 al 0,1 %. A partir de todas las partes vegetales del fruto (cáscara, semilla y zumo), se evaluó el efecto inhibitorio del crecimiento fúngico a concentraciones de 312,5- 625- 1250- 2500- 5000 y 10.000  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . Los ensayos se efectuaron en microplacas de 96 pozos, tomando 50  $\mu\text{L}$  del inóculo del patógeno fúngico, 150  $\mu\text{L}$  de medio líquido (SDB) y 50  $\mu\text{L}$  de la muestra. Se utilizó como blanco el medio SDB. Todas las soluciones fueron sometidas a incubación (27 °C, 24 h) durante 5 días. El crecimiento fúngico fue evaluado mediante espectrofotometría, midiendo los valores de absorbancia a 595 nm en el lector de microplacas y se determinó la pendiente (población fúngica/24 h). El porcentaje de inhibición se calculó aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición (\%)} = \left( \frac{PcF - PcFM}{PcF} \right) \cdot 100$$

donde:

PcF: Pendiente de la cinética del crecimiento fúngico

PcFM: Pendiente de la cinética del crecimiento fúngico frente a la acción de la muestra

Todos los ensayos se realizaron por triplicado

y fueron sometidas a la prueba de Tukey HSD utilizando programa estadístico Statgraphics XV centurión (Warrenton, VA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tamizaje fitoquímico inicial.** El reconocimiento de las particularidades fitoquímicas de los frutos de *Passiflora maliformis* y de *P. edulis* var. Flavicarpa, utilizado como referente, se observa en el Cuadro 1. Se aprecia la abundancia relativa de carbohidratos y de metabolitos secundarios de naturaleza fenólica: polifenoles (taninos) y no polifenólicos (flavonoides y pigmentos antociánicos), además de terpenos y antraquinonas. Importa mencionar que los compuestos de naturaleza fenólica y terpénica se distribuyen abundantemente en las partes vegetales analizadas. Es de destacar que los terpenos constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (Bruneton, 2001).

Se nota que los carbohidratos reductores y no reductores aparecen en forma abundante tanto en la cáscara como en la semilla y, aunque este tipo de metabolito no es parte del grupo de los secundarios, su análisis es explicable por cuanto muchos de los metabolitos secundarios aparecen en forma glicosidada en el citoplasma (fenoles, saponinas, cardiotónicos, antocianinas) (Bruneton, 2001), y la presencia o ausencia de los carbohidratos es determinante en la funcionalidad biológica evidenciada por los fitoconstituyentes.

Las semillas se mostraron como el mayor receptáculo de los taninos, en su mayoría condensados y algunos hidrosolubles. La presencia de taninos en la semilla evidencia su acción protectora de la continuidad de la especie a través de su actividad repelente (Bruneton, 2001). Los pigmentos hidrosolubles antociánicos, depositados en las vacuolas de las células vegetales, fueron evidentes en cáscara y semilla donde contribuyen al color de estas partes de los frutos.

Vasco et al. (2009) realizaron una investigación en algunos frutos ecuatorianos pertenecientes a la familia de las Rosaceae, Ericaceae y Passifloraceae para identificar y cuantificar los compuestos fenólicos responsables de su actividad antioxidante y entre los compuestos fenólicos encontrados, la antocianina cianidina estuvo presente en todos los frutos. Kong et al. (2003)

han reportado este tipo de antocianina con acción antioxidante, antialérgica, antiinflamatoria y anti-

hipertensiva, y de utilidad en el tratamiento de la artritis, diabetes y cáncer.

**Cuadro 1.** Análisis fitoquímico de los frutos de *Passiflora maliformis* y *P. edulis* var. Flavicarpa

Metabolitos	<i>P. maliformis</i>		<i>P. edulis</i> (referente)	
	Cáscara	Semilla	Cáscara	Semilla
Carbohidratos	++++	+++	++++	+++
Carbohidratos/Reductores	+++	++++	+++	++++
Fenoles	+	+	+	++
Taninos	++	++++	++	++++
Flavonoides	++	+++	+++	+++
Antocianinas	++	++	+	++
Terpenos	++	++++	+++	++
Antroquinonas	ND	++	ND	++

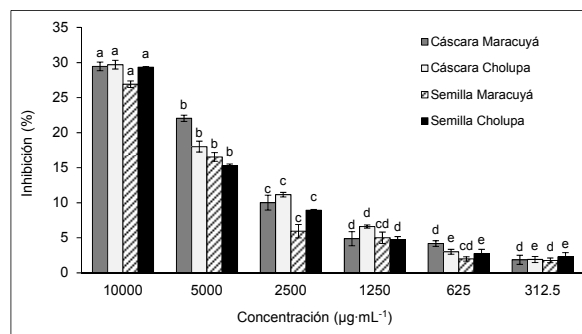
+++ Abundante, ++ abundancia moderada, + ausencia, ND no se detectan condiciones para esta prueba

**Actividad antioxidante de los extractos etanólicos.** La habilidad de respuesta de las muestras ensayadas frente al radical libre ABTS<sup>+</sup> aumentó a medida que aumentó la concentración del extracto (Figura 1). Se nota que los extractos provenientes de cáscara y semilla de la cholupa, en su máxima concentración, superaron ligeramente a los de maracuyá, aunque apenas alcanzaron valores cercanos al 30 %, sin mostrar diferencias importantes entre la cáscara y la semilla. A menores concentraciones, el extracto de la cáscara superó al de la semilla. Así mismo, la actividad de los extractos provenientes de la cáscara de maracuyá se reveló con mayor capacidad antioxidante que el de la semilla, fundamentalmente a las concentraciones más altas (10.000 a 2500 µg·mL<sup>-1</sup>).

Una explicación a la capacidad para estabilizar el radical ABTS<sup>+</sup> se atribuye a la naturaleza química, diversidad y concentración de los metabolitos secundarios presentes en los extractos. El análisis fitoquímico dejó ver abundancia relativa de metabolitos de naturaleza fenólica: taninos, flavonoides y pigmentos antocíánicos. Terpenos y antraquinonas fueron igualmente detectados abundantemente. Otras investigaciones también han asociado respuestas de bioactividad similares a las obtenidas en este ensayo con el contenido de compuestos fenólicos (Restrepo et al., 2009).

Además de la determinación de la capacidad (aptitud) de la funcionalidad del producto se estableció su potencialidad (eficiencia) para realizar la acción. Se encontró que los constituyentes de la cáscara y semilla de cholupa

poseen una ligera habilidad para captar radicales libres y bloquear en alguna etapa la cadena de oxidación una vez iniciada; su máxima capacidad la alcanzan en un tiempo de 6 a 11 minutos, superando tan solo en un 2 % al maracuyá en el mismo período de tiempo (Figura 2).

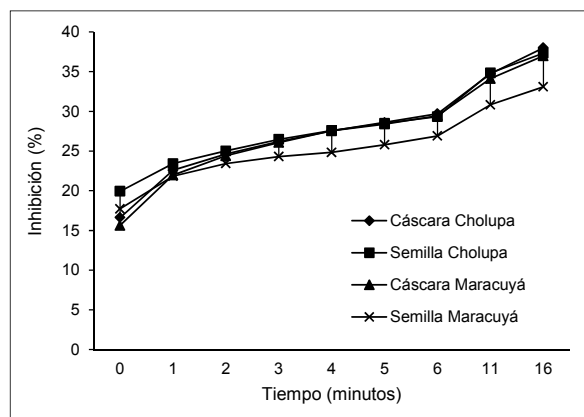


**Figura 1.** Inhibición del radical ABTS<sup>+</sup> ante diferentes concentraciones de los extractos del pericarpio y semilla de *Passiflora maliformis* y *P. edulis* var. Flavicarpa. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre las concentraciones de cada extracto, según la prueba de Tukey HSD ( $P \leq 0,05$ )

**Actividad citotóxica en leucocitos.** La viabilidad celular fue alta en los extractos de cholupa, con excepción del zumo en el que existió una citotoxicidad cercana al 25 %, especialmente en las concentraciones más altas del producto (Figura 3). Por su parte, el extracto de maracuyá presentó valores de citotoxicidad ligeramente inferiores que los de cholupa.

El hecho de que, en general, los extractos derivados de estas pasifloras no presentaron una

toxicidad superior al 10 %, permite suponer un incremento de su potencialidad en la agroindustria como base para utilizarse en el sector agroalimentario.



**Figura 2.** Cinética de los extractos del pericarpio y semilla de *Passiflora Maliformis* y *P. edulis* var. *Flavicarpa* a una concentración de  $10.000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  frente al radical  $\text{ABTS}^+$

**Actividad antibacteriana.** La inhibición promedio alcanzada por la mayor concentración del zumo y semilla de cholupa sobre el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* varió entre 83,86 y 100 %, superando en esta actividad a maracuyá (Cuadro 2). En el caso de *Staphylococcus aureus*, la inhibición fue alta para la semilla pero baja para el zumo, sin diferencias importantes entre ambas pasifloras. La prueba permitió descartar la cáscara como producto con actividad antibacteriana dado que el porcentaje de inhibición fue menor a 2,01 % en todos los casos.

La cholupa mostró mayor potencial bacteriostático que el maracuyá, siendo la semilla la parte vegetal de mayor actividad con un valor de inhibición promedio muy alto para las tres especies bacterianas (99,1 %). En el caso del zumo, el promedio de inhibición fue de 79,0 %.

Se ha reportado el uso de diversos extractos vegetales como fuentes de compuestos bioactivos capaces de inhibir en un gran porcentaje estas cepas bacterianas (Franco et al., 2013), actividad que es debida a la capacidad de los constituyentes para formar complejos con las proteínas extracelulares solubles, especialmente los de naturaleza fenólica, y generar complejos con las paredes celulares bacterianas; además, estos

metabolitos secundarios poseen la capacidad para inactivar adhesinas microbianas, enzimas y proteínas de transporte de la envoltura celular (Cruz et al., 2001). Estos compuestos bioactivos pueden ser una nueva fuente de agentes antimicrobianos con, posiblemente, nuevos mecanismos de acción.

**Actividad antifúngica.** Ninguna de las dos especies de *Passiflora* mostró inhibición de *Aspergillus niger* en los rangos de concentraciones probadas, pero ambas especies inhibieron el crecimiento de *Fusarium* sp., con un valor promedio de 67,68 % cuando se usó la dosis mayor del extracto de cáscara y semilla de cholupa (Cuadro 3). *Penicillium* sp. fue controlado por el zumo y por las dosis altas del extracto de la semilla de ambas especies. Sin embargo, el hongo no pudo ser controlado por el extracto de la cáscara de cholupa.

La actividad inhibitoria de todas las partes vegetales de *P. maliformis* frente a *Fusarium* sp. fue superior al 50 %, incluso en la concentración más baja del extracto. En el caso de *Penicillium* sp. la actividad inhibitoria se presentó a concentraciones altas (a partir de  $5000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  del producto).

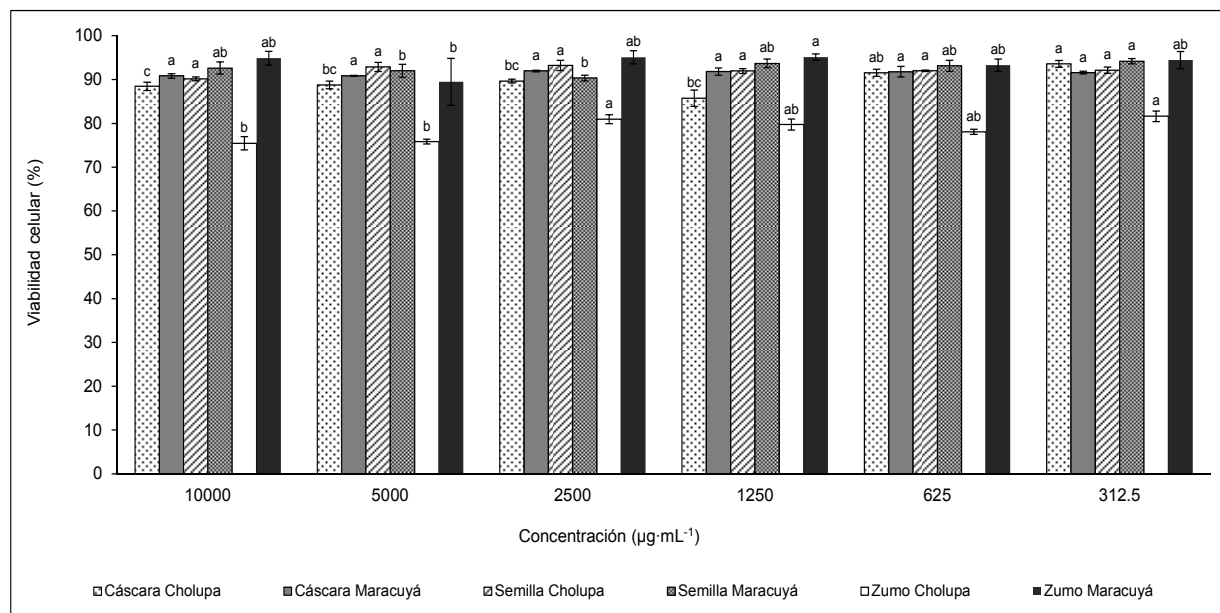
La bioactividad enfocada en cada especie frutal deja ver a cholupa con menor potencial antifúngico que maracuyá, donde la semilla se reveló como la parte vegetal de mayor actividad promedio. La menor actividad contra *Penicillium* sp. la evidenció el zumo de ambas especies.

La capacidad y el potencial de un antifúngico están determinados principalmente por el mecanismo concreto de acción, algunos están basados en un trabajo letal y son denominados fungicidas, y otros en acción de control que impide el desarrollo vegetativo de los hongos y son denominados fungistáticos (Agrios, 2004). Cualesquiera que sean los mecanismos de acción, las sustancias bioactivas con actividad antimicótica son muy variables debido a que pueden utilizar varias rutas con el fin de ejercer su función, ya sea oxidando, reduciendo, precipitando ciertas proteínas, intoxicando enzimas, inhibiendo determinadas enzimas o produciendo cambios osmóticos (Agrios, 2004).

El uso de moléculas biológicamente activas derivadas de plantas ha tenido un gran impacto en el campo de la microbiología, específicamente en la bacteriología. El área de la micología

despierta gran interés dado a la gran capacidad que tienen los hongos de estar bien adaptados para utilizar una gran variedad de sustratos como fuente de carbono, nitrógeno y energía, lo cual ha dificultado su control (Cramer y

Blazer, 2002), afectando la pre y poscosecha de los cultivos de hortalizas, cereales y frutas, siendo éstos los responsables de pérdidas económicas cuantiosas y pérdidas de producción biológica (Agrios, 2004).



**Figura 3.** Viabilidad celular ante el uso de componentes del fruto de *Passiflora maliformis* y *P. edulis* var. *Flavicarpa* en diferentes concentraciones. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre las concentraciones de cada extracto, según la prueba de Tukey HSD ( $P \leq 0,05$ )

**Cuadro 2.** Inhibición del crecimiento (actividad antibacterial) de diferentes concentraciones de componentes del fruto de *Passiflora maliformis* y *P. edulis* var. *Flavicarpa* frente a *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*

Concentración ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	Inhibición (%)					
	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		<i>Escherichia coli</i>	
	<i>Passiflora maliformis</i>					
	Zumo	Semilla	Zumo	Semilla	Zumo	Semilla
100	4,00 c	4,31 bc	5,57 d	3,94 c	7,89 bc	0,00 b
250	12,32 c	1,98 c	6,29 d	3,05 c	7,71 bc	3,56 ab
500	9,35 c	0,00 c	6,11d	10,25 bc	13,41 b	4,62 ab
1000	14,09 c	0,00 c	15,69 cd	6,98 c	11,70 b	2,84 ab
2000	3,85 c	11,05 b	21,19 c	17,77 b	6,51 bc	2,15 ab
5000	37,31 b	97,44 a	77,25 b	95,59 a	1,14 c	30,18 a
10.000	58,98 a	-	95,16 a	-	83,86 a	-

<i>Passiflora edulis</i> var. Flavicarpa						
	Zumo	Semilla	Zumo	Semilla	Zumo	Semilla
100	0,00 b	0,00 c	6,79 d	2,33 d	1,19 c	0,00 b
250	0,14 b	0,00 c	10,36 cd	8,64 cd	13,83 bc	1,37 b
500	0,00 b	0,00 c	11,36 cd	9,92 cd	13,14 bc	0,00 b
1000	0,00 b	0,00 c	12,07 cd	14,49 c	17,51 bc	0,00 b
2000	2,60 b	8,42 b	18,72 c	26,07 b	23,45 bc	3,08 b
5000	49,69 a	93,17 a	62,51 b	81,27 a	26,22 b	80,17a
10.000	54,44 a	-	79,78 a	-	62,72 a	-

Letras iguales en cada columna indican que no existen diferencias significativas, según la prueba de Tukey HSD ( $P \leq 0,05$ )

**Cuadro 3.** Inhibición del crecimiento (actividad antifúngica) de diferentes concentraciones de componentes del fruto de *Passiflora maliformis* y *P. edulis* var. Flavicarpa frente a *Penicillium* sp., *Aspergillus niger* y *Fusarium* sp.

Concentración ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	Inhibición (%)								
	<i>Penicillium</i> sp.			<i>Fusarium</i> sp.			<i>Aspergillus niger</i>		
	<i>Passiflora maliformis</i>								
	Zumo	Pericarpio	Semilla	Zumo	Pericarpio	Semilla	Zumo	Pericarpio	Semilla
100	1,29 ab	0,00	0,00 c	77,86 a	75,26 a	74,01 ab	0,00	0,00	0,00
500	24,68 ab	0,00	0,00 c	76,78 a	74,44 ab	75,57 ab	0,00	0,00	0,00
1000	19,84 ab	0,00	0,00 c	77,30 a	67,35 abc	77,35 a	0,00	0,00	0,00
2000	0,00 b	0,00	3,38 c	78,76 a	67,81 abc	74,67 ab	0,00	0,00	0,00
5000	29,29 ab	0,00	20,16 b	80,26 a	66,29 bc	77,68 a	0,00	0,00	0,00
10.000	31,35 a	0,00	44,84 a	80,40 a	60,27 c	71,28 b	0,00	0,00	0,00

<i>Passiflora edulis</i> var. Flavicarpa									
	Zumo	Pericarpio	Semilla	Zumo	Pericarpio	Semilla	Zumo	Pericarpio	Semilla
100	2,55 b	64,69 a	0,00 d	76,40 a	75,45 a	77,72 a	0,00	0,00	0,00
500	6,54 b	48,10 a	0,00 d	75,74 a	75,60 a	76,05 a	0,00	0,00	0,00
1000	6,76 b	68,66 a	0,00 d	74,28 ab	75,41 a	77,07 a	0,00	0,00	0,00
2000	0,00 b	70,74 a	36,92 c	70,29 ab	72,56 ab	72,50 a	0,00	0,00	0,00
5000	35,09 a	79,56 a	71,37 b	68,33 b	71,39 b	71,17 a	0,00	0,00	0,00
10.000	31,21 a	48,99 a	81,61 a	69,70 ab	68,84 b	71,56 a	0,00	0,00	0,00

Letras iguales en cada columna indican que no existen diferencias significativas, según la prueba de Tukey HSD ( $P \leq 0,05$ )

## CONCLUSIONES

El análisis fitoquímico inicial mostró abundante contenido de taninos, pigmentos antocianicos, así como fitocompuestos de naturaleza terpénica. De igual manera, se observó que la funcionalidad antioxidante, citotóxica y actividad antimicrobiana reveladas responden a los extractos etanólicos de *Passiflora maliformis*. Estos efectos asocian las particularidades químicas con la bioactividades y el bajo riesgo para la salud.

El estudio se constituye en uno de los pocos realizados en Colombia en este campo al establecer, desde el punto de vista biológico, las potencialidades de aplicación industrial o medicinal de la cholupa proveniente del Sur Macizo Colombiano.

## AGRADECIMIENTO

A la Universidad del Tolima, a la Facultad de Ciencias, al Programa de Biología y especialmente al Grupo de Investigación de Productos Naturales (Gipronut).

## LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 2004. Plant Pathology. Academic Press. New York.
- Barragán, A. 2010. Programa de productividad y competitividad agropecuaria del Huila (N° 5). <http://www.huila.gov.co/> (consulta del 08/01/2016).
- Bruneton, J. 2001. Farmacognosia, Fitoterapia y Plantas Medicinales. Editorial Acribia. Madrid.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2008. Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). Revista Iberoamericana de Microbiología. 15a1- 15b6.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2012. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. CLSI document M02-A11. Wayne, PA.
- Cramer, R. y K. Blaser. 2002. Allergy and immunity to fungal infections and colonization. Eur. Respir. J. 19: 151-157.
- Cruz, J., M. Domínguez, H. Domínguez y J. Pájaro. 2001. Antioxidant and antimicrobial effects of extracts from hydrolysates of lignocellulosic materials. J Agric. Food Che. 46: 2459-2464.
- Dhawan, K., S. Kumar y A. Sharma. 2003.



- Aphrodisiac activity of methanol extract of leaves of *Passiflora incarnata* Linn. InterScience 17: 401-403.
9. Franco-Ospina, L.A., G.E. Matiz-Melo, I.B. Pájaro-Bolívar y H.A. Gómez-Estrada. 2013. Actividad antibacteriana *in vitro* de extractos y fracciones de *Physalis peruviana* L. y *Caesalpinia pulcherrima* (L.) Swartz. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 12(3): 230-237.
  10. Granados-Conde, C., X. Yáñez-Rueda y G.G. Santafé-Patiño. 2012. Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Calycolpus moritzianus* y *Minthostachys mollis* de Norte de Santander. Revista de la Facultad de Ciencias Básicas 10(1): 12-23.
  11. Jiménez, A.M., C.A. Sierra, F.J. Rodríguez-Pulido, M.L. González-Miret, F.J. Heredia y C. Osorio. 2011. Physicochemical characterization of Gulupa (*Passiflora edulis* Sims. *edulis*) fruit from Colombia during the ripening. Food Research International 44: 1912-1918.
  12. Kong, Q.P., Y.G. Yao, C. Sun, H.J. Bandelt, C.L. Zhu y Y.P. Zhang. 2003. Phylogeny of East Asian mitochondrial DNA lineages inferred from complete sequences. Am. J. Hum. Genet. 73: 671-676.
  13. Laboratorio de Genómica Viral y Humana. (2013). Aislamiento de Células Mononucleares Humanas por gradiente de Ficoll. (Protocolo y métodos). Universidad de San Luis Potosí, México. 2 p.
  14. Li, H., P. Zhoua, Q. Yanga, Y. Shena, J. Deng, L. Li y D. Zhaod. 2011. Comparative studies on anxiolytic activities and flavonoid compositions of *Passiflora edulis* Edulis and *Passiflora edulis* Flavicarpa. Ethnopharmacology 133: 1085-1090.
  15. Lock, O. 1994. Métodos de Estudios de Productos Naturales. Fondo Editorial. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima. 300 p.
  16. López-Vargas, J.H., J. Fernández, J. A. Pérez y M. Viuda. 2013. Chemical, physico-chemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of dietary fiber powder obtained from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. Flavicarpa) co-products. Food Research International 51: 756-763.
  17. Malacrida, C. y J. Neuza. 2012. Yellow passion fruit seed oil (*Passiflora edulis* f. Flavicarpa): Physical and chemical characteristics. Brazilian Archives of Biology and Technology 55(1): 127-134.
  18. Marquina, V., L. Araujo, J. Ruiz, A. Rodríguez-Malaver y P. Vit. 2008. Composición química y capacidad antioxidante en fruta, pulpa y mermelada de guayaba (*Psidium guajava* L.). Archivos Latinoamericanos de Nutrición 58(1): 98-102.
  19. Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. Journal of Immunological Methods 65(1): 55-63.
  20. Ota, M. y M. Yokoyama. 2010. Chemistry of cosmetics. Development & Modification of Bioactivity 3: 317-349.
  21. Patel, S., N. Gheewala, A. Suthar y A. Shah. 2009. *In-vitro* cytotoxicity activity of *Solanum nigrum* extract against hela cell line and vero cell line. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 1(1): 38-46.
  22. Reinecke, S. A. y B. Helling. 2002. Lysosomal response of earthworm (*Eisenia foetida*), coelomocytes to the fungicide copper oxychloride and relation to life-cycle. Environmental Toxicology Chemistry 21: 1026-1031.
  23. Restrepo-Sánchez, D.C., C.E. Narváez-Cuenca y L.P. Restrepo-Sánchez. 2009. Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Santander, Colombia. Quím. Nova 32(6): 1517-1522.
  24. Rudnicki, M., M. Oliveira, T. Pereira, F. Reginatto, F. Dal y J. Moreira. 2007. Antioxidant and antiglycation properties of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* extracts. Food Chemistry 100: 719-724.
  25. Stevens, P.F. 2012. Angiosperm Phylogeny Website. <http://www.mobot.org/mobot/research/apweb/welcome.html> (consulta del 08/01/2016).
  26. Sunitha, M. y K. Devaki. 2009. Antioxidant

activity of *Passiflora edulis* Sims leaves.  
Indian J. Pharm. Sci. 71(3): 310-311.

27. Vasco, C., K. Riihinen, J. Ruales y E. Kamal.

2009. Phenolic compounds in Rosaceae fruits  
from Ecuador. J. Agric. Food Chem. 57: 1204-  
1212.