



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE GUAYAQUIL**

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGIA

TRABAJO EXPERIMENTAL

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS EXTRACTOS
HIDROALCOHÓLICOS DE *VASCONCELLEA PARVIFLORA* UBICADA EN EL
CAMPUS MARÍA AUXILIADORA DE LA UNIVERSIDAD
POLITÉCNICA SALESIANA**

*Trabajo de titulación previo a la Obtención del
Título de Ingeniera en Biotecnología*

AUTORES:

DAHIANA DENISSE MORÁN CEDEÑO
CAMILA SULAY PIN COBOS

TUTOR:

JAIRO JOEL JAIME CARVAJAL, MSC

GUAYAQUIL – ECUADOR

2024

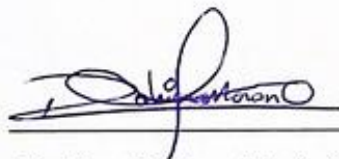
CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotros, Dahiana Denisse Morán Cedeño con documento de identificación N° 0931263008 y Camila Sulay Pin Cobos con documento de identificación N° 0953250909; manifestamos que:

Somos las autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Guayaquil, 12 de marzo del año 2024

Atentamente,



Dahiana Denisse Morán Cedeño

CI: 0931263008



Camila Sulay Pin Cobos

CI: 0953250909

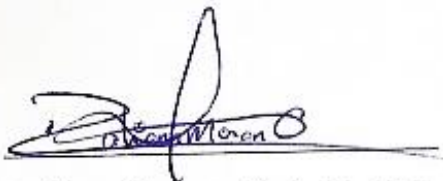
**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, Dahiana Denisse Moran Cedeño con documento de identificación No. 0931263008 y Camila Sulay Pin Cobos con documento de identificación No. 0953250909, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del proyecto de investigación: "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *VASCONCELLEA PARVIFLORA* UBICADA EN EL CAMPUS MARÍA AUXILIADORA DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA", el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniero/a en Biotecnología*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

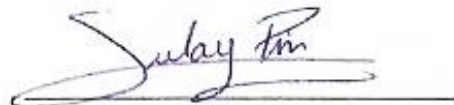
Guayaquil, 12 de marzo del año 2024

Atentamente,



Dahiana Denisse Morán Cedeño

CI: 0931263008



Camila Sulay Pin Cobos

CI: 0953250909

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Jairo Joel Jaime Carvajal con documento de identificación N° 1207482108, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE *VASCONCELLEA PARVIFLORA* UBICADA EN EL CAMPUS MARÍA AUXILIADORA DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA", realizado por Dahiana Denisse Moran Cedeño con documento de identificación No. 0931263008 y por Camila Sulay Pin Cobos con documento de identificación No. 0953250909, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 12 de marzo del año 2024

Atentamente,



Jairo Joel Jaime Carvajal, Msc
CI: 1207482108

Dedicatoria

A Dios, por ser nuestro guía e iluminar nuestro camino en los momentos de dificultad y otorgarnos el don de la sabiduría.

A nuestra familia, por habernos acompañado durante el transcurso de nuestra vida académica, por todo el amor y apoyo en los momentos de dificultad.

Dahiana Morán y Camila Pin.

Agradecimiento

Expresamos nuestro más sincero agradecimiento a nuestra familia y amigos que siempre nos han apoyado en todo y nos han acompañado durante este proceso llamado Universidad.

A mi increíble compañera, Dahiana Morán, la que estuvo para mí en todo momento, en las buenas y en las malas, sin duda la mejor decisión que pude tomar aparte de elegir esta carrera fue elegirte a ti como mi amiga y compañera.

A mi leal compañera y amiga, Camila Pin, quien ha sido una valiosa compañía durante mi formación profesional, una consejera nata y confiable, siempre otorgándome una hermosa sonrisa en los momentos de oscuridad. Le agradezco al destino por habernos cruzado y aunque nuestro primer encuentro haya sido virtual es la mejor persona que la vida me pudo regalar.

A los docentes, Jairo Jaime, Alejandra de la Cruz y Kevin Cedeño por brindarnos su sabiduría y paciencia en cada paso de nuestra investigación.

Agradecemos a la Universidad Politécnica Salesiana y al proyecto “Caracterización fitoquímica mediante cromatografía líquida (HPLC) de especies representativas al remanente boscoso seco tropical del campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana sede Guayaquil (fitoquímica)”

Dahiana Morán y Camila Pin.

RESUMEN

La especie *Vasconcellea parviflora* (fosforillo), presente en el bosque seco tropical es caracterizada por presentar colores singulares en su morfología. El presente estudio investigativo tuvo como objetivo realizar el tamizaje fitoquímico para observar metabolitos secundarios de manera cualitativa en hoja, tallo, raíz y evaluar la actividad biológica de la planta *Vasconcellea parviflora*, mediante metodologías como DPPH para la actividad antioxidante y micro dilución para la actividad antimicrobiana. Los metabolitos secundarios identificados en la prueba de tamizaje fitoquímico de todas las muestras de extractos hidroalcohólicos y acetato de etilo encontrados fueron, alcaloides, flavonoides, flavonas, auronas, cumarinas y carbohidratos, observando mejores resultados en los extractos hidroalcohólicos. Para la cuantificación de antioxidantes se empleó el ensayo DPPH y utilizando como estándar una solución Trolox, se obtuvo un valor de 0,48 mmol Trolox/g que indica actividad antioxidante de moderada a alta, lo que significa que *Vasconcellea parviflora* es una potencial fuente natural de antioxidantes, mientras que la actividad biológica se determinó la concentración mínima inhibitoria (MCI) de los extractos vegetales en inculo bacteriano de *Escherichia coli* ATTC 8739 mediante la técnica de micro dilución, obteniendo una baja actividad antimicrobiana en los extractos de acetato de etilo correspondientes a hoja y raíz con un porcentaje de inhibición de 58% y 40% frente a la bacteria *Escherichia coli*. En conclusión, estudios realizados en la especie *Vasconcellea parviflora* indican su potencial uso en aplicaciones biotecnológicas.

Palabras claves: *Vasconcellea parviflora*, tamizaje fitoquímico, DPPH, CMI, micro-dilución.

ABSTRAC

The species *Vasconcellea parviflora* (fosforillo), present in the tropical dry forest, is characterized by presenting unique colors in its morphology. The objective of this research study was to carry out phytochemical screening to qualitatively observe secondary metabolites in the leaf, stem, root and evaluate the biological activity of the *Vasconcellea parviflora* plant, using methodologies such as DPPH for antioxidant activity and micro dilution for antimicrobial activity. The secondary metabolites identified in the phytochemical screening test of all the samples of hydroalcoholic extracts and ethyl acetate found were alkaloids, flavonoids, flavones, aurones, coumarins and carbohydrates, observing better results in the hydroalcoholic extracts. For the quantification of antioxidants, the DPPH assay was used and using a Trolox solution as a standard, a value of 0.48 mmol Trolox/g was obtained, which indicates moderate to high antioxidant activity, which means that *Vasconcellea parviflora* is a potential natural source. of antioxidants, while the biological activity was determined by the minimum inhibitory concentration (MCI) of the plant extracts in bacterial inoculum of *Escherichia coli* ATTC 8739 using the microdilution technique, obtaining a low antimicrobial activity in the ethyl acetate extracts corresponding to leaf and root with an inhibition percentage of 58% and 40%. In conclusion, studies carried out on the species *Vasconcellea parviflora* indicate its potential use in biotechnological applications.

Keywords: *Vasconcellea parviflora*, phytochemical screening, DPPH, MIC, micro-dilution.

ÍNDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	3
1.1. Problema de investigación	3
1.2. Delimitación	3
1.3. Pregunta de investigación	4
1.4. Justificación, importancia e impacto	4
1.5. Objetivos	5
Objetivo general.....	5
Objetivos específicos.....	5
1.6. Hipótesis	5
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO	6
2.1. Antecedentes	6
2.2. Fundamentos teóricos	7
2.2.1. <i>Vasconcellea parviflora</i>	7
2.2.2. Origen y distribución	8
2.2.3. Taxonomía y morfología	8
2.2.4. Metabolitos Primarios.....	8
2.2.5. Metabolitos secundarios	9
2.2.5.1. Compuestos grasos	9
2.2.5.2. Alcaloides	9

2.2.5.3.	Saponinas	10
2.2.5.4.	Flavonoides	10
2.2.5.5.	Compuestos fenólicos	11
2.2.5.6.	Azúcares reductores	11
2.2.5.7.	Cumarinas	11
2.2.5.8.	Antocianinas	11
2.2.5.9.	Quinonas	12
2.3.	Fundamentos técnicos de obtención de extractos	12
2.3.1.	Maceración	12
2.3.2.	Destilación	12
2.3.3.	Decantación	13
2.3.4.	Evaporación	13
2.4.	Actividad biológica	13
2.4.1.	Actividad antimicrobiana	13
2.4.2.	Actividad antioxidante	14
2.4.3.	Actividad antifúngica	14
CAPITULO III: METODOLOGÍA		15
3.1	Ubicación geográfica	15
3.2	Variables	15
3.2.1	Variables dependientes	15
3.2.2	Variables independientes	15

3.2.3	Variables de control	16
3.3	Recolección de datos.....	16
3.4	Desinfección y preparación del material vegetal.....	16
3.5	Protocolo de tamizaje fitoquímico	16
3.5.1.	Obtención de extractos por método soxhlet.....	16
3.5.2.	Rotavapor.....	17
3.5.3.	Tamizaje fitoquímico	18
3.6	Protocolo de actividad antioxidante	20
3.6.1	Obtención de extractos.....	20
3.6.2	Rotavapor.....	21
3.6.3	Preparación de solución DPPH y Trolox	21
3.6.4	Curva de calibración.....	21
3.7	Protocolo de actividad antimicrobiana	22
3.8.1	Preparación de las concentraciones de los extractos de <i>Vasconcellea parviflora</i> , terpineol y penicilina.	23
3.8.2	Preparación del medio de cultivo.....	24
3.8.3	Reactivación de la cepa	24
3.8.4	Estandarización del inóculo bacteriano	24
3.8.5	Inoculación en placas multipocillo.....	24
3.8.6	Preparación del colorante cloruro de trifeniltetrazolio (TTC)	25
3.8.7	Lector de microplacas	25

CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
4.1. Determinación de metabolitos secundarios de los extractos hidroalcohólicos mediante tamizaje fitoquímico.	26
4.2. Cuantificación de la capacidad antioxidante de <i>Vasconcellea parviflora</i> empleando el método DPPH mediante espectrofotometría UV-VIS.	28
4.3. Evaluación de la actividad antimicrobiana de la bacteria <i>Escherichia coli</i> mediante técnica de micro dilución.	30
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	34
5.1 Conclusiones	34
5.2 Recomendaciones	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXOS	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>Vasconcellea parviflora</i>	8
Tabla 2. Extractos hidroalcohólicos y de acetato de etilo	17
Tabla 3. Cantidad de material vegetal en dedales	17
Tabla 4. Identificación de tipos de flavonoides	19
Tabla 5. Cuantificación de DPPH.....	21
Tabla 6. Diluciones para lectura en espectrofotómetro	22
Tabla 7. Concentración de extractos vegetales al 20%	23

Tabla 8. Filas y columnas en placa multi pocillo	25
Tabla 9. Tamizaje fitoquímico de los extractos de Vasconcellea parviflora.....	26
Tabla 10. Actividad antioxidante de los extractos de Vasconcellea parviflora	29
Tabla 11. Interpretación de valores de la concentración mínima inhibitoria en µg/mL.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Coordenadas de recolección de la especie vegetal.	15
Figura 2. Curva de calibración de la capacidad antioxidante presente en Vasconcellea parviflora	28
Figura 3. Curva de porcentaje de inhibición presente en la hoja de Vasconcellea parviflora ..	31
Figura 4. Curva de porcentaje de inhibición presente en la raíz de Vasconcellea parviflora ...	32
Figura 5. Curva de porcentaje de inhibición presente en terpineol (control)	32
Figura 6. Curva de porcentaje de inhibición presente en penicilina (control)	33

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Material vegetal de Vasconcellea parviflora (Hoja, tallo y raíz)	48
Anexo 2. Soxhlet de hoja, raíz y tallo	48
Anexo 3. Extracto sometido a rotavapor	49
Anexo 4. Extractos hidroalcohólicos y de acetado de etilo.....	49
Anexo 5. Tamizaje fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos y de acetato de etilo	50
Anexo 6. Soluciones de DPPH para evaluar actividad antioxidante.....	50

Anexo 7. Evaluación antimicrobiana de <i>Vasconcellea parviflora</i>	51
Anexo 8. Materiales, equipos y reactivos	52
Anexo 9. Protocolo para lavado de materiales	53

INTRODUCCIÓN

El bosque seco tropical, caracterizado por su vegetación adaptada a la variación de condiciones climáticas, representa un ecosistema de gran relevancia científica y ambiental en la geografía global (González, Isaacs, & Pizano, 2014). Estos en conjunto albergan una biodiversidad única, desempeñan funciones ecológicas cruciales en la mitigación del cambio climático y la conservación de especies. Según el Ministerio del Ambiente (MAE), en Ecuador los bosques secos se encuentran en varias provincias donde se promueve el uso sostenible y la conservación de la biodiversidad reflejando el compromiso por preservar los entornos naturales (MAE, 2012). Aunque los ecosistemas de bosques secos enfrentan amenazas mundiales, en Ecuador se les brinda protección y cuidado.

El campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana presente en la ciudad de Guayaquil, cuenta con una infinidad de especies, entre las cuales se encuentra *Vasconcellea parviflora* (fosforillo) destacándose por sus flores de color característico, que añaden un toque de belleza y singularidad a su entorno (Naranjo, Barcos, Pino, & Sornoza, 2019). En este contexto, su presencia emerge como una prometedora fuente de compuestos fitoquímicos con potenciales beneficios aplicables a la industria biotecnológica. Esta especie es conocida por su adaptación a condiciones climáticas áridas, con baja disponibilidad de agua y altas temperaturas. Sus características morfológicas y fisiológicas le permiten sobrevivir en este tipo de ambiente. (Molina, Morán, & Fabara, 2022). Sus flores pueden presentar una variedad de colores, que van desde tonos vibrantes hasta tonos más sutiles, lo que la convierte en un elemento llamativo dentro de este ecosistema tropical.

Analizar la actividad biológica tiene el objetivo de evaluar el riesgo asociado con fitopatógenos, incluyendo el material vegetal escogido y las denominadas “malas hierbas”. Este

proceso, conocido como “bioseguridad” tiene la finalidad de identificar y caracterizar todos los factores que podrían afectar la salud de los seres vivos y el medio ambiente. Por tal motivo, estos ensayos se realizaron al trabajar y experimentar con una especie poco estudiada (Al-Eitan & Alnemri, 2022).

Se realizaron dos actividades biológicas, entre ellas se encuentra la actividad antioxidante que se hizo mediante el método DPPH, que sirve para medir la capacidad de una solución para eliminar radicales libres, este ensayo se llevó a cabo únicamente con la solución hidroalcohólica que previamente paso por el equipo de rotavapor, con ayuda de la curva de calibración se observó cual tuvo mejor capacidad antioxidante del extracto de *Vasconcellea parviflora* (Flieger, Flieger, Baj, & Maciejewski, 2021). La actividad antimicrobiana se llevó a cabo con la metodología de micro dilución para saber su capacidad mínima inhibitoria (MIC) de los extractos hidroalcohólicos y acetato de etilo donde también pasaron previamente por el equipo de rotavapor, en este ensayo se buscaba saber cuál de las dos soluciones de extracto daban un mejor resultado inhibiendo el crecimiento de la bacteria *Escherichia coli*. (Cobo-Simón, Hart, & Ochman, 2023)

A medida que avanza la riqueza botánica de la región, se despliega ante nosotros un camino hacia el descubrimiento y desarrollo de nuevos recursos naturales para mejorar la calidad de vida, representando un paso crucial en la búsqueda de soluciones innovadoras sostenibles en el cambio de la biotecnología. El presente trabajo de investigación se centra en la determinación de los compuestos fitoquímicos presentes en *Vasconcellea parviflora*, con el objetivo de determinar su actividad biológica y aprovechar las potenciales propiedades de la especie vegetal.

CAPÍTULO I: IDENTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

1.1. Problema de investigación

La biodiversidad es esencial para la vida en la tierra, pero muchas especies endémicas carecen de estudios, enfrentan amenazas por las actividades humanas y cambio climático. En Ecuador, se ha identificado una especie endémica con escasa documentación científica, lo cual obstaculiza su conservación y uso etnobotánico que la industria puede aprovechar.

El género *Vasconcellea spp.* Se ha utilizado con diversos fines alimenticios y medicinales, es un recurso valioso en la búsqueda de compuestos con propiedades farmacognósticas. Muchas de estas vegetaciones endémicas aún no se han estudiado desde un enfoque biotecnológico, lo que limita la comprensión de su potencial uso y conservación para la biodiversidad local. Este proyecto de investigación buscara abordar las brechas del conocimiento al analizar una especie endémica y explorar sus posibles aplicaciones.

1.2. Delimitación

La familia Vasconcellea es un tipo de flora que crece en temporada lluviosa, por lo tanto, necesita de humedad para que florezca y se desarrolle completamente, además que en la ciudad de guayaquil solo ha sido encontrada en la Universidad Politécnica Salesiana y dos bosques más, también falta de información y conocimiento acerca de esta planta lo cual nos limita a la hora de realizar la metodología.

1.3. Pregunta de investigación

¿Qué actividad biológica exhibe la especie de *Vasconcellea parviflora* estudiada en el campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana, que podría contribuir al desarrollo de nuevos fármacos o productos naturales?

1.4. Justificación, importancia e impacto

En Ecuador, se encuentra la especie *Vasconcellea parviflora* la cual pertenece a la familia Caricácea (Caricaceae). El 70% de la identificación de esta especie vegetal está presente en Ecuador, siendo reportado en provincias como Azuay, Loja, Zamora Chinchipe, El Oro y Bolívar, teniendo 11 especies diferentes de las cuales cinco son endémicas y han sido colocadas en la ListaAl Roja de Especies Amenazadas por la Unión Internacional para la conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales (UICN) (Peña, Villena, Aguirre, & Merino, 2017).

Debido a esto se han realizado diversos estudios acerca de estas, como *Vasconcellea stipulata* (Toronche) que fue utilizada como un excelente ablandador de carne de res (Soto I. E., 2016). Por otro lado, tenemos a *Vasconcellea pubescens* (papayuela) el cual es exportado al sureste asiático, donde su fruto es utilizado como ingrediente principal para la elaboración de alimentos tradicionales (Guerra, Cevallos-Cevallos, Weckx, & Ruales, 2020) y por último *Vasconcellea candicans* (Mito) que es empleado como un cicatrizante gracias al látex extraído de dicha especie, teniendo una aplicación tópica en el área farmacéutica (Gutiérrez & Cruz, 2017).

Por esta razón se busca darle otro enfoque a *Vasconcellea parviflora* al llevar a cabo una caracterización fitoquímica adentrando la investigación hacia la industria biotecnológica, según los resultados cualitativos y cuantitativos obtenidos al evaluar su actividad biológica.

1.5. Objetivos

Objetivo general

Evaluar la actividad biológica de los extractos hidroalcohólicos de *Vasconcellea parviflora* ubicada en el campus María Auxiliadora de la Universidad Politécnica Salesiana.

Objetivos específicos

1. Determinar los metabolitos secundarios de los extractos hidroalcohólicos mediante tamizaje fitoquímico.
2. Cuantificar la capacidad antioxidante de *Vasconcellea parviflora* empleando el método DPPH mediante espectrofotometría UV-VIS.
3. Evaluar la actividad antimicrobiana de la bacteria *Escherichia coli* mediante técnica de micro dilución.

1.6. Hipótesis

Hipótesis nula

Los extractos de la especie *Vasconcellea parviflora* no presentan metabolitos secundarios y actividad biológica.

Hipótesis alternativa

Los extractos de la especie *Vasconcellea parviflora* presentan metabolitos secundarios y actividad biológica.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

La familia Caricácea, a la que pertenece *Vasconcellea parviflora*, es una pequeña familia que conlleva seis géneros y 36 especies. Alphonse De Candolle fue un gran botánico suizo el cual dividió la familia caricácea en tres géneros los cuales fueron: *Vasconcellea*, *Papaya* y *Jacaratia* (De Candolle, 1864). Después, con el avance de la ciencia e investigación, se dieron a conocer más especies cerca de esta familia. Estas especies son usuales en zonas donde hay mucha humedad, así como los bosques húmedos subtropicales y los bosques secos tropicales.

El bacteriólogo alemán Escherich en 1885 fue el primero en aislar la bacteria *Escherichia coli*, y demostrar su existencia en el intestino, denominándola *Bacterium coli commune*, que significa “bacteria común del colon” (Martinson & Walk, 2020)

En 1919 Castellani y Chalmers le dieron la denominación a esta bacteria en homenaje a Theodor Escherich, *Escherichia* se volvió inmediatamente en el género típico de la familia Enterobacteriaceas y *E. coli* en la especie más nombrada de este género. (Cobo-Simón, Hart, & Ochman, 2023)

En el año 1954 Gerschman nombro al tipo de molécula inestables que crecen durante el metabolismo normal de una célula como “radicales libres”, además menciono que son los responsables del mecanismo molecular de la toxicidad del oxígeno y la radiación. (Di Meo & Venditti, 2020)

En el año 2022 se llevó a cabo una caracterización química nutricional y análisis fitoquímico de frutos de *Jarilla caudata* (Caricaceae) de Jalisco, México. En esta investigación hicieron uso de metodologías como: análisis de AOAC para determinar la composición

química, espectrofotometría de absorción atómica, cromatografía de líquidos (HPLC) y también se realizó un análisis de metabolitos secundarios, donde se observó el contenido de compuestos fenólicos totales y el contenido de flavonoides totales (González, y otros, 2022).

Estudios han demostrado la actividad antioxidante del extracto metanólico de *Kaempferia parviflora*, una especie relacionada, utilizando el método de eliminación de radicales DPPH (Nguyen, Luong, Nghiem, & Jung, 2023). De manera similar, encontraron que los extractos acuosos y metanólicos de *Malva parviflora* exhibían una fuerte actividad eliminadora contra el radical DPPH (Singh & Navneet, 2017).

En la Universidad Politécnica Salesiana realizaron investigaciones y salidas de campo que ayudaron a recolectar datos y muestras para identificar especies en el campus María Auxiliadora en Guayaquil. En el año 2023 se desarrolló un proyecto de herbario en el cual ayudaría a los estudiantes reconocer, recolectar y aprender datos dentro de un área delimitada para posteriormente realizar una identificación taxonómica del material vegetal seleccionado, entre esos prospectos de especies halladas se encuentra *Vasconcellea parviflora*.

2.2. Fundamentos teóricos

2.2.1. *Vasconcellea parviflora*

Vasconcellea parviflora es una especie endémica del bosque seco tropical ecuatoriano (Naranjo, Barcos, Pino, & Sornoza, 2019). Es una especie de arbusto de la familia Caricácea, la cual se destaca por sus frutos y flores tubulares que presenta colores vibrantes lo que la convierte en un elemento llamativo dentro del ecosistema del bosque seco tropical.

2.2.2. Origen y distribución

Este género de *Vasconcellea* es nativo de las regiones tropicales de Sudamérica, el cual comprende de 33 especies descritas y de esas solo 11 han sido aceptadas. (Carrasco, et al., 2022)

2.2.3. Taxonomía y morfología

Agustín Saint-Hilaire describió el género *Vasconcellea* donde comentaba que su crecimiento es en forma de arbustos perennes, con una vida corta en donde alcanzan un límite de 5 metros de altura máximo (Kole, 2011).

Tabla 1.

Taxonomía de *Vasconcellea parviflora*.

Taxonomía	
Nombre común	Fosforillo
Nombre científico	<i>Vasconcellea parviflora</i>
Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Subfilo	Angiospermae
Clase	Magnoliopsida
Orden	Brassicales
Familia	Caricaceae
Género	<i>Vasconcellea</i>

Elaborado por: Las autoras, 2024

2.2.4. Metabolitos Primarios

Los metabolitos primarios son componentes esenciales que intervienen en las rutas catabólicas y anabólicas entre los cuales se encuentran carbohidratos, aminoácidos, lípidos, proteínas, entre otros (Verdecía, y otros, 2021). Están involucrados en el crecimiento y desarrollo de estas, suele ser un componente clave en el mantenimiento de los procesos

fisiológicos del cuerpo, por lo tanto, se lo conoce como un metabolito central (Dumont & Rivoal, 2019).

2.2.5. Metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios (MS) se definen como pequeñas moléculas orgánicas producidas por un organismo (Mosunova, Navarro, & Collemare, 2021). Los MS desempeñan un papel importante en la adaptación de las plantas frente a varias limitaciones ambientales que no solo influyen en el crecimiento de las plantas, sino que también inciden en la biosíntesis de los MS (Bhattacharya, 2019).

Los MS a menudo cumplen funciones defensivas contra herbívoros y patógenos, esta capacidad lo convierte en el centro de investigaciones biotecnológicas para explorar sus aplicaciones en la producción de fármacos, cosméticos, pesticidas y otros (García & León, 2021).

2.2.5.1. Compuestos grasos

Los compuestos grasos o conocidos mayormente como ácidos grasos son un tipo de biomoléculas que están formadas por lípidos a partir de una cadena de hidrogeno y de carbono lineal, lo que significa que son una parte fundamental para la composición de las grasas y aceites que se encuentran en un ser vivo (Moghadasian & Shahidi, 2017).

2.2.5.2. Alcaloides

Los alcaloides son compuestos orgánicos que se producen en limitadas especies de plantas, son del tipo nitrogenado, este es proveniente del proceso metabólico de un aminoácido, estos compuestos generan efectos fisiológicos de distintas clases, lo que significa que usan

como una base de drogas para la cocina y la morfina (Chavarro, Gutiérrez, Blanco, & Ruiz, 2020).

Los metabolitos secundarios presente en los alcaloides tiene la facultad de ayudar a las plantas a poder protegerse de animales tanto herbívoros, como insectos y diversos microorganismos (Alvarado, Moguel, García, Ramírez, & Arechavaleta, 2022).

2.2.5.3.Saponinas

Su nombre se deriva del latín “sapo”, al cual se le atribuye la connotación de generar espuma similar al jabón (Yuang & Linag, 2020). Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, especialmente en familias *Quillajaceae*, *Sapindaceae* y *Fabaceae* (Moses, Papadopoulou, & Osbourn, 2014) con propiedades anfipáticas que permiten la formación de espuma en soluciones acuosas (Vicken, Heng, Aede, & Gruppen, 2007). Sus componentes activos presentan una alta variedad de actividades biológicas y son utilizados como antiinflamatorios, antibacterianos, virucidas, entre otros (Lambert, Faizal, & Geelen, 2011).

2.2.5.4. Flavonoides

Son sustancias naturales sintetizadas en varias partes de las plantas, las cuales poseen una gran capacidad antioxidante, se encuentran por lo general en alimentos como frutas y verduras (Ullah, y otros, 2020). Los flavonoides poseen diversas utilidades en la industria alimentaria, siendo empleados como conservantes, pigmentos y antioxidantes, no obstante, su uso requiere procesos de extracción de alta pureza y calidad (Dias, Pinto, & Silva, 2021). Estos compuestos antioxidantes son clave en la tolerancia al estrés de las plantas y en la salud humana por sus propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas. Su presencia está asociado a la reducción de riesgo de enfermedades crónicas y su variabilidad estructural permite ejercer una amplia gama de efectores biológicos (Liga, Paul, & Francis, 2023).

2.2.5.5. Compuestos fenólicos

Los productos fenólicos actúan como antioxidantes, encargándose de proteger los tejidos del cuerpo humano de los efectores dañinos del estrés oxidativo (Mominur, y otros, 2021). En el mundo vegetal los compuestos fenólicos, también llamados fenoles, se encargan de proteger a las plantas contra es estrés ambiental y las interacciones con patógenos (Gimeno, 2004). Su estructura química comprende un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo y se clasifican varias categorías que comprenden principalmente flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos y lignanos (Alu'datt, y otros, 2017).

2.2.5.6. Azúcares reductores

Los azúcares reductores son carbohidratos que poseen la capacidad de reducir otras sustancias al donar electrones a través de un grupo carbonilo, un ejemplo de ello son la glucosa, fructuosa, lactasa, etc. (Hemsworth, 2023).

2.2.5.7. Cumarinas

Las cumarinas son de bajo peso molecular, pueden destilarse y sublimarse en vapor de agua. Se usan en la industria como potenciador de fragancias y estabilizantes, una propiedad otorgada por el compuesto natural venzo- α -pirona (Carlton, 2005). Poseen una variedad de propiedades biológicas como antimicrobiano, antioxidante, capacidad antitumoral en diferentes etapas en la formación del cáncer, así como también efectos anticoagulantes que pueden beneficiar a la salud vascular (Amit, Goud, & Chandan, 2019).

2.2.5.8. Antocianinas

Son pigmentos solubles en agua que se encuentran en frutas y flores (Santos & González, 2019), actúa como un antioxidante que elimina las especies reactivas de oxígeno que

se forman en las células vegetales (De la Rosa, Garcia, Hernández, Morales, & Quiroz, 2022), por lo que se encuentra comúnmente en especies de color oscuro como los arándanos, uvas, cerezas, entre otros. El color y la estabilidad de estos pigmentos están influenciados por las condiciones de crecimiento como la temperatura, en un ambiente alcalino, a la antocianina se ve azul, pero en un ambiente ácido, aparecen como rojas (Hock Eng, Azrina, Sou Teng, & See Meng, 2017).

2.2.5.9. Quinonas

Son cetonas en las que los grupos carbonilo forman parte de un anillo aromático (Leman, 2009). Estos desempeñan funciones biológicas importantes y se suelen utilizar para la síntesis de productos químicos y medicamentos (Rodríguez, y otros, 2007).

2.3. Fundamentos técnicos de obtención de extractos

2.3.1. Maceración

Es uno de los métodos convencionales más utilizados en la industria ya que no requiere equipos ni técnicas complejas. La maceración consiste en dejar reposar una muestra vegetal en un solvente a temperatura ambiente durante un tiempo determinado de tiempo (Abubakar & Haque, 2020). Para lograr un extracto favorable el material vegetal debe cortarse en pequeños trozos para que el disolvente tenga mayor facilidad de penetrar las células internas, sin embargo, estos no deben reducirse a polvo ya que significaría la pérdida de los principios activos presentes en la especie (Quin, Lin, & Wen, 2018).

2.3.2. Destilación

La destilación es considerada una de las técnicas principales dentro de un laboratorio para lograr purificar líquidos volátiles, esta técnica nos sirve para separar mezclas de varios

compuestos para así aprovechar sus distintas volatilidades (Vega, Portillo, Cano, & y Navarrete, 2014).

Para hacer uso de la destilación se necesita calentar un líquido hasta que los compuestos más volátiles lleguen a la fase de vapor y que así posteriormente se enfríe el vapor hasta lograr recuperarlos en forma líquida, por medio de la condensación (Shrivastava, 2021).

2.3.3. Decantación

Permite separar o decantar un sólido que ha sido mezclado de manera heterogénea con un líquido insoluble, o por dos líquidos; es primordial dejarlo reposar para que de esa manera se sedimente el sólido de manera que descienda en el tubo de ensayo o matraz dependiendo de que estamos analizando, luego por acción de gravedad poder separar y obtener el producto separado (Eluru, Nagendra, & Gorthi, 2019).

2.3.4. Evaporación

Es un proceso de separación más conocida como destilación por arrastre de vapor, es un método que consiste en separar una sustancia de una matriz (Kim Y. , 2016). Los líquidos se calientan hasta alcanzar el punto de ebullición de los compuestos más volátiles y los vapores resultantes se condensan nuevamente en forma líquida. La destilación al vapor se usa comúnmente para la separación de compuestos aromáticos y la extracción de aceites de productos naturales (Bennour, Mighri, El-Jani, Zammouri, & Akrouit, 2020).

2.4. Actividad biológica

2.4.1. Actividad antimicrobiana

Son sustancias naturales o sintéticas que matan microorganismos o inhiben su crecimiento (Paredes & Roca, 2004). Todos los antimicrobianos difieren en el modo de acción,

en el que algunos fármacos inhiben las síntesis de paredes celulares, mientras que otros limitan la producción de proteínas microbianas dañinas (De la Fuente, Villarreal, Díaz, & García, 2015). Algunos fármacos comunes son la penicilina, tetraciclina, sulfamida y las fluoroquinolonas, actualmente también los podemos encontrar en productos como desodorantes, enjuagues bucales y jabones (Eyler & Shvets, 2019)

2.4.2. Actividad antioxidante

Es la capacidad que tiene una sustancia para neutralizar o reducir los efectos perjudiciales de los radicales libres en el organismo, reduciendo enfermedades cardiacas y ciertos tipos de cáncer (Flieger, Flieger, Baj, & Maciejewski, 2021). Los antioxidantes están en diversos compuestos como la vitamina c, el betacaroteno, las cumarinas, ente otros (Vilaplana, 2007).

2.4.3. Actividad antifúngica

Son sustancias que detienen el crecimiento de ciertos hongos o los matan, estos son utilizados en medicamentos, agriculturas e industrias para prevenir y tratar infecciones fúngicas (Harrison & Levitz, 1998). Los antifúngicos actúan interfiriendo los procesos vitales de los hongos o dañando sus estructuras celulares (Ghannoum & Rice, 1999).

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1 Ubicación geográfica

La especie *Vasconcellea parviflora* fue recolectada en el campus “María Auxiliadora” presente en la Universidad Politécnica Salesiana de la ciudad de Guayaquil, tomando de referencia tres puntos de recolección con las siguientes coordenadas geográficas: 2°12'02.0"S 80°02'27.4"W, 2°12'01.9"S 80°02'27.4"W y 2°12'01.9"S 80°02'27.6"W.

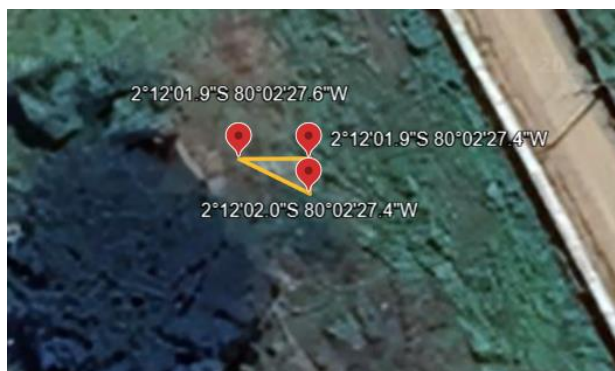


Figura 1. Coordenadas de recolección de la especie vegetal.

3.2 Variables

3.2.1 Variables dependientes

- Actividad antioxidante
- Actividad antimicrobiana

3.2.2 Variables independientes

- Tipo de solvente utilizado para los extractos vegetales
- Método para la extracción de la especie

3.2.3 Variables de control

Se utilizaron 3 individuos de la misma especie, con diferentes distancias, siendo todas recolectadas en el mismo campus de la Universidad Politécnica Salesiana.

3.3 Recolección de datos

La recolección de datos se hizo en diferentes etapas de la investigación y se redactaron digital y manualmente. Estas etapas están divididas desde la identificación y recolección de la especie, como los diversos tipos de metabolitos encontrados, hasta la evaluación de la actividad biológica.

3.4 Desinfección y preparación del material vegetal

Las muestras se desinfectaron con 20 mL de hipoclorito de sodio (5%) en 100 mL de agua destilada por 5 minutos y finalmente se enjuagó con abundante agua.

3.5 Protocolo de tamizaje fitoquímico

3.5.1. Obtención de extractos por método soxhlet

Para obtener los extractos hidroalcohólicos y de acetato de etilo se utiliza la técnica expuesta por (Montejano, y otros, 2019), donde se seca el material vegetal recolectado en una estufa a 40°C durante un periodo de 48 horas, posteriormente las hojas se pulverizan con un mortero, mientras que el tallo y la raíz se corta en pequeñas partes. Se prepara una solución al 80% de etanol y de acetato de etilo al 80% en agua destilada (Tabla 2).

Tabla 2.

Extractos hidroalcohólicos y de acetato de etilo

Material Vegetal	Solución Hidroalcohólica		Solución acetato de etilo	
	% Etanol	% Agua destilada	% Acetato de etilo	% Agua destilada
Hoja	80	20	80	20
Tallo	80	20	80	20
Raíz	80	20	80	20

Elaborado por: Las autoras, 2024

Se armaron tres soxhlet insertando la cantidad de material vegetal en los dedales como indica la Tabla 3, se agrega 250mL de la solución hidroalcohólica y acetato de etilo en los bolones correspondiente para cada extracto, se regula el flujo de agua y la temperatura hasta que la solución comience a ebulir. La extracción se completó en un periodo de 6 horas completando los ciclos de extracción. (Lopez & Luque de Castro, 2020)

Tabla 3.

Cantidad de material vegetal en dedales

Disolvente	Hojas (g)	Tallo (g)	Raíz (g)
Solución hidroalcohólica	8,7 g	15,3	12.5 g
Solución acetato	5,3 g	15,3	12.3 g

Elaborado por: Las autoras, 2024

3.5.2. Rotavapor

Las soluciones se sometieron a destilación por rotavapor a 175 mbar y temperatura de 40°C durante 30 minutos a 100 rpm para lograr evaporar los solventes y obtener el extracto líquido de cada parte vegetal (Benítez-Benítez, y otros, 2020). Se calculó el rendimiento de los extractos con la formula:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{g de extracto rotavaporado}}{\text{g de material vegetal}} \times 100$$

Ecuación 1. Porcentaje de rendimiento

3.5.3. Tamizaje fitoquímico

Se realizó un análisis cualitativo de metabolitos secundarios presente en *Vasconcellea parviflora* en solución hidroalcohólica y acetato de etilo al 80% siguiendo la metodología propuesta por (Lawal, y otros, 2019) y (Pujol, y otros, 2020).

3.5.3.1 Prueba de Mayer

Se tomaron 3 gotas del extracto vegetal con una pipeta Pasteur en un tubo de ensayo, luego se colocaron 3 gotas de ácido sulfúrico, se realizó baño maría por 3 min para después colocarle 3 gotas del reactivo y finalmente observar la reacción positiva cuando se forme un precipitado amarillo o turbidez.

3.5.3.2 Prueba de Hager

Con una pipeta Pasteur se depositaron 3 gotas con el extracto vegetal en un tubo de ensayo, para luego añadir 3 gotas más de ácido sulfúrico, se lo coloco a baño maría por 3 min para después agregar 3 gotas del reactivo Hager, se lo conoce como reacción positiva cuando el extracto forme un precipitado con un sólido amarillo.

3.5.3.3 Prueba de Wagner

Del extracto vegetal se dispensaron 3 gotas con una pipeta Pasteur en un tubo de ensayo, luego se agregaron 3 gotas de ácido sulfúrico, paso por baño maría por 3 min para después colocarle 3 gotas del reactivo Wagner, la reacción es positiva cuando cambie de color a un marrón rojizo.

3.5.3.4 Prueba de Dragendorff

Se añadió las 3 gotas del extracto vegetal para después pasarlo a un tubo de ensayo, mas 3 gotas de ácido sulfúrico, estuvo en baño maría por 3 min para finalmente agregar las 3 gotas del reactivo y la reacción positiva se observará cuando se forme un precipitado con coloración naranja o rojizo.

3.5.3.5 Prueba de peróxido de hidrógeno

Se coloca las 3 primeras gotas pertenecientes al extracto vegetal en un tubo de ensayo, después se agregan las 2 gotas de peróxido de hidrógeno, baño maría por 3 min y se agitó constantemente. La presencia de espuma es un indicador positivo ante la presencia de saponinas.

3.5.3.6 Prueba con ácido sulfúrico

Con una pipeta Pasteur en un tubo de ensayo se agregaron 3 gotas de los extractos, posteriormente 3 gotas de ácido sulfúrico, se identificó el tipo de metabolito según su cambio de coloración, como se observa en la siguiente tabla:

Tabla 4.

Identificación de tipos de flavonoides

Flavonoide	Rx coloración
Chalconas	Rojo azulado
Auronas	Rojo-guinda
Flavonas	Amarillo intenso
Flavononas	Naranja
Flavonoles	Amarillo intenso

Elaborado por: Las autoras, 2024

3.5.3.7 Prueba con hidróxido de potasio

Primero se pusieron 3 gotas de extracto vegetal en un tubito de ensayo, se colocaron 3 gotas del reactivo KOH al 5%, será positivo cuando se observe el cambio de color a un rojo de intenso a tenue o amarillo.

3.5.3.8 Prueba con hidróxido de sodio

A 2 mL de extracto vegetal se añadió 3 mL del reactivo hidróxido de sodio al 10%, se generará un color amarillo lo que indica que el ensayo para cumarinas es positivo.

3.5.3.9 Prueba con benedict

Para la prueba benedict, primero se depositan 2 mL de extracto vegetal con 0.5 mL del reactivo, luego pasa por baño maría por 2 min, si se forma un precipitado de otro color, indica la presencia de azúcares.

3.6 Protocolo de actividad antioxidante

3.6.1 Obtención de extractos

Para obtener los extractos hidroalcohólicos se seca el material vegetal recolectado en una estufa a 40°C durante un periodo de 48 horas, posteriormente las hojas se pulverizan con un mortero, mientras que el tallo y la raíz se corta en pequeñas partes. Se prepara una solución al 80% de etanol en agua destilada como indica la Tabla 2.

Las muestras son llevadas a maceración durante un periodo de 3 horas en agitación constante, donde se pesó 25g de material vegetal y 150 mL de solución hidroalcohólica correspondiente para cada extracto y finalmente se filtró.

3.6.2 Rotavapor

Las soluciones se sometieron a destilación por rotavapor a 175 mbar y temperatura de 40°C durante 30 minutos a 100 rpm para lograr evaporar los solventes y obtener el extracto líquido de cada parte vegetal y se calcula el porcentaje de rendimiento utilizando la **Ecuación 1**.

Una vez obtenidos los extractos, son sometidos a ultrasonido durante 30 minutos a 40°C según como indica la metodología de (Kumar, Srivastav, & Sharanagat, 2021).

3.6.3 Preparación de solución DPPH y Trolox

Siguiendo la metodología de (Murray, Rodriguez, Frontera, Tomas, & Mulet, 2004) se preparó una solución de DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl) al 0,004% pesando 4 mg de DPPH y aforando a 100 mL con etanol. Se almacenó en un frasco ámbar para cubrir la solución de la luz y se agitó alrededor de 30 a 40 minutos. Para los extractos se utiliza un blanco y un control los cuales fueron:

Tabla 5.

Cuantificación de DPPH

	Extracto (µl)	Etanol (µl)	DPPH (µl)
Blanco	200	200	-
Control	-	200	3200
Muestra	2000	-	3200

Elaborado por: Las autoras, 2024

3.6.4 Curva de calibración

La metodología de (Aguilar, Bonilla, & Enciso, 2020) mediante un espectrofotómetro en una longitud de onda de 517 nm se medirá la absorbancia de la solución DPPH que al

reaccionar con un sustrato antioxidante cambiará de color violeta a una coloración amarilla como indicador de que hay presencia de capacidad antioxidante. El cálculo se efectúa con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Act. Antioxidante} = \frac{\text{Abs. Control} - \text{Abs. Muestra} - \text{Abs. Blanco}}{\text{Abs. Control}}$$

Ecuación 2. Porcentaje de actividad antioxidante

Se utilizó una solución de etanol como blanco, se preparó una solución de 6.2 mg de trolox aforado a 10 mL con etanol para el estándar y se realizaron diluciones como indica la siguiente tabla:

Tabla 6.

Diluciones para lectura en espectrofotómetro

V (µl) etanol	Vol. Sol. Madre (µl)	C_Teórica_ µM
980	20	50
960	40	100
920	80	200
880	120	300
840	160	400
800	200	500
760	240	600
720	280	700
680	320	800

Elaborado por: Las autoras, 2024

3.7 Protocolo de actividad antimicrobiana

La prueba de sensibilidad microbiana se evaluó según el método de (Lucien, Heithoff, Mahan, House, & Mahan, 2023) usando la técnica de micro dilución en pocillos.

3.8.1 Preparación de las concentraciones de los extractos de *Vasconcellea parviflora*, terpineol y penicilina.

Las muestras son llevadas a maceración durante un periodo de 3 horas en agitación constante, donde se pesó 25 g de material vegetal, 150 mL de solución hidroalcohólica y de acetato de etilo correspondiente para cada extracto, finalmente se filtró.

Los extractos obtenidos según la Tabla 7 de la especie vegetal se colocaron en el rotavapor a 175 mbar y temperatura de 40°C durante 30 minutos a 100 rpm para obtener un extracto seco y diluirlo en dimetilsulfóxido (DMSO) con el fin de obtener un extracto en una concentración del 20%.

Tabla 7.

Concentración de extractos vegetales al 20%

Solución	mg de extracto seco	µl de DMSO
Hidroalcohólico	Hoja: 140 mg	700 µl
	Tallo: 106 mg	530 µl
	Raíz: 109 mg	545 µl
Acetato de etilo	Hoja: 107 mg	535 µl
	Tallo: 21 mg	105 µl
	Raíz: 24 mg	120 µl

Elaborado por: Las autoras, 2024

Como control positivo natural se usó 100 µl de terpineol más 900 µl de DMSO, como el control positivo sintético se usará 50 µl de penicilina más 950 µl DMSO, se colocó un blanco, medio de cultivo sin bacteria y medio de cultivo con bacteria *E. coli* (Butler, Jakielaszek, Miller, & Poupard, 1999).

3.8.2 Preparación del medio de cultivo

Se disolvió 3 g de Caldo Soja Trypticaseína (TSB) en 100 mL de agua destilada, se calentó en una plancha calentadora agitando frecuentemente hasta su punto de ebullición, posteriormente se almacenó en un frasco estéril y finalmente fue llevado a la autoclave a 121°C durante 1 hora. (Becton & Dickinson, 2019)

3.8.3 Reactivación de la cepa

La cepa certificada de *Escherichia coli* ATTC 8739 que estaba disponible en una caja Petri en medio TSA mantenida en el cepario del laboratorio ciencias de la vida del campus María Auxiliadora. La cepa se reactivó según el manual Técnico de Información Microbiologics, Kwik Stik, en tubos de ensayo donde se colocaron 5 mL de Caldo Soja Trypticaseína (TSB) y se añadió la bacteria *E. coli* con un aza, luego se incubó por 24 h a una temperatura de 35°C (Martinson & Walk, 2020)

3.8.4 Estandarización del inóculo bacteriano

Luego de las 24 h de incubación la cepa reactivada en Caldo Soja Trypticaseína (TSB) se ajustó para medir la escala MacFarland 0.5, ajustando la turbidez del inóculo con el espectrofotómetro UV-VIS DR6000 marca HACH a una densidad óptica entre 0,07 a 0,1 y longitud de onda de 625 nm (Kowalska–Krochmal & Dudek-Wicher, 2021).

3.8.5 Inoculación en placas multipocillo

Se utilizó 3 placas multipocillo *VWR* para cultivo celular de 96 pocillos, de las cuales se usó cada placa para realizar la comparación entre el extracto hidroalcohólico y acetato de etilo, los pocillos de manera horizontal estarán divididos en 3 repeticiones de muestra y 6 pocillos para controles. Finalmente se incubó mediante agitación orbital a 37 °C por 24 horas

para finalmente realizar la lectura de la absorbancia en un lector de placas multipocillo. (Butler, Jakielaszek, Miller, & Poupard, 1999)

Tabla 8.

Filas y columnas en placa multi pocillo

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	H	H	H	R	R	R	TER	PE	TSB	
B	H	H	H	R	R	R	TER	PE	TSB	Control
C	H	H	H	R	R	R	TER	PE	TSB	positivo
D	H	H	H	R	R	R	TER	PE	TSB	(medio de
E	H	H	H	R	R	R	TER	PE	TSB	cultivo
F	H	H	H	R	R	R	TER	PE	TSB	más
G	H	H	H	R	R	R	TER	PE	TSB	inoculo)
H	H	H	H	R	R	R	TER	PE	TSB	

Nota: Se muestra la distribución de las soluciones de acetato de etilo correspondiente a hoja (H), raíz (R), terpinol (TER), penicilina (PE), Caldo Soja Trypticaseína (TSB) y un control desde la fila 1 a la 10 y columna de A hasta H.

3.8.6 Preparación del colorante cloruro de trifeniltetrazolio (TTC)

El colorante TTC, se preparó a una concentración de 5% un día antes del ensayo. Para ello, se disolvió 5 mg en 5 mL de agua estéril en un frasco ámbar y se mantuvo en refrigeración hasta su uso.

3.8.7 Lector de microplacas

Se colocó 20 µl de colorante 2,3,5-cloruro de trifeniltetrazolio (TTC) que es usado para observar células vivas, en todos los pocillos a excepción de los vacíos, se dejó reposar la placa por 10 min y luego se la insertó en el equipo lector de placas Thermo Scientific™ a una longitud de 625 nm (Rogers, Bullard, Dod, & Wang, 2022).

CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Determinación de metabolitos secundarios de los extractos hidroalcohólicos mediante tamizaje fitoquímico.

La fitoquímica de los extractos hidroalcohólicos y de acetado de etilo de *Vasconcellea parviflora* fue determinada mediante un análisis cualitativo utilizando diversos tipos de ensayos como se muestra en la Tabla 9 siguiendo la metodología propuesta por Lawal, y otros, (2019) y Pujol, y otros, (2020), se detectó la presencia de alcaloides en todos los ensayos realizados en las muestras de hojas, mientras que en el tallo y raíz la presencia de metabolitos varía. Nevara y otros (2021) sugieren que esto se debe a la capacidad de disolución y las características individuales de cada compuesto, las cuales determinan en que fracción del extracto se encuentran, lo mismo sucede con los ensayos para flavonoides, cumarinas y carbohidratos. Por otro lado, según Sporre y otros (2023) la ausencia de saponinas indica que no están presentes en la especie o se encuentran en concentraciones tan bajas que no pudieron ser detectados con el ensayo realizado.

Tabla 9.

Tamizaje fitoquímico de los extractos de *Vasconcellea parviflora*

Metabolitos	Ensayos	E. Hidroalcohólico			E. Acetato de etilo		
		Hoja	Tallo	Raíz	Hoja	Tallo	Raíz
Alcaloides	Mayer	+++	+	-	+++	-	+
	Hager	++	+	+	++	-	-
	Wagner	++	-	+++	+++	-	++
	Dragendorff	+	+	+	+	-	-
Saponinas	Peróxido	-	-	-	-	-	-

Flavonoides	Ácido sulfúrico	-	-	Flavonas y flavonoides	-	Flavonas	Auronas
Cumarinas	KOH	-	+	++	-	+	-
	NaOH	+	+++	+++	+++	++	+++
Carbohidratos	Benedict	-	++	++	-	-	-

Nota: La presencia de metabolitos es representado por (+++) alto, (++) moderado, (+) bajo y (-) ausente

Estudios realizados por Nawaz et al. (2020) sugieren que la polaridad del solvente influye significativamente durante la extracción, es decir que los solventes con mayor polaridad son preferibles debido a su capacidad para eliminar los radicales libres. Soto & Rosales (2016) mencionan que el rendimiento de extracción de compuestos fenólicos varía según la estructura del compuesto, su grado de polimerización y su afinidad con el solvente utilizado sin que exista un método de extracción específico.

En términos de rendimiento de extracción, se observó que el método de maceración produjo una mayor cantidad de compuestos bioactivos en comparación con el método Soxhlet. Según Rojas y otros, (2019) este resultado puede estar asociado a la interacción que existe entre el solvente y la muestra, facilitando la extracción de los compuestos deseados, sin mencionar que al ser asistida por ultrasonido se obtienen extractos de calidad y ahorra tiempo acelerando el proceso de extracción al aumentar la difusión de los compuestos en la muestra.

Por otro lado, Jara y otros, (2022) realizaron tamizaje fitoquímico en plantas medicinales, donde se consideró la presencia de compuestos fenólicos y se evaluó su potencial. Asimismo, identificaron la presencia de alcaloides, flavonoides, sesquiterpenlactonas, esteroides, triterpenos, cardiotónicos y cumarinas volátiles en el tamizaje fitoquímico de *Azadirachta indica* A. Juss realizado por Herrera-S, Villegas-L, & López-F, (2021).

De esta manera el tamizaje fitoquímico es una herramienta crucial en la investigación de MS presentes en plantas y otros productos naturales, lo que permite identificar compuestos con potencial actividad biológica y terapéutica.

4.2. Cuantificación de la capacidad antioxidante de *Vasconcellea parviflora* empleando el método DPPH mediante espectrofotometría UV-VIS.

La actividad antioxidante fue evaluada mediante el método de DPPH, utilizando un estándar de Trolox para contrastar los resultados. De acuerdo con Nabeelah y otros (2020) la solución se debe preparar minutos antes de realizar el ensayo, almacenándolo en un ambiente oscuro, ya que la presencia de luz y temperatura causan su degradación. Se realiza la curva de calibración como indica la Figura 2. Kedare & Singh (2011) plantean que el método DPPH mide la capacidad de una sustancia para eliminar el radical libre α , α -difeníl- β -picrilhidrazilo (DPPH), lo que proporciona información sobre su capacidad antioxidante. Para este ensayo se trabajó con el extracto hidroalcohólico debido a que es soluble en este tipo de solventes, además de ser estable, Platzer y otros (2021) afirman que este no reacciona con el radical DPPH facilitando su evaluación.

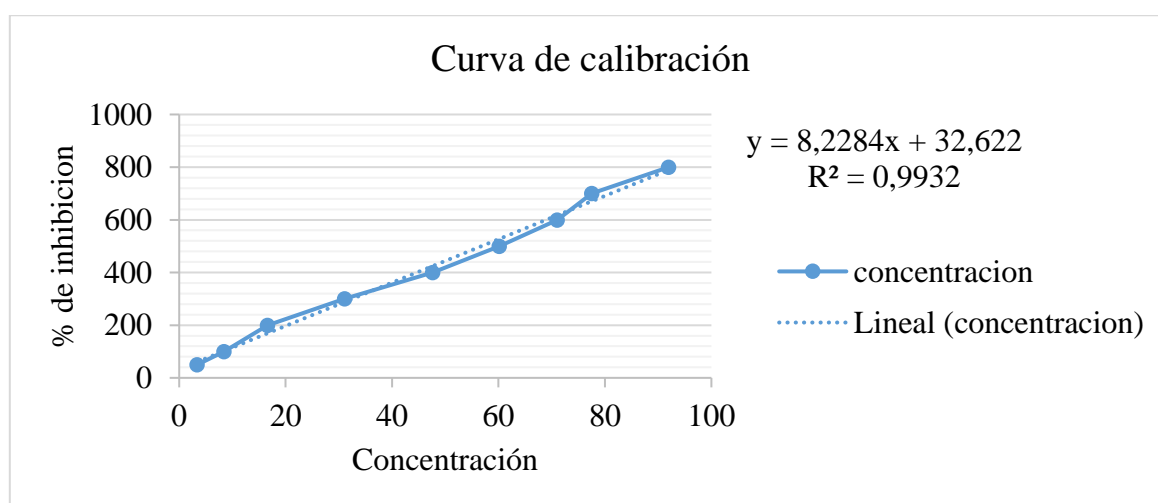


Figura 2. Curva de calibración de la capacidad antioxidante presente en *Vasconcellea parviflora*

Tabla 10.

Actividad antioxidante de los extractos de *Vasconcellea parviflora*

Actividad antioxidante		
Muestra	% de Inhibición	DPPH (mmol Trolox/g)
Hoja	91,59	0,4858 ± 0.02
Tallo	95,93	0,4101 ± 0.03
Raíz	94,59	0,3398 ± 0.03

Elaborado por: Las autoras, 2024

El valor informado de 0,48 mmol Trolox/g indica una actividad antioxidante de moderada a alta, lo que sugiere su potencial como fuente natural de antioxidantes. Además, Munteanu & Apetrei, (2021) señalan que la evaluación de la actividad antioxidante en materiales vegetales, como *Vasconcellea parviflora*, es de gran interés debido a sus implicaciones en diversos campos, incluidos la ingeniería de alimentos, la medicina y la farmacia. Como señalan Hartati y otros (2020), la identificación de estos compuestos proporciona información valiosa sobre los mecanismos subyacentes a su actividad antioxidante. A su vez el método DPPH se ha utilizado ampliamente para evaluar la capacidad antioxidante de diversos extractos de plantas, incluidos frutos y hojas.

Estudios realizados por Nguyen y otros (2023) han demostrado la actividad antioxidante del extracto metanólico de *Kaempferia parviflora*, una especie relacionada, utilizando el método de eliminación de radicales DPPH. De manera similar Singh & Navneet (2017), encontraron que los extractos acuosos y metanólico de *Malva parviflora* exhibían una fuerte actividad eliminadora contra el radical DPPH. Además, Carbonari y otros (2006) investigaron el potencial antioxidante de extractos crudos y fracciones de las hojas de *Ouratea parviflora*, una planta medicinal, mediante la eliminación de radicales DPPH, destacando la relevancia de estos ensayos en el estudio de la capacidad antioxidante de los extractos de plantas.

4.3. Evaluación de la actividad antimicrobiana de la bacteria *Escherichia coli* mediante técnica de micro dilución.

Se utilizó la técnica de la concentración mínima inhibitoria la cual sirve para observar concentraciones muy bajas de los tipos de extractos hidroalcohólicos y acetato de etilo de *Vasconcellea parviflora*, este ensayo se realizó para todas las partes de la planta (hoja, tallo y raíz) con ambos extractos, sin embargo, se descartó las pruebas que no presentaron inhibición, y se realizó una segunda prueba únicamente con hoja y raíz de acetato de etilo, los resultados fueron revelados usando colorante 2,3,5-cloruro de trifeniltetrazolio (TTC) según como indican Veiga y otros, (2019).

Para interpretar la concentración mínima inhibitoria se usó la tabla explicada por Baser & Buchbader (2021), debido a que ellos trabajan con valores expresados en unidades de $\mu\text{g/mL}$, en la cual podemos observar y comparar resultados para saber si la MCI es muy fuerte o ausente.

Tabla 11.

Interpretación de valores de la concentración mínima inhibitoria en $\mu\text{g/mL}$.

MCI	Código	$\mu\text{g/mL}$
Muy fuerte	MF	< 500
Fuerte	F	> 500 MIC < 1 000
Moderada	M	1 000 < MIC < 5 000
Débil	D	5 000 < MIC < 20 000
Ausente	A	> 20 000

Elaborado por: Las autoras, 2024

En el Anexo 7, se puede observar que el primer cambio de coloración se da en el pocillo A1, como se muestra en la Tabla 11, el extracto de hoja con acetato de etilo tiene un porcentaje

débil de inhibición debido a la concentración de 15 385 $\mu\text{g/mL}$ que inhibe el 58% de la concentración mínima inhibitoria frente a la bacteria *E. coli*.

El estudio realizado por Gondim, y otros, (2022) expone que la hoja de *Carica papaya*, la cual pertenece a la familia caricácea al igual que *Vasconcellea parviflora*. Las hojas de *C. papaya* no inhibieron el crecimiento bacteriano en concentraciones inferiores a 1 024 $\mu\text{g/mL}$, la cual es considerada una baja concentración mínima inhibitoria.

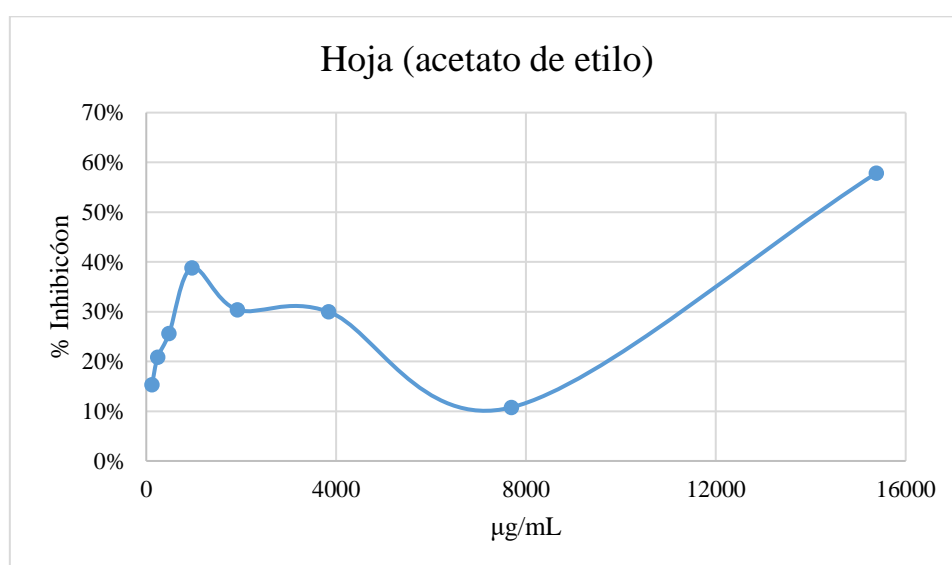


Figura 3. Curva de porcentaje de inhibición presente en la hoja de *Vasconcellea parviflora*

En la muestra de raíz se informa que el cambio de color se llevó a cabo en el pocillo E4 con una concentración de 962 $\mu\text{g/mL}$ indicando que inhibe un 40%, lo que significa que el extracto de raíz contiene una débil concentración mínima inhibitoria contra *Escherichia coli*, mientras que la investigación realizada por Doughari y otros, (2007) informan que obtuvieron resultados de una concentración mínima inhibitoria (CMI) de valores entre 2 5000 – 20 0000 $\mu\text{g/mL}$ de extracto de raíz.

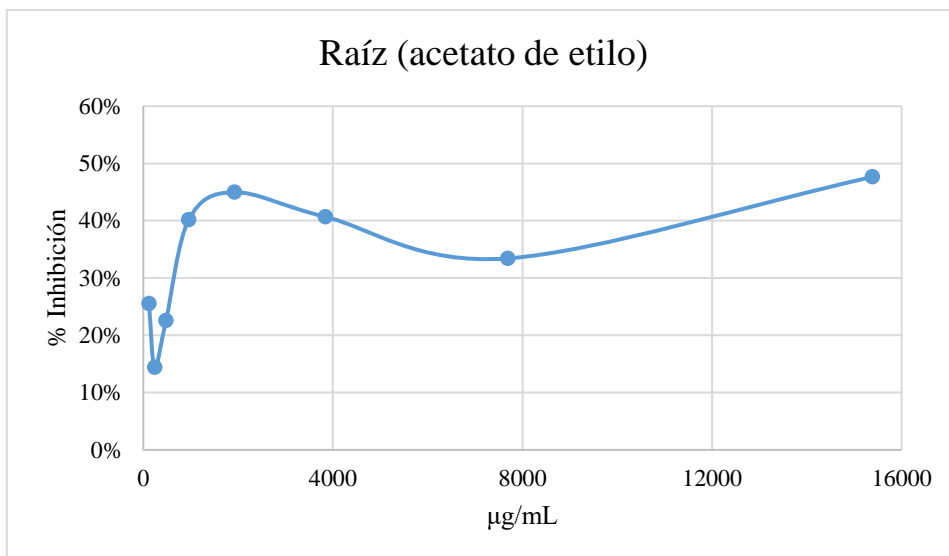


Figura 4. Curva de porcentaje de inhibición presente en la raíz de *Vasconcellea parviflora*

El terpineol se estableció en la fila 8 y se llevó a cabo el cambio a una coloración rojiza en el pocillo E8 teniendo como resultado una concentración de 449 µg/mL que inhibe un 66% de la bacteria.

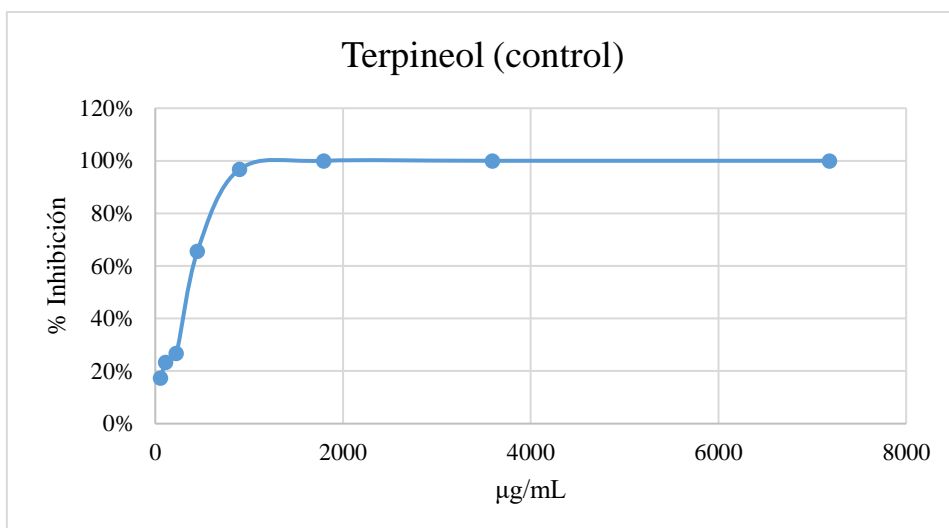


Figura 5. Curva de porcentaje de inhibición presente en terpineol (control)

En la columna 9 decretada para la penicilina ocurrió el cambio de coloración en el pocillo F9 con una concentración de 225 µg/mL lo cual inhibe un 53% del microorganismo, el

estudio expuesto por Sisson y otros, (2000) menciona que la alta resistencia de la penicilina tiene un valor de MIC del $>1,0 \mu\text{g/mL}$, lo cual, en comparación con nuestro valor significa que los resultados obtenidos en la muestra de raíz poseen alta resistencia a la penicilina.

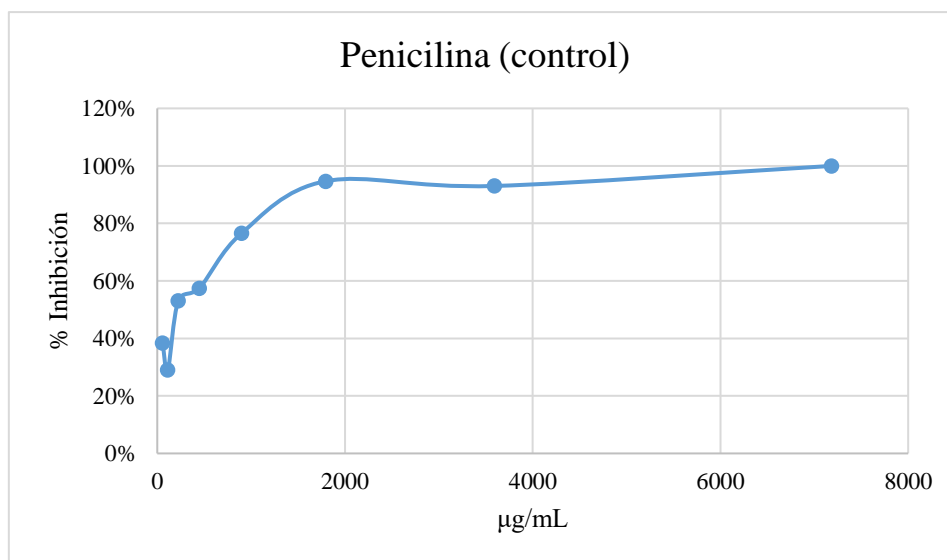


Figura 6. Curva de porcentaje de inhibición presente en penicilina (control)

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Los metabolitos secundarios determinados de manera cualitativa de los extractos de la especie *Vasconcellea parviflora* fueron primordialmente alcaloides, flavonas, flavonoides, auronas, cumarinas y carbohidratos, sin embargo, se indicó una mayor cantidad de metabolitos secundarios obtenidos en los extractos hidroalcohólicos.

Empleando el método DPPH mediante espectrofotometría UV-VIS exhibió que la muestra de hoja tuvo una mayor actividad antioxidante debido a su alto valor de 0,48 mmol Trolox/g, lo que es considerado un valor de moderado a alto, en comparación de las muestras de tallo y raíz, sugiriendo su uso en la industria médica y alimenticia.

La evaluación de la actividad antimicrobiana usando la técnica de micro dilución contra bacteria *Escherichia coli*, tuvo una concentración mínima inhibitoria (CMI) débil, para extractos con acetato de etilo en hoja y raíz, de igual manera los valores obtenidos en los controles de terpineol y penicilina de acuerdo con búsquedas bibliográficas fueron correctos.

5.2 Recomendaciones

Se recomienda realizar estudios adicionales a la especie vegetal *Vasconcellea parviflora*, especialmente entre los meses de diciembre a marzo, que corresponde al periodo de floración y desarrollo de los frutos.

Analizar los metabolitos secundarios que fueron evaluados de manera cualitativa mediante tamizaje fitoquímico, empleando metodologías como el uso del HPLC para cuantificarlos.

Ejecutar diversos ensayos que abarquen la taxonomía de la planta seleccionada con diversos microorganismos para evaluar si los extractos presentan una concentración mínima inhibitoria (CMI).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal Of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 12(1), 1.

Aguilar, E., Bonilla, P., & Enciso, E. (2020). Capacidad antioxidante de extractos obtenidos de las hojas de *Senecio rufescens* DC. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 86(4), 374-385.

Al-Eitan, L. N., & Alnemri, M. (2022). Biosafety and biosecurity in the era of biotechnology: The Middle East region. *Journal Of Biosafety And Biosecurity*, 4(2), 130-145.

Alu'datt, M., Taha, R., Alhamad, M., Al-Mahasneh, M., Amajwal, A., Gammoh, S., . . . Ali, I. (2017). A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: Distribution, identification and occurrence of phenolic compounds. *Food chemistry*, 99-106.

Alvarado, L., Moguel, Y., García, C., Ramírez, M. F., & Arechavaleta, E. (2022). Presencia de alcaloides pirrolizidínicos en miel y los efectos de su consumo en humanos y abejas. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 787-802.

Amit, B., Goud, V., & Chandan, D. (2019). Phenolic Compounds as Functional Ingredients in Beverages. En *Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages* (págs. 285-323). Elsevier EBooks.

Baser, K. B. (2021). *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications* (3rd ed.). CRC Press eBooks.

Becton, & Dickinson. (2019). Tryptic Soy Broth (TSB). *Instructions for use ready to use bottled media*, 1-3.

Benítez-Benítez, R., Sarria-Villa, R. A., Corredor, J. A., Pacheco, N. o., Sandoval, J. H., & Aristizabal, C. I. (2020). Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 15(1), 31-40.

Bennour, N., Mighri, H., El-Jani, H., Zammouri, T., & Akrou, A. (2020). Effect of solvent evaporation method on phenolic compounds and the antioxidant activity of *Moringa oleifera* cultivated in Southern Tunisia. *South African Journal of Botany*, 181-190.

Bhattacharya, A. (2019). *Effect of High Temperature on Crop Productivity and Metabolism of Macro Molecules*. In Elsevier eBOOKs. Kanpur, India.

Butler, D., Jakielaszek, C., Miller, L., & Poupard, J. (1999). *Escherichia coli* ATCC 35218 como aislado de control de calidad para pruebas de susceptibilidad de *Haemophilus influenzae* con medio de prueba de *Haemophilus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 283–286.

Carbonari, K., Ferreira, E., Rebello, J., Felipe, K., Rossi, M., Felício, J., . . . Pedrosa, R. (2006). Free-radical scavenging by *Ouratea parviflora* in experimentally-induced liver injuries. *Redox Report*, 124-130.

Carlton, B. (2005). Coumarins. En *Encyclopedia of Toxicology* (págs. 674-676.). Elsevier EBooks.

Carrasco, B., Arévalo, B., Perez-Diaz, R., Rodríguez-Alvarez, Y., Gebauer, M., Maldonado, J., . . . Silva, H. (2022). Descriptive Genomic Analysis and Sequence

Genotyping of the Two Papaya Species (*Vasconcellea pubescens* and *Vasconcellea chilensis*) Using GBS Tools. *Plants*, 11(16), 2151.

Chavarro, C. F., Gutiérrez, M. C., Blanco, V. C., & Ruiz, X. M. (2020). Amaryllidaceae: Potential Source of Alkaloids. Biological and Pharmacological Activities. *Ciencia Y Agricultura*, 17(3), 78–94.

Cobo-Simón, M., Hart, R., & Ochman, H. (2023). *Escherichia Coli*: What Is and Which Are? *Molecular Biology And Evolution*, 40(1).

De Candolle, A. (1864). *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis* (Vol. 9).

De la Fuente, N., Villarreal, J., Díaz, M., & García, A. (2015). Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 7-16.

De la Rosa, X., Garcia, I., Hernández, J., Morales, J., & Quiroz, J. (2022). Antocianinas, propiedades funcionales y potenciales aplicaciones terapéuticas. *Revista Boliviana de Química*, 1-9.

Di Meo, S., & Venditti, P. (2020). Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2020, 1-32.

Dias, M., Pinto, D., & Silva. (2021). Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity. *Molecules*, 5377-5377.

Doughari, J., Mahmood, E., & Manzara, S. (2007). Studies on the antibacterial activity of root extracts of *Carica papaya* L. *African Journal Of Microbiology Research*, 1(3), 37-41.

Dumont, S., & Rivoal, J. (2019). Consequences of Oxidative Stress on Plant Glycolytic and Respiratory Metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 10.

Eluru, G., Nagendra, P., & Gorthi, S. S. (2019). Microfluidic In-Flow Decantation Technique Using Stepped Pillar Arrays and Hydraulic Resistance Tuners. *Micromachines*, 10(7), 471.

Eyler, R. F., & Shvets, K. (2019). Clinical pharmacology of antibiotics. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 14(7), 1080–1090.

Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., & Maciejewski, R. (2021). Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*, 4135.

García, S., & León, J. (2021). Estrategia para mejorar la producción de metabolitos secundarios en plantas. *Revista Ciencia UANL*, 46-54.

Ghannoum, M., & Rice, L. (1999). Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 501-517.

Gimeno, C. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Offarm*, 80-64.

Gondim, C. N., Bezerra, D. A., Sampaio, N. F., DeAlencar, M. A., DaCosta, R. H., Abreu, L. S., . . . Coutinho, H. D. (2022). HPLC-DAD-ESI-MS profile, antibacterial activity, and modulation of the activity of antibiotics by *Carica papaya* L. against *Escherichia coli* serotypes. *Phytomedicine Plus*, 2(3), 100306.

González, M., Isaacs, P. G., & Pizano, C. (2014). Memoria técnica para la verificación en campo del mapa de bosque. Escala 1:100.000. Instituto de Investigaciones de Recursos Biológicos “Alexander von Humboldt”. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. Bogotá, Colombia. 29p.

González, M., Zamora, J., Vioque, P., J. Z., Ruiz, M., & Ramírez, C. (2022). Caracterización químico nutricional y análisis fitoquímico de frutos de Jarilla caudata (Caricaceae) de Jalisco, México. *Acta Botánica Mexicana*, 219.

Guerra, L. S., Cevallos-Cevallos, J. M., Weckx, S., & Ruales, J. (2020). Traditional Fermented Foods from Ecuador: A Review with a Focus on Microbial Diversity. *Foods*, 11(13), 1854.

Gutiérrez, A., & Cruz, C. (2017). ACTIVIDAD DE PAPAÍNA DEL LÁTEX DE VASCONCELLEA CANDICANS (A. GRAY) A. DC 1864 “MITO” Y ANÁLISIS BIOMÉTRICO DEL FRUTO. *The Biologist*, 14(2).

Harrison, T. S., & Levitz, S. M. (1998). Fungi, Immunity to. *Encyclopedia of Immunology*, 957–962.

Hartati, R., Nadifan, H. I., & Fidrianny, I. (2020). Crystal Guava (*Psidium guajava* L. “Crystal”): Evaluation of In Vitro Antioxidant Capacities and Phytochemical Content. *The Scientific World Journal*, 2020, 1–7.

Hemsworth, G. R. (2023). evisiting the role of electron donors in lytic polysaccharide monooxygenase biochemistry. *Essays in biochemistry*, 67(3), 585–595. Obtenido de Carbohidratos.

Herrera-S, A. P., Villegas-L, M. A., & López-F, R. (2021). Evaluación de la respuestas morfogénica y tamizaje fitoquímico de callo obtenido a partir de disco de hoja de *Zadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). *Revista de Investigaciones Universidad del Quindío*, 22(1), 100-112.

Hock Eng, K., Azrina, A., Sou Teng, T., & See Meng, L. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *food & nutrition research*, 1361779-1961779.

Jara, M. R., Landeo, E. C., Molero, H. R., Vilcatoma, S. M., & Quispe, M. G. (2022). Tamizaje fitoquímico, contenido de compuestos fenólicos y potencial antioxidante de trece plantas medicinales de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca en Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 88(2).

Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412–422.

Kim, N., Riggins, C. W., Zabaloy, M. C., Rodriguez-Zas, S. L., & Villamil, M. B. (2020). Limited Impacts of Cover Cropping on Soil N-Cycling Microbial Communities of Long-Term Corn Monocultures. *Frontiers In Microbiology*, 13.

Kim, Y. (2016). *How to extract the fluid component from the evaporation plant and equipment and an extract - KR20170020295A*. Obtenido de Google patents: <https://patents.google.com/patent/KR20170020295A/en>

Kole, C. (2011). *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Springer eBooks.

Kowalska–Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens*, 10(2), 165.

Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 70, 105325.

Lambert, E., Faizal, A., & Geelen, D. (2011). Modulation of triterpene saponin production: in vitro cultures, elicitation, and metabolic engineering. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 220-237.

Lawal, A., Abdullahi, R., Ibrahim, M., Kurfi, M., Khalid, A., & Nuhu, M. (2019). Phytochemical Analysis and Thin Layer Chromatography Profiling of Crude Extracts from *Senna Occidentalis*(Leaves). *Journal of Biotechnology and Biomedical Science*, 2(1), 12–21.

Leman, J. (2009). Lipids, production. En *Encyclopedia of Microbiology*. Elsevier EBooks. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00170-X>

Liga, S., Paul, C., & Francis, P. (2023). Flavonoids: Overview of Biosynthesis, Biological Activity, and Current Extraction Techniques. *Plants*, 2732-2732.

Lopez, M., & Luque de Castro, M. (2020). Manuales de ciencia de la separación. *Extraccion soxhlet*, 327-354.

Lucien, B., Heithoff, D., Mahan, S., H. J., & Mahan, M. (2023). Antimicrobial susceptibility testing to evaluate minimum inhibitory concentration values of clinically relevant antibiotic. *STAR Protocols*, 4(3), 102512–102512.

MAE. (2012). *Especies forestales de los bosques secos del Ecuador, Guía dendrológica para su identificación y caracterización. Manejo Forestal Sostenible ante el Cambio Climático*. Finlandia, Quito, Ecuador. 140p.

Martinson, J. N., & Walk, S. T. (2020). Escherichia coli Residency in the Gut of Healthy Human Adults. *Ecosal Plus*, 9(1).

Moghadasian, M. H., & Shahidi, F. (2017). Fatty acids. *Elsevier eBooks*, (pp. 114-122).

Molina, N., Morán, N., & Fabara, M. (2022). *Árboles del Bosque Seco del Parque Histórico Guayaquil*. Universidad Espíritu Santo . Guayaquil, Ecuador.

Mominur, R., Saidur, R., Rezaul, I., Rahman, F., Faria, M., Alqahtani, T., . . . Sahab, U. (2021). Role of Phenolic Compounds in Human Disease: Current Knowledge and Future Prospects. *Molecules*, 233-233.

Montejano, J., Vargas, G., Pacheco, D., Rivera, P., Becerril, M., Imbert, J., . . . Ruiz, M. (2019). Tamizaje fitoquímico preliminar y actividad Antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de la corteza de Hippocratea excelsa Kunth (Cancerina). *Educación y Salud Boletín Científico Instituto de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, 8(15), 41–47.

Moses, T., Papadopoulou, K., & Osbourn, A. (2014). Metabolic and functional diversity of saponins, biosynthetic intermediates and semi-synthetic derivatives. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular*, 439-462.

Mosunova, O., Navarro, J., & Collemare, J. (2021). The Biosynthesis of Fungal Secondary Metabolites: From Fundamentals to Biotechnological Applications. *Encyclopedia of Mycology*, 458-476.

Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal Of Molecular Sciences*, 22(7), 3380.

Murray, A., Rodriguez, S., Frontera, M., Tomas, M., & Mulet, M. (2004). Antioxidant metabolites from *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze. *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 59(7-8), 477–480.

Nabeelah, B. S., Montesano, D., Albrizio, S., Gokhan, Z., & Mohamad, F. M. (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety—Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709-709.

Naranjo, J., Barcos, M., Pino, A., & Sornoza, L. (2019). *Los gigantes del bosque seco: Libro de especímenes arbóreos del bosque protector "La Prosperina". Unidad de Vinculación con la sociedad. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador .*

Nawaz, H., Shad, M. A., Rehman, N., Andaleeb, H., & Ullah, N. (2020). Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 56.

Nevara, G. A., Muhammad, S. K., Zawawi, N., Mustapha, N. A., & Karim, R. (2021). Dietary Fiber: Fractionation, Characterization and Potential Sources from Defatted Oilseeds. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(4), 754.

Nguyen, D., Luong, T., Nghiem, T., & Jung, W. (2023). Chemical composition, antioxidant and antifungal activities of rhizome essential oil of *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker grown in Vietnam. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 15-22.

Paredes, F., & Roca, J. J. (2004). Acción de los antibióticos. *Perspectiva de la medicación antimicrobiana. Offarm*, 23(3), 116–124.

Peña, D., Villena, P., Aguirre, A., & Merino, C. (2017). Diversidad genética de accesiones de la familia Caricaceae en el sur de Ecuador. *Maskana*, 85-102.

Platzer, M. K., Schweiggert-Weisz, U., Miesbauer, O., & Eisner, P. (2021). Common Trends and Differences in Antioxidant Activity Analysis of Phenolic Substances Using Single Electron Transfer Based Assays. *Molecules*, 26(5) 1244-1244.

Pujol, A., Tamargo, B., Salas, E., Calzadilla, C., Acevedo, R., & Sierra, G. (2020). Tamizaje fitoquímico de extractos obtenidos de la planta *Sapindus saponaria* L que crece en Cuba. *Bionatura (Ibarra - Impresa)*, 5(3), 1209-1214.

Quin, Z., Lin, L., & Wen, Y. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine*, 1.

Rodríguez, E, Gaitán, R., Méndez, D., Martelo, J., & Zambrano, R. (2007). Análogos de quinonas naturales con actividad antibacteriana. *Scientia Et Technica*, 33.

Rogers, A., Bullard, K. R., Dod, A. C., & Wang, Y. (2022). Bacterial Growth Curve Measurements with a Multimode Microplate Reader. *Bio-protocol*, 12(9).

Rojas, T., Fuentes, M., Contreras-López, E., Gómez, S., & Muñoz-Jáuregui, A. M. (2019). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cáscara de *Sanky* (*Corryocactus brevistylus*). *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 85(2),258-267.

Shrivastava, A. (2021). *Steam Distillation: Principle and Applications for the Extraction of Essential Oils from Plants*.

Singh, A., & Navneet, S. (2017). Ethnomedicinal, Antimicrobial and Pharmacological aspects of *Malva parviflora* Linn.: A review. *The Journal of phytopharmacology*, 247-250. Obtenido de <https://doi.org/10.31254/phyto.2017.6408>

Sisson, B. A., Buck, G. E., Franco, S., Goldsmith, L. J., & Rabalais, G. P. (2000). Penicillin Minimum Inhibitory Concentration Drift in Identical Sequential *Streptococcus pneumoniae* Isolates from Colonized Healthy Infants. *Clinical Infectious Diseases*, 30(1), 191-194.

Soto, I. E. (2016). *Germinación, microinjertación y cultivo de callos in vitro de Vasconcellea stipulata V.M. Badillo y Vasconcellea pubescens A.DC*. Obtenido de <https://doi.org/10.35537/10915/53339>

Soto, M., & Rosales, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxylla*. *Maderas-ciencia y Tecnologia*, 18(4), 701-714.

Sporre, E., Karlsen, J., Schriever, K., Johannes, A., Janasch, M., Strandberg, L., . . . Hudson, E. (2023). Metabolite interactions in the bacterial Calvin cycle and implications for flux regulation. *Communications Biology*, 6(1).

Ullah, A., Munir, S., Syed, L., Khan, N., Jaremko, M., & Abdul, E. (2020). Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*, 5243-5243.

Vega, F., Portillo, E., Cano, M., & y Navarrete, B. (2014). EXPERIENCIAS DE APRENDIZAJE EN INGENIERÍA QUÍMICA: DISEÑO, MONTAJE Y PUESTA EN MARCHA DE UNA UNIDAD DE DESTILACIÓN A ESCALA LABORATORIO MEDIANTE EL APRENDIZAJE BASADO EN PROBLEMAS. *Formación Universitaria*, 7(1), 13-22.

Veiga, A. D., Stofella, N. C., Oliveira, L. J., Gonçalves, A. G., & Murakami, F. S. (2019). Colorimetric microdilution assay: Validation of a standard method for determination of MIC, IC50%, and IC90% of antimicrobial compounds. *Journal Of Microbiological Methods*, 162, 50-61.

Verdecía, D., Herrera, R., Torres, E., Sánchez, A., Hernández, L., Herrera, R., . . . López, S. (2021). Primary and secondary metabolites of six species of trees, shrubs and herbaceous legumes. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 77-93.

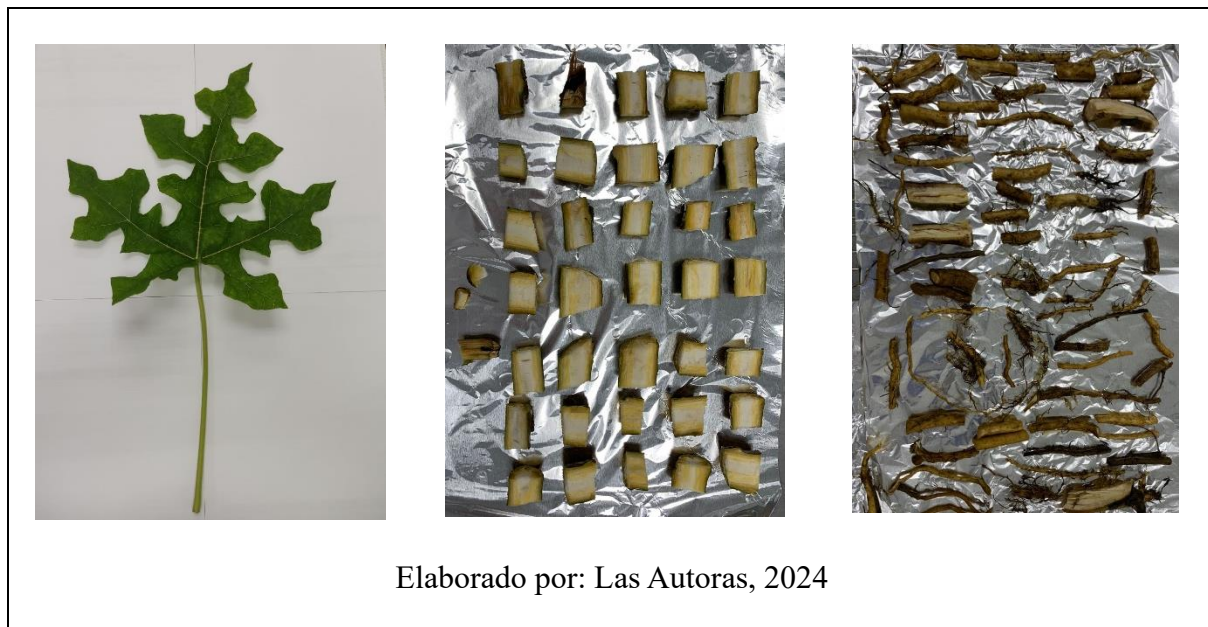
Vicken, J., Heng, L., Aede, G., & Gruppen, H. (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 275-297.

Vilaplana, M. (2007). Antioxidantes presentes en los alimentos, Vitaminas, minerales y suplementos. *Offarm*, 26(10), 79–86.

Yuang, P., & Linag, P. (2020). Biological and Pharmacological Effects of Synthetic Saponins. *Molecules*, 4974-4974.

ANEXOS

Anexo 1. Material vegetal de *Vasconcellea parviflora* (Hoja, tallo y raíz)



Anexo 2. Soxhlet de hoja, raíz y tallo



Anexo 3. Extracto sometido a rotavapor



Elaborado por: Las Autoras, 2024

Anexo 4. Extractos hidroalcohólicos y de acetado de etilo

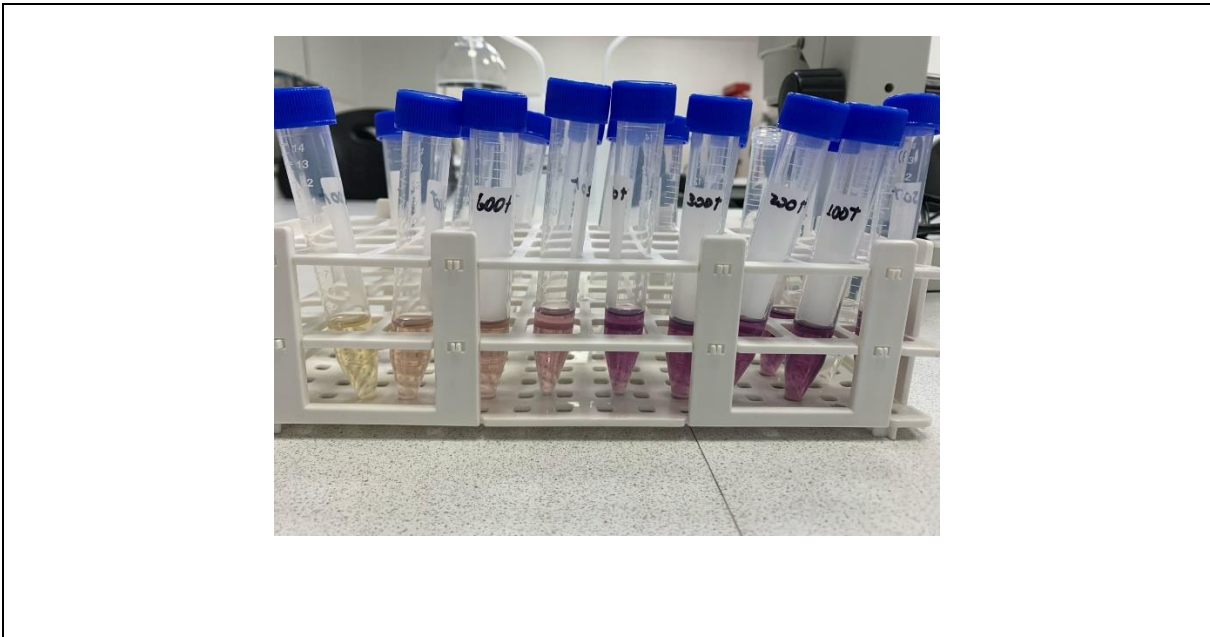


Elaborado por: Las Autoras, 2024

Anexo 5. Tamizaje fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos y de acetato de etilo



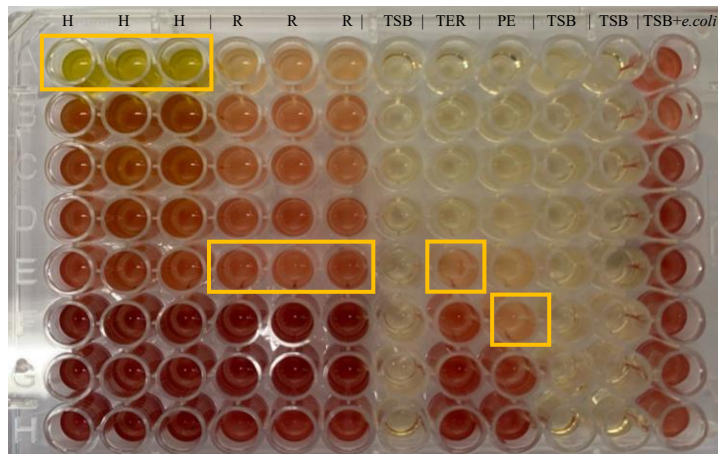
Anexo 6. Soluciones de DPPH para evaluar actividad antioxidante





Elaborado por: Las Autoras, 2024

Anexo 7. Evaluación antimicrobiana de *Vasconcellea parviflora*



Elaborado por: Las Autoras, 2024

Anexo 8. Materiales, equipos y reactivos

Materiales	Equipos	Reactivos
Vaso de precipitación 500mL	Autoclave	Hipoclorito de sodio (5%)
Placa de 96 pocillos	Estufa	DPPH
Caja de puntas estériles	Espectrofotómetro	Wagner
Micropipetas	Soxhlet	Dragendorff
Cepa certificada de <i>E. Coli</i>	Rotavapor	Mayer
Mortero	Incubadora	Hager
Rotulador	Ultrasonido	Peróxido de hidrogeno
Fundas ziploc	Plancha de calentamiento	Ácido sulfúrico
20 mL de extracto vegetal	Cámara de flujo laminar	Benedict
Espátula	Incubadora con agitación orbital	KAOH
Aza estéril	Lector de microplacas	NAOH
Mechero		Medio TSB
Pipetas Pasteur		Dimetilsulfóxido
Agitador magnético		Colorante (TTC)
Balanza analítica		Terpinol
Celdas para espectrofotómetro		Penicilina
Tubos de ensayo		Agua estéril

Elaborado por: Las Autoras, 2024

Anexo 9. Protocolo para lavado de materiales

1. Lavar con jabón desengrasante
2. Enjuagar con agua potable
3. Lavar con jabón libre de fosfatos
4. Enjuagar con agua potable
5. Lavar con etanol
6. Enjuagar con agua tipo I

Elaborado por: Las Autoras, 2024