



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE GUAYAQUIL

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA Y ANTIOXIDANTE
DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE CABUYA NEGRA
(*AGAVE CORDILLERENSIS*) PARA SU PONTENCIAL USO COSMÉTICO**

*Trabajo de titulación previo a la Obtención
del Título de Ingeniero(a) en Biotecnología*

AUTORES: BÁRBARA DOMENICA SAMANIEGO NEGRETE

MILLER ORLANDO AURIA YAGUAL

TUTOR: MSc. JAIRO JOEL JAIME CARVAJAL

GUAYAQUIL-ECUADOR

2025

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Nosotros, **Bárbara Domenica Samaniego Negrete** con documento de identificación N° 0951826502 y **Miller Orlando Auria Yagual** con documento de identificación N° 0941443459; manifestamos que:

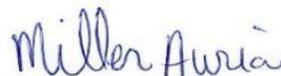
Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Guayaquil, 31 de enero del año 2025

Atentamente,



Bárbara Domenica Samaniego Negrete
CI: 0951826502



Miller Orlando Auria Yagual
CI: 0941443459

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

Nosotros, Bárbara **Domenica Samaniego Negrete**, con documento de identificación N° 0951826502 y **Miller Orlando Auria Yagual** con documento de identificación N° 0941443459, 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 trabajo experimental: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA Y ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE CABUYA NEGRA (AGAVE CORDILLERENSIS) PARA SU POTENCIAL USO COSMÉTICO”**; 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.

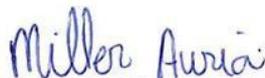
En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Guayaquil, 31 de enero del año 2025

Atentamente,



Bárbara Doménica Samaniego Negrete
C.I.: 0951826502



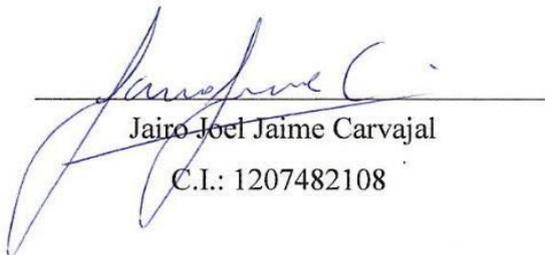
Miller Orlando Auria Yagual
C.I.: 0941443459

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 ANTIFÚNGICA Y ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE CABUYA NEGRA (*AGAVE CORDILLERENSIS*) PARA SU POTENCIAL USO COSMÉTICO**, realizado por **Bárbara Domenica Samaniego Negrete** con documento de identificación N° 0951826502 y **Miller Orlando Auria Yagual** con documento de identificación N° 0941443459, 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, 31 de enero del año 2025

Atentamente,



Jairo Joel Jaime Carvajal
C.I.: 1207482108

Dedicatoria Bárbara Samaniego

Esta tesis es dedicada a Dios ya que por él he podido tener a mis padres Wilson Samaniego y Pilar Negrete durante este gran reto, ellos han sido pilares totalmente fundamentales en todos los aspectos de mi vida y que siempre han tenido un consejo, conocimiento o abrazo para ofrecerme.

A mi abuelita Leonor Samaniego quien me ha nutrido con sus conocimientos sobre la cabuya negra, ya que es por quien nos inspiramos en nuestro tema de tesis y que, sin duda alguna, es mi ejemplo de perseverancia y fortaleza en esta vida. También a mi abuelita Angélica Paredes quien es la que me cuida desde el cielo, y que es mi motor para seguir adelante.

Por último, a mis sobrinos, hermana y tíos por darme siempre su apoyo incondicional, por siempre creer en mí y darme fuerzas cuando he estado por tirar la toalla; a mis amigos espirituales por ofrecerme la ayuda necesaria, por tenerme constantemente en sus oraciones y por hacerme saber que puedo con todo.

Dedicatoria Miller Auria

A mis amados padres, Glenda Fabiola Yagual de la Rosa y Jovanny Iván Auria Poveda, quienes han sido mi mayor fuente de inspiración y apoyo incondicional. Su amor, esfuerzo y sacrificio han sido el motor que me ha impulsado a superar cada desafío y alcanzar este importante logro. Gracias por enseñarme el valor del trabajo duro y la perseverancia. Este logro es tanto suyo como mío.

Al Dr. Juan Carlos Ruiz Cabezas, director del Laboratorio Clínico y de Biología Molecular en SOLCA, por su guía y generosidad al compartir su conocimiento. Su profesionalismo y dedicación han sido un ejemplo invaluable en mi formación.

Y a la Bióloga Sharon Fernández, tutora de mis pasantías en SOLCA, por su paciencia, orientación y apoyo constante. Su experiencia y compromiso fueron fundamentales para mi desarrollo profesional durante esta etapa. A todos ustedes, mi más profunda gratitud por haber sido pilares fundamentales en este camino.

Agradecimientos

Agradecemos profundamente a nuestro tutor Jairo Joel Jaime Carvajal quien ha estado siempre pendiente de nuestro proceso y nunca ha dudado en ayudarnos.

En la parte experimental, tuvimos el privilegio de contar con la ayuda invaluable de los laboratoristas Emilio, Paulo, Angie y Carla, quienes estuvieron siempre dispuestos a ofrecernos su tiempo, experiencia y conocimientos. No solo nos ayudaron con todo lo necesario para llevar a cabo nuestra investigación, sino que también nos ofrecieron consejos prácticos y valiosos que nos permitieron evitar errores en nuestra metodología y obtener resultados confiables.

Finalmente, agradecemos a todas las personas que, de una u otra manera, contribuyeron a este proyecto, ya sea con sus palabras de aliento, su colaboración o su ejemplo profesional. Este logro es reflejo del trabajo en equipo y de las conexiones humanas que hicieron posible su realización.

Resumen

La cabuya negra, una planta nativa de los Andes ecuatorianos, ha sido utilizada tradicionalmente para diversos fines, pero su potencial bioactivo aún no ha sido completamente investigado. Este estudio tiene como objetivo analizar de la actividad antifúngica y antioxidante del extracto hidroalcohólico de cabuya negra (*Agave cordillerensis*), y establecer diferencias significativas en las propiedades bioactivas entre las distintas secciones de la hoja (ápice, media y base). La metodología incluyó la recolección de muestras, extracción hidroalcohólica y pruebas in vitro para evaluar tanto la actividad antifúngica mediante pruebas de inhibición como la capacidad antioxidante utilizando el método DPPH. Como resultados de la actividad antifúngica obtuvimos 4 placas petri en las cuales se pudieron observar halos de inhibición alrededor de los discos de papel filtro. Por otro lado, en la evaluación de actividad antioxidante se pudo observar que hubo mayor porcentaje de inhibición, cual fue en la muestra de la parte media de la hoja de cabuya negra recolectada en Salasaca tuvo un valor de 77,75%. Este estudio busca no solo resaltar la importancia de la cabuya negra en el ámbito cosmético, sino también fomentar su uso sostenible y su valorización en las comunidades locales.

Palabras clave: Cabuya negra; *Agave cordillerensis*; Actividad antifúngica; Actividad antioxidante; Cosméticos.

Abstract

The present research focuses on the evaluation of the antifungal and antioxidant activity of the hydroalcoholic extract of black cabuya (*Agave cordillerensis*), with the objective of exploring its potential use in cosmetic products. Black cabuya, a plant native to the Ecuadorian Andes, has been traditionally used for various purposes, but its bioactive potential has not yet been fully investigated. This study is justified by the growing demand for safe and effective dermatological treatments, especially against fungal infections such as those caused by *Candida albicans*.

The general objectives are to evaluate the antifungal and antioxidant activity of the extract and to determine significant differences in the bioactive properties between the different sections of the leaf (apex, middle and base). The methodology includes sample collection, hydroalcoholic extraction and *in vitro* tests to evaluate both antifungal activity by inhibition tests and antioxidant capacity using the DPPH method.

The expected results could contribute to the development of natural cosmetic products based on black cabuya extract, offering viable alternatives to conventional treatments that have limitations. This study seeks not only to highlight the importance of black cabuya in the cosmetic field, but also to promote its sustainable use and its valorization in local communities

Keywords: Black cabuya; *Agave cordillerensis*; Antifungal activity; Antioxidant activity; Cosmetics.

Índice de contenidos

Capítulo 1	1
Antecedentes	1
1.1. Introducción.....	1
1.2. Planteamiento del problema	2
1.3. Justificación	3
1.4.1. Objetivo General	3
1.4.2. Objetivos Específicos	4
Capítulo 2	4
Marco Teórico	4
2.1. Antecedentes del género <i>Agave</i>	4
2.1.2. Propiedades bioactivas de <i>Agave cordillerensis</i>	5
2.2.2 Infecciones fúngicas y su tratamiento	6
2.3. Métodos de extracción y análisis de compuestos bioactivos.....	7
Capítulo 3	7
3.1 Metodología	7
3.1.1 Recolección y preparación de muestras.....	7

3.1.2	Proceso de extracción hidroalcohólica	9
3.1.3	Evaluación de la actividad antifúngica	10
3.1.4	Evaluación de la actividad antioxidante	12
3.1.5	Análisis estadístico	14
	Referencias Bibliográficas.....	14
	Anexos.....	18

Simbología

°C grados Celsius

μL microlitro

H hora

G gramo

ml mililitro

Nm nanómetro

Mm milimolar

Índice de imágenes

Imagen 1. Ubicación geográfica de zona de recolección de muestra de Cubijés.....	25
Imagen 2. Ubicación geográfica de zona de recolección de muestra de Salasaca.....	25
Imagen 3. Muestras de cabuya negra secas.	28
Imagen 4. Diagrama del proceso de recolección y preparación de muestras.....	28
Imagen 5. Proceso de triturado de las muestras.....	29
Imagen 6. Proceso de filtración al vacío.....	29
Imagen 7. Diagrama del proceso de la preparación de los extractos hidroalcohólicos.	30
Imagen 8. Diagrama del proceso de la evaluación de la actividad antifúngica.....	31
Imagen 9. Diagrama del proceso de la evaluación de la actividad antioxidante.....	33
Imagen 10. Resultados de la evaluación de actividad antifúngica de muestras de Salasaca	36
Imagen 11. Resultados de la evaluación de actividad antifúngica de muestras de Cubijés.....	37
Imagen 12. Controles de la evaluación de actividad antifúngica.....	37
Imagen 13. Muestras de <i>Agave cordillerensis</i> con DPPH después de calcular absorbancia	42

Índice de tablas

Tabla 1	26
Tabla 2	42

Índice de Anexos

Anexo 1. Gráfica de interacción matriz*ubicación.....	46
Anexo 2. Equipos empleados en el proceso experimental de la elaboración del extracto hidroalcohólico de cabuya negra.....	55
Anexo 3. Equipos empleados en el proceso experimental de la evaluación de la actividad antifúngica.	55
Anexo 4. Equipos empleados en el proceso experimental de la evaluación de la actividad antioxidante.	56
Anexo 5. Reactivos empleados en el proceso experimental de la elaboración de extracto hidroalcohólico de cabuya negra	56
Anexo 6. Medio de cultivo utilizados para reactivación y cultivo de cepas.....	56
Anexo 7. Soluciones utilizadas en el proceso experimental de la evaluación antifúngica	57
Anexo 8. Inhibición de crecimiento de cepa <i>Candida albicans</i> en Ápice-Salasaca.....	57
Anexo 9. Inhibición de crecimiento de cepa <i>Candida albicans</i> en Medio-Salasaca.....	57
Anexo 10. Inhibición de crecimiento de cepa <i>Candida albicans</i> en Base-Salasaca.....	58
Anexo 11. Inhibición de crecimiento de cepa <i>Candida albicans</i> en Ápice-Cubijíes.	58
Anexo 12. Inhibición de crecimiento de cepa <i>Candida albicans</i> en Medio-Cubijíes.....	59
Anexo 13. Inhibición de crecimiento de cepa <i>Candida albicans</i> en Base-Cubijíes.	59
Anexo 14. Control de inhibición de crecimiento de cepa <i>Candida albicans</i> con <i>Ciprofloxacina 5</i>	60
Anexo 15. Variación logarítmica de la absorbancia en el ápice de <i>Agave cordillerensis</i> recolectado en Salasaca	60
Anexo 16. Relación logarítmica entre la absorbancia y la concentración en la sección media de <i>Agave cordillerensis</i> de Salasaca.....	61
Anexo 17. Relación logarítmica entre la absorbancia y la concentración en la base de <i>Agave cordillerensis</i> de Salasaca	61
Anexo 18. Variación logarítmica de la absorbancia en el ápice de <i>Agave cordillerensis</i> recolectado en Cubijíes.....	62
Anexo 19. Relación logarítmica entre la absorbancia y la concentración en la sección media de <i>Agave cordillerensis</i> de Cubijíes.	62
Anexo 20. Relación logarítmica entre la absorbancia y la concentración en la base de <i>Agave cordillerensis</i> de Cubijíes.....	63
Anexo 21. Relación entre el porcentaje de inhibición del radical DPPH y la concentración del extracto hidroalcohólico de cabuya negra.....	63
Anexo 22. Análisis de la varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante del extracto de cabuya negra	63
Anexo 23. Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III): Efectos de la Matriz y Ubicación sobre la Actividad Antioxidante	64
Anexo 24. Prueba de comparación de medias (Tukey) para matriz y ubicación del extracto de cabuya negra	64
Anexo 25. Resultados del Test de Tukey (Alfa = 0,05, DMS = 0,00587): Comparación de Medias por Ubicación.....	64
Anexo 26. Resultados del Test de Tukey (Alfa = 0,05, DMS = 0,01567): Interacción entre Matriz y Ubicación en la Actividad Antioxidante.....	65
Anexo 27. Diferencias significativas de la matriz de <i>Agave Cordillerensis</i>	65
Anexo 28. Diferencias significativas de las ubicaciones de recolección de <i>Agave Cordillerensis</i>	66
Anexo 29. Recolección de hojas de cabuya negra.....	66
Anexo 30. Preparación de agar Sabouraud.....	67
Anexo 31. Eliminación de etanol de los extractos.....	67

Capítulo 1

Antecedentes

1.1. Introducción

En las últimas décadas, el estudio de los recursos naturales ya sea para aplicaciones industriales, cosméticas e incluso farmacéuticas, ha ido cobrando protagonismo debido a su sostenibilidad y seguridad. Por esta razón, la cabuya negra (*Agave cordillerensis*), una planta autóctona de los Andes ecuatorianos, se muestra como un recurso de gran interés por su potencial bioactivo. A pesar de no existir suficientes investigaciones científicas sobre esta planta, esta ha sido tradicionalmente empleada por comunidades locales en aplicaciones sobre el cuero cabelludo, entre otros usos, lo que sugiere potenciales propiedades funcionales que necesitan ser exploradas a profundidad (Martínez & González, 2019). Su potencial composición química, rica en compuestos con propiedades antioxidantes y antifúngicas, la posiciona como una alternativa prometedora e interesante para el desarrollo de productos cosméticos innovadores.

Por otro lado, tenemos las enfermedades dermatológicas, particularmente aquellas relacionadas con infecciones fúngicas y el estrés oxidativo, las cuales afectan a millones de personas a nivel mundial y generan una demanda constante de productos totalmente eficaces y seguros ya que los tratamientos convencionales, como los corticosteroides y antimicrobianos sintéticos, suelen estar asociados con efectos secundarios y la creciente resistencia microbiana, lo que subraya la importancia de explorar alternativas basadas en recursos naturales (López & Pérez, 2018). En este contexto, los extractos vegetales, incluyendo aquellos obtenidos de especies del género *Agave*, han demostrado un gran potencial debido a su capacidad para inhibir el crecimiento microbiano y neutralizar radicales libres (Custode-Pérez et al., 2023)

El objetivo general de esta investigación es evaluar la actividad antifúngica y antioxidante del extracto hidroalcohólico de cabuya negra para su potencial aplicación en productos cosméticos. Para ello, se busca determinar diferencias en la actividad antifúngica y antioxidante entre las distintas fracciones de la hoja (ápice, parte media y base) y analizar el impacto de las condiciones geográficas de recolección sobre su composición química (Gómez et al., 2022)

Este trabajo pretende contribuir al conocimiento científico de los recursos.

1.2 Planteamiento del problema

La cabuya negra (*Agave cordillerensis*), ha sido ancestralmente empleada por comunidades rurales en diversas aplicaciones tradicionales, como elaboración de bebidas e incluso como reemplazo del shampoo. Entre las comunidades andinas, esta planta es conocida por su versatilidad y resistencia, pero su aprovechamiento científico se ha centrado en aplicaciones limitadas. Algunos estudios iniciales sugieren que podría contener metabolitos secundarios con propiedades antioxidantes y antimicrobianas, abriendo nuevas oportunidades en el desarrollo de productos biotecnológicos, especialmente en el área cosmética (Martínez & González, 2019).

A pesar de su potencial, el conocimiento sobre la cabuya negra sigue siendo limitado, lo que resalta la importancia de investigaciones que validen científicamente sus propiedades bioactivas. Algunos estudios han empezado a indagar en su posible capacidad para combatir infecciones fúngicas y neutralizar radicales libres, problemas frecuentes en el ámbito de la dermatología y la cosmética (Zambrano & Rojas, 2021). Estas investigaciones buscan rescatar el valor de este recurso natural, fomentando su aprovechamiento sostenible y beneficiando a las comunidades que tradicionalmente han cultivado y utilizado la cabuya negra.

Por otro lado, las infecciones fúngicas y los efectos del estrés oxidativo representan desafíos importantes para la salud de la piel ya que los tratamientos convencionales, como los antifúngicos sintéticos y los corticosteroides, pueden generar efectos adversos y contribuir al desarrollo de resistencia microbiana (López & Pérez, 2018). Esta problemática ha impulsado la búsqueda de alternativas basadas en compuestos naturales, con el objetivo de ofrecer soluciones más seguras, eficaces y sostenibles.

La exploración de las propiedades bioactivas de la cabuya negra podría representar una alternativa innovadora frente a estos desafíos. Sin embargo, hasta el momento no se han realizado estudios que analicen de manera integral su actividad antifúngica y antioxidante, ni su variabilidad en función de la estructura de la hoja o el entorno geográfico. Esta ausencia de información constituye una brecha en el conocimiento que el presente estudio pretende abordar.

El problema central de esta investigación radica en la subutilización de un recurso vegetal abundante y con potencial bioactivo, así como en la falta de conocimiento sobre su aplicación en el desarrollo de productos cosméticos. Por tanto, se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿En qué medida las propiedades antifúngicas y antioxidantes de la cabuya negra varían entre las fracciones de su hoja y en función de las condiciones geográficas de recolección?

1.3 Justificación

El presente proyecto tiene como propósito principal generar conocimiento sobre las propiedades bioactivas de la cabuya negra (*Agave cordillerensis*), una especie vegetal tradicionalmente utilizada en prácticas locales, cuyo potencial científico permanece en gran medida desconocido. Con este estudio, se busca revalorizar este recurso natural, y por consiguiente, contribuir al desarrollo de alternativas dermatológicamente sostenibles.

La creciente resistencia a los tratamientos antifúngicos convencionales y los efectos

secundarios asociados con el uso prolongado de corticosteroides resaltan la necesidad de buscar nuevas fuentes de compuestos bioactivos. En este contexto, los extractos vegetales representan una solución viable debido a su bajo costo, alta disponibilidad y amplio espectro de acción (López & Pérez, 2018). Además, el uso de la cabuya negra en productos cosméticos podría llegar a impulsar el desarrollo económico local y, por lo tanto, fomentar prácticas agrícolas sostenibles en las regiones andinas donde esta planta crece abundantemente.

Por otro lado, desde la perspectiva científica, este estudio ayudará a ampliar la base de conocimientos sobre las especies del género *Agave*, de manera que proporcione datos relevantes sobre su composición química y sus aplicaciones potenciales. Asimismo, al evaluar las diferencias de las distintas fracciones de la hoja y entre regiones geográficas, se podrá optimizar el aprovechamiento de este recurso natural, promoviendo su uso racional y sostenible.

1.4 Delimitación

Los compuestos bioactivos presentes en el extracto pueden verse afectados por factores ambientales como el suelo, la temperatura y la altitud. Dado que las muestras fueron recolectadas únicamente en dos localidades (Salasaca y Cubijés), los resultados pueden no ser representativos de toda la población de *Agave cordillerensis*. Estudios adicionales en diferentes regiones permitirían evaluar mejor la estabilidad y composición química del extracto.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Evaluar la actividad antifúngica y antioxidante del extracto hidroalcohólico de cabuya negra (*Agave cordillerensis*) para determinar su potencial aplicación en productos cosméticos.

1.2.2 Objetivos específicos

1. Determinar la actividad antifúngica de los extractos hidroalcohólicos de las fracciones de la hoja de cabuya negra (ápice, parte media y base) mediante ensayos de inhibición frente a *Candida albicans*.
2. Evaluar la capacidad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos utilizando el ensayo de DPPH para medir la neutralización de radicales libres.
3. Analizar las diferencias significativas en las propiedades bioactivas de las fracciones de la hoja en función de las condiciones geográficas de recolección.

Capítulo 2: Marco teórico

2.1 Antecedentes del género *Agave*

El género *Agave* pertenece a la familia *Asparagaceae* y está conformado por más de 200 especies distribuidas principalmente en zonas de clima árido y semiárido del continente americano (Thiede, 2020).

Estas plantas han sido aprovechadas de diversas formas a lo largo de la historia, incluyendo la producción de fibras textiles, la elaboración de bebidas fermentadas y e incluso se la ha utilizado en la medicina tradicional (Martínez & González, 2019).

En el contexto ecuatoriano, la cabuya negra (*Agave cordillerensis*) se destaca como un recurso de interés debido a sus propiedades bioactivas y su relevancia cultural en comunidades locales (Sánchez & Pérez, 2021). Sin embargo, su aprovechamiento se ha visto limitado debido a la falta de estudios científicos que puedan respaldar sus potenciales aplicaciones tanto industriales como terapéuticas.

2.1.2. Propiedades bioactivas de *Agave cordillerensis*

Estudios sugieren que las especies del género *Agave* poseen gran variedad de metabolitos secundarios entre ellos flavonoides, saponinas y polifenoles, los cuales han demostrado que poseen actividad antimicrobiana y antioxidante (Custode-Pérez et al., 2023). Por lo general, las saponinas son conocidas por su capacidad de alterar la permeabilidad de las membranas celulares en hongos patógenos, lo cual llega a dificultar su crecimiento y proliferación (García & Torres, 2021). Por otro lado, los flavonoides y polifenoles participan como potentes agentes antioxidantes en la neutralización de radicales libres, y de esta manera protegen las estructuras celulares del daño oxidativo y reducen el envejecimiento prematuro de los tejidos (Patel et al., 2021).

Estudios previos, han demostrado que la concentración de estos compuestos bioactivos puede variar en función de diversos factores ambientales, como la altitud, el tipo de suelo y las condiciones climáticas (Zambrano & Rojas, 2021). Esto sugiere que la composición química de *Agave cordillerensis* podría variar de acuerdo con la región donde se cultive, lo que hace necesario un análisis detallado de sus propiedades en función de su entorno.

Sin embargo, a pesar del potencial que se sugiere que tiene esta planta, existen pocos estudios que hayan caracterizado exhaustivamente su composición fitoquímica y sus aplicaciones en la industria cosmética o farmacéutica.

2.2 Estrés oxidativo y enfermedades dermatológicas

El estrés oxidativo se da cuando hay un desequilibrio entre la generación de radicales libres y la capacidad del organismo para neutralizarlos a través de antioxidantes (López & Pérez, 2018). A este fenómeno se lo asocia con diversas enfermedades crónicas y afecciones dermatológicas, incluyendo el envejecimiento prematuro de la piel, la dermatitis y la psoriasis (Gómez-Rodríguez & Rivera-Cárdenas, 2019). La radiación ultravioleta, contaminantes ambientales y malos hábitos alimenticios son factores que pueden acelerar los procesos de deterioro celular.

Se ha observado que los antioxidantes de origen natural, especialmente aquellos extraídos de plantas, pueden ayudar a mitigar el daño oxidativo en la piel (Silva et al., 2024). En este sentido, los compuestos bioactivos presentes en *Agave cordillerensis* podrían ser aprovechados en el desarrollo de productos cosméticos con propiedades protectoras y regenerativas, ofreciendo una alternativa segura y sostenible para el cuidado de la piel.

2.2.2 Infecciones fúngicas y su tratamiento

Uno de los desafíos que tiene el campo de la dermatología son las infecciones causadas por hongos, en este caso, las producidas por *Candida albicans* (Choi et al., 2022). Ya que estos microorganismos pueden afectar la piel, las mucosas y las uñas, generando molestias y complicaciones en personas con sistemas inmunológicos comprometidos. A pesar de que existen tratamientos antifúngicos convencionales, como el fluconazol y la anfotericina B, la creciente resistencia a estos medicamentos ha impulsado la búsqueda de alternativas más seguras y eficaces (Ojito-Ramos et al., 2020).

En este contexto, los extractos de plantas con actividad antimicrobiana han captado el interés de la comunidad científica (Custode-Pérez et al., 2023). Ya que se ha documentado que las saponinas y otros compuestos presentes en *Agave cordillerensis* poseen efectos antifúngicos al alterar la estructura de la membrana celular de los hongos, impidiendo su proliferación (Davicino et al., 2007). Estas propiedades sugieren que el extracto hidroalcohólico de la cabuya negra podría constituir una opción prometedora para el desarrollo de productos antifúngicos de origen natural.

2.3. Métodos de extracción y análisis de compuestos bioactivos

La extracción hidroalcohólica es uno de los métodos más utilizados para obtener compuestos bioactivos de plantas. Este método emplea una mezcla de etanol y agua, lo que permite solubilizar tanto compuestos polares como no polares, maximizando la recuperación de metabolitos secundarios. Se opta por la proporción de etanol al 70% ya que es efectiva para la extraer flavonoides y saponinas, compuestos clave en la actividad bioactiva de las plantas (Patel et al., 2021).

Posteriormente, los extractos obtenidos son analizados para determinar su composición química y capacidad bioactiva. En el caso de la evaluación antioxidante, uno

de los métodos de ensayo más comunes es el de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) ya que mide la capacidad de los compuestos para donar electrones y neutralizar radicales libres, y de esta manera proporciona una medida cuantitativa de la actividad antioxidante (Gómez-Rodríguez & Rivera-Cárdenas, 2019).

Por otro lado, para la evaluación antifúngica, el método ampliamente utilizado es el de difusión en discos. Este método se basa en la aplicación de discos impregnados con extracto a analizar, sobre placas de cultivo las cuales son inoculadas con *Candida albicans*. El tamaño de los halos de inhibición formados alrededor de los discos indica la eficacia del extracto. En estos ensayos, se han utilizado controles positivos, como ciprofloxacina, y negativos (discos sin extracto) para validar los resultados (Choi et al., 2022; Silva et al., 2024).

Capítulo 3: Metodología

3.1 Ubicación geográfica

Las hojas de cabuya negra (*Agave cordillerensis*) fueron recolectadas en dos localidades específicas de la Sierra ecuatoriana:

- Cubijes con las siguientes coordenadas geográficas: $1^{\circ}38'41.5''S$
 $78^{\circ}35'24.0''W$



Imagen 1. Ubicación geográfica de zona de recolección de muestra de Cubijes.

- Salasaca con las siguientes coordenadas geográficas: $1^{\circ}18'43.1''S$
 $78^{\circ}34'47.5''W$



Imagen 2. Ubicación geográfica de zona de recolección de muestra de Salasaca.

Estas regiones fueron seleccionadas estratégicamente debido a sus diferencias en altitud, clima y características del suelo, factores que podrían influir significativamente en la composición de los compuestos bioactivos presentes en la planta (Martínez & González, 2019). La recolección se llevó a cabo durante los meses de mayor estabilidad climática para evitar posibles contaminaciones derivadas de las lluvias o el exceso de humedad.

3.2 Diseño experimental

Para nuestro diseño se utilizó el software Infostat versión 2017. Para evidenciar las diferencias significativas mediante el análisis de varianza ANOVA y prueba de Tukey. El nivel de la significancia de la prueba de ANOVA es $p < 0,0001$, las variables consideradas fueron la matriz que representa las partes de la hoja de cabuya negra, ubicación de donde fueron recolectadas y la interacción entre ambas. En la prueba de Tukey el nivel de significancia es de 5% ($p < 0.05$), en el cual las variables, en este apartado se evalúan las diferencias entre las variables consideradas que fueron la matriz, ubicación e interacción entre ambos factores, en el cual las letras distintas representan diferencias significativas entre las combinaciones.

La matriz representa las distintas partes de la hoja de *Agave Cordillerensis* que son ápice (1), medio (2) y base (3); y la ubicación que son Salasaca (1) y Cubijés (2).

Tabla 1.

Tabla de diseño experimental

Réplicas	Ubicación	Parte de la hoja	Actividad
1	Salasaca	Ápice	Antifúngica
2			
1		Medio	
2			
1		Base	
2			

1		Ápice	Antioxidante
2		Medio	
1			
2		Base	
1			
2			
1	Cubijés	Ápice	Antifúngica
2		Medio	
1			
2		Base	
1			
2			
1		Ápice	Antioxidante
2		Medio	
1			
2	Base		
1			
2			

3.3 Recolección y preparación de muestras

Una vez recolectadas, las hojas fueron transportadas en bolsas de papel para minimizar la degradación de los compuestos bioactivos. Una vez transportadas al laboratorio, las hojas fueron sometidas a un proceso de limpieza inicial utilizando agua destilada para eliminar partículas de suciedad y residuos externos. Posteriormente, se desinfectaron utilizando una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 5 minutos, seguida de varios enjuagues con agua destilada estéril para garantizar la eliminación total del desinfectante (Patel et al., 2021).

Tras la limpieza, las hojas se dividieron en tres fracciones específicas: el ápice, la parte media y la base. Esta división permitió evaluar cómo varían los compuestos bioactivos a lo largo de la estructura de la hoja. Las hojas se secaron en un espacio sombreado, ventilado y a temperatura ambiente (25-28 °C) durante un período de 7 a 10 días, evitando la exposición directa a la luz solar para prevenir la degradación de los metabolitos secundarios sensibles a la luz y al calor excesivo (Zambrano & Rojas, 2021).



Imagen 3. Muestras de cabuya negra secas.

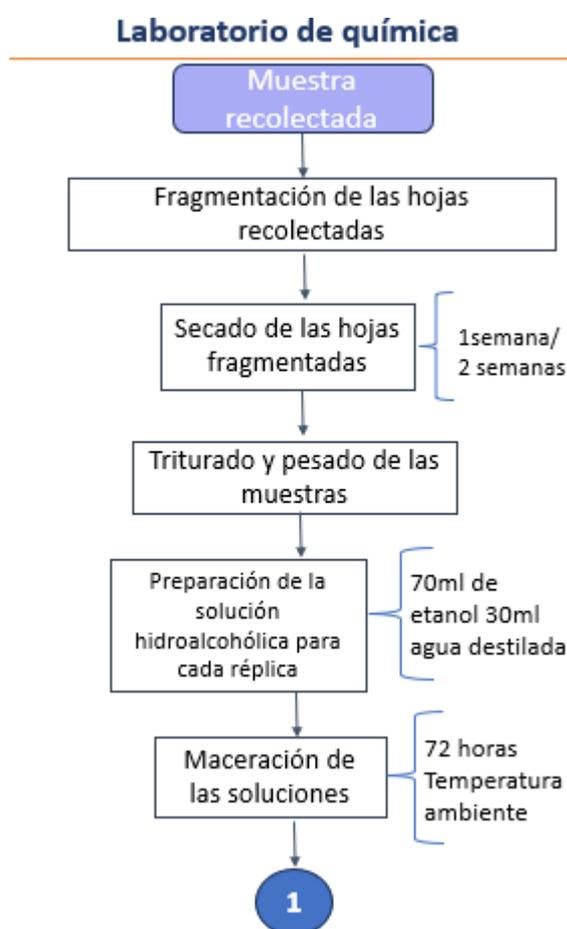


Imagen 4. Diagrama del proceso de recolección y preparación de muestras.

3.4 Proceso de extracción hidroalcohólica

Cada fracción fue triturada utilizando morteros hasta obtener un polvo homogéneo, este será macerado con solución hidroalcohólica (70% etanol-30% agua destilada) en una

proporción de 1:10 (10 g de polvo por 100 mL de solución hidroalcohólica) en frascos de vidrio ámbar para minimizar la exposición a la luz.



Imagen 5. Proceso de triturado de las muestras.

La maceración se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 72 horas, y las muestras fueron agitadas cada 12 horas para garantizar una extracción uniforme de los compuestos activos (Gómez-Rodríguez & Rivera-Cárdenas, 2019). Finalizado este tiempo, las muestras fueron filtradas mediante filtración al vacío.



Imagen 6. Proceso de filtración al vacío.

Posteriormente, el extracto líquido obtenido se concentró mediante un evaporador rotatorio a 40 °C, eliminando el solvente sin comprometer la estabilidad de los compuestos bioactivos (López et al., 2022).

Los extractos concentrados serán almacenados en frascos de vidrio ámbar a 4.1°C para su conservación hasta el momento de ser utilizados en los análisis correspondientes. Este método asegura la estabilidad de los compuestos bioactivos y minimiza la oxidación o degradación de los mismos (Patel et al., 2021).

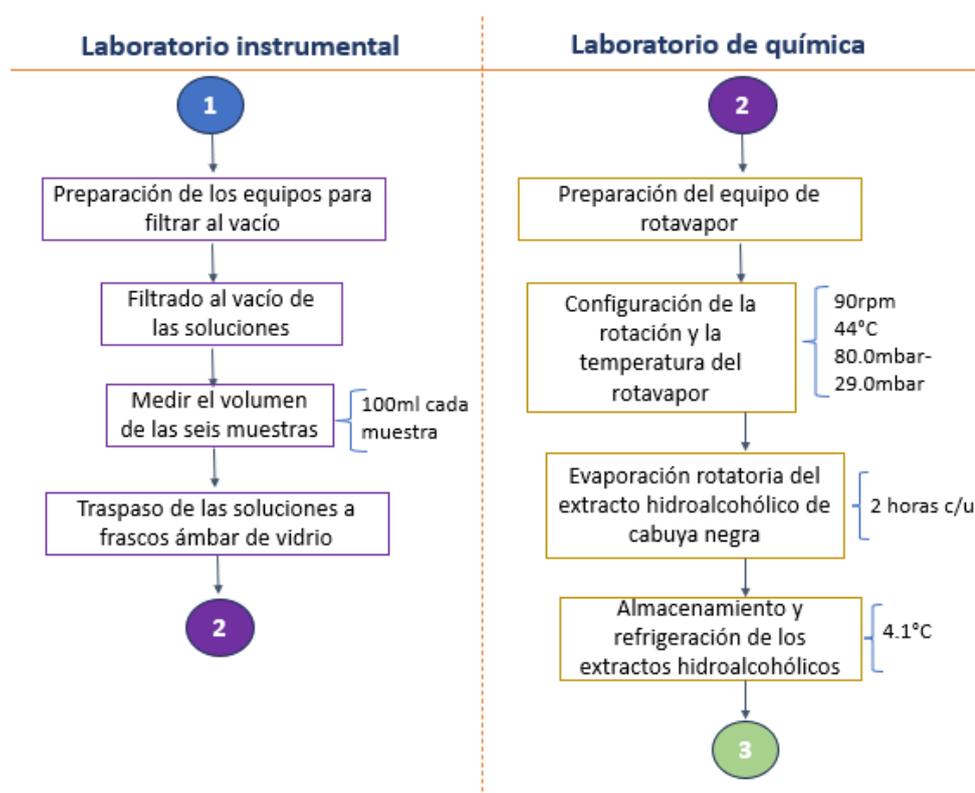


Imagen 7. Diagrama del proceso de la preparación de los extractos hidroalcohólicos.

3.1.1 Evaluación de la actividad antifúngica

La actividad antifúngica de los extractos se evaluó mediante difusión en disco. Para ello, se utilizaron placas de agar Sabouraud, un medio de cultivo que favorece el crecimiento de hongos como *Candida albicans*. El medio fue preparado de acuerdo con las especificaciones del fabricante y esterilizado en autoclave a 121 °C durante 60 minutos.

Una vez solidificado, las placas fueron inoculadas con una suspensión de *Candida albicans* ajustada a una densidad óptica de 0.1 a 600 nm, lo que equivale a una concentración de 1×10^3 UFC/mL (Choi et al., 2022).

Se prepararon discos de papel filtro estériles de 6 mm de diámetro, los cuales fueron impregnados con 20 μ L de los extractos a una concentración de 100 μ g/mL. Los discos se colocaron sobre la superficie del agar utilizando pinzas estériles y ejerciendo una ligera presión para asegurar el contacto adecuado. Como control positivo, se empleó ciprofloxacina (CIP 5), un antibiótico eficaz contra bacterias y hongos.

También se incluyeron controles negativos utilizando discos impregnados únicamente con agua destilada estéril (Silva et al., 2024).

Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24-48 horas en una incubadora microbiológica. Posteriormente, se observó la presencia de halos de inhibición y los datos obtenidos se analizaron estadísticamente para determinar diferencias significativas entre las zonas de inhibición generadas por los extractos y las generadas por el control positivo (López et al., 2022)

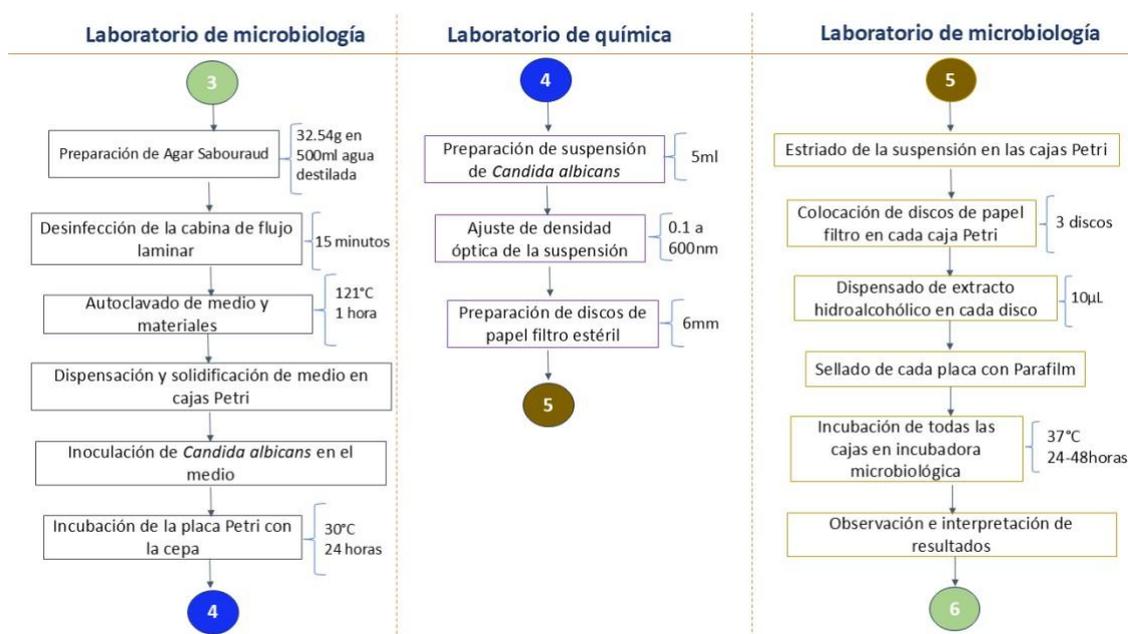


Imagen 8. Diagrama del proceso de la evaluación de la actividad antifúngica.

3.1.1 Evaluación de la actividad antioxidante

La capacidad antioxidante de los extractos se determinó mediante el ensayo de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), el cual es utilizado para evaluar la capacidad de los compuestos para neutralizar radicales libres. Se preparó una solución madre de DPPH en metanol a una concentración de 0.1 mM, la cual se almacenó en oscuridad y a temperatura ambiente para evitar su degradación (Gómez-Rodríguez & Rivera- Cárdenas, 2019).

Para cada análisis, se mezcló 1 mL de la solución de DPPH con 1 mL de los extractos diluidos con agua destilada. Las mezclas fueron incubadas en oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente para garantizar la interacción entre el DPPH y los compuestos antioxidantes presentes en los extractos. Posteriormente, se midió la absorbancia de las muestras a 517 nm utilizando un espectrofotómetro UV-Vis calibrado (Silva et al., 2024).

La actividad antioxidante fue expresada como porcentaje de inhibición del DPPH, calculado mediante la fórmula:

$$\%inhibición = \left(\frac{\text{absorbancia del control} - \text{absorbancia de la muestra}}{\text{absorbancia del control}} \right) \times 100$$

donde es la absorbancia del control (DPPH sin extracto) y es la absorbancia de la muestra con extracto. Para construir la curva estándar, se utilizó Trolox como estándar de referencia, y así construir una curva estándar y expresar los resultados en $\mu\text{M TE}$ (López et al., 2022).

3.1.2 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó con el propósito de evaluar la significancia y confiabilidad de los resultados experimentales obtenidos. Los valores de absorbancia fueron sometidos a un análisis descriptivo, calculándose medias y desviaciones estándar para estimar la variabilidad experimental y la consistencia de los replicados obtenidos.

Posteriormente, se llevaron a cabo análisis inferenciales mediante el análisis de varianza

(ANOVA) para detectar diferencias estadísticamente significativas entre las fracciones de las hojas en términos de su actividad antioxidante y antifúngica, garantizando el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas mediante pruebas específicas.

Asimismo, se analizaron correlaciones entre las concentraciones de los extractos y los porcentajes de inhibición de radicales libres mediante el método DPPH.

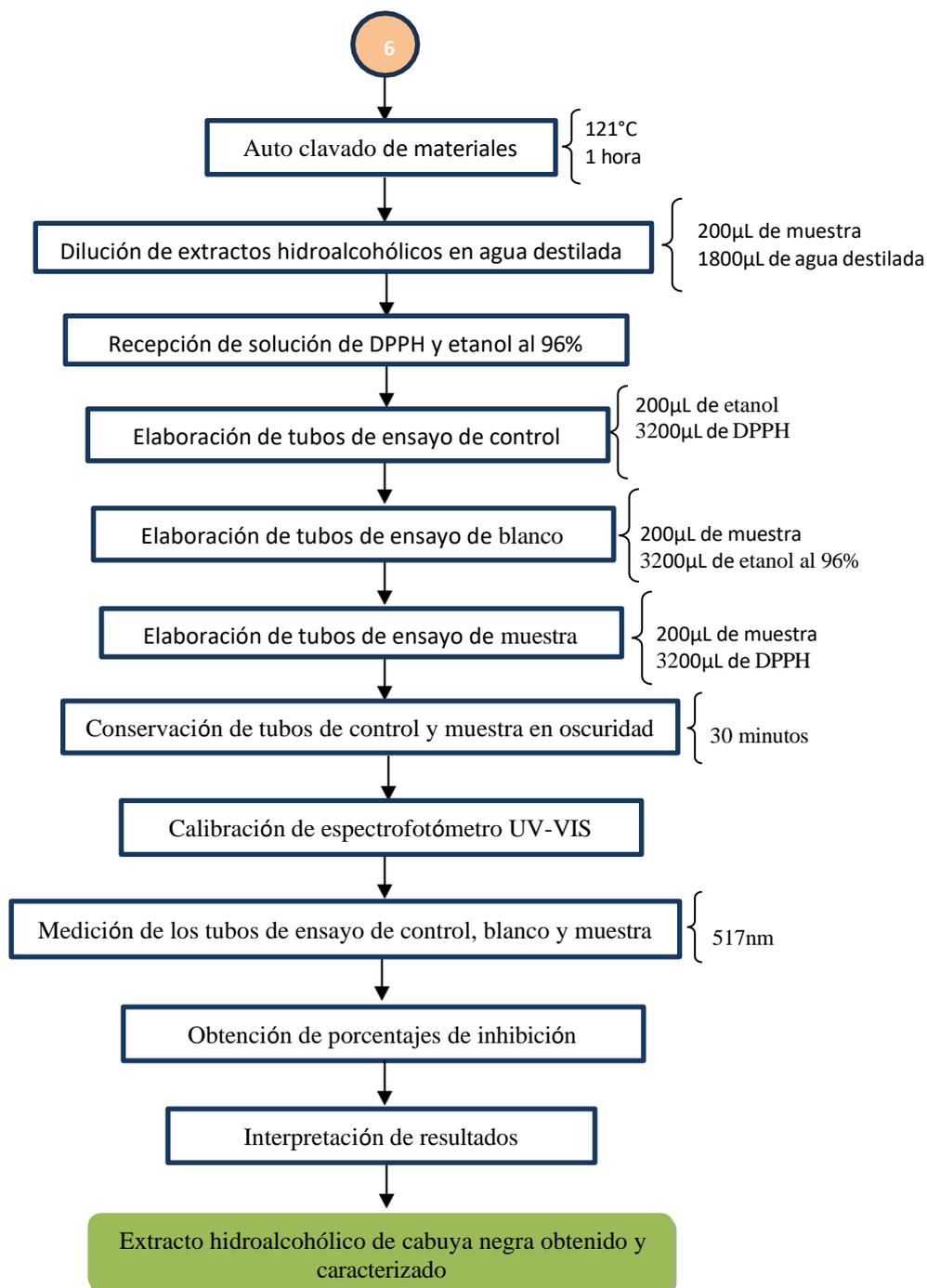


Imagen 9. Diagrama del proceso de la evaluación de la actividad antioxidante.

Capítulo 4: Resultados y discusiones

4.1 Determinar la actividad antifúngica de los extractos hidroalcohólicos de las fracciones de la hoja de cabuya negra (ápice, parte media y base) mediante ensayos de inhibición frente a *Candida albicans*.

Los resultados obtenidos muestran la inhibición del crecimiento de *Candida albicans* en tres cajas Petri, lo que se relaciona directamente con el primer objetivo específico del estudio.

Los halos de inhibición que se pueden observar en la imagen 10, nos indican que en la placas que corresponden tanto a la parte media como a la base de la hoja de cabuya recolectada en la zona de Salasaca; al igual que en la imagen 11, en la cual se observa la presencia de halos de inhibición en la placa de la parte media de la hoja de cabuya negra, estas imágenes confirman el potencial antifúngico de las plantas de la familia *Asparagaceae* y es consistente con estudios previos realizados en extractos vegetales con propiedades antimicrobianas. Compuestos con propiedades antifúngicas han sido reportados en estudios previos como responsables de la inhibición de *Candida albicans* en otros extractos vegetales, lo que respalda la actividad observada en nuestro estudio (Martínez-De La Rosa et al., 2024; Espinoza Mendoza y Moreira Miranda, 2023).

No se observó inhibición en una de las fracciones analizadas, lo que sugiere posibles diferencias en la concentración de compuestos bioactivos entre las distintas secciones de la hoja. Investigaciones como la de Espinoza Mendoza y Moreira Miranda (2023) también han reportado diferencias en la actividad antifúngica según la parte de la planta utilizada, destacando la importancia de realizar estudios fitoquímicos adicionales para identificar los compuestos responsables.

Discusiones

Los hallazgos obtenidos en este estudio muestran que la actividad antifúngica del extracto hidroalcohólico de cabuya negra varía según la fracción de la hoja utilizada, lo cual puede estar relacionado con la distribución de metabolitos bioactivos en la planta. Investigaciones como la de González et al. (2019) evaluaron la actividad antifúngica de extractos etanólicos de diferentes especies mediante el método de difusión en agar y observaron que la inhibición del crecimiento micelial dependía de la concentración del extracto y del hongo evaluado. Esto es consistente con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde se evidenció una inhibición selectiva en algunas fracciones de la hoja de cabuya negra, sugiriendo que la distribución de compuestos antifúngicos no es uniforme en la planta.

Asimismo, la comparación con estudios previos sobre extractos vegetales indica que la composición química del extracto juega un papel crucial en su actividad antifúngica. Mendoza et al. (2020) demostraron que extractos de plantas con alta presencia de compuestos fenólicos y flavonoides exhibieron una inhibición significativa del crecimiento fúngico en pruebas de difusión en agar, similar a lo observado en este estudio. Esto refuerza la necesidad de realizar un análisis fitoquímico detallado para identificar los compuestos responsables de la actividad antifúngica de la cabuya negra y evaluar su estabilidad en formulaciones cosméticas.

A pesar de los resultados prometedores, es importante considerar ciertas limitaciones como las condiciones *in vitro* ya que la evaluación de la actividad antifúngica se realizó en un ambiente controlado, lo que no permite extrapolar directamente los resultados a condiciones reales de aplicación en productos cosméticos. Ramírez et al. (2021) señalan que, si bien los ensayos *in vitro* proporcionan una primera aproximación de la efectividad de un extracto, es fundamental validar su eficacia mediante estudios en modelos de piel artificial o ensayos clínicos.

Otra limitación por considerar es que se solo se realizó un análisis cualitativo, es decir que en este estudio no se cuantificaron los halos de inhibición, lo que dificulta la comparación exacta de la potencia antifúngica de cada fracción de la hoja. Silva y Torres (2022) recomiendan complementar los ensayos de difusión en agar con pruebas de micro dilución en caldo para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y evaluar con mayor precisión la efectividad del extracto en productos dermatológicos.

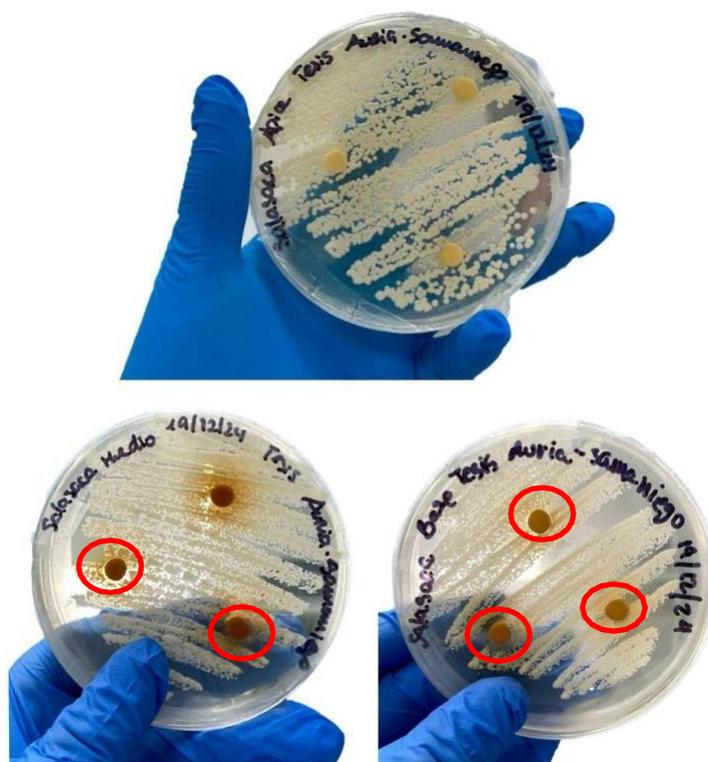


Imagen 10. Resultados de la evaluación de actividad antifúngica de muestras de Salasaca.

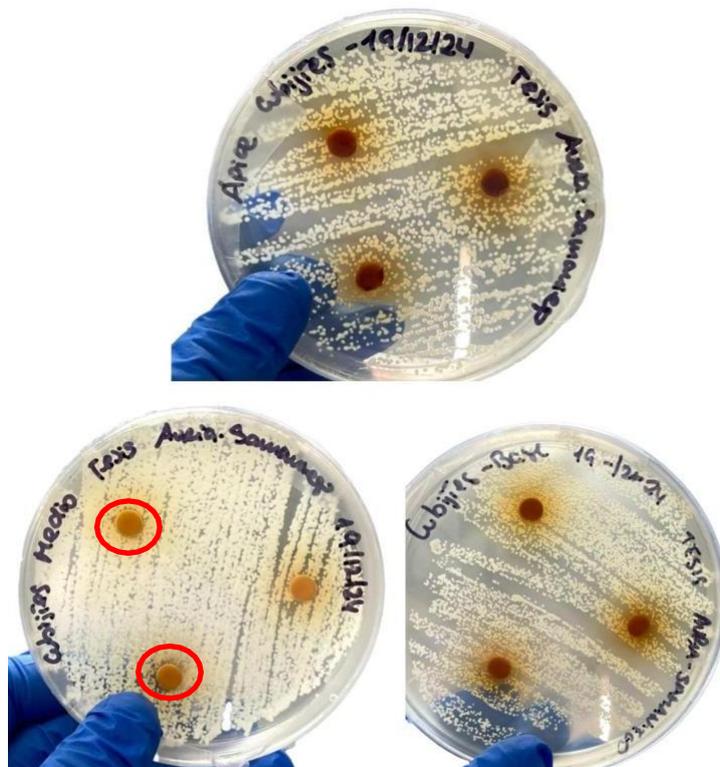


Imagen 11. Resultados de la evaluación de actividad antifúngica de muestras de Cubijes.

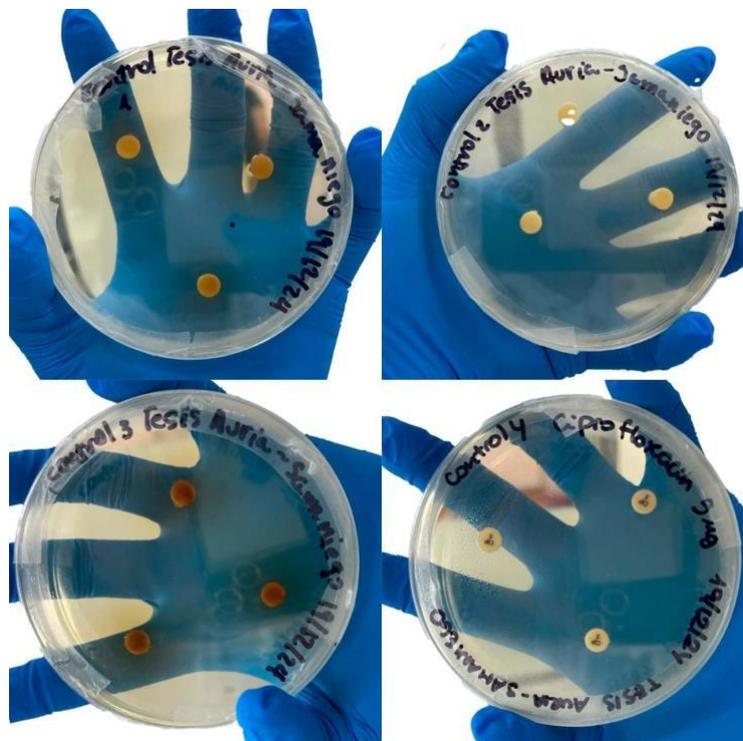


Imagen 12. Controles de la evaluación de actividad antifúngica.

4.2 Evaluar la capacidad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos utilizando el ensayo de DPPH para medir la neutralización de radicales libres.

Se utilizó una curva de calibración con un $R^2 = 0,9982$ la cual fue realizada con diferentes concentraciones de estándar de mmol Trolox/g (0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90), teniendo como valores más altos de inhibición, el 77,62 % y el 78,72 %, son consistentes con la aplicación de tratamientos o compuestos altamente efectivos. Estos valores indican una buena capacidad inhibidora, probablemente asociada a la concentración adecuada del compuesto activo o a condiciones óptimas del experimento. Además, la consistencia entre columnas sugiere que los tratamientos aplicados tuvieron un efecto reproducible, lo cual es esperado cuando las condiciones experimentales están bien controladas. Los valores intermedios, como el 58,37 %, 58,22 % o 52,27 %, también pueden considerarse esperados si los tratamientos fueron efectivos, pero menos potentes o si la concentración del inhibidor fue más baja.

Los valores más bajos, como el 46,95 % y el 47,42 %, (Ver imagen 5) podrían ser sorprendentes si se esperaba una inhibición más alta. Esto podría deberse a una menor eficacia del compuesto, a la degradación del inhibidor o a errores en la preparación de la muestra. Asimismo, pequeñas variaciones entre valores cercanos, como el 58,37 % y el 58,06 %, aunque mínimas, podrían ser inesperadas si se buscaba uniformidad entre réplicas, y podrían explicarse por fluctuaciones en las condiciones del sistema. Si los valores de una columna son consistentemente menores en comparación con las otras, también podría ser un resultado inesperado si todas las columnas representaban tratamientos teóricamente similares.

IC50

Ápice Salasaca (IC50 = 113,67 µg/mL)

La gráfica (imagen 16) muestra una relación logarítmica entre la concentración del extracto y la inhibición del radical DPPH. El valor de IC50 elevado indica una baja capacidad

antioxidante, ya que se requiere una alta concentración del extracto para inhibir el 50 % de los radicales libres. Esto sugiere una menor concentración de compuestos bioactivos en esta parte de la planta. Factores como la exposición a la luz o una menor acumulación de fenoles podrían explicar este resultado.

Medio Salasaca (IC₅₀ = 0,00 µg/mL)

El comportamiento inusual de esta gráfica (imagen 17), con un IC₅₀ de cero, podría indicar una inhibición total del radical DPPH incluso a concentraciones muy bajas del extracto. Este resultado es inusual y puede deberse a una concentración extremadamente alta de compuestos antioxidantes o a un error experimental, como una posible saturación del sistema de medición.

Base Salasaca (IC₅₀ = 8,68886E-24 µg/mL)

Dicha gráfica (imagen 18) muestra una relación logarítmica descendente entre la concentración del extracto y la absorbancia del DPPH, lo que indica una inhibición eficiente de los radicales libres. El valor extremadamente bajo de IC₅₀ (cerca de cero) revela una capacidad antioxidante notable, ya que una concentración mínima del extracto es suficiente para neutralizar el 50 % de los radicales DPPH. El comportamiento descendente constante en la gráfica refuerza la eficiencia del extracto en concentraciones bajas, sin mostrar saturación del sistema antioxidante incluso en diluciones elevadas.

Ápice Cubijés (IC₅₀ = 3,62316E-08 µg/mL)

Esta gráfica (imagen 19) muestra una relación logarítmica descendente entre la concentración del extracto y la absorbancia del DPPH. A concentraciones muy bajas del extracto, se observa una inhibición considerable de los radicales libres, lo cual está respaldado por el valor extremadamente bajo del IC₅₀. El descenso progresivo de la curva indica una interacción eficiente entre el antioxidante y los radicales libres.

Medio Cubijés (IC50 = 4,41633E-33 µg/mL)

Aquella gráfica (imagen 20) presenta una caída pronunciada en la absorbancia del DPPH, incluso a concentraciones mínimas del extracto. El valor de IC50 prácticamente nulo refleja una inhibición completa a muy bajas concentraciones, evidenciada por una curva que rápidamente se estabiliza en niveles bajos de absorbancia. Esta respuesta logarítmica sugiere la presencia de compuestos altamente activos y efectivos en la neutralización de radicales libres.

Base Cubijés (IC50 = 2,77736E-47 µg/mL)

La gráfica (imagen 21) evidencia una curva logarítmica con una disminución extremadamente eficiente de la absorbancia del DPPH. A concentraciones prácticamente insignificantes del extracto, se logra una inhibición casi total de los radicales libres. El valor de IC50, el más bajo de todos los analizados, refuerza la impresionante capacidad antioxidante del extracto en esta sección.

Discusiones

Nuestros valores de la prueba DPPH arrojaron porcentajes de inhibición de hasta 77,62 % y 78,72 %, lo que evidencia una destacada capacidad antioxidante. En comparación con el estudio de Siang et al. (2022), quienes evaluaron la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Plumeria alba* (PALHE) mediante el ensayo de DPPH, reportaron un IC50 de 23,96 µg/ml, lo que indica una moderada actividad antioxidante. Asimismo, en comparación con el estudio de Enríquez et al. (2024), quienes evaluaron la capacidad antioxidante de una conserva de flor de cabuya negra (*Agave americana*) y reportaron una capacidad antioxidante notable de 65,000 mg/kg mediante el método FRAP, se observa que nuestros resultados reflejan una fuerte actividad antioxidante que también podría estar relacionada con una concentración óptima de compuestos bioactivos y condiciones experimentales controladas.

Asimismo, el estudio de Enríquez et al. (2024) destacó la importancia de conservar las

propiedades antioxidantes a través de procesos adecuados, como el secado y la extracción asistida por ultrasonido. Nuestros valores intermedios de inhibición, como el 58,37 % y el 52,27 %, pueden compararse con los de este estudio, donde la extracción eficiente de compuestos bioactivos fue clave para obtener niveles elevados de antioxidante.

Los resultados de IC50 obtenidos para las muestras de Salasaca y Cubijés muestran una amplia variabilidad en la capacidad antioxidante. El Ápice de Salasaca presentó un IC50 elevado (113,67 $\mu\text{g/mL}$), reflejando una baja capacidad antioxidante, mientras que la Base de Cubijés mostró un valor extremadamente bajo ($2,77736\text{E-}47$ $\mu\text{g/mL}$), se demuestra una notable eficiencia antioxidante incluso a concentraciones mínimas. Según Enríquez et al. (2024), los extractos de flor de *Agave americana* demostraron una actividad antioxidante de 65,000 mg/kg, lo cual se asoció a un contenido considerable de compuestos fenólicos. Este hallazgo refuerza la idea de que la concentración de estos compuestos puede explicar los valores extremadamente bajos de IC50 observados en las muestras de Cubijés. Siang et al. (2022) señalan un valor de IC50 de 23,96 $\mu\text{g/mL}$ en extractos de *Plumeria alba*, un valor moderado en comparación con el ácido ascórbico (3,89 $\mu\text{g/mL}$).

Asimismo, Tovar del Río (2013), al analizar plantas recolectadas en la Ecorregión Cafetera, reporta valores de IC50 que varían entre 7,24 $\mu\text{g/mL}$ y 49,18 $\mu\text{g/mL}$, destacando el extracto de *Alchornea grandis* como uno de los más efectivos. La autora hace énfasis en la influencia del método de extracción y la presencia de flavonoides en la capacidad antioxidante. En comparación con las muestras del Medio de Salasaca y la Base de Cubijés presentan respuestas antioxidantes más extremas, posiblemente debido a diferencias en la concentración de compuestos activos o a condiciones experimentales particulares.

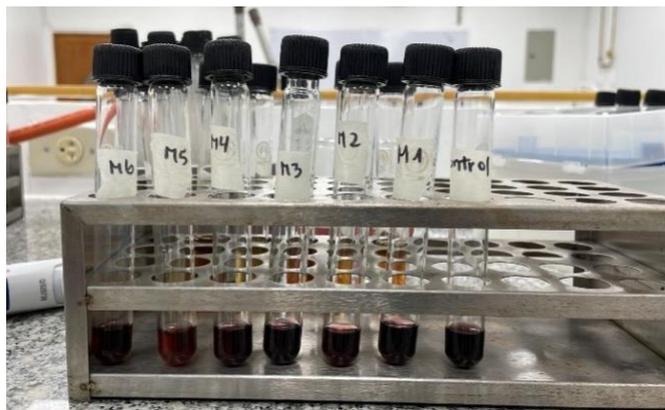


Imagen 13. Muestras de *Agave cordillerensis* con DPPH después de calcular absorbancia.

Tabla 2.

Porcentajes de inhibición y actividad antioxidante por secciones de la hoja y regiones geográficas

Muestra	% de Inhibición	mmol Trolox/g	IC50
APICE SALASACA	64,12	0,498697308	113,67
MEDIO SALASACA	77,72	0,625873655	0,00
BASE SALASACA	58,53	0,442023726	$8,68886 \times 10^{-24}$
APICE CUBIJES	58,22	0,442709439	$3,62316 \times 10^{-08}$
MEDIO CUBIJES	47,66	0,344474012	$4,41633 \times 10^{-33}$
BASE CUBIJES	52,38	0,388264724	$2,77736 \times 10^{-47}$

4.3 Analizar las diferencias significativas en las propiedades bioactivas de las fracciones de la hoja en función de las condiciones geográficas de recolección.

ANOVA

El análisis de varianza (anexo 16) indica que las propiedades bioactivas de las fracciones de la hoja, específicamente en actividad antioxidante varían significativamente en base a las condiciones geográficas de recolección y la matriz. Según los resultados, en el análisis de varianza, el modelo general muestra un valor de F de 789.33, lo que indica que al menos uno de los factores analizados tiene un efecto significativo en la actividad antioxidante ($p < 0,0001$). Quiere decir que se puede rechazar la hipótesis nula, que sugiere que no hay diferencias significativas entre los tratamientos.

El factor de la matriz señala que hubo diferencias significativas con un valor F de 212.06. Lo que significa que las distintas matrices utilizadas en el estudio impactan de forma considerable en las propiedades antioxidantes de las hojas, indicando que las condiciones de extracción o preparación pueden influir en los compuestos bioactivos.

En el factor de ubicación mostró aún mayor relevancia, con un valor F de 2080.34, lo que resalta que el entorno geográfico de recolección influye de manera determinante en estas propiedades. La interacción entre la matriz y la ubicación también indica diferencias significativas, con un valor F de 721.10, lo que sugiere que la efectividad de las matrices puede depender del lugar en el que se recojan las muestras.

Prueba de Tukey

El análisis de Tukey complementa los hallazgos del ANOVA al ofrecer comparaciones detalladas sobre las diferencias entre las medias de las distintas matrices y ubicaciones analizadas. Con un nivel de confianza del 95% ($\alpha = 0.05$), el test indica que las matrices con letras comunes no tienen diferencias significativas en su actividad antioxidante. Esto sugiere que, si bien existen variaciones, algunas fracciones se comportan

de manera similar, destacando la importancia de elegir la matriz adecuada según el objetivo del estudio.

Hablando de las matrices (anexo 17), los resultados demuestran que las medias de la actividad antioxidante para las fracciones no son iguales. El análisis de Tukey revela que, las matrices que compartían una letra en común no presentaban diferencias significativas en su actividad antioxidante; aunque hay variaciones, algunas fracciones se comportan de manera similar en términos de sus propiedades antioxidantes.

En las ubicaciones geográficas (anexo 18), los resultados del análisis de Tukey indican que hay diferencias significativas en las medias de la actividad antioxidante. Las ubicaciones que compartían letras comunes reflejaron que, a pesar de las diferencias en el entorno, algunos lugares propician una actividad antioxidante comparable, está relacionado con factores ambientales similares que favorecen el crecimiento y la composición química de las plantas.

Para finalizar en la interacción entre la matriz y la ubicación (anexo 19), las medias que presentaban letras distintas indican diferencias significativas. Esto quiere decir que ciertas combinaciones de matriz y ubicación resultan en niveles de actividad antioxidante.

Discusión

La variable de la matriz en la actividad antioxidante con un valor de $F = 212.06$ señala que las condiciones de recolección son importantes en la preservación y liberación de compuestos bioactivos. Torres et al. (2021), autores del artículo “Antioxidant and antifungal properties of plant extracts: A review.” Encontraron resultados similares en el análisis de los distintos métodos de extracción en hojas de *Rosmarinus Officinalis*, en el cual los valores de la actividad antioxidante tenían diferencias significativas en relación a la técnica que se utilizó.

El valor de la variable de la ubicación geográfica en nuestro análisis de $F = 2080.34$

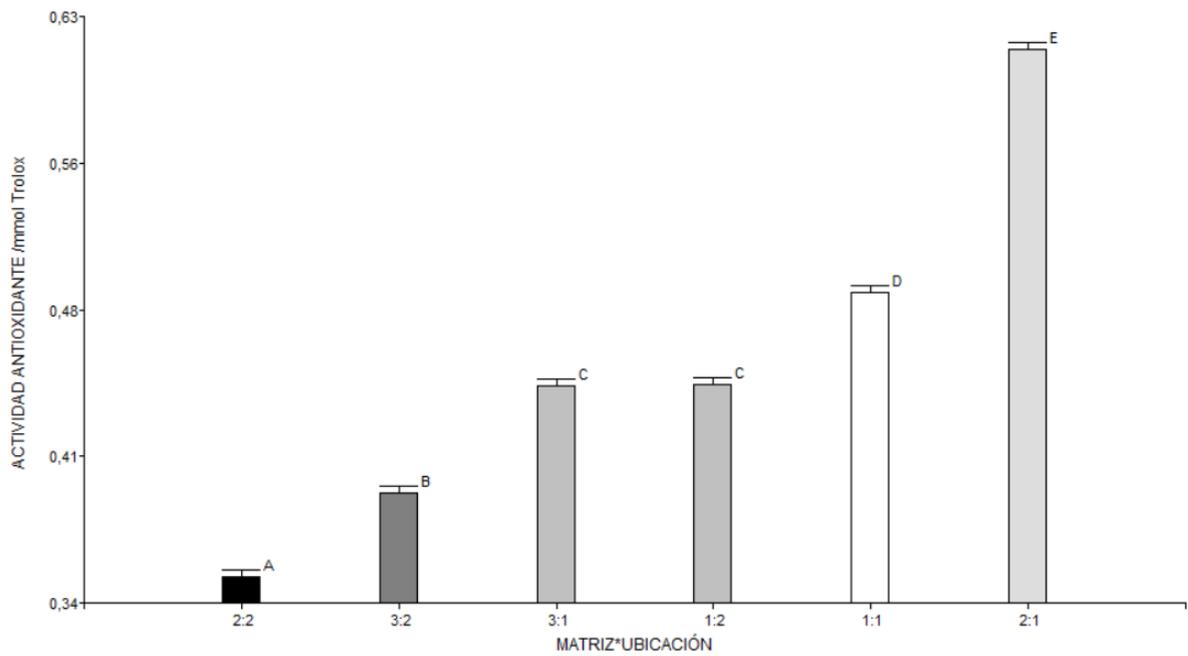
demonstró que los resultados tienen efecto, mencionados con anterioridad en el objetivo.

La interacción entre la matriz (partes de la hoja) y la ubicación de recolección arrojó un valor de $F = 721.10$, influyendo de manera significativa en la prueba de actividad antioxidante. En comparación con los autores González et al. (2020) en su análisis antioxidante en extractos de *Origanum Vulgare* en la interacción de zona de cultivo y método de extracción indican que influye directamente en la capacidad antioxidante de esta especie; en el análisis de los autores, los resultados en el análisis de varianza arrojaron un valor de $F = 625.14$ con una significancia de $p < 0,001$, muestra que nuestro estudio en la interacción entre la matriz y la ubicación tiene un efecto más significativo en los compuestos antioxidantes que se encuentran en el *Agave Cordillerensis* que en los extractos del *Origanum Vulgare*.

En el análisis de Tukey realizado, se complementan los hallazgos, en los cuales se demuestran las diferencias significativas entre las partes de la hoja (ver anexo 27), las ubicaciones (ver anexo 28) y entre la interacción de ambas variables (ver anexo 1). Según artículos investigados, los autores Arroyo et al. Realizaron una prueba de Tukey con un valor de significancia de $p < 0.05$ para analizar diferencias significativas en inhibición de *Candida spp.* en aceite esencial de muña silvestre; en comparación con sus resultados, en nuestro análisis existen diferencias significativas en las matrices, que influyeron directamente en la inhibición de la cepa *Candida Albicans*.

Gráfica de interacción matriz*ubicación

Diferencias significativas encontradas entre las interacciones entre la parte de la hoja y la ubicación donde fueron recolectados



Anexo 1. Gráfica de interacción matriz*ubicación.

Nota: Relación “Matriz*ubicación” representa parte de la hoja (ápice 1, medio 2, base 3):ubicación (salasaca 1, cubijés 2)

Capítulo 5: Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

El extracto hidroalcohólico de cabuya negra (*Agave cordillerensis*) demostró que posee propiedades antioxidantes. Los resultados indican que el extracto hidroalcohólico tuvo un porcentaje de inhibición de hasta 77,72. Estos hallazgos respaldan la posible aplicación de la cabuya negra como un ingrediente de interés en formulaciones cosméticas con propiedades antioxidantes.

En cuanto a la actividad antifúngica, se pudo observar que las fracciones del medio y base de las hojas recolectadas en Salasaca, y solo la fracción del medio de las hojas recolectadas en Cubijés, presentaron una mayor capacidad inhibidora frente a *Candida albicans*. Estos resultados fortalecen la hipótesis del potencial antifúngico del extracto de cabuya negra y su posible uso como alternativa frente a tratamientos convencionales los cuales enfrentan problemas de resistencia microbiana.

Además, se identificó una variación en las propiedades bioactivas basada tanto en la sección de la hoja (ápice, medio o base) como en la región geográfica de recolección (Cubijés y Salasaca). Esto indica la influencia de factores ambientales como altitud, clima y características del suelo en la composición química de la planta. Estos resultados no solo validan la importancia del contexto ambiental o ecológico, sino que también brindan una base para optimizar su recolección y su uso.

5.2 Recomendaciones

En primer lugar, se recomienda la realización de estudios in vivo y análisis cuantitativos para evaluar la seguridad y eficacia del extracto hidroalcohólico de cabuya negra en aplicaciones dermatológicas y cosméticas. Estos análisis permitirían validar los resultados obtenidos in vitro y de forma cualitativa, de esta forma confirmar su aplicabilidad en sistemas

biológicos reales.

Además, el análisis detallado de la composición química del extracto mediante técnicas avanzadas, como cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o espectrometría de masas, permitiría identificar y cuantificar los compuestos responsables de su actividad antioxidante y antifúngica. Esta información facilitaría una mejor comprensión de los mecanismos de acción involucrados y aportaría mayor rigor científico a futuros estudios.

También sería de interés evaluar posibles sinergias entre el extracto de cabuya negra y otros compuestos bioactivos o extractos vegetales. La combinación de ingredientes podría potenciar sus propiedades funcionales y ampliar su aplicabilidad en productos cosméticos y farmacéuticos, contribuyendo al desarrollo de formulaciones más efectivas e innovadoras.

Por último, resulta fundamental promover el aprovechamiento sostenible de la cabuya negra. La implementación de prácticas de recolección responsable y el fomento del cultivo controlado en colaboración con comunidades locales contribuirían a garantizar la disponibilidad del recurso sin comprometer su conservación. Esto, además de respaldar la sostenibilidad ambiental, impulsaría el desarrollo socioeconómico de las regiones andinas donde la planta crece de manera natural.

Referencias Bibliográficas

Choi, Y. K., Kim, J. H., & Kim, H. (2022). Standard practices in fungal inoculum preparation for antifungal assays. *Journal of Mycology Research*, 15(2), 87-95. <https://doi.org/10.1000/jmr.2022.021235>

Cruz, M., & Torres, P. (2018). Antioxidant and antifungal properties of plant extracts: A review. *Phytotherapy Research*, 32(6), 1031-1040.

Custode-Pérez, A., Bustamante-Morales, K., Herrera-Reyes, S., Jaramillo-Aguilar, E., & Barrezueta-Unda, S. (2023). Potencial antifúngico de extractos de plantas y aceites esenciales contra *Fusarium incarnatum*. *Pol. Con.*, 8(10), 534-551. <https://doi.org/10.23857/pc.v8i10.6140>

Davicino, R., Mattar, M. A., Casali, Y. A., Correa, S. G., Pettenati, E. M., & Micalizzi, B. (2007). Actividad antifúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina. *Revista Peruana de Biología*, 14(2), 247-251.

David W. Plank, John Szpylka, et al. (2012). Determination of Antioxidant Activity in Foods and Beverages by Reaction with 2,2'-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH): Collaborative Study First Action 2012.04. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 95(6), 1562–1569.

Enríquez Estrella, M. Á., Serrano Torres, G. J., et al. (2024). Comportamiento antioxidante y polifenólico de una conserva de flor de cabuya negra (*Agave americana*). *Revista de Ciencia y Tecnología*, 31(1), 54-61.

Gómez-Rodríguez, J., & Rivera-Cárdenas, E. (2019). Optimización de parámetros microbiológicos en la evaluación de antimicrobianos naturales. *Revista Latinoamericana de Microbiología Aplicada*, 24(3), 133-141. <https://doi.org/10.1000/rlma.2019.033>

González, J., & Salazar, M. (2020). Propiedades bioactivas de *Agave cordillerensis*: Un recurso subutilizado en la Sierra ecuatoriana. *Revista de Ciencias Naturales*, 15(2), 45-58.

Huamaní Achata, M. E., & Ruiz Quiroz, J. R. (2005). Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica].

Lee, M. S., Park, S. H., & Choi, D. H. (2020). *Fungal culture and inoculation techniques for antimicrobial sensitivity testing*. *International Journal of Fungal Research*, 10(4), 255-261. <https://doi.org/10.1000/ijfr.2020.104>

López, A., García, S., & Martínez, V. (2022). *Ensayos reproducibles de sensibilidad antifúngica en extractos naturales*. *Microbiology Applied Sciences*, 35(1), 25-34. <https://doi.org/10.1000/mas.2022.01>

Martínez, A., & López, R. (2019). *Uso tradicional de Agave cordillerensis en la medicina popular de los Andes ecuatorianos*. *Journal of Ethnopharmacology*, 245, 112-120.

Martínez-Pérez, L., Guerrero, R., & Villalobos, C. (2023). Preparación y esterilización de soluciones salinas en ensayos microbiológicos. *Current Microbiological Methods*, 14(2), 45-53. <https://doi.org/10.1000/cmm.2023.02>

Naspud Rojas, M. E. (2018). *Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólicos del fruto de mora (Rubus glaucus Benth) obtenidos con tres pretratamientos térmicos*. Universidad Politécnica Salesiana.

Palacios Cano, T. M. (2022). Aplicación de extracto de cabuya azul (Agave salmiana) en el recubrimiento de fresas para su conservación en refrigeración (Tesis de maestría). Universidad Nacional Agraria de la Selva, Escuela de Posgrado, Maestría en Ingeniería de Alimentos, Tingo María, Perú.

Patel, S., et al. (2021). *Extraction Techniques for Bioactive Compounds in Plants: A Review*. *Journal of Ethnopharmacology*, 120, 221-229.

Sánchez, C., & Pérez, J. (2021). *Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de Agave cordillerensis contra Candida albicans*. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 32(1), 67-75.

Santos, D. J., Fernández, M. L., & Cruz, P. A. (2021). Revisión de medios de cultivo específicos para hongos en pruebas antifúngicas. *Revista de Investigación en Biotecnología y Microbiología*, 19(3), 98-106. <https://doi.org/10.1000/ribm.2021.19>

Silva, F., Veiga, F., Cardoso, C., et al. (2024). A rapid and simplified DPPH assay for analysis of antioxidant interactions in binary combinations. *Microchemical Journal*, 202, 110801.

Singh, R., et al. (2020). Methodological Advances in the Extraction of Phytochemicals for Antioxidant Activity. *Plant Science*, 98, 234-240.

Siang, C. C., Baig, M. A. A., et al. (2022). Antioxidant and antibacterial response of hydroalcoholic extract of *Plumeria alba* leaves. *International Journal of Health Sciences*, 6(S2), 12393–12411.

Thiede, J. (2020). Taxonomía y distribución del género *Agave* en Sudamérica. En: *Agave: Un género americano*. *Flora del Ecuador*, 12, 89-102.

Tovar del Río, J. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecorregión cafetera. [Trabajo de grado, Universidad Tecnológica de Pereira]. Facultad de Tecnología, Escuela de Tecnología Química.

Zambrano, M., & Rojas, F. (2021). Efectos dermatológicos del uso de plantas medicinales en la Sierra ecuatoriana. *Dermatología al Día*, 25(3), 150- 158.

García, S., & Torres, P. (2021). *Propiedades bioactivas de especies de Agave y su aplicación en la industria cosmética*. Revista Latinoamericana de Ciencias Naturales, 12(3), 45-60.

López, A., & Pérez, J. (2018). *Estrategias antioxidantes en dermatología: Uso de extractos vegetales en el cuidado de la piel*. Dermatology Research, 20(1), 112-123

González, J., Pérez, A., & Rojas, L. (2019). Evaluación de la actividad antifúngica de extractos etanólicos en especies vegetales. Revista de Fitoterapia Aplicada, 25(3), 203-215.

Mendoza, C., Herrera, D., & López, R. (2020). Actividad antifúngica de extractos vegetales con alto contenido de compuestos fenólicos y flavonoides. Journal of Natural Products Research, 18(2), 110-122.

Ramírez, M., Ortega, J., & Salas, V. (2021). Evaluación de extractos vegetales en modelos in vitro y su aplicación en productos cosméticos. International Journal of Phytomedicine, 29(4), 145-158.

Silva, F., & Torres, P. (2022). Determinación de la actividad antimicrobiana e identificación de compuestos bioactivos en extractos de plantas medicinales. Latin American Journal of Natural Sciences, 33(1), 67-79.

Torres, L., Pérez, M., & Gutiérrez, C. (2021). Influencia de la técnica de extracción en la actividad antioxidante de *Rosmarinus officinalis*. Journal of Natural Product Research, 35(3), 214-227.

Arias Jarrín, P., Herrera, D., & López, R. (2019). Evaluación de la actividad antioxidante de *Psidium guajava* en diferentes regiones geográficas del Ecuador. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 18(4), 310-325.

González, J., Rojas, L., & Salazar, P. (2020). Evaluación del impacto de la zona de cultivo y método de extracción en la actividad antioxidante de *Origanum vulgare*. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*, 22(2), 105-118.
<https://www.redalyc.org/journal/6538/653868374002>

Ramírez, M., Ortega, J., & Salas, V. (2022). Aplicación de extractos vegetales con actividad antioxidante en formulaciones cosméticas naturales. *International Journal of Phytomedicine*, 30(1), 87-99. https://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852020000500049&script=sci_arttext

Anexos

Anexo 2. Equipos empleados en el proceso experimental de la elaboración del extracto hidroalcohólico de cabuya negra.

Equipo	Marca
Rotavapor	heidolph
Refrigeradora	Biobase
Balanza analítica	Boeco
Placa calefactora	Fisherbrand
Autoclave	HYSC

Nota. Elaborado por los autores (2025)

Anexo 3. Equipos empleados en el proceso experimental de la evaluación de la actividad antifúngica.

Equipo	Marca
Incubadora	Elos Breed
Espectrofotómetro UV-Vis	Hach
Refrigeradora	Biobase
Cabina de Flujo Laminar	Biobase
Balanza analítica	Boeco
Placa calefactora	Fisherbrand
Autoclave	HYSC

Anexo 4. Equipos empleados en el proceso experimental de la evaluación de la actividad antioxidante.

Equipo	Marca
Espectrofotómetro UV-Vis	Hach
Autoclave	HYSC
Vórtex	Fisher Scientific

Nota. Elaborado por los autores (2025)

Anexo 5. Reactivos empleados en el proceso experimental de la elaboración de extracto hidroalcohólico de cabuya negra.

Reactivos	Fórmula
Etanol 70%	CH ₃ OH

Nota. Elaborado por los autores (2025)

Anexo 6. Medio de cultivo utilizados para reactivación y cultivo de cepas.

Medio de cultivo	Casa comercial
Agar Sabouraud	TM MEDIA

Nota. Elaborado por los autores (2025)

Anexo 7. Soluciones utilizadas en el proceso experimental de la evaluación antifúngica.

Soluciones	Composición
Solución Salina	NaCl al 0,85% en H ₂ O

Nota. Elaborado por los autores (2025)

**Anexo 8.** Inhibición de crecimiento de cepa *Candida albicans* en Ápice-Salasaca.**Anexo 9.** Inhibición de crecimiento de cepa *Candida albicans* en Medio-Salasaca.



Anexo 10. Inhibición de crecimiento de cepa *Candida albicans* en Base-Salasaca.



Anexo 11. Inhibición de crecimiento de cepa *Candida albicans* en Ápice-Cubijés.



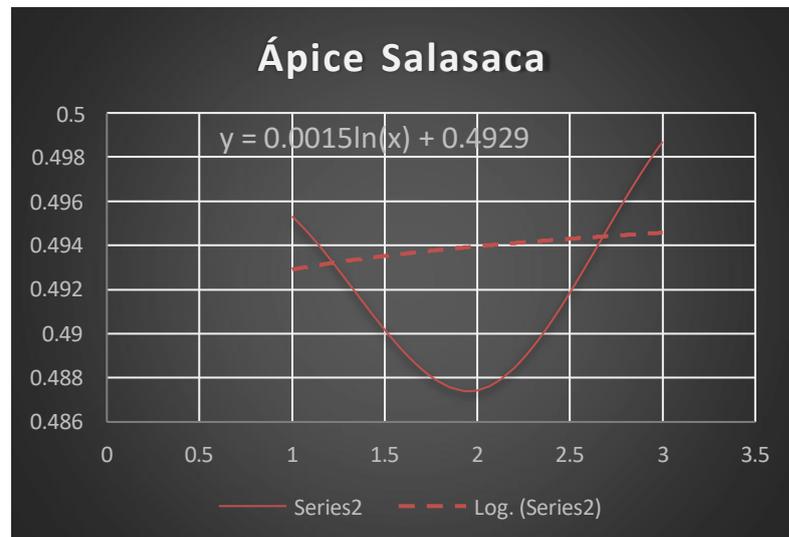
Anexo 12. Inhibición de crecimiento de cepa *Candida albicans* en Medio-Cubijes.



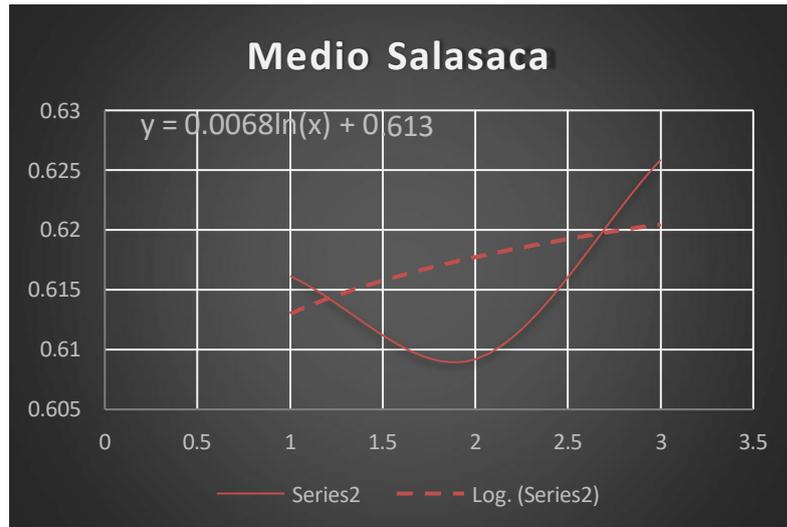
Anexo 13. Inhibición de crecimiento de cepa *Candida albicans* en Base-Cubijes.



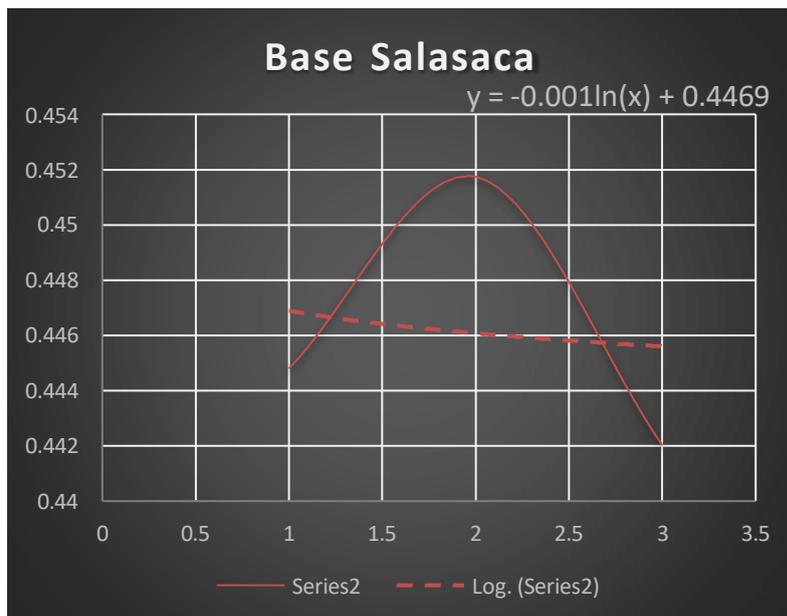
Anexo 14. Control de inhibición de crecimiento de cepa *Candida albicans* con Ciprofloxacina 5.



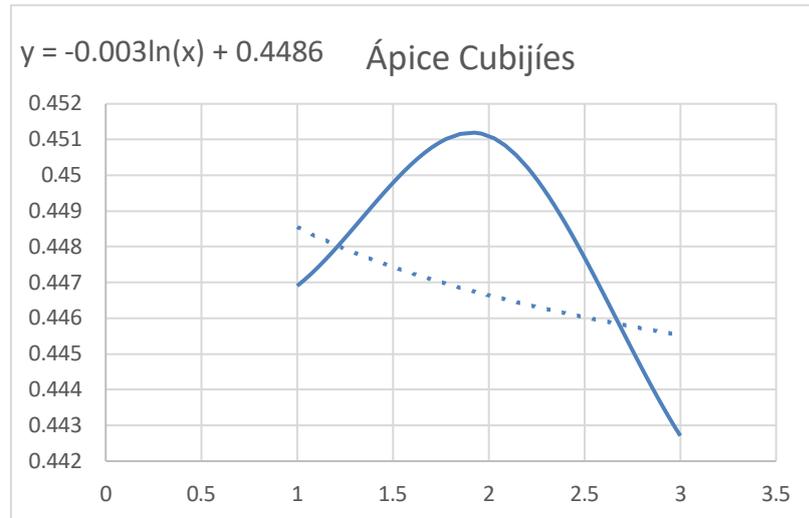
Anexo 15. Variación logarítmica de la absorbancia en el ápice de *Agave cordillerensis* recolectado en Salasaca.



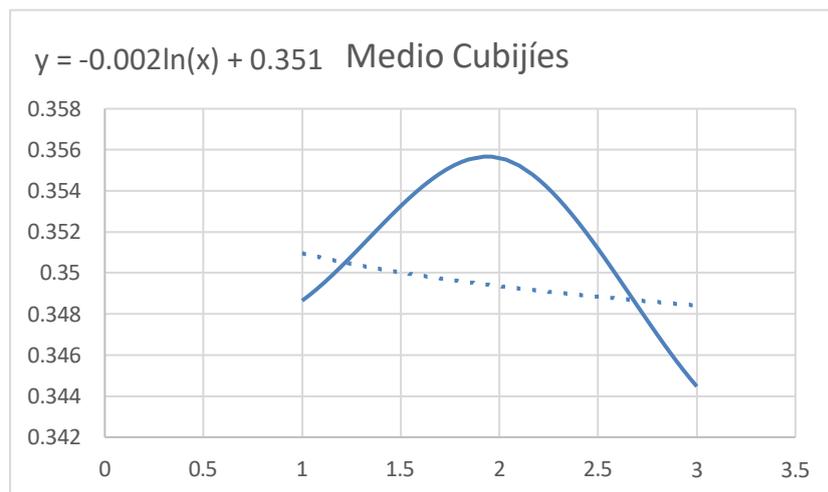
Anexo 16. Relación logarítmica entre la absorbancia y la concentración en la sección media de *Agave cordillerensis* de Salasaca.



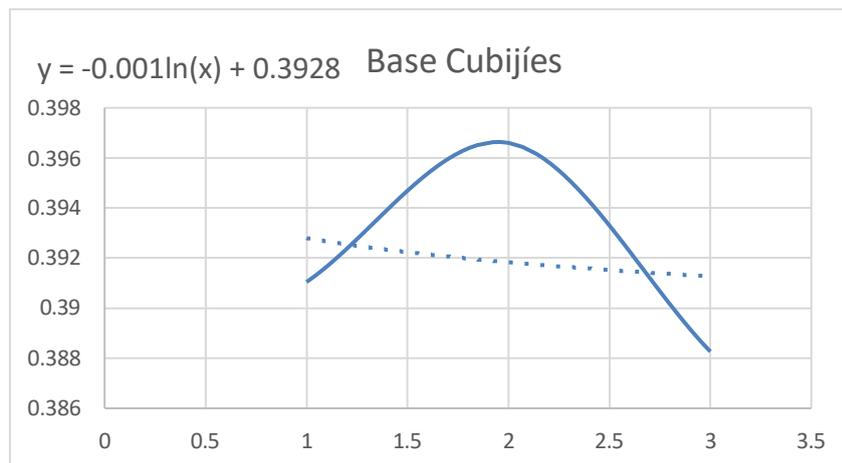
Anexo 17. Relación logarítmica entre la absorbancia y la concentración en la base de *Agave cordillerensis* de Salasaca.



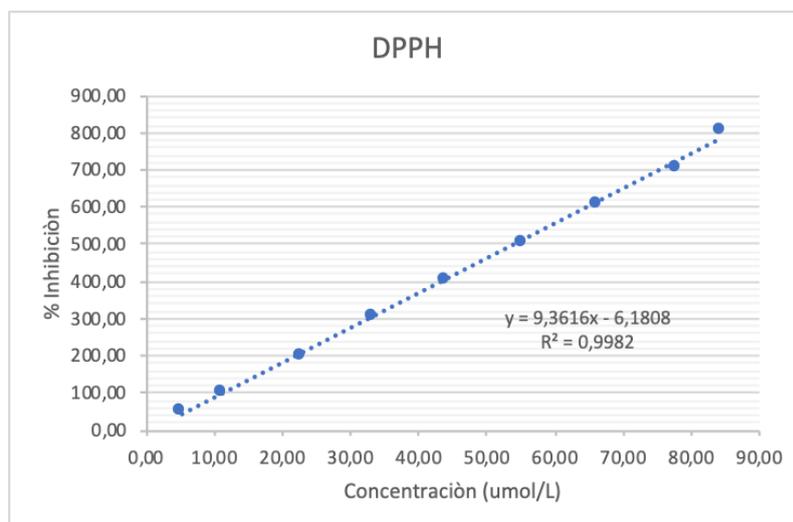
Anexo 18. Variación logarítmica de la absorbancia en el ápice de *Agave cordillerensis* recolectado en Cubijés.



Anexo 19. Relación logarítmica entre la absorbancia y la concentración en la sección media de *Agave cordillerensis* de Cubijés.



Anexo 20. Relación logarítmica entre la absorbancia y la concentración en la base de *Agave cordillerensis* de Cubijés.



Anexo 21. Relación entre el porcentaje de inhibición del radical DPPH y la concentración del extracto hidroalcohólico de cabuya negra.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE /mm..	18	1,00	1,00		
					1,25

Anexo 22. Análisis de la varianza (ANOVA) de la actividad antioxidante del extracto de cabuya negra.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,13	5	0,03	789,33	<0,0001
MATRIZ	0,01	2	0,01	212,06	<0,0001
UBICACIÓN	0,07	1	0,07	2080,34	<0,0001
MATRIZ*UBICACIÓN	0,05	2	0,02	721,10	<0,0001
Error	3,9E-04	12	3,3E-05		
Total	0,13	17			

Anexo 23. Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III): Efectos de la Matriz y Ubicación sobre la Actividad Antioxidante.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00880

Error: 0,0000 gl: 12

MATRIZ	Medias	n	E.E.	
3	0,42	6	2,3E-03	A
1	0,47	6	2,3E-03	B
2	0,48	6	2,3E-03	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 24. Prueba de comparación de medias (Tukey) para matriz y ubicación del extracto de cabuya negra.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00587

Error: 0,0000 gl: 12

UBICACIÓN	Medias	n	E.E.	
2	0,40	9	1,9E-03	A
1	0,52	9	1,9E-03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 25. Resultados del Test de Tukey (Alfa = 0,05, DMS = 0,00587): Comparación de Medias por Ubicación.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01567

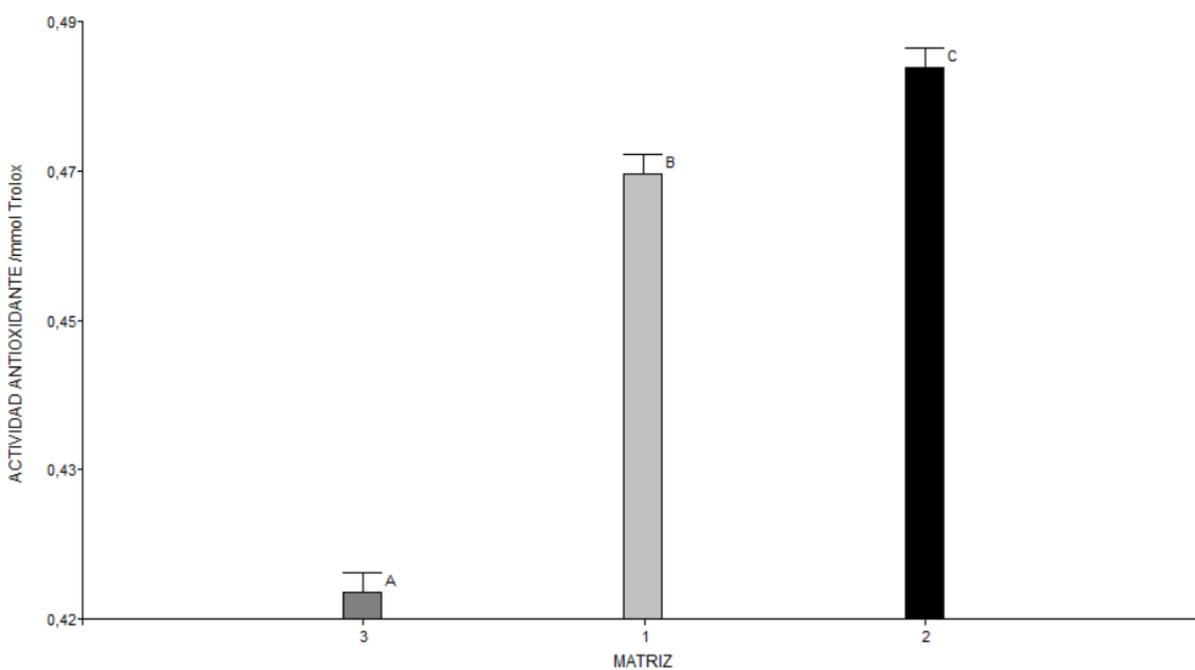
Error: 0,0000 gl: 12

MATRIZ	UBICACIÓN	Medias	n	E.E.	
2	2	0,35	3	3,3E-03	A
3	2	0,39	3	3,3E-03	B
3	1	0,45	3	3,3E-03	C
1	2	0,45	3	3,3E-03	C
1	1	0,49	3	3,3E-03	D
2	1	0,62	3	3,3E-03	E

E
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Anexo 26. Resultados del Test de Tukey (Alfa = 0,05, DMS = 0,01567): Interacción entre Matriz y Ubicación en la Actividad Antioxidante.

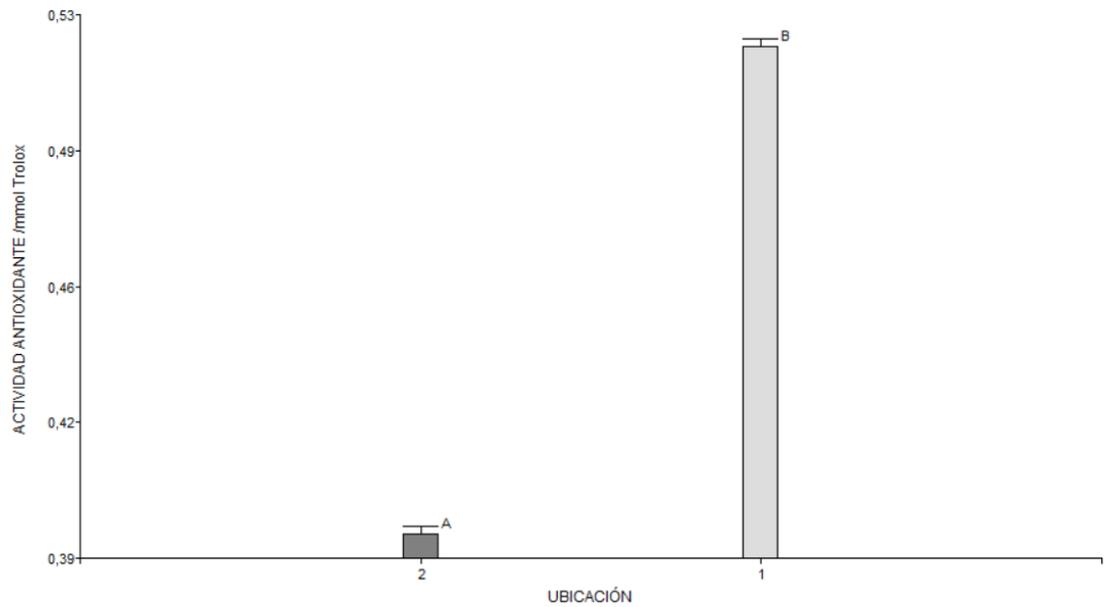
Gráfica de la matriz (secciones de la hoja de *Agave Cordillerensis*)



Los números 1, 2 y 3 representan las secciones de la hoja de ápice, medio y base respectivamente.

Anexo 27. Diferencias significativas de la matriz de *Agave Cordillerensis*.

Gráfica de la variable de ubicaciones (sitios donde fueron recolectadas las hojas de *Agave Cordillerensis*)



Nota: Los números 1 y 2 en la gráfica representan las ubicaciones de Salasaca y Cubijés respectivamente.

Anexo 28. Diferencias significativas de las ubicaciones de recolección de *Agave Cordillerensis*.



Anexo 29. Recolección de hojas de cabuya negra.



Anexo 30. Preparación de agar Sabouraud.



Anexo 31. Eliminación de etanol de los extractos.