

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**ESCUELA DE POSGRADO**  
**MAESTRÍA EN INGENIERÍA DE ALIMENTOS**  
**MENCIÓN INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**EFECTO ANTIMICROBIANO EN LEVADURAS Y BACTERIAS, DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHOLICO DE LA PLANTA DE LA VIDA (*Synadenium grantii* Hook), DE  
TRES ZONAS GEOGRÁFICAS**

**Tesis**

**Para optar el grado académico de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS E INGENIERÍA DE ALIMENTOS,  
MENCIÓN: INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**Presentado por:**

**JOSE ANTONIO PACHECO CHUCO**

**Tingo María - Perú**

**2024**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**ESCUELA DE POSGRADO**  
**UNIDAD DE POSGRADO**  
**MAESTRIA EN INGENIERIA DE ALIMENTOS, MENCION:**  
**INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**  
**UPG-IA N° 003-2024**

En la ciudad universitaria, siendo las 12:00m. del viernes 08 de noviembre del 2024, reunidos en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, se instaló el Jurado calificador a fin de proceder a la sustentación de la tesis titulada:


**"EFECTO ANTIMICROBIANO EN LEVADURAS Y BACTERIAS, DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA PLANTA DE LA VIDA (*Synadenium grantii Hookcon*), DE TRES ZONAS GEOGRAFICAS**


A cargo del candidato a Grado de Maestro en Ingeniería de Alimentos, mención: Ingeniería Agroindustrial: **José Antonio, PACHECO CHUCO.**


Luego de la exposición y absueltas las preguntas de rigor, el jurado calificador procedió a emitir su fallo declarando Aprobado..... con el calificativo de Buena.....

Acto seguido, a horas 6:10 p.m el presidente del jurado dio por culminada la sustentación; procediéndose a la suscripción de la presente acta por parte de los miembros del jurado, quienes dejan constancia de su firma en señal de conformidad.

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Jaime Eduardo Basilio Atencio  
Presidente

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Williams Vicente Roldan Carbajal  
Miembro

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Yolanda Jesús Ramírez Trujillo  
Miembro

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Roberto Dávila Trujillo  
Asesor



“Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana”

**CERTIFICADO DE SIMILITUD T.I. N° 184 - 2025 - CS-RIDUNAS**

El Director de la Dirección de Gestión de Investigación de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, quien suscribe,

**CERTIFICA QUE:**

El Trabajo de Investigación; aprobó el proceso de revisión a través del software TURNITIN, evidenciándose en el informe de originalidad un índice de similitud no mayor del 25% (Art. 3° - Resolución N° 466-2019-CU-R-UNAS).

Programa de Estudio:

Maestría en Ingeniería de Alimentos Mención: Ingeniería Agroindustrial

Tipo de documento:

Tesis	X	Trabajo de Suficiencia Profesional	
-------	---	------------------------------------	--

TÍTULO	AUTOR	PORCENTAJE DE SIMILITUD
EFEECTO ANTIMICROBIANO EN LEVADURAS Y BACTERIAS, DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA PLANTA DE LA VIDA ( <i>Synadenium grantii</i> Hook), DE TRES ZONAS GEOGRÁFICAS	JOSE ANTONIO PACHECO CHUCO	21 % <b>Veintiuno</b>

Tingo María, 13 de junio de 2025

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
 UNIDAD DE GESTIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

*Dr. Tomas Menacho Mallqui*  
 JEFE

## DEDICATORIA

A Dios por darme la oportunidad  
de gozar de buena salud y por lograr  
cumplir un objetivo en mi vida  
profesional.

A mi madre Angélica Eva Pacheco García por su  
constante apoyo y su incalculable amor, siempre  
estarás conmigo desde el cielo, ayudándome, en todo  
momento.

A mi tía Lidia Victoria Pacheco García quién  
con su apoyo e inmenso amor estuvo  
apoyándome, por ello, el eterno  
agradecimiento hacia ella.

## **AGRADECIMIENTO**

Al asesor de la presente investigación Dr. Roberto Dávila Trujillo y al Dr. Pedro Pablo Peláez Sánchez por su apoyo en toda la ejecución de la tesis.

A presidente de jurado calificador Dr. Jaime Eduardo Basilio Atencio por contribuir con sus observaciones acertadas en la investigación realizada.

Al Dr. Williams Vicente Roldan Carbajal como miembro de Jurado calificador por haber contribuido con sus conocimiento y aportes en el desarrollo de la investigación.

A la Dra. Yolanda Jesús Ramírez Trujillo quien con sus observaciones y aportes contribuyó a mejorar la redacción de la presente investigación.

A todos los que contribuyeron para la ejecución y redacción de mi tesis...

Muchas gracias.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Antecedentes.....	3
2.2. Aspectos generales de la planta de la vida.....	1010
2.2.1. Planta de la vida.....	10
2.2.2. Compuesto antimicrobiano.....	12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	12
Las bacterias en el yogur .....	13
2.3. Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos levaduras y bacterias.....	1314
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
4.1. Lugar de ejecución .....	15
4.2. Muestra biológica .....	15
4.3. Materiales, equipos y reactivos .....	15
4.4. Métodos de análisis.....	16
4.4.1. Análisis químico proximal en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook. ....	16
4.4.2. Análisis químico en la determinación de la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico en las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook.....	16
4.4.3. Cuantificación de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook.....	17
4.4.4. Cuantificación de antocianinas totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook.....	17
4.4.5. Cuantificación de flavonoides totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook.....	17
4.4.6. Análisis microbiológico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook.....	17
4.5. Metodología experimental.....	17
4.5.1. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook .....	18

4.5.2. Descripción de la preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook.....	19
4.5.3. Preparación de los Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook .	20
4.5.4. Caracterización química del extracto hidroalcohólico de <i>Synadenium grantii</i> Hook.....	20
4.5.5. Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico sobre la levadura <i>Sacharomyces cereviceae</i> y bacterias seleccionadas (cepas de yogurt).....	24
4.6. Preparado del agar sangre y sembrado para enriquecimiento del <i>S. thermophilus</i> .....	27
4.6.1. Aislamiento de <i>Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus</i> .....	28
4.6.2. Aislamiento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	31
4.6.3. Métodos para evaluar actividad inhibitoria mediante el método de orificio sobre agar y el método de discos estériles. ....	34
4.6.4. Diseño experimental.....	34
4.7. Análisis estadístico.....	35
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	37
5.1. Evaluación de la composición químico proximal en el extracto hidroalcohólico de la hoja de <i>Synadenium grantii</i> Hook (la planta de la vida).....	37
5.2. Capacidad antioxidantes, fenólicos, flavonoides y antocianinas totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (la planta de la vida) .....	40
5.3. Determinación del efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico sobre la levadura ( <i>Sacharomyces cereviceae</i> ) y bacterias seleccionadas (cepas de yogurt). ....	49
5.3.1. Resultados del método 1 barrenador estéril del extracto de la planta de la vida .....	51
5.3.2. Resultados del método 2 discos estériles .....	50
VI. CONCLUSIONES.....	53
VII. PROPUESTAS A FUTURO .....	54
VIII. REFERENCIAS .....	55
ANEXOS.....	623

## INDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Resultados del análisis químico proximal de los extractos hidroalcohólicos de <i>Synadenium grantii</i> Hook de las tres zonas geográficas.....	38
2. Resultados de la capacidad antioxidante mediante el método DPPH° en el extracto hidroalcohólico de <i>Synadenium grantii</i> Hook de tres zonas geográficas.....	42
3. Resultados de la capacidad antioxidante mediante el método ABTS <sup>o+</sup> en el extracto hidroalcohólico de <i>Synadenium grantii</i> Hook de tres zonas geográficas.....	42
4. Resultados de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico de <i>Synadenium grantii</i> Hook de las tres zonas geográficas.....	43
5. Resultados de la determinación de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico de <i>Synadenium grantii</i> Hook de tres zonas geográficas.....	44
6. Resultados de la determinación de antocianinas totales en el extracto hidroalcohólico de <i>Synadenium grantii</i> Hook de tres zonas geográficas.....	44
7. Resultados del método del barrenador estéril de tres zonas geográficas.....	51
8. Resultados del método de dos discos estériles de tres zonas geográficas.....	52

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. <i>Synadenium grantii</i> Hook (Planta de la vida).....	10
2. Esquema de la conducción experimental.....	18
3. Extracción hidroalcohólica de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook.....	19
4. Procedimiento para la preparación del extracto hidroalcohólico.....	25
5. Preparación del caldo BHI (Brain Heart Infusión broth).....	27
6. Flujograma de la preparación del agar sangre.....	28
7. Flujograma de la Preparación del agar rogosa.....	30
8. Flujograma de la preparación del caldo sabouraud dextrosa.....	31
9. Flujograma de la preparación del agar sabouraud dextrosa.....	33
10. Esquema experimental para determinar el efecto de la zona sobre las características químicas del extracto hidroalcohólico.....	35
11. Esquema experimental para determinar el efecto de la zona sobre las características químicas del extracto hidroalcohólico.....	36

## RESUMEN

La finalidad de esta investigación fue caracterizar químicamente el extracto hidroalcohólico de la *Synadenium grantii* Hook Con (planta de la vida) de tres zonas geográficas: Manantay (Zona A), Yarinacocha (Zona B) y Campo Verde (Zona C) y determinar el efecto antimicrobiano de los extractos hidroalcohólicos sobre la levadura *Sacharomyces cereviceae* y las bacterias seleccionadas (cepas de yogurt), mediante el barrenador estéril y con el método de dos discos estériles. Al respecto de la caracterización se obtuvieron los siguientes resultados: fenoles totales de la zona A:  $1,31 \pm 0,01$  mg AGE/100 g; zona B:  $1,89 \pm 0,02$  mg AGE/100 g y zona C:  $1,75 \pm 0,01$  mg AGE/100 g. Flavonoides totales de la zona A:  $0,28 \pm 0,01$  mg de catequina/100 g; zona B:  $0,25 \pm 0,02$  mg de catequina/100 g y zona C:  $0,34 \pm 0,01$  mg de catequina/100 g. Antocianinas totales sólo se presentó de la zona C:  $0,08 \pm 0,01$  mg de cianidina-3-glucosido/L. Capacidad antioxidante con DPPH°, zona A:  $4,34 \pm 0,03$  mM TEAC/100 mL, zona B:  $11,85 \pm 0,06$  mM TEAC/100 mL y Zona C:  $12,10 \pm 0,09$  mM TEAC/ 100 mL y Capacidad antioxidante ABTS<sup>o+</sup>, zona A:  $11,51 \pm 0,29$  mM TEAC/100 mL, zona B:  $16,00 \pm 0,16$  mM TEAC/100 mL y Zona C:  $16,92 \pm 0,19$  mM TEAC/100 mL. Del efecto antimicrobiano mediante el método de barrenador estéril sobre levaduras de *Sacharomyces cerevisae* se obtuvo mayor actividad inhibidora en la zona de Manantay de 14,9; 17,3 y 18,7 mm, para las concentraciones de 125, 500 y 1500 mg/L de extracto hidroalcohólico de la planta de la vida, sin embargo en bacterias *Streptococcus thermophilus* no existió efecto antimicrobiano y sobre las bacterias de *Lactobacillus vulgaricus* tuvieron mayor actividad anhibitoria en la zona de Campo verde de 25,4 y 26,0 mm, para las concentraciones de 125 y 500 mg/L, y en la zona de Manantay de 23,3 mm, para la concentración de 1500 mg/L. Respecto al método de dos discos estériles en las bacterias de *Sacharomyces cerevisae* presentó mayor actividad inhibidora en la zona de Yarinacocha de 7,5 y 10,7 mm, para concentraciones de 500 y 1500 mg/L, en la bacteria *Streptococcus thermophilus* se tuvo mayor actividad inhibidora en las tres zonas de 8,3; 9,7 y 8,5 mm, para concentraciones de 1500 mg/L y finalmente sobre la bacteria *Lactobacillus vulgaricus* se obtuvo mayor actividad inhibidora en la zona de Manantay y Yarinacocha de 14,7 mm y Campo verde de 12,5 mm, ambos para una concentración de 1500 mg/L.

**Palabras claves:** antioxidantes, fenoles totales, actividad antimicrobiana

## The Antimicrobial Effect of a Hydroalcoholic Extract from the African Milk Bush Plant (*Synadenium grantii* Hook) on Yeast and Bacteria in Three Geographic Zones

### Abstract

The purpose of this research was to chemically characterize a hydroalcoholic extract from *Synadenium grantii* Hook Con (African milk bush) from three geographic zones: Manantay (zone A), Yarinacocha (zone B) and Campo Verde (zone C), and to determine the antimicrobial effect of the hydroalcoholic extracts on *Sacharomyces cereviceae* yeast and selected bacteria (strains from yogurt), using the sterile borer and the sterile double-disk methods. With respect to the characterization, the following results were obtained: total phenols from zone A:  $1.31 \pm 0.01$  mg AGE/100 g; zone B:  $1.89 \pm 0.02$  mg AGE/100 g and zone C:  $1.75 \pm 0.01$  mg AGE/100 g. The total flavonoids from zone A:  $0.28 \pm 0.01$  mg de catechin/100 g; zone B:  $0.25 \pm 0.02$  mg de catechin/100 g and zone C:  $0.34 \pm 0.01$  mg de catechin/100 g. The total anthocyanins were only present in zone C:  $0.08 \pm 0.01$  mg of cyanidin-3-glucoside/L. The antioxidant capacity against DPPH<sup>o</sup> [was]: zone A:  $4.34 \pm 0.03$  mM TEAC/100 mL, zone B:  $11.85 \pm 0.06$  mM TEAC/100 mL and zone C:  $12.10 \pm 0.09$  mM TEAC/ 100 mL, [and the] ABTS<sup>o+</sup> antioxidant capacity [was]: zone A:  $11.51 \pm 0.29$  mM TEAC/100 mL, zone B:  $16.00 \pm 0.16$  mM TEAC/100 mL and zone C:  $16.92 \pm 0.19$  mM TEAC/100 mL. For the antimicrobial effect using the sterile borer method on *Sacharomyces cerevisae* yeast, the greatest inhibition activity was obtained in the Manantay zone with 14.9, 17.3 and 18.7 mm for the concentrations of 125, 500 and 1500 mg/L of hydroalcoholic extract from the African milk bush; however, for the *Streptococcus thermophilus* bacteria, no antimicrobial effect existed, and for the *Lactobacillus vulgaricus* bacteria, the greatest inhibitory activity was in the Campo Verda zone with 25.4 and 26.0 mm for concentrations of 125 and 500 mg/L, and in the Manantay zone with 23.3 mm, for the concentration of 1500 mg/L. With respect to the sterile double-disk method, for the *Sacharomyces cerevisae* bacteria, the greatest inhibitory activity was in the Yarinacocha zone with 7.5 and 10.7 mm for concentrations of 500 and 1500 mg/L; for the *Streptococcus thermophilus* bacteria, greater inhibitory activity was in all three zones with 8.3, 9.7 and 8.5 mm for the concentration of 1500 mg/L and finally, regarding the *Lactobacillus vulgaricus* bacteria, greater inhibitory activity was obtained in the Manantay and Yarinacocha zones with 14.7 mm and in Campo Verde with 12.5 mm; both at a

concentration of 1500 mg/L.

**Keywords:** antioxidants, total phenols, antimicrobial activity

## I. INTRODUCCIÓN

Planta de la Vida, árbol de origen europeo, su nombre científico es *Synadenium grantii* Hook, tiene una historia que se remonta a unos 30 años. Algunos investigadores han descubierto que el forbol, un tipo de compuesto activo llamado éster, puede matar las células cancerosas que están siendo tratadas por malignidad, matando así las células cancerosas, y que estos ésteres pueden regenerar el tejido dañado por el cáncer. Las plantas vivas contienen compuestos como alcaloides, diterpenos, triterpenos, carbohidratos, flavonoides, esteroides y lípidos. Las hojas de esta planta viva contienen látex, cuyos componentes han sido identificados como bufadienolactonas, que son similares en estructura y actividad a los glucósidos digoxina y digoxigenina cardíaca, y que se utilizan en el tratamiento medicinal de la insuficiencia cardíaca congestiva.

Según estudios clínicos, se ha demostrado que las Bufadienolactonas de Plant of Life tienen propiedades antibacterianas, preventivas del cáncer y antitumorales. La Madre Teresa de Calcuta, que vivió en la India y actualmente es ordenada, utilizaba látex para curar a sus seguidores, y preparaba este látex diluido en agua para curar sus heridas. De manera similar, Napoleón Bonaparte sabía que el látex que contenía bufadienolactonas de la planta de la vida podía curar las infecciones en sus soldados heridos en la guerra y esparcidos por todo el continente.

En Perú, no existen evidencias científicas de que se haya estudiado esta planta, mucho menos en las áreas geográficas indicadas. La determinación de sus propiedades antimicrobianas permitirá sentar las bases para el desarrollo de nuevos productos, confiriéndole valor agregado a la utilización de esta planta, con el consiguiente beneficio para los pobladores de las zonas en mención quienes podrían realizar un manejo adecuado de esta planta, transformándolo en un cultivo que permita beneficios -económicos.

En las zonas geográficas de coronel Portillo, Padre Abad y Curimana, existen evidencias que esta planta crece de manera silvestre, por lo tanto, no se ha realizado aún su caracterización funcional ni su actividad antimicrobiana; existiendo la disponibilidad de conocimientos de métodos de análisis, reactivos y equipos necesarios para su realización. En este sentido, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivos:

- Evaluar los constituyentes químicos proximales de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de la planta de la vida (*Synadenium grantii* Hook) de tres regiones geográficas (Manantay, Yarinacocha y Campo Verde)
- Determinar la capacidad antioxidante, contenido de fenoles totales, flavonoides y antocianinas totales en los extractos hidroalcohólicos de las hojas de la planta de la vida (*Synadenium grantii* Hook) de Manantay, Yarinacocha y Campo verde
- Determinar la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de la planta de la vida sobre levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) y de determinadas bacterias (cepas de yogur).

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes

Ocampo et al. (2021) en su investigación sobre la actividad antimicrobiana de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la presencia de fenólicos de la pulpa y extractos de caldo de *Vaccinium floribundum* Kunth (arándano), *Rubusroseus Poir* (mora), *Sambucus peruviana Kunth* (saúco) y *Physalis peruviana, peruviana* (grosella dorada) en la región amazónica continuó produciendo DPPH con valores de capacidad inhibidora antioxidante que oscilan entre 11,7% y 72,26%, y compuestos fenólicos totales de 33,35 mg GAE/100 g de polifenoles totales. fue de 2,79, asimismo la actividad antibacteriana mínima contra levadura *Saccharomyces cerevisiae* en bayas fue de 256 µg/ml al 100% de concentración de 66,7 mg/ml, alcanzando valores inhibitorios de 1,5 a 2,38 mm. con su capacidad antioxidante, contenido fenólico y actividad antibacteriana.

Domingos de Souza (2021), con el objetivo de determinar la composición mineral en la conformación estructural de los látex y hojas y el grado de toxicidad de los principales minerales y oligoelementos Mato Grosso del Campo Gran, Brasil Rural y comunidades urbanas como De Dosol utilizan la planta viva como recurso terapéutico mediante métodos experimentales para obtener resultados de hojas crudas, minerales como potasio, magnesio y sodio, que por su valor presentan riesgo de intoxicación.

Roque et al. (2020) en su estudio titulado potencial anticancerígeno e inmunológico del *Synadenium Grantii* Hook (algodoncillo africano) en pacientes con factores de riesgo para Covid 19, demostró que el vegetal contiene flavonoides y antocianinas, así como otros compuestos sexuales funcionales, compuestos y metabolitos bioactivos. La planta “*Synadenyum Grantii* Hook” se utiliza para tratar diversas enfermedades que causan problemas de salud.

Kutikova et al. (2020) evaluaron el látex de *Synadenium Grantii* Hook como inmunoestimulante con fuerte respuesta en pruebas de desafío viral, así como en pacientes de alto riesgo de cáncer, diabéticos y obesos, aplicado a la terapia antitumoral y la inmunoterapia, que actualmente también es aplicable a grupos de riesgo de Covid-19 con enfermedades degenerativas y malignas.

León (2020) evaluó en su artículo titulado “Eficacia del látex *Synadenium Grantii* Hook en el tratamiento y curación de 300 pacientes con cáncer”, un tratamiento utilizando el látex

de la *Synadenium grantii* Hook de la planta de la vida contra el cáncer cuya dosis probada fue tomar 100 ml del látex formulado en tres comidas principales.

Lock (1988) y Miranda (2001) estudiaron la determinación cuantitativa de flavonoides, alcaloides, terpenoides, esteroides y glucósidos, utilizaron métodos analíticos de la A.O.A.C. para el análisis fisicoquímicos e instrumental, encontraron que entre los metabolitos activos del látex y la administración de látex a los pacientes con cáncer, que tuvieron un efecto beneficioso en más del 50% en la tasa de curación de los pacientes con cáncer.

Rodríguez (2020) en su investigación estudió la dosis de látex de *Synadenium grantii* (Euphorbiaceae) sobre *Rattus norvegicus* var. *Albinus* con tratamientos a diferentes concentraciones vía sonda orogástrica y también fueron evaluados mediante macroscopía del estómago, la seguridad de la dosis del látex de la planta de la vida, evaluaron mediante los efectos adversos y la tasa de mortalidad, y en su estudio logró la desinflamación de las paredes gástricas.

Guedes et al. (2020) en la extracción del *Synadenium grantii* Hook utilizaron dos técnicas de extracción convencionales diferentes como el CO<sub>2</sub> supercrítico con etanol como disolvente (ScCO<sub>2</sub> + EtOH) y Soxhlet con diferentes disolventes. Luego evaluaron la capacidad antioxidante, la composición y rendimiento de los extractos, asimismo demostró para la extracción del soxhlet, es mucho más alto con agua que con hexano. Sin embargo, con la extracción con ScCO<sub>2</sub>+ EtOH, y con etanol su rendimiento de extracción aumentó en el mismo sentido también los parámetros cinéticos. También evaluaron el coeficiente de inhibición donde demostró que los solventes polares presentan mayor capacidad antioxidante en comparación con los solventes no polares. Asimismo, los compuestos que se han identificado en el extracto de *Synadenium grantii* Hook fueron el eufol, carvacrol, betulina aldehído y friedelan-3-ona, estos compuestos tienen muchas aplicaciones en la industria cosmética farmacéutica y alimentaria.

Carillo y Diaz (2020) en su investigación evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de cáscara de mango en concentraciones preparadas a 90 % para la variedad Tomis Atkin y 50 % para la variedad Edward, cuya selección se basó en su alto contenido de compuestos fenólicos, evaluaron la actividad antimicrobiana con los métodos de Kirby Bauer y Kirby Bauer modificado; y los microorganismos utilizados como cepas fue “*Pseudomona aeuroginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028), *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)” y demostraron en su investigación ejecutada que la variedad Tommy Atkins tuvo alta actividad

antimicrobiana, donde se observaron halos de inhibición de 10 y 15 mm según las bacterias inoculadas, asimismo el método que mejor se adaptó fue el de Kirby Bauer modificado siendo los más sensibles los extractos hidroalcohólicos con las cepas inoculadas de *S. aureus* y *P. aeruginosa*.

Según Muñoz (2020) en su investigación sobre actividad antibacteriana en macroalgas marinas evaluaron in vitro frente a las bacterias estándar gram positivas y gram negativas, utilizando extractos etanólicos cuyo rendimiento fue de 67 % en comparación con los hexánicos cuyo rendimiento es de 33 % frente a gram positivas. La investigación realizada en el extracto etanólico de *Cladophora sp* se presenta la actividad antimicrobiana, frente a las cinco bacterias, cuyos porcentajes desde 12,5 y 25 mg/mL frente a bacterias *B. subtilis* ATCC 6633 y *S. aureus* ATCC 6538, donde se culmina que la gran mayoría de macroalgas estudiadas presentan compuestos inhibitorios, con extractos etanólico y hexánico y son capaces de inhibir crecimiento de bacterias patógenas.

León (2020) indica que la *Synadenyum grantii* Hook (planta de la vida), tiene propiedades de regenerar en el metabolismo humano, el tejido dañado y que se llevó a cabo a través del látex de planta de la vida, siendo el compuestos bioactivos llamado phorbol que tuvo la capacidad restaurativa y regeneración celular, asimismo estudios realizados por León (2019), mencionó que el poder antineoplásico es un fortalecedor del sistema inmune en las personas de riesgo con cáncer y/o inmunodepresivos siendo demostrado sus efectos benéficos en dicho tratamiento, evitando la contaminación de todas las células en su totalidad en dichas personas.

León (2020) indica que la *Synadenyum grantii* Hook (planta de la vida ) es un potenciador del sistema inmunológico en personas de riesgo como el coronavirus SARS-CoV-2 y tiene la capacidad de lograr efectos positivos contra este virus en todo el mundo.

Hernández (2019) en su investigación efectividad de la actividad antimicrobiana del paico a concentraciones de 10 % 25 % y 50 % sobre las cepas *Porphyromonas gingivalis* realizado en estudios in vitro, siendo su investigación de tipo experimental y aplicaron muestras no probabilísticas, en su desarrollo determinaron el efecto antimicrobiano a través de la formación de halos de inhibición alrededor del disco y llegaron a la conclusión que a mayor concentración de extracto hidroalcohólico del paico existe mayor efecto antimicrobiano sobre las cepas de *Porphyromonas gingivalis*, lo que se podría plantear con un tratamiento de infecciones bacterianas bucodentales.

Jiménez-Martínez et al. (2019) en su estudio de *Boldoa purpurascens* Cav. (Nitro) para infecciones del tracto urinario, evaluaron la actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos y acuosos de plantas de *Boldoa purpurascens* Cav sobre *Escherichia coli*, probaron en tres concentraciones de 30%, 50% y 70%, y observaron porcentajes de inhibición del 30% y 50%, y realizaron tamizajes fitoquímicos con aminoácidos, fenoles, taninos, triterpenoides y esteroides en dilución 1:4, concluyeron que tuvieron actividad antibacteriana en gotitas de *Escherichia coli*.

Barón (2019) refiere que las plantas de *Hemiphylacus novogalicianus* tienen compuestos químicamente característicos con la actividad antibacteriana, y se encontró que los extractos de acetona, etanol, ácido caproico y metanol de *Hemiphylacus novogalicianus* son altamente efectivos contra las bacterias (*Bacillus subtilis*, *S. Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *P. Pseudomonas aeruginosa*) y levadura (*Candida albicans*, *Candida*) *glabrata* y *C. tropicalis*) utilizó la técnica de microdilución en placa. Finalmente, encontró que los extractos en acetona y metanol lograron inhibir el crecimiento de *Bacillus subtilis* a una concentración de 20 mg/ml, mientras que la concentración del extracto metanólico fueron de 10 mg/ml. El extracto de hexano también pudo inhibir el crecimiento de *Bacillus subtilis*. Pudo inhibir el crecimiento de *E. coli*. También realizaron una evaluación morfológica a través de la microscopía electrónica de barrido y microscopía electrónica de transmisión, utilizando concentraciones de 20 y 5 mg/ml de *Pseudomonas aeruginosa*, con la finalidad de determinar el daño morfológico y ultraestructural en los extractos de hexano de la bacteria y observaron que la levadura mostró cambios desde el núcleo, mitocondrias. y vacuolas.

Quintana y Santamaría (2019) determinaron el efecto terapéutico del látex *Synadenium Grantii* Hook en ratones albinos (*Mus musculus*), utilizando métodos de investigación experimentales, siendo los ratones albinos, en 5 grupos, 7 en cada grupo; antes de la prueba de solubilidad y del análisis fitoquímico cualitativo, finalmente, el látex de la planta de la vida tuvo un efecto curativo que es 75% y 95% efectivo en el proceso de curación encontrándose compuestos fenólicos, flavonoides, triterpenoides, saponinas, alcaloides, carbohidratos, aminas y quinonas en porcentajes elevados.

Cavero (2018) determinó el efecto antibacteriano de tres concentraciones de látex *Synadenium Grantii* contra *Escherichia coli* en su estudio “Efecto antimicrobiano del látex *Synadenium Grantii* contra *E. coli*, Sullana – 2018”; El estudio involucró la inoculación de placas

de *E. coli* con una concentración de látex Hook de *S. grantii* agregado a cada placa es un diseño experimental longitudinal descriptivo en el que se inoculó una población de placas con una cepa de *E. coli* y cada placa se inoculó con *E. coli*. Látex de *Escherichia coli* y *S. grantii* utilizando métodos observacionales, tablas de análisis bibliográfico, métodos de laboratorio expresados hasta el final del estudio, seguido del análisis en Excel 2013 y concluyendo que el látex de *S. grantii* es un agente antimicrobiano.

Do Nascimento (2018) mencionó que innumerables plantas medicinales utilizadas con fines medicinales están poco estudiadas, sin embargo, aquellas plantas cuya composición química contiene compuestos citotóxicos, mutagénicos o genotóxicos son descuidadas porque las consecuencias para la salud son muy graves.

Do Nascimento (2018) en su investigación sobre “Evaluación del potencial citotóxico y mutagénico/genotóxico del látex del Lechero africano (*Synadenium grantii* Hook. f., Euphorbiaceae)”, aislaron compuestos bioactivos como forbol, triterpenos, diterpenos, antocianinas, lecitina y serina proteasas, que también mostraron un alto grado de actividad en el látex, se recomienda 18 gotas por litro 3 veces al día, utilizado para inflamaciones, gastritis, úlceras de estómago, enfermedades tumorales, etc.

Lema (2018) menciona su estudio sobre la “Evaluación de la actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Melissa officinalis* (toronjil) en proteus spp”, que los extractos de plantas nos dan una oportunidad amplia sobre el desarrollo de fármacos por ello se evaluó la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico.

Madridejos (2016) realizó investigaciones realizadas en plantas medicinales y mencionó que se debe tener cuidado con la dosificación, en enfermedades como las neurológicas, cardiovasculares, molestias digestivas, etc. En su estudio “Efectos de las plantas medicinales en los pacientes afectados de insuficiencia cardíaca”

Campos (2016) en su estudio “Efecto antiproliferativo de *Synadenium grantii* Hook f. tallos (Euphorbiaceae) y un éster raro de forbol diterpeno” menciona que la planta de la vida tiene la capacidad de inhibir el cáncer, también tiene el potencial antiproliferativo, su teoría se basa en estudios desarrollados sobre extractos de metanol en *S. grantii*, y recomienda su utilización para el tratamiento de enfermedades como alergias, trastornos gástricos y especialmente cáncer.

Clavo (2016) en su tesis “Bióloga con maestría en botánica” indica que el científico Grant Hook descubrió el éster cuyo componente activo denominado phorbol tiene la virtud de actuar contra los tumores malignos y que regeneran las células dañinas

En Ore (2014), menciona en su investigación “Actividad antihelmíntica in vitro del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (planta de la Vida), que tiene diversos usos en la medicina natural y según su investigación planteó la determinación de la actividad antihelmíntica in vitro del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *S. grantii* Hook (Planta de la vida) a concentraciones de 10 %, 5 % y 1 % para extractos acuosos e hidroalcohólicos frente a la lombriz de raya roja se pudo evaluar la actividad antihelmíntica utilizando técnicas de motilidad y supervivencia. Llegando a la conclusión que el extracto hidroalcohólico de la planta de la vida al 10 % presentó valores altos respecto a la actividad antihelmíntica in vitro.

Munhoz et al. (2014) demostraron en su investigación “Chemical and Pharmacological Investigation of the Stem Bark of *Synadenium grantii*” que en la planta de la vida existen compuestos fenólicos y tienen la capacidad de eliminar radicales libres, se puede justificar el uso de esta planta como medicinal alternativa por la presencia de sus compuestos bioactivos y eliminación de radicales libres como el grupo radicales de oxidación del oxígeno (ROS) y disminuye las inflamaciones debido a que disminuye la producción de grupo ROS, actúa de forma natural a nivel celular, actúan como la inflamación, en la medicina natural utiliza el extracto de la planta de la vida como un antiinflamatorio debido a que tienen un alto grado de actividad antioxidante.

Mompie et al. (2014) en su investigación “Cañete A.F. (2014). Evaluation of the antimicrobial activity of extracts from leaves and seeds of *Morinda citrifolia* L. (noni)” identificaron a través de la cromatografía de capa fina a los compuestos de metabolitos secundarios como los responsables de la actividad antimicrobiana frente a bacterias y hongos patógenos, cuyos resultados presentaron actividad antimicrobiana frente a cepas estudiadas, Pudieron detectar que en extractos de hojas y semillas a las quinonas, coumarinas y flavonoides; en las semillas, coumarinas y flavonoides, llegaron a la conclusión que si existe actividad antimicrobiana en hojas y semillas de la *Morinda citrifolia* L. (Noni), esta planta es un antiinflamatorio, antiséptico, antibacteriano, antiviral; antifúngico, antitumoral, antihelmíntico, analgésico, hipotensor e inmunoestimulante.

Melgar (2014) en su tesis “Capacidad anti *Candida albicans* de los extractos de hojas de *Synadenium grantii* Hook "lechero africano" menciona, que la diversidad de plantas que fueron utilizados por nuestros ancestros en la medicina alternativa y que se utilizaron para enfermedades no transmisibles como el cáncer debido a los tratamientos mediante la técnica de difusión en tabletas de papel utilizando *S. grantii* Hook, asimismo los estudios experimentales como las concentraciones de extracto acuoso de hoja y extracto etanólico de 5, 10 y 1 mg/ml para evaluar la actividad contra *Candida albicans*, aplicado sobre papel de filtro sobre una placa de agar Mueller Hinton inoculada con *Candida albicans*, observaron un halo de inhibición con un diámetro de 26 mm, y al compararlo con fluconazol con un halo de 26 mm pudieron concluir que es válido. Además, los metabolitos secundarios identificados en el extracto son consistentes con actividad antifúngica, ya que contienen flavonoides y alcaloides.

Munayco (2011) en su trabajo de investigación “Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal" sobre el ajo evaluó los efectos antibacterianos y antifúngicos de los extractos de ajo contra diferentes cepas bacterianas. La cepa ATCC *S. Proteus*, *krēpu capnophagus*, *Lactobacillus casei* y *Candida albicans*. Su actividad antimicrobiana contra diversas concentraciones de esputo *capnocytophaga*, *estreptococos mutans* y *candida albicans* trabajados con un nivel de confianza del 95% y según el análisis de varianza, encontraron que ambos son estadísticamente similares y finalmente concluyó que el extracto hidroalcohólico de ajo tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC. *Streptococcus mutans*, *sputum capnophagus* y *Candida albicans*, excepto *Lactobacillus casei* que mostró resistencia.

Velarde et al. (2024) en un estudio “Actividad antibacteriana in vitro del extracto y aceite esencial de hojas de Muña “evaluaron la actividad antibacteriana del aceite esencial de la muña "in vitro" contra seis cepas bacterianas estandarizadas: *S. aureus*, *E. faecalis*, *Escherichia coli*, *Proteus spp*, *Enterococcus faecalis* y *P. aeruginosa*. De manera similar, utilizando el método de microdilución en concentraciones que oscilaron entre 0,78 y 100 mg/ml, determinaron la concentración mínima inhibitoria de 25 mg de aceite esencial de romero para la actividad antibacteriana contra *E. faecalis* y *E. aerogenes* a 100 mg/ml, también mostraron inhibición del crecimiento de *E. coli* a (CMI) 100 mg/ml.

## 2.2. Aspectos generales de la planta de la vida

### 2.2.1. Planta de la vida

La especie *Synadenium grantii* Hook. es una planta perteneciente a la familia Euphorbiaceae, siendo popularmente conocida como ciega, lechosa, janaúba, cola-nota y otras. Su látex se ha utilizado tradicionalmente en la región de Campos Gerais en forma de “botella”, que se obtiene diluyéndolo en agua (18 gotas en 1 litro) (Melgar, 2014).



**Figura 1.** *Synadenium grantii* Hook (Planta de la vida).

Sus aplicaciones medicinales están muy extendidas en la cultura popular brasileña para la curación de varios tipos de cáncer, además de otras enfermedades como inflamación y úlceras.

La planta de la vida es muy conocida y utilizada como remedio de la selva tropical, el *Synadenium grantii* de la familia de las Euphorbiaceae, es considerado como un remedio natural de la selva, que mediante la extracción de látex por ello su nombre lechero africano es utilizada por los curanderos chamánicos, en su preocupación de sanar a sus pacientes experimentos de manera impresionante que se rehabilitaron dichos pacientes teniendo una oportunidad para seguir viviendo (Melgar, 2014).

Sin embargo, no existen estudios científicos que prueben estos efectos y se sabe poco sobre la constitución química de la especie. Así, los objetivos de este trabajo Melgar, (2014) realizó un estudio fitoquímico del látex de *Synadenium grantii* Hook; evaluar su actividad

antitumoral *in vitro* contra la línea celular de melanoma (B16F10); analizar diferentes formas de la distribución de las células tumorales en las fases del ciclo celular y también evaluar la actividad antitumoral del látex *in vivo*, así como las alteraciones histológicas de los animales tratados con la forma popular de uso del látex de la planta. En muchos estudios se han reportados casos de estudios en *in vitro* y *in vivo*, utilizando la resina natural de la planta de la vida que se ha demostrado que es antiinflamatorio, antiviral, antibacteriano.

Las bondades medicinales de las plantas entre hojas, semillas, tallos y raíces, desde el punto de vista empírico de las especies de la familia Euphorbiaceae, como el caso de la planta *Synadenium grantii* Hook, llamado “árbol de la vida”, “lechero africano”, “planta de la vida” en el Perú. Asimismo, fue validado esta información mediante el estudio e investigaciones utilizando el método científico, luego hubo alternativas de solución bajo las investigaciones demostradas frente a diferentes enfermedades genéticas y hereditarias para aquellas enfermedades no contagiosas como el cáncer, la diabetes la obesidad y se utilizaron el látex de la planta en los tratamientos experimentales en soluciones diluidas que se utilizó como prevención, tratamiento y curación, con el consentimiento informado, y se consideró el respeto a la naturaleza, cumpliendo la ética como principio elemental (León, 2020).

Napoleón Bonaparte utilizaba la planta de la vida para tratar infecciones a sus soldados en la guerra. En el Perú, existe investigadores que se dedican a estudio sus componentes bioactivos de dicha planta y llevan más de 8 años, ellos estudian sus efectos terapéuticos, debido a lo milagrosos que se regeneran las células cancerígenas, las diabetes, el lupus, gangrena, vitíligo y VIH/SIDA". Precaución: El Látex que segrega la planta de la vida es irritante y tóxico en cantidades elevadas, y se debe tener cuidado en el tratamiento a niños (Josep Pamies, 2010).

El extracto hidroalcohólico de la planta de la vida es considerado muy importante debido a los metabolitos secundarios que contiene y a su potencialidad para tratamiento de las enfermedades degenerativas, y para extraer el látex de la planta de la vida muy seguido solo quedarían las hojas tiernas si el requerimiento es indispensable y muy urgente; el látex se encuentra en el tallo, hojas y en la raíz (Josep Pamies, 2010).

La clasificación taxonómica descrita por Kronquist (1988) y citada por Melgar (2014) es la siguiente:

Reino:	Vegetal
División:	Magnoliophyta

Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Euphorbiales
Familia:	Euphorbiaceae
Género:	Synadenium
Especie:	<i>Synadenium grantii</i> Hook.
Nombre común:	Planta de la vida.

### 2.2.2 Compuesto antimicrobiano

Los antimicrobianos naturales, son compuestos que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos, como bacterias, virus y hongos, que nos constituyen una forma segura de garantizar alimentos seguros, manteniendo inalterable la calidad del producto.

#### - *Saccharomyces cerevisiae*

La *Saccharomyces cerevisiae*, (levadura de cerveza) Meyen ex E.C. Hansen, de Sugars, Fungi and Lager Beer) es un hongo unicelular, un tipo de levadura utilizada industrialmente para elaborar pan, cerveza y vino. Durante su ciclo de vida cambian entre dos formas, una haploide y otra diploide. Ambas formas se reproducen asexualmente formando yemas. En condiciones muy especiales, la forma diploide es capaz de reproducirse sexualmente.

En estos casos, la célula sufre meiosis y forma ascos que contienen cuatro ascosporas haploides. *Saccharomyces cerevisiae* es uno de los modelos más adecuados para estudiar cuestiones biológicas. Es un sistema eucariota que es sólo un poco más complejo que las bacterias, pero que tiene muchas ventajas técnicas sobre las bacterias. Además de su rápido crecimiento, dispersión celular y facilidad de replicación de cultivos y aislamiento de mutantes, también destaca por su sistema de transformación de ADN simple y versátil. Por otro lado, al no ser patógeno, se puede manipular con mínimas precauciones.

#### - *Las bacterias en el yogur*

Las bacterias del ácido láctico se han utilizado para fermentar o crear cultivos alimentarios durante al menos cuatro mil años. Se utiliza más comúnmente en productos lácteos fermentados en todo el mundo, como yogur, queso, mantequilla, kéfir y koumiss, que forman una gran cantidad de microorganismos benignos con propiedades similares que producen ácido láctico en

el producto final. proceso de fermentación. Son abundantes en la naturaleza y en nuestro sistema digestivo.

La acción de estas bacterias provoca un proceso microbiano que convierte la lactosa (lactosa) en ácido láctico. A medida que se acumula el ácido, la estructura de las proteínas de la leche cambia (se coagulan) y, por tanto, también cambia la textura del producto. Hay otras variables como la temperatura y la composición de la leche que afectan las características específicas de los diferentes productos.

El ácido láctico también le da a la leche fermentada un sabor ligeramente amargo. Los elementos de las bacterias del ácido láctico a menudo contribuyen a otros sabores o aromas característicos. Por ejemplo, el acetaldehído aporta al yogur su aroma característico, mientras que el diacetilo aporta a la leche fermentada su sabor mantecoso. También se pueden agregar a cultivos microbianos como la levadura para producir sabores especiales.

El alcohol y el dióxido de carbono producidos por la levadura dan a productos como el kéfir, el kumis y el liben (una variedad de yogures líquidos) su frescura y ligereza características. Entre otras técnicas utilizadas, cabe mencionar aquellas que implican la eliminación del suero o la adición de aromas, que permiten la creación de una amplia gama de productos.

### **2.3. Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos levaduras y bacterias**

Carrillo-Tomalá y Diaz-Torres (2020) en la investigación sobre la actividad antimicrobiana en extractos hidroalcohólicos utilizando cepas como las *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*, y se pudo evidenciar la mayor actividad antimicrobiana se evidencia frente a *P. aeruginosa* y *S. aureus* fueron los más sensibles frente a los extractos hidroalcohólicos.

En la actualidad, se valora y se aprovecha el uso de los componentes antimicrobiano que tienen las plantas según lo investigado por Torres et. al. (2014), quien utilizó evaluar la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos y acuosos frente a cepas de referencia de laboratorio y frente a bacterias patógenas y hongos levaduriformes aislados de hemocultivos, cuyos resultados se determinan mediante un método de pozo de difusión modificado y microdilución de concentración mínima inhibitoria (CMI). En extractos, los resultados más significativos se obtuvieron frente a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Klebsiella pneumoniae* con una CMI de 3,125 mg/ml y frente a *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis* con una CMI

de 1,56 mg/ml. Se concluyó que una planta etnomedicinal originaria del sur del Perú tiene un componente bioactivo que inhibe los patógenos humanos que causan bacteriemia y fungemia. (Torres et al., 2017).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.1. Lugar de ejecución

El trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios de HPLC, Biotecnología y Análisis de Alimentos de la Facultad de Ingeniería en Industrias alimentarias de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicado en el distrito de Rupa Rupa, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco, altitud de 660 msnm, temperatura ambiente 25°C, humedad relativa 85%, precipitaciones de 3500 mm, ubicado a 09° 18' 00" de latitud S y 76° 91' 00" de longitud W.

#### 4.2. Muestra biológica

Hojas frescas de *Synadenium grantii* Hook, planta de la Amazonía peruana recolectadas en los distritos de Manantay, Yarinacocha y Campo Verde, ubicado en la provincia Coronel Portillo del departamento de Ucayali a una Altitud de 159 m.s.n.m., Latitud Sur 8°23'00"S", Latitud oeste 74°33'00"O.

#### 4.3. Materiales, equipos y reactivos

**Materiales:** Matraces, Erlenmeyer de 150 y 250 ml.; Pipeta graduada de 10 ml.; Vasos de 1000, 500, 100 y 50 ml.; Fiola de 1000, 500, 100, 50 y 10 ml.; Probetas graduadas de 10, 100 y 500 ml.; Micropipetas ajustables de 100 µL y 1000 µL. Bureta automática.

**Equipos:** Balanza analítica modelo ESJ-210-4; Estufa modelo ODH6 -9240A (TOMOS Heating Drying Oven); Espectrofotómetro modelo Genesys 10 (Thermo Electrón Corporation) SN 2M6G261002; Congelador FFV-2065FW -20 °C (Frigidaire, USA); Desionizador modelo D 7035 (Barnstead); Agitador magnético modelo 625 standard; Homogenizador modelo VORTEX GENIE-2; Centrifuga modelo MIKRO 22R (Hettich); pH - metro (Mettler Toledo Seven Easy) pH = 0-14; Equipo Soxhlet, Gerhardt. Germany; Cocina eléctrica de plataforma-Thermolyne U. S. A.; Digestor de proteína, Digest Automat K-438 BÜCHI labortechnik. AG.; Horno Mufla LABOR Múszéripari Múvek.

**Reactivos:** ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 50%; Ácido clorhídrico (HCl 0,1 N); Hidróxido de sodio (NaOH) 50%; Éter bidestilado; Ácido clorhídrico (HCL) pureza 36,5%. Gallussyre (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>) 98,1% Sigma Aldrich; Etanol Sigma Chemical; Metanol (HPLC-kvalitet), Sigma Chemical; Etanol Merck al 99,99%; Agua destilada desionizada (H<sub>2</sub>O dd); Cloruro de potasio (KCL) (Sigma) del 99,5 % y el Acetato de sodio (CH<sub>3</sub>COONa) (Merk) al 99 %.

**Otros materiales:** Pinzas. Espátula metálica. Gorro de secado con perlas de silicona. Crisoles de porcelana, Capítulo 150 ml Haldenwanger Berlín. Puntas, Fisherbrand 200 a 1000  $\mu$ L. Microtubos (1,5 – 2,00 ml). Membrana filtrante de 0,2  $\mu$ m. Microfiltro de jeringa de 0,2  $\mu$ m. Espátula metálica. posición del filtro. Papel de filtro.

#### **4.4. Métodos de análisis**

##### **4.4.1. Análisis químico proximal en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook.**

- Humedad, método (AOAC, 1997).
- Proteína, método (AOAC,1997).
- Grasas, método (AOAC, 1997).
- Ceniza, método (AOAC, 1997).
- Fibras, método (AOAC, 1997).

##### **4.4.2. Determinación de la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico en las hojas de *Synadenium grantii* Hook**

- Método de inhibición de los radicales libres 2,2-difenil-1-trinitrofenilhidrazina (DPPH), mediante el método espectrofotométrico UV/Vis a 510 nm como lo describen Brand-Williams et al. (1995).

- Método de inhibición de los radicales libres 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-ácido sulfónico 6 ABTS<sup>o</sup>), mediante el método descrito por Re et al. Ilegar. (1999), la capacidad antioxidante se midió en equivalentes de trolox (ET) como lo describen Miller et al. (1993).

##### **4.4.3. Cuantificación de fenoles totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook**

Método reportado por Doroteo et al. (2013), consiste en la medición espectrofotométrica de folin ciocalteu (1927), expresado como equivalentes de ácido gálico,

##### **4.4.4. Cuantificación de antocianinas totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook**

Se realizó por el método espectrofotométrico descrito por Zapata et al. (2014).

#### **4.4.5. Cuantificación de flavonoides totales del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook**

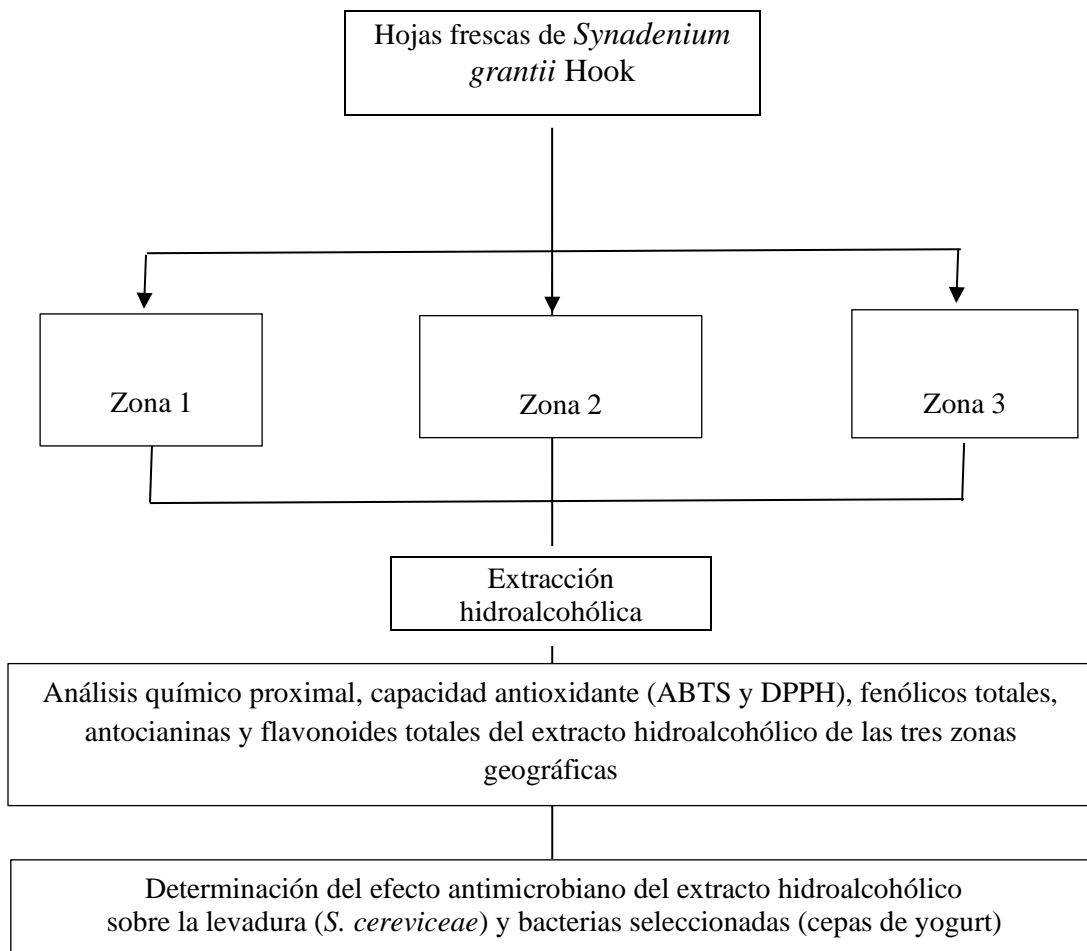
Se realizó por el método espectrofotométrico descrito por Doroteo et al. (2013).

#### **4.4.6. Análisis microbiológico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook**

- El método de orificio sobre agar descrito por Pérez et al, (2011).
- El método de disco sensitivos descrito por Pérez et al. (2011).

### **4.5. Metodología experimental**

En la Figura 2, se presentan las muestras de hojas de *Synadenium grantii* Hook, obtenidas de tres lugares: Manantay, Yarinacocha y Campo verde, luego fueron acondicionadas para su análisis respectivo en las etapas descritas en la Figura 2 que a continuación se describe.



**Figura 2.** Esquema de la conducción experimental

Donde:

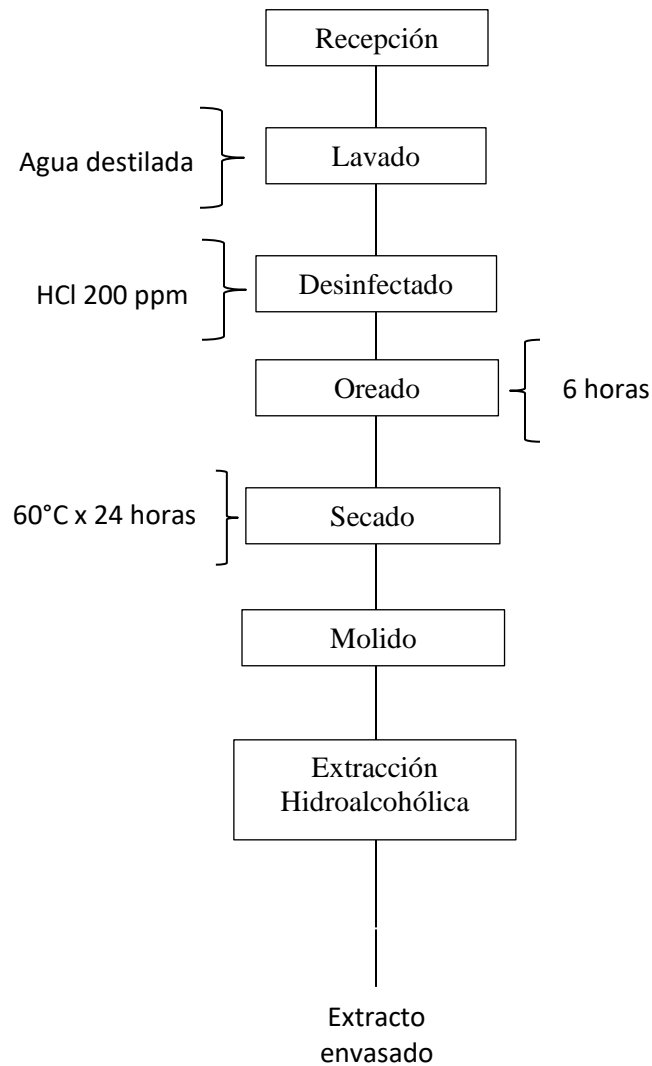
Zona 1: Manantay

Zona 2: Yarinacocha

Zona 3: Campo Verde

#### **4.5.1. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook.**

En la Figura 3 se presenta el procedimiento de la extracción hidroalcohólica de las hojas de la planta de la vida.



**Figura 3.** Extracción hidroalcohólica de las hojas de *Synadenium grantii* Hook

#### 4.5.2. Descripción de la preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook

- Recepción: se reciben las hojas de *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida)
- Lavado: se agregó agua a la bandeja y se sumergió las hojas, luego se enjuagaron

- Desinfectado: en una bandeja se adicionó HCl a una concentración de 200ppm, para eliminar alguna carga microbiana.
- Oreado, luego se sumergen las hojas de la planta de la vida por 5 min luego se procedió a enjuagar y dejar que se escurra.
- Secado: se colocó las hojas de la planta de la vida, en la estufa a una temperatura de 60 °C por 24 horas.
- Molido: luego se procedió a moler todas las hojas de la planta de la vida
- Envasado: se colocó la muestra molida en bolsas de polietileno.

#### **4.5.3. Preparación de los Extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Synadenium grantii***

##### **Hook**

Se pesó 1 g muestra seca y molida de planta de la vida, el cual fue colocado en un tubo de ensayo de 25 ml, luego se adicionó 20 ml de agua-alcohol etanol a 97° (50/50). Se agitó por 20 min en un homogeneizador, se dejó reposar por 24 horas luego fue filtrado, centrifugado, envasado y almacenado en frascos oscuros en congelación.

#### **4.5.4. Caracterización química del extracto hidroalcohólico de *Synadenium grantii***

##### **Hook**

Para la caracterización química del extracto hidroalcohólico de las zonas geográficas de Manantay, Yarinacocha y Campo Verde, se preparó de la siguiente manera:

- *Se utilizó los extractos hidroalcohólicos preparados y descritos en el ítem 4.5.3*
- *Preparación de la curva estándar para determinar la actividad antioxidante*

La matriz de la curva estándar se determinó con una solución de trolox a 1mM y ploteada con las concentraciones de 0, 1, 5 ,10, y 15  $\mu$ M.

##### ***Análisis químico en el extracto hidroalcohólico de *Synadenium grantii* Hook***

Se utilizó dos métodos para determinar la capacidad antioxidante que se describen a continuación:

**Capacidad antioxidante mediante el método DPPH° (2,2-difenil-2-trinitrofenilhidrazina):**

Se prepararon soluciones madre en reactivo DPPH° 1 mM (0,004 g de DPPH° en 100 ml de metanol grado reactivo) y se almacenaron a 4°C en la oscuridad, se preparó una solución de trabajo DPPH° (100 µM) a partir de esta solución madre para usarla para reaccionar con las muestras.

Inmediatamente se comenzó a tomar lecturas de absorbancia a 515 nm cada 30 segundos durante 10 minutos, hasta que la absorbancia sea constante y agregando 25 µL de extracto más 975 µL de la solución radical DPPH<sup>+</sup> (100 µM). La concentración de DPPH° en el medio de reacción se calculó a partir de la curva de calibración obtenida mediante regresión lineal. Los resultados se expresaron en TEAC, es decir. Actividad equivalente de Trolox (µM TEAC/g de muestra).

$$\text{Actividad antioxidante} = \frac{((\text{inhibición absorción} - \text{intercepción})) * (\text{FDr}) * (\text{FDm})}{\text{pendiente}}$$

Dónde:

Inhibición Abs = absorbancia del control - leer absorbancia

FDr = Factor de respuesta

FDm = Factor de muestreo

**Capacidad antioxidante mediante el método ABTS (ácido 2,2-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico):**

La capacidad de la muestra de prueba para inhibir cationes ABTS° de radicales libres se comparó con un estándar trolox. Los cationes radicales ABTS° se generaron mezclando ABTS 7 mM con una solución madre de persulfato de potasio de 122,5 mM e incubándola en la oscuridad a temperatura ambiente durante 12 a 16 horas hasta que se completó la reacción y se estabilizó la absorbancia. La absorbancia de la solución ABTS° debe ser 0,70 en estado estacionario. La inhibición de radicales libres ABTS° se determinó mediante un cambio de color de verde a amarillo, medido espectrofotométricamente a 734 nm. Para ello, se hicieron reaccionar 10 µL de la muestra con 990 µL de radicales libres ABTS° y se leyeron la absorbancia a 734 nm después de 10 min. Todos los experimentos fueron desarrollados por triplicado. La concentración de ABTS° se

calculó a partir de una curva de calibración de diferentes concentraciones de trolox en una solución de metanol al 80% y se obtuvo mediante regresión lineal. Los resultados fueron expresados como TEAC, actividad equivalente de trolox ( $\mu\text{M TEAC/g}$  de muestra).

$$\text{Actividad antioxidante} = \frac{(\text{inhibición absorción} - \text{intercepción}) * (\text{FDr}) * (\text{FDm})}{\text{pendientes}}$$

Dónde:

Inhibición Absorción = absorbancia del control - leer absorbancia

FDr = factor de dilución de la reacción

FDm = factor de dilución de la muestra.

Luego se realizó una evaluación del análisis químico de extractos hidroalcohólicos de *Synadenium grantii* Hook.

#### **Determinación de fenoles totales:**

Para caracterizar químicamente los extractos hidroalcohólicos de *Synadenium grantii* Hook, se construyó una curva estándar para la determinación de fenol total como se describe a continuación. El procedimiento para la determinación de fenólicos totales en muestras de extractos de *Synadenium grantii* Hook, primero se desarrolló una curva estándar para ácido gálico a 1000  $\mu\text{g/mL}$  y se preparó estándares a las siguientes concentraciones: 10, 25, 50, 75 y 100  $\mu\text{g/mL}$  y se realizó agregando 100  $\mu\text{L}$  de muestra, 500  $\mu\text{L}$  de solución de Folin-Ciocalteu 1/10 y 400  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 7,5%, seguido de incubación a temperatura ambiente en la oscuridad. 2 horas. La lectura se toma en el fotómetro a 740 nm en un espectrofotómetro UV/VIS, cada muestra se analizó por triplicado. La absorbancia resultante se sustituye en la ecuación de la curva estándar y el resultado se expresa en equivalente de ácido gálico ( $\text{mgEAG/g}$ ). El número total de fenoles se calculó según la fórmula:

$$\text{Fenoles totales} = (\text{absorbancia} - \text{intercepto}) * (\text{FDm}) * (\text{FDR})$$

Dónde:

Abs = Lectura de absorbancia

Intersección = Punto de intersección de la ecuación lineal

FDm = Factor de dilución de la muestra

FDr = Factor de reacción de la muestra.

### **Cuantificación de antocianinas totales:**

La concentración de antocianinas monoméricas se determinó mediante el método de diferencia de pH. Para esto, se mezclaron 100  $\mu\text{L}$  del extracto con la solución tampón de cloruro de potasio de 0,025 M, ajustado a pH 1,0 con solución de HCL y con acetato de sodio 0,4 M, ajustado con ácido acético a pH 4,5. Las lecturas de absorbancias fueron a 510 nm, seguidas de la absorbancia a 700 nm para corregir la medición por la presencia de compuestos de degradación o sustancias interferentes. Controlar el agua extra pura. La concentración de antocianinas se expresa en miligramos de antocianina-3-glucósido por 100 ml de muestra seca como se muestra a continuación.

$$A = (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}1,0} - (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}4,5}$$

La siguiente fórmula se utilizó para calcular la concentración de antocianinas:

$$\text{PMA (mg/L)} = (A * \text{PM} * \text{FD} * 1000) / (\epsilon * 1)$$

Dónde:

- PMA = Pigmento antocianina monomérico
- PM = Peso molecular de antocianina-3-glucósido
- DF = Factor de dilución
- $\epsilon$  = Absortividad molar (26.900)

### **Determinación de flavonoides totales:**

El contenido de flavonoides se determinó mediante colorimetría. Consistió en añadir 30 mL de nitrito de sodio a 100 mL de extracto (concentración de 0,5 mg/ml). Se dejó actuar 6 minutos, se agregó 30  $\mu\text{L}$  de cloruro de aluminio, dejando actuar 5 minutos, agregando 200  $\mu\text{L}$  de hidróxido de sodio y finalmente se agregó 640  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Para la determinación cuantitativa, se preparó una curva de calibración utilizando catequinas en concentraciones entre 10 y 100  $\mu\text{g/ml}$ . Tome una lectura de absorbancia a una longitud de onda de 510 nm en un espectrofotómetro. El contenido total de flavonoides se expresa como mg de catequinas/g de muestra seca.

$$\text{Flavonoides totales} = \frac{(\text{inhibición absorción} - \text{intercepción}) * \text{FDr} * \text{FDm}}{\text{pendientes}}$$

Dónde:

Abs	= Inhibición Absorción
intersección	= Punto de intersección de la ecuación lineal
pendiente	= Pendiente de la ecuación lineal
FDr	= Factor de dilución de la reacción
FDm	= Factor de dilución de la muestra

#### **4.5.5. Evaluación del efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico sobre la levadura *Sacharomyces cereviceae* y bacterias seleccionadas (cepas de yogurt)**

Para la determinación del efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico sobre la levadura *Sacharomyces cereviceae* y las bacterias de las cepas de yogurt se utilizó el fundamento de los análisis microbiológicos para levaduras y bacterias, mediante los siguientes métodos que a continuación se detallan los procedimientos:

- Este método consiste en realizar agujeros en la superficie del agar mediante un punzón estéril de 8 mm de diámetro, donde en los pocillos se colocan 70  $\mu$ l de diferentes extractos y se sellan con el mismo agar. Incubar la placa a 37 °C durante 24 h (Cuellar y Hussein, 2009). Para cada microorganismo, utilice 80 mg/ml de control positivo y control negativo de gentamicina en agua destilada. La prueba se realizó por triplicado y se evaluó midiendo el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento alrededor del agujero. El efecto inhibidor del extracto vegetal se obtuvo de la diferencia con el etanol y se comparó su eficiencia con el control positivo.

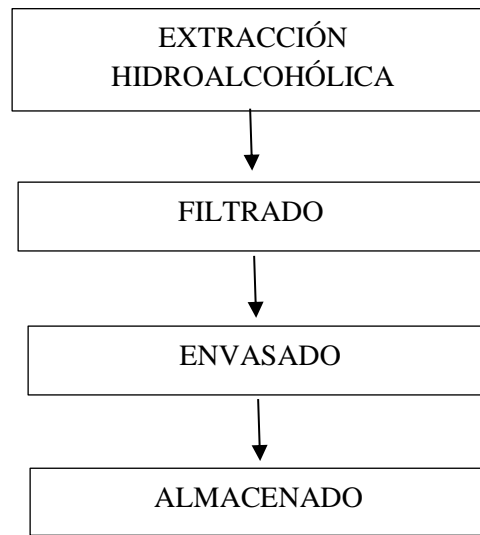
- Luego continua en sumergir discos de papel de filtro estériles en cada extracto durante 24 horas, que luego se aplican a la superficie del agar en condiciones asépticas. El tiempo y la temperatura de incubación, la evaluación y la eficiencia del ensayo son similares al método del punzón en agar (Pérez et al., 2011).

- Para la evaluación de la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de plantas de la vida frente a *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *Saccharomyces cerevisiae*, se realizó primero la preparación de los extractos para elaborar concentraciones y así ver la influencia antimicrobiana con las muestras de las tres zonas, se siguió el siguiente flujograma que se detallan a continuación en la Figura 4 y se describe a continuación:

- **Extracción con hidroalcohol:** pesar (0,00125, 0,05 y 0,15) g de muestras de plantas secas y molidas de tres zonas geográficas en un matraz de ensayo de 500 ml y añadir 100 ml de alcohol etanol-50/50% agua. Luego se mezcló en un homogeneizador hasta obtener un extracto homogeneizado y se dejó por 24 horas.

- **Filtración:** filtración con papel de filtro rápido (whatman) para separar restos de cáscaras y semillas y obtener un extracto puro.

- **Envasado y almacenamiento:** las muestras de extracto obtenidas se envasan en matraces bien cerrados.



**Figura 4.** Procedimiento para la preparación del extracto hidroalcohólico

#### 4.5.5.1. Aislamiento de los microorganismos *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* y *Saccharomyces cerevisae*

- Aislamiento de *Streptococcus thermophilus*

Para el aislamiento del *streptococcus* fue necesario la preparación de los caldos que se detallan a continuación:

- Preparación de caldo BHI, preparación del Agar sangre

Se preparó el caldo BHI (Brain Heart Infusión roth) para la activación y crecimiento de las dos bacterias (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp*

*Bulgaricus*), se desarrollaron las operaciones que se detallan en la Figura 4. Asimismo, se realizó la preparación del caldo BHI que al combinar el agua destilada con él BHI, se somete a baño maría con la finalidad de eliminar grumos que se presentó al mezclarlos.

- Caldo BHI

Se preparó 50ml de caldo para la activación de los 2 microorganismos en estudio los cuales son *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, para lo cual utilizamos 50 ml de agua destilada y 1.85 g de BHI.

$$\begin{array}{rcl}
 37\text{g BHI} & \text{-----} & 1000 \text{ ml agua destilada} \\
 X & \text{-----} & 50 \text{ ml agua destilada} \\
 X = & & 1.85 \text{ g de BHI.}
 \end{array}$$

**4.5.5.2. Procedimiento para la elaboración del Caldo BHI (Brain Heart Infusión broth).**

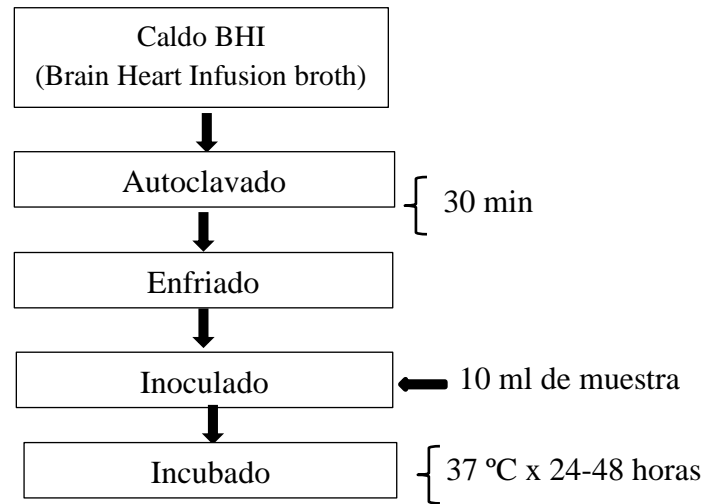
Para la elaboración del Caldo BHI se describe el procedimiento de cada etapa según las siguientes operaciones:

- Autoclavado: Se realizó a una temperatura de 121 °C por 30 minutos con la finalidad de esterilizar el medio o caldo BHI. Enfriado: se realizó sometiéndole a temperatura de ambiente hasta que llegue a una temperatura de 45 – 50 °C. Para acelerar el enfriado del caldo BHI se le puede poner en contacto directo con agua fría.

- Inoculado: Se realizó añadiendo 10 mL de muestra de cultivo láctico preparado para yogurt al caldo BHI, por lo tanto, encontraremos 2 tipos de bacterias las cuales son el *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*.

- Incubado: Se realizó en una incubadora a una temperatura de 37 °C de 24 a 48 horas para obtener el crecimiento de las 2 bacterias en investigación.

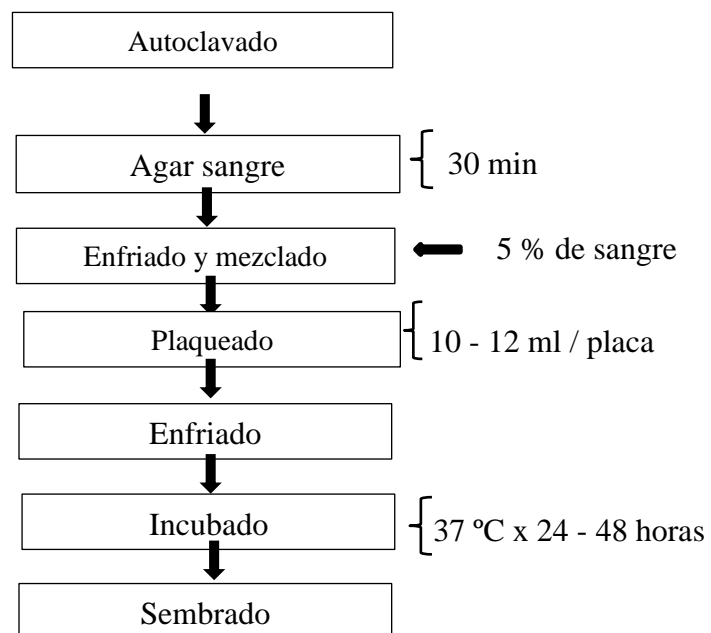
A continuación, en la Figura 5, se presenta el flujograma del procedimiento para la elaboración del caldo BHI



**Figura 5.** Preparación del caldo BHI (Brain Heart Infusión broth).

#### 4.6. Preparado del agar sangre y sembrado para enriquecimiento del *S. thermophilus*

La preparación del agar sangre tuvo como finalidad enriquecer al *Streptococcus thermophilus* y ver su crecimiento para su respectivo aislamiento, se desarrolló las operaciones que se describen en la Figura 6.



**Figura 6.** Flujograma de la preparación del agar sangre.

Agar sangre: Para la preparación de 50 mL del agar sangre, se utilizó 50 mL de agua destilada y 1.65 g del medio.

33 g de agar sangre	-----	1000 ml agua destilada
X	-----	50 ml agua destilada
X		= 1.65 g de agar sangre

Al combinar el agua destilada con el agar, se somete a baño maría con la finalidad de eliminar grumos que se presentó al mezclarlos.

- Autoclavado: Se realizó a una temperatura de 121 °C por 30 minutos con la finalidad de esterilizar el agar sangre (sin adición de sangre).
- Enfriado y mezclado: El enfriado se realizó exponiéndolo a temperatura de ambiente y para acelerar el enfriado se puede someter a agua fría para que llegue a una temperatura moderada previniendo que no sea tan baja para evitar la solidificación del agar y ni tan alta. Cuando la temperatura está en su punto se añade la sangre, inmediatamente se realiza el mezclado para que se homogenice.
- Plaqueado y enfriado: Este proceso se realizó añadiendo de 10 ml a 12 ml por cada placa previamente esterilizadas. Al terminar de plaquear, se realiza un enfriado para la solidificación del agar.
- Sembrado: El sembrado se realizó por un método de agotamiento en placa (estría), que trata de separar las colonias y así poder realizar fácil la extracción de la muestra.
- Incubado: Se realizó sometiéndole a una temperatura de 37 °C de 24 a 48 horas en una incubadora para obtener el crecimiento de la bacteria *Streptococcus thermophilus*.

#### **4.6.1. Aislamiento de *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus***

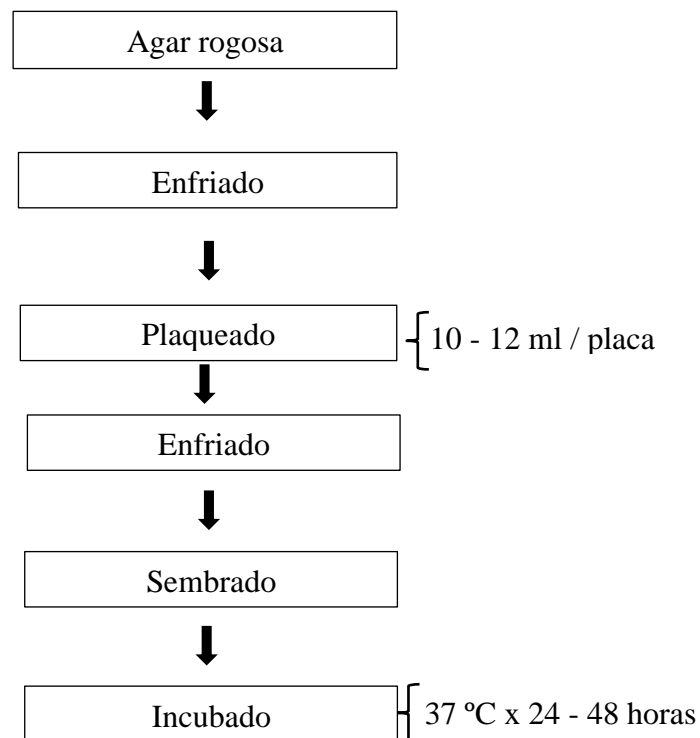
Para el aislamiento del *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*, fue necesario la preparación del Caldo BHI, y el agar rogosa

- Preparado de caldo BHI

El caldo BHI (Brain Heart Infusión broth) se preparó al inicio para la activación y crecimiento de los dos microorganismos, como se muestra en la siguiente figura.

- Preparado del agar rogosa y sembrado

Se preparó agar rogosa para el enriquecimiento de la bacteria *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, ver su crecimiento para su respectivo aislamiento, se desarrolló las operaciones que se describen en Figura 7.



**Figura 7.** Flujograma de la Preparación del agar rogosa.

Agar rogosa: Para la preparación de 100 ml del agar rogosa utilizamos 100 ml de agua destilada y 7,4 g de agar rogosa.

74 g A. Rogosa	1000 ml agua destilada
X	100 ml agua destilada
X	= 7,4 g de A. Rogosa.

Al combinar el agua destilada con el agar, se sometió a baño maría con la finalidad de eliminar grumos que se presentó al mezclarlos. Este tipo de agar no se aplicó el autoclavado.

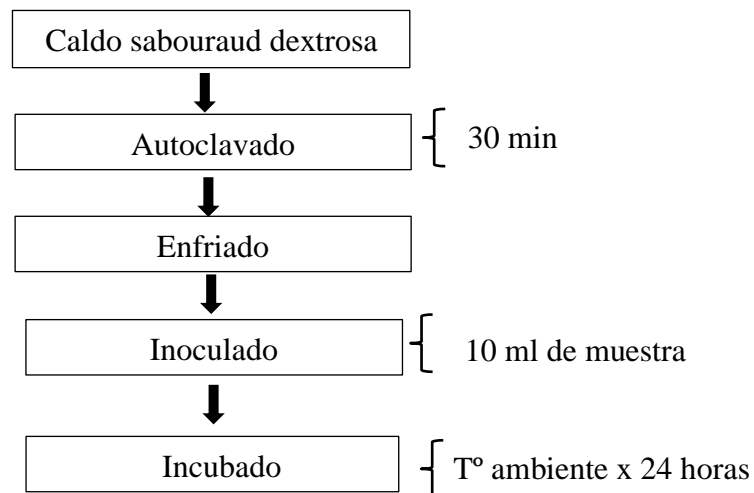
- Enfriado: Se realizó exponiéndolo al ambiente o con agua fría hasta una temperatura moderada previniendo que no sea tan baja para evitar la solidificación del agar.
- Plaqueado y enfriado: este proceso se realizó añadiendo de 10 ml a 12 ml por cada placa previamente ya esterilizadas. Al terminar de plaquear se realizó un enfriado para la solidificación del agar.
- Sembrado: se realizó por el método de agotamiento en placa o método de estría, que consistió en tener las colonias separadas y así poder realizar fácil la extracción de la muestra.
- Incubado: se realizó exponiéndola a una temperatura de 37 °C de 24 a 48 horas para obtener el crecimiento de la bacteria *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* en una incubadora.

#### 4.6.2. Aislamiento de *Saccharomyces cerevisiae*

Para el aislamiento del *Saccharomyces cerevisiae*, fue necesario la preparación del caldo sabouraud dextrosa.

##### Preparación de caldo sabouraud dextrosa:

Se preparó el caldo sabouraud dextrosa para la activación de la levadura (*saccharomyces cerevisiae*), se desarrolló las operaciones que se describen en la Figura 8.



**Figura 8.** Flujograma de la preparación del caldo sabouraud dextrosa.

A continuación, se describe cada operación de la preparación del caldo Sabouraud dextrosa.

- Caldo sabouraud dextrosa: Se preparó 100 ml de caldo sabouraud dextrosa para la activación de la *Saccharomyces cerevisiae*. Para lo cual utilizamos 100 ml de agua destilada y 5 g de caldo sabouraud dextrosa.

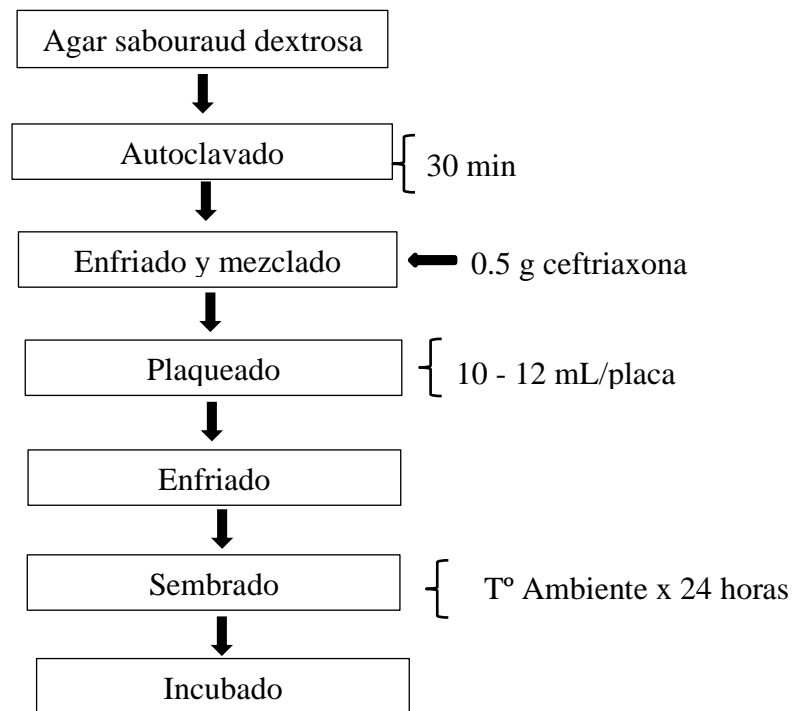
50 g C. sabouraud D.	1000 ml C. Sabouraud D.
X	100 ml C. Sabouraud D.
X	= 5 g de C. sabouraud D.

Se realizó el baño maría a ebullición por 10 a 15 minutos con la finalidad de eliminar grumos que se presentó al combinar el agua destilada con el agar sabouraud dextrosa.

- Autoclavado: se realizó el autoclavado a una temperatura de 121 °C por 30 minutos con la finalidad de esterilizar el caldo sabouraud dextrosa.
- Enfriado: se realizó exponiéndolo a temperatura de ambiente y para acelerar el enfriado se le pone en contacto directo con agua fría.
- Inoculado: esta operación se realizó añadiendo 10 ml de muestra con una pipeta previamente esterilizada, donde la muestra contiene 4 g de azúcar, 2 g de levadura y 10 ml agua destilada.
- Incubado: esta operación se realizó sometiéndola a una temperatura de ambiente por 24 horas en una incubadora para obtener el crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

### **Preparado de agar sabouraud dextrosa y sembrado:**

Se preparó agar sabouraud dextrosa para el enriquecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y ver su crecimiento para su respectivo aislamiento, se desarrolló las operaciones que se describen en la siguiente Figura 9.



**Figura 9.** Flujograma de la preparación del agar sabouraud dextrosa.

**Agar sabouraud dextrosa:** para la preparación de 100 ml del agar sabouraud dextrosa se utilizó 100 ml de agua destilada y 6,5 g de medio.

65 g de medio	1000 ml agua destilada.
X	100 ml agua destilada.
X	= 6,5 g de medio.

Se acondicionó con un baño maría por 15 min con la finalidad de eliminar grumos que se originaron al combinar el agua destilada con el agar sabouraud dextrosa.

- Autoclavado: Se realizó el autoclavado a una temperatura de 121 °C por 30 minutos con la finalidad de esterilizar el agar sabouraud dextrosa.

- **Enfriado y mezclado:** El enfriado se realizó exponiéndolo al ambiente y para acelerar el enfriado se pone en contacto directo con agua fría hasta una temperatura moderada previniendo que no sea tan baja para evitar la solidificación del agar. Cuando la temperatura está en su punto se añadió 0.5 g de antibiótico llamado ceftriaxona con el fin de evitar el crecimiento de bacterias y asegurar el crecimiento de solo levadura *Saccharomyces cerevisiae*.
- **Plaqueteo y enfriado:** Este proceso se realizó añadiendo de 10 ml a 12 ml por cada placa previamente esterilizadas. Al terminar de plaquear se realizó un enfriado para la solidificación del agar.
- **Sembrado:** El sembrado se realizó por un método de agotamiento en placa o también llamado método de estría, que trata de separar las colonias y así sea fácil la extracción de la muestra.
- **Incubado:** Esta operación se realizó sometiendo a una temperatura de ambiente por 24 horas para obtener el crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

#### **4.6.3. Métodos para evaluar actividad inhibitoria mediante el método de orifico sobre agar y el método de discos estériles.**

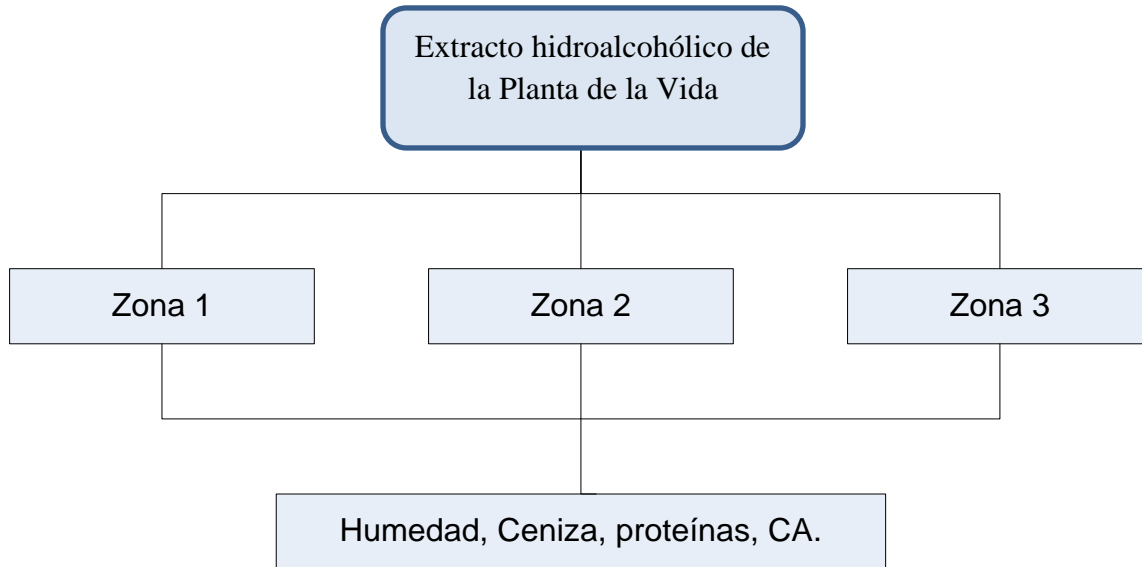
Una vez aislados los microorganismos y preparado los extractos de cada zona se pasó realizar las siembras en los agares según los siguientes métodos descritos.

- **Método de punzonado en agar:** se realizaron agujeros en la superficie del agar con un sello estéril de 8 mm de diámetro, en los agujeros se colocaron 70 µl de diversos extractos y se sellaron con el mismo agar. Se Incubó la placa a 37 °C durante 24 h (Cuellar y Hussein, 2009). Para cada microorganismo, se utilizó 80 mg/ml de control positivo y control negativo de gentamicina en agua destilada. La prueba se realizó por triplicado y se evaluó midiendo el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento alrededor del agujero. El efecto inhibitor del extracto vegetal se obtuvo de la diferencia con el etanol y se comparó su eficiencia con el control positivo.

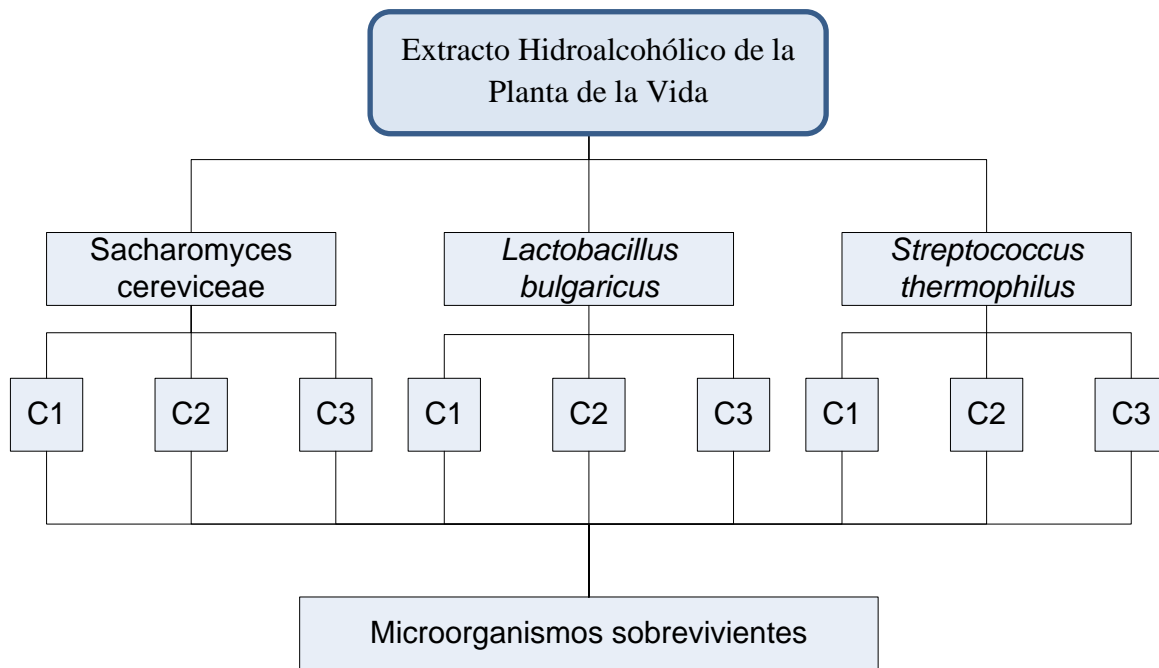
- **Método de inmersión de discos de papel de filtro estériles:** en cada extracto durante 24 horas antes de colocarlos en condiciones estériles sobre la superficie del agar. El tiempo y la temperatura de incubación, la evaluación y la eficiencia del ensayo fueron similares al método del agar.

#### 4.6.4. Diseño experimental

A continuación, se presentó el diseño experimental para determinar el efecto de la zona sobre las características químicas del extracto hidroalcohólico, como se muestra en la Figura 10.



**Figura 10.** Esquema experimental para determinar el efecto de la zona sobre las características químicas del extracto hidroalcohólico. CA: Capacidad antioxidante (ABTS, DPPH, expresados como equivalentes de trolox), (Zona 1: Manantay, Zona 2: Yarinacocha y Zona 3: Campo Verde)



**Figura 11.** Esquema experimental para determinar el efecto de la zona sobre las características químicas del extracto hidroalcohólico. ZONA 1: Manantay, ZONA 2: Yarinacocha, ZONA 3: Campo Verde. Concentraciones utilizadas (C1: 125 mg/mL, C2: 500 mg/mL, C3: 1500 mg/mL)

#### 4.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico de la Figura 10, se realizó empleando un diseño completo al azar DCA y la prueba de Tukey, fue desarrollado mediante el Software STATGRAPHICS Centurión XVI, versión 15.2.06 (Daza 2006; López 2008).

- **Variable independiente:** Tres Zonas geográficas. Manantay, Yarinacocha y Campo Verde
- **Variable dependiente:** Características químicas del extracto hidroalcohólico.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Humedad, ceniza, proteína, capacidad antioxidante.

$\mu$  = Media general.

$T_i$  = Tres Zonas geográficas.

$E_{ij}$  = Error experimental.

El análisis estadístico de la Figura 11, se realizó utilizando un diseño DCA completamente al azar, con factorial 3A x 3B y la prueba de Tukey. Los análisis se realizaron utilizando el software STATGRAPHICS Centurion XVI versión 15.2.06. (Dasa 2006; López 2008).

Variable independiente: Tipo de microorganismo, levadura y bacterias (*Sacharomyces cereviceae*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*).

Variable dependiente: Microorganismos sobrevivientes.

$$Y_{ij} = \mu + A_{ij} + B_{ij} + A_{ij} \times B_{ij} + E_{ij}$$

Donde:  $Y_{ij}$  = No de microorganismos sobrevivientes.  
 $\mu$  = Media general.  
 $A_{ij}$  = Tipo de microorganismo.  
 $B_{ij}$  = Concentraciones del extracto hidroalcohólico.  
 $A_{ij} \times B_{ij}$  = Interacción del efecto de las zonas y concentraciones.  
 $E_{ij}$  = Error experimental.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 5.1. Composición químico proximal del extracto hidroalcohólico de la hoja de *Synadenium grantii* Hook (planta de la vida)

En la Tabla 1, se presentan los resultados aproximados de la composición química de extractos hidroalcohólicos de *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida) de la región de Manantay (región 1), Yarinacocha (región 2) y Campo Verde (región 3). La siguiente tabla muestra los resultados de los análisis químicos aproximados realizados.

**Tabla 1.** Resultados del análisis químico proximal de los extractos hidroalcohólico de *Synadenium grantii* Hook de las tres zonas geográficas

Análisis	Manantay	Yarinacocha	Campo verde
Humedad	94,23±0,32	94,43±0,15	93,90±0,10
Proteína	1,60±0,01	1,65±0,005	1,48±0,02
Aceites y grasas	0,02±0,00	0,05±0,00	0,03±0,00
Carbohidratos	3,9±0,01	3,69±0,01	4,49±0,011
Cenizas	0,09±0,00	0,10±0,00	0,10±0,00

Se realizó el análisis químico proximal en los extractos de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (planta de la vida) de la de la Zona 2 cuyo resultado presenta 94,43±0,15 siendo mayor el contenido de humedad superando a la Zona 1 con 94,23±0,32 % de humedad y a la Zona 3 con 93,90±0,10 % de humedad siendo la de menor cantidad la zona 3 con 93,90±0,10 % de humedad, se realizó un análisis de varianza ANOVA al 95 % de confianza, siendo el factor A las hojas de la planta de la vida y el facto B las tres zonas encontrándose diferencias significativas en los tratamientos. Se observa que la diferencia entre las zonas es debido al contenido de agua y estos valores tiene relación con los solutos presentes en las hojas de la planta de la vida, asimismo sabemos que la humedad es un factor difícil de controlar en las plantas, pero que es importancia para el crecimiento en la planta, también es importante para la transpiración de la planta, la conducción y absorción de los nutrientes asimismo es muy importante porque debido a un equilibrio de agua en las plantas, sin embargo la cantidad de agua es un factor incontrolable ya que

un exceso de agua no ayudaría a una buena conducción de nutrientes, también una escasez de agua en las plantas dificulta el transporte de nutrientes; existiendo diferencia significativa entre la Zona 3, la Zona 2 y la Zona 1 como se puede observar que la calidad del suelo influye en el contenido de humedad.

Pergher et al. (2016) menciona que el contenido de humedad utilizando métodos gravimétricos, se debe controlar la humedad relativa de 80 % y temperatura de 30 °C a 60 °C se utilizan para ajustar ciertos resultados en los laboratorios, sin embargo, las hojas de la planta de la vida fueron secadas a 60 °C con una humedad relativa de 86 %. Asimismo, según Ventura (2019) determinó el contenido de humedad en las flores *tropaeolum majus* L. fue de 7,14%, siendo más bajo que las hojas de la planta de la vida.

Fukalova et al. (2020) en el análisis proximal encontró el  $77,91\pm 0,02$  % de humedad en hojas de orégano de la zona Pichincha-Tumbaco y  $75,89\pm 0,40$  % de la zona Imbabura-Italqui, como se puede observar el porcentaje de humedad en diferentes zonas ha variado debido a los factores edafológicos. En el contenido de proteínas la zona 2 es  $1,65\pm 0,005$  siendo mayor en comparación con la zona 1 con  $1,60\pm 0,01$  y la zona 3 con  $1,48\pm 0,02$  siendo la más baja, podemos decir que existe una relación entre el contenido de agua y la conducción de nutrientes presentes en la planta de la vida, siendo significativo entre la zona 2 y zona 3 respectivamente.

Cuello et al. (2017) realizó una investigación en hojas de guanábana cuya composición en humedad fue baja y en proteínas fue de 8,15 % es mayor que las hojas de la planta de la vida, también Fukalova et al. (2020), investigo el contenido de proteínas en el orégano en hojas fue de 18,61 % de proteína de la zona de Imbabura Italqui y en la zona de Pichincha Tumbaco fue de 19,58 % de proteína, esto es debido a los factores edafológicos de las Zonas 3, Zona 2 y Zona 1, es por ello que se puede observar en los resultados de análisis proximal en humedad se tiene resultados diferentes en las zonas como Manantay, Yarinacocha y Campo Verde.

Lara et al. (2020) mencionan que el bajo porcentaje de humedad en las hojas de la planta de la vida evitarían la contaminación por mohos, debido a que estos proliferan en la humedad y afectarían la calidad de las hojas de la planta de la vida.

Respecto al contenido de las proteínas de las tres zonas, se pudo determinar que la Zona 2 tuvo la mayor cantidad de proteínas representados con un valor de  $1,65\pm 0,005$ , la zona 1 tuvo  $1,60\pm 0,01$  y siendo el más bajo la zona 3 con un valor de  $1,48\pm 0,02$ , existiendo diferencia significativa entre las zonas 1, 2 y 3. Sin embargo Según Flores et al. (2022) determino proteínas

en la hierba buena de 20,78 g/100 g, el valor alto es debido al proceso de secado por liofilización, también en el romero encontró 7,77 (g/100g) de proteínas presentes, y en tomillo fue de 12,97 (g/100g) proteínas. La planta de la vida muestra valores bajos en comparación con las investigaciones realizadas por Flores et al. (2022).

Fukalova et al. (2022) determinó proteínas en las hojas del orégano de la zona de Pichincha Tumbaco fue  $18,61 \pm 0,12$  y de la zona Imbabura Italqui fue de  $19,58 \pm 0,36$  demostrando diferencia estadística significativa en las dos zonas debido a factores edafológicos, asimismo en *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida) se puede observar que existe diferencia estadística entre sus resultados en las zonas de Manantay, Yarinacocha y Campo Verde en su contenido de proteínas.

Flores et al. (2022) analizó en la hierba buena el contenido de proteínas de 20,78 (g/100g), en menta, proteínas 12,88 (g/100g), en romero Proteínas 7,77 (g/100g), en malva rosa proteínas 9,80 (g/100g), en tomillo proteínas 12,97 (g/100g), siendo valores altos en comparación con las hojas de *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida). Asimismo, Ventura 2019 determinó proteínas en flores de *Tropaeolum majus* L. con 15,92% de proteínas, sin embargo, en comparación con las investigaciones realizadas por otros autores se puede ver que las hojas de *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida) son bajo debido al secado en estufa.

El contenido de aceites y grasas presente en las hojas de *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida) fue de  $0,05 \pm 0,00$  en la zona 2 fue más alto que la zona 2 con  $0,03 \pm 0,00$  y que la zona 1 con  $0,02 \pm 0,00$ , presentando valores bajos Según Flores et al. (2022) analizó grasas en hierba buena y encontró grasas 4,43 (g/100g), en menta grasas 5,10 (g/100g, en romero grasas 8,12 (g/100g, en malvarosa grasas 4,21 (g/100g). Ventura (2019) grasa (2,58%), en flores del *Tropaeolum majus* L.

En el contenido de carbohidratos en *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida) fue mayor en carbohidratos con  $4,49 \pm 0,011$  en la zona 3 y en la zona 1 fue de  $3,99 \pm 0,01$  de carbohidratos presentes y en la zona 1 fue el valor más bajo con  $3,69 \pm 0,01$  de carbohidratos presentes. Ventura (2019) realizó análisis de carbohidratos (35,41%); en las flores de *Tropaeolum majus* L. siendo alta en comparación con las hojas de *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida), Según Fukalova et al. (2022) analizó carbohidratos en hojas de orégano de la zona de Pichincha Tumbaco encontró  $54,28 \pm 0,33$  y en la zona de Imbabura Italqui encontró  $50,49 \pm 0,19$  de carbohidratos. Flores et al. (2022) realizó los análisis en carbohidratos en Hierba Buena y encontró

47,08 (g/100g) en carbohidratos, en la menta encontró 59,02 (g/100g) de carbohidratos, en romero encontró 62,48 (g/100g) de carbohidratos, malvarrosa 72,27 (g/100g), tomillo tiene 66,92 (g/100g) de carbohidratos. Ventura (2019), encontró carbohidratos (35,41%); en las flores de flores de *Tropaeolum majus* L. si hacemos una comparación de las investigaciones realizadas en cuanto a carbohidratos la planta de la vida presenta valores muy bajo.

En análisis de cenizas totales en las hojas de *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida) fue de  $0,10 \pm 0,00$  en las zonas 2 y zona 3, sin embargo, en la zona 1 presente  $0,09 \pm 0,00$  de cenizas totales. Sin embargo, Ventura (2019) encontró en flores *Tropaeolum majus* L. (9,66%) de cenizas totales, también Flores et al. (2022) encontró en la Hierba Buena Cenizas 7,91 (g/100g), en menta Cenizas 8,30 (g/100g), en romero se encontró 5,92(g/100g) de cenizas, malvarrosa tiene 6,27 (g/100g) de cenizas, tomillo encontró 7,91 (g/100g) de cenizas totales.

Lara et al. (2020) realizó la determinación de cenizas totales en 20 plantas medicinales siendo el más bajo en *Maytenus laevis* «chuchuhuasi» tiene 3,5319 % de cenizas totales y la planta medicinal *Eupatorium triplinerve* «asmachilca» de 22,027% de cenizas totales, según la OMS el límite máximo permitido es de 14 % de cenizas totales, que quiere decir que hay presencia de metales, sustancias inorgánicas, etc. En las hojas de *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida) se encontró valores bajos en cenizas totales, estos resultados nos indican que no afectaría la calidad de las hojas de *Synadenium grantii* Hook.

## **5.2. Capacidad antioxidantes, fenólicos, flavonoides y antocianinas totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Planta de la vida)**

En la Tabla 2, se detallan la descripción y resultados de la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico a una concentración de 100mg/mL de *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida) de las zonas de: Manantay como Zona 1, Yarinacocha como Zona 2 y Campo Verde como Zona 3. Para la determinación de la capacidad antioxidante del extracto de *Synadenium grantii* Hook, se realizaron los análisis de sus propiedades funcionales respecto a la capacidad antioxidante por el método DPPH<sup>+</sup> y ABTS<sup>o+</sup> y la cuantificación de fenoles totales, antocianinas y flavonoides totales.

### 5.2.1. Cuantificación de la capacidad antioxidante por el método DPPH<sup>o+</sup>

Sobre los extractos hidroalcohólicos de *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida), se determinó que en la zona 3 de Campo verde se obtuvo la mayor capacidad antioxidante, seguido de la zona 2 de Yarinacocha y último la zona 1 de Manantay.

**Tabla 2.** Resultados de la capacidad antioxidante mediante el método del DPPH<sup>o+</sup> en el extracto hidroalcohólico de *Synadenium grantii* Hook de tres zonas geográficas.

Zonas	mM TEAC/100 g
Manantay	4,34±0,03
Yarinacocha	11,85±0,06
Campo verde	12,10±0,09

### 5.2.2. Resultados de la cuantificación de la capacidad antioxidante por el método ABTS<sup>o+</sup>

Sobre los extracto hidroalcohólicos de *Synadenium grantii* Hook (Planta de la vida), se realizó la evaluación de la capacidad antioxidante mediante el método del ABTS<sup>o+</sup> como se muestra en la tabla 3 los resultados siguientes.

**Tabla 3.** Resultados de la capacidad antioxidante (ABTS<sup>o+</sup>) en el extracto hidroalcohólico de *Synadenium grantii* Hook de tres zonas geográficas.

Zonas	mM TEAC/100 g
Manantay	11,51 ± 0,29
Yarinacocha	16,00 ± 0,16
Campo Verde	16,92 ± 0,19

### 5.2.3. Contenido de fenoles totales mediante el método Folin Ciocalteu

En la tabla 4 se detallan los resultados de fenoles totales, donde se observó que en la zona 2 de Yarinacocha se obtuvo mayor valor de fenoles (1,89 mg. EAG/100 mL),

seguido de la zona 3 de Campo Verde (1,75 mg. EAG/100 mL) y último lugar la zona 1 de Manatay con 1,31 mg. EAG/100 mL (Figura 4).

**Tabla 4.** Resultados de fenoles totales en el extracto hidroalcoholico de *Synadenium grantii* Hook de las tres zonas geográficas

ZONAS	mg. EAG/100 mg
Manantay	1,31 ± 0,01
Yarinacocha	1,89 ± 0,02
Campo Verde	1,75 ± 0,01

La concentración del extracto del látex de *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida), se cuantificó los fenoles totales en solvente hidroalcohólico de las zonas de Manantay (Zona 1), Yarinacocha (Zona 2), y Campo Verde (Zona 3), como se muestra en el Cuadro de resultados siguientes.

#### 5.2.4. Contenido de flavonoides totales

En la tabla 5 se detallan los resultados de flavonoides totales en términos de concentración del extracto de 100 mg/mL, en solvente hidroalcohólico, como se muestra en la tabla de los resultados siguientes.

**Tabla 5.** Contenido de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico de *Synadenium grantii* Hook de tres zonas geográficas.

Zonas	gramos EC/100 mL muestra seca
Manantay	0,28±0,01
Yarinacocha	0,25±0,02
Campo Verde	0,34±0,01

\*expresados en gramos de catequina equivalente.

Se puede observar que en la zona 3 se obtuvo mayor cantidad de flavonoides (0,34 gramos EC/100 g muestra seca), seguido de la zona 1 de Manantay (0,28 gramos EC/100 g muestra seca) y en último lugar de la zona 2 de Yarinacocha (0,25 gramos EC/100 g muestra seca).

### 5.2.5. Contenido de antocianinas totales

A continuación, se detallan los resultados de antocianinas totales (Tabla 6), asimismo se determinó que en la zona 3 de campo verde se obtuvo único valor de 0,08 mg cianidina-3-glucósido/100 mL, mientras que en las zonas 1 y 2 no se detectaron valores, esto nos indicaron que en estas dos últimas zonas no existe antocianinas en las muestras analizadas.

**Tabla 6.** Resultados de la determinación de antocianinas totales en el extracto hidroalcohólico de *Synadenium grantii* Hook (Planta de la vida) de tres zonas geográficas

ZONAS	mg cianidina-3-glucósido/100mL muestra seca
Manantay	ND
Yarinacocha	ND
Campo Verde	0,08±0,01

La actividad antioxidante determinado mediante el método del DPPH<sup>o+</sup> de la zona 3 fue de 12,10±0,09 Mm TEAC/100g siendo la más alta y la zona 1 fue de 4,34±0,03 mM TEAC/100g. Asimismo se evaluó la actividad antioxidante mediante el método ABTS<sup>o</sup> siendo la más alta la zona 3 con 16,92±0,19, en comparación con la zona 1 que es el resultado más bajo con 11,51±0,29 y la zona 2 con 16,00±0,16.

Cabrera (2022) determinó en su investigación la planta shilpalpal (*Valeriana tomentosa Kunth*) en extracto acuoso y extracto hidroalcohólico evaluó la actividad antioxidante el mayor contenido en antioxidante fue el extracto alcohólico de 71,74 % y en el extracto acuoso fue de 35,55 %, obteniendo como resultado que se recomienda al Shilpalpal presenta un alto contenido de antioxidantes y fenoles.

De acuerdo con Orbezo (2018) y Gerónimo (2014), en la investigación realizada a la Valeriana con un 45,70 % de capacidad antioxidante. Aliaga (2019), menciona en la investigación realizada en el Saucó presentó una actividad antioxidante del 50,06 %, sin embargo,

en extractos hidroalcohólicos presentó 71,74 % comparado con la planta de Shilpalpal tiene un alto porcentaje de actividad antioxidante con mayor concentración en el extracto hidroalcohólico que el extracto acuoso, comparando los valores que presentó las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Planta de la vida) es bajo respecto a la actividad antioxidante.

Ordoñez et al. (2020) investigó la actividad antioxidante en muestras frescas y comerciales de infusiones que se consume en la sociedad y que permiten aliviar dolores, inflamaciones, etc., evaluaron la capacidad antioxidante (DPPH y ABTS<sup>o+</sup>) y los fenoles totales en las infusiones de plantas medicinales; de uso comercial siendo doce muestras, frescas siendo trece muestras y secas siendo catorce muestras, y se obtuvo como resultado polifenoles totales en uso comercial con mayor contenido en infusiones del té de limón con  $5,43 \pm 0,04$  mM TE y con menor cantidad de polifenoles en *C. citratus* con  $0,03 \pm 0,00$  mM TE, en las muestras frescas con una mayor cantidad de infusión *U. tomentosa* con  $9,25 \pm 0,10$  mM ET y con menor cantidad fue *E. coca* con  $0,01$  mM ET y en muestras secas el mayor contenido fue *C. sinensis* té verde con  $21.17 \pm 0.04$  mM ET, asimismo Ordoñez et al. (2020), encontró mayor contenido de la capacidad antioxidante por el método del ABTS<sup>o</sup> en la infusión comercial y seca de *bixa orellana*.

Hernández-Moreno et al. (2022) menciona que las plantas medicinales son fuentes de principios activos como los antioxidantes, que ayudan a aliviar dolencias, infecciones urinarias y esto es debido a la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides, esteroles y terpenos, estos cumplen con protegernos ante la presencia de alguna enfermedad, ya que son mecanismo de defensa, estas plantas y en algunas plantas medicinales no se conoce su potencial antioxidante, ni sus compuestos fenólicos, se evidencia según el método aplicado con DPPH con *Sedum praealtum*  $82,57 \pm 0,00$  y el valor más bajo con DPPH *Equisetum bogotense*  $46,41 \pm 0,03$  comparado con las hojas de la planta de la vida se puede decir que es muy bajo el contenido de radicales de secuestro.

Cervantes-Serra et al. (2019) estudiaron la infusión de hojas de batata, investigaron la evaluación antioxidante del té de hoja de papa morada (*Ipomoea batatas* L.) y evaluaron métodos de eliminación de radicales libres como DPPH<sup>o</sup> y ABTS<sup>o</sup> y obtuvieron resultados de 25,16 y capacidad antioxidante dulce. el té de patata y el té verde fueron 25,63 ( $\mu$ mol Trolox/g), respectivamente. La capacidad antioxidante del té de hojas de batata fue similar a la del té verde, y las tasas de inhibición de los radicales libres DPPH fueron del 68% y el 69%. Asimismo, Cervantes-Serra et al. (2019) citan un estudio de 34 cafés comerciales, tanto puros como

mezclados, de Panamá y encontraron que la actividad antioxidante de las mezclas (16) oscilaba entre 0,025 y 0,060 mmol equivalente de Trolox (TE)/g (25 a 60  $\mu\text{mol}$ ) de Trolox. /gramo). Al igual que DPPH, entre siete plantas medicinales de Lamiaceae, incluidas orégano, menta, tomillo, salvia, romero, etc., DPPH<sup>o</sup> obtuvo una actividad antioxidante que osciló entre 6,05 y 9,92  $\mu\text{mol}$  Trolox/g, estos resultados nos llevaron a concluir que el púrpura. El té de camote tiene una fuerza antioxidante significativa similar al té verde. Según Vidal et al. (2021) sugirieron que ABTS<sup>o</sup> es un sustrato de peroxidasa que genera el catión radical ABTS<sup>o</sup> cuando la peroxidasa se oxida en presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. En solución, este radical tiene un color verde intenso y puede observarse espectrofotométricamente en el rango de longitud de onda de 600 a 750 nm. Cuando el catión ABTS reacciona con un antioxidante, es neutralizado por un antioxidante que atrapa electrones. La neutralización de radicales libres por ABTS<sup>o</sup> en solución se puede detectar mediante un cambio gradual de color a verde oscuro. Por otro lado, el radical DPPH<sup>o</sup> tiene la propiedad de presentar en su estructura electrones desapareados, que en solución aparecen de color púrpura. Los estudios de actividad antioxidante del extracto metanólico de corteza de árbol amargo mostraron que la capacidad de neutralizar los radicales libres ABTS y DPPH era débil, y la concentración neutralizante de radicales libres del 50% fue de 0,525 mg/ml y 0,506 mg/ml de ABTS y DPPH, respectivamente. DPPH. Según Gastaldi (2019), en su estudio sobre fenólicos y compuestos volátiles de plantas medicinales y aromáticas analizaron los perfiles de compuestos volátiles y también buscó algunos metabolitos secundarios específicos. Bacilo sp. d. Las actividades antioxidantes de Andina y *S. chilensis* fueron excelentes. Identificaron veintiocho compuestos fenólicos y describiendo los perfiles de sus compuestos aromáticos volátiles. Estos estudios contribuyen a nuestra comprensión de los conocimientos ancestrales de los pueblos primitivos y nos dan valor en la gran diversidad de plantas medicinales como plantas vivas.

Trevizan et al. (2020) en su trabajo de investigación en nueve plantas medicinales con potencial comercial uso la transferencia de átomos de hidrogeno que son radicales libres presentes en nuestro organismo a causa de un estrés oxidativo, en la evaluación mediante el método del ABTS estuvieron entre 4,80 a 185,85  $\mu\text{mol TE/g}$  se encuentran en los límites de las plantas chinas, siendo la planta *Parastrephia lucida* aplicando el método de ABTS fue el más alto con  $185,85 \pm 2,44 \mu\text{mol TEAC/g}$  y la planta con el contenido más bajo fue *Dunalia spinosa* con  $4,80 \pm 0,05 \mu\text{mol TEAC/g}$ .

En un trabajo de investigación Novillo (2019) evaluó la actividad antioxidante de extractos hidroalcohólicos (EHA) de hojas de *Psidium guajava* L de diferentes regiones geográficas del Ecuador, utilizando extractos hidroalcohólicos macerados en una mezcla de etanol al 96% durante tres días. % de agua (50:50, V/V), resultó ser más eficaz para extraer compuestos de interés en comparación con las hojas de plantas vivas. A los resultados obtenidos se les realizaron extracciones hidroalcohólicas y se incubaron en etanol 50% 70% durante 24 horas.

Ruiz (2019) en su estudio sobre la cáscara de *Mauritia flexuosa* (Aguaje), determinó la actividad antioxidante por radicales DPPH ( $5,92 \pm 0,10$  mM trolox en extractos acuosos y  $6,95 \pm 0,58$  mM trolox en extractos hidroalcohólicos), también evaluaron por captación de radicales libres ( $2458,4$  mM trolox alcohólico  $\pm 5,4$  mM trolox  $\pm 5,4$  mM para hidratos  $\pm 5,4$  mM trolox  $\pm 5$  mM hidroal trolox),  $48$  mM trolox), según Figueroa et al. (2011) evaluaron la actividad antioxidante de las antocianinas mediante ABTS° y DPPH° en un estudio realizado en cáscara de pitaya, y hubo correlación entre el contenido fenólico total y la actividad antioxidante.

Entre los resultados obtenidos para cuantificar el contenido fenólico total del látex de plantas vivas, la zona 2 es la más alta en comparación con las demás zonas, con un resultado de  $1,89 \pm 0,02$  mg AGE/100 g.  $1,31 \pm 0,01$  mg AGE/100 g en la región 2 y extracto hidroalcohólico, y en la región 1 hubo una diferencia estadísticamente significativa entre el contenido fenólico medio a nivel regional geográfico con un 95% de confianza, con p-significativo. El valor de la diferencia es 0,00. Asimismo, Garrido et al. (2013) en un estudio cuantitativo de fenólicos totales encontraron mayores concentraciones en extractos macerados en metanol durante varios días, resultando  $5807,94 \pm 340,04$  mg/100 g de muestra seca, y agua extraída para alcohol en el caso de la vida. plantas, los resultados obtenidos en la zona 2 fueron de  $1,89 \pm 0,02$  mg AGE/100 g.

Rojas et al. (2019) en su estudio de extractos hidroalcohólicos de las tres hojas de matico, piñón blanco y chiric sanango, mostraron altos resultados en comparación con el látex de la planta de la vida con valores de 202,69; 171,42 y 183.09 mg EAG/100 ml extracto, respectivamente. En un trabajo de investigación de Novillo (2019), evaluaron la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico (EHA) de hojas de *Psidium guajava* L de diferentes regiones geográficas del Ecuador, utilizando el extracto hidroalcohólico macerado en una mezcla de etanol al 96% durante tres días. %-Agua (50:50, V/V) cuantificó los fenoles totales, uno de los cuales tuvo un mayor contenido fenólico total de  $6,44 \pm 0,12$  mg GAE/g EHA.

Cabrera (2022) menciona que el sauco tiene un alto porcentaje de fenoles totales igual que la shilpalpal y estuvieron macerados en alcohol y agua quien presento mayor contenido de fenoles fue el extracto alcohólico en el caso de la planta de la vida se realizó en extracto alcohólico es importante mencionar que la solución a utilizar según Cabrera (2022), es extraído sus componentes en altos porcentajes en soluciones alcohólicas.

Cabrera (2022), utilizando varias técnicas de extracción de los componentes activos como son los fenoles en la planta de Shilpalpal, que la cuantificación de fenoles totales fue de 324,92 mg GAE/g en extracto hidroalcohólico comparado con la planta de la vida esta muestra tiene un bajo contenido de fenoles totales, pero también podemos afirmar que se deben hacer estudios en diferentes soluciones de extracción.

Comparando los resultados en la zona 3 de campo verde, sobre el contenido de antocianinas-3-3 glucósido nuestros valores fueron menores ( $0,08 \pm 0,01$  mg/100 g) con los obtenidos por Ruiz et al. (2018). En la cuantificación de antocianinas de *Prunus serotina subsp.* frutos de determinó un valor de antocianinas de 10,71 mg de antocianina 3-glucósido/g. Los valores de concentración de antocianinas dependen de diversos factores como: condiciones climáticas, diferencias de suelo, época de cosecha, fase lunar, estado de madurez, cantidad de luz, etc., que pueden cambiar los valores de calidad y rendimiento de las plantas.

Oliveira et al. (2019) en un estudio sobre el análisis de antocianinas y carotenoides en marapuam liofilizado (*Ptychopetalum olacoides*) mencionaron que las antocianinas más altas obtenidas contenían un contenido total de antocianinas monoméricas de 0,107 mg/100 g.

Cavero (2020), cuantificó antocianinas totales en los frutos de *Myrcianthe* cambiado (lanche) obteniendo un valor de  $72,251 \pm 0,410$  mg ECG/100 g siendo significativo para influir en su potencial antioxidante.

Regino y Rengifo (2022), evaluaron el método de extracción de compuestos fenólicos y antocianinas en el estudio del fruto de corozo (*Bactris guineensis*), el cual fue descrito como una sustancia beneficiosa para la salud, pero su estabilidad limita su uso en diferentes tipos de alimentos. La atención de la salud humana es un problema del mundo actual; debido a la oxidación causada por los radicales libres en nuestro cuerpo, es la causa de muchas enfermedades como el cáncer, por eso se han realizado investigaciones sobre plantas medicinales donde los compuestos fenólicos, las antocianinas de interés, estos compuestos se encargan de reducir, reducir

y detener la inflamación. el origen de estas células malignas proviene de enfermedades coronarias, cáncer, diabetes, cardiovasculares, oncológicas, gástricas, respiratorias, nerviosas y endocrinas. Además, las antocianinas son utilizados como colorantes naturales en la industria y también para sustituir a los colorantes artificiales nocivos.

La especie con mayor contenido de flavonoides totales fue la del municipio de Ibarra (provincia de Imbabura) con  $(1,809 \pm 0,015 \text{ mg QE/g EHA})$ . Finalmente, la 2,2-difenil-1-trinitrato-fenilhidrazina (DPPH°) tomando como referencia el hidroxitolueno butilado. estándar. Esta prueba determinó que el EHA extraído de las hojas de guayaba tenía una alta capacidad para eliminar los radicales libres, incluso superior al estándar; la muestra de Quininder City tuvo el mayor porcentaje de inhibición (96,73%) contra el radical libre DPPH con una CI50 de 0,87 ppm.

Rojas (2019) obtuvieron altos resultados en extractos hidroalcohólicos, por ejemplo, en términos de actividad antioxidante, la concentración de fenoles en extractos de hojas de Matico, Piñón Blanco y Chiric Sanango dirigidos a los radicales libres 1'1 di Fenil-2-trinitrofenilhidrazina (DPPH°) alcanzó concentraciones; 1,156 y 1,422 mM TEAC/100 mL, mientras que respecto al radical libre 2,2' azidobis-3-etilbenzotiazol 2,256 para el ácido fenol-6-sulfónico (ABTS°); 1980; TE125 m2 M2. 100 ml de extracto para los extractos de Matico, Piñón Blanco y Chiric Sanango respectivamente, destacando que estos valores corresponden a los valores más altos para los extractos a 40°C. Las correlaciones entre los polifenoles totales y la actividad antioxidante indicaron una fuerte correlación entre los radicales libres DPPH° y las variables ABTS°. Con base en estudios realizados con diferentes métodos químicos.

De los resultados podemos indicar que existe una correlación entre la actividad antioxidante del método ABTS°, el contenido de fenólicos y antocianinas totales, sobre el DPPH°, existen una correlación entre los flavonoides fenólicos y el contenido de antocianinas, ambos están relacionados con la determinación de la actividad antioxidante en las hojas de *Synadenium grantii* Hook de diferentes zonas geográficas. Vargas y Vargas et al. (2018) mencionaron en su estudio sobre los flavonoides, que son flavonoides, flavanonas, catequinas y antocianinas que se encuentran en plantas medicinales como *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida).

Martínez et al. (2002) mencionaron que la estructura química de los flavonoides no es homogénea, lo que determina la actividad de los flavonoides, obteniendo un extracto hidroalcohólico con un contenido de catequinas de  $2,71 \pm 0,08 \text{ mg/100 mL}$  y  $3,43 \pm 0,04$

mg de catequina 100 mL/L. También Valenzuela et. al. (2014) menciona que existe relación de los fenoles totales y los flavonoides y la actividad antioxidante, ya que en la evaluación del extracto hidroalcohólico de la planta de la vida se evaluó antocianinas cuyo resultado no se detectó en la Zona 1 y 2 sin embargo en la Zona 3 se detectó  $0,08 \pm 0,01$  cuya influencia es el lugar, también Ruiz (2019) en la investigación realizada para determinar antocianinas en extracto hidroalcohólico en las cáscara de aguaje fueron de  $2,59 \pm 0,64$  mg/L de cianidina 3 - glucosido, al 95 % existe diferencia estadísticamente significativa a un p-valor de 0,0020.

Sánchez et. al. (2019) en su investigación sobre la composición fenólica y actividad antioxidante en las hojas de *Psidium friedrichsthalianum* (O. Berg) Nied mostraron mejores resultados en extractos metanólicos con mayores compuestos fenólicos y flavonoides, sin embargo, en la planta de la vida la solución utilizada fue en extractos hidroalcohólico.

### 5.3. Determinación del efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico sobre la levadura (*Sacharomyces cereviceae*) y bacterias seleccionadas (cepas de yogurt).

Se determinó el efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico sobre la levadura *Sacharomyces cereviceae*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacilius vulgaricos*, mediante el método barrenador estéril en solvente hidroalcohólico a 100 mg/mL de las zonas de Manantay (Zona 1), Yarinacocha (Zona 2), y Campo Verde (Zona 3), como se muestra en las tablas de resultados siguientes:

#### 5.3.1. Resultados del método barrenador estéril del extracto de la planta de la vida

En la Tabla 7 se muestra los resultados sobre el crecimiento de los microorganismos como la *Sacharomyces cerevisae*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacilius vulgaricos* con un halo determinado en milímetros mediante el método del barrenador estéril.

**Tabla 7.** Resultados del barrenador estéril de tres zonas geográficas

Bacterias	Zonas	Actividad inhibitoria en mm		
		c1	c2	c3
<i>Sacharomyces cerevisae</i>	Manantay	14,9	17,3	18,7
	Yarinacocha	4,9	6,3	8,3
	Campo Verde	6,0	0,0	0,0

<i>Streptococcus thermophilus</i>	Manantay	0,0	0,0	0,0
	Yarinacocha	0,0	0,0	0,0
	Campo Verde	0,0	0,0	0,0
<i>Lactobacilius vulgaricos</i>	Manantay	22,8	20,7	23,3
	Yarinacocha	19,7	23,7	14,3
	Campo Verde	25,4	26,0	21,7

Zona 1: Manantay, Zona 2: Yarinacocha, Zona 3: Campo Verde,

C1: 125mg/L, C2: 500mg/l, C3: 1500mg/L.

Se determinó el efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico sobre la levadura *Sacharomyces cereviceae*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacilius vulgaricos*, mediante el método 2 disco estéril en solvente hidroalcohólico a 100 mg/mL de las zonas de Manantay (Zona 1), Yarinacocha (Zona 2) y Campo Verde (Zona 3).

### 5.3.2. Resultados del método 2 discos estériles

A continuación, se muestra la Tabla 8 con el crecimiento de los microorganismos como la *Sacharomyces cerevisae*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacilius vulgaricos* con un halo determinado en milímetros mediante el método de dos discos estériles.

**Tabla 8.** Resultados del método de dos discos estériles de tres zonas geográficas

Bacterias	Zonas	Actividad inhibitoria en mm		
		c1	c2	c3
<i>Sacharomyces cerevisae</i>	Manantay	0,0	6,5	8,2
	Yarinacocha	6,0	7,5	10,7
	Campo Verde	0,0	5,3	9,7
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Manantay	0,0	0,0	8,3
	Yarinacocha	0,0	0,0	9,7
	Campo Verde	0,0	5,3	8,5
<i>Lactobacilius vulgaricos</i>	Manantay	9,5	11,7	14,7
	Yarinacocha	10,2	11,7	14,7
	Campo Verde	6,0	9,7	12,5

Zona 1: Manantay, Zona 2: Yarinacocha, Zona 3: Campo Verde,

C1: 125mg/L, C2: 500mg/L, C3: 1500 mg/L.

Como resultado del método del barrenador estéril sobre las tres zonas geográficas, se pudo obtener que la zona 1 de Manantay tuvo mayor actividad inhibitoria en la bacteria *Sacharomyces cereviceae* creciendo con un diámetro de 18,7mm quien tuvo 1500 mg/L, siendo la zona Manantay mayor que la Zona de campo verde frente a esta bacteria. Los resultados obtenidos con la bacteria *Streptococcus thermophilus* se puede observar que no existe actividad inhibitoria siendo cero. Respecto a la bacteria *Lactobacillus vulgaricos* en la zona 2 de Yarinacocha se obtuvo del valor más bajo con 14,3 mm de inhibición. Los resultados obtenidos con la bacteria *Lactobacillus vulgaricos* la actividad inhibitoria más alta fue la zona 3 de campo verde con 26 mm de la actividad inhibitoria y la zona más baja fue la zona 2 de Yarinacocha. El resultado obtenido con mayor actividad inhibitoria fue con la bacteria del *Lactobacillus vulgaricos* con 26 mm de actividad inhibitoria y la más baja de 14,3 mm siendo de la zona 2 Yarinacocha a una concentración de 1500 mg/L.

Como resultado del efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico sobre las levaduras *Sacharomyces cereviceae*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacilius vulgaricos* mediante el método dos discos esteriles. Se pudo obtener frente a las levaduras *Sacharomyces cereviceae*, que los valores más altos fueron en la zona 2 de Yarinacocha con 6, 7.5 y 10,7mm de actividad inhibitoria en concentraciones de 125, 500 y 1500 mg/L respectivamente. En la bacteria *Streptococcus thermophilus* la zona que presentó mayor actividad inhibitoria a concentración de 1500 mg/L fue la zona 2 de Yarinacocha con una actividad inhibitoria de 9,7mm, siendo la más baja la zona 1 de Manantay. En la bacteria *Lactobacilius vulgaricos* siendo la zona 1 de Manantay y la zona2 de Yarinacocha fueron los que obtuvieron la mayor actividad inhibitoria con 14,7 mm y la actividad inhibitoria más baja fue de 6,0 mm en la zona 3 de campo verde a una concentración de 125mg/L, de los resultados se pudo observar una relación que a mayor concentración de extracto hidroalcohólico existe mayor actividad inhibitoria, al respecto en la Tabla 8 a la concentración de 1500 mg/L se pudo obtener 14,7 mm de actividad inhibitoria y eso fue en la zona 2 de Yarinacocha, mientras que la menor actividad inhibitoria obtenida fue de 6,0 mm a una concentración de 125mg/L de la zona 3 de campo verde.

Finalmente podemos realizar las comparaciones con respecto a la concentración es proporcional al crecimiento inhibitorio en *sacharomyces cereviceae* y *Lactobacillus vulgaricus*

sin embargo con bacterias como el *Streptococcus thermophilus* a bajas concentraciones no presenta crecimiento en la actividad inhibitoria, sin embargo, en las diferentes zonas a concentraciones de 1500 mg/L es mayor con 14.7 mm y el más bajo es de 8,2 mm de actividad inhibitoria.

Orozco et al. (2017) en su estudio sobre el efecto de antibióticos y antisépticos sobre el control de bacterias lácticas, lo realizaron en dos tipos de fermentaciones in vitro, donde cuantificaron la producción de ácido láctico (LA), la población de levaduras y la viabilidad: En un segundo paso determinaron el crecimiento de LAB. En el primer experimento, los tratamientos que controlaron los niveles de LA en las plantas fueron virginiamicina (VIR) 15 ppm, maduramicina (MAD) 15 ppm, penicilina (PEN) 30 ppm y lúpulo (LUP) (30 ppm). Además, el tratamiento con PEN, VIR, mezcla de estreptomicina-penicilina-virginiamicina-monensina (EPVM) a 30 ppm y LUP a 15 ppm no afectó a la levadura en las condiciones evaluadas. En la segunda prueba, obtuvieron que en todos los tratamientos controlaron exitosamente BAL y la planta A mostró un mejor control en 24 h después del tratamiento. En la planta B, MAD, monensina (MON), estreptomicina-penicilina-virginiamicina (EPV) y EPVM controlaron el crecimiento de BAL en las primeras 6 h, mientras que LUP controló el crecimiento de BAL en la cantidad de 24 h. En la Planta C, LUP, MON y EPV controlaron con éxito todas las concentraciones de LAB, en su mayoría dentro de las 24 h. Por lo tanto, se concluyó que VIR en el molino A, EPVM en los molinos B y C, y LUP antimicrobiano en tres molinos fueron efectivos para controlar BAL.

## VI. CONCLUSIONES

- De la composición química proximal de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de la planta de la vida (*S. grantii* Hook) se determinó que la zona de Yarinacocha tuvo mayor cantidad de humedad, proteínas y grasa.
- Se determinó que los extractos hidroalcohólicos de las hojas de la planta de la vida de la zona de campo verde tuvieron mayor capacidad antioxidante por los métodos de DPPH y ABTS, con valores de 12,10 y 16,92 mM TEAC/100 g.
- La zona que tuvo mayor cantidad de fenólicos totales fue Yarinacocha con valor de 1.89 mg. EAG/100 mg y la zona de campo verde fue la que tuvo mayor cantidad de flavonoides y antocianinas totales con valores de 0.34 mg. EAG/100 mg y 0.08 mg cianidina-3-glucósido/100mL muestra seca.
- La zona que tuvo mayor actividad inhibitoria respecto a la bacteria *Sacharomyces cerevisae* y *Lactobacilius vulgaricos* evaluadas mediante el método barrenador estéril a una concentración de 1500mg/L sobre el extracto de la planta de la vida fue Manantay.
- Las zonas que tuvieron mayor actividad inhibitoria respecto a la bacteria *Lactobacilius vulgaricos* evaluadas mediante el método de dos discos estériles a una concentración de 1500mg/L sobre el extracto de la planta de la vida fueron campo verde y Yarinacocha.

## **VII. PROPUESTAS A FUTURO**

Se debe realizar estudios de screening, tamizaje e identificar los componentes bioactivos que se encuentran en *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida).

Se debe realizar los estudios *in vitro* y *in vivo* respecto a la actividad inhibitoria antimicrobiana de *Synadenium grantii* Hook (la planta de la vida)

## VIII. REFERENCIAS

- A.O.A.C. (1997). Official Methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International; Agricultural Chemicals, Foods, Contaminants and Drugs. V1 y V2 Arlington: A.O.A.C. Inc. 2658 p.
- Aguilera, C., Herrera, C., & Ponce, J. (2010). Implementación, validación y aplicación de un nuevo método para la determinación de oxitetraciclina por HPLC en tejido muscular de salmonideos. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 38(2): 227.233,
- Andrew, R., De Simone, F., Pizza, C., Conti, C., & Stein, M. (1989). Plants metabolites, structure and in vitro antiviral activity of quinovic acid glycosydes from *Uncaria tomentosa* and *Guetardaplaypoda*. *Journal of natural products*. 52: 679-685.
- Arellano P. (1992). “El Libro Verde” Ministerio de Salud Instituto Nacional de Medicina Tradicional, Lima 62 p.
- Arias, J., & Novillo, L. (2019). Evaluación de la actividad antioxidante, según la farmacogeografía, en extractos hidroalcohólicos obtenidos de las hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba). [Tesis titulación]. Universidad Central del Ecuador. Ecuador Quito 142 p.
- Badui, S. (2006). Química de los alimentos. Ed. Por E. Quintanilla .4 ed. México. 736p.
- Baron P. (2019). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Hemiphylacus novogalicianus*” [Grado de maestría] Universidad Autónoma del Estado de Morelos - México.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25–30.
- Cabieses E. (1995). “Las Plantas Medicinales y la Legislación en el Perú”, p-197- 208
- Cabrera, A., & Ana, B. (2009). Diseño de Exfoliantes Corporal con Propiedades Antioxidantes a Base de cascara de Semilla de *Theobroma cacao* Nacional. Tesis Ciencias y Tecnología Cosmética. Caracas. Universidad Central de Venezuela. 121 p.
- Campos, A., Barbosa D., Barbarini, L., Zermiani, T. Tasca, R., De Carvalho, E., Pandiella, A., & Cechinel, F. (2016). Efecto antiproliferativo de *Synadenium grantii* Hook f. tallos

- (Euphorbiaceae) y un éster raro de forbol diterpeno. *Revista Toxicol.* vol 35 (6): 666-671. Epub 2016 27 de julio. Doi 10.1177 / 1091581816659660
- Carrillo-Tomalá, C. & Díaz-Torres, R. (2019). Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de hojas de dos variedades de *Mangifera indica* L. *Revista Ciencia Unemi*, vol. 13, núm. 32, pp. 69-77, 2020. <https://www.redalyc.org/journal/5826/582661898007/html/>
- Cabrera, B. (2022). Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólico y acuoso del shilpalpal (*Valeriana tomentosa* Kunth) frente al ácido ascórbico mediante técnicas de laboratorio para su recomendación como uso medicinal. [Tesis pregrado]. Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca – Ecuador.
- Carrillo-Tomalá, C. & Díaz-Torres, R. (2020). Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de hojas de dos variedades de *Mangifera indica* L. *Revista Ciencia Unemi*, vol. 13, núm. 32, pp. 69-77, 2020
- Cavero, A. (2018). Efecto antimicrobiano. Por lo que concluye in vitro del látex de *Synadenium grantii*, frente a *Escherichia coli*, Sullana – 2018. [Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Universidad San Pedro Sullana.
- Cavero, M. (2021). Características farmacognósticas, cuantificación de antocianinas totales y capacidad antioxidante in vitro del fruto de *Myrcianthes discolor* (lanche). [tesis de maestría]. Universidad Nacional de Trujillo. La Libertad-Perú
- Cervantes-Sierra, R., Barragán-Condori, M., & Chaquilla-Quilca, G. (2019). Evaluación de antioxidantes en el té de hojas <http://biotecnia.unison.mx> de camote morado (*Ipomoea batatas* L.). *Tecnología en Marcha*. Vol. 32. Pag 51-59. <https://doi.org/10.18845/tm.v32i4.4790>.
- Cuéllar, C., & Hussein, Y. (2009). Evaluation of the yield and the antimicrobial activity of the essential oils from: *Eucalyptus globulus*, *Cymbopogon citratus* and *Rosmarinus officinalis* in Mbarara district (Uganda). *Revista Colombiana de Ciencia Animal* 1(2):240-249.
- Clavo, P. (2016). Bióloga con maestría en botánica – 2016).
- Daza, P. (2006). Estadística aplicada con Microsoft Excel. Ed. Megabyte S.A.C. Lima, Perú. p. 485 – 516.

- Din, M., Yang, H., & Xiao, S. (1999). Rapid, direct determination of polyphenols in tea by reversed-phase column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 849,637-640.
- Domingos De Souza, I. (2021). Determinação de macro, microelementos e avaliação de risco à saúde humana a partir do consumo de plantas medicinais: *bauhinia forficata*, *eleusine indica*, *synadenium grantii* e *orthosiphon stamineus*. Universidade federal de mato grosso do sul programa de pós-graduação em saúde e desenvolvimento na região centro-oeste. Campo grande/ms. Brasil.
- Do Nascimento F., Bruna Soares de Souza S., Rayssa Mychelle Sousa F., Pimenta C., & Natália Vallejo M. (2018). Evaluación del potencial citotóxico y mutagénico/genotóxico del látex del Lechero africano (*Synadenium grantii* Hook. f., Euphorbiaceae) *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. Vol. 9 N°1 Ananindeua Mar. 2018. <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232018000100008>.
- Gastaldi, B. (2018). Análisis de los compuestos fenólicos y volátiles de plantas medicinales y aromáticas del noroeste de la Patagonia Argentina, estudio de las actividades antioxidante y citotóxica. [Tesis doctoral]. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Argentina.
- Harrison, T. (1984). “Curso de Farmacognosia I”, Departamento de Farmacología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú 222 p.
- Hernández, C. (2019). Efectividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de paico (*Chenopodium ambrosioides*) frente a cepas de *porphyromonas gingivalis*. Estudio In Vitro. Universidad Central del Ecuador. Quito Ecuador.
- Hernández-Moreno, L., Rodrigo Salazar J., Pabón L., & Hernández- Rodríguez, P. (2022). Actividad antioxidante y cuantificación de fenoles y flavonoides de plantas colombianas empleadas en infecciones urinarias. *Revista U.D.C.A.* Vol 25(1):1690. <http://doi.org/10.31919/rudca.v25.n1.2022.1690>.
- Jiménez-Martínez, C., Ramos-López, D., & Urquiza-Yero, Y. (2019). Efecto antimicrobiano in vitro de la planta *Boldoa purpurascens* Cav. (nitro) en la fimbria de *Escherichia coli* in vitro antimicrobial effect of the plant *Boldoa purpurascens* Cav. (Nitro) in the fimbria of *Escherichia coli*. *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta* Vol. 44, N°1 ISSN 1029-3027 | RNPS 1824 enero-febrero.
- Jorde, C., Bamshad, W. (2007). *Genética Medica*. Tercera Edición – 2007.

- Kutikov, A., Weinberg, D., Edelman, M., Horwitz, E., Uzzo, R., & Fisher, R. (2020). A War on Two Fronts: Cancer Care in the Time of COVID-19. *Ann Intern Med.* 2;172(11):756-758. doi: 10.7326/M20-1133. DOI: 10.7326/M20-1133.
- León, P.E. (2020). Efectividad del látex del *Synadenium grantii* Hook en el tratamiento y curación de pacientes diagnosticados con cáncer, Ayacucho – 2019. [Tesis doctoral]. Universidad del Callao Lima.
- Lema A. (2018). Evaluación de la actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Melissa officinalis* (toronjil) en proteus spp. Universidad Regional Autónoma de los Andes Uniandes. Ambato - Ecuador
- Lock. O (1994). “Investigación Fitoquímica” segunda edición, Universidad Pontificia Católica del Perú, Lima 300 p.
- López B. (2008). Diseño y análisis de experimentos, fundamentos y aplicaciones en agronomía. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 176 p.
- Madrirdejos M. (2016). Efectos de las plantas medicinales en los pacientes afectados de insuficiencia cardíaca. Farmacéutica de Atención Primaria. Mutua Terrassa. Terrassa. Barcelona. España. FMC. 2016;23(7):420-9 Terapéutica en APS 420 FMC. 2016;23(7):420-9. doi:10.1016/j.fmc.2016.01.008.
- Melgar R. (2014). Capacidad anti *Candida albicans* de los extractos de hojas de *Synadenium grantii* Hook "lechero africano". Ayacucho, 2012. [Tesis de grado]. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho Perú. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2225>
- Miller, N. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science.* Vol. 84 (4): 407-412.
- Mompie, A., Pascual S., Cunha Nune, L. Lorente, C., & Cañete A. (2014). Evaluation of the antimicrobial activity of extracts from leaves and seeds of *Morinda citrifolia* L. (noni) *Revista Cubana de Plantas Medicinales versión On-line* ISSN 1028-47. *Rev Cubana Plant Med* vol.19 no.4 Ciudad de la Habana oct.-dic. 2014.
- Munayco P. (2011). Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal. [tesis de grado]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.

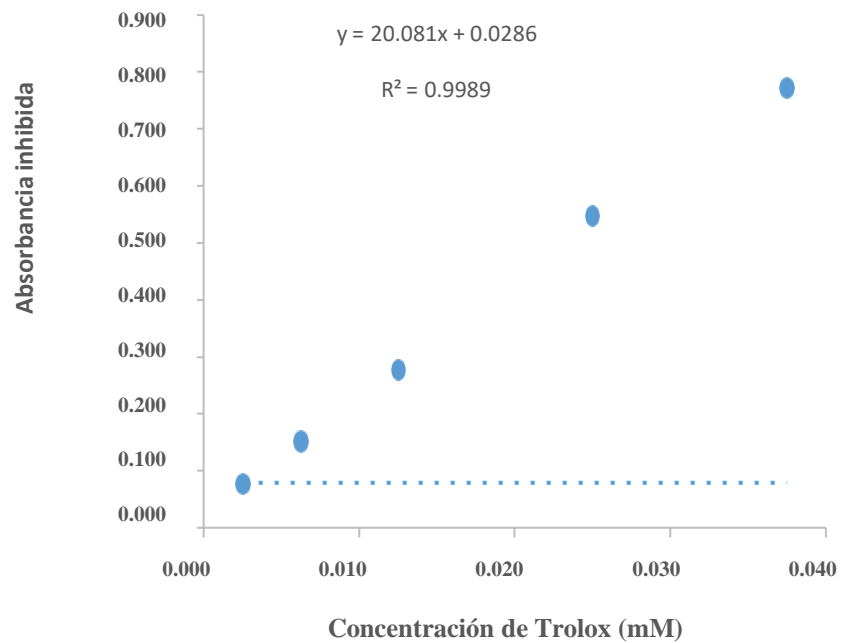
- Munhoz, A., Minozzo, B., Cruz, L., Thaís, L., Oliveira, T., Machado, W., Pereira, A., Fernandes, D., Manente, F., Velloso, J., Nepel, A., Barison, A., & Beltrame F. (2014). Chemical and Pharmacological Investigation of the Stem Bark of *Synadenium grantii*.
- Muñoz, R., Santome, S., & León, Q. (2020). Actividad antibacteriana de extractos hexánico y etanólico de macroalgas marinas de la Bahía de Ancón, Lima – Perú. Antibacterial activity of hexane and ethanolic extracts of marine macroalgae of the Bay of Ancón, Lima – Peru. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. versión impresa ISSN 1609-9117. Rev. investig. vet. Perú vol.31 no.2 Lima abr./jun 2020. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i2.17829>.
- Ordoñez, E., López, A., & Reategui, D. (2020). Infusiones de plantas medicinales: Actividad antioxidante y fenoles totales. Revista Agroindustrial Science. 10(3): 259-266. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/agroindscience>.
- Oré, E. (2014). Actividad antihelmíntica in vitro del extracto acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook "planta de la Vida". Ayacucho, 2013. [Tesis de grado]. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2227>
- Pérez, A., Rojas, J., Rodríguez, J., Doncel, A., Arrieta, I., Arrieta, J., & Chamorro, L. (2011). Evaluación de métodos para medir la actividad inhibitoria de extractos vegetales nativos del departamento de sucre sobre bacterias y levadura patógenas. Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA, 3(1), 90. doi:10.24188/recia.v3.n1.2011.329
- Perú – Minsa (1997), “Reglamento para el registro control vigilancia sanitaria de recursos farmacéuticos y a fines”, D.S N° 010-97-S.A. Ministerio de Perú Lima 36 p.
- Pergher, G., Schmalko, M., & De Battista, G. (2016). Parámetros fisicoquímicos e isotermas de absorción de hojas de especies silvestres de *Maytenus ilicifolia martius*. Universidad Nacional de Misiones Argentina. RECyT N°25/2016/20-27.
- Quintana De La Cruz, V., & Santamaría O. (2019). Efecto cicatrizante del látex *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) en ratones albinos (*Mus musculus*). <http://repositorio.uma.edu.pe/handle/UMA/215>

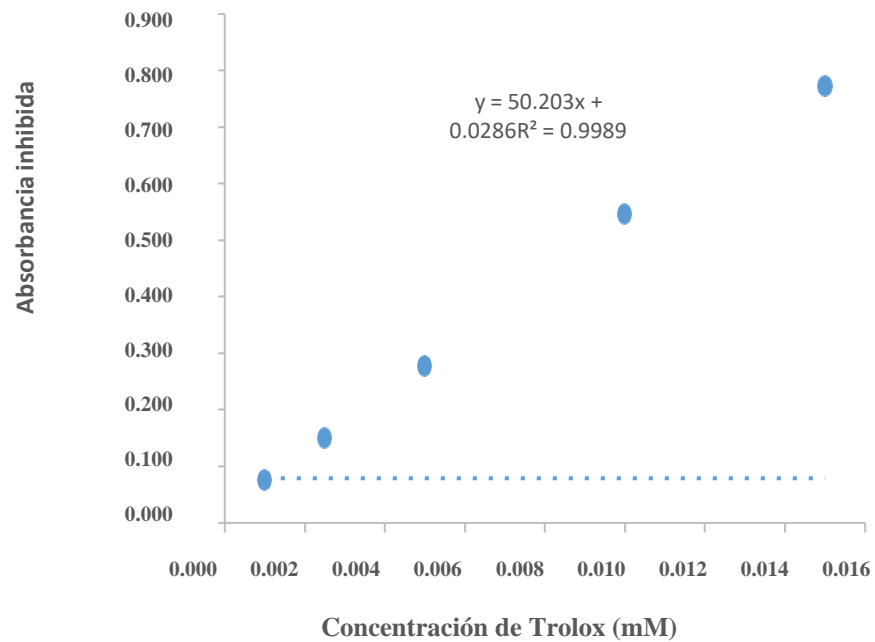
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice, C. (1999)., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* (26(9-10): 1231–1237.
- Regino, A. & Rengifo, E. (2021). Evaluación de los métodos de extracción de compuestos fenólicos (antocianinas) a partir del fruto del corozo (*Bactris guineensis*). [Tesis pregrado]. Fundación Universidad de América. Bogota Colombia.
- Renate, S. (2017). Mensajes de la selva tropical planta milagrosa - *Synadenium grantii*. La sabiduría de vivir y morir. 2017; 30 (02): 114-120. doi: 10.1055 / s-0037-1602717.
- Román, G., Reder, C. De Souza, C., Turola, B., Nottar E., & Zanoello, F., Corazza, M. (2020). Extraction of *Synadenium grantii* Hook f. using conventional solvents and supercritical CO<sub>2</sub>+ ethanol. *The Journal of Supercritical Fluids*, 160(), 104796–doi:10.1016/j.supflu.2020.104796.
- Rodríguez, C. (2020). Seguridad de la dosis del Latéx de *Synadenium Grantii* (Euphorbiaceae) en el tratamiento de lesiones gástricas inducidas a *rattus norvegicus* var. *Albinus*. [Tesis de pregrado]. Universidad Privada Antenor Orrego – Trujillo Perú.
- Rojas Ocampo, E., Torrejon-Valqui Ll., Muñoz, A., Medina-Mendoza, M., Mori-Mestanza, D., & Castro-Alayo, E. (2021). Antioxidant capacity, total phenolic content and phenolic compounds of pulp and bagasse of four Peruvian berries journal homepage: Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. Amazonas, Perú. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07787>
- Roque, R., Zambrano, O., Ruiz, M., Huacasi, B., Mendoza, G., & Puma, Q. (2020). Potencial antineoplásico e inmunológico del lechero africano (*Synadenium grantii* Hook) en pacientes con factores de riesgo a Covid 19. *Revista Veritas Et Scientia - UPT*, 9(2), 263 - 272. <https://doi.org/10.47796/ves.v9i2.401>
- Ruiz, S., & Venegas, E. (2018). Características farmacognósticas y cuantificación espectrofotométrica de antocianinas totales del fruto de *prunus serótina* subsp. *Capulí* (Cav.)Mc Vaugh (Rosaceae) “Capuli”. *Revista ArnaldoA VOL 25(3)*. Universidad Nacional de Trujillo. La Libertad - Perú.
- Siefert, H. (2017). Messages from the rainforest planta milagrosa – *Synadenium grantii* the wisdom of living and dying. *Hom œopathic Links Vol. 30 No. 2/2017*.

- Trevizan, J., Soto, E., Parra, F., Bustos, L., & Parra C. (2020). Actividad antioxidante de nueve plantas medicinales con potencial comercial. *IDESIA* Vol 38(3). Universidad de Tarapacá. Arica Chile. Pag 53-58.
- Torres, J., & Leon, J. (2014). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "Arrayán" frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen. [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima- Perú. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/3605>
- Torres-Chati, Jane, León-Quispe, Jorge., & Tomas-Chota, Gloria. (2017). Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "arrayán" frente a patógenos de origen clínico. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* [online]. 2017, vol.37, n.1, pp.10-16. ISSN 1315-2556.
- Trease, T. (1986). "Tratado de Farmacología" 2 da Edición Madrid – España, Interamericana 846 p. Universidad Agrícola De Tamil Nada (TNAU) Departamento de Patología de la Planta. Coimbatore 641003 India. <Http/www.phitoparasitica.org>.
- Unnikrishnam, M., Desai, V., & Gurnswamy, M. (1988). "Acción cardiovascular del extracto Ethanolic del *Synadenium Grantii*. Universidad de Ciencias Farmacéuticas de Kasturba, Manipal 576119, Kamataka p, 343-347".
- Velarde, J., Escobar, M., Pucho, M., Espinoza M., Veizaga, D., & Balderrama, K. (2024). Actividad antibacteriana in vitro del extracto y aceite esencial de hojas de Muña. *Gac Med Bol.* 47(1): 14-19. <https://doi.org/10.47993/gmb.v47i1>
- Ventura Choquehuanca, Y. (2019). Extracción y caracterización química de flavonoides y análisis proximal en las flores de *tropaeolum majus* L. (TEXAO)".[Tesis pregrado]. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Arequipa Perú.
- Vidal, M., Torres, H., Velásquez, C., Rascón, L., & Robles, R. (2020). Actividad antioxidante y antiproliferativa de seis plantas medicinales del noroeste de México. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud.* XXII(3):40-45(2020). <http://biotecnia.unison.mx>

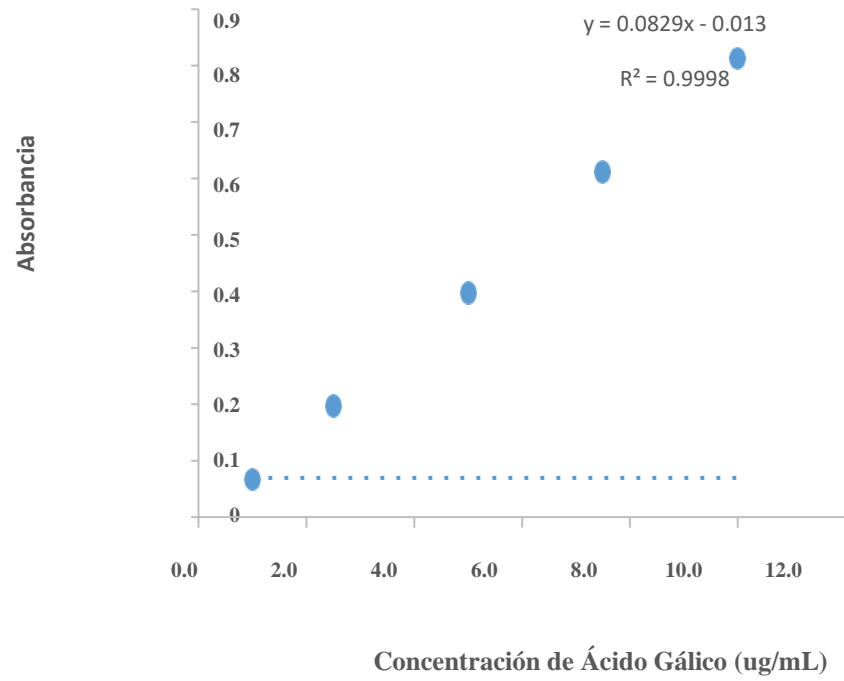
**ANEXOS**

## Anexo I: Curva estándar de Trólox Equivalente (TEAC) en función al DPPH



**Anexo II:** Curva estándar de trólox equivalente (TEAC) en función al ABTS.

Anexo III: Curva de calibración absorbancia vs Ácido Gálico.



Anexo IV: Fotografías de la planta de la vida secado y extractos hidroalcohólicos

