

UNIVERSIDAD ESTATAL A DISTANCIA  
VICERRECTORÍA ACADÉMICA  
ESCUELA DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
MAESTRÍA ACADÉMICA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES  
CON ENFÁSIS EN BIODIVERSIDAD

**Capacidad antioxidante y antibiótica de frutos de *Passiflora edulis*  
(Maracuyá) en tres estadios de maduración**

Tesis presentada al Tribunal Examinador del Programa de Maestría Académica  
en Manejo de Recursos Naturales de la Escuela de Ciencias Exactas y  
Naturales para optar por el grado de *Magister Scientiae* con énfasis en gestión  
de la biodiversidad

Mariela Quirós Cubillo

Director de tesis: M.Sc. Sandra Valdez Díaz, [sandra.valdes.diaz@una.cr](mailto:sandra.valdes.diaz@una.cr)  
Asesor: M.Sc. Randall Syedd León, [randall.syedd.leon@una.cr](mailto:randall.syedd.leon@una.cr)  
Asesor: M.Sc. Juan José Oviedo Quirós, [joviedo@sfe.go.cr](mailto:joviedo@sfe.go.cr)

San José, Costa Rica

JULIO, 2021

## Dedicatoria

**A mi madre**, que me ha enseñado el valor del esfuerzo, la dedicación y el no rendirse a pesar de las adversidades. Te amo mami, eres y siempre serás mi pilar en la vida, mi ruta a seguir y el motivo de buscar siempre superarme. Esta es una promesa cumplida. ¡¡¡Lo logramos!!! ¡¡¡Siempre juntas, siempre gracias!!!

**A mi padre**, que con todo su amor siempre ha estado ahí para ayudarme en mis locuras y materializar todas mis ideas. Te amo papi, eres siempre mi compañero de aventuras y trabajos, gracias por siempre cuidarme y estar pendiente de mí. Hemos llegado lejos y hoy este título también es tuyo. ¡¡¡Lo logramos!!! ¡¡¡Siempre gracias!!!

**A mis sobrinos**, los terremotillos de mi vida, que me enseñan cada día, que la vida es un juego y que hay que disfrutar cada parte de su día. Los amos Luca y Fabian, espero que mi esfuerzo sea una guía en sus vidas y los lleve a alcanzar todo aquello que se propongan, sin importar cuan duro sea o cuánto tiempo tome alcanzarlo. ¡¡¡Siempre locos!!!

**A ese mejor amigo**, que siempre estuvo motivándome y apoyándome en cada paso de este proyecto a pesar de las adversidades y la distancia. G. Coto Marín, por cada paseo, por cada comida, por cada película de terror, por cada risa alocada, por cada depresión y por cada motivación, ¡¡¡Mil gracias!!!

**A mis hijas de 4 patas**, quienes me acompañan en las largas madrugadas y en cada proceso de mi vida, me levantan el ánimo y me ayudan a continuar.

“Por tanto, al Rey de los siglos, inmortal, invisible, al único y sabio Dios, sea honor y gloria por los siglos de los siglos. Amén.”

(1. Timoteo 1:17. RVR60)

## **Agradecimientos**

Esta investigación fue desarrollada gracias al apoyo brindado por el Laboratorio de Docencia en Química (LADOQUI) de la Sede Interuniversitaria de Alajuela y el Laboratorio de Fitoquímica (LAFIT) de la Sede Central de la Universidad Nacional, por facilitar el uso de sus instalaciones y equipos.

Agradezco a mi asesor, amigo y compañero M. Sc. Randall Syedd León, por no dejarme rendir con esta maestría, por brindarme las herramientas y guiarme hasta el final; y sobre todo por brindarme la oportunidad de recurrir a su conocimiento y aprender de él, con muchísima paciencia. Muchísimas gracias, Randall.

Agradezco a mi tutora y amiga M. Sc. Sandra Valdés Díaz, por ser esa espinita constante en mi cabeza que me recordaba y motivaba a terminar este posgrado. Muchísimas gracias, profe.

Agradezco a mi asesor y amigo M. Sc. Juan José Oviedo Quirós, por ser ese segundo hermano en mi vida con quien he compartido aventuras y montañas de emociones, siempre dispuesto a ayudar en lo que se pueda. Muchísimas gracias, Juancho.

Agradezco a M. Sc. Víctor Álvarez Valverde por la gentileza de tomarse su tiempo, explicarme y guiarme en el desarrollo de algunos análisis de este proyecto. Mil gracias, sin su colaboración no hubiese sido posible terminar a tiempo.

Agradezco a los colegas Maricruz Arguedas y Jesús Salazar, por su empatía y colaboración conmigo en las largas jornadas de lectura de datos. Mil gracias, sin su colaboración no hubiese sido posible terminar a tiempo.

## INDICE

Resumen.....	5
Abstract.....	5
Introducción .....	6
Metodología .....	7
Recolecta y tratamiento de las muestras.....	7
Determinación cualitativa de metabolitos secundarios.....	8
Determinación del mejor solvente y número de extracciones óptimo.....	8
Determinación de Polifenoles Totales por Folin-Ciocalteu.....	8
Determinación de la Actividad Antioxidante por ORAC.....	8
Medición de susceptibilidad bacteriana .....	9
Resultados y análisis.....	9
Determinación cualitativa de metabolitos secundarios.....	9
Determinación del mejor disolvente y número de extracciones óptimo .....	10
Determinación de Polifenoles Totales por Folin-Ciocalteu.....	12
Determinación de la Actividad Antioxidante por ORAC.....	13
Medición de susceptibilidad bacteriana .....	16
Conclusiones .....	18
Agradecimientos.....	18
Conflicto de intereses .....	18
Declaración de disponibilidad de los datos.....	19
Referencias.....	19
Conclusiones y Recomendaciones .....	25
Conclusiones .....	25
Recomendaciones.....	25
Anexos.....	27

## Capacidad antioxidante y antibiótica de frutos de *Passiflora edulis* (Maracuyá) en tres estadios de maduración

### Mariela Quirós Cubillo

Maestría Académica en Manejo de Recursos Naturales, UNED. Barrio Cacique, Río Segundo, Alajuela; mariela.quirós.cubillo@una.cr.

(Este trabajo fue sometido a la Revista Uniciencia para su publicación formal. Debe buscarse como: Quirós-Cubillo, M.; Syedd-León; R.; Valdés-Días, S., Oviedo-Quirós, J.J y Álvarez-Valverde, V. Capacidad antioxidante y antibiótica de frutos de *Passiflora edulis* (Maracuyá) en tres estadios de maduración. Anexo 7.

### Resumen

El objetivo de este estudio fue analizar el potencial antioxidante y antibiótico de los frutos de *Passiflora edulis* (Maracuyá) en tres estadios de maduración (intermedio, maduro y post maduro); a través del tiempo óptimo de consumo de la fruta con relación al desarrollo de metabolitos secundarios de interés comercial (polifenoles totales, alcaloides y antocianinas). El fruto fue producido en Batán, Costa Rica, y se utilizó de la fruta de maracuyá su pulpa y cáscara. Se realizaron ensayos cualitativos, empleando 3 réplicas por muestra de las pruebas de Dragendorff, Mayer, Lieberman Burchard, Tricloruro Férrico y Shinoda; mientras que para los ensayos cuantitativos se utilizaron 6 réplicas y 4 diferentes sistemas de solventes (S1: agua, S2: acetona: agua (7:3), S3: etanol: agua (7:3) y S4: etanol 95%), de los cuales se seleccionó el que brindó mejor rendimiento de extracción, para realizar los ensayos de Folin-Ciocalteu (polifenoles totales), ORAC (actividad antioxidante) y Kirby-Bauer (actividad antibacteriana). Las comparaciones entre múltiples grupos fueron analizadas con Kruskal-Wallis y Tukey, y las correlaciones a través del coeficiente de Spearman. Todos los datos se analizaron en SPSS ( $p \leq 0.05$ ). A nivel cualitativo la actividad biológica fue dudosa en fenoles y alcaloides para cáscaras y negativa en pulpas; sin embargo, fue intensa para ambas muestras en antocianinas. El solvente seleccionado fue acetona:agua (7:3), con un número óptimo de 3 extracciones. La cantidad de polifenoles totales (PFT) y la actividad antioxidante fue significativamente mayor en cáscaras ( $7,23 \pm 0,04$  mg EAG/ gMS;  $2402,706 \pm 518,827$   $\mu\text{mol ET/ gMS}$ ) que en pulpas ( $3,50 \pm 0,15$  mg EAG/ gMS,  $1092,350 \pm 252,034$   $\mu\text{mol ET/ gMS}$ ), mientras que entre estadios de maduración solo hubo diferencias significativas en el contenido PTF en cáscaras. La actividad antibiótica demostró un porcentaje relativo del diámetro de la zona de inhibición (%PRDZI) con una efectividad del 25 % PRDZI en cáscara y menor al 15 % PRDZI en pulpa para las bacterias gram-positivas y de 0% en ambos casos para las gram-negativas. En general, los resultados indican que los compuestos bioactivos son mayores en cáscaras que en pulpa, con mayor presencia en los estadios premaduro y postmaduro. Por lo que, se considera que la cáscara de maracuyá funciona como una fuente rica en compuestos bioactivos con importante actividad antioxidante y antibiótica, que puede ser aprovechada en la generación de alimentos nutraceuticos, que transformen las estrategias de producción y fortalezca la economía circular del país.

**Palabras clave:** Fruta de la pasión; análisis fitoquímicos; radicales libres; agricultura no tradicional; polifenoles; antocianinas; susceptibilidad bacteriana.

### Abstract

The objective of this study was to analyze the antioxidant and antibiotic potential of *Passiflora edulis* (Maracuyá) fruits in three stages of maturation (intermediate, mature and post-mature); through the optimal time of fruit consumption in relation to the development of secondary metabolites of commercial interest (total polyphenols, alkaloids and anthocyanins). The fruit was produced in Batán, Costa Rica, and its pulp and peel were used from the passion fruit. Qualitative tests were carried out, using 3 replicates per sample of the Dragendorff, Mayer, Lieberman Burchard, Ferric Trichloride and Shinoda tests; while for the quantitative tests, 6 replicates and 4 different solvent systems were used (S1: water, S2: acetone: water (7: 3), S3: ethanol: water (7: 3) and S4: 95% ethanol), of which the one that provided the best extraction performance was selected to perform the Folin-Ciocalteu (total polyphenols), ORAC (antioxidant activity) and Kirby-Bauer (antibacterial activity) tests. The comparisons between multiple

groups were analyzed with Kruskal-Wallis and Tukey, and the correlations through the Spearman coefficient. All data were analyzed in SPSS ( $p \leq 0.05$ ). At a qualitative level, the biological activity was doubtful in phenols and alkaloids for peels and negative in pulps, however, it was intense for both samples in anthocyanins. The selected solvent was acetone-water (7:3), with an optimal number of 3 extractions. The total polyphenols content (TPC) and antioxidant activity were significantly higher in peels ( $7.23 \pm 0.04$  mg EAG / gMS;  $2402.706 \pm 518.827$   $\mu$ mol ET / gMS) than in pulps ( $3.50 \pm 0, 15$  mg EAG / gMS,  $1092.350 \pm 252.034$   $\mu$ mol ET / gMS), while between the maturation stages there were only significant differences in the TPC content in peels. The antibiotic activity demonstrated a relative percentage of the diameter of the zone of inhibition (% PRDZI) in relation to the positive control, an effectiveness of 25% PRDZI in peel and less than 15% PRDZI in pulp for gram-positive bacteria and 0% for gram-negatives. In general, the results indicate that the bioactive compounds are higher in peels than in pulp, with a greater presence in the mature and post-mature stages. Therefore, it is considered that the passion fruit peel functions as a rich source of bioactive compounds with important antioxidant and antibiotic activity, which can be used in the generation of nutraceutical foods, which transform production strategies and strengthen the circular economy of the country.

**Keywords:** Passion fruit; phytochemical analysis; free radicals; non-traditional agriculture; polyphenols; anthocyanins; bacterial susceptibility.

## Introducción

La agricultura en Costa Rica es un factor de alta importancia socioeconómica (Infante, 2016), que ha direccionado su economía circular en modelos productivos y de consumo que posean un valor agregado; es decir, que busquen la reducción y reutilización de los desechos alimentarios (Xia & Ruan, 2020). Sus avances, han impulsado el estudio e implementación de procesos industriales bioquímicos (Pechlaner, 2010) enfocados en diversos mercados más sustentables (Prasad et al., 2017) y con mayor composición nutricional (Jones & Ejeta, 2015).

En la actualidad, una serie de acciones gubernamentales, son promovidas con base en los Objetivos de Desarrollo Sostenible 2030 del PNUD (FAO, 2015); donde se estudia el ciclo de vida de los productos de consumo, buscando un equilibrio entre el aporte de los beneficios en la salud humana (Wadhawan & Kaur, 2019) y la afectación ambiental por desechos no valorizables en las diferentes etapas de producción (desde el productor hasta el consumidor final) (*Ley para la Gestión Integral de Residuos N° 8839*, 2010).

Algunos cultivos de producción nacional como el maracuyá (*Passiflora edulis*)(MAG, 1991), posee propiedades organolépticas (fuerte aroma y alta acidez) comercialmente atractivas y propiedades nutricionales (vitamina A y C, y otros minerales) como alimento funcional (Ferreira et al., 2020; Ramaiya et al., 2019; Xu et al., 2019). Su exportación anual (24 toneladas en 2014) está en crecimiento, ya que su fruta se consume principalmente fresca en jugos, bebidas y/o concentrados, así como en otros subproductos derivados (salsa, aderezos y mermeladas) para la industria alimentaria (Ulloa, 2017).

De manera puntual, la pulpa de maracuyá es la más parte más utilizada del fruto; por lo que, la cáscara y el endocarpio son regularmente botados en rellenos sanitarios; es decir, son considerados desechos no valorizables (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, 2010; Escobedo, 2013). La descomposición natural de la cáscara requiere de un largo periodo, no siendo muy eficiente como abono; lo cual

sugiere, que sus componentes bioquímicos pueden poseer algunos efectos de resistencia o inhibición sobre los microorganismos descomponedores (Barbieri et al., 2017).

En concreto, esta y otras propiedades biológicas encontradas en plantas se deben a la producción de metabolitos secundarios, sintetizados a raíz de la exposición al estrés ambiental (Laxa et al., 2019). Estos metabolitos también reportados en los frutos de maracuyá, contienen uno de los grupos más importantes, los polifenoles (Yepes et al., 2021); los cuales son compuestos de gran importancia farmacológica con propiedades antioxidantes y de prevención de enfermedades (Birben et al., 2012; Pratima, 2019; Thawabteh et al., 2019).

Considerando lo anterior es que una producción de maracuyá sustentable requiere de un correcto aprovechamiento del fruto (tanto pulpa como cáscara); para lo cual, es importante conocer y desarrollar su perfil de metabolitos secundarios (Sabogal-Palma et al., 2016). Además, es necesario contemplar aquellos frutos que son desechados debido a su desprendimiento temprano del arbusto (pre-maduros) y aquellos que ya no son atractivos debido a su pérdida de calidad comercial (post-maduros); dado que, el estado de maduración de un alimento modifica su composición metabólica (Torres et al., 2013; Uribe, 2016).

Por lo tanto, conocer el perfil metabólico de la fruta de maracuyá en diferentes estados de maduración, sería de utilidad en la valoración de estos como fuentes alternativas de compuestos de interés biológico. Esto a fin de realizar una revaloración de sus desechos y obtener un mayor valor para la actividad comercial. Con base en lo anterior, este estudio tiene por objetivo evaluar cómo se modifica el perfil de compuestos antioxidantes durante el proceso de maduración de los frutos de *Passiflora edulis* (Maracuyá). Esto con el fin de considerar el planteamiento de alternativas de uso para los desechos de esta industria y así mejorar la promoción de alimentos funcionales que fortalezcan la economía circular del país.

## Metodología

### Recolecta y tratamiento de las muestras

Los frutos de *Passiflora edulis* fueron recolectados al azar, en octubre del 2020, de una finca productora en Batán, Limón, Costa Rica (N: 10.093047, W: -83.387119), a 35 m.s.n.m, y trasladados a las instalaciones del Laboratorio de Docencia en Química Industrial (LADOQUI) de la Universidad Nacional. La selección se realizó con base en tres estados de maduración: M1. fruto **pre-maduro** (aún presentan algunas manchas o coloraciones verdes en su cáscara, coloquialmente conocidas como “pintonas”), M2. fruto **maduro** (presentan una cáscara completamente amarilla o púrpura) y M3. fruto **post-maduro** (cáscara presenta arrugas, cambios de coloración o hundimientos). La pulpa (sin semillas) y el exocarpio fueron separados del resto del fruto. Posteriormente, las muestras se congelaron a -40 °C por 72 horas. Finalmente, las muestras se liofilizaron y se trituraron en un molino de cuchillas, pasando al mismo tiempo por una malla de apertura trapezoidal de 0,75 mm.

### **Determinación cualitativa de metabolitos secundarios**

Se realizaron pruebas cualitativas, tanto en pulpa como en cáscara y por triplicado, de metabolitos secundarios para la determinación de alcaloides a través de la reacción de Dragendorff y Mayer (San Román, 2017); el reconocimiento de triterpenos por el método o prueba de Liebermann-Burchard (Carvajal et al., 2009); el reconocimiento de saponinas por la prueba de formación de espuma (Valencia et al., 2005); los compuestos fenólicos y taninos mediante la prueba de tricloruro férrico y el reactivo de gelatina (Valencia et al., 2005); los flavonoides, las leucoantocianidinas y los glicósidos cardiotónicos mediante el ensayo de Shinoda, ácido clorhídrico y reactivo de Kedde, respectivamente (Oyola, 2016); el reconocimiento de quinonas siguiendo la metodología descrita por Carranza et al. (2009); antocianinas y cumarinas según Robles-García et al. (2016). El análisis de los datos se realizó bajo el indicador de presencia / no presencia, mediante una escala de medición cualitativa nominal (intenso o abundante: +++++, moderado: ++, escaso +, dudoso: ±).

### **Determinación del mejor solvente y número de extracciones óptimo**

La determinación del mejor solvente y el número óptimo de extracciones se realizó por triplicado a través del contenido de fenoles totales (PFT) por el método de Folin-Ciocalteu, tanto en pulpa (P) como en cáscara (C). Para esto, se compararon 4 diferentes solventes o mezclas (S1-agua; S2-acetona: agua (7:3); S3-etanol: agua (7:3); y S4-etanol 95 %) utilizando el material seco y molido. Para el número de extracciones consecutivas, se analizó de 1 a 5 con la intención de obtener el mayor rendimiento de extracción de polifenoles (Gutiérrez et al., 2008). La cuantificación de los polifenoles totales, por triplicado, se analizó usando un lector de microplacas marca Biotek-Synergy HT, con una secuencia de agitación por 30 s e incubación por 20 minutos antes de la lectura.

### **Determinación de Polifenoles Totales por Folin-Ciocalteu**

La cantidad de polifenoles totales (PFT) se determinó según el método descrito por Syedd-León et al. (2020). Se utilizó una curva de calibración con ácido gálico como estándar fenólico de referencia siguiendo la metodología descrita por Leyva (2009), con las siguientes concentraciones: 0,03, 0,06, 0,09, 0,120 y 0,150 mg/mL. La cuantificación de los polifenoles totales, por triplicado, se analizó mediante un lector de microplacas marca Biotek-Synergy HT.

### **Determinación de la Actividad Antioxidante por ORAC**

La actividad antioxidante se analizó por el método denominado Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno (ORAC por sus siglas en inglés) descrito por Zapata et al. (2014), utilizando como patrón de referencia Trolox con las siguientes concentraciones: 6,25, 12,5, 25, 50, 75 y 100  $\mu\text{mol/L}$  (Fernández-Pachón et al., 2006). La cuantificación de la capacidad antioxidante se realizó por triplicado y se analizó mediante un lector de microplacas marca Biotek-Synergy HT.

## Medición de susceptibilidad bacteriana

La determinación de la actividad antibiótica fue realizada por el método de Kirby-Bauer midiendo los halos de inhibición (Bernal & Guzmán, 1984), por triplicado; utilizando dos especies bacterianas gram-negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*) y dos gram-positivas (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*) en una concentración equivalente a 0,5 estándar de McFarland (Hudzicki, 2009). Se utilizaron tres concentraciones iniciales de extractos tanto de pulpas como de cáscaras (20 µg, 10 µg y 5 µg), un control positivo (Gentamicina de 10 µg) y un control negativo (el mejor solvente seleccionado). Posteriormente, se realizó una segunda prueba utilizando extractos de cáscaras y a las concentraciones de 56 µg, 28 µg y 14 µg acompañada de ambos controles (positivo y negativo) y las placas fueron incubadas por 72 horas. Los halos de inhibición fueron observados a través de un contador Interscience Scan 100. Los datos obtenidos fueron analizados porcentualmente respecto del testigo, donde el porcentaje relativo del diámetro de la zona de inhibición (PRDZI) y el diámetro de la zona de inhibición (DZI) establecen una relación entre el extracto evaluado y el antibiótico de referencia, según la siguiente fórmula:

$$\%PRDZI = \frac{DZI \text{ extracto} - DZI \text{ control negativo}}{DZI \text{ control positivo}} \times 100$$

Todos los resultados cualitativos obtenidos en esta investigación fueron procesados mediante el software estadístico SPSS®, al realizar la prueba de Kruskal-Wallis y la prueba de medias de Tukey ( $P \leq 0,001$ ).

## Resultados y análisis

### Determinación cualitativa de metabolitos secundarios

La composición de metabolitos secundarios en *P. edulis* es muy diversa dado que se pudo identificar la presencia de los grupos mayoritarios en diferentes proporciones cualitativas (Tabla 1). Tal como se mencionó previamente, los resultados se muestran tanto en cáscara (C) como en pulpa (P) para los tres estadios de maduración en estudio (M1, M2 y M3). Esta interpretación debe verse desde el punto de vista cualitativo en la cual la escala colorimétrica de la intensidad del color está relacionada con su abundancia relativa.

En general no se logró detectar la presencia de quinonas y glicósidos cardiotónicos. Los grupos de los alcaloides y taninos, así como fenoles libres están en cantidades apenas perceptibles, por lo que están por debajo del límite de identificación de las pruebas realizadas. Por otro lado, cabe destacar de manera particular la abundancia relativa de cumarinas, antocianinas los cuales están presentes tanto en fruto como en cáscara, sin diferenciación según el estado de maduración. La abundancia de antocianinas es un factor importante porque son componentes que dan color a las frutas (Jibaja & Tuitice, 2021) Estas tiene importantes funciones biológicas como la reducción de la enfermedad coronaria, efectos antitumorales y una alta relación con la actividad antioxidante (Paredes, 2019). De manera general los ensayos muestran que es más diversa la composición de metabolitos secundarios en cáscara que en la pulpa, por ejemplo, los flavonoides fueron detectados sólo en la cáscara, mientras que las

saponinas y triterpenos son más abundantes en esta parte del fruto. Una posible razón para esta diferencia es que una buena parte de la pulpa son carbohidratos y que la cáscara al ser la parte más expuesta al ambiente requiere funcionar como una barrera de protección ante las condiciones ambientales y la intención con organismos (Barragán & Galarza, 2020)

Los resultados obtenidos en esta investigación son similares a los de Carvajal et al. (2014) y Souza do Nascimento & dos Santos Gama (2015) en donde obtuvieron respuestas muy positivas en antocianinas, cumarinas y flavonoides en la cáscara de *P. edulis* Sims y una respuesta positiva en triterpenos y alcaloides en pulpa de *P. edulis* f. *flavicarpa* O. Deg.

La presencia abundante de antocianinas, cumarinas y flavonoides brinda indicios de la capacidad antioxidante y antibiótica de los estados de maduración de la cáscara y la pulpa, ya que está estrechamente relacionada con el contenido de fenoles (Chaparro-Rojas et al., 2014). En especial las antocianinas y los flavonoides poseen una capacidad para captar radicales libres generados por el estrés oxidativo (Barragán et al., 2016; López, 2002) y por su parte, a las cumarinas se le adjudica la defensa de la planta por lo que son indicadoras de actividad bactericida y antifúngica debido a la producción de toxinas (Erb & Kliebenstein, 2020).

**Tabla 1.** Comparación de los compuestos bioactivos en extractos de cáscara (C) y pulpa (P) *P. edulis*, de los tres estadios de maduración (M1: premaduro, M2: maduro y M3: postmaduro). Fuente propia de la investigación. Nota: Fuente propia de la investigación.

Metabolito	CM1	CM2	CM3	PM1	PM2	PM3
Alcaloides	±	±		+	+	+
Triterpenos	++	++	++++	+	++	++++
Saponinas	++++	++++	++++	+		
Fenoles y taninos	±	±	±			
Flavonoides	++++	++++	++++			
Leucoantocianinas			++++			
Cardiotónicas						
Quinonas						
Antocianinas	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Cumarinas	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Medición cualitativa nominal (intenso o abundante: +++++, moderado: ++, escaso +, dudoso: ±).

### Determinación del mejor disolvente y número de extracciones óptimo

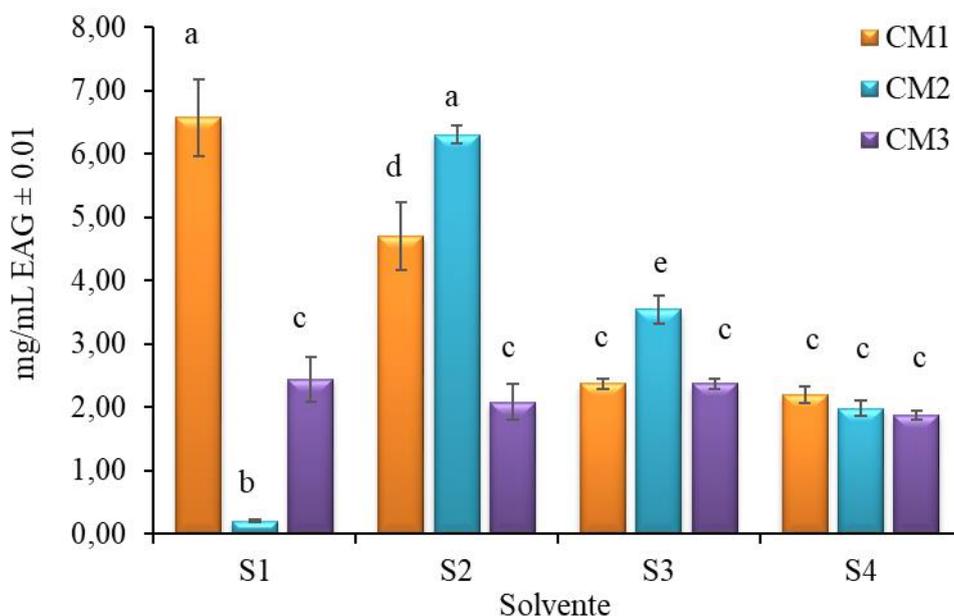
La determinación del contenido de polifenoles totales requiere encontrar las condiciones óptimas de extracción, las cuales van a variar de una matriz alimenticia a otra. Dado que los componentes tipo fenólico son de naturaleza polar se probaron varios sistemas de solventes de esta naturaleza (S1: agua, S2: acetona: agua (7:3), S3: etanol: agua (7:3) y S4: etanol 95%). La selección cuidadosa de este solvente aunado al número de extracción evita que al momento del análisis se hagan subestimaciones. Este ensayo se realizó sobre la cáscara dado que es la parte del fruto que normalmente se desecha durante el consumo y porque además según el resultado previo fue la que tiene mayor diversidad en su composición de metabolitos secundarios.

En la figura 1 se presenta un gráfico de barras que muestra la cantidad de polifenoles extraídos en cáscara con los cuatro solventes a los tres estados de

maduración. Si consideramos los resultados por estado de maduración, en M1 el mejor solvente sería S1, en el estado M2 el mejor solvente sería S2 ( $p < 0.05$ ), y finalmente en M3 todos los solventes tienen estadísticamente el mismo poder extractivo. S1 parece ser un buen solvente en M1, pero muy pobre en M2. De manera combinada, considerando de manera colectiva los tres estados de maduración el mejor solvente es S2, por lo cual fue el seleccionado para los siguientes análisis.

Estudios previos respaldan el uso de acetona:agua (7:3) para el mejor rendimiento de PFT en el nance ( $2,94 \pm 0,28$  mg GAE/ mg MS) (Sousa et al., 2019), así como para extractos de granos cervceros tanto en PFT ( $0,160 \pm 0,005$  mgGAE/L) como actividad antioxidante (AA) ( $0,064 \pm 0,005$  mg TE/L)(Zuorro et al., 2019); PFT y AA en *Eucalyptus camaldulensis* (Nasr et al., 2019) y PFT en maracuyá amarilla ( $2,05 \pm 0,04$  g GA/kg) (De Souza et al., 2017).

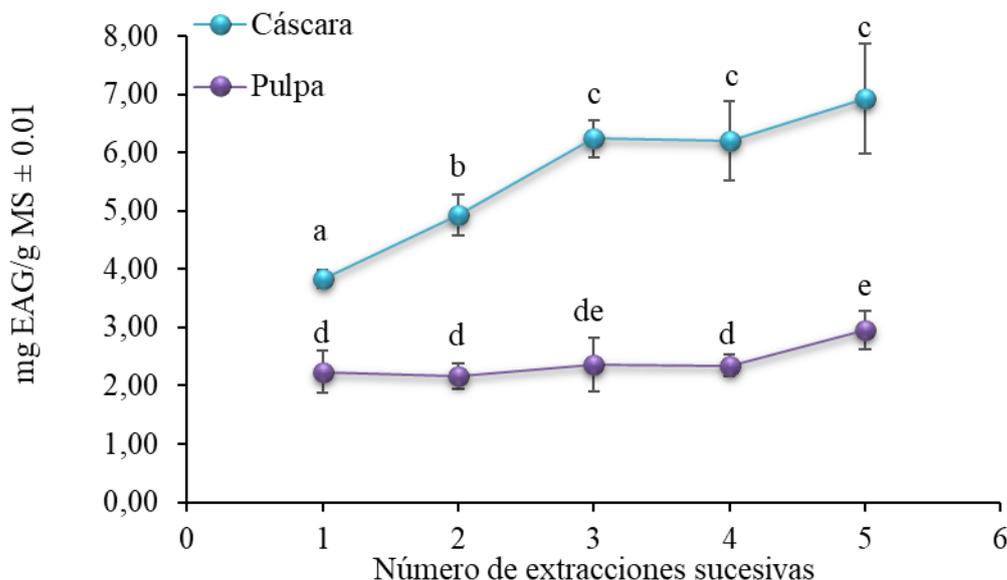
Así mismo, el contenido fenólico de otras mezclas como etanol:agua (Gomes et al., 2017; Obregón & Obregón, 2019; Souza do Nascimento & dos Santos Gama, 2015) reportaron menor rendimiento en cáscara y pulpa de *P. edulis* en otros estudios.



**Figura 1.** Comparación de la extracción de PFT cáscara (C) de *P. edulis* con el método Folin-Ciocalteu con diferentes solventes (S1: agua, S2: acetona: agua (7:3), S3: etanol: agua (7:3) y S4: etanol 95%) de extracción en tres estadios de maduración (M1: premaduro, M2: maduro y M3: postmaduro). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Nota: Fuente propia de la investigación.

Por otra parte, en la figura 2. la determinación del número óptimo de extracciones muestra que no hay diferencia significativa en el contenido de PFT en pulpa, entre la extracción 1 y la 4, y entre la 3 y 5; mientras que en cáscara existe diferencia significativa entre la extracción 1, 2 y 3, pero no entre la 3, 4 y 5. Por lo tanto, se determinó que 3 extracciones sucesivas, son las adecuadas para los extractos. Lo anterior concuerda con diversos estudios de contenidos fenólicos y actividad antioxidante que utilizan 3 extracciones como mejor rendimiento del extracto (Álvarez et al., 2016; Iglesias-Carres et al., 2019; Mesén-Mora et al., 2019). La optimización en

el número de extracciones implica el máximo rendimiento de extracción y el mínimo uso de proceso en su obtención.



**Figura 2.** Comparación de la extracción de PFT de cáscara y pulpa de *P. edulis* en el estado de pre-maduración (CM1) con el método Folin-Ciocalteu con diferente número de extracciones sucesivas. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Nota: Fuente propia de la investigación.

### Determinación de Polifenoles Totales por Folin-Ciocalteu

Los resultados de polifenoles totales (PFT) se reportan como equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra seca, siendo la forma más común en muestras alimenticias, lo cual favorece su comparación. La figura 3 muestra los resultados de la cáscara (C) y pulpa (P) en los tres estados de maduración (M1, M2 y M3).

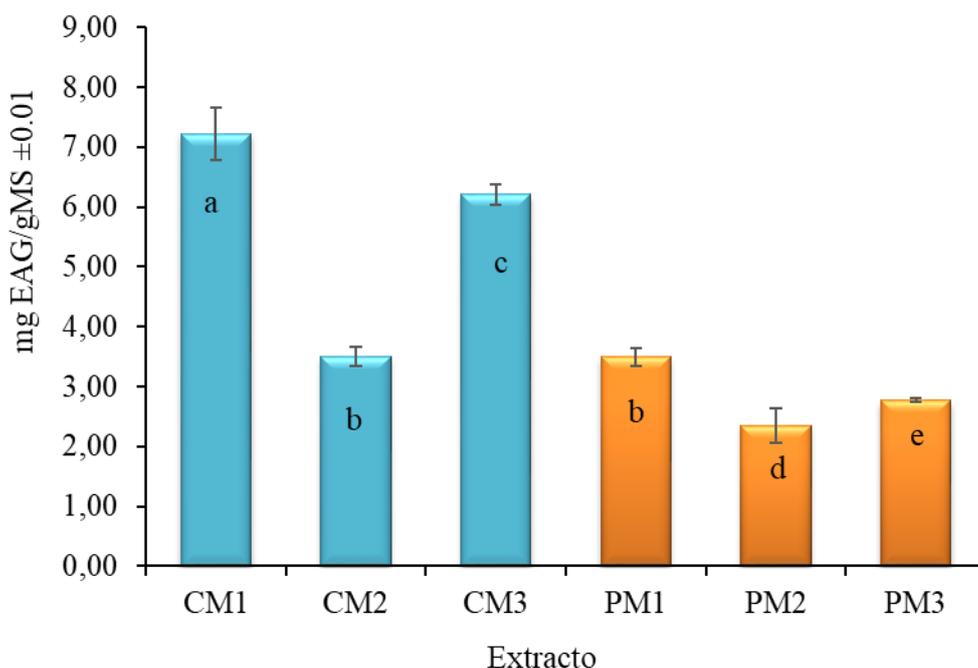
El contenido de PFT es mayor en la cáscara (5,68 mg EAG/ gMS) que en la pulpa (2,88 mg EAG/ gMS) siendo casi el doble. Es importante resaltar que la cáscara es el principal desecho que genera este fruto, y es el que tiene más potencial en posibles usos extractivos posteriores para su aprovechamiento. Actualmente existen en el mercado productos macrobióticos en los cuales se usan exocarpios de frutos de modo que el maracuyá puede incluirse en la lista de posibles aplicaciones.

Por otro lado, la mayor cantidad se presenta en cáscara premadura (CM1)  $7,23 \pm 0,04$  mg EAG/ gMS ( $p < 0,05$ ); en cáscara postmadura (CM3)  $6,21 \pm 0,16$  mg EAG/ gMS ( $p < 0,05$ ); y la pulpa premadura (PM1)  $3,50 \pm 0,15$  mg EAG/ gMS ( $p < 0,05$ ). El estado de maduración parece tener un efecto inversamente proporcional muy claro en la pulpa, es decir conforme avanza el estado de maduración desciende la cantidad de PFT, en la cáscara el efecto es similar pero menos marcado. Esto puede deberse a que la maduración implica un proceso en el cual el almidón es rápidamente hidrolizado a azúcares (glucosa y fructosa) y a su vez existe una reducción de los taninos y un aumento de pH, lo que puede alterar las concentraciones de fenoles libres (Martínez-González et al., 2017).

El análisis de contenido fenólico realizado por Martínez et al. (2012) en coproductos (cáscara, pulpa y semillas) de *P. edulis* L., cv. Flavicarpa mostró valores similares (2,46 mg EAG/ gMS) a los obtenidos en este ensayo para PM2 y PM3. Otros

estudios en pulpa reportaron 74,61 mg EAG/mL (Obregón & Obregón, 2019);  $6,35 \pm 0,03$  mg EAG /g MS en *P. mollissima* y  $10,18 \pm 0,14$  mg EAG/ gMS para *P. tarminiana*, también conocidas como Curuba quiteña (Banana passion fruit), y siendo más similares a los resultados que fueron obtenidos para CM1 y CM3 (Contreras-Calderón et al., 2011).

Por otra parte, Yepes et al. (2021) y (Oliveira et al., 2016) reportaron valores de PFT de  $0,32 \pm 0,04$  g EGA/g MS y  $0,39 \pm 0,1$  g EGA/gMS, respectivamente en extracto etanólico de semillas de maracuyá, los cuales son considerablemente más bajos que los obtenidos en este estudio. Cabe resaltar que ninguno de estos estudios consideró la variación por maduración. Por lo tanto, los valores alcanzados para cáscara en este estudio fueron superiores a los extractos acuosos de coproductos como pulpas y semillas de otros estudios en pasifloras. Lo anterior corrobora que las diferencias significativas entre cáscara y pulpa se encuentran debido a diversos factores como la madurez del fruto, diferente variedad, tipo de suelo, clima, factores genéticos y métodos de procesamiento y extracción (Martínez-González et al., 2017; Martínez et al., 2012).



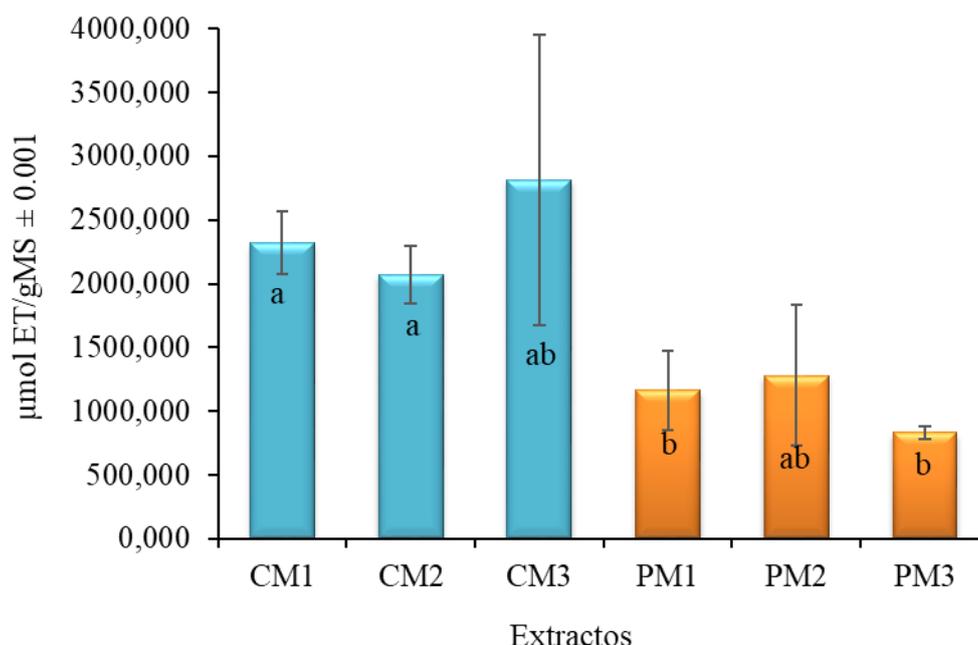
**Figura 3.** Distribución de la cantidad de polifenoles totales (PFT) en *P. edulis* de cáscara (C) y pulpa (P) en tres estadios de maduración (M1: premaduro, M2: maduro y M3: postmaduro) determinadas por el método Folin-Ciocalteu. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Nota: Fuente propia de la investigación.

### Determinación de la Actividad Antioxidante por ORAC

La actividad antioxidante (AA) se realizó utilizando Trolox como antioxidante de referencia para compararlo contra los extractos, de modo que los resultados se reportan como  $\mu\text{mol ET/gMS}$ . Esta sustancia es la más usada en muestras alimenticias dado que funciona como un antioxidante análogo de la vitamina E (López, 2015). El método de cuantificación (ORAC) refleja la interacción sinérgica de todos los

antioxidantes presentes en la muestra para inactivar los radicales peroxilo (González et al., 2019).

De manera consistente con el resultado previo para el contenido de polifenoles totales, los extractos de la cáscara (CM1, CM2, CM3) presentaron mayor AA que la pulpa (PM1, PM2, PM3) ( $p < 0,05$ ); observándose en promedio una actividad en cáscara de  $2402,706 \pm 518,827 \mu\text{mol ET/gMS}$  y en pulpa de  $1092,350 \pm 252,034 \mu\text{mol ET/gMS}$ . Sin embargo, no hubo diferencia significativa entre estados de maduración en cáscara (C) ni pulpa (P) como se muestra en la figura 4. Por lo cual, se puede afirmar que el estado de maduración no afecta el poder antioxidante del fruto. Esto puede representar una ventaja en cuanto al aprovechamiento de desechos sin importar el estado en que se encuentre.



**Figura 4.** Distribución de la cantidad de antioxidantes presente en *P. edulis* de cáscara (C) y pulpa (P) en tres estadios de maduración (M1: premaduro, M2: maduro y M3: postmaduro) determinadas por el método ORAC. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Nota: Fuente propia de la investigación.

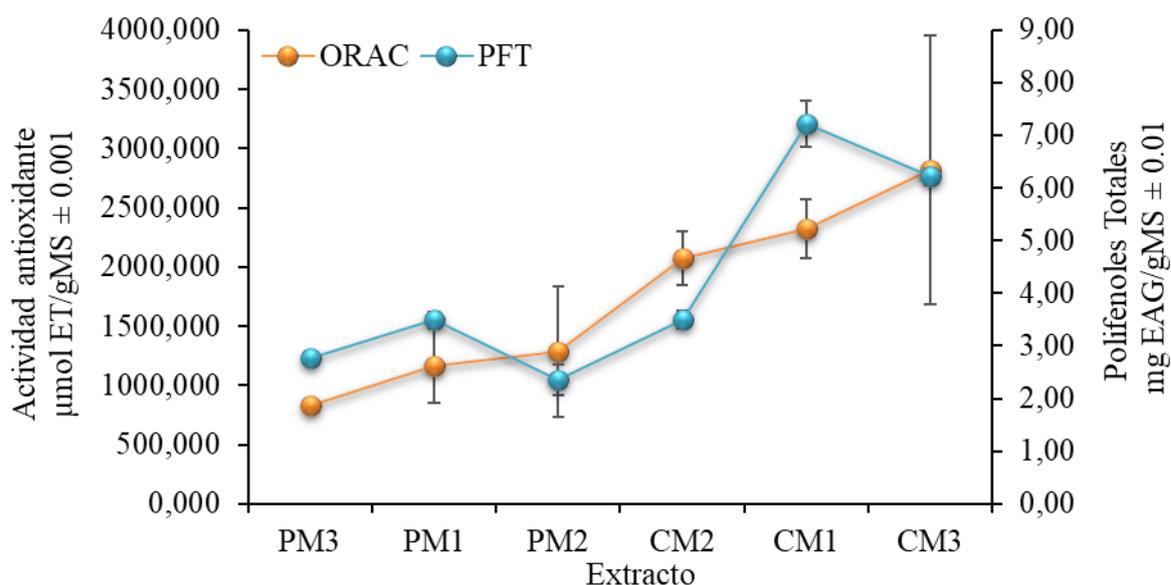
Pocos estudios reportan la actividad antioxidante en *P. edulis* a través del método ORAC utilizando extracto acetona:agua, por lo que, los valores de esta investigación superaron los datos obtenidos de la mayoría de estudios con el mismo método. Valores de actividad antioxidante de extractos etanólicos de pulpa fueron reportados para *P. mollissima* en ORAC-Hidrofílico  $207,55 \pm 1,92 \mu\text{mol ET/ MS}$  y ORAC-Lipofílico  $2,08 \pm 0,14 \mu\text{mol ET/ gMS}$  (Chaparro-Rojas et al., 2014) y  $10,82 \mu\text{mol ET / gMS}$  (Rojano et al., 2012).

La capacidad antioxidante del maracuyá costarricense analizado es significativamente superior al de la mayoría de las referencias encontradas. Para *P. edulis* Sims en cáscara en extracto etanólico se reportan valores de  $494 \pm 22,1 \mu\text{mol ET/ gMS}$  y en semillas de  $1427,9 \pm 30,3 \mu\text{mol ET/gMS}$  (González et al., 2019); mientras que para extracto metanólico/acetona de cáscara  $68,58 \pm 0,06 \mu\text{mol ET/gMS}$  (Cazarin et al., 2014) y en hojas de  $373,0 \pm 1,63 \mu\text{mol TE/gMS}$  (J. K. da Silva et al., 2013). Finalmente,

en *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* se reporta actividad en harina de cáscara entre  $40,83 \pm 1,75$  a  $68,58 \pm 0,06$   $\mu\text{mol ET/gMS}$  (Vuolo et al., 2019).

Tomando en consideración los resultados reportados, es probable que las diferencias se deban a las etapas previas de optimización de las condiciones de extracción en las que se seleccionó el mejor solvente y el número de extracciones, lo que beneficia el rendimiento de compuesto fenólicos con actividad antioxidante, dando como resultado un alto potencial antioxidante y de eliminación de radicales. Por otro lado, las diferencias en las variedades locales, indicativo de la diversidad genética y las condiciones agroecológicas pueden ser factores determinantes. La presencia intensa de metabolitos secundarios en la prueba cualitativa se relaciona con los datos obtenidos de PFT y AA, que demuestran que la variación de los componentes polifenólicos, flavonoides, carotenoides y vitamina C pueden ser responsables de la actividad captadora de radicales libres y de su capacidad antioxidante (He et al., 2020), siendo esta variación la responsable por la diferencia entre cáscaras y pulpas y/o estados de maduración (Martínez-González et al., 2017).

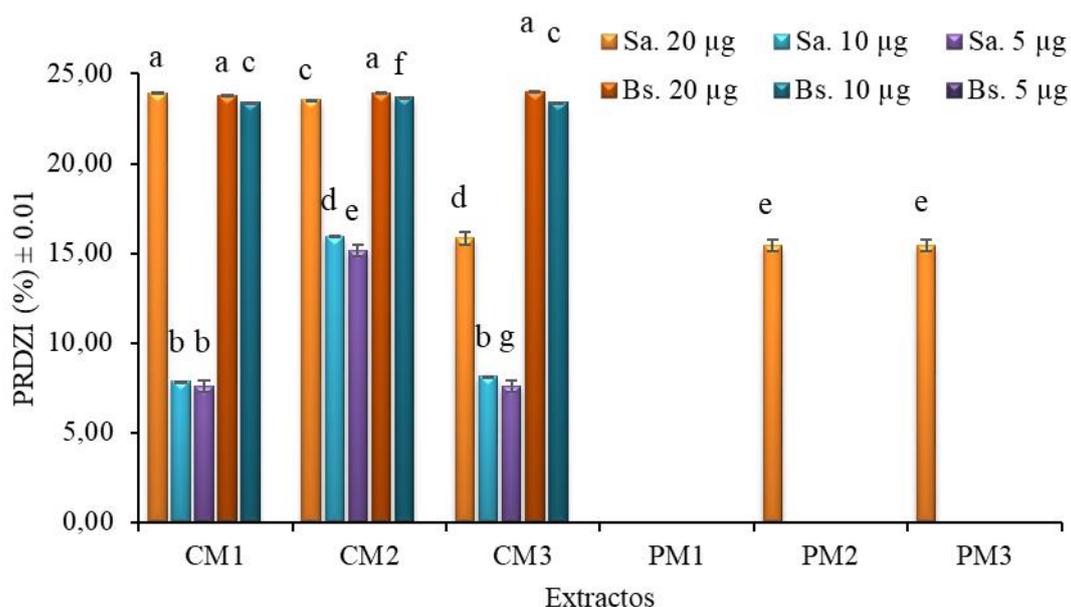
También, se analizó el coeficiente de correlación entre la actividad antioxidante (ORAC) y el contenido de polifenoles totales (PFT) mediante la prueba de Spearman el cual muestra una relación directamente proporcional ( $r^2 = 0,67$ ;  $p < 0,05$ ), demostrando que a medida que hay más PFT también se incrementa el potencial antioxidante (Figura 5). La potencia de la relación entre estos dos parámetros no es tan intensa, pero sí significativamente existente. Lo anterior es consistente con otros estudios previos en varias matrices alimenticias (Syedd-León et al., 2020). Según se conoce en la literatura científica los polifenoles son ampliamente conocidos por su capacidad de actuar ante los procesos oxidativos (Parrales & Peralta, 2020).



**Figura 5.** Correlación entre el contenido de polifenoles totales (PFT) y el potencial antioxidante (ORAC) para muestras de cáscara (C) y pulpa (P) en *P. edulis*. Nota: Fuente propia la investigación.

## Medición de susceptibilidad bacteriana

Los extractos de cáscara (C) y pulpa (P) en tres estadios de maduración (M1, M2, M3) y en tres diferentes concentraciones (20 µg, 10 µg y 5 µg) fueron probados frente a microorganismos patógenos humanos. En los resultados no se mostró halos inhibitorios visibles en los discos colocados sobre los cultivos bacterianos gram negativos (*E. coli* y *P. fluorescens*). Sin embargo, como se muestra la figura 6, en los cultivos bacterianos gram positivos (*S. aureos* (Sa.) y *B. subtilis* (Bs)), se presentó la mayor inhibición al 25 % con relación al control positivo (Gentamicina 10 µg) en los extractos de la cáscara (CM1, CM2, CM3) para la concentración más alta; mientras que la inhibición fue menor al 18% PRDZI en *S. aureus* a 20 µg en la pulpa (PM2 y PM3).

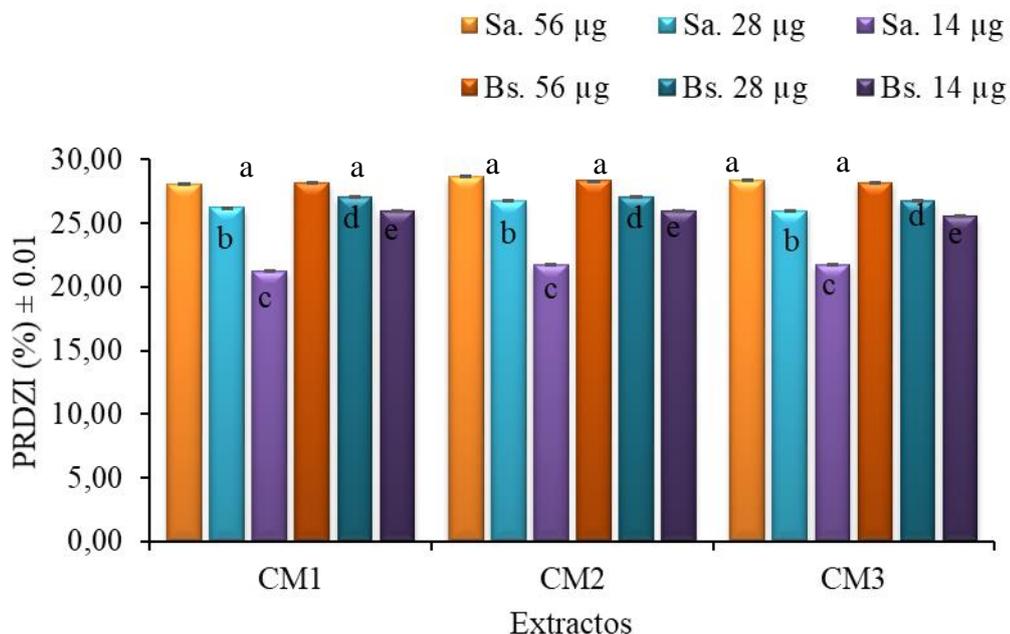


**Figura 6.** Distribución de la actividad antibiótica presentada en *S. aureos* (Sa.) y *B. subtilis* (Bs.) con relación al control positivo (Gentamicina 10 µg) presente en cáscara (C) y pulpa (P) de *P. edulis* en tres estadios de maduración (M1: premaduro, M2: maduro y M3: postmaduro) a tres concentraciones determinadas por el método de Kirby-Bauer. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Nota: Fuente propia de la investigación.

Una segunda prueba de antibiograma fue realizada aumentando las concentraciones (56 µg, 28 µg y 14 µg) de los extractos de cáscara (CM1, CM2 y CM3), para confirmar la actividad antibiótica de las cáscaras de maracuyá; rectificando que las mismas no presentaban acción antibacteriana sobre las bacterias gram negativas (*E. coli* y *P. fluorescens*) en este estudio. Sin embargo, es claro que existe una relación proporcional entre el aumento de la concentración del extracto y el % de PRDZI sobre ambas bacterias (*S. aureos* y *B. subtilis*) alcanzando un valor de PRDZI del 28 % con relación al control positivo (Gentamicina 10 µg), pero sin diferencias significativas entre bacterias a la misma concentración del extracto (figura 7).

La ausencia de inhibición de los extractos sobre las bacterias gram negativas puede deberse a que la concentración del extracto utilizado no fue suficiente, ya que la actividad antibiótica reportada por He et al. (2020) y Dzutam et al. (2016) sobre *P. edulis* mediante un extracto metanólico de su pericarpio refiere concentraciones inhibitorias mínimas (CMI) que oscilan entre 128 y 1024 µg / mL para la inhibición de

*E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *P. aeruginosa*, entre otras. Por otro lado, la inhibición de las bacterias gram positivas (*S. aureus* y *B. subtilis*) a las concentraciones propuestas se puede explicar con base en la sencillez de la estructura de su pared celular, ya que estas bacterias poseen una capa gruesa de peptidoglucano que recubre la membrana citoplasmática, mientras que las bacterias gram negativas poseen una membrana externa que recubre los peptidoglucanos; volviéndola más resistente (Silva et al., 2018).



**Figura 7.** Distribución de la actividad antibiótica presentada en *S. aureus* (Sa.) y *B. subtilis* (Bs.) con relación al control positivo (Gentamicina 10 µg) presente en cáscara (C) (P) de *P. edulis* en tres estadios de maduración (M1: premaduro, M2: maduro y M3: postmaduro) a tres concentraciones determinadas por el método de Kirby-Bauer. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey,  $p < 0,05$ ). Nota: Fuente propia de la investigación.

En relación con la limitada inhibición presentada por las muestras de pulpa (PM3, PM2, PM3), podría estar asociado de igual manera a la concentración utilizada en estas (20 µg) ya que Rizwana et al. (2019) reportaron para extractos de pulpa en acetona, halos de inhibición de  $15,00 \pm 0,81$  mm para *S. aureus*,  $17,33 \pm 0,94$  mm para *B. subtilis*,  $14,00 \pm 0,81$  mm en *E. coli* y  $18,66 \pm 0,47$  mm en *P. aeruginosa*, utilizando una concentración del extracto (128 mg/mL). Finalmente, con relación a los extractos de 56 µg en cascará sobre *S. aureus* en promedio los halos de inhibición fueron  $6,60 \pm 0,02$  mm y para *B. subtilis* de  $6,10 \pm 0,01$  mm; mientras que Rizwana et al. (2019) reportó valores de  $8,00 \pm 0,00$  mm y  $11,66 \pm 0,47$ , respectivamente; lo que supone que aunque se presentó un aumento en la inhibición al aumentar la concentración del extracto, la concentración usada es insuficiente para generar una diferencia notoria en la inhibición de las bacterias.

En efecto, el extracto requiere una concentración mínima inhibitoria (CMI) que le permita inhibir el crecimiento bacteriano, es por esto que para el caso de *S. aureus* la inhibición se presenta a partir de los 20 µg siendo concordante con lo reportado por dos Santos et al. (2020) en una CMI de 15,62 µg/mL para esta bacteria. Otros estudios reportan halos de inhibición de 7-9 mm para bacterias como *S. aureus*, *B. subtilis* y *E. coli* utilizando extracto cloroformo y una concentración de 500 µg (Ripa et al., 2009).

## Conclusiones

Las condiciones óptimas para lograr un máximo rendimiento de extracción de polifenoles totales en *P. edulis* se alcanzan utilizando una mezcla de acetona:agua en proporción 7:3 como disolvente, y un máximo de tres extracciones sucesivas con volúmenes equivalentes.

La composición de metabolitos secundarios presentes en el fruto y cáscaras de maracuyá es muy diversa, siendo el grupo mayoritario los polifenoles.

La parte del fruto que contiene mayor potencial en el posible uso y aprovechamiento farmacológico, a fin de dar valor agregado a la producción de maracuyá, es la cáscara. Esto debido a que presentó mayor contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante que la pulpa, planteándose que como desecho agroindustrial existen alternativas de aprovechamiento que contribuyen a la economía circular de la *P. edulis*.

Una buena parte de la capacidad antioxidante de los extractos de maracuyá se debe a los polifenoles presentes en pulpa y cáscaras, sin excluir otros componentes con esta actividad. Para los mismos se encontró una relación directa entre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante lo cual sustenta la afirmación.

El contenido de polifenoles totales es afectado por el estado de maduración con una relación inversamente proporcional en pulpa y de manera menos marcada en cáscara. No obstante, el efecto antioxidante de manera global no se afecta de manera significativa por el estado de maduración, aspecto que constituye una ventaja en el uso de los desechos de la cáscara en cualquier etapa del proceso.

Los frutos de maracuyá, particularmente la cáscara, son una fuente alternativa en la búsqueda de nuevos componentes antibióticos naturales contra bacterias gram positivas, no así sobre gram negativas en las cuales el efecto fue muy pobre sobre las cepas utilizadas.

## Agradecimientos

Esta investigación fue desarrollada gracias al apoyo brindado por el Laboratorio de Docencia en Química Industrial (LADOQUI) de la Sede Interuniversitaria de Alajuela y el Laboratorio de Fitoquímica (LAFIT) de la Sede Central de la Universidad Nacional, por facilitar el uso de sus instalaciones y equipos. El primer autor agradece el apoyo a G. Coto-Marín por su colaboración en la colecta y transporte del material. Este trabajo es parte de los requisitos de graduación del programa de Maestría Académica en Manejo de Recursos Naturales de la Universidad Estatal a Distancia de Costa Rica.

## Conflicto de intereses

Los autores manifiestan no tener algún conflicto de interés, así como que no se recibió apoyo económico que pueda ocasionar algún conflicto ético en los resultados del estudio.

## Declaración de disponibilidad de los datos

Los datos que respaldan los resultados de este estudio serán puestos a disposición por el autor correspondiente [M.Q.C.], previa solicitud razonable.

## Referencias

- Álvarez, R., Araya, H., Navarro-Lisboa, R., & Lopez de Dicastillo, C. (2016). Evaluation of Polyphenols and Antioxidant Capacity of Fruits and Vegetables Using a Modified Enzymatic Extraction Method. *Food Technology and Biotechnology*, 54(4), 462. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.04.16.4497>
- Barbieri, R., Coppo, E., Marchese, A., Daglia, M., Sobarzo-Sánchez, E., Nabavi, S. F., & Nabavi, S. M. (2017). Phytochemicals for human disease: An update on plant-derived compounds antibacterial activity. *Microbiological Research*, 196, 44–68. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.12.003>
- Barragán, A. D., & Galarza, L. M. (2020). *Estudio comparativo de polifenoles totales y actividad antioxidante en extractos acuoso y etanólico de la cáscara de la fruta Salacca zalacca (salak)* [Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas]. [www.fcq.edu.ec](http://www.fcq.edu.ec)
- Barragán, M., Aro, J. M., HuamanI, J., & Cartagena, R. (2016). Antocianinas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del mio-mio (*Coriaria ruscifolia* L.). *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 18(4), 419–428. <https://doi.org/10.18271/ria.2018.419>
- Bernal, M., & Guzmán, M. (1984). El Antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-bauer. *Biomédica*, 4(3–4), 112. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v4i3-4.1891>
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. En *World Allergy Organization Journal* (Vol. 5, Número 1, pp. 9–19). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Carranza, D. E., Elaine, D., Aquila, J., & Huayanay, J. A. (2009). Determinación de metabolitos secundarios del talloUTORES: ASESOR de *Croton alnifolius* L. En *Universidad Nacional de Trujillo*. Universidad Nacional de Trujillo.
- Carvajal, L., Hata, Y., Sierra, N., & Rueda, D. (2009, diciembre). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de Cupatá (*Strychnos schulesiana* KRUKOFF). *Revista Colombia Forestal*, 161–170. <http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v12n1/v12n1a11.pdf>
- Carvajal, L. M., Turbay, S., Álvarez, L. M., Alvarez, M., Bonilla, K., & Restrepo, S. (2014). Propiedades funcionales y nutricionales de seis especies de *Passiflora* (Passifloraceae) del Departamento del Huila, Colombia. *Caldasia*, 36, 1–15. [https://www.researchgate.net/publication/273131031\\_PROPIEDADES\\_FUNCIONALES\\_Y\\_NUTRICIONALES\\_DE\\_SEIS\\_ESPECIES\\_DE\\_PASSIFLORA\\_PASSIFLORACEAE\\_DEL\\_DEPARTAMENTO\\_DEL\\_HUILA\\_COLOMBIA](https://www.researchgate.net/publication/273131031_PROPIEDADES_FUNCIONALES_Y_NUTRICIONALES_DE_SEIS_ESPECIES_DE_PASSIFLORA_PASSIFLORACEAE_DEL_DEPARTAMENTO_DEL_HUILA_COLOMBIA) Funcional\_and\_nutritional\_properties\_of\_six\_species\_of\_Passiflora\_Passiflorac
- Cazarin, C. B. B., Da Silva, J. K., Colomeu, T. C., Zollner, R. de L., & Maróstica Junior, M. R. (2014). Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). *Ciencia Rural*, 44(9), 1699–1704. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20131437>

- CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria, & y Forestal). (2010). *Guía Técnica del Cultivo de la Maracuyá*. [http://centa.gob.sv/docs/guias/frutales/GUIA\\_MARACUYA\\_2011.pdf](http://centa.gob.sv/docs/guias/frutales/GUIA_MARACUYA_2011.pdf)
- Chaparro-Rojas, D. C., Maldonado, M. E., Franco-Londoño, M. C., & Urango-Marchena, L. A. (2014). Características nutricionales y antioxidantes de la fruta curuba larga (*Passiflora mollissima* Bailey). *Perspectivas en Nutrición Humana*, 16(2), 203–212. <https://doi.org/10.17533/udea.penh.v16n2a07>
- Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E., & García-Villanova, B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*, 44(7), 2047–2053. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.003>
- da Silva, J. K., Cazarin, C. B. B., Colomeu, T. C., Batista, Â. G., Meletti, L. M. M., Paschoal, J. A. R., Bogusz Júnior, S., Furlan, M. F., Reyes, F. G. R., Augusto, F., Maróstica Júnior, M. R., & de Lima Zollner, R. (2013). Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: In vitro and in vivo study. *Food Research International*, 53(2), 882–890. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.043>
- De Souza, C. G., Rodrigues, T. H., Ma E Silva, L., Ribeiro, P. R., & De Brito, E. S. (2017). *Sequential extraction of flavonoids and pectin from yellow passion fruit rind using pressurized solvent or ultrasound*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8601>
- dos Santos, R. M., Costa, G., Cerávolo, I. P., & Dias-Souza, M. V. (2020). Antibiofilm potential of *Psidium guajava* and *Passiflora edulis* pulp extracts against *Staphylococcus aureus*, cytotoxicity, and interference on the activity of antimicrobial drugs. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00056-8>
- Dzotam, J. K., Touani, F. K., & Kuete, V. (2016). Antibacterial and antibiotic-modifying activities of three food plants (*Xanthosoma mafaffa* Lam., *Moringa oleifera* (L.) Schott and *Passiflora edulis* Sims) against multidrug-resistant (MDR) Gram-negative bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-0990-7>
- Erb, M., & Kliebenstein, D. J. (2020). Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy1[OPEN]. En *Plant Physiology* (Vol. 184, Número 1, pp. 39–52). American Society of Plant Biologists. <https://doi.org/10.1104/PP.20.00433>
- Escobedo, G. (2013). *Valorización de la cáscara de Maracuyá (Passiflora edulis F. flavicarpa Deg.) como sub producto para obtener pectina usando como agente hidrolizante ácido cítrico*. Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo.
- FAO. (2015). *La FAO y los 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible*. <http://www.fao.org/3/i4997s/i4997s.pdf>
- Fernández-Pachón, M. S., Villaño, D., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C. (2006). Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 56(2). [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222006000200002](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222006000200002)
- Ferreira, J. S., dos Santos, A. M., Moreira, R., Fernández, P. R., Gomes, T., de Araújo Júnior, R. F., Pereira, E., Peporine, N., De Santis, L., Gavioli, E. C., da Silva Júnior, A. A., & Zucolotto, S. M. (2020). In Vivo Antidepressant Effect of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* into Cationic Nanoparticles: Improving Bioactivity and Safety. *Pharmaceutics*, 12(4), 383. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12040383>

- Gomes, S. V. F., Portugal, L. A., dos Anjos, J. P., de Jesus, O. N., de Oliveira, E. J., David, J. P., & David, J. M. (2017). Accelerated solvent extraction of phenolic compounds exploiting a Box-Behnken design and quantification of five flavonoids by HPLC-DAD in Passiflora species. *Microchemical Journal*, *132*, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.12.021>
- González, L., Álvarez, A., Murillo, E., Guerra, C., & Méndez, J. (2019). Potential uses of the peel and seed of Passiflora edulis sims f. Edulis (gulupa) from its chemical characterization, antioxidant, and antihypertensive functionalities. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, *104–112*. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i10.33828>
- Gutiérrez, D. M., Ortiza, C. A., & Mendoza, A. (2008). *Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal*. [https://www.cenam.mx/simposio2008/sm\\_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf](https://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf)
- He, X., Luan, F., Yang, Y., Wang, Z., Zhao, Z., Fang, J., Wang, M., Zuo, M., & Li, Y. (2020). Passiflora edulis: An Insight Into Current Researches on Phytochemistry and Pharmacology. *Frontiers in Pharmacology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00617>
- Hudzicki, J. (2009). *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3189;jsessionid=1UGMt6d1FOvjZmlGPNslx617.x-asm-books-live-01>
- Iglesias-Carres, L., Mas-Capdevila, A., Bravo, F. I., Aragonès, G., Muguerza, B., & Arola-Arnal, A. (2019). Optimization of a polyphenol extraction method for sweet orange pulp (Citrus sinensis L.) to identify phenolic compounds consumed from sweet oranges. *PLoS ONE*, *14*(1), e0211267. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211267>
- Infante, F. S. (2016). La importancia de los factores productivos y su impacto en las organizaciones agrícolas en león Guanajuato México. *AGO.USB Medellín-Colombia*, *16*(2), 359–678. <http://www.scielo.org.co/pdf/agor/v16n2/v16n2a03.pdf>
- Jibaja, M. G., & Tuitice, A. E. (2021). *Antocianinas y su aplicación como colorantes naturales para alimentos* [Quito: UCE]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/22622>
- Jones, A. D., & Ejeta, G. (2015). A new global agenda for nutrition and health: the importance of agriculture and food systems. *Bulletin of the World Health Organization*, *94*(3), 228–229. <https://doi.org/10.2471/BLT.15.164509>
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., & Dietz, K.-J. (2019). The Role of the Plant Antioxidant System in Drought Tolerance. *Antioxidants*, *8*(4), 94. <https://doi.org/10.3390/antiox8040094>
- Ley para la Gestión Integral de Residuos N° 8839, (2010). [http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=68300&nValor3=83024](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?param1=NRTC&nValor1=1&nValor2=68300&nValor3=83024)
- Leyva, D. E. (2009). *Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora* [Universidad Tecnológica de la Mixteca]. [http://jupiter.utm.mx/~tesis\\_dig/10876.pdf](http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10876.pdf)
- López, M. (2002, abril). *Flavonoides*. *Ámbito Farmacéutico*. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13028951>
- López, P. (2015). *Determinación de la capacidad antioxidante de Sambucus ebulus L. utilizando el método ORAC* [Universidad Complutense]. <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/PAULA LOPEZ MENDEZ.pdf>
- MAG. (1991). *Aspectos técnicos sobre cuarenta y cinco cultivos agrícolas de Costa*

- Rica (Dirección General de Investigación y Extensión Agrícola (ed.)). Ministerio de Agricultura y Ganadería.
- Martínez-González, M. E., Balois-Morales, R., Alia-Tejacal, I., Cortes-Cruz, M. A., Palomino-Hermosillo, Y. A., & López-Gúzman, G. G. (2017). Poscosecha de frutos: maduración y cambios bioquímicos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 19(12), 4075–4087. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263153823018>
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, 135(3), 1520–1526. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.057>
- Mesén-Mora, L. D., Carvajal-Miranda, Y., Álvarez-Valverde, V., & Rodríguez-Rodríguez, G. (2019). Bioprospecting study, antibiotic and antioxidant activity of the santol's fruit (*Sandoricum koetjape*). *Uniciencia*, 33(1), 75–82. <https://doi.org/10.15359/ru.33-1.6>
- Nasr, A., Zhou, X., Liu, T., Yang, J., & Zhu, G. P. (2019). Acetone-water mixture is a competent solvent to extract phenolics and antioxidants from four organs of *Eucalyptus camaldulensis*. *Turkish Journal of Biochemistry*, 44(3), 231–239. <https://doi.org/10.1515/tjb-2018-0438>
- Obregón, P., & Obregón, F. (2019). Obtaining a freeze-dried food based on passion fruit (*Passiflora edulis*) and camu camu (*Myrciaria dubia*). *Journal of Agro-Industry Sciences*, 1(1), 17–24. <https://doi.org/10.17268/jais.2019.003>
- Oliveira, D. A., Angonese, M., Gomes, C., & Ferreira, S. R. S. (2016). Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by-products: Sustainable recovery and biological activities. *Journal of Supercritical Fluids*, 111, 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.01.010>
- Oyola, L. D. (2016). Composición fitoquímica y actividad antioxidante del fruto de melocactus peruvianus. *Universidad César Vallejo*. <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/630>
- Paredes, H. S. (2019). Cuantificación de antocianinas por el método de pH diferencial del fruto de la uva Isabella (*Vitis labrusca*) procedente del distrito de San Antonio de Cumbaza [Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto]. En *Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto*. <http://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/3125>
- Parrales, J. A., & Peralta, N. C. (2020). *Evaluación de polifenoles totales y actividad antioxidante en extracto etanólico de cáscaras de Passiflora edulis (maracuyá) y Passiflora ligularis (granadilla)* [Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas]. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/49319>
- Pechlaner, G. (2010). The sociology of agriculture in transition: The political economy of agriculture after biotechnology. *Canadian Journal of Sociology*, 35(2), 243–270. <https://doi.org/10.29173/cjs5114>
- Prasad, R., Bhattacharyya, A., & Nguyen, Q. D. (2017). Nanotechnology in sustainable agriculture: Recent developments, challenges, and perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 8(JUN), 1014. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01014>
- Pratima, H. (2019). Antioxidant and antibacterial activity of alkaloid extract of *Cucumis trigonus* ROXB. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 44–48. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2019v11i4.27071>
- Ramaiya, S. D., Bujang, J. B., Zakaria, M. H., & Saupi, N. (2019). Nutritional, mineral and organic acid composition of passion fruit (*Passiflora* species). *Food Research*,

- 3(3), 231–240. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.3\(3\).233](https://doi.org/10.26656/fr.2017.3(3).233)
- Ripa, F., Haque, M., & Nahar, L. (2009). *Antibacterial, Cytotoxic and Antioxidant Activity of Passiflora Edulis Sims*.
- Rizwana, H., Otibi, F. Al, & Al-Malki, N. (2019). Chemical composition, FTIR Studies and Antibacterial Activity of *Passiflora edulis* f. *Edulis* (Fruit). *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(4), 2489–2498. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.4.64>
- Robles-García, M. A., Aguilar, A. J., Gutiérrez-Lomelí, M., Rodríguez-Félix, F., Morales- Del-Río, J. A., Guerrero-Medina, P. J., Madrigal-Pulido, J. A., & Del-Toro-Sánchez, C. L. (2016). Identificación cualitativa de metabolitos secundarios y determinación de la citotoxicidad de extractos de tempisque (*Sideroxylum capiri* PITTIER). *Biocencia*, 18(3), 3–8. <https://doi.org/10.18633/biocencia.v18i3.328>
- Rojano, B. A., Zapata, K., & Costes, F. (2012). Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(4), 408–419. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1028-47962012000400012&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1028-47962012000400012&lng=es&nrm=iso)
- Sabogal-Palma, A. C., Chávez-Marín, J., Oliveros-Gómez, D. F., Murillo-Perea, E., & Méndez-Arteaga, J. J. (2016). Funcionalidades biológicas de *Passiflora maliformis* del sur macizo colombiano. *Bioagro*, 28(1), 3–12. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85744678001>
- San Román, D. A. (2017). *Desarrollo de un método espectrofotométrico para la detección de alcaloides pirrolizidínicos (pas) en mieles y polen de plantas melíferas de la Península de Yucatán* [Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología Y Diseño del Estado de Jalisco, A. C.]. <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/66/1/DanielArmandoSanRománAvila.pdf>
- Silva, S. R., Souza, F. M. de, & Espinheira, M. J. C. L. (2018). Avaliação da Atividade Antibacteriana do Óleo Essencial das Sementes de *Passiflora edulis* Sims Frente às Bactérias Gram Positivas e Gram Negativas. *ID on line REVISTA DE PSICOLOGIA*, 13(43), 1003–1017. <https://doi.org/10.14295/idonline.v13i43.1574>
- Sousa, M. S. B., Júnior, J. M. L., & de Souza Buarque, D. (2019). Optimization of the Extraction of Polyphenols and Antioxidant Capacity from *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth Fruit by Response Surface Methodology. En *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.83457>
- Souza do Nascimento, M. C. B., & dos Santos Gama, C. Q. (2015). Estudo fitoquímico do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims forma *flavicarpa* O. Deg. - Passifloraceae) e perfil cromatográfico de sucos de maracujá. | Nascimento | *Revista Eletrônica Perspectivas da Ciência e Tecnologia* - ISSN: 1984-5693. *Perspectivas da Ciência e Tecnologia*, 7(1), 16–31. <https://revistascientificas.ifrj.edu.br/revista/index.php/revistapct/article/view/517>
- Syedd-León, R., Orozco, R., Álvarez, V., Carvajal, Y., & Rodríguez, G. (2020). Chemical and Antioxidant Charaterization of Native Corn Germplasm from Two Regions of Costa Rica: A Conservation Approach. *International Journal of Food Science*, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2020/2439541>
- Thawabteh, A., Juma, S., Bader, M., Karaman, D., Scrano, L., Bufo, S., & Karaman, R. (2019). The Biological Activity of Natural Alkaloids against Herbivores, Cancerous Cells and Pathogens. *Toxins*, 11(11), 656. <https://doi.org/10.3390/toxins11110656>

- Torres, R., Montes, E. J., Pérez, O. A., & Andrade, R. D. (2013). Relación del Color y del Estado de Madurez con las Propiedades Fisicoquímicas de Frutas Tropicales. *Información tecnológica*, 24(3), 51–56. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642013000300007>
- Ulloa, E. (2017). *Oportunidades de comercialización de productos agrícolas incipientes*. [http://servicios.procomer.go.cr/aplicacion/civ/documentos/Oportunidades de comercializacion de productos agricolas incipientes-Informe.pdf](http://servicios.procomer.go.cr/aplicacion/civ/documentos/Oportunidades_de_comercializacion_de_productos_agricolas_incipientes-Informe.pdf)
- Uribe, J. A. (2016). *Estudio de prefactibilidad para la instalación de una empresa productora de granada (Punica granatum l. Var. Wonderful) para su comercialización en el mercado internacional* [Universidad Nacional Agraria La Molina]. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2726>
- Valencia, E. F., Mac Donald, D., Cuyos, M., & Dueñas, R. (2005). Extracción, identificación y evaluación de saponinas en *Agaricus bisporus*. *Biotempo*, 5, 31–36. <https://www.urp.edu.pe/pdf/id/2225/n/pdf>
- Vuolo, M. M., Lima, G. C., & Maróstica Junior, M. R. (2019). Passiflora edulis peel flour and health effects. En *Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention* (pp. 249–258). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00020-4>
- Wadhawan, N., & Kaur, J. (2019). Importance of agriculture intervention in improving nutritional status of women and children: An Indian scenario. *The Pharma Innovation Journal*, 8(12), 387–393. <http://www.thepharmajournal.com>
- Xia, X., & Ruan, J. (2020). Analyzing Barriers for Developing a Sustainable Circular Economy in Agriculture in China Using Grey-DEMATEL Approach. *Sustainability*, 12(16), 6358. <https://doi.org/10.3390/su12166358>
- Xu, M., Li, A., Teng, Y., & Sun, Z. (2019). Exploring the adaptive mechanism of *Passiflora edulis* in karst areas via an integrative analysis of nutrient elements and transcriptional profiles. *BMC Plant Biology*, 19(1), 185. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1797-8>
- Yepes, A., Ochoa-Bautista, D., Murillo-Arango, W., Quintero-Saumeth, J., Bravo, K., & Osorio, E. (2021). Purple passion fruit seeds (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) as a promising source of skin anti-aging agents: Enzymatic, antioxidant and multi-level computational studies. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(1), 102905. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.11.011>
- Zapata, S., Piedrahita, A. M., & Rojano, B. (2014). Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic content of fruits and vegetables from Colombia. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 16(1), 25–36. [https://www.researchgate.net/publication/317504243\\_Oxygen\\_radical\\_absorbance\\_capacity\\_ORAC\\_and\\_phenolic\\_content\\_of\\_fruits\\_and\\_vegetables\\_from\\_Colombia](https://www.researchgate.net/publication/317504243_Oxygen_radical_absorbance_capacity_ORAC_and_phenolic_content_of_fruits_and_vegetables_from_Colombia)
- Zuorro, A., Iannone, A., & Lavecchia, R. (2019). Water-organic solvent extraction of phenolic antioxidants from brewers' spent grain. *Processes*, 7(3), 126. <https://doi.org/10.3390/pr7030126>

## Conclusiones y Recomendaciones

### Conclusiones

Las condiciones óptimas encontradas para lograr un máximo rendimiento de extracción de polifenoles totales en las muestras de cáscara y pulpa de *P. edulis* se alcanzan utilizando una mezcla de acetona:agua en proporción 7:3 como disolvente, y un máximo de tres extracciones sucesivas con volúmenes equivalentes.

La composición de metabolitos secundarios presentes en el fruto y cáscaras de maracuyá es muy diversa, siendo el grupo mayoritario los polifenoles.

La parte del fruto que contiene mayor potencial en el posible uso y aprovechamiento farmacológico, a fin de dar valor agregado a la producción de maracuyá, es la cáscara. Esto debido a que presentó mayor contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante que la pulpa, planteándose que como desecho agroindustrial existen alternativas de aprovechamiento que contribuyen a la economía circular de *la P. edulis*.

Una buena parte de la capacidad antioxidante de los extractos de maracuyá se debe a los polifenoles presentes en pulpa y cáscaras, sin excluir otros componentes con esta actividad. Para los mismos se encontró una relación directa entre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante lo cual sustenta la afirmación.

El contenido de polifenoles totales es afectado por el estado de maduración con una relación inversamente proporcional en pulpa y de manera menos marcada en cáscara. No obstante, el efecto antioxidante de manera global no se afecta de manera significativa por el estado de maduración, aspecto que constituye una ventaja en el uso de los desechos de la cáscara en cualquier etapa del proceso.

Los frutos de maracuyá, particularmente la cáscara, son una fuente alternativa en la búsqueda de nuevos componentes antibióticos naturales contra bacterias gram positivas, no así sobre gram negativas en las cuales el efecto fue muy pobre sobre las cepas utilizadas.

En general se considera que las cáscaras que son actualmente un desecho vegetal en la comercialización de este fruto poseen componentes bioactivos antioxidantes y antibióticos de importancia que pueden ser aprovechados en la fabricación de subproductos farmacológicos y/o en alimentos funcionales; de forma que se innové en estrategias de producción y a su vez se fortalezca la economía circular del país.

### Recomendaciones

La presencia y cantidad de compuestos bioactivos presentes en la fruta de *P. edulis* respalda la utilización de los desechos actuales de la fruta (cáscara) como componentes claves para la fabricación de nuevos subproductos de esta. Con base en esto se recomienda realizar pruebas a mayor escala para el aprovechamiento de estos recursos.

Se recomienda profundizar en el análisis de compuestos fenólicos del *P. edulis*, incluyendo cultivos de otras áreas del país, de manera que se puede comparar entre cultivos y se determine las diferencias en la generación de compuestos bioactivos a raíz de las diferencias ambientales de estos (suelos, clima, humedad y nutrientes del suelo).

Para ampliar el perfil metabólico de los frutos de *P. edulis*, se recomienda continuar con los análisis de antocianinas y aminoácidos, de manera que se pueda conocer la calidad de los frutos cultivados en el país y esto sirva como herramienta de proyección comercial hacia mercados especializados.

A raíz de los datos presentados en los antibiogramas, se recomienda elevar la concentración de las muestras a una escala de dosis de 100, 300, 600, 900 y 1200 µg con el fin de confirmar las propiedades bactericidas de las muestras de la fruta de *P. edulis*, tanto en gram positivas como en gram negativas.

Con base en los resultados obtenidos, se recomienda la utilización de la cáscara de maracuyá para la extracción de los compuestos fenólicos, y su explotación hacia mercados especializados en la elaboración de harinas, geles, y /o encapsulados nutracéuticos, cosméticos, fármacos o alimentos con altos contenidos de polifenoles y antioxidantes.

## Anexos

ANEXO 1: Muestras de los estados de maduración de los frutos de *P. edulis* utilizados en este estudio.



Figura 1. Estado de premaduro del fruto de maracuyá. Nótense la coloración de las cáscaras y el grosor del endocarpio (capa blanca alrededor de la pulpa y las semillas).



Figura 2. Estado de maduro del fruto de maracuyá. Nótense la coloración de las cáscaras, la reducción del endocarpio, el volumen y la turgencia del arilo (bolsa jugosa que contiene la pulpa y las semillas).



Figura 3. Estado de prostrmaduro del fruto de maracuyá. Nótese el hundimiento de las cáscaras y la disminución en el volumen del arilo.

ANEXO 2: Datos cualitativos de los metabolitos secundarios positivos en las muestras de cáscara y pulpa de *P. edulis*.



Figura 4. Reconocimiento cualitativo de la presencia de triterpenos en las muestras de cáscara postmadura. La prueba se considera positiva si existe presencia de colores verde, azul, rojo o violeta durante la interfase al agregarle el  $H_2SO_4$  en la reacción de Liebermann-Burchard.

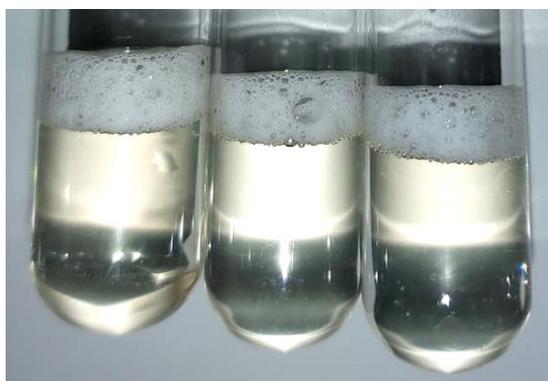


Figura 5. Reconocimiento cualitativo de la presencia de saponinas en las muestras de cáscara premadura. La formación de espuma con apariencia de panal de abeja estable por unos 30 minutos se considera positivo para la prueba de espuma.



Figura 6. Reconocimiento cualitativo de la presencia de flavonoides en las muestras de cáscara premadura. La aparición de colores como naranja, rojo, violeta ó rosado demuestran la presencia de flavonona en la prueba de Shinoda.



Figura 7. Reconocimiento cualitativo de la presencia de antocianinas en las muestras de cáscara madura. Se compararon tres muestras con adición de ácidos y/o bases a los cuales se les midió el pH a través de tiras de pH Fermont. Las antocianinas se reconocen por producir diferentes colores a diferentes pH.

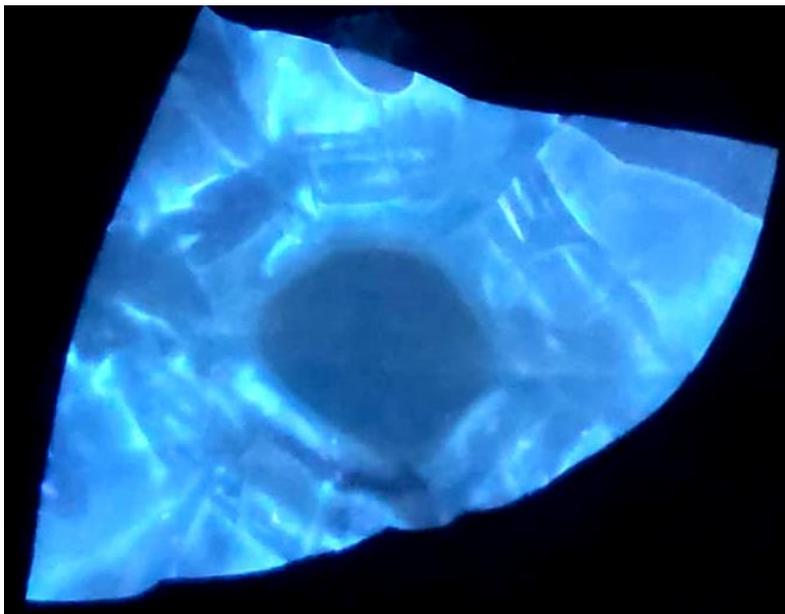


Figura 8. Reconocimiento cualitativo de la presencia de cumarinas en las muestras de cáscara premadura. Observación visual del papel filtro en cámara de luz ultravioleta con lámpara con una longitud de onda de 365 nm. La aparición de manchas con coloración fluorescente (azul, verde, amarilla o roja), denota positivo para esta prueba.

ANEXO 3: Valores promedios de absorbancia y desviación estándar de los extractos de cáscara (C) y pulpa de *P. edulis*, leídos en lector de microplacas a 755 nm para la determinación de polifenoles totales (PFT).

Cuadro 1. Valores promedios de concentración y desviación estándar de los extractos de cáscara (C) y pulpa (P) por estado premaduro (M1), maduro (M2) y postmaduro (M3) según el solvente usado (S1: agua, S2: acetona-agua (7:3), S3: etanol: agua (7:3) y S4: etanol 95 %) leídos en lector de microplacas a 755 nm.

<b>Extracto</b>	<b>mg/mL EAG</b>	<b>DS</b>
CM1S1	6,57	0,61
CM1S2	4,70	0,53
CM1S3	2,37	0,08
CM1S4	2,20	0,13
CM2S1	0,21	0,02
CM2S2	6,30	0,15
CM2S3	3,54	0,22
CM2S4	1,98	0,12
CM3S1	2,44	0,36
CM3S2	2,08	0,28
CM3S3	2,37	0,08
CM3S4	1,88	0,06
PM1S1	3,01	0,38
PM1S2	2,15	0,07
PM1S3	6,89	3,44
PM1S4	3,73	0,41
PM2S1	7,63	0,03
PM2S2	2,03	0,09
PM2S3	7,06	0,65
PM2S4	4,38	0,23
PM3S1	6,46	0,55
PM3S2	4,53	0,69
PM3S3	-	-
PM3S4	3,84	0,58

Cuadro 2. Valores promedios de concentración y desviación estándar de los extractos de cáscara (C) y pulpa (P) en estado premaduro (M1), según número de extracciones (E1: 1 extracción, E2: 2 extracciones, E3: 3 extracciones, E4: 4 extracciones y E5: 5 extracciones) leídos en lector de microplacas a 755 nm.

<b>Extracto</b>	<b>mg/mL EAG</b>	<b>DS</b>
CM1E1	3,83	0,15
CM1E2	4,93	0,35
CM1E3	6,25	0,32
CM1E4	6,20	0,67
CM1E5	6,92	0,94
PM1E1	2,23	0,36
PM1E2	2,16	0,22
PM1E3	2,36	0,45
PM1E4	2,35	0,19
PM1E5	2,95	0,33

Cuadro 3. Valores promedios de concentración y desviación estándar de los extractos de cáscara (C) y pulpa (P) por estado premaduro (M1), maduro (M2) y postmaduro (M3) leídos en lector de microplacas a 755 nm.

<b>Extracto</b>	<b>mg/mL EAG</b>	<b>DS</b>
CM1	7,23	0,44
CM2	3,50	0,16
CM3	6,21	0,16
PM1	3,50	0,15
PM2	2,36	0,29
PM3	2,78	0,03

ANEXO 4: Curvas de calibración de ácido gálico por lector de microplacas a 755 nm para la cuantificación de polifenoles totales (PFT).

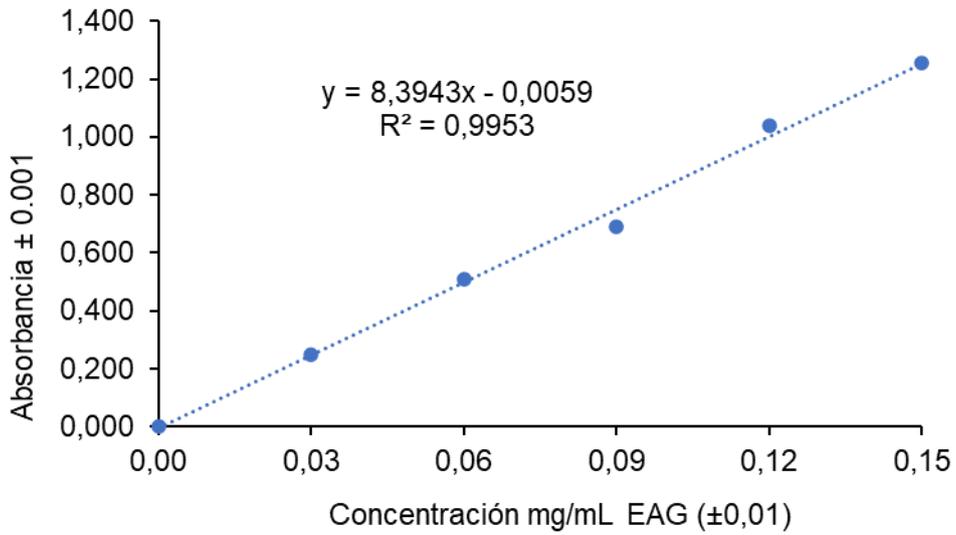


Figura 9. Curva de calibración de ácido gálico obtenido a través de un lector de microplacas para la determinación del mejor solvente de extracción.

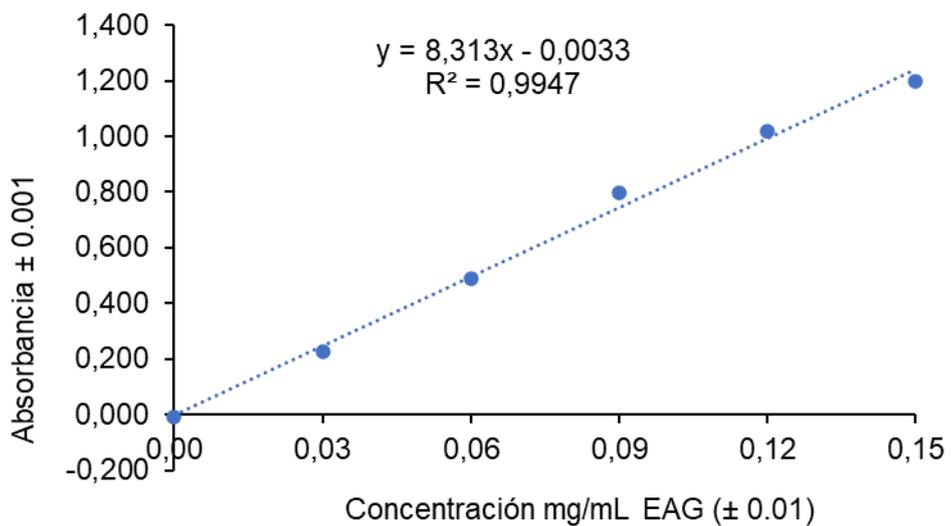


Figura 10. Curva de calibración de ácido gálico obtenido a través de un lector de microplacas para la determinación del número de extracciones óptimo.

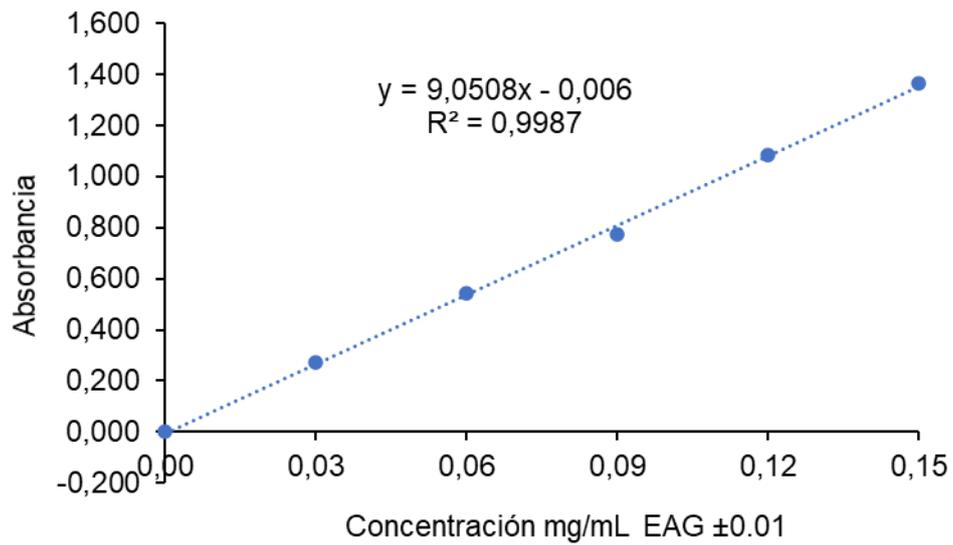


Figura 11. Curva de calibración de ácido gálico obtenido a través de un lector de microplacas para la determinación de la cantidad de polifenoles totales (PFT) en los extractos de *P. edulis*.

ANEXO 5: Valores promedios de absorbancia y desviación estándar de los extractos de cáscara (C) y pulpa de *P. edulis*, leídos en lector de microplacas por método ORAC para la determinación de la actividad antioxidante (AA).

Cuadro 4. Valores promedios de concentración y desviación estándar de los extractos de cáscara (C) y pulpa (P) por estado premaduro (M1), maduro (M2) y postmaduro (M3) microplacas por método ORAC.

Extracto	$\mu\text{mol ET/gMS}$	DS
CM1	2320,712	248,658
CM2	2071,593	227,004
CM3	2815,813	1136,271
PM1	1165,513	309,228
PM2	1279,606	551,135
PM3	831,932	47,201

ANEXO 6: Curvas de calibración de Trolox en buffer de fosfatos pH 4.5 para lectura en microplaca por método ORAC para la determinación de la cantidad de actividad antioxidante (AA) en los extractos de *P. edulis*

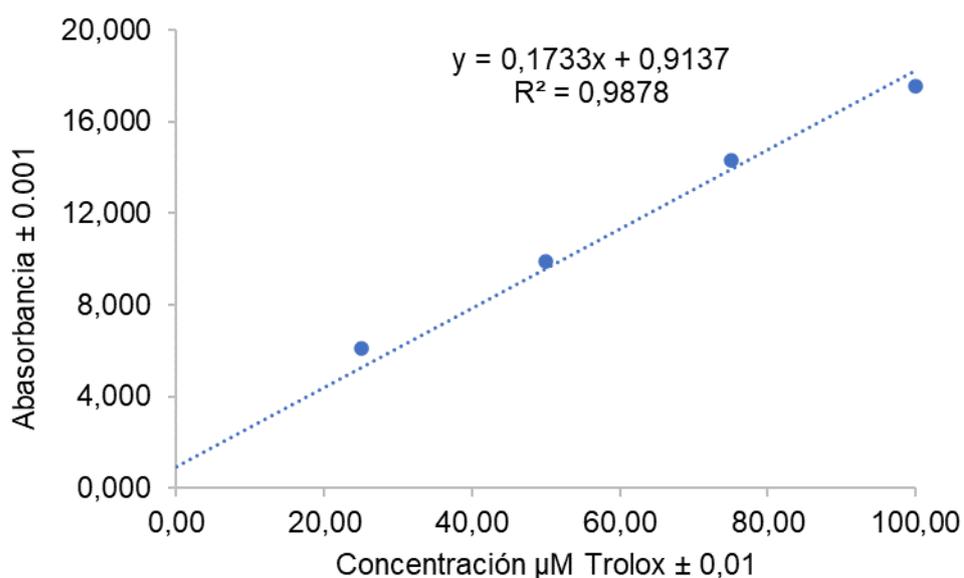


Figura 12. Curva de calibración de Trolox en buffer de fosfatos pH 4.5 para lectura en microplaca por método ORAC para la determinación de la cantidad de actividad antioxidante (AA) en los extractos de *P. edulis*. Placa 1 lectura de extractos CM1, PM1, CM2 y PM2.

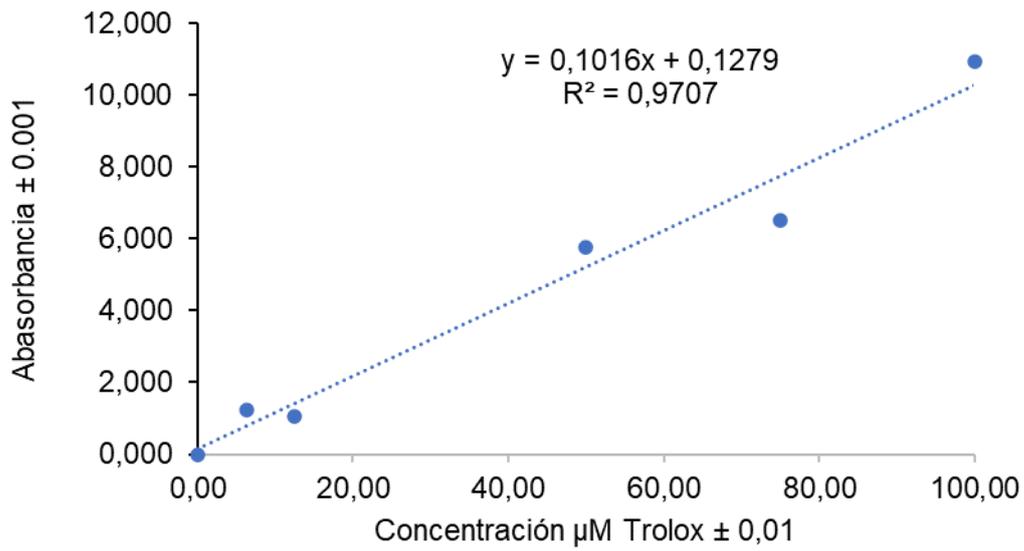


Figura 13. Curva de calibración de Trolox en buffer de fosfatos pH 4.5 para lectura en microplaca por método ORAC para la determinación de la cantidad de actividad antioxidante (AA) en los extractos de *P. edulis*. Placa 1 lectura de extractos CM3, PM3.

ANEXO 6: Observación de los halos de inhibición presentados en los extractos de cáscara y pulpa de la fruta de Maracuyá en bacterias gram negativas y gram positivas.

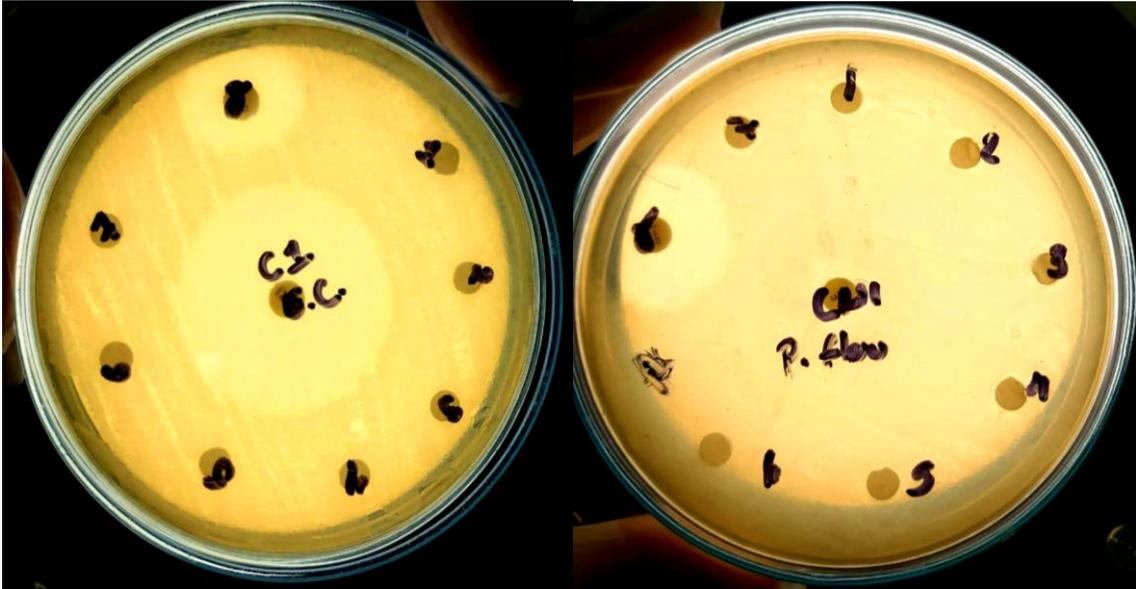


Figura 14. Antibiograma de bacterias gram negativas, placa izquierda corresponde a *E. coli* y placa derecha corresponde a *P. fluorescens*, ambas a una concentración del extracto de 20  $\mu$ g. Donde los números utilizados corresponden a: 1- CM1, 2-CM2, 3-CM3, 4-PM1, 5-PM2, 6-PM3, 7-Control negativo (solvente de extracción) y 8- Control positivo (Gentamicina 10  $\mu$ g).

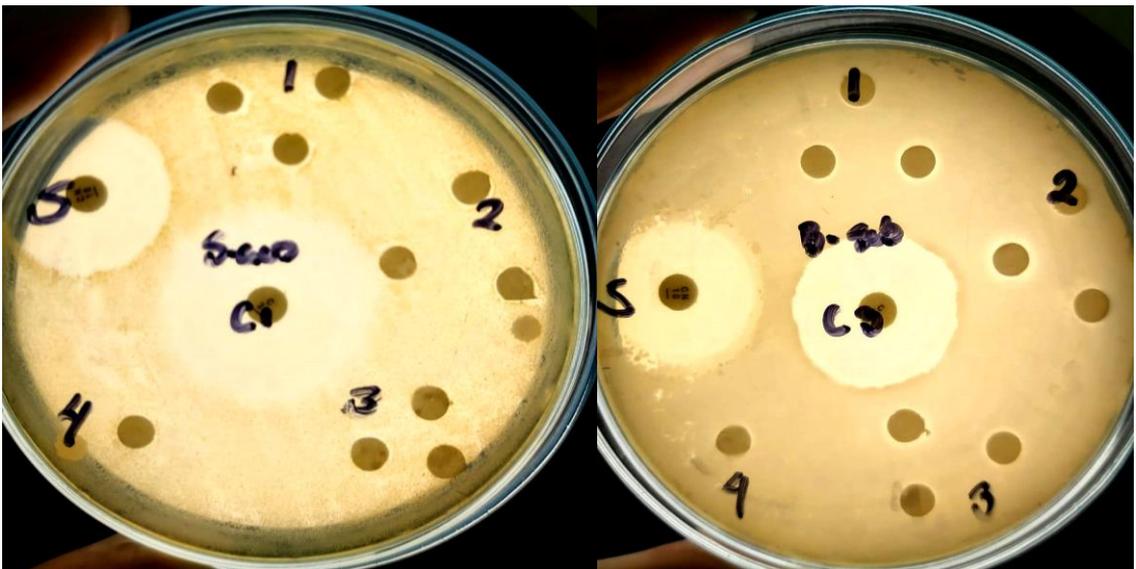


Figura 15. Antibiograma de bacterias gram positivas, placa izquierda corresponde a *S. aureus* y placa derecha corresponde a *B. subtilis*, ambas a una concentración del extracto de 56  $\mu$ g. Donde los números utilizados corresponden a: 1- CM1, 2-CM2, 3-CM3, 4-Control negativo (solvente de extracción) y 5- Control positivo (Gentamicina 10  $\mu$ g).

ANEXO 7: Carta de recepción de la revista científica UNICIENCIA.



UNA-UNICIENCIA-FCEN-CONS-034-2021

Pág 1

1 de julio de 2021

*Certificado de recepción*

Por medio de la presente, en calidad de director de la Revista Uniciencia certifico que el artículo:

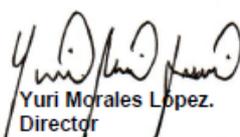
*Nombre del manuscrito: Capacidad antioxidante y antibiótica de frutos de Passiflora edulis (Maracuyá) en tres estadios de maduración*

*Autores: Mariela Quirós-Cubillo, Randall Syedd-León, Sandra Valdés-Díaz, Juan José Oviedo-Quirós, Víctor Álvarez-Valverde*

Fue recibido para valoración en nuestra revista el día 29 de junio de 2021, cumpliendo con todas las condiciones para la postulación de trabajos.

Este certificado de recepción no implica la publicación del manuscrito indicado.

Atentamente,

  
Yuri Morales Lopez.  
Director  
Revista Uniciencia  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.  
Universidad Nacional.  
86-3000, Heredia, Costa Rica.  
[revistauniciencia@una.cr](mailto:revistauniciencia@una.cr)  
<http://www.revistas.una.ac.cr/uniciencia>



Tel. (506) 2277-3000  
Apartado 86-3000  
Heredia  
Costa Rica  
[www.una.ac.cr](http://www.una.ac.cr)

