



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

**“DISEÑO FACTORIAL PARA LA EXTRACCIÓN ASISTIDA CON
ULTRASONIDO DE *MELOCHIA TOMENTOSA* L., EVALUACIÓN DE
SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPOSICIÓN QUÍMICA “**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN INGENIERÍA QUÍMICA**

PRESENTA

ADAIR JACOBO SÁNCHEZ CRUZ

DIRECTOR DE TESIS

LILIA ALEJANDRA CONDE HERNÁNDEZ

CO-DIRECTOR DE TESIS

DR. RUBÉN JONATÁN ARANDA GARCÍA

No. De CVU: 1304369

SEPTIEMBRE 2025

INDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
INDICE DE TABLAS.....	iii
INDICE DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN	vi
INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES.....	2
1.1. Plantas medicinales.....	2
1.2. Definición de extractos	2
1.3. Métodos de extracción	3
1.3.1. Métodos convencionales.....	3
1.3.2. Métodos no convencionales.....	4
1.5. Fitoquímica.....	5
1.5.1. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)	5
1.5.2. Compuestos químicos de algunos extractos vegetales	6
1.6. Compuestos fenólicos	6
1.6.1. Determinación de Fenoles totales	7
1.7. Actividad antioxidante en plantas.....	7
1.7.1. Métodos de evaluación de actividad antioxidante en plantas	8
1.7.2. Método ABTS	10
1.7.3. Evaluación de actividad antioxidante de extractos de plantas mexicanas por el método ABTS	10
1.7.4. Método DPPH	11

1.7.5. Evaluación de actividad antioxidante de extractos de plantas medicinales mexicanas por DPPH	11
1.8. Toxicidad en plantas medicinales	12
2.8.1. <i>Artemia salina</i>	13
1.9. Actividad insecticida de extractos vegetales	15
1.10. Género <i>Melochia</i>	16
1.10.1. Usos tradicionales del género <i>Melochia</i>	17
1.11. Malva de los cerros (<i>Melochia tomentosa</i> L.)	17
1.12. Diseño de experimentos	18
JUSTIFICACIÓN	20
HIPÓTESIS	21
2. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS	21
2.1. Objetivo general	21
2.2. Objetivos específicos	21
3. METODOLOGÍA	22
3.1. Plan de trabajo	22
3.2. Obtención e identificación taxonómica de la materia prima	22
3.3. Preparación del material vegetal	23
3.4. Determinación de la humedad del material vegetal	24
3.5. Diseño de experimentos empleado en la evaluación de los extractos de <i>Melochia tomentosa</i> L.	25
3.6. Extracción de compuestos bioactivos de las hojas de <i>Melochia tomentosa</i> L., por (Extracción Asistida por Ultrasonido)	26
3.7. Evaluación de los compuestos fenólicos totales	27
3.8. Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos de las hojas de <i>Melochia tomentosa</i> L., con las técnicas DPPH y ABTS	28

3.9.	Determinación de la composición química del extracto etanólico de <i>Melochia tomentosa</i> L.	31
3.10.	Evaluación de la toxicidad a extractos de <i>Melochia tomentosa</i> L., con el modelo de <i>Artemia</i> spp.	31
3.11.	Actividad insecticida del extracto acuoso de <i>Melochia tomentosa</i> L.	34
3.12.	Análisis estadístico	36
4.	RESULTADOS	37
4.1.	Identificación taxonómica de la <i>Melochia tomentosa</i> L.	37
4.2.	% Humedad de la <i>Melochia tomentosa</i> L.	38
4.3.	Resultados del análisis estadístico	38
4.3.1.	Análisis estadístico de las respuestas de los compuestos fenólicos totales de los extractos de <i>Melochia tomentosa</i> L.	40
4.3.2.	Análisis estadístico de las respuestas por el método DPPH de los extractos de <i>Melochia tomentosa</i> L.	44
4.3.3.	Análisis estadístico de las respuestas por el método ABTS de los extractos de <i>Melochia tomentosa</i> L.	49
4.4.	Compuestos químicos identificados en el extracto etanólico de las hojas de <i>Melochia tomentosa</i> L.	53
4.5.	Determinación de la toxicidad de los extractos de <i>Melochia tomentosa</i> L. en el modelo de <i>Artemia salina</i>	57
4.6.	Actividad insecticida del extracto acuoso de <i>Melochia tomentosa</i> L.	58
5.	CONCLUSIONES	62
6.	RECOMENDACIONES	64
7.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXOS		78
ANEXO 1.	LC ₅₀ del extracto acuoso de <i>Melochia tomentosa</i> L.	78
ANEXO 2.	LC ₅₀ del extracto etanólico de <i>Melochia tomentosa</i> L.	79

ANEXO 3. LC ₅₀ del extracto metanólico de <i>Melochia tomentosa</i> L.	79
ANEXO 4. LC ₅₀ del extracto acuoso en el control de gorgojos de frijol de hojas <i>Melochia tomentosa</i> L.	80
ANEXO 5. LC ₅₀ del extracto acuoso en el control de larvas de hojas <i>Melochia tomentosa</i> L.	81

DEDICATORIA

Con todo mi amor y agradecimiento, esta tesis realizada en la maestría en Ingeniería Química es para todos ustedes. A Dios, por darme la sabiduría, fuerza, paciencia y salud para culminar esta etapa en mi vida y por sostenerme en los momentos de duda y darme esperanza cuando más lo necesitaba. A San Miguel Arcángel, que siempre ha sido mi protector, gracias por su intercesión y cuidado constante durante este proceso llamada maestría. A mis padres (Jacobo Sánchez Cuevas y Buenaventura Petra Cruz Aparicio), por su amor inmenso, gracias por cada sacrificio, por cada día de trabajo, por cada peso que destinaron a mi educación con tanto amor y esfuerzo y por enseñarme con el ejemplo que todo esfuerzo tiene su recompensa. A la Ing. Azucena Tornel Miguel, gracias por ser mi apoyo constante y mi fuente de motivación en los momentos más exigentes de la maestría. Compartir esta etapa contigo lo hizo más significativo, más humano y llevadero. Gracias por siempre escucharme, por tus consejos, tu paciencia y por apoyarme en los momentos difíciles. Gracias por compartir conmigo no solo este logro, sino también los sueños, los esfuerzos y los sacrificios que lo hicieron realidad. A tus padres y hermana por su apoyo desde el inicio de esta aventura, por recibirme siempre con cariño, por su apoyo desinteresado y por brindarme un espacio de tranquilidad y confianza cuando lo necesitaba. A mis hermanos por sus consejos y apoyo incondicional y sus palabras de aliento durante este proceso. A todos ustedes y demás familiares que contribuyeron durante mi formación académica, que es difícil nombrar a todos, esta tesis lleva su nombre grabado en cada página, porque sin ustedes, nada de esto habría sido posible.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (CVU. 1304369) por su invaluable apoyo económico brindado durante el desarrollo de mis estudios de maestría. Esta beca no solo facilitó mi formación académica, sino que también hizo posible dedicarme de lleno a mi crecimiento profesional. De igual manera, agradezco profundamente a la Facultad de Ingeniería Química de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) por abrirme las puertas desde la licenciatura y contribuir con mi formación académica. Mi reconocimiento también a sus docentes e investigadores, cuya dedicación y compromiso académico fueron clave en mi proceso de formación. De manera muy especial, quiero expresar mi profundo agradecimiento a mi asesora de tesis, la Dra. Lilia Alejandra Conde Hernández, por su invaluable guía, apoyo constante y por compartir conmigo su experiencia y conocimientos a lo largo de todo este proceso. Su dedicación fue clave para la realización de este trabajo. Asimismo, agradezco sinceramente al Dr. Rubén Jonatán Aranda García, por su acompañamiento, sus valiosas observaciones y por enriquecer esta investigación con su visión crítica, sus conocimientos y profesionalismo. También extendo mi agradecimiento a la Doctora Zaida Nelly Juárez por su colaboración en esta investigación, su disposición y apoyo contribuyeron significativamente al desarrollo experimental de este trabajo, su colaboración fue fundamental para alcanzar los objetivos propuestos. Finalmente, agradezco a todas las personas que, de manera directa o indirecta, contribuyeron al desarrollo y culminación de esta tesis. Cada apoyo recibido ha sido fundamental para alcanzar este logro académico.

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Técnicas espectroscópicas en ensayos de evaluación de capacidad antioxidante (Munteanu <i>et al.</i> , 2021).....	8
Tabla 2. Evaluación de la Actividad antioxidante de plantas medicinales de sus extractos metanólicos por el método ABTS (Vidal <i>et al.</i> , 2020).....	10
Tabla 3. Evaluación de la Actividad antioxidante de plantas medicinales de sus extractos metanólicos por el método DPPH (Vidal <i>et al.</i> , 2020).....	12
Tabla 4. Concentración letal media (CL ₅₀) de los extractos etanólicos de las especies estudiadas y clasificación según la toxicidad mostrada frente a larvas de <i>Artemia</i> (Pino y Lazo, 2009).....	13
Tabla 5. Factores y niveles en el diseño factorial (3 ³) para la selección del extracto con mayor actividad antioxidante de la <i>Melochia tomentosa</i> L.	25
Tabla 6. Muestras analizadas en el bioensayo con <i>Artemia</i> spp.	32
Tabla 7. Volumen del extracto acuoso de las hojas de <i>Melochia tomentosa</i> L. (V1) utilizado en la prueba para 10 gramos de avena.	34
Tabla 8. Resultados de la determinación de la humedad de las hojas de <i>Melochia tomentosa</i> L.	38
Tabla 9. Conversión de unidades de las respuestas de los métodos Folin-Ciocalteu, ABTS y DPPH.	38
Tabla 10. Respuestas del diseño de experimentos 3 ³ en la evaluación antioxidante de la <i>Melochia tomentosa</i> L.	39
Tabla 11. Análisis de Varianza de las respuestas de compuestos fenólicos	41
Tabla 12. Análisis de Varianza de las respuestas por DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). ..	45
Tabla 13. Análisis de Varianza de las respuestas por ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)).....	49
Tabla 14. Compuestos químicos identificados (<i>Melochia tomentosa</i> L.)	55
Tabla 15. Resultados de la evaluación de la actividad insecticida del extracto acuoso de <i>Melochia tomentosa</i> L. en <i>Ullumoides dermestoides</i>	58

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Malva de los cerros (<i>Melochia tomentosa</i> L.), San José Trujapan, Tequixtepec, Oaxaca, 2024. Fuente: propia.....	18
Figura 2. Metodología del proyecto. Fuente: propia.	22
Figura 3. Recolección de Malva de los cerros (<i>Melochia tomentosa</i> L.), San José Trujapan, Tequixtepec, Oaxaca, 2024. Fuente: propia.....	23
Figura 4. Procedimiento del secado de la (<i>Melochia tomentosa</i> L.) Fuente: propia	23
Figura 5. Procedimiento de la medición del % humedad de la (<i>Melochia tomentosa</i> L.) Fuente: propia	25
Figura 6. Procedimiento de extracción de compuestos bioactivos de la (<i>Melochia tomentosa</i> L.) Fuente: propia.	27
Figura 7. Procedimiento en la evaluación de actividad antioxidante por el método Folin-Ciocalteu. Fuente: propia.	28
Figura 8. Procedimiento en la evaluación de actividad antioxidante por DPPH. Fuente: propia.....	29
Figura 9. Procedimiento en la evaluación de actividad antioxidante por ABTS. Fuente: propia.....	30
Figura 10. Procedimiento del ensayo de letalidad con <i>artemia</i> a la <i>Melochia tomentosa</i> L. Fuente: propia	34
Figura 11. Procedimiento de la prueba de actividad insecticida del extracto de <i>Melochia tomentosa</i> L. Fuente: propia.	36
Figura 12. Identificación taxonómica de la <i>Melochia tomentosa</i> L.	37
Figura 13. Diagrama de Pareto de compuestos fenólicos. Fuente propia	42
Figura 14. Gráficas de superficie y contorno de los extractos de hojas <i>Melochia tomentosa</i> L., de las respuestas de compuestos fenólicos.....	43
Figura 15. Diagrama de Pareto por el método DPPH. Fuente propia	46
Figura 16. Gráficas de superficie y contorno de los extractos de hojas de <i>Melochia tomentosa</i> L., de las respuestas por DPPH.....	47
Figura 17. Diagrama de Pareto por el método ABTS. Fuente propia.....	50

Figura 18. Gráficas de superficie y contorno de los extractos de hojas de <i>Melochia tomentosa</i> L., de las respuestas por ABTS.....	51
Figura 19. Cromatograma del extracto etanólico de la <i>Melochia tomentosa</i> L.	54
Figura 20. A) Observación de las larvas de la muestra de control en el estereoscopio a las 12 semanas de exposición. B) Muestra de control a las 12 semanas de exposición.	60
Figura 21. A) Muestra con 50 ppm de extracto a las 12 semanas de exposición. B) Muestra con 100 ppm de extracto a las 12 semanas de exposición. C) Muestra con 250 ppm de extracto a las 12 semanas de exposición. D) Muestra con 500 ppm de extracto a las 12 semanas.....	61
Figura 22. A) Muestra con 1000 ppm de extracto a las 4 semanas de exposición. B) Muestra con 1000 ppm de extracto a las 8 semanas de exposición. C) Muestra con 1000 ppm de extracto a las 12 semanas de exposición.	61

RESUMEN

La planta malva de los cerros (*Melochia tomentosa* L.) tiene su origen en el sur de los Estados Unidos, es conocida como una planta medicinal en la cultura mexicana. Por lo cual, en la presente investigación se obtuvieron los extractos (acuoso, etanólico y metanólico) de las hojas de *Melochia tomentosa* L., mediante la técnica de extracción asistida por ultrasonido a 5, 10 y 15 minutos, a distintas relaciones líquido-sólido (100, 80 y 66.6 mL/g) siguiendo un diseño de experimentos 3^3 . La valoración de la actividad antioxidante de los extractos se realizó empleando el radical ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) y el radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), y la medición de los compuestos fenólicos totales mediante el método Folin-Ciocalteu. Se realizó el análisis de la composición química del extracto etanólico mediante GC-MS (cromatografía de gases acoplado con espectrometría de masas) y se evaluó la toxicidad mediante el modelo de letalidad de *Artemia* spp., así como la determinación de la actividad insecticida al extracto acuoso de *Melochia tomentosa* L. Los resultados obtenidos muestran que el extracto que presentó mayor actividad antioxidante fue el extracto metanólico seguido del etanólico y por último el acuoso. En cuanto a la composición química se identificaron 3 compuestos de gran importancia (carvacrol, α -Eudesmol y cariofileno) por su potencial antioxidante, antimicrobiano y antiinflamatorio. En la evaluación de la toxicidad, el extracto metanólico fue el que presentó mayor nivel de toxicidad y los resultados de la actividad insecticida del extracto acuoso evidenciaron su función como un agente insecticida poco activo en el control biológico del gorgojo del frijol (*Ullumoides dermestoides*).

ABSTRACT

The plant Malva de los cerros (*Melochia tomentosa* L.), native to the southern United States, is known as a medicinal plant in Mexican culture. Therefore, in the present study, aqueous, ethanolic, and methanolic extracts were obtained from the leaves of *Melochia tomentosa* L. using ultrasound-assisted extraction at 5, 10, and 15 minutes, with different liquid-solid ratios (100, 80, and 66.6 mL/g), following a 3^3 experimental design. The antioxidant activity of the extracts was evaluated using the ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-

sulfonic acid)) and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radicals, and the total phenolic compounds were measured using the Folin-Ciocalteu method. The chemical composition of the ethanolic extract was analyzed by GC-MS (gas chromatography coupled with mass spectrometry), and its toxicity was assessed using the *Artemia* spp. lethality model, as well as the insecticidal activity of the aqueous extract of *Melochia tomentosa* L. The results showed that the extract with the highest antioxidant activity was the methanolic extract, followed by the ethanolic and finally the aqueous extract. Regarding chemical composition, three important compounds were identified (carvacrol, α -eudesmol, and caryophyllene) due to their antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory potential. In the toxicity evaluation, the methanolic extract showed the highest level of toxicity, and the insecticidal activity results of the aqueous extract demonstrated its role as a weakly active insecticidal agent in the biological control of the bean weevil (*Ullumoides dermestoides*).

INTRODUCCIÓN

Actualmente existen diversos productos en el mercado con compuestos antioxidantes y antibacterianos, los cuales ayudan a aumentar su vida útil, generalmente son artificiales o sintéticos. También, se han desarrollado diversos productos con fines terapéuticos para combatir diversas enfermedades, como trastornos gastrointestinales, enfermedades crónico-degenerativas, cáncer, envejecimiento prematuro, problemas respiratorios, entre otras. El uso constante de sustancias elaboradas sintéticamente resulta dañino para el ser humano y el medio ambiente por los desechos generados. Una alternativa de solución a este problema, podría ser el uso de extractos de plantas que ayuden a combatir o prevenir distintas enfermedades. Por tal motivo, el uso de plantas medicinales requiere de un fundamento científico para que sea más confiable su empleo ante la sociedad y ante diversas enfermedades. En el presente proyecto de investigación se estudió la planta *Melochia tomentosa* L., conocida comúnmente como Malva de los cerros o Malva rosa (Martínez, 1979).

Esta investigación se desarrolló en varias etapas que se describen en el presente documento. En primer lugar, se llevó a cabo un estudio del estado del arte, resumido en el (Capítulo 2), donde se describen las características de las plantas medicinales, así como con la planta que se va a estudiar, los distintos métodos de medición de la actividad antioxidante, la técnica utilizada en la identificación de los compuestos químicos, el ensayo de letalidad utilizado en la evaluación de toxicidad en plantas, la actividad insecticida de extractos para el control de plagas, así como los diferentes métodos de obtención de los extractos. En el siguiente capítulo contiene la justificación (Capítulo 3), la formulación de la hipótesis (Capítulo 4) y los objetivos (Capítulo 5) de dicho estudio. En el (Capítulo 6), se describe la metodología empleada para llevar a cabo esta investigación, donde se detallan los pasos y procedimientos utilizados. En el (Capítulo 7) se presentan los resultados obtenidos en los experimentos realizados, así como el análisis y la discusión correspondientes.

1. ANTECEDENTES

1.1. Plantas medicinales

La Organización Mundial de la Salud define a las plantas medicinales como aquellos vegetales que poseen en alguno de sus órganos compuestos que pueden utilizarse con fines curativos o como base para desarrollar productos de interés químico y farmacéutico. A partir de esta definición, la ciencia moderna reconoce que los metabolitos secundarios presentes en estas plantas tienen potencial terapéutico. No obstante, aún existe una limitada cantidad de estudios científicos que respalden de manera concluyente los beneficios que comúnmente se les atribuyen. Por ende, el conocimiento de plantas medicinales ha sido registrado en las farmacopeas de diferentes países para su conservación (OMS, 1978). En México, la medicina tradicional ha empleado plantas medicinales desde tiempos ancestrales. Dependiendo del padecimiento o la preparación requerida, se utilizan distintas partes de la planta. Las más frecuentemente empleadas son las hojas, flores, tallos y raíces, comúnmente en forma de infusiones (Guzmán *et al.*, 2017). Desde épocas prehispánicas, en México se han utilizado plantas con fines terapéuticos, gracias a su riqueza cultural y variedad de plantas (Martínez, 1996). Esta herencia cultural se ha transmitido a través del tiempo, de forma que muchas costumbres y tradiciones permanecen y se practican diariamente, en distintos lugares (Yeh *et al.*, 2003). Pese a las investigaciones que se han realizado, en la mayoría de los casos, se desconocen los compuestos bioactivos que dan las propiedades terapéuticas a muchas plantas.

1.2. Definición de extractos

Son compuestos que se producen mediante la obtención de sustancias bioactivas presentes en las diferentes partes de las plantas, con ayuda de algún solvente (agua, alcohol, mezcla de distintos solventes, etc.) y con un proceso de extracción conveniente. Se pueden obtener distintos compuestos bioactivos a partir de una misma especie vegetal, en función de la parte utilizada, del tipo de solvente y el método de extracción seleccionado (NutriNews, 2015). La efectividad de un extracto vegetal depende de muchos factores, como la especie vegetal, el proceso de extracción, las concentraciones utilizadas, la calidad y las partes del

material vegetal, entre otros. Los compuestos bioactivos pueden ser utilizados en el control de plagas, en distintas enfermedades, en la estimulación del crecimiento vegetativo y en su resistencia ante distintos factores como: sequías, heladas, granizo, etc. (Gobierno de México, 2020).

1.3. Métodos de extracción

En la actualidad se encuentran diferentes técnicas para extraer compuestos bioactivos, los cuales pueden obtenerse de distintas partes de las plantas como las hojas, el tallo, las flores, las semillas, los frutos y las raíces. Estas técnicas se clasifican en convencionales o tradicionales y no convencionales o innovadoras (Gobierno de México, 2020).

1.3.1. Métodos convencionales

En los métodos convencionales se utilizan diferentes solventes para extraer los compuestos bioactivos de las plantas, considerando aspectos como: la selectividad, seguridad, solubilidad y costo del solvente seleccionado (Grupo Pochteca, 2022). El etanol y metanol son de los solventes más utilizados en la extracción de compuestos bioactivos de especies vegetales. Otros solventes muy utilizados son: agua destilada, acetato de etilo, n-butanol, cloruro de metileno, benceno, acetona, cloroformo, hexano y éter de petróleo. Para que un solvente sea eficiente en la extracción debe tener: acción conservante, toxicidad casi nula, inercia, baja flamabilidad, interacción química nula, facilidad de evaporación a temperaturas bajas (Organomation, s.f.). Dentro de los métodos convencionales o tradicionales se encuentra el método de agitación, maceración, digestión, infusión, lixiviación (elución), decocción, filtración, destilación al vapor, extracción continua en caliente o extracción Soxhlet, serie exhaustiva, fermentación (extracción acuosa-alcohólica), extracción de reflujo y extracción por prensado mecánico (Conde-Hernández *et al.*, 2023).

1.3.2. Métodos no convencionales

Los métodos no convencionales o innovadores engloban técnicas que emplean enzimas, microondas, ultrasonido, campos eléctricos pulsados, líquidos presurizados y fluidos supercríticos. Estas técnicas permiten reducir los tiempos de extracción en comparación con las técnicas tradicionales, además previenen la descomposición térmica de los compuestos bioactivos y reducen el uso de solventes orgánicos (Jha & Sit, 2022). La extracción asistida por ultrasonido facilita la obtención de sustancias bioactivas, es una técnica sencilla, con tiempos de extracción cortos y amigable con el medio ambiente. Particularmente, los extractos obtenidos por ultrasonido ofrecen un mayor contenido de flavonoides totales y actividad antioxidante en comparación con otros métodos de extracción convencionales (Corona-Jiménez *et al.*, 2016). Se ha utilizado ampliamente el método de ultrasonido en la obtención de extractos, algunos ejemplos reportados corresponden a semillas de chía (*Salvia hispanica* L.), en las cáscaras del fruto del sanky (*Corryocactus brevistylus*), del limón persa (*Citrus latifolius*), en la pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Cactaceae) y en la planta Muicle (*Justicia spicigera*) que es una planta endémica de México (Rojas *et al.*, 2019).

1.4. Compuestos bioactivos

Los compuestos bioactivos son aquellos presentes en los alimentos que, al ser ingeridos, modulan procesos fisiológicos y celulares produciendo un efecto positivo en la salud (EcuRed, s.f.). Estos compuestos tienen propiedades biológicas como su capacidad antioxidante, que neutraliza radicales libres y protege contra el daño celular; antiinflamatorio, al regular procesos inflamatorios subyacentes en enfermedades crónicas; antitumoral, al intervenir en mecanismos celulares; cardioprotector, disminuyendo factores de riesgo cardiovascular (Martínez-Navarrete *et al.*, 2008). Los compuestos bioactivos no se consideran nutrientes esenciales para la supervivencia; sin embargo, suelen encontrarse en concentraciones reducidas dentro de los alimentos que forman parte de la dieta cotidiana, y en la mayoría de los casos provienen de fuentes de origen vegetal (EcuRed, s.f.). Algunos estudios realizados previamente de compuestos bioactivos contenidos en algunos

vegetales de consumo común en México, enfocados a la prevención de enfermedades degenerativas, los encontramos, por ejemplo, en pruebas in vitro del chayote (*Sechium edule*), donde los compuestos bioactivos encontrados fueron rutina, miricetina, quercetina, naringenina, floretina, galangina, apigenina (Aguñiga-Sánchez *et al.*, 2020). En la guayaba (*Psidium guajava*) en pruebas in vitro de actividad antiviral, los compuestos bioactivos reportados fueron suramina, ácido gálico, naringina, quercetina, catequina y hesperidina (Trujillo-Correa *et al.*, 2019). En estudios de la papaya (*Carica papaya*), los compuestos bioactivos identificados fueron polifenoles y alcaloides (Kumarasinghe *et al.*, 2024). En el aguacate (*Persea americana*), se han encontrado compuestos fitoquímicos lipofílicos como los tocoferoles, ácidos grasos monoinsaturados, acetogeninas, carotenos y esteroides (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2013).

1.5. Fitoquímica

La fitoquímica es la ciencia que se encarga de analizar los compuestos químicos presentes en las plantas. Su objetivo principal es obtener estas sustancias mediante técnicas como la extracción, el aislamiento, la purificación y el estudio detallado de su estructura química. Además, esta disciplina investiga cómo actúan dichas sustancias, ya que algunas pueden ser beneficiosas o dañinas para la salud humana, así como para otros seres vivos como plantas, animales y microorganismos (Sánchez & García-Figueroa, 2022). El término "fitoquímico" se utiliza para referirse, sobre todo, a los compuestos bioactivos que producen las plantas. En la actualidad, es común descubrir nuevas estructuras químicas en estos estudios, las cuales pueden ser de gran utilidad en el desarrollo de medicamentos innovadores (Olivoto, 2017).

1.5.1. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) es una técnica utilizada para identificar y detectar compuestos químicos orgánicos volátiles y semivolátiles de mezclas. La finalidad de esta técnica es verificar si un compuesto está presente en una muestra, esto se logra comparando el cromatograma de la muestra con el de una sustancia

pura, siempre bajo las mismas condiciones experimentales (Gutiérrez & Droguet, 2002). Esta técnica es de gran utilidad para identificar componentes químicos de especies vegetales (fitoconstituyentes), utilizadas en la medicina tradicional que carecen de estudios científicos (Hernández & Alberto, 2023).

1.5.2. Compuestos químicos de algunos extractos vegetales

Mientras que se conocen las composiciones químicas de algunos extractos vegetales, que ya son usados en base a sus propiedades y que se tienen bien documentadas *in vitro*, hay pocos datos para muchas otras plantas. Algunos ejemplos de estudios de composición química de extractos vegetales son del perejil (*Petroselinum crispum*) se reportaron que los componentes químicos característicos son flavonoides, cumarinas, fitol, apiol y ácido petroselinico (Reyes *et al.*, 2012). Del orégano (*Origanum vulgare*), se identificaron compuestos como limoneno, canfor, linalol, α -pineno, carvacrol y timol (Arcila-Lozano *et al.*, 2004).

1.6. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son sustancias químicas que contienen uno o más grupos hidroxilo (-OH) enlazados a un anillo aromático. Al igual que las vitaminas, desempeñan un papel importante como antioxidantes en la alimentación. Estos compuestos se encuentran ampliamente distribuidos en alimentos de origen vegetal, como cereales, raíces, verduras y frutas. En las plantas, existen miles de compuestos fenólicos distintos, los cuales se agrupan según sus diferentes estructuras funcionales. Cumplen múltiples funciones biológicas, participando en procesos como el desarrollo y la reproducción, así como en la defensa frente a factores externos como la radiación ultravioleta y los ataques de depredadores. Además, son responsables de ciertas propiedades sensoriales y visuales de los alimentos, como el color y la astringencia que se percibe en frutas y vegetales (Peñarrieta *et al.*, 2014).

1.6.1. Determinación de Fenoles totales

La técnica Folin-Ciocalteu es empleada para estimar la cantidad total de compuestos fenólicos presentes en especies vegetales, se basa en la capacidad de los compuestos fenólicos para reaccionar con el reactivo de Folin-Ciocalteu en un medio alcalino. El reactivo Folin-Ciocalteu está compuesto por una mezcla de sales de molibdeno y wolframio disueltas en ácido fosfórico. En medio ácido, estas sales forman el ácido fosfomolibdotúngstico, de color amarillo, el cual se reduce en presencia de grupos fenólicos, cambiando a un color azul intenso, la intensidad de este está directamente relacionada con el contenido de compuestos fenólicos en la muestra. La prueba se basa en una reacción redox, lo que también permite utilizar este método como una estimación de la capacidad antioxidante total. También pueden variar las formas de expresar los resultados, aunque lo más habitual es utilizar el ácido gálico como estándar (Sánchez, 2017).

1.7. Actividad antioxidante en plantas

Los antioxidantes son compuestos que tienen la capacidad de impedir o retrasar la oxidación de otras moléculas, actuando como agentes neutralizadores de los radicales libres y otras especies reactivas del oxígeno (Sun & Johnson, 2015). Estas sustancias no solo son clave para la supervivencia de las plantas, sino que también pueden tener efectos beneficiosos para la salud humana cuando se consumen a través de alimentos de origen vegetal (Lampart-Szczapa & Alabara, 2003; Mojzisoa & Kutcha, 2001; Shahidi, 2000). En el ámbito vegetal, el término antioxidante se refiere a un conjunto diverso de metabolitos secundarios, entre los que se incluyen ácidos fenólicos, polifenoles, flavonoides, esteroides, esterol, terpenos de baja complejidad y macromoléculas como los taninos. Estos compuestos, por su capacidad de neutralizar especies reactivas de oxígeno, desempeñan un papel relevante en la prevención de procesos patológicos asociados al estrés oxidativo y en la promoción del equilibrio fisiológico del organismo (Borchardt *et al.*, 2008). Los radicales libres son moléculas que contiene uno o más electrones desapareados, lo que le confiere una alta reactividad. De la misma forma que en las plantas, el cuerpo humano está expuesto de manera constante a radicales libres generados de procesos fisiológicos

normales. En las plantas, la producción de los radicales libres se incrementa en situaciones de estrés biótico o abiótico (Bailey *et al.*, 2005; Nicholson *et al.*, 1992). En los seres humanos, se favorece la generación de radicales libres por situaciones fisiopatológicas como la exposición a compuestos tóxicos o la radiación y la inflamación (Kasote *et al.*, 2015).

1.7.1. Métodos de evaluación de actividad antioxidante en plantas

Los distintos métodos utilizados para evaluar la actividad de los antioxidantes han hecho progresos notables en los últimos años. Las evaluaciones de la actividad antioxidante de igual manera no deben probarse por un solo método para que los resultados tengan mayor confiabilidad. Teniendo esto en cuenta, es difícil comparar un método completamente con otro. Los ensayos para la determinación de la actividad antioxidante pueden clasificarse según la naturaleza del mecanismo sobre el cual los antioxidantes neutralizan los radicales libres; de esta forma, existen ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno y ensayos basados en la transferencia de electrones. Las técnicas más utilizadas actualmente son los métodos espectroscópicos basados en la transferencia de electrones, miden la capacidad de un antioxidante de reducir un agente oxidante, ocurriendo generalmente un cambio de color (el cambio de color es directamente proporcional a la concentración de los antioxidantes de la muestra) sobre el compuesto reducido. En la Tabla 1 se presentan los diferentes métodos para evaluar la capacidad antioxidante por técnicas espectroscópicas (Munteanu *et al.*, 2021).

Tabla 1. Técnicas espectroscópicas en ensayos de evaluación de capacidad antioxidante (Munteanu *et al.*, 2021).

Técnica	Ensayo	Principio del método	Valoración del producto final
Espectrometría	ORAC	Se lleva a cabo una reacción antioxidante mediante radicales peroxilo, provocada por 2,2'-azobis-2-amidino-propano (AAPH)	Disminución de fluorescencia de la fluoresceína

Espectrometría	HORAC	Se observa la actividad antioxidante debilitando los radicales OH generados por un sistema tipo Fenton a base de Co(II)	Disminución de fluorescencia de la fluoresceína
Espectrometría	TRAMPA	Se evalúa la capacidad antioxidante para eliminar los radicales libres del luminol, originados a partir de la descomposición de AAPH	Enfriamiento por quimioluminiscencia
Espectrometría	CUPRAC	Se observa la reducción de Cu (II) a Cu (I) en presencia de compuestos antioxidantes	Colorimetría
Espectrometría	FRAP	Se observa la reacción antioxidante con un complejo de Fe(III)	Colorimetría
Espectrometría	PFRAP	Se observa la reducción de $K_3(Fe(CN)_6)$ en presencia de antioxidantes y posterior reacción del ferrocianuro de potasio con Fe^{3+}	Colorimetría
Espectrometría	ABTS	Se lleva a cabo la reacción antioxidante mediante un radical catiónico orgánico	Colorimetría
Espectrometría	DPPH	Se desarrolla el proceso antioxidante con un radical orgánico	Colorimetría

De los métodos más utilizados actualmente son los ensayos ABTS y DPPH para evaluar la actividad antioxidante estos son métodos estandarizados colorimétricos. Ambos presentan una elevada estabilidad bajo condiciones específicas; no obstante, se distinguen entre sí por ciertas diferencias en su comportamiento (Kuskoski *et al.*, 2005). El radical libre DPPH se encuentra disponible directamente y no requiere preparación previa, mientras que el ABTS

debe generarse mediante una reacción química, que puede involucrar compuestos como dióxido de manganeso, persulfato de potasio o ABAP (Arnao, 2000; Kuskoski *et al.*, 2004). El radical ABTS permite evaluar la actividad antioxidante de compuestos tanto hidrofílicos como lipofílicos, mientras que el DPPH se limita a sistemas orgánicos debido a su solubilidad (Arnao, 2000). El radical ABTS presenta la ventaja adicional de que su espectro de absorbancia muestra un máximo a 754 nm en medios alcohólicos, mientras que el radical DPPH alcanza su pico de absorbancia a 517 nm (Kim *et al.*, 2002; Sánchez-Moreno *et al.*, 1998).

1.7.2. Método ABTS

La formación del radical $ABTS^+$ (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)), es un método espectrofotométrico actualmente muy utilizado en la evaluación de la actividad antioxidante de compuestos vegetales. Esta técnica mide la decoloración del radical $ABTS^+$, que ocurre cuando los compuestos antioxidantes presentes en la muestra lo reducen. El radical $ABTS^+$, tiene un color verde azulado que presenta un máximo de absorbancia a 754 nm y es generado mediante la oxidación del ABTS con persulfato de potasio. La intensidad de la decoloración se cuantifica y se expresa como el porcentaje de inhibición del radical $ABTS^+$ (Aliaga-Rossel *et al.*, 2018).

1.7.3. Evaluación de actividad antioxidante de extractos de plantas mexicanas por el método ABTS

De los métodos más utilizados actualmente para evaluar la actividad antioxidante en plantas, es el método ABTS, en la Tabla 2 se presentan los diferentes resultados que se obtuvieron del estudio a diferentes extractos de plantas medicinales del noroeste de México, utilizando como solvente metanol y los resultados se expresaron como (Microgramos equivalentes a Trolox por mililitro de muestra $\mu gET/mL$) (Vidal *et al.*, 2020).

Tabla 2. Evaluación de la Actividad antioxidante de plantas medicinales de sus extractos metanólicos por el método ABTS (Vidal *et al.*, 2020).

Método ABTS Concentración en µg/MI						
Nombre científico	Nombre común	200	100	50	25	12.5
<i>Acacia cochlia cantha</i>	Cubata	63.7 ± 11.4	41.7 ± 12	24 ± 3.2	22 ± 3.1	18.8 ± 2.8
<i>Acacia constricta</i>	Gigantillo	26.8 ± 3.0	22.7 ± 4.5	21.3 ± 2.3	19.4 ± 3.3	17.9 ± 3.9
<i>Bursera hindsiana</i>	Torote colorado	22.9 ± 11.6	22.0 ± 11	17.1 ± 4.5	17.7 ± 5.3	17.6 ± 4.0
<i>B. laxiflora</i>	Chilpanxochitl	105.8 ± 5.3	63.9 ± 2	41.2 ± 2.8	30.6 ± 4.1	28.7 ± 1.1
<i>Buxus microphyll</i>	Copal	20.5 ± 4.9	20.1 ± 4.	18.7 ± 4.0	19.0 ± 6.1	18.4 ± 4.4
<i>Jacquinia macrocarpa ssp. Pungens</i>	Naranjillo	24.7 ± 6.1	21.3 ± 8.0	18.1 ± 9	16.9 ± 7.5	15.6 ± 8.5
<i>J. macrocarpa ssp. Pungens</i>	Amolillo	26.2 ± 5.4	21.7 ± 7.	18.2 ± 6.8	17.6 ± 7.9	15.1 ± 7.7

1.7.4. Método DPPH

El ensayo DPPH se ha implementado comúnmente en estudios analíticos para cuantificar la capacidad antioxidante de compuestos vegetales. Esta técnica es colorimétrica, la cual tiene alta reproducibilidad y relativa simplicidad operativa. El radical DPPH es una especie química estable en metanol, presenta un color púrpura intenso y una banda de absorción máxima de 517 nm. El fundamento de este ensayo está en la capacidad del radical DPPH de aceptar un átomo de hidrógeno donado por una muestra con actividad antioxidante (Guija-Poma, 2015). Este proceso se manifiesta mediante un cambio de color de púrpura a amarillo, asociado a una disminución en la absorbancia a 517 nm, la cual se mide espectrofotométricamente para evaluar cuantitativamente el potencial antioxidante de la muestra analizada. Los resultados se expresan en TEAC, o sea, actividad equivalente a Trolox (µgET/g de sólido seco) (Kuskoski *et al.*, 2005).

1.7.5. Evaluación de actividad antioxidante de extractos de plantas medicinales mexicanas por DPPH

Regularmente se comparan los ensayos ABTS y DPPH para medir la capacidad antioxidante para determinar cuál de ellos refleja mejor el contenido de antioxidantes. En la Tabla 3 se presenta los resultados del estudio a diferentes extractos de plantas medicinales del

noroeste de México por el método DPPH, utilizando como solvente metanol y los resultados se expresaron como (Microgramos equivalentes a Trolox por mililitro de muestra $\mu\text{g}/\text{mL}$) (Vidal *et al.*, 2020).

Tabla 3. Evaluación de la Actividad antioxidante de plantas medicinales de sus extractos metanólicos por el método DPPH (Vidal *et al.*, 2020).

Método DPPH Concentración en $\mu\text{g}/\text{mL}$						
Nombre científico	Nombre común	200	100	50	25	12.5
<i>Acacia cochlia cantha</i>	Cubata	41.5 ± 0.3	20.4 ± 1.6	8.6 ± 1.1	2.0 ± 1.3	0
<i>Acacia constricta</i>	Gigantillo	2.2 ± 1.5	0.2 ± 2.4	0.7 ± 2.5	0	0
<i>Bursera hindsiana</i>	Torote colorado	0	0.0	0	0	0
<i>B. laxiflora</i>	Chilpanxochitl	95.0 ± 0.7	47.8 ± 0.7	23.6 ± 0.8	7.4 ± 0.2	3.7 ± 0.6
<i>Buxus microphyll</i>	Copal	0.0	0	0	0	0
<i>Jacquinia macrocarpa ssp. Pungens</i>	Naranjillo	5.9 ± 2.4	0.04 ± 2.2	0	0	0
<i>J. macrocarpa ssp. pungens</i>	Amolillo	0	0	0	0	0

1.8. Toxicidad en plantas medicinales

El empleo de plantas medicinales generalmente en su mayoría no está validado científicamente, ya que se desconoce su eficacia y la seguridad en el consumo humano, debido a esto deben ser usadas con precaución. Si bien los metabolitos secundarios (compuestos químicos) producidos por las plantas pueden tener propiedades curativas, por diversas razones pueden convertirse en factores de intoxicación.

La toxicidad de las plantas medicinales se puede clasificar en dos tipos:

- toxicidad intrínseca:** la planta genera metabolitos que son tóxicos para el ser humano, debido a los compuestos que produce de manera natural.
- toxicidad extrínseca:** la planta no produce sustancias tóxicas por sí misma. La toxicidad se debe a la presencia de contaminantes como mezclas con especies venenosas, metales pesados, pesticidas agrícolas, micotoxinas o una alta carga microbiana (Marinoff *et al.*,

2009). Por las razones mencionadas, se deben realizar investigaciones para determinar, además de la acción farmacológica, la toxicidad de las plantas. Generalmente, la evaluación toxicológica preclínica se llevaba a cabo con diversos modelos, pero principalmente con murinos. Sin embargo, la necesidad de complementar la información de los diversos modelos, sumado al alto costo de estas pruebas, ha impulsado la búsqueda de nuevas alternativas. Una opción viable en la evaluación de la toxicidad de plantas y nuevos fármacos es el ensayo de letalidad in vivo de *Artemia salina* (Fernández-Calienes Valdés *et al.*, 2009).

2.8.1. *Artemia salina*

Durante más de 40 años se han utilizado las larvas de *Artemia* spp. en estudios toxicológicos y eco toxicológicos (Törökné *et al.*, 2007). Además, se ha investigado su biología y posibles aplicaciones en diferentes áreas, considerándolas un método práctico y económico para evaluar la bioactividad de productos naturales y compuestos sintéticos (Pino & Jorge, 2010; McLaughlin *et al.*, 1998). *Artemia salina* es un microcrustáceo de color marrón claro, transparente a la luz y con cuerpo blando, pertenece al filo Arthropoda, clase Crustacea, y subclase Branchiopoda y se le conoce comúnmente como artemia o "monos de mar" (Schmidt, 1985). Esta especie se encuentra en aguas de alta salinidad, y se desarrolla en un rango de temperaturas que varía entre 6 y 35°C. Su alimentación se basa en algas y bacterias. Las artemias alcanzan su etapa adulta en un periodo de 6 a 8 semanas, llegando a medir hasta 7 mm. Hasta el momento, la artemia es el único género animal que está disponible de manera continua en el mercado en estado criptobiótico (quistes). Debido a la practicidad, las especies que pasan por un estado de criptobiosis durante su ciclo de vida facilitan el desarrollo de bioensayos. La disponibilidad de los quistes de *Artemia salina* proporciona distintas ventajas: no es necesario mantener una colonia viva de manera permanente, las pruebas pueden realizarse en cualquier lugar y en cualquier momento, siempre se cuenta con un número suficiente de individuos con la misma condición fisiológica y edad (Pino & Jorge, 2010).

El ensayo de letalidad con *Artemia salina* se considera una herramienta útil para la evaluación preliminar de la toxicidad de extractos de plantas (Badisa *et al.*, 2006). En 1982, se introdujo por primera vez el uso de las larvas de *Artemia* spp., en lugar de animales superiores en estudios realizados por Meyer *et al.*, para evaluar extractos vegetales con el fin de descubrir compuestos con actividad citotóxica y antitumoral.

El bioensayo de letalidad con artemia se basa en identificar la concentración que causa la muerte del 50% de las larvas de *Artemia salina* cultivadas en el laboratorio, después de 24 horas de exposición al extracto vegetal. Esta concentración se conoce como CL₅₀ (Pino y Jorge, 2010). En la Tabla 4 se presentan diversos estudios de toxicidad de extractos de plantas medicinales cubanas, utilizando el ensayo de letalidad de *Artemia salina* para evaluar posteriormente su actividad antiparasitaria (Fernández-Calienes Valdés *et al.*, 2009).

Tabla 4. Concentración letal media (CL₅₀) de los extractos etanólicos de las especies estudiadas por Fernández-Calienes Valdés *et al.* (2009) y su clasificación según la toxicidad mostrada frente a larvas de *Artemia salina*.

Nombre común	Nombre científico	Parte colectada	CL ₅₀ (µg/mL)	Nivel de toxicidad
Incienso	<i>Artemisia absinthium</i> L.	Hojas	5,17	Extremadamente tóxico
Bagá	<i>Annona glabra</i> L.	Hojas	> 1000	No tóxico
Ajo	<i>Allium sativum</i> L.	Bulbo	> 1000	No tóxico
Caña brava	<i>Bambusa vulgaris</i> Schrad.	Hojas	> 1000	No tóxico
Romerillo	<i>Bidens pilosa</i> L.	Hojas	296,48	Moderadamente tóxico
Bija	<i>Bixa orellana</i> L.	Semilla	213,84	Moderadamente tóxico
Almácigo	<i>Bursera simaruba</i> Sarg.	Hojas	163,56	Moderadamente tóxico
Caña santa	<i>Cymbopogon citratos</i> (DC.) Stapf.	Hojas	> 1000	No tóxico
Cañandonga	<i>Cassia grandis</i> L.	Hojas	> 1000	No tóxico
Yuquilla	<i>Curcuma longa</i> L.	Rizomas	> 1000	No tóxico

Calabaza	<i>Cucurbita maxima L.</i>	Semilla	> 1000	No tóxico
Yagruma	<i>Cecropia peltata L.</i>	Hojas	794,3	Moderadamente tóxico
Ciprés	<i>Cupressus sempervirens L.</i>	Hojas	394,2	Moderadamente tóxico
Salvadera	<i>Hura crepitans L.</i>	Hojas	110,76	Moderadamente tóxico
Añil cimarrón	<i>Indigofera suffruticosa Mill.</i>	Hojas	511,2	Moderadamente tóxico
Mastuerzo	<i>Lepidium virginicum L.</i>	Hojas	928,9	Moderadamente tóxico
Mango	<i>Manguijera indica L.</i>	Hojas	> 1000	No tóxico
Salvia	<i>Pluchea odorata Cass. & aut.</i>	Hojas	123,3	Moderadamente tóxico
Verdolaga	<i>Portulaca oleracea L.</i>	Semilla	> 1000	No tóxico
Tamarindo	<i>Tamarindus indica L.</i>	Corteza del tallo	> 1000	No tóxico

1.9. Actividad insecticida de extractos vegetales

Tradicionalmente, el control de plagas se ha sustentado en el uso de compuestos químicos desinfectantes, los cuales presentan una elevada toxicidad para quienes los aplican y generando impactos negativos en el entorno natural. (De Liñan, 2004). El empleo de insecticidas de origen vegetal podría ser una alternativa efectiva para el control de plagas. El interés en desarrollar y aplicar métodos biológicos basados en extractos vegetales se debe a que las plantas producen metabolitos secundarios con potencial para actuar como mecanismos naturales de defensa frente a plagas y enfermedades. (AbouFakhr *et al.*, 2001). En México, existen 25 especies de insectos de importancia económica que afectan semillas y granos almacenados (Mendoza *et al.*, 2016). Entre las especies más relevantes se encuentran *Acanthoscelides obtectus* Say (gorgojo del frijol), *Sitophilus granarius* L. (gorgojo del trigo), *Sitophilus zeamais* Motschulsky (gorgojo del maíz), *Sitotroga cerealella* Oliv. (palomilla de los cereales), *Rhyzopertha dominica* Fabricius (taladrillo de los cereales), *Prostephanus truncatus* (Horn.) (barrenador grande de los granos), *Sitophilus oryzae* L. (picudo del arroz), *Tribolium castaneum* Hbst. (gorgojo castaño de la harina), *Cryptolestes*

ferrugineus Steph (gorgojo rojizo de los granos), *Oryzaephilus surinamensis* L. (gorgojo de tórax aserrado), *Cryptolestes pusillus* Schon. (gorgojo plano de los granos) y *Trogoderma granarium* Vuelca (gorgojo khapra) (Rangel-Fajardo *et al.*, 2020). Se han realizado estudios previos para evaluar el control de plagas utilizando extractos de plantas, los extractos acuosos evaluados fueron de batamote (*Bacharis glutinosa*) y eucalipto (*Eucalyptus*), con el fin de controlar el gorgojo pardo del frijol (*Acanthoscelides obtectus*). Los resultados de estos estudios indican que los extractos de batamote y eucalipto fueron eficaces en la lucha contra el gorgojo pardo del frijol, mostrando porcentajes de mortalidad superiores al 30%. Además, los porcentajes de la cantidad de plagas que emergieron después de los tratamientos fueron menores al 50%, lo que sugiere que estos extractos lograron reducir la cantidad de plagas emergentes de manera significativa (Nava *et al.*, 2010).

Brasil es el país con mayor número de estudios sobre este tema, seguido por Argentina, México, Estados Unidos, Perú y Bolivia. Hasta la fecha, se han evaluado al menos 239 especies vegetales por su actividad larvicida, siendo que el 64 % de los trabajos utiliza aceites esenciales, mientras que el resto analiza combinaciones de aceites esenciales con extractos de diferentes tipos o únicamente los extractos de la planta. Con menor frecuencia, se han realizado estudios sobre actividad ovicida o inhibición del desarrollo. Entre los extractos utilizados, más de 85 plantas han sido evaluadas, destacando el extracto etanólico como el más frecuente, seguido del metanólico y el acuoso (Leyva-Silva *et al.*, 2017).

1.10. Género *Melochia*

La *Melochia* es un género cosmopolita de amplia distribución en el continente americano, este género de plantas se utiliza ampliamente en la medicina tradicional mexicana para tratar distintas enfermedades como la fiebre, gripe, hinchazones, mordeduras, depurativo sanguíneo, bronquitis y tos (Truiti *et al.*, 2006). Dentro del género *Melochia* se han registrado 68 especies (Dorr & Barnett, 1989), de las cuales 56 son endémicas del continente americano (Cristóbal *et al.*, 2005). El género fue descrito por Carlos Linneo y estas plantas se distinguen por presentar flores de reducido tamaño que, en la mayoría de

los casos, florecen y fructifican durante todo el año. Además, cuentan con un sistema de polinización generalista, lo que favorece un elevado éxito reproductivo (Sánchez, 2013).

1.10.1. Usos tradicionales del género *Melochia*

A través del tiempo diferentes especies del género *Melochia* han sido utilizadas en la medicina tradicional para aliviar diferentes enfermedades. Se reconoce que las plantas pertenecientes a esta familia son ricas en alcaloides, en particular los alcaloides ciclopéptidos, quinolinona y alcaloides de isatina. De las especies del género *Melochia* que han sido utilizadas para aliviar distintas enfermedades se encuentra la *Melochia corchorifolia* L., se ha utilizado comúnmente para aliviar padecimientos como hinchazones y mordeduras de serpientes de agua (Días, *et al.*, 2007). La *Melochia tomentosa* L., se ha empleado para contrarrestar fiebre y gripe, también como depurativo sanguíneo (Rondón, 2009). La *Melochia pyramidata* es comúnmente empleada en enfermedades como la bronquitis y la tos (Truiti, *et al.*, 2006). La especie *Melochia chamaedrys* se ha empleado en el tratamiento de enfermedades como el cáncer y como agente anti-hipertensivo (Dias, *et al.*, 2007).

1.11. Malva de los cerros (*Melochia tomentosa* L.)

La *Melochia tomentosa* L., conocida comúnmente como malva de los cerros o malva rosa, es originaria del sur de Estados Unidos y se distribuye hasta el norte de Sudamérica, particularmente en países como Brasil y Colombia (McVaugh, 2001). El hábitat de la *Melochia tomentosa* L. comprende orillas de caminos, áreas perturbadas, bosques secos, campos y sabanas (Figura 1). En México, su distribución ha sido documentada en los estados de Baja California Sur, Campeche, Chihuahua, Colima, Durango, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas. Morfológicamente, se trata de una especie que puede alcanzar hasta 4 m de altura, con tallos provistos de tricomas estrellados y lenticelas conspicuas (McVaugh, 2001; Stevens *et al.*, 2001).



Figura 1. Malva de los cerros (*Melochia tomentosa* L.), San José Trujapan, Tequixtepec, Oaxaca, 2024. Fuente: propia.

1.12. Diseño de experimentos

El diseño de experimentos (DOE) se define como una metodología que establece, de manera ordenada y sistemática, los pasos necesarios para recolectar y analizar información requerida en el abordaje de un problema de investigación. Con el fin de maximizar la obtención de datos relevantes para el experimento, lo que permite reducir los costos y optimizar la eficiencia del proceso (Eriksson *et al.*, 200; Díaz, 2009; Fernández, 2020). Un diseño factorial 3^K corresponde a un modelo experimental en el que se analizan k factores, cada uno considerado en tres niveles. En este tipo de diseño, el número total de tratamientos o combinaciones posibles se obtiene elevando 3 a la potencia de k . Utilizar un diseño factorial 3^K nos ofrece ventajas frente a otros tipos de diseños experimentales. Una de las principales es que permite explorar no solo los efectos lineales de los factores, sino también detectar posibles relaciones no lineales o curvaturas en la respuesta, lo cual no es posible en un diseño 2^K . Al trabajar con tres niveles por factor, se obtienen más respuestas y una visión más amplia y detallada del comportamiento de éstas. Asimismo, este diseño

facilita la identificación de interacciones de mayor orden entre los factores y constituye una base sólida para el ajuste de modelos cuadráticos y la construcción de superficies de respuesta, lo que resulta especialmente útil en la optimización de procesos (Biswas, 2024). La metodología de superficie de respuesta (RSM) incluye diversas técnicas de optimización que nos permite ajustar adecuadamente variables factoriales con el fin de lograr que una respuesta alcance su valor óptimo, ya sea máximo o mínimo. Esta metodología integra un conjunto de herramientas estadísticas orientadas a la optimización eficiente de procesos con múltiples variables, permitiendo además evaluar las interacciones existentes entre ellas (Baş & Boyaci, 2007). Los gráficos tridimensionales de superficie de respuesta permiten representar de forma clara los efectos lineales, de interacción y cuadráticos que ejercen los parámetros de extracción sobre la respuesta, manteniendo constante una tercera variable en su valor medio. Estas graficas son de gran utilidad para que los investigadores identifiquen la mejor dirección de ajuste con el fin de incrementar o reducir una respuesta específica (Madhumita *et al.*, 2019). Por otro lado, ya que muchas veces no resulta sencillo determinar los niveles de los parámetros, se construyen también gráficos de contorno de las mismas variables. En la gráfica de contorno, se dibujan curvas con valores de respuesta iguales en un plano cuyas coordenadas muestran los niveles de las variables independientes (Sodeifian *et al.*, 2016).

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad han aumentado los costos de bienes y servicios de acuerdo con los datos publicados por el CONEVAL (Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social); el porcentaje de la población en situación de pobreza en 2022 fue del 36.3%, una caída de 5.6 puntos porcentuales respecto a 2018. Sin embargo, 50.4 millones de personas carecen de acceso a los servicios de salud. En base a estos datos, es muy importante encontrar diferentes alternativas para que más personas en nuestro país tengan acceso a prevenir o cuidar su salud y por consecuencia, tener una mejor calidad de vida. Una de estas alternativas es el uso de plantas medicinales, ya que a través de los años el 70% de la población mexicana ha optado por alguna de las 4,500 plantas medicinales de México por lo menos una vez en su vida. Las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo. A pesar de que no se dispone de cifras exactas sobre el uso de plantas medicinales a nivel mundial, la Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que más del 80 % de la población recurre habitualmente a la medicina tradicional para atender sus necesidades básicas de salud, siendo los extractos vegetales y sus principios activos componentes fundamentales de estos tratamientos (Shrestha & Dhillon, 2003; Katewa *et al.*, 2004). El empleo de plantas con fines terapéuticos constituye una práctica habitual que sigue expandiéndose a nivel mundial. Tradicionalmente, estos tratamientos se aplican en diversas formas de preparación y con un rango muy amplio de dosis, que puede ir desde concentraciones elevadas hasta cantidades extremadamente bajas (Guzmán *et al.*, 2017). En el caso de la planta *Melochia tomentosa* L., no se tienen muchos antecedentes de estudio, buscando en la base de datos de Scopus no se tiene documentado si tiene propiedades antioxidantes, tóxicas e insecticidas y su composición química, solo se tiene reportado 11 artículos científicos relacionados con esta planta, es por ello la importancia de esta investigación, ya que solo se tienen conocimientos empíricos de su uso a través de los años. En el presente proyecto de investigación se plantea la obtención de extracto de la planta *Melochia tomentosa* L., para determinar su capacidad antioxidante, composición química y propiedades tóxicas e insecticidas.

HIPÓTESIS

Mediante un diseño factorial se realizará la extracción asistida con ultrasonido de *Melochia tomentosa* L., y se espera que la composición química, actividad antioxidante y propiedades tóxicas e insecticidas sean similares a la de las plantas del género *Melochia*.

2. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS

2.1. Objetivo general

Realizar un diseño factorial 3^3 para la extracción asistida con ultrasonido de *Melochia tomentosa* L., y evaluar su actividad antioxidante, composición química y propiedades tóxicas e insecticidas.

2.2. Objetivos específicos

- Obtener extractos utilizando un diseño factorial 3^3 , teniendo como variables: el solvente, tiempo de extracción y la relación líquido-sólido, mediante ultrasonido.
- Identificar las variables que afectan la actividad antioxidante del extracto.
- Analizar la actividad antioxidante mediante los radicales ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) y DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), del extracto de la planta *Melochia tomentosa* L.
- Evaluación de los compuestos fenólicos mediante el método Folin-Ciocalteu
- Determinar la composición química de la *Melochia tomentosa* L., mediante la técnica GC-MS (Cromatografía de gases acoplada con espectroscopía de masas).
- Evaluación de la toxicidad de la *Melochia tomentosa* L., por el ensayo de letalidad de *Artemia* spp.
- Determinación de la actividad insecticida de la *Melochia tomentosa* L.

3. METODOLOGÍA

3.1. Plan de trabajo

El plan de trabajo de la metodología del proyecto de investigación se muestra de forma general en la Figura 2.

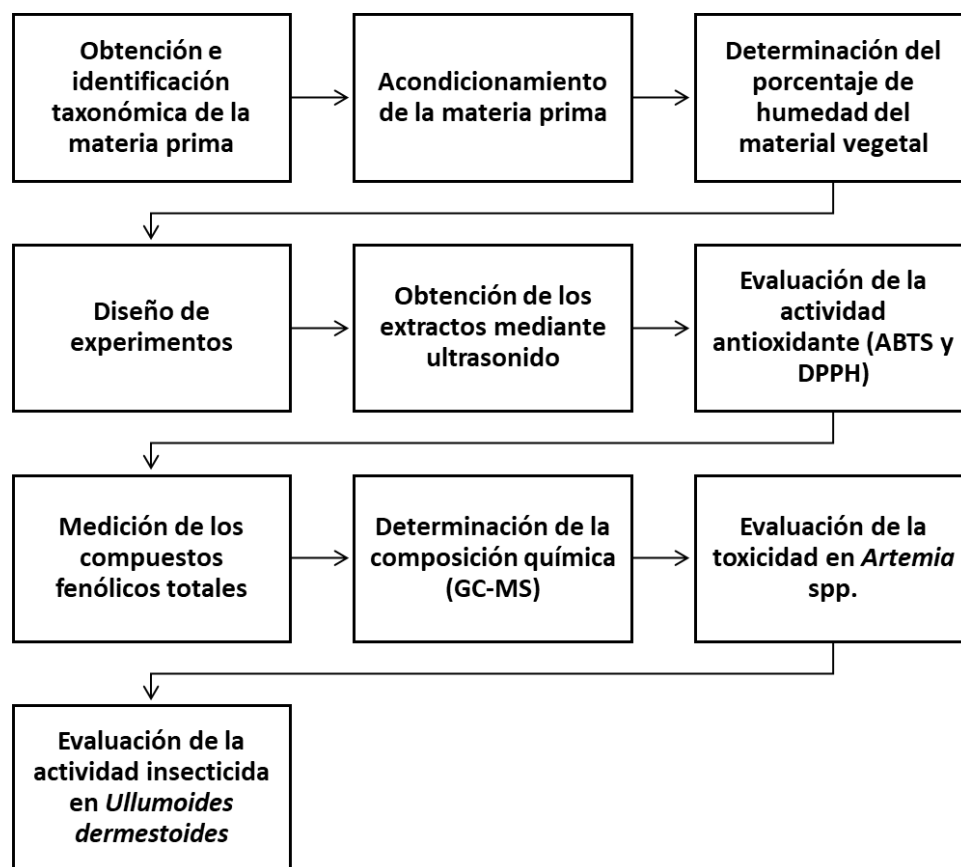


Figura 2. Metodología del proyecto. Fuente: propia.

3.2. Obtención e identificación taxonómica de la materia prima

La planta Malva de los cerros (*Melochia tomentosa* L.) mostrada en la Figura 3, fue recolectada en el pueblo de San José Trujapan del Estado de Oaxaca, en los meses de junio-agosto de 2024. Posteriormente, se envió al Jardín Botánico de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla para su identificación con el apoyo del Dr. Jesús Francisco López Olguin, director del Jardín Botánico.



Figura 3. Malva de los cerros (*Melochia tomentosa* L.), San José Trujapan, Tequixtepec, Oaxaca, 2024. Fuente: propia

3.3. Preparación del material vegetal

Una vez identificada la planta *Melochia tomentosa* L., se seleccionaron las hojas, los tallos y las flores del material vegetal. Posteriormente, se verificó que no presentaran daños físicos y se lavaron las diferentes partes con el fin de eliminar impurezas. Estas se secaron en un deshidratador de alimentos (Hamilton Beach 32100A) a una temperatura de 100 °F durante 48 horas, para su posterior extracción. Al finalizar el proceso de deshidratación, se realizó la molienda del material vegetal, el cual fue almacenado en bolsas de papel celofán, con el propósito de evitar contaminación por humedad, hasta su utilización (Figura 4).

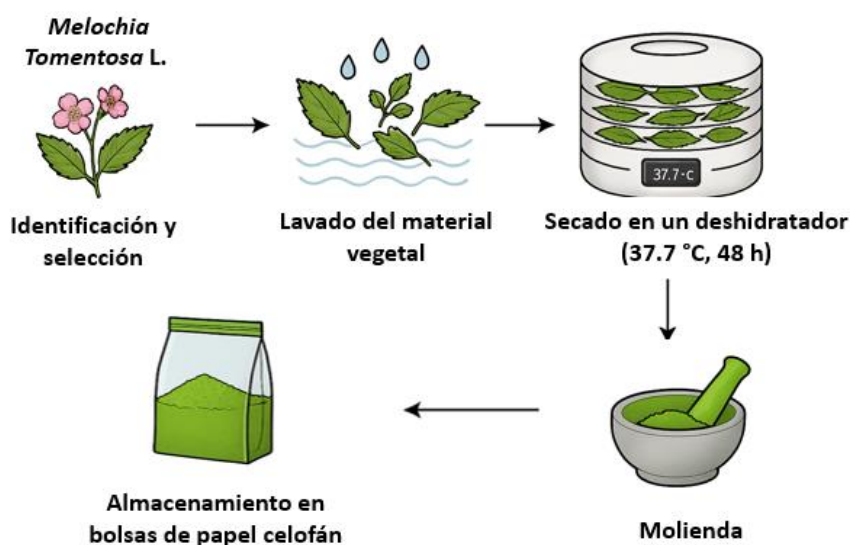


Figura 4. Procedimiento del secado de la (*Melochia tomentosa* L.) Fuente: propia

3.4. Determinación de la humedad del material vegetal

La determinación del contenido de humedad de las hojas de *Melochia tomentosa* L. se llevó a cabo mediante el método 934.06 de la AOAC (2000), el cual se basa en la pérdida de peso de la muestra tras un proceso de desecación en horno.

Las pruebas se realizaron por duplicado, para lo cual se utilizaron charolas de aluminio desechables y una pinza de crisol para poder manipularlas, para ello con ayuda de una pinza de crisol se tomaron las charolas para pesarlas en la balanza analítica, registrando los datos como peso inicial, posteriormente se ingresaron las charolas a un horno de secado (Modelo: Terlab) a 100 °C durante 24 horas. Transcurrido el tiempo las charolas se ingresaron a un desecador en un tiempo de 15 minutos, se pesaron nuevamente para registrar los datos como peso constante. En cada charola se pesaron 3 gramos de la hoja de la planta previamente seca y pulverizada, y se ingresaron nuevamente al horno a las mismas condiciones de tiempo y temperatura. Al término de las 24 horas se ingresaron las charolas nuevamente a un desecador durante 15 minutos y finalmente se registró el peso de cada charola como peso final (Figura 5).

El porcentaje de humedad se representó mediante la Ecuación (1) y el peso de la muestra seca se obtuvo mediante la Ecuación (2).

$$\% \text{ humedad} = \left(\frac{\text{Peso}_{\text{inicial}} - \text{Peso}_{\text{final}}}{\text{Peso}_{\text{inicial}}} \right) * 100 \quad (1)$$

Donde:

Peso_{inicial} = peso de la charola más la muestra húmeda

Peso_{final} = peso de la charola más la muestra seca

$$\text{Peso de la muestra seca} = \text{Peso total (charola + muestra)} - \text{Peso constante} \quad (2)$$

Donde: El peso de la muestra húmeda se registró antes de ingresar las hojas deshidratadas y pulverizadas al horno, y el peso de la muestra seca fue registrado al retirar la muestra del horno pasando por el desecador.

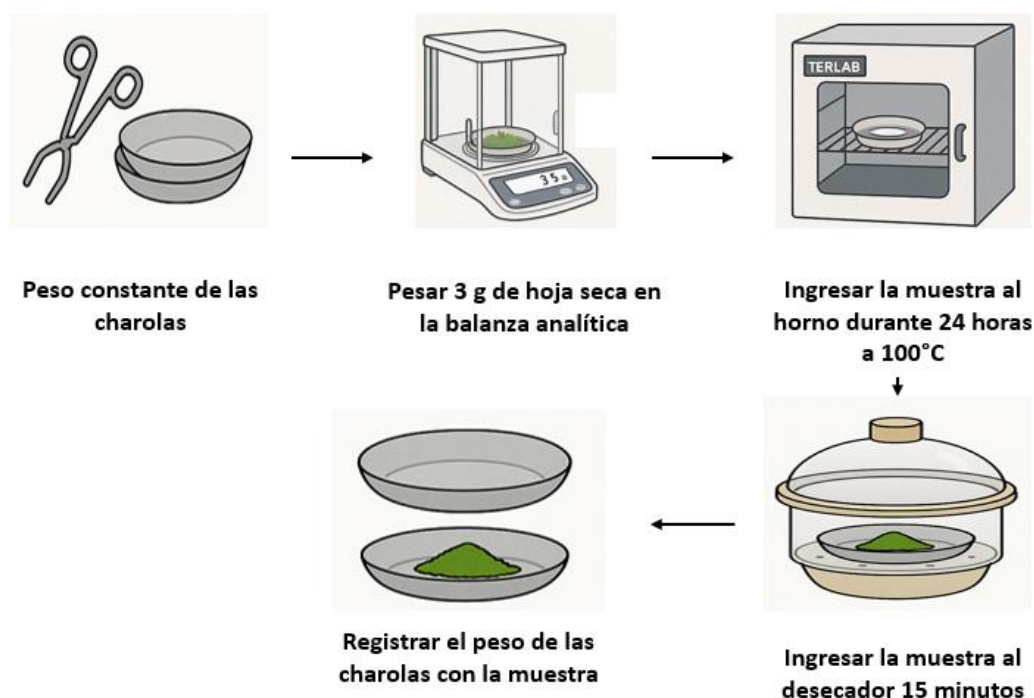


Figura 5. Procedimiento de la medición del % humedad de la (*Melochia tomentosa* L.)
Fuente: propia

3.5. Diseño de experimentos empleado en la evaluación de los extractos de *Melochia tomentosa* L.

Se empleó el diseño factorial 3^3 , para evaluar los efectos de las variables del proceso: tiempo de extracción, tipo de solvente y la relación líquido-sólido, siendo las respuestas en el diseño factorial: la actividad antioxidante (ABTS y DPPH) y los compuestos fenólicos totales, como se muestra en la Tabla 5. Los 27 experimentos se realizaron al azar y por duplicado.

Tabla 5. Factores y niveles en el diseño factorial (3^3) para la selección del extracto con mayor actividad antioxidante de la *Melochia tomentosa* L.

3^3	FACTORES			Respuesta		
Tratamientos	Tiempo (Minutos)	R liquido-sólido mL/g	Tipo de solvente	ABTS (mg Trolox	DPPH (mg Trolox	Compuestos fenólicos totales (mg ácido

				/g sólidos seco)	/g sólidos seco)	gálico/g sólidos seco)
1	5	100	Agua	-----	-----	-----
2	5	100	Etanol	-----	-----	-----
3	5	100	Metanol	-----	-----	-----
4	5	80	Agua	-----	-----	-----
5	5	80	Etanol	-----	-----	-----
6	5	80	Metanol	-----	-----	-----
7	5	66.67	Agua	-----	-----	-----
8	5	66.67	Etanol	-----	-----	-----
9	5	66.67	Metanol	-----	-----	-----
10	7.5	100	Agua	-----	-----	-----
11	7.5	100	Etanol	-----	-----	-----
12	7.5	100	Metanol	-----	-----	-----
13	7.5	80	Agua	-----	-----	-----
14	7.5	80	Etanol	-----	-----	-----
15	7.5	80	Metanol	-----	-----	-----
16	7.5	66.67	Agua	-----	-----	-----
17	7.5	66.67	Etanol	-----	-----	-----
18	7.5	66.67	Metanol	-----	-----	-----
19	10	100	Agua	-----	-----	-----
20	10	100	Etanol	-----	-----	-----
21	10	100	Metanol	-----	-----	-----
22	10	80	Agua	-----	-----	-----
23	10	80	Etanol	-----	-----	-----
24	10	80	Metanol	-----	-----	-----
25	10	66.67	Agua	-----	-----	-----
26	10	66.67	Etanol	-----	-----	-----
27	10	66.67	Metanol	-----	-----	-----

3.6. Extracción de compuestos bioactivos de las hojas de *Melochia tomentosa* L., por (Extracción Asistida por Ultrasonido)

Las muestras de las hojas de la *Melochia tomentosa* L., fueron sometidas a ultrasonido en un baño ultrasónico marca VEVOR (400 W). Para ello, se emplearon diferentes solventes (agua, etanol y metanol), distintos tiempos de extracción (5, 7.5 y 10 minutos) y diferentes

relaciones líquido-sólido de (100, 80 y 66.67 mL/g), respectivamente, como se muestra en la Figura 6. Una vez transcurrido el tiempo de extracción con ayuda de papel filtro se filtraron los extractos y se almacenaron en frascos ámbar en refrigeración hasta ser utilizados.

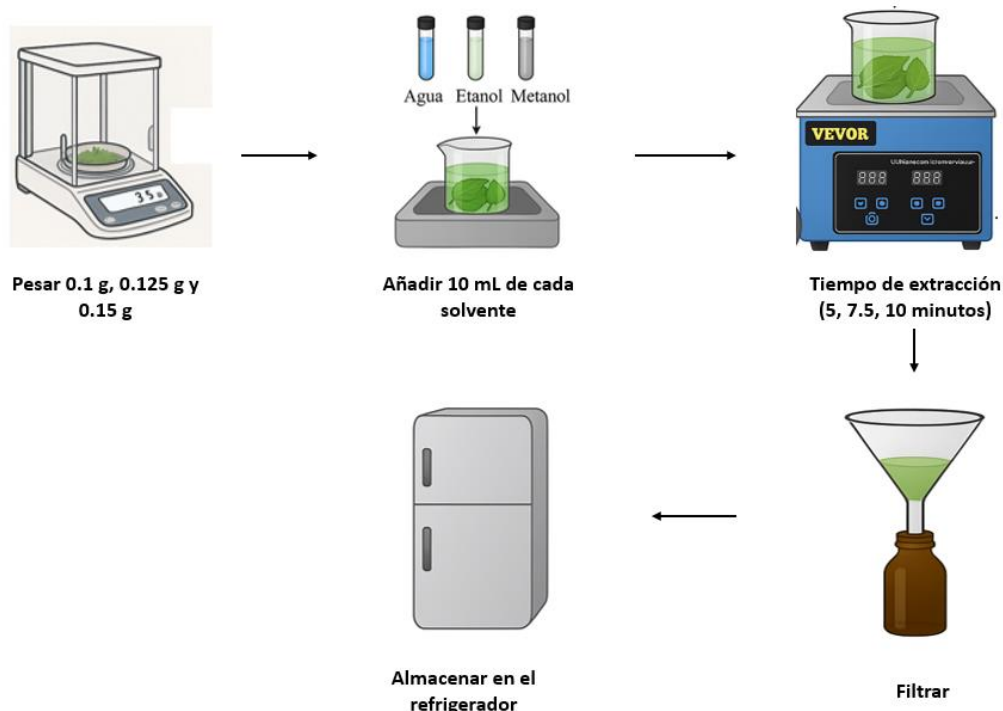


Figura 6. Procedimiento de extracción de compuestos bioactivos de la (*Melochia tomentosa* L.) Fuente: propia.

3.7. Evaluación de los compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos totales presentes en las hojas de *Melochia tomentosa* L., se evaluaron mediante el método de Folin-Ciocalteu, (Gao *et al.*, 2000).

Se mezclaron 2 mL de agua destilada y 200 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu con 100 μ L del extracto de la planta; la mezcla se incubó durante 3 minutos a temperatura ambiente y luego se añadió 1 mL de Na_2CO_3 al 20%. Se dejó reposar durante una hora a temperatura ambiente en oscuro. Posteriormente, se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Visible (Jenway, Mod 6405 UV/Vis) como se muestra en la Figura 7.

El contenido total de compuestos fenólicos se calculó como mg de ácido gálico (GA)/g de sólidos secos con ayuda de la Ecuación (3).

$$\frac{mg \text{ ácido gálico}}{g \text{ planta seca}} = \frac{ABS - 0.0236}{3.8023} * FD \quad (3)$$

Dónde: ABS es la absorbancia de la muestra y FD es la relación líquido sólido del extracto.

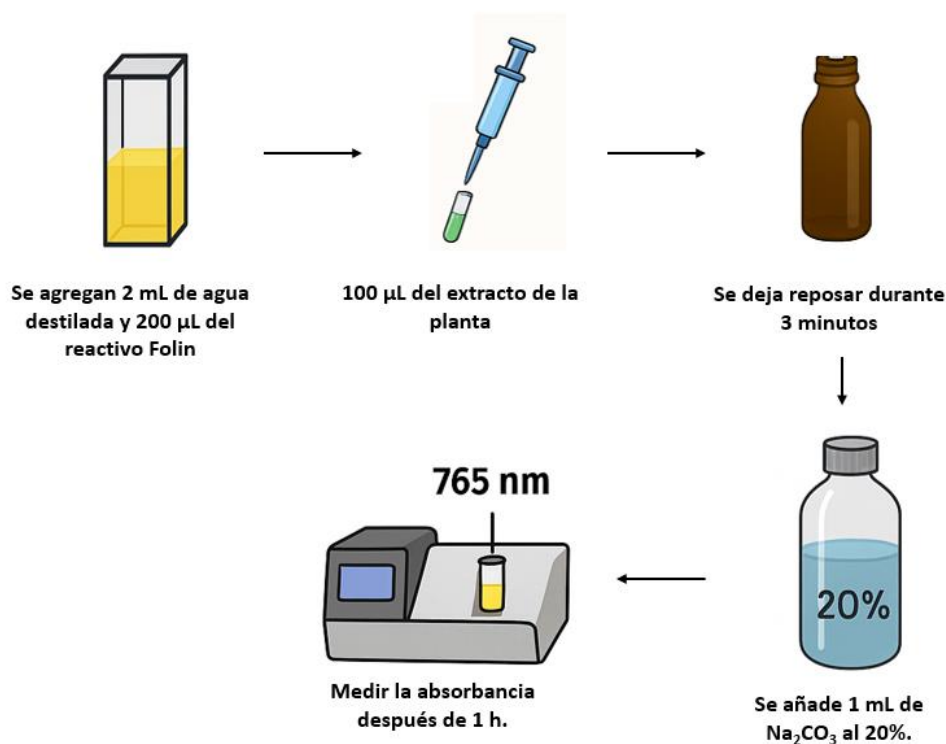


Figura 7. Procedimiento en la evaluación de actividad antioxidante por el método Folin-Ciocalteu. Fuente: propia.

3.8. Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos de las hojas de *Melochia tomentosa* L., con las técnicas DPPH y ABTS

Para el método del radical DPPH, se siguió la metodología propuesta por Kuskoshi *et al.* (2004) que es ampliamente utilizado en laboratorios convencionales debido a su bajo costo y simplicidad. Se pesaron 0.0012 g del radical DPPH en una balanza analítica y con la ayuda de un embudo se vació el radical a un matraz aforado de 50 mL. Se aforo con metanol, se agito perfectamente y se envolvió con papel aluminio. Se conservo la solución a temperatura ambiente. Se pasaron 3900 µL de la solución de radical DPPH-metanol

absoluto a una celda de cuarzo al espectrofotómetro (UV-Vis Jenway, Mod 6405 UV/Vis) a una absorbancia a 517 nm y se adicionaron 100 µL de metanol para la solución de control. En seguida, se tomó 3900 µL de la solución de radical DPPH-metanol absoluto a una segunda celda de cuarzo para el espectrofotómetro UV-Vis y se adicionaron 100 µL del extracto de la *Melochia tomentosa* L., y en ese momento se empieza a contar el tiempo de la reacción (Tiempo cero). Mientras sucede la reacción (30 minutos después) se registró la lectura de la absorbancia, como se muestra en la Figura 8 y se consideró como la absorbancia final de la muestra (Abs_{final}). Con los datos anteriores se calculó el % de inhibición aplicando la Ecuación (4).

$$\% \text{ Inhibición} = \left(\frac{Abs_{control} - Abs_{final}}{Abs_{control}} \right) * 100 \quad (4)$$

Donde: $Abs_{control}$, es la absorbancia del blanco y Abs_{final} es la absorbancia final.

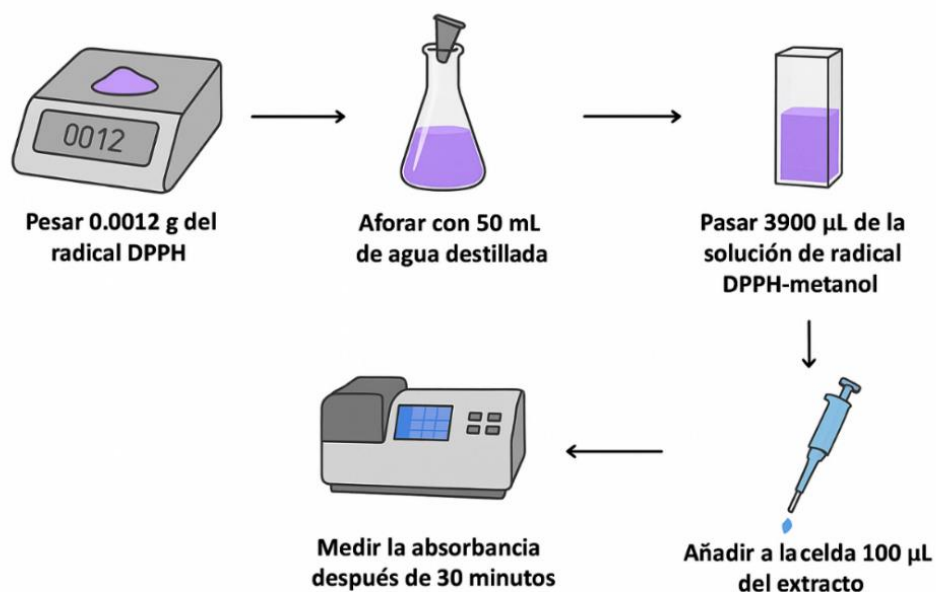


Figura 8. Procedimiento en la evaluación de actividad antioxidante por DPPH. Fuente: propia

Para el método ABTS, se siguió la metodología propuesta por Kuskoshi *et al.* (2004). Para lo cual, se utilizaron 0.0033 g de persulfato de potasio y 0.0194 g del reactivo ABTS, mezclándose en 5 mL de agua destilada y se dejó reposar por 16 h en un frasco ámbar. Después se tomaron 220 µL de la solución que se dejó reposar y se mezcló en 50 mL de etanol, dejando reposar 30 minutos, se pasaron 3920 µL de la solución de radical ABTS-etanol a una celda de cuarzo y se midió su absorbancia en un espectrofotómetro UV-Visible (Jenway, Mod 6405 UV/Vis) a 754 nm, ajustando a una absorbancia de 0.7 ± 0.02 valor requerido para dar inicio la reacción y se registra como la absorbancia inicial. Posteriormente se agregaron 80 µL del extracto de la planta a la celda de cuarzo con los 3920 µL de la solución de radical ABTS-etanol. Finalmente, se registró la absorbancia final después de 7 minutos (Figura 9).

El porcentaje de inhibición del radical ABTS se calculó por medio de la Ecuación (5).

$$\% \text{ Inhibición} = \left(\frac{Abs_{inicial} - Abs_{final}}{Abs_{inicial}} \right) * 100 \quad (5)$$

Donde: $Abs_{inicial}$, es la absorbancia inicial y Abs_{final} es la absorbancia final.

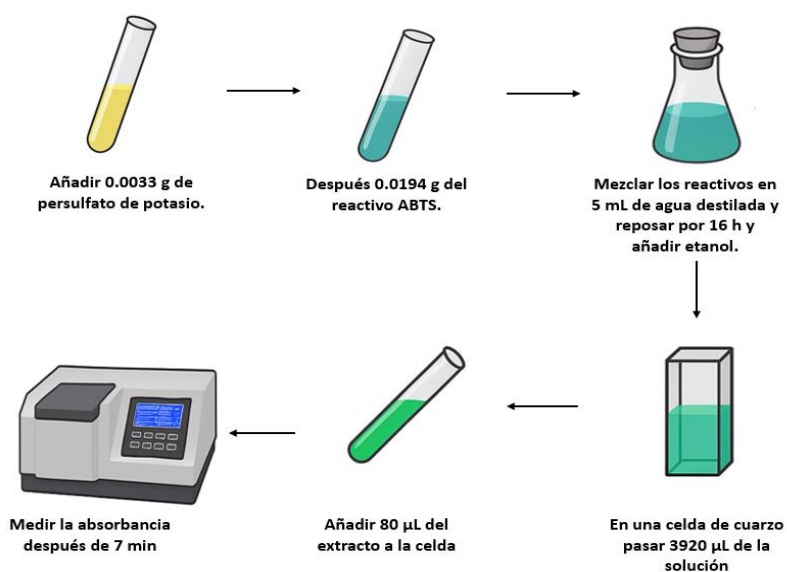


Figura 9. Procedimiento en la evaluación de actividad antioxidante por ABTS. Fuente: propia.

3.9. Determinación de la composición química del extracto etanólico de *Melochia tomentosa* L.

Mediante la técnica cromatografía de gases acoplada con espectroscopía de masas (GC-MS) se determinaron los compuestos químicos volátiles del extracto etanólico de las hojas de *Melochia tomentosa* L. con una relación líquido-sólido de 10 mL/0.15 g. Se caracterizaron utilizando un cromatógrafo de gases equipado con un detector selectivo de masas de cuadrupolo 5975 (Agilent Technologies 6850N GC, Santa Clara, CA, EE. UU.). La separación de los compuestos se logró utilizando una columna capilar HP5-MS (30 m de largo x 0.25 mm de diámetro), recubierta con una película de 0.25 μ m. El análisis se realizó utilizando helio como gas portador a un caudal de 1 ml/minutos, con una temperatura del inyector de 250 °C y un volumen de inyección de 1 μ l. Se utilizó una relación de división de 10:1 y la temperatura programada comenzó en 60°C, aumentando a 4°C/minutos hasta llegar a 240°C. La energía de ionización fue de 70 eV y el rango de masa de escaneo fue de 43 a 350 m/z. La identificación de compuestos se basó en la comparación de espectros de masas con datos de la literatura utilizando una biblioteca espectrometría de masas (NIST, Instituto Nacional de Estándares y Tecnología).

3.10. Evaluación de la toxicidad a extractos de *Melochia tomentosa* L., con el modelo de *Artemia* spp.

El grado de toxicidad de los diferentes extractos (acuoso, metanólico, etanólico) de hojas de *Melochia tomentosa* L., se realizó utilizando 10 mL de cada solvente y 0.15 g de las hojas de la planta, a través del ensayo in vivo de *Artemia salina*, de acuerdo con el método descrito por Juárez *et al.* (2015).

Se pesaron 0.1 g de quistes de artemia y se cultivaron en una solución salina preparada a partir de sal marina comercial (15 g de sal marina/500 mL de agua destilada). Los quistes de *artemia* se incubaron a temperatura ambiente (25°C) durante 24 h. Para el bioensayo se utilizaron quistes de *Artemia* spp. de 24 h de edad. Se desarrollaron pruebas preliminares con los distintos extractos de hojas de *Melochia tomentosa* L., para determinar el rango crítico a distintas concentraciones, como se muestra en la Tabla 6. Se utilizó agua de mar

artificial como blanco y como control negativo agua destilada, etanol y metanol (de acuerdo con el solvente utilizado en el extracto).

Para realizar la prueba se agregaron 5 mL de agua de mar artificial a diferentes tubos de ensayo de vidrio de borosilicato de 10 mL (KIMAX) y se transfirieron 10 artemias utilizando una pipeta Pasteur, después se agregó la cantidad de extracto y solvente a cada tubo de acuerdo con la Tabla 6, dichas cantidades fueron determinadas mediante la Ecuación (6). Se aforó cada tubo con agua de mar artificial. Los tubos se taparon con una relación luz: oscuridad de 12:12 durante 24 horas. Todos los experimentos se realizaron por triplicado. La toxicidad se estimó calculando la CL₅₀ (concentración letal media) determinada después del período de incubación de 24 horas, como se muestra en la Figura 10. Las artemias se consideraron muertas cuando no se detectó movimiento después de 10 segundos de observación.

$$V1 * C1 = V2 * C2 \dots (6)$$

Donde:

V1 = Volumen de extracto acuoso a utilizar en cada caso

C1 = Concentración del extracto acuoso que presentó mayor actividad antioxidante de acuerdo con el diseño de experimentos, en ppm (0.15 g/10 mL = 15000 ppm)

V2 = 5 mL

C2 = Concentraciones de prueba (50, 100, 250, 500 y 100 ppm)

Tabla 6. Muestras analizadas en el bioensayo con *Artemia* spp.

Extractos de las hojas de <i>Melochia tomentosa</i> L.	Muestras por triplicado (A, B y C)	Volumen		
		Solvente (μL)	Extracto (μL)	Agua de mar artificial inicial (μL)
Extracto acuoso	Blanco	NA	NA	5
	Control negativo	Agua destilada: 666.67	NA	
	30 ppm	NA	100	
	50 ppm	NA	166.67	

	75 ppm	NA	250
	100 ppm	NA	333.33
	150 ppm	NA	500
	175 ppm	NA	583.33
	200 ppm	NA	666.67
Extracto metanólico	Blanco	NA	NA
	Control negativo	Metanol: 250	NA
	10 ppm	NA	33.33
	30 ppm	NA	100
	50 ppm	NA	166.66
	60 ppm	NA	200
	75 ppm	NA	250
Extracto etanólico	Blanco	NA	NA
	Control negativo	Etanol: 333.33	NA
	10 ppm	NA	33.33
	25 ppm	NA	83.33
	50 ppm	NA	166.66
	75 ppm	NA	250
	100 ppm	NA	333.33

Se clasificaron los valores de toxicidad obtenidos según la definición de Meyer *et al.* (1982) concentraciones mayores a 1500 µg/mL se consideraron inocuas, de 1000 a 1500 µg/mL se consideraron no tóxicas, de 500 a 1000 µg/mL se consideraron ligeramente tóxicas, de 100 a 500 µg/mL se consideraron moderadamente tóxicas, de 10 a 100 µg/mL se consideraron

altamente tóxicas, y de 1 a 10 $\mu\text{g/mL}$ se consideraron extremadamente tóxicas. La CL_{50} se calculó utilizando el análisis Probit con un nivel de confianza del 95 % utilizando el software Statgraphics 19.

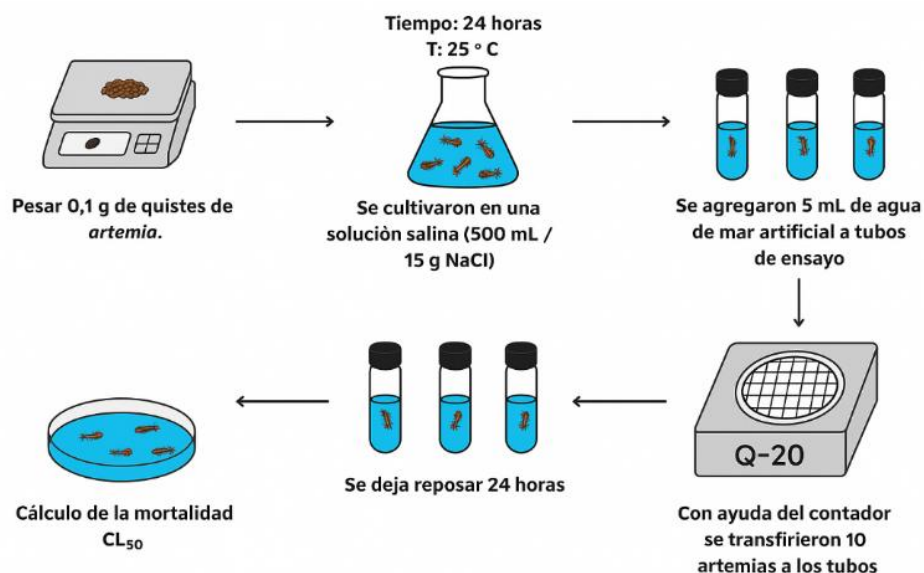


Figura 10. Procedimiento del ensayo de letalidad con *artemia* a la *Melochia tomentosa* L.
Fuente: propia

3.11. Actividad insecticida del extracto acuoso de *Melochia tomentosa* L.

Se realizó un estudio para evaluar la actividad insecticida del extracto acuoso de las hojas de *Melochia tomentosa* L., en gorgojo de frijol (*Ullumoides dermestoides*) a diferentes concentraciones (50, 100, 250, 500 y 100 ppm). Para la prueba se utilizaron 21 frascos de plástico con tapas perforadas cubiertas con una malla para ventilación, a cada frasco se le agregaron 10 g de avena comercial. Con ayuda de la Ecuación (6) se calculó el volumen de extracto acuoso a utilizar en cada caso, para 10 gramos de avena, los resultados se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Volumen del extracto acuoso de las hojas de *Melochia tomentosa* L. (V1) utilizado en la prueba para 10 gramos de avena.

C2 (ppm)	V1 (mL)	V1 (μL) para 10 g
50	0.0167	166.6667
100	0.0333	333.3333
250	0.0833	833.3333
500	0.1667	1666.6667
1000	0.3333	3333.3333

Las pruebas se realizaron por triplicado, para ello se etiquetaron los frascos con avena como blancos (A, B y C), control negativo (A, B y C) y con las concentraciones de 50, 100, 250, 500 y 1000 ppm (A, B y C en cada caso). A los blancos se les colocaron únicamente 10 adultos, a los controles se les agregó 3333.33 μL de agua destilada, que corresponde al volumen de extracto calculado de la máxima concentración utilizada en la prueba (1000 ppm). Posteriormente se dieron movimientos circulares a los frascos durante 15 segundos para que el solvente se integrara uniformemente en la avena y por último se agregaron 10 adultos. A los frascos etiquetados con las distintas concentraciones se les agregó el volumen calculado de extracto acuoso de acuerdo con la Tabla 8, después se movieron de forma circular por 15 segundos y se les colocaron 10 adultos en cada caso. Todos los frascos se taparon y se almacenaron en oscuridad, observando el crecimiento y muerte de adultos, larvas y huevos una vez por semana durante 3 meses con ayuda de un estereoscopio, (Figura 11).

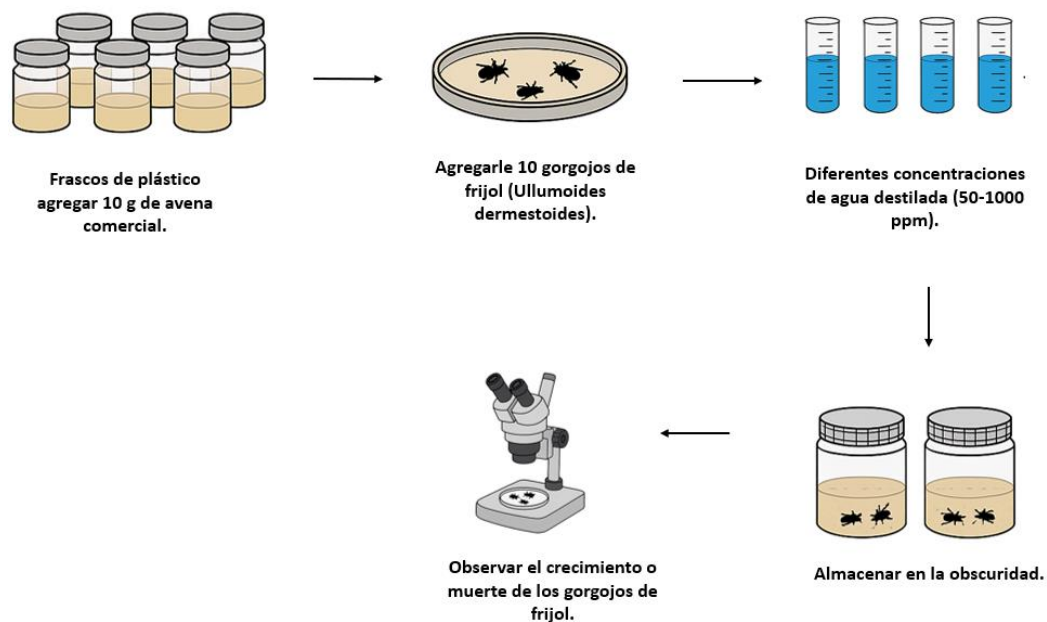


Figura 11. Procedimiento de la prueba de actividad insecticida del extracto de *Melochia tomentosa* L. Fuente: propia.

3.12. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las técnicas ABTS, DPPH y compuestos fenólicos totales, fueron analizados mediante el programa estadístico Minitab 22.

4. RESULTADOS

4.1. Identificación taxonómica de la *Melochia tomentosa* L.

En la Figura 12, se presenta el resultado de la identificación taxonómica realizado a la planta (Malva de los cerros o malva rosa) en el jardín botánico de la (BUAP), corroborando su nombre científico (*Melochia tomentosa* L.).


BUAP

No. oficio HJ-296/2023

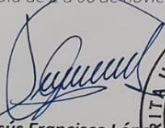
Dra. Lilia Alejandra Conde Hernández
PRESENTE

Por medio de la presente reciba un cordial saludo y al mismo tiempo le hago llegar la identificación taxonómica del material herborizado recibido, cuya identificación fue realizada por el taxónomo MPhil Allen James Coombes, siendo la siguiente:

No.	ID	NOMBRE	FAMILIA	NÚMERO DE COLECTA	COLECTOR
1	89976	<i>Melochia tomentosa</i> L.	MALVACEAE	1	Adair Jacobo Sánchez Cruz

Sin más por el momento me despido de Usted.

Atentamente
"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"
H. Puebla de 7 a 06 de noviembre de 2023.


Dr. Jesús Francisco López Olguín
Director



c.c.p. Archivo

Herbario y Jardín Botánico

Edif. HJB, Av. Central, esq. con Av. Escolar
Ciudad Universitaria
Puebla, Pue. C.P. 72570
Tel: 222 229 5500, exts. 7032 y 7034

Figura 12. Identificación taxonómica de la *Melochia tomentosa* L

4.2. % Humedad de la *Melochia tomentosa* L.

En la Tabla 8 se presenta el resultado del porcentaje de humedad de las hojas de (*Melochia tomentosa* L.)

Tabla 8. % humedad de las hojas de *Melochia tomentosa* L.

Peso inicial de la charola (g)	Muestra	Peso constante de la charola (g)	Peso de la muestra húmeda (g)	Peso total de la charola + la muestra húmeda (g)	Peso de la muestra seca (g)	% Humedad
3.1313	1	3.1246	3.001	5.8977	2.7731	10.258 ± 0.010
3.142	2	3.1351	3.001	5.9079	2.7728	

4.3. Resultados del análisis estadístico

Las unidades de las respuestas de dichos métodos fueron determinadas mediante el procedimiento mostrado en la Tabla 9 y las respuestas promedio de los 27 experimentos por duplicado se muestran en la Tabla 10.

Tabla 9. Conversión de unidades de las respuestas de los métodos Folin-Ciocalteu, ABTS y DPPH.

Respuesta de los métodos	Folin-Ciocalteu	Con la curva de calibración de ácido gálico (Conde-Hernández <i>et al.</i> , 2016)	$\frac{mg \text{ ácido gálico}}{g \text{ planta húmeda}} = \frac{ABS - 0.0236}{3.8023}$
	ABTS	Con la curva de calibración de trolox (6-hydroxy-2,5,7,8 tetramethylchromane-2-carboxylic acid) (Conde-Hernández <i>et al.</i> , 2016)	$\frac{mg \text{ trolox}}{g \text{ sólidos secos}} = \frac{\%inhibición - 3.177}{386.9}$
	DPPH		$\frac{mg \text{ trolox}}{g \text{ sólidos secos}} = \frac{\%inhibición - 0.7975}{218.38}$
Factores utilizados	Factor de dilución: $FD = \frac{mL \text{ de solvente}}{g \text{ de la planta húmeda}}$		

	g muestra húmeda/g sólidos secos: 1.082
Conversión de las unidades	Folin-Ciocalteu: $\frac{mg \text{ ácido gálico}}{g \text{ sólidos secos}} = \frac{mg \text{ ácido gálico}}{g \text{ planta húmeda}} * FD * \frac{1.082 g \text{ muestra húmeda}}{g \text{ sólidos secos}}$
	ABTS y DPPH: $\frac{mg \text{ trolox}}{g \text{ sólidos secos}} = \frac{mg \text{ trolox}}{mL} * FD * \frac{1.082 g \text{ muestra húmeda}}{g \text{ sólidos secos}}$

Tabla 10. Respuestas del diseño de experimentos 3³ en la evaluación antioxidante y compuestos fenólicos totales de la *Melochia tomentosa* L.

Experimento	Relación líquido-sólido (mL/g)	Tipo de solvente	Tiempo de extracción (min)	ABTS (mg trolox/g s.s.)	DPPH (mg trolox/g s.s.)	Compuestos fenólicos totales (mg ácido gálico/g s.s.)
1	100	Agua	5	5.710 ± 0.248	8.768 ± 0.452	1.847 ± 0.020
2	100	Etanol	5	6.760 ± 0.099	9.638 ± 0.177	3.227 ± 0.040
3	100	Metanol	5	9.662 ± 0.176	14.853 ± 0.578	4.763 ± 0.040
4	80	Agua	5	5.404 ± 0.386	8.932 ± 0.060	2.206 ± 0.016
5	80	Etanol	5	6.967 ± 0.086	9.476 ± 0.094	2.866 ± 0.016
6	80	Metanol	5	9.630 ± 0.222	13.285 ± 0.066	4.323 ± 0.048
7	66.67	Agua	5	5.595 ± 0.025	9.610 ± 0.100	2.350 ± 0.013
8	66.67	Etanol	5	7.087 ± 0.036	10.585 ± 0.158	3.413 ± 0.040
9	66.67	Metanol	5	8.708 ± 0.010	13.953 ± 0.055	3.963 ± 0.067
10	100	Agua	7.5	6.365 ± 0.357	9.141 ± 0.075	2.402 ± 0.000
11	100	Etanol	7.5	7.729 ± 0.164	11.928 ± 0.353	3.525 ± 0.060
12	100	Metanol	7.5	10.527 ± 0.120	16.967 ± 0.156	5.375 ± 0.060
13	80	Agua	7.5	6.656 ± 0.143	9.699 ± 0.060	2.445 ± 0.032

14	80	Etanol	7.5	7.595 ± 0.135	11.208 ± 0.188	3.116 ± 0.048
15	80	Metanol	7.5	10.396 ± 0.044	15.210 ± 0.313	4.960 ± 0.048
16	66.67	Agua	7.5	6.258 ± 0.134	10.128 ± 0.159	2.796 ± 0.027
17	66.67	Etanol	7.5	8.323 ± 0.264	11.785 ± 0.199	3.934 ± 0.054
18	66.67	Metanol	7.5	10.011 ± 0.161	14.481 ± 0.104	4.968 ± 0.013
19	100	Agua	10	7.186 ± 0.223	10.348 ± 0.060	2.629 ± 0.080
20	100	Etanol	10	8.888 ± 0.159	13.193 ± 0.237	3.782 ± 0.101
21	100	Metanol	10	11.195 ± 0.044	18.018 ± 0.235	6.058 ± 0.060
22	80	Agua	10	7.200 ± 0.141	11.379 ± 0.238	2.718 ± 0.064
23	80	Etanol	10	8.947 ± 0.111	12.388 ± 0.127	3.503 ± 0.048
24	80	Metanol	10	11.578 ± 0.163	16.449 ± 0.063	5.541 ± 0.064
25	66.67	Agua	10	7.212 ± 0.000	10.774 ± 0.119	3.033 ± 0.040
26	66.67	Etanol	10	9.296 ± 0.067	13.343 ± 0.053	3.982 ± 0.067
27	66.67	Metanol	10	10.570 ± 0.056	15.845 ± 0.052	5.338 ± 0.107

Los experimentos se realizaron de manera aleatoria y todas las respuestas fueron evaluadas en el software estadístico Minitab 22 mediante el análisis de varianza (ANOVA), diagrama de Pareto de efectos estandarizados, análisis del diseño factorial, análisis del diseño de superficie de respuesta y contorno, los cuales se muestran en las siguientes secciones.

4.3.1. Análisis estadístico de las respuestas de los compuestos fenólicos totales de los extractos de *Melochia tomentosa* L.

En la Tabla 10, se pueden observar los resultados que se obtuvieron en la medición de los compuestos fenólicos totales a través del método Folin-Ciocalteu expresados como mg de ácido gálico/g de sólidos secos, los cuales varían de 1.847 ± 0.020 a 6.058 ± 0.060 . La variabilidad en las respuestas depende de los factores y niveles utilizados en las pruebas.

Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) para ver la importancia de los factores utilizados en el diseño de experimentos descrito en la sección 6.5. Esto con el objetivo de identificar que factor influyó más en la evaluación de los compuestos fenólicos totales de

los diferentes extractos (acuoso, metanólico, etanólico) de las hojas de *Melochia tomentosa* L., este análisis de varianza se realizó considerando un nivel de confianza del 95 % y una significancia de 5% como se muestra en la Tabla 11.

Tabla 11. Análisis de Varianza de las respuestas de compuestos fenólicos totales

Fuente	GL	SC Ajuste.	MC Ajuste.	Valor F	Valor p
Modelo	11	69.0267	6.2752	332.88	0.000
Lineal	4	66.7646	16.6911	885.42	0.000
- Tiempo de extracción	1	6.4273	6.4273	340.95	0.000
- Relación L/S	1	0.0032	0.0032	0.17	0.682
- Tipo de solvente	2	60.3341	30.1670	1600.28	0.000
Cuadrado	2	0.6871	0.3436	18.23	0.000
- Tiempo extracción × Tiempo extracción	1	0.0837	0.0837	4.44	0.041
- Relación L/S × Relación L/S	1	0.6034	0.6034	32.01	0.000
Interacción de 2 factores	5	2.8632	0.5726	30.38	0.000
- Tiempo extracción × Relación L/S	1	0.0003	0.0003	0.01	0.907
- Tiempo extracción × Tipo solvente	2	0.9131	0.4565	24.22	0.000
- Relación L/S × Tipo solvente	2	1.9499	0.9749	51.72	0.000
Error	42	0.7917	0.0189		
- Falta de ajuste	15	0.7137	0.0476	16.46	0.000
- Error puro	27	0.0781	0.0029		
Total	53	69.8185			

El análisis de varianza resultó altamente significativo, lo que nos indica que hubo variabilidad en las respuestas observadas. Los factores más significativos fueron el tipo de solvente y tiempo de extracción, los cuales presentaron una influencia significativa sobre las respuestas ($p < 0.0001$), siendo el tipo de solvente el factor más determinante ($F = 1600.28$). El factor relación líquido/sólido (L/S) no fue estadísticamente significativo ($p = 0.682$); sin embargo, su efecto cuadrático sí lo fue ($p < 0.0001$), indicando la existencia de un punto óptimo que maximiza la eficiencia de extracción.

En el diagrama de Pareto Figura 13 se indica la importancia de los factores sobre la respuesta, siendo el tiempo de extracción (A) y el tipo de solvente (C) los factores con mayor

efecto sobre la respuesta. Además, las interacciones AC (tiempo-solvente) y BC (relación L/S-solvente), así como los términos cuadráticos AA (tiempo²) y BB (relación L/S²), resultaron estadísticamente significativas ($p < 0.05$),

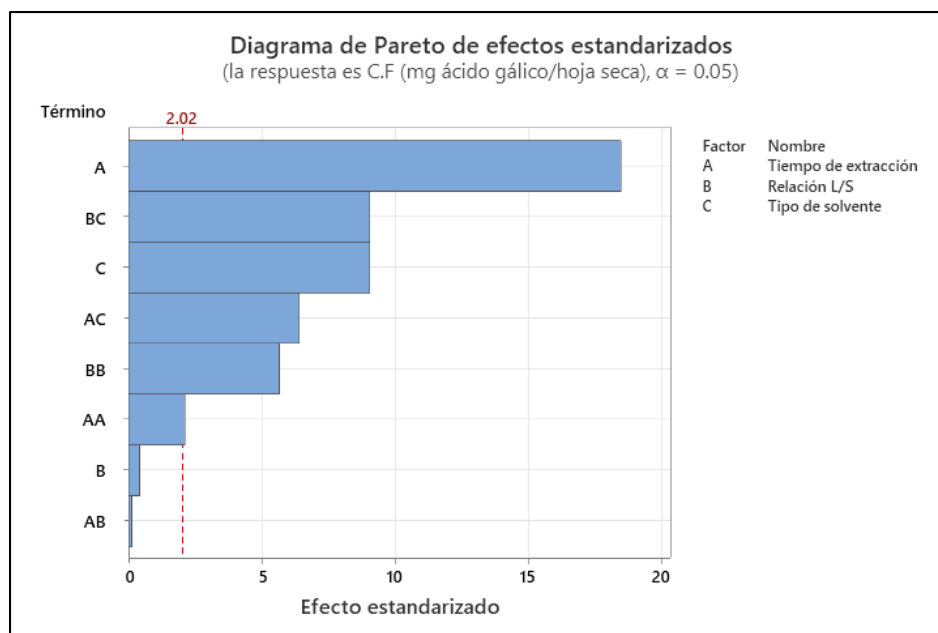


Figura 13. Diagrama de Pareto de compuestos fenólicos. Fuente propia

Se realizaron graficas de superficie de respuesta (RSM) y gráficos de contorno para ver la relación entre los factores de modo que en la respuesta se pudiera observar un valor máximo o mínimo deseado (Figura 14).

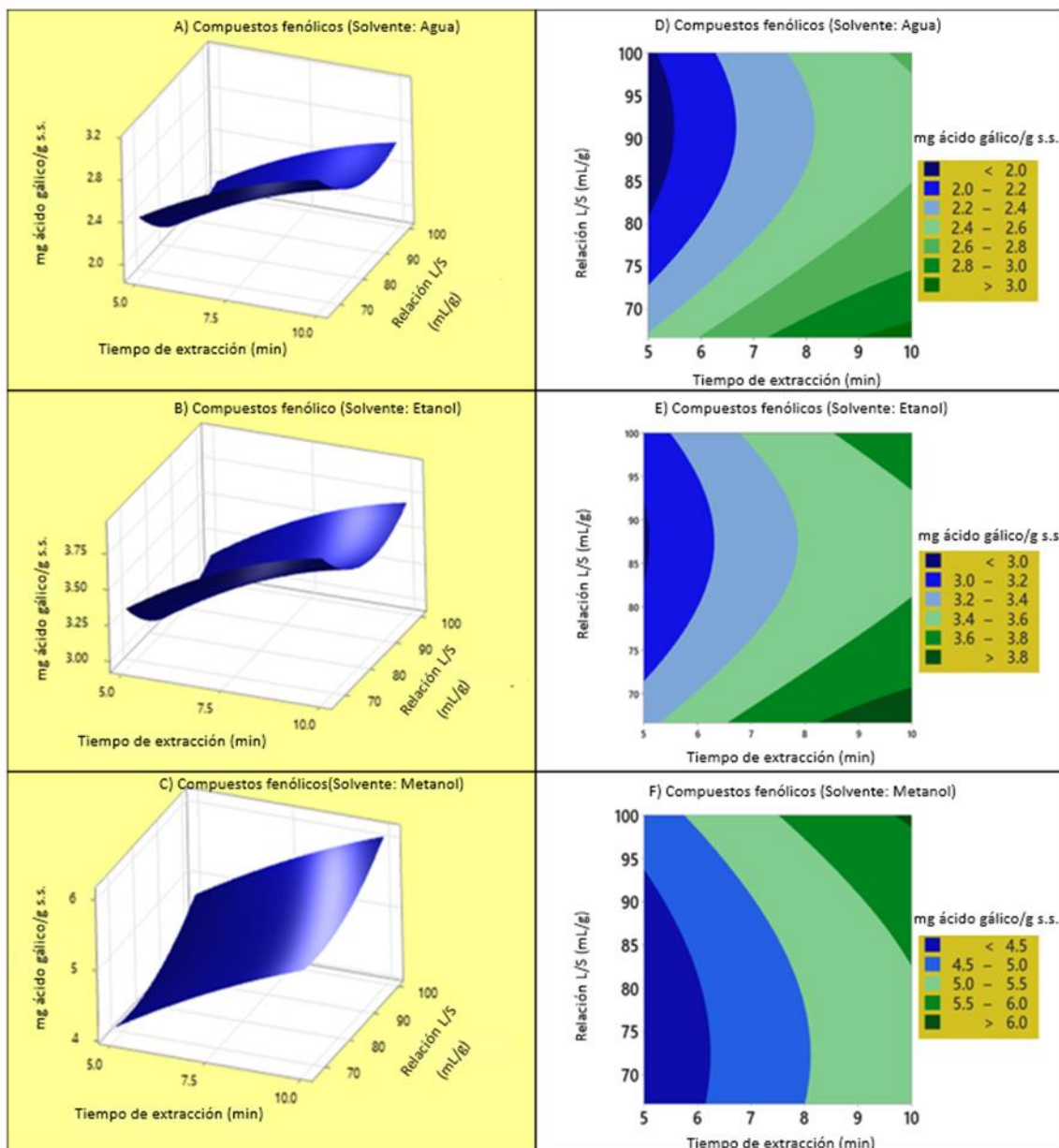


Figura 14. Gráficas de superficie y contorno de los extractos de hojas *Melochia tomentosa* L., de las respuestas de compuestos fenólicos.

En este estudio se muestra que la eficiencia del proceso depende significativamente del tipo de solvente, seguido del tiempo de extracción y por último de la relación líquido/sólido (L/S). Las gráficas de superficie de respuesta indican que: El extracto metanólico presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos totales, alcanzando concentraciones de hasta 6.0 mg de ácido gálico/g de sólidos secos, esto puede atribuirse a su alta polaridad del

metanol y capacidad de solubilización de compuestos fenólicos (Zhuoya *et al.*, 2024; Pham *et al.*, 2017). El extracto etanólico mostró una eficiencia intermedia, con valores cercanos a 3.8 mg de ácido gálico/g de sólidos secos y un comportamiento similar al del extracto metanólico, aunque con una pendiente de respuesta menos pronunciada. La menor polaridad del etanol comparada con la del metanol podría explicar esta diferencia. El extracto acuoso, aunque más seguro, fue el menos eficiente, con valores máximos alrededor de 3.2 mg de ácido gálico/g de sólidos secos. En conjunto, los datos sugieren que, para la optimización de las respuestas, el uso de metanol en condiciones de alta relación L/S y tiempos prolongados es el enfoque más efectivo. No obstante, deben considerarse aspectos de seguridad y toxicidad al seleccionar el solvente para aplicaciones alimentarias o farmacéuticas (Zhuoya *et al.*, 2024).

En las gráficas de contorno se muestra que con el extracto metanólico se obtuvieron mejores respuestas, que van de 4.5 a 6.0 mg ácido gálico/g de sólidos secos. Las respuestas en el extracto etanólico se encuentra en el rango de 3.0 a 3.8 mg ácido gálico/g de sólidos secos. En el extracto acuoso el contenido de mg ácido gálico/g de sólidos secos oscila entre 2.0 y 3.0. Las regiones de color azul oscuro indican zonas donde las respuestas presentaron los valores más bajos, principalmente con tiempos cortos y relaciones L/S altas. En la mayoría de las gráficas de superficie y contorno, se observa que tiempos prolongados de extracción (9–10 min) y bajas relaciones L/S (70–75) (más material vegetal en menos volumen de solvente) favorecen a las respuestas.

4.3.2. Análisis estadístico de las respuestas por el método DPPH de los extractos de *Melochia tomentosa* L.

En la Tabla 10, se observan las respuestas de la evaluación de la actividad antioxidante de los diferentes extractos (acuoso, etanólico y metanólico) de las hojas de *Melochia tomentosa* L., con el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) expresadas como mg Trolox/g de sólidos secos, los resultados van de 8.768 ± 0.452 a 18.018 ± 0.235 . La variabilidad en las respuestas depende de los factores y niveles utilizados en las pruebas.

En la Tabla 12 se presenta el análisis de varianza (ANOVA), esta evaluación se realizó considerando un nivel de confianza del 95 % y una significancia de 5%. El análisis evidencia que el tipo de solvente fue el factor más significativo ($F = 1053.57$, $p < 0.0001$), seguido del tiempo de extracción ($F = 399.01$, $p < 0.0001$), la relación líquido/sólido (L/S) tuvo un efecto moderadamente significativo ($F = 4.24$, $p = 0.046$), aunque su impacto fue mucho menor en comparación con los factores anteriores.

Tabla 12. Análisis de Varianza de las respuestas por DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).

Fuente	GL	SC Ajuste	MC Ajuste	Valor F	Valor p
Modelo	11	372.508	33.864	234.17	0.000
Lineal	4	363.034	90.759	627.59	0.000
Tiempo de extracción	1	57.702	57.702	399.01	0.000
Relación L/S	1	0.613	0.613	4.24	0.046
Tipo de solvente	2	304.720	152.360	1053.57	0.000
Cuadrado	2	1.711	0.855	5.92	0.005
Tiempo de extracción * Tiempo de extracción	1	0.003	0.003	0.02	0.896
Relación L/S * Relación L/S	1	1.708	1.708	11.81	0.001
Interacción de 2 factores	5	16.085	3.217	22.25	0.000
Tiempo extracción * Relación L/S	1	0.861	0.861	5.95	0.019
Tiempo extracción * Tipo de solvente	2	2.940	1.470	10.17	0.000
Relación L/S * Tipo de solvente	2	12.284	6.142	42.47	0.000
Error	42	6.074	0.145		
Falta de ajuste	15	4.870	0.325	7.28	0.000
Error puro	27	1.204	0.045		
Total	53	378.582			

En la Figura 15 se presenta el diagrama de Pareto donde se muestra la relevancia que tuvieron los diferentes factores utilizados en las respuestas por el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo).

El tiempo de extracción es de los factores más significativos, con un efecto estandarizado muy superior al umbral de significancia, el tipo de solvente también influye de manera importante en la respuesta, la interacción relación L/S – tipo de solvente, también es

significativa, lo que indica que la combinación de ambos factores afecta considerablemente la respuesta. La interacción tiempo de extracción – tipo de solvente tuvo un efecto menor, pero aún por encima del umbral de significancia, lo que sugiere una ligera interacción relevante. Los efectos cuadráticos en las interacciones, aunque están por debajo del umbral, algunos se acercan, como en el caso de BB (efecto cuadrático de la relación L/S), lo que sugiere que también influyó sobre las respuestas.

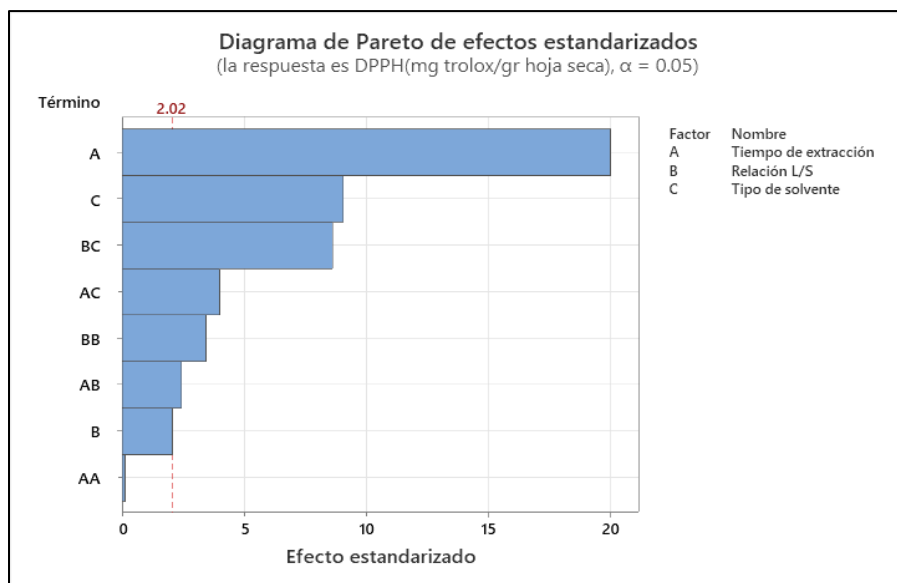


Figura 15. Diagrama de Pareto por el método DPPH. Fuente propia

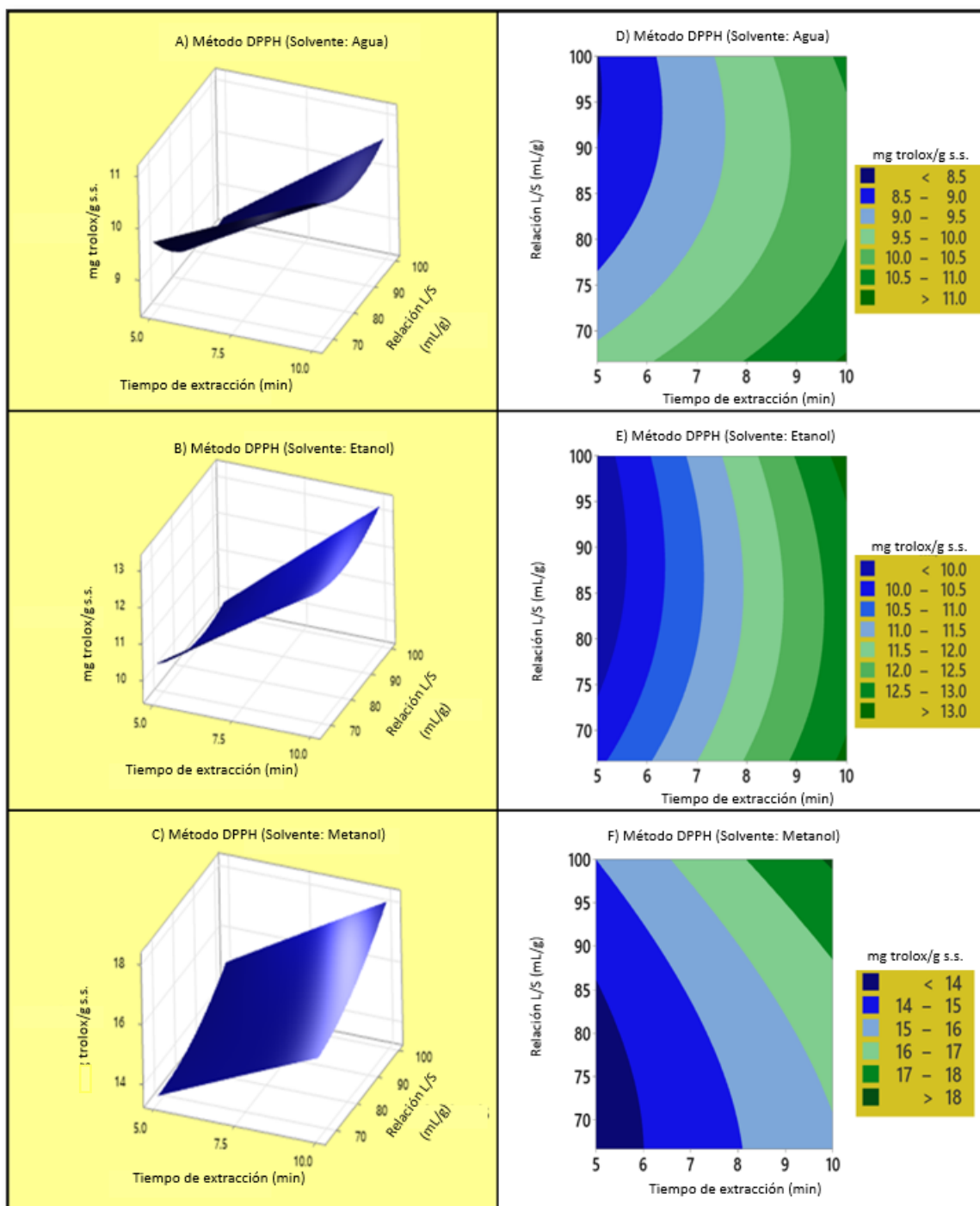


Figura 16. Gráficas de superficie y contorno de los extractos de hojas de *Melochia tomentosa* L., de las respuestas por DPPH.

Los datos obtenidos como se muestra en la Figura 16 evidencian que por el método DPPH el metanol es el solvente más eficaz para la extracción de compuestos antioxidantes de hojas de *Melochia tomentosa* L., alcanzando las mejores respuestas que se encuentran dentro del intervalo de 14.0 – 18.0 mg Trolox/g sólidos secos. Seguido del etanol, con valores intermedios de 10.0 – 13.0 mg Trolox/g sólidos secos, mientras que con el agua se reportaron valores dentro de un rango de 8.5 – 11.0 mg Trolox/g sólidos secos. Esto respalda el uso del metanol como solvente óptimo para compuestos con alta actividad antioxidante, debido a su excelente capacidad para solubilizar fenoles y flavonoides responsables de dicha actividad. Este comportamiento puede explicarse por las propiedades fisicoquímicas del metanol, como su elevada polaridad, baja viscosidad y mayor capacidad de penetración en la matriz vegetal, lo cual favorece la extracción de antioxidantes de bajo y medio peso molecular (Zhuoya *et al.*, 2024; Pham *et al.*, 2017). Sin embargo, un aspecto a considerar es la toxicidad del metanol que representa una limitante (por ejemplo, en aplicaciones alimentarias), por el contrario, el etanol y agua destilada pueden considerarse una alternativa viable.

Las gráficas de contorno permiten visualizar el comportamiento de los extractos (acuoso, etanólico y metanólico) en la evaluación de la actividad antioxidante con el radical DPPH bajo distintas condiciones de tiempo de extracción y relación líquido/sólido (L/S). De acuerdo con los resultados, el extracto metanólico presentó las respuestas más favorables, alcanzando valores en el intervalo de 14.0-18.0 mg Trolox/g de sólidos secos. En comparación, el extracto etanólico mostró valores en el intervalo de 10.0-13.0 mg Trolox/g de sólidos secos, mientras que el extracto acuoso fue el menos favorable, con valores entre 8.5-11.0 mg Trolox/g de sólidos secos. Las condiciones de extracción más favorables se encuentran en la zona de color verde intenso y son aquellas con tiempos prolongados (9–10 min) y bajas relaciones L/S (70–75 mL/g), lo que implica un mayor contacto entre el material vegetal y el solvente, favoreciendo la liberación de compuestos bioactivos. Las zonas en color azul oscuro indican regiones con las respuestas más bajas, las cuales se concentran principalmente en condiciones de tiempos cortos de extracción y altas relaciones L/S (es decir, mayor volumen de solvente respecto al material vegetal). Este

patrón es consistente entre los tres solventes evaluados y reafirma que la capacidad extractiva del metanol es superior a la del etanol y agua destilada, observada también en las gráficas de superficie.

4.3.3. Análisis estadístico de las respuestas por el método ABTS de los extractos de *Melochia tomentosa* L.

En la Tabla 10 se muestran los resultados correspondientes a la actividad antioxidante de los extractos acuoso, etanólico y metanólico de hojas de *Melochia tomentosa* L., evaluados mediante el método ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)). Los valores obtenidos, expresados en mg trolox/g de sólidos secos, se encuentran en un intervalo de 5.404 ± 0.386 a 11.578 ± 0.163 . Las diferencias observadas en los resultados responden a la influencia de los factores considerados en el diseño experimental y sus respectivos niveles. En la Tabla 13 se muestra el análisis de varianza de las respuestas, realizado a un nivel de confianza del 95 % y una significancia de 5 %. Este análisis se hizo con el objetivo de ver la influencia de los factores en la evaluación de la actividad antioxidante por el método ABTS.

Tabla 13. Análisis de Varianza de las respuestas por ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)).

Fuente	GL	SC Ajuste	MC Ajuste	Valor F	Valor p
Modelo	11	168.096	15.2814	247.58	0.000
Lineal	4	166.165	41.5412	673.02	0.000
Tiempo de extracción	1	30.013	30.0132	486.25	0.000
Relación L/S	1	0.103	0.1029	1.67	0.204
Tipo de solvente	2	136.049	68.0244	1102.08	0.000
Cuadrado	2	0.126	0.0630	1.02	0.369
Tiempo de extracción * Tiempo de extracción	1	0.001	0.0006	0.01	0.921
Relación L/S * Relación L/S	1	0.125	0.1254	2.03	0.161
Interacción de 2 factores	5	2.085	0.4170	6.76	0.000
Tiempo de extracción * Relación L/S	1	0.057	0.0573	0.93	0.341
Tiempo de extracción * Tipo de solvente	2	0.355	0.1774	2.87	0.068
Relación L/S * Tipo de solvente	2	1.673	0.8365	13.55	0.000
Error	42	2.592	0.0617		
Falta de ajuste	15	1.816	0.1211	4.21	0.001

Error puro	27	0.776	0.0287
Total	53	170.688	

En la Figura 17 se presenta el diagrama de Pareto, el cual indica la importancia que tuvieron los diferentes factores utilizados por el método ABTS(2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)).

El tiempo de extracción, tipo de solvente y la interacción de la relación liquido-sólido con los tipos de solventes fueron los más significativos, con un efecto muy superior al umbral de significancia, por debajo del umbral, la interacción tiempo de extracción – tipo de solvente sugiere que tuvo un efecto menor, así como el factor de la relación liquido-sólido y los efectos cuadráticos en las interacciones.

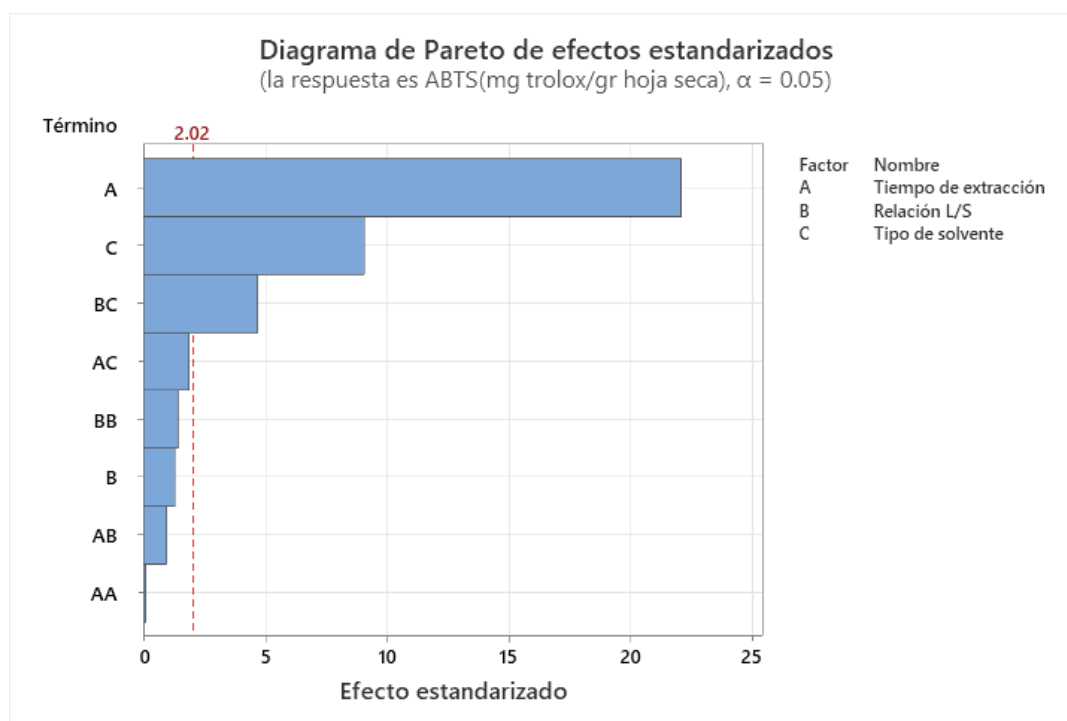


Figura 17. Diagrama de Pareto por el método ABTS. Fuente propia

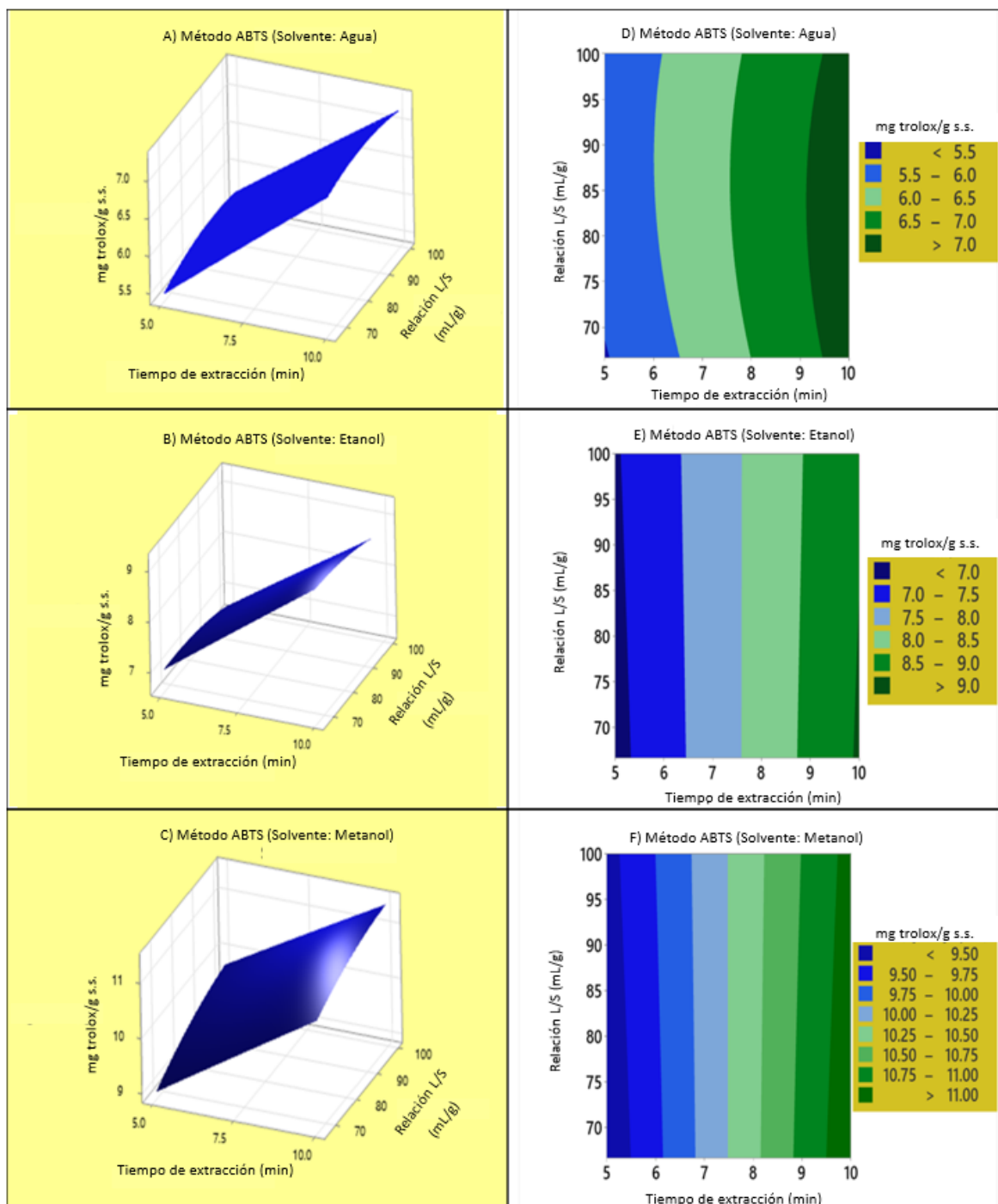


Figura 18. Gráficas de superficie y contorno de los extractos de hojas de *Melochia tomentosa* L., de las respuestas por ABTS.

El análisis comparativo como se muestra en la Figura 18 de la capacidad antioxidante de los tres extractos de las hojas de *Melochia tomentosa* L., por el método ABTS revela diferencias

significativas en las respuestas en función del tiempo de extracción y la relación (L/S). En los tres extractos, se observa una tendencia creciente en los valores de respuesta conforme aumentan tanto el tiempo de extracción como la relación L/S. Esto sugiere que ambos factores favorecen la transferencia de compuestos antioxidantes desde la matriz vegetal hacia el solvente. El extracto metanólico mostró los mejores resultados, superando los 10 mg Trolox/g sólidos secos, el extracto etanólico presentó valores cercanos a 9 mg Trolox/g de sólidos secos y por último el extracto acuoso valores inferiores a 7 mg Trolox/g sólidos secos, el cual fue el menos favorable. Si bien el uso del metanol favorece la extracción de compuestos antioxidantes, su toxicidad limita su uso en aplicaciones alimentarias o farmacéuticas sin etapas de purificación adicionales (Mayner-Tresol., *et al* 2018). Por otro lado, usar como solvente al etanol, es más adecuado para productos de consumo humano. Y el agua destilada, aunque es más segura y económica, puede requerir condiciones más severas (mayor tiempo o temperatura) para alcanzar valores comparables a los anteriores. El análisis de las gráficas de contorno del ensayo ABTS revela que en tiempos prolongados (8–10 min) y altas relaciones líquido/sólido (85–100 mL/g), con variaciones según el solvente utilizado se obtienen mejores respuestas. Las zonas con las respuestas más favorables dentro de las gráficas corresponden a las regiones más oscuras (verde oscuro) en cada una de las gráficas de contorno, las cuales representan los valores más altos de capacidad antioxidante (mg Trolox/g de sólidos secos). El Metanol fue la variable que presentó las mejores respuestas, alcanzando valores superiores a 11.0 mg Trolox/g sólidos secos, con un amplio rango (8–10 min; L/S: 85–100 mL/g). Con el solvente etanol se obtuvieron respuestas > 9.0 mg Trolox/g sólidos secos, bajo condiciones de 10 min y relaciones L/S $\geq$ 90 mL/g. El agua destilada, aunque es el solvente más seguro y económico, muestra los resultados más bajos, requiriendo tiempos de extracción y proporciones de extracción máximas (10 min, L/S = 100 mL/g).

No se han reportado en la literatura estudios que apliquen un diseño de experimentos (DOE) para optimizar la extracción de compuestos bioactivos en especies del género *Melochia*. Sin embargo, diversas investigaciones han empleado ensayos colorimétricos para evaluar la actividad antioxidante de extractos obtenidos de estas plantas. Actualmente, no

se cuenta con un número considerable de antecedentes respecto a la evaluación de compuestos fenólicos totales mediante el método de Folin-Ciocalteu de plantas del género *Melochia*. Sin embargo, se encuentra reportado un estudio a la planta *Malva parviflora*, en el cual se obtuvo un contenido de fenoles totales de 21.88 ± 0.52 mg/g. Este resultado evidencia que las especies pertenecientes a la familia Malvaceae poseen compuestos fenólicos (Gutiérrez *et al.*, 2008). Lo cual coincide con los hallazgos obtenidos en la presente investigación. Un estudio realizado al extracto etanólico de las hojas de la *Melochia corchorifolia*; evaluó por el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) el potencial antioxidante, encontrando valores máximos de $90.74 \pm 0.65\%$ lo que sugiere una notable capacidad de neutralización de radicales libres (Vinoth & Natarajan, 2021). Otro estudio sobre el extracto etanólico de las hojas de *Melochia arenosa* mediante los métodos de 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y ABTS (2,2'-azinobis ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), reporta valores de IC_{50} de 11.43 ± 0.14 µg/mL (DPPH) y 35.42 ± 0.48 µg/mL (ABTS). Estos valores indican una alta eficiencia antioxidante, dado que un menor IC_{50} implica mayor capacidad de inhibición de radicales (Tunin *et al.*, 2015).

4.4. Compuestos químicos identificados en el extracto etanólico de las hojas de *Melochia tomentosa* L.

En la Figura 19 se presenta el cromatograma del extracto etanólico de *Melochia tomentosa* L.

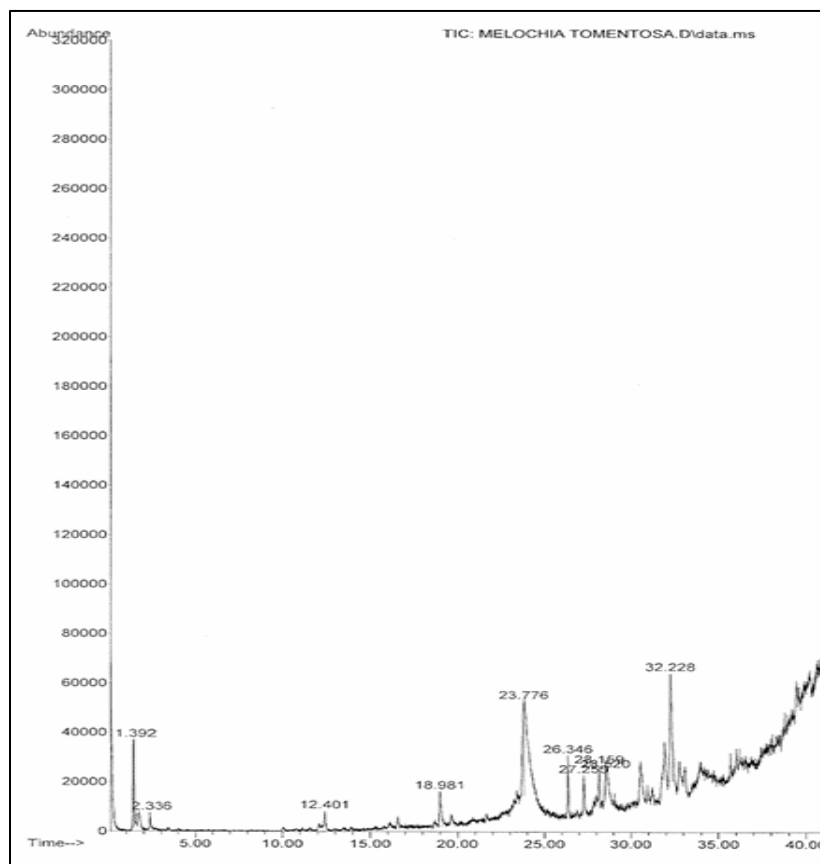


Figura 19. Cromatograma del extracto etanólico de la *Melochia tomentosa* L.

En la Tabla 14 se presentan los 10 compuestos identificados del extracto etanólico de las hojas de *Melochia tomentosa* L., que representan el 100 % de los componentes. El compuesto más abundante identificado en el análisis fitoquímico fue el α -Eudesmol (% de área = 32.24), este compuesto se clasifica como un sesquiterpeno. Se ha reportado que el α -eudesmol bloquea los canales de calcio y, en consecuencia, presenta un efecto neuroprotector (Asakura *et al.*, 2000). Otros compuestos identificados de la gama de los terpenos fue el cariofileno y el α -cariofileno, estos compuestos se encuentran presentes en otras plantas como el clavo (*Syzygium aromaticum*), el romero (*Salvia rosmarinus*) el cannabis (*Cannabis sativa*). Estos compuestos son responsables del sabor, aroma y color, y funcionan principalmente como pesticidas naturales al repeler parásitos. Además, cuentan con efectos antimicrobianos que contribuyen a que la planta desarrolle defensas contra bacterias, hongos, virus y plasmodios (Franklin *et al.*, 2001; Cox-Georgiano *et al.*, 2019).

También cuentan con propiedades antiinflamatorias y propiedades analgésicas y son utilizados en remedios herbolarios, (Croteau *et al.*, 2000).

Otro compuesto identificado fue el carvacrol, según Mączka *et al.* (2023) es un fenol natural derivado de un monoterpeno, se encuentra presente en otras plantas como el tomillo (*Thymus glandulosus*), el comino negro (*Nigella sativa*), el orégano (*Origanum compactum*), pimienta (*Lepidium flavum*), la bergamota silvestre (*Citrus aurantium var*) la ajedrea (*Satureja hortensis*) (Gholami-Ahangaran *et al.*, 2022). La FDA ha autorizado el uso del carvacrol en productos alimenticios, y el Consejo de Europa lo ha clasificado como un agente aromatizante de tipo B, permitiendo su incorporación en concentraciones de hasta 2 ppm en bebidas, 5 ppm en cereales y 25 ppm en productos de confitería (De Vincenzi *et al.*, 2004). Gracias a su capacidad para aportar sabor y su efecto antimicrobiano, se emplea principalmente en la industria alimentaria como conservante natural (Mączka *et al.*, 2023; Melo *et al.*, 2012; Salehi *et al.*, 2018). Se ha reportado que el carvacrol puede actuar tanto como antioxidante como prooxidante, según la concentración utilizada. A niveles bajos, funciona como antioxidante al neutralizar los radicales libres, específicamente las especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que contribuye a la protección celular frente al estrés oxidativo (Bayir *et al.*, 2019).

Tabla 14. Compuestos químicos identificados (*Melochia tomentosa* L.)

Orden	Área %	Nombre	#CAS
1	9.53	Trimethylsilyl fluoride	420-56-4
2	1.66	α - α -Dihidroxiacetophenone	1075-06-5
3	1.94	Eucalyptol	470-82-6
4	9.47	1-cyclohexene-1-acetaldehyde,2,6,6-trimethyl	472-66-2
5	21.09	Carvacrol	499-75-2
6	9.25	Caryophyllene	87-44-5
7	5.72	α -Caryophyllene	6753-98-6
8	6.7	Cycloheptasiloxane,tetradecamethy-1	107-50-6
9	2.4	3-tert-BHA	88-32-4
10	32.24	α -Eudesmol	473-16-5

Estos estudios confirman los resultados que se obtuvieron en la evaluación de la actividad antioxidante que se le realizó a los diferentes extractos de las hojas de *Melochia tomentosa* L., donde los resultados indicaron presencia de compuestos antioxidantes.

Una de las plantas del género *Melochia* que se le han realizado un análisis químico mediante la técnica GC-MS (Cromatografía de gases acoplada con espectroscopía de masas), es la *Melochia corchorifolia*, el primer estudio realizado a esta planta fue en el año de 1968 por Tschesche & Reutel, quien identificó la presencia de flavonoides y alcaloides ciclopeptídicos, como el frangulofin, franganin y adouetin (Tschesche & Reutel, 1968). Otro estudio realizado al extracto de las hojas de la *Melochia corchorifolia*, utilizando como solvente acetato de etilo reveló la existencia de carbohidratos, glucósidos, triterpenos, flavonoides y alcaloides (Vinoth & Natarajan, 2021). En el año 2014 se realizó un estudio químico a los extractos etanólicos de la maleza de *Melochia pyramidata* L., en los resultados se identificaron: piranonas, compuestos fenólicos, terpenos, cumarina, aril-tetrahidrofuranos y fenilpropanoides. Entre los compuestos más abundantes está el 3,5-dihidroxi-6-metil-2,3-dihidro-4H-pirano-4-ona y el ácido palmítico (Carrillo, *et al.*, 2024).

Un estudio realizado en el año 2007 a los extractos de raíces de *Melochia chamaedrys*, reporta el aislamiento de dos alcaloides de quinolinona: un nuevo alcaloide, llamado chamaedrone, y un alcaloide conocido, el antidesmona (Días, *et al.*, 2007). En 2006, el análisis fitoquímico a los extractos etanólicos de *Melochia arenosa* indicó la presencia de compuestos fenólicos en las hojas de esta especie (Truiti, *et al.*, 2005, 2006). En el año 2010, se realizó un estudio para evaluar los compuestos químicos de extractos metanólicos de las hojas y tallo de la *Melochia tomentosa* L., los resultados mostraron posible presencia de flavonoides y esteroides insaturados, saponinas, taninos y polifenoles (Espinoza, 2010). En el año 2013 en el análisis fitoquímico a los extractos del tallo, hojas y flores de *Melochia villosa* utilizando éter dietílico fueron identificados compuestos químicos como: esteroides insaturados, triterpenos, pentacíclicos; flavonoides y fenilpropanoides (D'Armas *et al.*, 2013).

Como se mencionó existen otros estudios sobre el análisis de compuestos químicos en diferentes plantas del género *Melochia*, se observa que coinciden en la presencia de ciertos

compuestos como terpenos y polifenoles y en el caso particular de estudios sobre el extracto metanólico de las hojas y tallos de la *Melochia tomentosa* L., *Melochia corchorifolia*, *Melochia pyramidata* L., y *Melochia arenosa* coinciden en la presencia de compuestos fenólicos y terpenos que fueron de los compuestos más abundantes identificados en la presente investigación dentro de los cuales se encuentra el carvacrol, α -eudesmol, cariofileno y el α -cariofileno.

4.5. Determinación de la toxicidad de los extractos de *Melochia tomentosa* L. en el modelo de *Artemia salina*

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: en el extracto acuoso se obtuvo una CL₅₀ de 130.874 μ g/mL, de acuerdo con la clasificación descrita por Juárez *et al.* (2015), se considera como ligeramente tóxica. En el análisis del extracto metanólico se obtuvo una CL₅₀ de 61.575 μ g/mL y se considera altamente tóxica. En el extracto etanólico se obtuvo una CL₅₀ de 73.1358 μ g/mL y se clasifica como altamente tóxica. La toxicidad observada podría estar relacionada con la presencia del compuesto bioactivo identificado previamente, como el carvacrol, conocido por sus efectos farmacológicos, pero que en ciertas dosis pueden mostrar citotoxicidad o efectos letales en modelos biológicos simples (Fuentes *et al.*, 2021). Los valores de CL₅₀ obtenidos en esta investigación concuerdan con la literatura, la cual expone actividad letal en otras especies pertenecientes a la familia Sterculiaceae, como en el caso de la *Melochia villosa* a la cual se le realizaron estudios de toxicidad por el ensayo de *artemia* salina utilizando los extractos de distintas partes de la planta (tallo, hojas y flores) con éter dietílico, los extractos etéreos exhibieron una concentración letal media (CL₅₀) de 2.06 μ g/mL, 169.10 μ g/mL y 10.00 μ g/mL, respectivamente, y mediante la clasificación el tallo y las flores se consideran como extremadamente tóxicas, las hojas se consideran como moderadamente tóxicas (D'Armas *et al.*, 2013).

Otro estudio con el mismo ensayo realizado en Venezuela a los extractos metanólicos de las hojas y tallo de la *Melochia tomentosa* L., mostraron resultados de CL₅₀ de 182.51 μ g/mL en hojas, considerándose como moderadamente tóxicas y un valor de CL₅₀ de 21.24 μ g/mL en el tallo considerado como altamente tóxico (Espinoza, 2010). Por los resultados

observados, se recomienda realizar pruebas en otros modelos in vivo para poder asegurar la dosis para el consumo adecuado de esta especie.

4.6. Actividad insecticida del extracto acuoso de *Melochia tomentosa* L.

En el análisis de la actividad insecticida del extracto acuoso de hojas de *Melochia tomentosa* L., en adultos de gorgojo de frijol (*Ullumoides dermestoides*) durante 12 semanas de exposición, se observó que las muestras correspondientes al control negativo presentaron un crecimiento significativo de adultos y larvas, obteniéndose un resultado promedio de 53 adultos nacidos, 57 adultos vivos y 316 larvas vivas, indicando condiciones favorables para el desarrollo de gorgojo de frijol en ausencia del tratamiento (Figura 20).

Como se muestra en la Tabla 21, en concentraciones de 50, 100, 250 y 500 ppm del extracto (Figura 21), se registró una reducción en el número de adultos y larvas, lo que sugiere un efecto inhibitorio moderado sobre el desarrollo del gorgojo. Sin embargo, en concentraciones de 1000 ppm, se observó un aumento en el número de adultos y larvas, lo cual podría deberse a un efecto subletal o a una respuesta adaptativa de los insectos a concentraciones más elevadas del extracto (Figura 22).

Tabla 15. Resultados de la evaluación de la actividad insecticida del extracto acuoso de *Melochia tomentosa* L. en *Ullumoides dermestoides*.

Muestras (A, B, C)	Resultados promedio a las 12 semanas de exposición				
	Adultos			Larvas	
	Vivos	Muertos	Nacidos	Vivas	Muertas
Blanco	2	8	0	3	28
Control	57	4	53	316	32
50 ppm	1	9	0	2	36
100 ppm	1	9	0	14	67
250 ppm	1	9	0	34	74
500 ppm	2	8	0	90	59

1000 ppm	27	5	22	133	40
----------	----	---	----	-----	----

Mediante un análisis estadístico con los datos recopilados durante las 12 semanas de observación, se obtuvo una (CL_{50} de 694.65 $\mu\text{g/mL}$) en la actividad adulticida. Por otro lado, en la actividad larvica del extracto acuoso se obtuvo una (CL_{50} de 518.465 $\mu\text{g/mL}$). Aunque la Organización Mundial de la Salud (OMS) no establece criterios específicos para clasificar el potencial insecticida (larvas y adultos) de productos de origen vegetal, algunos investigadores han adoptado el valor de CL_{50} como parámetro orientativo para determinar el nivel de actividad biológica de dichos productos (Muhammed *et al.*, 2022). Según esta propuesta, un extracto se considera altamente activo si su CL_{50} es inferior a 50 ppm; activo si está por debajo de 100 ppm; moderadamente activo si se encuentra entre 100 y 200 ppm; poco activo si oscila entre 200 y 750 ppm; y sin actividad significativa cuando la CL_{50} supera los 750 ppm. Esta clasificación ha sido ampliamente utilizada en estudios de bioplaguicidas como referencia para evaluar la eficacia de compuestos naturales frente a insectos o plagas (Días y Moraes, 2014; Komalamisra *et al.*, 2005). Estudios similares en extractos de *Melochia Corchorifolia* (especie del mismo género), han reportado valores de CL_{50} cercanos a los 500–600 ppm contra plagas similares (Pavunraj *et al.*, 2016). Esto indica que los extractos de ambas especies tienen un nivel de actividad similar, con un potencial moderado a poco activo, dependiendo de la plaga y el tipo de solvente utilizado para obtener el extracto. Los resultados de CL_{50} obtenidos en esta investigación, nos sugieren que el extracto acuoso de las hojas de *Melochia tomentosa* L., puede funcionar como un agente insecticida poco activo tanto en adultos como en larvas para el control biológico del gorgojo del frijol (*Ullumoides dermestoides*).



Figura 20. A) Observación de las larvas de la muestra de control en el estereoscopio a las 12 semanas de exposición. **B)** Muestra de control a las 12 semanas de exposición.



Figura 21. **A)** Muestra con 50 ppm de extracto a las 12 semanas de exposición. **B)** Muestra con 100 ppm de extracto a las 12 semanas de exposición. **C)** Muestra con 250 ppm de extracto a las 12 semanas de exposición. **D)** Muestra con 500 ppm de extracto a las 12 semanas.



Figura 22. **A)** Muestra con 1000 ppm de extracto a las 4 semanas de exposición. **B)** Muestra con 1000 ppm de extracto a las 8 semanas de exposición. **C)** Muestra con 1000 ppm de extracto a las 12 semanas de exposición.

5. CONCLUSIONES

En el análisis para evaluar la actividad antioxidante de los diferentes extractos (acuoso, etanólico y metanólico) de las hojas de *Melochia tomentosa* L., los resultados evidenciaron que las condiciones de extracción influyen significativamente en la recuperación de compuestos fenólicos y en la capacidad antioxidante del extracto. Entre los factores evaluados, tipo de solvente, relación líquido-sólido y tiempo de extracción, el tipo de solvente demostró ser el factor con mayor impacto sobre las respuestas en cada técnica. Estos hallazgos aportan información relevante para el diseño de procesos de extracción más eficientes de compuestos bioactivos a partir de plantas. A partir de los hallazgos de este estudio se acepta la hipótesis inicial al demostrar que la *Melochia tomentosa* L., posee propiedades antioxidantes comparables con la *Melochia arenosa* y *Melochia corchorifolia*, lo que refuerza la evidencia de un perfil fitoquímico similar dentro del género *Melochia*.

El análisis de compuestos químicos mediante la técnica GC-MS (cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas) permitió la identificación de diez compuestos químicos presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Melochia tomentosa* L.; entre ellos, se destacó la presencia de α -Eudesmol como el compuesto mayoritario, seguido por Carvacrol, ambos conocidos por su actividad antioxidante y propiedades bioactivas relevantes. En conjunto, la composición química identificada sugiere un alto contenido de compuestos con potencial antioxidante, antiinflamatorio y antimicrobiano, lo cual está en concordancia con los resultados obtenidos en los ensayos de capacidad antioxidante y contenido fenólico total. Estos hallazgos confirman el potencial del extracto analizado como fuente natural de compuestos bioactivos con posibles aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética. De este modo, se acepta la hipótesis de que las plantas del género *Melochia* presentan similitudes en su composición química, como es el caso de *Melochia arenosa*, *Melochia corchorifolia* y *Melochia pyramidata* L., las cuales coinciden con los resultados de la presente investigación en la presencia de compuestos fenólicos y terpenos.

Mediante la prueba de letalidad con *Artemia* spp., se pudo identificar el nivel de toxicidad de los extractos (acuoso, etanólico y metanólico) de las hojas de *Melochia tomentosa* L. Los resultados obtenidos resaltan la necesidad de ampliar los estudios toxicológicos en modelos in vivo, con el fin de establecer niveles seguros de exposición y determinar posibles aplicaciones o riesgos asociados al consumo de esta planta, ya que los niveles de toxicidad de los extractos van de moderadamente tóxicos a altamente tóxicos.

De acuerdo con los resultados obtenidos se acepta la hipótesis planteada, al obtenerse resultados de toxicidad semejantes a los reportados en otras especies del género *Melochia*, como la *Melochia villosa* y *Melochia tomentosa* L., en las cuales se han documentado niveles de toxicidad similares a los observados en la presente investigación.

En la evaluación de la actividad insecticida del extracto acuoso de hojas de *Melochia tomentosa* L., en adultos de gorgojo de frijol (*Ullumoides dermestoides*), los resultados no indican una alta eficacia insecticida, esto puede deberse a que en los resultados de la composición química se reportan compuestos con propiedades insecticidas como el cariofileno y α -cariofileno con menor presencia, con un % de área de 9.25 y 5.72 respectivamente, a diferencia de compuestos con mayor presencia como en el caso del α -eudesmol (% de área = 32.24). Sin embargo, esto permite considerar al extracto de *Melochia tomentosa* L., como un recurso vegetal con potencial para el desarrollo de formulaciones naturales de bajo impacto ambiental. El uso de extractos acuosos de *Melochia tomentosa* L. podría representar una alternativa complementaria a los insecticidas sintéticos, con beneficios en términos de sostenibilidad y reducción del riesgo ambiental. Basado en estos resultados se acepta la hipótesis de que las especies del género *Melochia* presentan una actividad insecticida similar, como se ha documentado en la *Melochia corchorifolia*, donde se reportan resultados comparables a los obtenidos en la presente investigación.

6. RECOMENDACIONES

El proceso de extracción asistida por ultrasonido (UAE) mostró buenos resultados, se sugiere para futuras investigaciones comparar su eficacia con otros métodos no convencionales o innovadores, como la extracción por microondas o con fluidos supercríticos, para evaluar su impacto en las respuestas y calidad de los extractos, incluyendo distintas variables y factores. Se recomienda complementar el análisis realizado mediante cromatografía de gases acoplada con espectroscopía de masas (GC-MS) con otras técnicas analíticas como Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), que permitan identificar compuestos no volátiles y obtener un perfil más completo de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la planta *Melochia tomentosa* L. También es importante llevar a cabo evaluaciones adicionales, tales como ensayos in vitro de actividad antiinflamatoria, antimicrobiana para explorar otros posibles usos terapéuticos de los extractos obtenidos. Dado que el uso tradicional de *Melochia tomentosa* L., se basa en conocimiento empírico, es importante avanzar hacia estudios preclínicos que validen su eficacia y seguridad, para su posible aplicación industrial (alimentaria, cosmética o farmacéutica). La evaluación de toxicidad puede complementarse con modelos celulares, ensayos enzimáticos o bioensayos con otros organismos, con el fin de obtener una mayor comprensión del perfil de seguridad de los extractos. Se sugiere evaluar la actividad insecticida con otros tipos de extractos (metanólico o etanólico) y sobre diferentes especies de plagas, así como probar mayores concentraciones o combinaciones con otros agentes naturales o partes de la planta para mejorar la efectividad en el control biológico.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abou-Fakhr Hammad, E., Zournajian, H., & Talhouk, S. (2001). Efficacy of extracts of *Melia azedarach* L. callus, leaves and fruits against adults of the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Hom., Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology*, 125(8), 483-488. DOI: 10.1046/j.1439-0418.2001.00577.x
- Aguiñiga-Sánchez, I., Soto-Hernández, M., Cadena-Iñiguez, J., Suwalsky, M., Colina, J. R., Castillo, I., Rosado-Pérez, J., Mendoza-Núñez, V. M., & Santiago-Osorio, E. (2020). Análisis fitoquímico y capacidad antioxidante y antiinflamatoria de los extractos de frutos del híbrido *Sechium*. *Molecules*, 25(20), 4637. DOI: 10.3390/molecules25204637
- Aliaga-Rossel, E., Quispe, D., Morales, J., & Herrera, R. (2018). Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de *Chenopodium quinoa*. *Revista Boliviana de Química*, 35(5), 168–176. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/journal/4263/426358213006/html/>
- Arcila-Lozano, C. C., Loarca-Piña, G., Lecona-Urbe, S., & González de Mejía, E. (2004). El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54(1), 100-111. Recuperado de: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000100015&lng=es&tlng=es.
- Arnao, M. B. (2000). Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: A practical case. *Trends in Food Science & Technology*, 11(10), 419–421. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00005-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00005-5)
- Asakura, K., Kanemasa, T., Minagawa, K., Kagawa, K., Yagami, T., Nakajima, M., & Ninomiya, M. (2000). Alpha-eudesmol, a P/Q-type Ca^{2+} channel blocker, inhibits neurogenic vasodilation and extravasation following electrical stimulation of trigeminal ganglion. *Brain Research*, 873(1), 94–101. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02527-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02527-0)
- Badisa, R. B., Ayuk-Takem, L. T., Ikediobi, C. O., Walker, E. H. (2006). Selective Anticancer Activity of Pure Licamichauxiioic-B Acid in Cultured Cell Lines. *Pharmaceutical Biology*, 44(2), 141-5.
- Bailey, B. A., Strem, M. D., Bae, H., Antúnez de Mayolo, G., & Guiltinan, M. J. (2005). Gene expression in leaves of *Theobroma cacao* in response to mechanical wounding, ethylene, and/or methyl jasmonate. *Plant Science*, 168(5), 1247–1258. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.12.016>

- Bajalan, I., Rouzbahani, R., Pirbalouti-Abdollah, G., & Maggi, F. (2017). Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils obtained from seven Iranian populations of *Rosmarinus officinalis*. *Industrial crops and products*, 107, 305-311. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.05.063
- Baş, D., & Boyacı, I. H. (2007). Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 836-845. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.11.024>
- Bayir, A. G., Kiziltan, H. S., & Kocyigit, A. (2019). Plant family, Carvacrol, and Putative Protection in Gastric Cancer. In R. R. Watson & V. R. Preedy (Eds.), *Dietary Interventions in Gastrointestinal Diseases*, 3–18. Elsevier. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814468-8.00001-6>
- Bermúdez, A., Oliveira-Miranda, M. A., & Velázquez, D. (2005). La Investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Interciencia*, 30(8), 453-459. Recuperado de: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442005000800005&lng=es&tlng=es.
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Recuperado de: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=tecnicas-plantas>
- Biswas, M. R. (2024). Design and Analysis of Experiments II (AST301). Universidad de Dhaka. Recuperado de: <https://ast301.netlify.app/>
- Borchardt, J. R., Wyse, D. L., Sheaffer, C. C., Kauppi, K. L., Fulcher, R. G., Ehlke, N. J., Biesboer, D. D., & Bey, R. F. (2009). Antioxidant and antimicrobial activity of seed from plants of the mississippi river basin. *Medicinal plants research*, 2(4), 081-093.
- Carrillo, M. F., Ortiz-Rojas, L. Y., & Chaves-Bedoya, G. (2024). Antibacterial properties of ethanolic extracts from *Melochia pyramidata* L. *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 18(1), e16252. Recuperado de: <https://doi.org/10.17584/rcch.2024v18i1.16252>
- Conde-Hernández, L. A., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2014). Total phenolics and antioxidant activity of *Piper auritum* and *Porophyllum ruderale*. *Food chemistry*, 142, 455-460. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.07.078
- Conde-Hernández, L. A., Ibarra-Cantún, D., Luna-Vital, D., Luna-Guevara, J. J., & Luna-Guevara, M. L. (2023). Functional properties of bioactive compounds contained in

- vegetables commonly consumed in Mexico. En A. Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*, 79, 241-288. DOI: 10.1016/B978-0-443-18961-6.00016-0
- Conde-Hernández, L. A., Luna-Guevara, M. L., Luna-Guevara, J. J., Pérez-Vázquez, J., & Aranda-García, R. J. (2021). Mexican Sage (*Salvia officinalis*) Extraction Using Factorial Design and Its Effect on Chemical and Antibacterial Properties. *Journal of Chemistry*, 1-10. DOI: 10.1155/2021/5594278
- Corona-Jiménez, E., Martínez-Navarrete, N., Ruiz-Espinosa, H., & Carranza-Concha, J. (2016). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de semillas de chia (*Salvia hispanica* L.) y su actividad antioxidante. *Agrociencia*, 50(4), 403-412. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952016000400403&lng=es&tlng=es.
- Costa, G. (2005). Estudio fitoquímico da raiz da espécie *Melochia chamaedrys* St. Hil. Tesis de Doctorado en Química, Universidad Federal de Santa María, Santa María, Brasil, 24.
- Cox-Georgiano, D., Ramadoss, N., Dona, C., & Basu, C. (2019). Therapeutic and medicinal uses of terpenes. In N. Joshee, S. Dhekney, & P. Parajuli (Eds.), *Medicinal plants: From farm to pharmacy*, 333–359. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-31269-5_15
- Cristóbal, C., Saunders, J., & Berry, P. (2005). Flora of the Venezuelan Guayana. *Missouri botanical garden press*, 9, 248-281.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., Lewis, N. G. (2000). Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 1250-1318.
- D'Armas, H. T., Rodríguez, F., & Salazar, J. (2013). Estudio fitoquímico preliminar y bioactividad de la planta *Melochia villosa* proveniente del Estado Amazonas, Venezuela. *Saber*, 25(4), 382-389. Recuperado de: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-01622013000400006&lng=es&tlng=es.
- De Liñán, C. (2004). Vademécum de productos fitosanitarios y nutricionales. *Ediciones Agrotécnicas*. Recuperado de: <http://www.faunaiberica.mncn.csic.es/index.php>
- Días, C. N. & Moraes, D. F. (2014). Aceites esenciales y sus compuestos como larvicidas de *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Res. Parasitol*, 113(2), 565–92. Recuperado de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24265058/>

- Días, G., Gressler, V., Hoenzel, S., Silva, U., Dalcol, I. & Morel, A. (2007). Constituents of the roots of *Melochia chamaedrys*. *Phytochemistry*, 68(5), 668–672. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.11.004>
- Díaz, A. (2009). Diseño estadístico de experimentos (2.^a ed.). Editorial Universidad de Antioquia.
- Dorr, L. J., & Barnett, L. (1989). A revision of *Melochia* Section *Physodium* (Sterculiaceae) from Mexico. *Springer Nature on behalf of the New York Botanical Garden Press*, 41, 404-423. DOI: <https://doi.org/10.2307/2807556>
- Eriksson, L., Johansson, E., Kettaneh-Wold, N., Wikström, C., & Wold, S. (2000). Design of experiments: Principles and applications. Umetrics AB.
- Espinoza, B. (2010). Análisis fitoquímico y bioactividad de la planta *Melochia tomentosa* (Sterculiaceae). Trabajo de pregrado. Departamento de Química. Universidad de Oriente. Venezuela.
- Fernández, S. (2020). Diseño de experimentos: diseño factorial. Universidad Politécnica de Cataluña. Recuperado de: <https://upcommons.upc.edu/server/api/core/bitstreams/f0fb825d-bc69-4947-8b52-26b3f0eb047c/content>
- Fernández-Calienes Valdés, A., Mendiola, J., Monzote, L., García, M., Sariego, I., Acuña, D., Scull, R., y Gutiérrez, Y. (2009). Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61(3), 1561-3054. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602009000300009&lng=es&tlng=es
- Fernández-Pachón, M. S., Villaño, D., Troncoso, M. C., & 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), 110-122. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222006000200002&lng=es&tlng=es.
- Fuentes, C., Fuentes, A., Barat, J. M. & Ruiz, M. J. (2021). Componentes relevantes de los aceites esenciales: una minirevisión sobre el aumento de las aplicaciones y la toxicidad potencial. *Mecanismos y métodos de toxicología*, 31(8), 559–565. DOI: <https://doi.org/10.1080/15376516.2021.1940408>

- FUNDAME (Fundación Alfonso Martín Escudero). (2013). Las plantas de extractos: bases para un plan de desarrollo del sector. Recuperado de: <https://www.fundame.org/cientificas/pdfs/extractos/volsin.pdf>
- Gao, M. & Liu, C. (2005). Comparison techniques for the extraction of flavonoids from cultured cells of *Saussurea medusa* Maxim. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 1461-1463.
- Gao, X., Ohlander, M., Jeppsson, N., Björk, L., & Trajkovski, V. (2000). Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1485–1490. DOI: 10.1021/jf991072g
- García, C. L., Martínez, R. A., Ortega, J. L., & Castro, B. F. (2010). Componentes químicos y su relación con las actividades biológicas de algunos extractos vegetales. *Química Viva*, 9, 86-96.
- Geethaa, S., Thavamany, P. J., Chiew, S. P., & Thong, O. M. (2013). Interference from ordinarily used solvents in the outcomes of *Artemia salina* lethality test. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 4(4), 179–182. DOI: <https://doi.org/10.4103/2231-4040.121411>
- Gholami-Ahangaran, M., Ahmadi-Dastgerdi, A., Azizi, S., Basiratpour, A., Zokaei, M., & Derakhshan, M. (2022). Suplementación con timol y carvacrol en la salud y el rendimiento de las aves de corral. *Veterinary Medicine and Science*, 8(1), 267-288. DOI: <https://doi.org/10.1002/vms3.662>
- Gobierno de México. (2020). Extractos vegetales. Recuperado de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/737322/10_Extractos_vegetales.pdf
- Grupo Pochteca. (2022). ¿Qué es y en qué consiste la extracción por solventes? Pochteca México. Recuperado de: <https://mexico.pochteca.net/que-es-y-en-que-consiste-la-extraccion-por-solventes/>
- Guija-Poma, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para la determinación de la actividad antioxidante de extractos vegetales. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 81(1), 40–45. Recuperado de: <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf>
- Gutiérrez, D. M., Ortiz, C. A., & Mendoza, A. (2008). Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. Simposio de Metrología, 1-5. Recuperado de:

https://cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf

- Gutiérrez, M. C., & Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: Identificación de compuestos causantes de mal olor. *Boletín Intexter*, (122), 35–41. Universidad Politécnica de Catalunya. Recuperado de: <https://upcommons.upc.edu/server/api/core/bitstreams/b5901871-09d4-4a7b-8084-7acb6e52b4f5/content>
- Guzmán, S. H., Díaz, R. S., & González, M. M. (2017). Plantas medicinales: la realidad de una tradición ancestral [Folleto informativo núm. 1]. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Recuperado de: https://vun.inifap.gob.mx/VUN_MEDIA/BibliotecaWeb/_media/_folletoinformativo/1044_4729_Plantas_medicinales_la_realidad_de_una_tradición_ancestral.pdf
- Hernández, M., & Alberto, M. (2023). La cromatografía gaseosa y la cromatografía líquida de alta resolución en la rama agropecuaria. *Revista de Producción Animal*, 35(1), 10–20. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202023000100010&lng=es&tlng=es.
- Jangam, S. V., & Thorat, B. N. (2010). Optimization of spray drying of ginger extract, *Drying Technology*, 28, 1426–1434. DOI: 10.1080/07373937.2010.482699
- Jha, A. K., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 579–591. Recuperado de: DOI: 10.1016/j.tifs.2021.11.019
- Juárez, Z. N., Hernández, L. R., Bach, H., Sánchez-Arreola, E. & Bach, H. (2015). Antifungal activity of essential oils extracted from *Agastache mexicana* ssp. *xolocotziana* and *Porophyllum linaria* against post-harvest pathogens. *Industrial Crops and Products*, 74, 178–182. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.058>
- Kasote, D. M., Katyare, S. S., Hegde, M. V. & Bae, H. (2015). Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International Journal of Biological Sciences*, 11(8), 982–991. DOI: 10.7150/ijbs.12096.
- Katewa, S., Chaudhary, B., & Jain, A. (2004). Folk herbal medicines from tribal area of Rajasthan, India. *J. Ethnopharmacol*, 92, 41–46.
- Kim, D.-O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3713–3717. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf0114637>

- Komalamisra, N., Trongtokit, Y., Rongsriyam, Y., & Apiwathnasorn, C. (2005). Cribado de la actividad larvicida en algunas plantas tailandesas contra cuatro especies de mosquitos vectores. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 36(6), 1412–1422. Recuperado de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16610643/>
- Kumarasinghe, H. S., Kim, J. -H., Kim, S. -L., Kim, K. C., Perera, R. M. T. D., Kim, S. -C., y Lee, D. -S. (2024). Bioactive constituents from *Carica papaya* fruit: implications for drug discovery and pharmacological applications. *Applied Biological Chemistry*, 67(103). DOI: <https://doi.org/10.1186/s13765-024-00962-y>
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., Roseane, F. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food science and Technology*, 25(4), 1-7. DOI: doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016
- Lacueva, A. C., Medina, R. A., Llorach, R., Urpi, S. M., Khan, N., Chiva, B. G., Zamora, R. R., Rotches, R. M., & Larnuela, R. R. M. (2010). Phenolic Antioxidants in Foods. *Chemistry, Biochemistry and Analysis*, 89-129.
- Lampart-Szczapa, E., Korczak, J., Nogala-Kalucka, M., & Zawirska-Wojtasiak, R. (2003). Antioxidant properties of lupin seed products. *Food Chem.*, 83, 279-285.
- Leyva-Silva, M., French, L., Pino, O., Montada, D., Morejón, G., & Marquetti, M. (2017). Plantas con actividad insecticida: una alternativa natural contra mosquitos. *Revista Biomédica*, 28(3). DOI: <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v28i3.571>
- Mączka, W., Twardawska, M., Grabarczyk, M., & Wińska, K. (2023). Carvacrol—A natural phenolic compound with antimicrobial properties. *Antibiotics*, 12(5), 824. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12050824>
- Madhumita, M., Guha, P., & Nag, A. (2019). Optimization of the exhaustive hydrodistillation method in the recovery of essential oil from fresh and cured betel leaves (*Piper betle* L.) using the Box–Behnken design. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpp.14196>
- Marinoff, M. A., Martínez, J. L., & Urbina, M. A. (2009). Precauciones en el empleo de plantas medicinales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(3), 184-187. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85611774014>
- Martínez, M. (1996). *Las plantas medicinales de México*, Editorial Botas, México.
- Martínez, M., (1979). Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.

- Martínez-Navarrete, N., Camacho, M. M., & Martínez, J. J. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 12(2), 64-68. Recuperado de: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-espanola-nutricion-humana-dietetica-283-articulo-los-compuestos-bioactivos-las-frutas-sus-efectos-13131455>
- Mayner-Tresol, G., & Reyna-Villasmil, E. (2018). Intoxicación aguda por metanol. Reporte de caso. *Avances en Biomedicina*, 7(3), 186-189. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=331367295006>
- McLaughlin, J. L., Lingling, L. R., & Anderson, J. E. (1998). The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Information J.*, 32(2), 513-524. DOI: <https://doi.org/10.1177/009286159803200223>
- McVaugh, R. (2001). Ochnaceae to Loasaceae. En W. R. Anderson (Ed.), *Flora Novogaliciana: A descriptive account of the vascular plants of Western Mexico*, 3. Ann Arbor, MI: The University of Michigan Press.
- Melo, C. I., Bogel-Lukasik, R., & Bogel-Lukasik, E. (2012). Combinación de dióxido de carbono supercrítico y líquido iónico en un nuevo ensamblaje de carvacrol. *Journal of Supercritical Fluids*, 61, 191-198. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2011.10.005>
- Mendoza, M., Rodríguez, G., Guevara, L. P., Andrio, E., Rangel, J. A., Rivera, J. G., & Cervantes, F. (2016). Bioinsecticidas para el control de plagas de almacén y su relación con la calidad fisiológica de la semilla. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(7), 1599-1611. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342016000701599&lng=es&tlng=es.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.*, 45, 31-34.
- Mojziso, G., & Kuchta, M. (2001). Minireview: Dietary flavonoids and risk of coronary heart disease. *Physiol. Res.* 50, 529-536.
- Mondragon, J., & Hanan, A. M. (2009). *Melochia tomentosa* L. Malva de los cerros. Conabio. Recuperado de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/sterculiaceae/melochia-tomentosa/fichas/ficha.htm>
- Muhammed, M., Dugassa, S., Belina, M., Zohdy, S., Irish, S. R., & Gebresilassie, A. (2022). Efectos insecticidas de algunos extractos de plantas seleccionadas contra *Anopheles*

- stephensi* (Culicidae: Diptera). *Malaria Journal*, 21(295). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12936-022-04320-5>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Murat, O., Veranur, G., Mehmet, M., & Coskun, A. (2024). Solvent selection and effect of extraction conditions on ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from galangal (*Alpinia officinarum*). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 38, 2-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2023.100525>
- Nava, E., Gastelum, P., Camacho, J. R., Valdez, J. B., Bernal, C. R., & Herrera, R. (2010). Utilización de extractos de plantas para el control de gorgojo pardo *acanthoscelides obtectus* (Say) en frijol almacenado. *Revista Ra Ximhai*, 6(1), 37–43. DOI: <https://doi.org/10.35197/rx.06.01.2010.05.ep>
- Nicholson, R. L., & Hammerschmidt, R. (1992). Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 30(1), 369–389. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.py.30.090192.002101>
- NutriNews. (2015). Parte II: proteínas y péptidos bioactivos en nutrición porcina. Revista NutriNews. Disponible en: <https://nutrinews.com/parte-ii-proteinas-y-peptidos-bioactivos-en-nutricion-porcina>
- Olivoto, T., Nardino, M., Carvalho, I., Follman, D., Jardel-Szareski, V., Ferrari, M., Pelegrin, A., & Queiróz de Souza, V. (2017). Plant secondary metabolites and its dynamical systems of induction in response to environmental factors: A review. *African Journal of Agricultural Research*, 12, 71-84.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (1978). Directrices sobre la utilización de plantas medicinales. Ginebra: OMS.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2014). Medicina tradicional. Recuperado de https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA67/A67_26-sp.pdf
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2024). Enfermedades no transmisibles. Recuperado de: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
- Organomation. (s.f.). Solvent Extraction Techniques. Recuperado de <https://www.organomation.com/solvent-extraction-techniques>

- Pavunraj, M., Ramesh, V., Murali, P., Janarthanan, S., & Igancimuthu, S. (2016). Phytopesticidal action of *Hyptis suaveolens*, *Melochia corchorifolia* and their bioactive molecules on cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *International Journal of Latest Research in Science and Technology*, 5(5), 22–27. Recuperado de: https://www.mnkjournals.com/journal/ijlrst/pdf/Volume_5_5_2016/10683.pdf
- Peñarrieta, J., Mauricio, L., Mollinedo, P., Vila, L., & Bravo, A. (2014). PHENOLIC COMPOUNDS IN FOOD. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68-81. Recuperado de: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602014000200006&lng=es&tlng=es.
- Pham, H. N. T., Vuong, Q. V., Bowyer, M. C., & Scarlett, C. J. (2017). Efecto de los disolventes de extracción y los métodos de secado térmico sobre los compuestos bioactivos y las propiedades antioxidantes de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (cultivar Patricia White). *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5). DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpp.13199>
- Pino, O., & Jorge, F. (2010). Ensayo de artemia: útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. *Revista de protección vegetal*, 25(1), 34-43. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1010-27522010000100008&lng=es&tlng=es
- Piña-Dumoulin, G. J., Peña-Lomelí, A., García-Mateos, M del R., Martínez-Damián, M. T, Lozoya-Saldaña, H., & Rodríguez-Pérez, J. E. (2023). Compuestos bioactivos en frutos cultivados y silvestres de *Physalis* spp. *Revista fitotecnica mexicana*, 46(1), 11-19. DOI: [DOI.org/10.35196/rfm.2023.1.11](https://doi.org/10.35196/rfm.2023.1.11)
- Rangel-Fajardo, M. A., Tucuch-Haas, J. I., Gómez-Montiel, N. O., Basto-Barbudo, D de la C., & Burgos-Díaz, J. A. (2020). Control de gorgojo (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) con polvos de epazote (*Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants) en diferentes genotipos de maíz. *Revista fitotecnica mexicana*, 43(3), 307-315. DOI: <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.3.307>
- Reyes-Munguía, A., Zavala-Cuevas, D., & Alonso-Martínez, A. (2012). Perejil (*Petroselinum crispum*): Compuestos químicos y aplicaciones. Tlatemoani, (11). *Grupo Eumed.net*, Universidad de Málaga. Recuperado de: <https://www.eumed.net/rev/tlatemoani/11/perejil-compuestos-quimicos-aplicaciones.htm>
- Rodríguez, F., D'Armas, H., Lanza, J., Alcarraz, M., & Heredia, V. (2020). Caracterización química y bioactividad de metabolitos secundarios del tallo de *Melochia villosa* (Sterculiaceae). *Bioteología Vegetal*, 20(2), 113-128. Recuperado

de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2074-86472020000200113&lng=es&tlng=es.

Rodríguez-Sánchez, D., Silva-Platas, C., Rojo, R. P., García, N., Cisneros-Zevallos, L., García-Rivas, G., & Hernández-Brenes, C. (2013). Activity-guided identification of acetogenins as novel lipophilic antioxidants present in avocado pulp (*Persea americana*). *Journal of Chromatography*, 942, 37-45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.10.013>

Rojas, T., Fuentes, M. E., Contreras-López, E., Gómez, S., & Muñoz-Jáuregui, A. M. M. (2019). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cáscara de sanky (*Corryocactus brevistylus*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(2), 258-267. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2019000200012&lng=es&tlng=es.

Rondón, J. B. (2009). Revisión taxonómica del género *Melochia* L. (*sterculiaceae*) en Venezuela. *Acta Botánica Venezuelica*, 32, 1-61.

Ruiz, M. L. (2020). Métodos Físicos de Separación. Obtención de Extractos e Hidrodestilación. Universidad Simón Bolívar. Recuperado de: <https://bonga.unisimon.edu.co/server/api/core/bitstreams/251737d7-6025-444e-ba7a-316c74dec4ab/content>

SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural). (2020). Plantas medicinales, una opción tradicional y natural para conservar la salud. Gobierno de México. Recuperado de: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/plantas-medicinales-una-opcion-tradicional-y-natural-para-conservar-la-salud?idiom=es>

Salehi, B., Mishra, A. P., Shukla, I., Sharifi-Rad, M., Contreras, M. D. M., Segura-Carretero, A., Fathi, H., Nasrabadi, N. N., Kobarfard, F., & Sharifi-Rad, J. (2018). Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. *Phytotherapy Research*, 32(9), 1688–1706. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.6109>

Sánchez & García Figueroa, F. L. (2022). *Fitoquímica*. Ciudad de México: UNAM, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Recuperado de: <https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/2022/Publicaciones/libros/cbiologia/Fitoquimica.pdf>

Sánchez, D. (2013). Eficiencia de polinizadores y reciprocidad intermorfo en especies del género *Melochia* (Malvaceae) en Cuba. Tesis de Diplomado Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Cuba.1-39.

Sánchez, R. (2017). Determinación de compuestos fenólicos totales en extractos vegetales mediante el método de Folin-Ciocalteu [Trabajo final de grado, Facultad de Ciencias

Exactas y Naturales, Universidad Nacional del Nordeste]. Repositorio Institucional de la UNNE. Recuperado de: https://repositorio.unne.edu.ar/bitstream/handle/123456789/56463/RIUNNE_FA_CENA_TFA_Sanchez_RD.pdf?sequence=1

- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 76(3), 270–276. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199802\)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199802)76:2<270::AID-JSFA945>3.0.CO;2-9)
- Schmidt, R. (1985). Optical motility test for the detection of Trichothecenes using Brine shrimp. *Mycotoxin Res.* 1, 25-29. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF03191951>
- Shahidi, F. (2000). Mini-review: Antioxidant factors in plant foods and selected oilseeds. *BioFactors* 13, 179-185.
- Shrestha P., & Dhillon S. (2003). Medicinal plant diversity and use in the highlands of Dolakha district, Nepal. *J. Ethnopharmacol.* 86, 81-96.
- Sodeifian, G., Saadati, N., Sajadian, S. A. & Ghorbandoost, S. (2016). Application of supercritical carbon dioxide to extract essential oil from *Cleome coluteoides* Boiss: Experimental, response surface and grey wolf optimization methodology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 114, 55-63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.04.006>
- Stevens, W. D., Ulloa, U., C., Pool, A., & Montiel, O. M. (2001). Flora de Nicaragua, 85, tomos I, II y III). St. Louis, MO: Missouri Botanical Garden Press.
- Sun, M., & Johnson, M. A. (2015). Measurement of total antioxidant capacity in sub-μL blood samples using craft paper-based analytical devices. *Royal Society of Chemistry - Advances*, 5, 55633-55639. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5RA06479A>
- Törökné, A., Vasdinnyi, R., & Asztalos, B. M. (2007). A Rapid Microbiotest for the Detection of Cyanobacterial Toxins. *Environmental Toxicology*, 22(1), 64-68. DOI: <https://doi.org/10.1002/tox.20235>
- Truiti, M. C., Ferreira, I. C., Zamuner, M. L., Nakamura, C. V., Sarragiotto, M. H. & Souza, M. C. (2005). Actividades antiprotzoarias y molusquicidas de cinco plantas brasileñas. *Revista brasileira de investigação médica y biológica = Revista brasileira de pesquisas médicas e biológica*, 38(12), 1873–1878. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2005001200016>
- Truiti, M. C., Sarragiotto, T., Ciomar, M. H., Benedito, B. A. & Prado, F. (2006). Detección de actividades antiinflamatorias y antimicrobianas en cinco plantas brasileñas. *Revista*

Brasileña de Investigación Médica y Biológica, 38(12), 1873-1878. DOI: 10.1590/S0100-879X2005001200016

- Trujillo-Correa, A. I., Quintero-Gil, D. C., Diaz-Castillo, F., Quiñones, W. Robledo, S. M., & Martinez-Gutierrez, M. (2019). In vitro and in silico anti-dengue activity of compounds obtained from *Psidium guajava* through bioprospecting. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 19(298). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2695-1>
- Tschesche, R., & Reutel, I. (1968). Alkaloide aus *Sterculiaceae*, über peptidalkaloide aus *Melochia corchorifolia*. *Tetrahedron Lett.* 9(35), 3817-3818.
- Tunin, L. M., Borghi, F. B., Nogueira, A. C., Higachi, L., Barbosa, D. S., Baesso, M. L., & Torrado Truiti, M. da C. (2015). Employing photoacoustic spectroscopy in the evaluation of the skin permeation profile of emulsion containing antioxidant phenolic-rich extract of *Melochia arenosa*. *Pharmaceutical Biology*, 54(1), 139–145. DOI: <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1021817>
- Vidal, M., Torres, H., Velázquez, C. A., Rascón, L. A., & Robles, R. E. (2020). Actividad antioxidante y antiproliferativa de seis plantas medicinales del noroeste de México. *Biotecnia*, 22(3), 40–47. DOI: <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i3.1169>
- Vinoth, M., & Natarajan, B. (2021). Aislamiento y elucidación estructural de flavonolignano derivado de *Melochia corchorifolia*: Evaluación de sus estudios biológicos, de actividad anticancerígena y de acoplamiento molecular. *Rasayan Journal of Chemistry*, 14(3), 1669–1679. DOI: <https://doi.org/10.31788/RJC.2021.1436431>
- Yeh, G. Y., Eisenberg, D. M., Kaptchuk, T. J., & Phillips, R. S. (2003). Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. *Diabetes Care*, 26(4), 1277–1294. DOI: <https://doi.org/10.2337/diacare.26.4.1277>
- Zhuoya, L., Zhou, Q. K., Shiling, T. C., Lijun, H. Y., Yao, X., & Chunbang, D. (2024). Solvent effects on the phenolic compounds and antioxidant activity associated with *camellia polyodonta* flower extracts. *ACS omega*, 9(25), 27192-27203. DOI: 10.1021/acsomega.4c01321

ANEXOS

ANEXO 1. LC₅₀ del extracto acuoso de *Melochia tomentosa* L.

Porcentaje	Concentraciones en ppm	LC Inferior 95.0% Límite Conf.	LC Superior 95.0% Límite Conf.
0.1	-109.379	-190.46	-60.8896
0.5	-69.385	-136.878	-28.7458
1.0	-49.9887	-110.951	-13.0971
2.0	-28.7953	-82.6878	4.06782
3.0	-15.3489	-64.8047	15.007
4.0	-5.23361	-51.3846	23.2688
5.0	2.99436	-40.4939	30.0146
6.0	9.99766	-31.2455	35.7777
7.0	16.1382	-23.1554	40.8497
8.0	21.6363	-15.9288	45.4083
9.0	26.6366	-9.37264	49.5702
10.0	31.2394	-3.35289	53.4165
15.0	50.2963	21.3718	69.54
20.0	65.4422	40.6993	82.6773
25.0	78.4359	56.9335	94.295
30.0	90.1047	71.1242	105.116
35.0	100.918	83.8388	115.579
40.0	111.178	95.4289	125.982
45.0	121.105	106.15	136.539
50.0	130.874	116.218	147.411
55.0	140.643	125.845	158.724
60.0	150.57	135.238	170.609
65.0	160.831	144.617	183.224
70.0	171.644	154.22	196.798
75.0	183.312	164.343	211.687
80.0	196.306	175.402	228.48
85.0	211.452	188.092	248.254
90.0	230.509	203.85	273.344
91.0	235.112	207.631	279.43
92.0	240.112	211.728	286.05
93.0	245.61	216.224	293.34
94.0	251.751	221.234	301.492
95.0	258.754	226.935	310.802
96.0	266.982	233.619	321.755
97.0	277.097	241.816	335.239
98.0	290.544	252.686	353.191
99.0	311.737	269.769	381.536
99.5	331.133	285.363	407.518
99.9	371.127	317.431	461.176

ANEXO 2. LC₅₀ del extracto etanólico de *Melochia tomentosa* L.

Porcentaje	Concentraciones (ppm)	LC Inferior 95.0% Límite Conf.	LC Superior 95.0% Límite Conf.
0.1	-33.9719	-74.9514	-10.9555
0.5	-16.1421	-50.0346	3.11183
1.0	-7.49504	-37.9951	9.97887
2.0	1.95324	-24.8904	17.5325
3.0	7.94784	-16.6131	22.3621
4.0	12.4573	-10.4114	26.0203
5.0	16.1255	-5.38634	29.0155
6.0	19.2476	-1.12567	31.5813
7.0	21.9852	2.59559	33.8455
8.0	24.4363	5.91434	35.8861
9.0	26.6655	8.92032	37.7542
10.0	28.7175	11.6757	39.4854
15.0	37.2133	22.934	46.8028
20.0	43.9655	31.6455	52.8547
25.0	49.7582	38.8797	58.2861
30.0	54.9603	45.1299	63.4102
35.0	59.7808	50.6723	68.4076
40.0	64.355	55.6886	73.3926
45.0	68.7807	60.3152	78.4425
50.0	73.1358	64.6648	83.6152
55.0	77.491	68.8377	88.9648
60.0	81.9166	72.9266	94.5523
65.0	86.4908	77.0234	100.457
70.0	91.3113	81.229	106.791
75.0	96.5134	85.6682	113.726
80.0	102.306	90.5202	121.54
85.0	109.058	96.0861	130.737
90.0	117.554	102.992	142.407
91.0	119.606	104.647	145.239
92.0	121.835	106.441	148.319
93.0	124.287	108.409	151.71
94.0	127.024	110.601	155.504
95.0	130.146	113.094	159.837
96.0	133.814	116.016	164.935
97.0	138.324	119.598	171.213
98.0	144.318	124.345	179.573
99.0	153.767	131.801	192.775
99.5	162.414	138.603	204.88
99.9	180.244	152.578	229.889

ANEXO 3. LC₅₀ del extracto metanólico de *Melochia tomentosa* L.

Porcentaje	Concentraciones en ppm	LC Inferior 95.0% Límite Conf.	LC Superior 95.0% Límite Conf.
0.1	-110.348	-291.41	-54.6987
0.5	-81.729	-230.244	-35.8575
1.0	-67.8492	-200.612	-26.6886
2.0	-52.6833	-168.27	-16.6337

3.0	-43.0611	-147.778	-10.2264
4.0	-35.8227	-132.382	-5.38676
5.0	-29.9348	-119.875	-1.43426
6.0	-24.9233	-109.243	1.94381
7.0	-20.5292	-99.9337	4.91842
8.0	-16.5948	-91.6103	7.59386
9.0	-13.0166	-84.0521	10.0387
10.0	-9.72284	-77.1064	12.3008
15.0	3.91413	-48.515	21.8322
20.0	14.7524	-26.1146	29.7306
25.0	24.0506	-7.3598	36.9694
30.0	32.4007	8.75039	44.2022
35.0	40.1383	22.4814	52.1021
40.0	47.4806	33.7382	61.3709
45.0	54.5843	42.6375	72.3304
50.0	61.575	49.8125	84.6982
55.0	68.5657	55.9926	98.0609
60.0	75.6695	61.6873	112.225
65.0	83.0117	67.2164	127.222
70.0	90.7494	72.81	143.259
75.0	99.0995	78.6814	160.73
80.0	108.398	85.0927	180.313
85.0	119.236	92.4586	203.246
90.0	132.873	101.624	232.203
91.0	136.167	103.825	239.21
92.0	139.745	106.213	246.825
93.0	143.679	108.833	255.203
94.0	148.073	111.755	264.565
95.0	153.085	115.082	275.248
96.0	158.973	118.984	287.806
97.0	166.211	123.773	303.253
98.0	175.833	130.127	323.798
99.0	190.999	140.121	356.201
99.5	204.879	149.249	385.874
99.9	233.498	168.037	447.094

ANEXO 4. LC₅₀ del extracto acuoso en el control de gorgojos de frijol de hojas *Melochia tomentosa* L.

		LC Inferior 95.0%	LC Superior 95.0%
Porcentaje	Concentración (ppm)	Límite Conf.	Límite Conf.
0.1	1801.16	1599.04	2101.35
0.5	1616.96	1443.96	1871.87
1.0	1527.63	1368.43	1760.89
2.0	1430.02	1285.58	1639.95
3.0	1368.09	1232.77	1563.46
4.0	1321.5	1192.9	1506.06
5.0	1283.61	1160.36	1459.49
6.0	1251.36	1132.57	1419.94
7.0	1223.07	1108.13	1385.34
8.0	1197.75	1086.17	1354.43
9.0	1174.72	1066.14	1326.37
10.0	1153.52	1047.65	1300.61
15.0	1065.75	970.366	1194.65

20.0	995.999	907.909	1111.47
25.0	936.155	853.34	1041.09
30.0	882.413	803.342	978.887
35.0	832.613	755.984	922.272
40.0	785.358	709.97	869.626
45.0	739.637	664.324	819.817
50.0	694.645	618.234	771.971
55.0	649.652	570.943	725.326
60.0	603.932	521.671	679.142
65.0	556.676	469.533	632.62
70.0	506.876	413.386	584.795
75.0	453.134	351.604	534.374
80.0	393.29	281.608	479.426
85.0	323.534	198.766	416.631
90.0	235.766	93.1086	339.045
91.0	214.567	67.4041	320.49
92.0	191.537	39.4117	300.401
93.0	166.215	8.5583	278.387
94.0	137.934	-25.9834	253.883
95.0	105.68	-65.4744	226.033
96.0	67.7848	-111.987	193.428
97.0	21.1979	-169.316	153.493
98.0	-40.7313	-245.739	100.619
99.0	-138.34	-366.584	17.6761
99.5	-227.672	-477.505	-57.9098
99.9	-411.868	-706.905	-213.077

ANEXO 5. LC₅₀ del extracto acuoso en el control de larvas de hojas *Melochia tomentosa* L.

		LC Inferior 95.0%	LC Superior 95.0%
Porcentaje	Concentración (ppm)	Límite Conf.	Límite Conf.
0.1	2199.13	2035.09	2400.55
0.5	1919.35	1781.07	2088.87
1.0	1783.67	1657.77	1937.81
2.0	1635.41	1522.94	1772.87
3.0	1541.35	1437.31	1668.3
4.0	1470.59	1372.85	1589.69
5.0	1413.03	1320.37	1525.79
6.0	1364.04	1275.67	1471.43
7.0	1321.09	1236.44	1423.8
8.0	1282.62	1201.29	1381.18
9.0	1247.65	1169.3	1342.44
10.0	1215.45	1139.83	1306.81
15.0	1082.14	1017.5	1159.58
20.0	976.187	919.783	1043.07
25.0	885.29	835.408	943.647
30.0	803.663	759.006	854.998
35.0	728.023	687.441	773.618
40.0	656.247	618.593	697.336

45.0	586.804	550.843	624.671
50.0	518.465	482.848	554.484
55.0	450.127	413.422	485.73
60.0	380.683	341.445	417.291
65.0	308.908	265.738	347.868
70.0	233.268	184.812	275.85
75.0	151.641	96.5123	199.098
80.0	60.7444	-2.63907	114.456
85.0	-45.2063	-118.948	16.532
90.0	-178.516	-266.011	-105.959
91.0	-210.715	-301.616	-135.459
92.0	-245.694	-340.325	-167.479
93.0	-284.155	-382.918	-202.655
94.0	-327.111	-430.522	-241.907
95.0	-376.101	-484.852	-286.636
96.0	-433.659	-548.728	-339.142
97.0	-504.419	-627.311	-403.637
98.0	-598.482	-731.851	-489.293
99.0	-746.738	-896.758	-624.16
99.5	-882.422	-1047.79	-747.481
99.9	-1162.19	-1359.44	-1001.53