

PERFIL FITOQUÍMICO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS A PARTIR DE EXTRACTO DE FLORES DEL MUÉRDAGO PSITTACANTHUS CALYCVLATUS POR MEDIO DE METANOL/ACETONA/AGUA

¹ Jaziel Emmanuel Estrada Schwichtenberg, Irs18110586@purisima.tecnm.mx

² Jorge Elimzon Becerra Martínez, Irs18110344@purisima.tecnm.mx

³ José de Jesús Flores Sierra, jesus.fs@purisima.tecnm.mx

⁴ Luis Ángel Xoca Orozco, luis.xo@purisima.tecnm.mx

RESUMEN

El área natural protegida del Cerro del Palenque de Purísima del Rincón, Guanajuato, ha presentado un deterioro gradual de sus recursos naturales, destacando la parte forestal, donde la presencia de plantas parásitas ha contribuido en gran medida a los retrasos de procesos de conservación selectiva de varias especies. El muérdago *Psittacanthus calyculatus* es una planta hemiparásita de flores atractivas que es capaz de mantener permanentemente engañada a la rama donde se ha colocado, haciéndole creer al individuo que es parte de su sistema, para con esto obtener una amplia variedad de nutrientes, dañando progresivamente a su hospedero. Hasta ahora no hay un control químico eficaz para eliminar esta plaga, por lo que en este estudio se propuso identificar compuestos bioactivos, contenidos en el extracto de flor del muérdago *Psittacanthus calyculatus* con la finalidad de identificar componentes de interés terapéutico. La evaluación cualitativa se realizó por medio del uso de reactivos de coloración y precipitación, evidenciando: fenoles, antocianidinas, flavonoides, alcaloides y glucósidos cardiotónicos como los más importantes. Se realizó un análisis cuantitativo para conocer la concentración de fenoles y flavonoides totales contenidos en el extracto. Este estudio sugiere que el extracto de flores a partir del muérdago *Psittacanthus calyculatus*, podría ser aprovechado dentro del área farmacológica-medicinal, ya que se identificó que contiene una amplia variedad de compuestos bioactivos y que estos al ser de alto valor biológico, son capaces de brindar una actividad antimicrobiana y antioxidante, por lo tanto, la posibilidad de utilizarse en el tratamiento de enfermedades humanas.

PALABRAS CLAVE

Antioxidante
Extracción
Farmacológico
Bioactivo

ABSTRACT

The protected natural area of Cerro del Palenque de Purísima del Rincón, Guanajuato, has presented a gradual deterioration of its natural resources, highlighting the forest part, where the presence of parasitic plants has contributed greatly to the delays in selective conservation processes of Various species. The mistletoe *Psittacanthus calyculatus* is a hemiparasitic plant with attractive flowers that is capable of permanently deceiving the branch where it has been placed, making the individual believe that it is part of its system, in order to obtain a wide variety of nutrients, progressively damaging its host. So far there is no effective chemical control to eliminate this pest, so in this study it was proposed to identify bioactive compounds contained in the flower extract of the mistletoe *Psittacanthus calyculatus* in order to identify components of therapeutic interest. The qualitative evaluation was carried out through the use of coloration and precipitation reagents, showing: phenols, anthocyanidins, flavonoids, alkaloids and cardiotonic glycosides as the most important. A quantitative analysis was performed to determine the concentration of total phenols and flavonoids contained in the extract. This study suggests that the flower extract from the mistletoe *Psittacanthus calyculatus* could be used within the pharmacological-medicinal area, since it was identified that it contains a wide variety of bioactive compounds and that, being of high biological value, they are capable of provide antimicrobial and antioxidant activity, therefore, the

KEYWORDS

Antioxidant
Extraction
Pharmacological
Bioactive

possibility of being used in the treatment of human diseases.

¹ Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón - Estudiante.

² Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón - Estudiante.

³ Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón - Docente.

⁴ Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón - Docente.

I. INTRODUCCIÓN

El área natural protegida del Cerro del Palenque de Purísima del Rincón, Guanajuato, México (decretado oficialmente desde el 2012) ha presentado un deterioro gradual de sus recursos naturales, destacando la parte forestal, donde la presencia de plagas, enfermedades y plantas parásitas contribuyen en gran medida a los procesos de conservación selectiva de varias especies, haciendo del área natural un sistema muy frágil. Este presenta 155 especies de fauna con 38 especies con alguna categoría de riesgo y/o endémicas y una flora que alberga 125 especies de plantas con 3 especies en alguna categoría de riesgo reportada por la NOM-059-SEMARNAT-2010 (Secretaría de Medio Ambiente y Ordenamiento Territorial del Estado de Guanajuato, 2022). La capacidad de absorber nutrientes de las plantas parasitarias se asocia con la producción de órganos y mecanismos especializados para adquirir recursos desde su hospedador. La transferencia de solutos del huésped a una planta parásita depende de la formación de un puente entre los dos organismos. Este órgano, el haustorio, es la característica definitoria de todas las plantas parásitas (Westwood et al., 2010). El muérdago es una planta hemiparásita que crece en las ramas de los árboles, puede realizar la fotosíntesis, pero no sobrevivir sin un hospedero, es decir, que posee cierta independencia de este. Los muérdagos son un grupo polifilético de plantas que comprende a más de 1300 especies en una amplia gama de hábitats y se dividen en dos familias: Loranthaceae y Viscaceae, las cuales se distribuyen en todo el mundo, correspondiendo aproximadamente a 940 y 350 especies, respectivamente (Watson, 2001).

Los efectos estudiados en el muérdago varían en función no solo de su capacidad de tomar agua y nutrientes del árbol hospedante, sino, también, dependen de las condiciones ambientales en las que se desarrolla el anfitrión, su tamaño, edad y densidad (Alvarado & Saavedra, 2005). Un árbol infestado por *Psittacanthus calyculatus* (*P. calyculatus*) utilizará los nutrientes del hospedero sin detenerse, provocando la disminución del crecimiento meristemático y capacidad reproductiva necesaria para la producción de semillas y perpetuación del hospedero, y por consecuencia el hospedero está destinado con el tiempo a la muerte (Van Ommeren & Whitham, 2002).

La flora del Cerro del Palenque es susceptible al ataque de diferentes patógenos, principalmente la planta de muérdago *P. calyculatus*, de los cuales se ha demostrado, el incremento y reproducción masiva de dichas poblaciones. Haciendo que esté termine de secar a los árboles que parásita, consumiendo el agua y sales minerales del huésped, provocando su muerte (Espinoza, 2017). Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue encontrar un valor agregado del muérdago *P. Calyculatus*, mediante el diseño de un perfil fitoquímico, para identificar compuestos bioactivos de alto valor que puedan ser aplicados como agentes terapéuticos en el tratamiento de enfermedades.

II. METODOLOGÍA

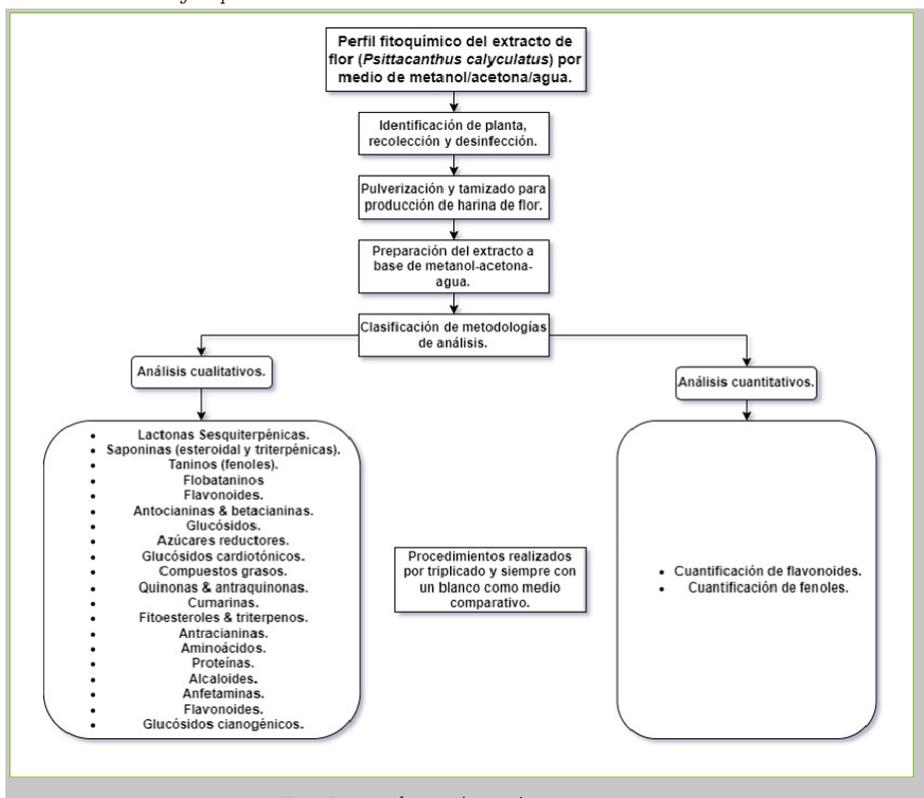
Toda la investigación se ha estado realizando en los laboratorios de ciencias biológicas y bioprocesos, del Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón. Mayoritariamente dentro de cada uno de los procesos se realizaron procedimientos por triplicado y siempre con un blanco como medio comparativo.

Materiales de Laboratorio. Vidrio de reloj, espátula, probetas de 25, 50 ml; pipetas de 5 y 10 ml; propipetas de hule (bulbo), tubos falcon, vasos de precipitado de 50, 500 y 600 ml; matraces erlenmeyer de 250 y 500 ml; frascos para laboratorio de tapa azul 1 L, embudo de vidrio, agitadores magnéticos, tubos de ensayo 15x150 mm, tubos de ensayo con tapa 15x100 mm, gradilla para tubos de ensayo, piseta con agua destilada, goteros, micropipeta 0.1-2.5 μ L, 2-20 μ L, 10-100 μ L, 20-200 μ L y 100-1000 μ L; tubos eppendorf, gradilla para tubos eppendorf, soporte universal, anillo, mechero de bunsen, malla de asbesto & microplacas.

Material Biológico. Muestras de flores de *Psittacanthus calyculatus* (*P. Calyculatus*) de mezquite *Prosopis laevigata*, planta hospedante en el Cerro del Palenque.

Equipos Utilizados. Horno de secado, molino IKA, termoagitador, centrifuga, rotavapor, licuadora industrial, bomba de vacío, balanza digital, agitador vortex, autoclave, campana de extracción de vapores, computadora con Windows +7, fotómetro ELISA & refrigerador.

Figura 1
Resumen de metodología aplicada.



Nota: Imagen de autoría propia.

Obtención de la Planta, Desinfección y Preparación de la Harina de Flor de Muérdago. Se realizó un lavado del material biológico con cloro al 2% durante un tiempo aproximado de 10 min, esto con el fin de desinfectar las muestras a procesar; al término del lavado se retiró el exceso de agua y se llevaron a un horno de secado a una temperatura de 60°C durante 48 horas. Las flores secas y quebradizas fueron pulverizadas en un molino IKA, y filtradas en un tamiz no.60.

Preparación del Extracto Metanol-Acetona-Agua con Harina de Flor. Se utilizaron 5 g de harina de flor y se le agregó metanol acidificado (1 ml HCl con 125 ml de metanol) y agua destilada (125 ml) para obtener una relación 50/50 volumen/volumen en una proporción de 50 ml/g de muestra (se utilizó 250 ml en total), posteriormente se mantuvo en agitación durante 60 min a temperatura ambiente. Después, la suspensión fue centrifugada mediante tubos falcon (50 ml) a 5000 g (g: Fuerza centrífuga relativa) durante 15 min a temperatura ambiente. Se separaron las fases y se retuvo el sobrenadante. El precipitado obtenido se lavó con una mezcla de acetona/agua (70:30 volumen/volumen, 50 ml/g de muestra) siendo un volumen total de 250 ml (175 ml de acetona con 75 ml de agua destilada), se centrifugó nuevamente durante 60 min a temperatura ambiente y se combinaron los sobrenadantes del lavado de cada ronda. Posteriormente, se decidió aplicar una última

centrifugación a la mezcla de ambos sobrenadantes, esto con el fin de eliminar la mayor cantidad de sólidos. Finalmente, se aplicó una filtración a vacío con doble papel filtro de 90 mm. Los extractos fueron almacenados en oscuridad a 4°C.

Análisis Cualitativo

Ensayo Cualitativo para la Detección de Lactonas Sesquiterpénicas (Prueba de Baljet). Se midió 4 ml de extracto y se le adicionaron 5 gotas del reactivo de Baljet; un cambio de coloración naranja a rojo indicó la presencia de lactonas sesquiterpénicas.

Prueba de Saponinas (Esteroidal y Triterpénicas). Se midió 1 ml de extracto y se le añadió 4 ml de agua destilada, posteriormente se agitó en vortex por 1 min. Se consideró positivo a la aparición de espuma en la parte superior del líquido de más de 2 mm de altura y si fue persistente por un tiempo aproximado de 2 min.

Prueba de Taninos (Fenoles). Se midió 1 ml del extracto y se le adicionó 1 ml de etanol, posteriormente se le añadieron 3 gotas de una solución de cloruro férrico al 5%. Los siguientes cambios indicaron lo siguiente: rojo-vino= fenoles en general, verde intenso= pirocatecolicos y azul= pirogalotánicos.

Prueba de Precipitación con Gelatina. Se disolvió 1 ml de extracto con 5 ml de una solución de gelatina (1%) y cloruro de sodio al 10%. Los taninos e incluso pseudotaninos a altas concentraciones precipitarán.

Prueba de Flobataninos. Fueron añadidas unas gotas de HCl al 2% a 1 ml del extracto. La aparición de un precipitado rojo indicó la presencia positiva para este tipo de prueba.

Prueba General para Flavonoides. A 2 ml de extracto, se le agregó 1 ml de NaOH 2N. La presencia de un color amarillo indicó una muestra con flavonoides.

Prueba de Shinoda. A 1 ml de extracto se le agregó 0.1 g de limaduras de magnesio y se calentó a 60°C con ayuda de un baño María; posteriormente se adicionó de 3-4 gotas de HCl concentrado por las paredes del tubo. La prueba es positiva si ocurren cambios de coloración naranja, rojo, rosa, azul o violeta.

Prueba Alcalina. Los extractos (1 ml) se trataron con 1 ml de una solución de NaOH al 40% dando un fuerte color amarillo. Al añadir 1 ml de HCl al 10% se observó una decoloración, demostrando la presencia de flavonoides.

Prueba de Acetato de Plomo. Se adicionó 0.5 ml de una solución de acetato de plomo (Meyer) al 2% a las soluciones de los extractos (1 ml), un color amarillo indicó la presencia de flavonoides.

Antocianinas-Betacianinas. A 1 ml del extracto se le añadió 5 gotas de NaOH al 20%, la decoloración lenta de violeta, azul, verde y amarillo indicó fenolatos alcalinos. Una decoloración rápida a amarillo es para el caso de betacianinas.

Reacidificación. A la solución anterior se le añadió 1 ml de HCl 1N. La regeneración del color rojo indicó la presencia de antocianinas.

Alcohol Isoamílico-Agua. A 1 ml del extracto se añadió 1 ml de alcohol isoamílico y 1 ml de agua destilada; la fase alcohólica adquirió una coloración rojiza a pH ácido para antocianina y en el caso de betacianina no ocurrió alguna coloración.

Prueba para Glucósidos. A 2 ml de extracto, se añadieron 3 ml de cloroformo e hidróxido de amonio al 10%. La formación de color rosa indicó la presencia de glucósidos.

Prueba de Azúcares Reductores Fehling. En un tubo de ensayo se añadieron 1 ml del extracto y 1 ml del reactivo Fehling, después se taparon y se llevaron a baño María a ebullición durante 5 min; posteriormente se realizó la evaluación cualitativa.

Prueba de Azúcares Reductores Benedict. En un tubo se añadieron 1 ml del extracto y 1 ml del reactivo Benedict, después se taparon y se llevaron a baño María a ebullición durante 5 min; posteriormente se realizó la evaluación cualitativa.

Prueba Keller-Kilani para la Detección Glucósidos Cardiotónicos. Se colocó 1 ml del extracto en 1 tubo de ensayo y se agregó 1 ml de ácido acético glacial y posteriormente se adicionaron 5 gotas de FeCl₃ al 5%. Las soluciones se vertieron en tubos de ensayo con 1 ml de H₂SO₄ concentrado. La formación de un anillo marrón en la interfaz indicó la presencia de glucósidos cardiotónicos, al igual que la formación de un anillo violeta debajo del anillo marrón o bien en la fase de ácido acético; un anillo verdoso también pudo formarse gradualmente, indicando la presencia de estos compuestos.

Compuestos Grasos. En un tubo de ensayo se puso 1 ml del extracto y se le añadió 1 ml de reactivo de Sudán III. Se llevó a baño María hasta que se evaporó el solvente y se realizó la evaluación cualitativa.

Prueba de Quinonas. A 1 ml de extracto, se agregó 1 ml de H₂SO₄ concentrado. La formación de color rojo indicó la presencia de quinonas.

Prueba de Antraquinonas. A 1 ml de extracto de fruta se agregaron de 3-5 gotas de solución de amoníaco al 10%, la apariencia de un precipitado color rosa indica la presencia de antraquinonas.

Cumarinas. Se agregó 1 ml de NaOH al 10% a 1 ml del extracto. La formación de un color amarillo indicó la presencia de cumarinas.

Ensayo Cualitativo para Detección de Fitoesteroles y Triterpenos (Liebermann-Burchard). Si la alícuota del extracto no se encontró anteriormente en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de cloroformo. Se adicionó 1 ml de anhídrido acético y se mezcló bien. Por la pared del tubo se adicionó 2-3 gotas de H₂SO₄ concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio de coloración:

1. Rosado-azul, muy rápido.
2. Verde intenso, visible, aunque rápido.
3. Verde oscuro-negro, final de la reacción.

A veces, el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos. Esta reacción también se emplea para diferenciar las estructuras esteroidales de las triterpénicas, las primeras producen coloraciones que van desde azul a azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes o a presencia de triterpenos es positiva por él vire de la solución a amarillo, mientras que los fitoesteroles se denotarán por un cambio de coloración a rojo en la capa inferior del tubo de ensayo.

Antracianinas. A 1 ml del extracto se añadió 1 ml de NaOH 2N y se calentó durante 5 min a 100°C. La formación de color verde azulado indicó la presencia de antocianinas.

Prueba de Aminoácidos con Ninhidrina. A 2 ml de extracto se agregaron 3-5 gotas del reactivo de ninhidrina 0.2% y se calentó durante 5 min. La formación de color azul indicó la presencia de aminoácidos.

Prueba de Proteínas. Prueba de Biuret. Se añadieron unas 4 gotas del reactivo de Biuret a 2 ml del extracto. La formación de un color violeta a rosa indicó la presencia de proteínas.

Reactivo de Wagner para Detección de Alcaloides. En un tubo se colocó 1 ml de extracto, se añadió 1 ml de HCl al 1% y 5 gotas de reactivo Wagner en frío. Un precipitado prominente de color marrón o amarillo indicó la prueba como positiva.

Reactivo de Mayer para Detección de Alcaloides. En un tubo de ensayo se puso 1 ml del extracto, se añadió 1

ml de HCl al 1%, una pizca de cloruro de sodio (NaCl) en frío y finalmente 5 gotas de reactivo Mayer. Un precipitado amarillo indicó la prueba como positiva.

Reactivo de Erdman Mayer para Detección de Alcaloides. En un tubo de ensayo se colocó 1 ml del extracto, se añadió 1 ml de HCl al 1% y 3 gotas de reactivo Erdman (frío) y se realizó la evaluación. Un precipitado naranja o verde indicó la prueba como positiva.

Test de Marquis para Detección de Anfetaminas. En un tubo se agregó 1 ml del extracto más 3 gotas del reactivo Marquis. Se produjo un púrpura intenso a la vez con morfina y cambia rápidamente a azul-violeta profundo. La reacción con el ácido nítrico concentrado permite diferenciar entre la morfina (color rojo anaranjado) y sus derivados sustituidos por O en C-3, por ejemplo, codeína (color naranja) y heroína (color amarillo).

Reactivo de Dragendorff para Detección de Anfetaminas. En un tubo se pusieron 1 ml del extracto y 1 ml de HCl al 1%, luego se añadieron 3 gotas de reactivo Dragendorff. Un precipitado naranja o amarillo prominente indicó la prueba como positiva.

Glucósidos Cianogénicos (Compuestos Tóxicos). Se preparó una solución de picrato de sodio (se disolvieron 1 g de carbonato de sodio, 100 mg de ácido pícrico y 10 ml de agua destilada). Se cortaron tiras de papel filtro Whatman No.1 y se humedecieron de la solución de picrato de sodio, hasta secar. En un tubo de ensayo se agregaron 2ml de extracto, luego se añadió 1 ml de cloroformo y se introdujeron las tiras a 1 cm de la muestra cuidando que no tocaran las paredes del tubo. Se taparon los tubos, se calentaron a baño María por 3 h a 37°C y se realizó la evaluación cualitativa.

Análisis Cuantitativo

Determinación de Flavonoides. Para la cuantificación del contenido de flavonoides totales se utilizó la metodología colorimétrica propuesta por (Dewanto et al., 2002) y adaptado a microplacas. Primeramente, se realizó una curva estándar con catequina (0-100 ppm) (0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 y 0.1 mg/ml). Para la cuantificación total de flavonoides se colocaron 20 µL de las soluciones anteriores y 20 µL del extracto de flor en pozos de una microplaca ELISA, se realizó por triplicado. Después con la micropipeta, se vertió 6 µL de NaNO₂ al 5%, 12 µL de AlCl₃ al 10%, 122 µL de agua destilada, se dejó reposar por 6 min y se añadió 40 µL de NaOH 1M recién preparada. Finalmente, la absorbancia se midió a 570 nm en el equipo espectrofotómetro de microplacas Thermo Scientific™ Multiskan.

Determinación de Fenoles Totales. Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu de acuerdo con (Velioglu et al., 1998), adaptado en microplacas, este ensayo se realizó por triplicado. Primeramente, se preparó una solución madre de ácido gálico a una concentración de 1 g/L (1000 ppm), de esta solución se preparó la curva estándar (0, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.1, 0.12, 0.15, 0.2, 0.22 y 0.25 mg/ml). Posteriormente en una microplaca se depositaron 25 µL de cada dilución de ácido gálico, 80 µL de agua destilada, 5 µL de Folin-Ciocalteu y se dejó reposar por 30 min en ausencia de luz. Una vez transcurrido este tiempo se agregaron 80 µL de carbonato de sodio, esto se hizo por triplicado para cada respectiva dilución.

A continuación, se diluyeron los extractos de flor en escalas 1:10, 1:50, 1:100 y 1:200, 1:1000 respectivamente. Después se colocaron en la microplaca 25 µL de los extractos diluidos, 80 µL de agua destilada, 5 µL de Folin-Ciocalteu y se dejó reposar por 30 min en ausencia de luz. Una vez transcurrido

este tiempo se agregaron 80 µL de carbonato de sodio, esto se realizó igualmente por triplicado. Finalmente, la absorbancia se midió 750 nm en el espectrofotómetro de microplacas Thermo Scientific™ Multiskan.

III. RESULTADOS O AVANCES

Pruebas Cualitativas. El estudio de algunos compuestos bioactivos en el extracto procedente de la flor del muérdago con metanol-acetona-agua, mostraron la presencia de algunos de estos estándares seleccionados previamente en su composición (tabla 1). La clasificación de estos fue mediante la ejemplificación proporcionada por (Soto, 2015). Debido a la importancia de los antioxidantes naturales, existen estudios sobre los diferentes tipos de obtención y propiedades, pero la escasa difusión de estos y las diferentes condiciones de experimentación, hacen que se necesite de ajustes de ciertos parámetros de extracción como solventes y dosificación para que puedan ser más utilizados (Fung et al., 2016).

Tabla 1
Ensayos realizados e intensidad de presencia de los compuestos.

Compuesto	Ensayo	Respuesta
Lactonas sesquiterpénicas	Baljet	++
Saponinas (esteroideal y triterpénicas)	Agitación por vortex	+++ (Ambos)
Taninos (fenoles)	Cloruro férrico 5%	+++ (Solo Pirogalotánicos)
Taninos y pseudotaninos	Precipitación con gelatina	+++
Flobataninos	HCl 2%	-
Flavonoides	NaOH 2N	+++
Flavonoides	Shinoda	+
Flavonoides	Alcalino	++
Flavonoides	Acetato de plomo	+
Antocianinas y betacianinas	NaOH 20% y HCl 1N	+++ (Solo Betacianinas)
Antocianinas y betacianinas	Alcohol isoamílico-agua	+(Solo Betacianinas)
Glucósidos	Cloroformo y NH ₄ OH 10%	-
Azúcares Reductores	Fehling	-
Azúcares Reductores	Fehling con baño María	-
Azúcares Reductores	Benedict	-
Azúcares Reductores	Benedict con baño María	-
Glucósidos cardiotónicos	Keller-Kilani	+++
Compuestos grasos	Sudán III	++
Quinonas	H ₂ SO ₄ concentrado	-
Antraquinonas	NH ₄ OH 10%	+
Cumarinas	NaOH 10%	+++
Cumarinas	NaOH 0.5M	+++
Cumarinas	NaOH 1N	+
Fitoesteroles y triterpenos	Liebermann-Burchard	++ (Solo Triterpenos)
Antracianinas	NaOH 2N calentado 100°C	+++
Aminoácidos	Ninhidrina 0.2%	-
Proteínas	Biuret	-
Alcaloides	Wagner	+++
Alcaloides	Mayer	+
Alcaloides	Erdman	-
Anfetaminas	Marquis	-
Anfetaminas	Dragendorff	++
Glucósidos cianogénicos	Picrato de sodio y cloroformo	-

Intensidad: (+): Poca; (++): Moderada; (+++): Alta. Identificación: (+): Presencia; (-): Ausencia.

Nota: Fuente propia

Determinación de Flavonoides. El extracto obtenido muestra una consistencia de baja viscosidad, donde a bajas temperaturas (4°C) es posible ver la sedimentación de varios compuestos orgánicos propios de la flor del muérdago. Por otro lado, la curva de calibración obtenida mediante el uso de la catequina hidrolizada como estándar (fig. 2) presentó la ecuación de regresión $y = 0.0017x + 0.0414$ con R^2 de 0.9951, lo que permitió calcular la concentración de flavonoides en diferentes diluciones (tabla 2); esto permite una mejor aproximación a la cuantificación en extractos naturales mencionado por la metodología de (Gracia, 2007).

Figura 2

Curva de calibración para la determinación de flavonoides totales a 570nm

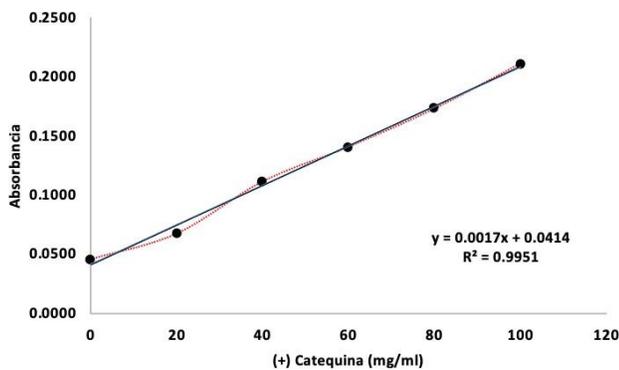


Imagen de autoría propia.

Por lo tanto, la concentración de estos compuestos del subgrupo fenólico puede ser aprovechados para lograr nuevas incorporaciones a varios productos que puedan tratar enfermedades degenerativas, cardiovasculares e incluso en la fijación de metales requeridos en el cuerpo como el hierro y cobre como es mencionado por (Hernández et al., 2019).

Tabla 2

Contenido de flavonoides en extracto de flor a partir de metanol-acetona-agua

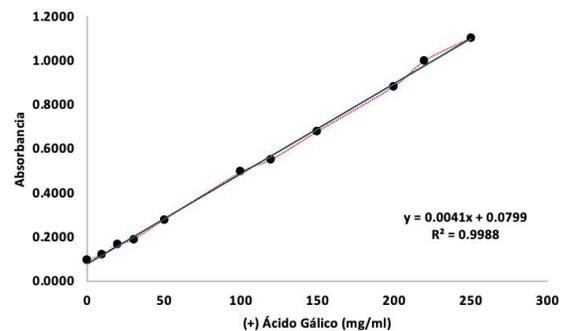
Dilución	Promedio de Absorción	Concentración de Flavonoides mg/ml
0 (Blanco)	0.0427	0.7647
1:20	0.0558	8.4510
1:40	0.0476	3.6275
1:60	0.0486	4.2549
1:80	0.0435	1.2549
1:100	0.0445	1.8235

Nota: Tabla de autoría propia.

Determinación de Fenoles. La curva de calibración fue obtenida mediante la aplicación del ácido gálico como estándar (fig. 3) mostrando la ecuación de regresión $y = 0.0041x + 0.0799$ con una R^2 de 0.9988 siendo la guía para calcular la concentración de compuestos fenólicos en diferentes diluciones (tabla 3); esto permite una mejor aproximación a la cuantificación del extracto empleado.

Figura 3

Curva de calibración para la determinación de fenoles totales a 760nm



Nota: Imagen de autoría propia.

Tabla 3

Contenido de fenoles totales en extracto de flor a partir de metanol-acetona-agua

Dilución	Promedio de Absorción	Concentración de Fenoles
		Totales mg/ml
0 (Blanco)	0.1059	6.3415
1:10	1.5029	347.0650
1:50	0.5052	103.7398
1:100	0.2747	47.5203
1:200	0.1653	20.8374
1:1000	0.1081	6.8862

Nota: Tabla de autoría propia.

IV. CONCLUSIONES

El extracto de flor obtenido a partir del muérdago Psittacanthus calyculatus localizado en el cerro del Palenque de Purísima del Rincón, Guanajuato, evidencio una gran variedad de compuestos bioactivos, entre ellos alcaloides, fenoles y flavonoides. También se observó una buena concentración de compuestos antioxidantes: fenoles y flavonoides totales. Por lo tanto, los resultados obtenidos a partir de Psittacanthus Calyculatus mostraron que esta planta podría tener un gran potencial terapéutico para el tratamiento de enfermedades en humanos. Todo esto fue desarrollado durante el origen y evolución del COVID-19, donde fue difícil estructurar algunos métodos debido a la falta reactivos, materiales y equipos de laboratorio; he incluso recalando el frecuente riesgo de indicación por suspensión de labores derivado de la pandemia que lograron obstaculizar la obtención de resultados eficientes y replicables.

V. AGRADECIMIENTOS

Al Tecnológico Nacional de México por el financiamiento del proyecto TECNM 10539.21-PD y SPRI-PYR-2022-13652 y al Instituto Tecnológico Superior de Purísima del Rincón, por el apoyo otorgado para la realización de este estudio.

REFERENCIAS

- Alvarado, D., & Saavedra, L. (2005). El género *Cladocolea* (Loranthaceae) en México: muérdago verdadero o injerto. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 11(1), 5-9. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62911101>
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K., & Hai, R. (2002). Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3010-3014. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf0115589>
- Espinoza, P. (Diciembre de 2017). Distribucion espacial del muérdago en las áreas verdes urbanas de la Ciudad de México. Chapingo, Estado de México, México. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/server/api/core/bitstreams/9d4b293e-353b-4722-b943-ba7e280c7575/content>
- Fung, Y., Molina, J., Ramírez, E., Gómez, L., Quiñones, J., Ferrer, A., . . . Cuypers, A. (2016). Evaluación cualitativa de monoterpenos en *Rosmarinus officinalis* cultivados con agua tratada magnéticamente. *Cultivos Tropicales*, 37, 136-141. <https://www.redalyc.org/journal/1932/193246189018/movil/>
- Gracia, M. (20 de Septiembre de 2007). Cuantificación de Fenoles y Flavonoides Totales en Extractos Naturales. Universidad Autónoma de Querétaro: https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf
- Hernández, G., Sabrina, N., Marino, L., Isern, D., Coria, I., & Irurzun, I. (2019). Flavonoides: Aplicaciones medicinales e industriales. *Invenio*, 22(40), 11-27. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/113738>
- Secretaría de Medio Ambiente y Ordenamiento Territorial del Estado de Guanajuato. (2022). Cerro del Palenque. Secretaría de Medio Ambiente y Ordenamiento Territorial del Estado de Guanajuato: <https://smaot.guanajuato.gob.mx/sitio/areas-naturales-protegidas/4/Cerro-del-Palenque>
- Soto, M. (2015). Metabolitos secundarios, cuantificación de fenoles y flavonoides totales de extractos etanólicos de propóleos de tres localidades del Perú. In *Crescendo*, 6(2), 22-32. <https://doi.org/https://doi.org/10.21895/increc.2015.v6n2.03>
- Van Ommeren, R., & Whitham, T. (2002). Changes in interactions between juniper and mistletoe mediated by shared avian frugivores: parasitism to potential mutualism. *Oecologia*, 130(2), 281-288. <https://doi.org/10.1007/s004420100792>
- Velioglu, Y., Gao, L., & Oomah, B. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113-4117. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jf9801973>
- Watson, D. (2001). Mistletoe—A Keystone Resource in Forests and Woodlands Worldwide. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32, 219-249. <https://doi.org/https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114024>
- Westwood, J., Yoder, J., Timko, M., & DePamphilis, C. (2010). The evolution of parasitism in plants. *Trends Plant Sci.*, 15(4), 227-235. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.01.004>

ANEXOS

Figura 4

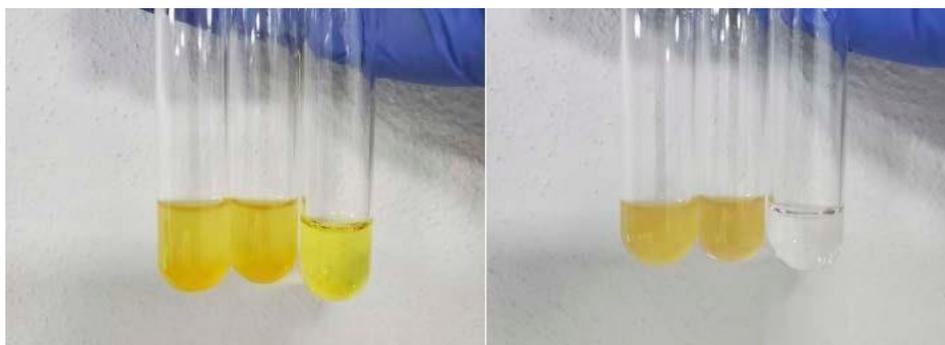
Respuesta de alcaloides por Erdman, Mayer & Wagner (Izq. A Der.)



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 5

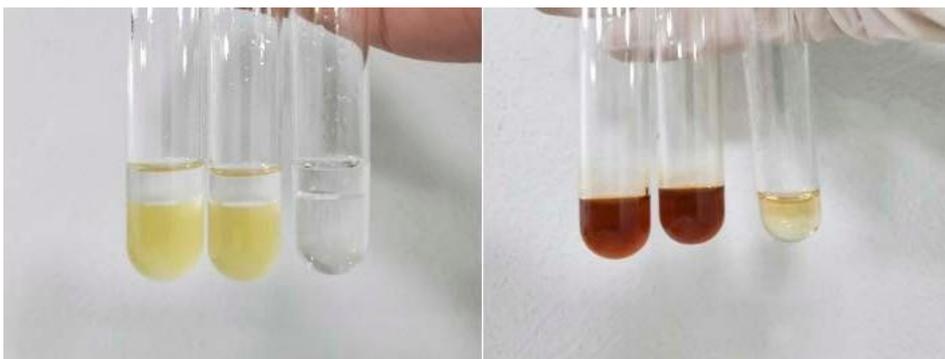
Respuesta de anfetaminas por Dragendorff & Marquis (Izq. A Der.)



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 6

Respuesta de Betacianinas Alcohol Isoamílico-Agua & Reacidificación-NaOH



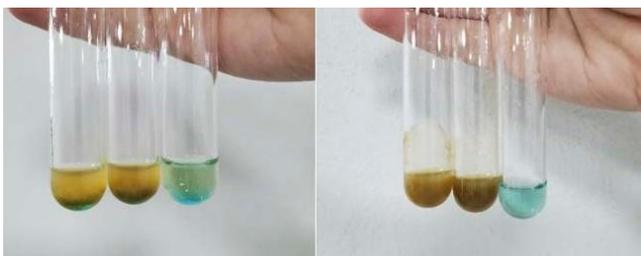
Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 7
Respuesta de antracinas



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 8
Respuesta de azúcares reductores por Benedict & Fehling



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 9
Respuesta de compuestos grasos



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 10
Respuesta de cumarinas



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 11
Respuesta de glucósidos cardiotónicos por Keller-Kilani



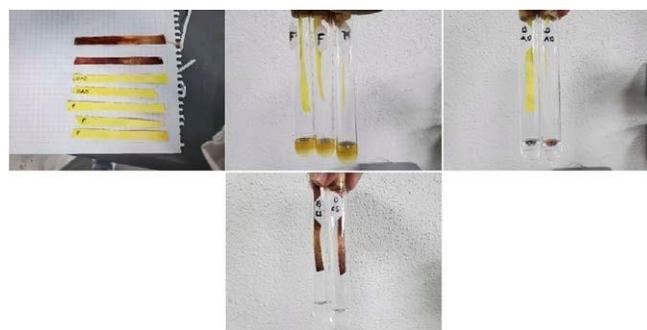
Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 12
Respuesta por ensayo de Liebermann-Burchard



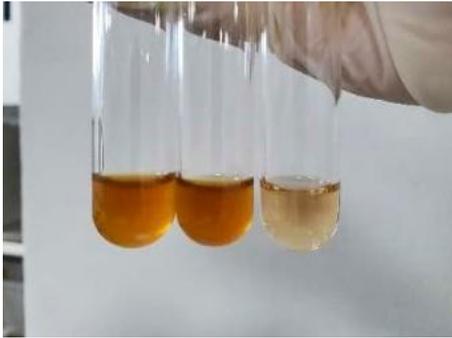
Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 13
Respuesta de glucósidos cianogénicos (F = Extracto de flor, BAD = Blanco con agua destilada, CS = Cianuro de potasio)



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 14
Respuesta por prueba de antraquinonas



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 18
Respuesta por prueba de saponinas



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 15
Respuesta por prueba de Baljet



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 19
Respuesta por prueba de taninos



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 16
Respuesta por prueba taninos & pseudotánicos de precipitación por gelatina



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

Figura 17
Respuesta por prueba de glucósidos



Nota: Blanco en extremo derecho de cada prueba

