

Potencial antioxidante y antimicrobiano de extractos acuosos e hidroalcohólicos de granadilla (*Passiflora ligularis*)

Antioxidant and antimicrobial potential of aqueous and hidroalcoholic extracts of granadilla (*Passiflora ligularis*)

Sergio Andrés Cabrera Navarro¹, Angélica Piedad Sandoval Aldana¹ y Freddy Forero Longas²

¹Red Tecnoparque Nodo La Granja-Sena Regional Tolima, Universidad del Tolima, Facultad de Ingeniería Agronómica, ²Corpoica Centro de Investigación Nataima. Autor para correspondencia: sacabrera40@misena.edu.co

Rec.: 19.05.2014 Acep.: 09.02.2014

Resumen

En el estudio se determinó la actividad antioxidante y antimicrobiana en extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Passiflora ligularis*. Se utilizó el método de extracción por reflujo, empleando como solventes agua y etanol a 35% (v/v) y 70% (v/v). Como material vegetal fueron utilizadas hojas y flores. Los resultados mostraron que tanto los extractos acuosos como los hidroalcohólicos presentan compuestos fenólicos, alcanzando contenidos máximos de 14.32 mg Eq Ac. Gal/g materia seca. También se determinaron los contenidos máximos de flavonoides totales equivalentes a 10.47 mg Eq Vitexina/g materia seca, en extractos hidroalcohólicos. La actividad antioxidante *in vitro* de los extractos fue evaluada utilizando la metodología de captación del radical libre (DPPH) y poder reductor férrico (FRAP). En ambas metodologías se determinó que los extractos hidroalcohólicos presentan mayor actividad. El ensayo de actividad antimicrobial mostró que los extractos de *P. ligularis* tienen la capacidad de reducir el crecimiento tanto de *E. coli* (ATCC 25922) como de *S. aureus* (ATCC 25923), encontrando principalmente que los extractos acuosos poseen mayor poder de inhibición microbiana que los hidroalcohólicos. En este trabajo también se observó correlación entre los fenoles y la actividad antioxidante (FRAP).

Palabras clave: Extracción reflujo, flavonoides, fenoles, radicales libres.

Abstract

The main objective of this study was to determine the antioxidant and antimicrobial activity in aqueous and hydroalcoholic extracts of *Passiflora ligularis*. It was used the reflux extraction method, using as solvent water, ethanol 35% (v/v) and 70% (v/v), working with leaves and flowers as plant material. The analysis demonstrated that both aqueous and hydroalcoholic extracts present phenolic compounds, achieving maximum levels of 14.32 mg Eq Ac. Gal /g dry matter. Also was determined maximum total flavonoids equivalent to 10.47 mg Eq Vitexin/g dry matter on hydroalcoholic extracts. In vitro antioxidant activity of the extracts was evaluated using the methodology of capturing the free radical (DPPH) and Ferric Reducing Power (FRAP), in both methods was determined that hydroalcoholic extracts were more active. The antimicrobial activity test, indicated that the extracts of *P. ligularis* have the ability to reduce the growth of both *E. coli* (ATCC 25922) and *S. aureus* (ATCC 25923), mainly finding that aqueous extracts possess greater microbial growth inhibition than the hydroalcoholic ones. In this study also was possible to identify a correlation between the phenols and antioxidant activity (FRAP).

Key words: Reflux extraction, flavonoids, phenols, free radicals.

Introducción

Durante 2011 en Colombia la producción de granadilla (*Passiflora ligularis*) fue, aproximadamente, de 52.30 t, de las cuales 60% se destinó al mercado externo y el 40% al consumo interno (Carrero, 2013). Por sus propiedades medicinales, los frutos del género *Passiflora* son una alternativa para el control de enfermedades digestivas, por lo cual tienen un alto potencial de mercado. Estudios recientes mostraron que las partes herbales (hojas y flores) de este género poseen propiedades bioactivas y farmacológicas altamente efectivas (Li *et al.*, 2011; Nassiri *et al.*, 2007), una de ellas es la actividad ansiolítica, encontrada en los extractos de flor (Pallo, 2012). Dhawan *et al.* (2004) en *P. edullis* y *P. incarnata* determinaron la presencia de compuestos activos como alcaloides, fenoles, cianogénicos y flavonoides glicosilados. Por otra parte, Gutiérrez *et al.* (2012) indican que los alimentos ricos en compuestos polifenólicos tienen alta relación con la capacidad antioxidante; igualmente Bisignano *et al.* (1999) encontraron que la actividad antimicrobiana está estrechamente ligada a los compuestos bioactivos presentes en las partes herbales de las plantas. Vasic *et al.* (2012) determinaron concentraciones de antioxidantes en *P. alata*. El objetivo de este estudio fue establecer el potencial antioxidante y antimicrobiano de extractos acuosos e hidroalcohólicos obtenidos desde las partes herbales de *P. ligularis*.

Materiales y métodos

Material vegetal y preparación de extractos.

Las hojas y flores pertenecientes a la especie *P. ligularis* fueron recolectadas en cultivos comerciales del área rural de los municipios de Gigante y Palestina, departamento del Huila, Colombia. La identificación de la especie fue confirmada frente a láminas herborizadas de *P. ligularis* No. 006861 correspondientes al herbario de la Universidad del Tolima, Colombia.

Las muestras de hojas y flores fueron secadas con aire circulante a 40 °C durante tres días; posteriormente el material vegetal fue triturado en partículas de 5 mm en molino de martillos. Del material resultante se

tomaron muestras de 2 g que fueron sometidas a extracción por reflujo utilizando 30 ml del solvente EtOH:H₂O 0:100, %v/v; 35:65, %v/v; 70:30, %v/v en relación 1:15 (p/v). La extracción se realizó por 1 h a 40 °C y agitación continua. El extracto se filtró en caliente utilizando papel filtro Whatman No. 2 y se almacenó en frascos ámbar antes de preparar los diferentes extractos de acuerdo con el diseño experimental.

Determinación de fenoles y flavonoides totales.

El contenido de los compuestos fenólicos totales en los extractos fue establecido de acuerdo con el proceso colorimétrico Folin-Ciocalteu descrito originalmente por Singleton y Rossi (1965). Para este método se tomaron inicialmente 50 µl de extracto diluido 1:10 (v/v) a los cuales se le agregaron 30 µl del reactivo Folin-Ciocalteu y 50 µl de la solución de carbonato de sodio 12.5% (p/v) más 870 µl de buffer fosfato-citrato. Después de 60 min de reacción de la mezcla en oscuridad, se procedió a la lectura de las absorbancias a 760 nm en espectrofotómetro UV-Vis Helios-Z. Los resultados fueron expresados en equivalentes de ácido gálico, de acuerdo con una curva de calibración previamente calculada. El contenido de los flavonoides totales fue determinado de acuerdo con la metodología de reacción colorimétrica descrita por Cornard y Merlin (2001). Para ello se mezclaron 80 µl del extracto con 80 µl del reactivo clorato de aluminio 2% (p/v) y luego llevados a volumen de 1000 µl con metanol, posteriormente la mezcla se dejó reaccionar durante 20 min. La lectura de las absorbancias para flavonoides totales correspondió a 382 nm, determinada por barrido con espectrofotómetro UV-Vis Helios-Z. Los resultados obtenidos fueron expresados en equivalentes de Vitexina, de acuerdo con una curva de calibración previamente elaborada.

Ensayo del poder reductor férrico (FRAP).

El poder férrico reductor/antioxidante (FRAP) se evaluó según el método previamente descrito por Benzie y Strain (1996). Inicialmente se preparó el reactivo FRAP, buffer acetato a 300 mM pH 3.6, adicionando TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-trizina-ferroso) a 10 mM

disueltos en una solución de HCL de 40 mM, y la solución $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a una concentración 20 mM. La solución de trabajo fue preparada con la mezcla de 100 ml del buffer acetato, 10 ml de la solución TPTZ, 10 ml de la solución $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ y 12 ml agua destilada. Para la formación de la reacción colorimétrica se tomaron 900 μl del FRAP junto a 50 μl del extracto de *P. ligularis* más 50 μl de agua destilada. Después de 4 min de reacción de la mezcla, se tomaron las lecturas de las absorbancias a una longitud de onda de 592 nm con espectrofotómetro UV-Vis Helios-Z. Los resultados fueron expresados en equivalentes Trolox (mg equivalentes Trolox/g materia seca) de acuerdo con una curva de calibración.

Ensayo de inhibición del radical libre 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

La eficiencia antirradical fue evaluada usando el radical libre 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl de acuerdo con la metodología propuesta por Brand-Williams *et al.* (1995) modificada. La preparación de la reacción consistió en agregar 60 μl de extracto de *P. ligularis* a 940 μl de la solución 0.1 mM de 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) en metanol; la mezcla fue llevada a oscuridad durante 10 min a temperatura ambiente. La reducción del radical DPPH fue determinada por las absorbancias a una longitud de onda de 517 nm con espectrofotómetro UV-Vis Helios-Z. Los resultados fueron presentados como equivalentes Trolox (μM equivalentes Trolox/g materia seca).

Ensayo *in vitro* de actividad antibacterial

La actividad antimicrobiana en los extractos de *P. ligularis* se determinó utilizando el método de difusión en disco Bauer (1966). Para el efecto se tomaron 10 ml de agar Muller Hinton en caja Petri y posterior a la solidificación del medio se inoculó con 100 μl de suspensión microbiana de *E. coli* (Gram-negativa) con 1.04×10^8 U.F.C/ml y *S. aureus* (Gram-positiva) de 1.295×10^8 U.F.C/ml. En la superficie del medio inoculado fueron dispuestos discos de papel filtro Whatman N. 3 de 5 mm de diámetro previamente impregnados con 15 μl del extracto a distintas concentraciones (1000,

2000, 3000, 4000, 5000 ppm). Los platos Petri fueron llevados a incubación durante 24 h a una temperatura de 37 °C. Se utilizaron controles correspondientes a los solventes hidroalcohólicos y acuoso (70% v/v y 0% v/v, respectivamente). La relación de la inhibición microbiana de los extractos frente a la de los controles fue determinada según el modelo propuesto por Ramírez y Díaz (2007).

Análisis estadístico

Para la obtención de los diferentes extractos se realizó un diseño factorial 3_2 estableciendo como factores el solvente EtOH:H₂O 0:100 (%v/v), 35:65 (%v/v) 70:30 (%v/v) y el material vegetal (hojas, flores, y la mezcla hojas + flores), con lo cual se definieron nueve tratamientos que se aplicaron por triplicado. Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de multivarianza (ANOVA) empleando el software estadístico Statgraphics centurión XV USA. Las diferencias significativas entre las medias fueron estimadas por DMS a un nivel de significancia de 95%.

Resultados y discusión

Los resultados de la aplicación de los solventes en las diferentes partes del fruto evaluadas aparecen en el Cuadro 1. El análisis de varianza (Cuadro 2) mostró que los factores evaluados tuvieron un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre las variables de respuesta y la interacción solvente x material.

Fenoles totales en extractos de hojas y flores

Los extractos acuosos e hidroalcohólicos presentaron compuestos fenólicos. Se encontró que los extractos a 70% de etanol elaborados a partir de hojas alcanzaron la mayor concentración (14.32 mg Eq Ac. Gal/g materia seca) ($P < 0.05$) con respecto a los demás. Estos extractos revelaron un mayor contenido de compuestos fenólicos, en comparación con los obtenidos a partir de flores ($P < 0.05$). El factor tipo de solvente presentó un efecto significativo ($P < 0.05$) sobre la cantidad final de fenoles extraídos, lo que coincide con los resultados de Jakopic *et al.* (2009). Carvajal de Pabón *et al.* (2011) encontraron para extractos metanólicos de *P. ligularis* contenidos de compuestos fenólicos de 7997.79 mg/100 g de

Cuadro 1. Tratamientos y respuestas generadas para la actividad antioxidante y compuestos activos en extractos de *Passiflora ligularis*.

Trat. (no.)	Solvente	Parte de planta	Fenoles total (mg Eq Ac Gal/g b.s)	Flavonoides total (mg Eq Vitexina/g b.s)	FRAP (TEAC μ M Eq Trolox/g b.s)	DPPH
T1	35	hojas	11.67g \pm 0.40*	8.38f \pm 0.59	55.91d \pm 3.83	9.20c \pm 0.64
T2	35	hojas/ flores	7.65e \pm 0.52	5.71d \pm 0.91	31.23c \pm 4.96	7.88ab \pm 0.49
T3	0	flores	3.97ab \pm 0.96	1.37a \pm 0.23	9.67a \pm 0.57	7.00a \pm 1.08
T4	70	flores	4.81bc \pm 0.22	4.21c \pm 0.54	20.40b \pm 0.65	12.82d \pm 0.49
T5	70	hojas	14.32h \pm 1.23	10.47g \pm 0.41	78.16e \pm 11.46	11.94d \pm 0.27
T6	0	hojas/ flores	5.42cd \pm 0.60	2.39b \pm 0.29	16.91ab \pm 2.73	7.29ab \pm 0.18
T7	35	flores	3.62a \pm 0.15	3.01b \pm 0.48	10.99a \pm 0.29	7.22ab \pm 1.06
T8	0	hojas	6.05d \pm 0.72	2.90b \pm 0.79	30.10c \pm 3.48	8.20bc \pm 0.33
T9	70	hojas/ flores	8.76f \pm 0.04	6.81e \pm 0.44	49.79d \pm 2.32	12.10d \pm 0.12

* Valores con letras diferentes en la misma columna para cada factor indican diferencias significativas (P < 0.05), según la prueba DMS.

Cuadro 2. Anova para el efecto del solvente y tipo de material vegetal en la actividad antioxidante y compuestos activos en extractos de *Passiflora ligularis*.

	Factor	SC.	Gl.	CM.	Valor F	Prob > F	
Fenoles	Modelo	104.42	5	20.88	36.89	0.0019	Sig.
	A-Solvente	25.83	1	25.83	45.63	0.0025	Sig.
	B-Material vegetal	64.29	2	32.14	56.78	0.0012	Sig.
	C- A x B	14.29	2	7.15	12.62	0.0187	Sig.
Flavonoid	Modelo	74.39	6	12.40	40.06	0.0059	Sig.
	A-Solvente	36.65	1	36.65	118.44	0.0017	Sig.
	B-Material vegetal	28.87	2	14.43	46.64	0.0055	Sig.
	C- A x B	5.80	2	2.90	9.37	0.0413	Sig.
FRAP	Modelo	4280.01	5	856.00	131.47	0.0002	Sig.
	A-Solvente	1400.56	1	1400.56	215.10	0.0001	Sig.
	B-Material vegetal	2527.02	2	1263.51	194.05	0.0001	Sig.
	C-A x B	352.43	2	176.22	27.06	0.0047	Sig.
DPPH	Modelo	44.66	6	7.44	20.20	0.0160	Sig.
	A-Solvente	34.42	1	34.42	93.40	0.0024	Sig.
	B-Material vegetal	1.09	2	0.55	1.48	0.0071	Sig.
	C-A x B	1.08	2	0.54	1.47	0.3593	

extracto seco, mientras que Marroquín (2011) halló valores de 3.193 mg de ácido gálico/g de extracto seco, al emplear diclorometano como solvente en extractos de hojas de granadilla.

Flavonoides totales en extractos en hojas

La mayor concentración de flavonoides totales (10.47 mg Eq Vitexina/g materia seca) se encontró en los extractos con hojas utilizando etanol a 70%. Los tipos de solvente y de material vegetal presentaron un efecto significativo (P < 0.05) sobre la extracción de flavonoides totales. Mendonca Freitas *et al.*

(2007) revelaron una concentración de 14.9 mg Eq Vitexina/g materia seca en extractos metanólicos de hojas de *P. edullis*, el cual fue superior al hallado en el presente estudio. Fuentes Fiallo *et al.* (2001) encontraron flavonoides totales en *P. incarnata*, y Muller *et al.* (2005) el flavonoide Vitexina en extractos de *P. alata*.

Aunque no se sabe el efecto de las prácticas culturales y los factores suelo y clima en la actividad antioxidante de los materiales biológicos, sí se conocen los efectos de la disponibilidad de agua, la fertilización, la

temperatura y la luz, y la época de cosecha, entre otros, en los niveles de compuestos bioactivos (Moore, 2003)

Poder reductor férrico (FRAP)

Los resultados del FRAP mostraron que los extractos acuosos de hojas de *P. ligularis* presentaron actividad antioxidante con un valor de 30.10 μM Eq Trolox/g material seca (Cuadro 1), un valor significativamente mayor ($P < 0.05$) que el hallado en los extractos hidroalcohólicos y acuosos de flores. Los mayores valores (78.16 μM Eq Trolox/g material seca) fueron observados en los extractos de hojas con etanol a 70%. Carvajal de Pabón *et al.* (2011) encontraron valores antioxidantes de 38824.2 mg ac ascórbico/100 g de extracto seco en hojas de *P. ligularis*, mientras que Sai-ut *et al.* (2010) en semillas de *P. edullis*, utilizando una relación material:solvente de 1:15, mostraron el efecto del tipo de solvente ($P < 0.05$) sobre la extracción de los compuestos antioxidantes, de forma similar a lo encontrado en el presente estudio donde el material herbal tuvo un efecto significativo sobre el proceso de extracción. Es necesario señalar la capacidad del ensayo FRAP para cuantificar contenidos antioxidantes de carácter hidrofílico, lo que permitió establecer que las hojas de *P. ligularis* contienen mayores niveles de este tipo de compuestos, a diferencia de las flores donde los contenidos fueron bajos. Apak *et al.* (2007) señalan que la actividad

antioxidante está fuertemente ligada a los compuestos fenólicos totales, tal como se ve en el presente estudio (FRAP, $r^2 = 0.96$, $P < 0.05$) (Figura 1).

Captura del radical libre 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

Los resultados mostraron que los extractos de *P. ligularis* tienen actividad antioxidante. Los extractos acuosos elaborados a partir de hojas mostraron una actividad antioxidante mayor ($P < 0.05$) que los extractos acuosos de flores. Este ensayo también permitió determinar que los extractos hidroalcohólicos a 70% elaborados a partir de flores y hojas, poseen las mayores actividades antioxidantes, con valores máximos de 12.82 y 11.94 μM Eq Trolox/g materia seca, respectivamente. Estos valores también fueron mayores ($P < 0.05$) que los hallados con los extractos acuosos, los cuales presentaron contenidos máximos de 8.20 μM Eq Trolox/g materia seca. Carvajal de Pabón *et al.* (2011) cuantificaron para extractos metanólicos de hojas de *P. ligularis* valores de 233.097 μM Eq Trolox/100 g de extracto seco. En otras especies de *Passifloras* también se ha observado actividad antioxidante, así, Masteikova *et al.* (2008) encontraron dicha actividad en extractos acuosos de *P. incarnata* y Bendini *et al.* (2006) hallaron hasta de 50 μM Eq Trolox/g material fresco en extractos metanólicos de hojas de *P. nítida*.

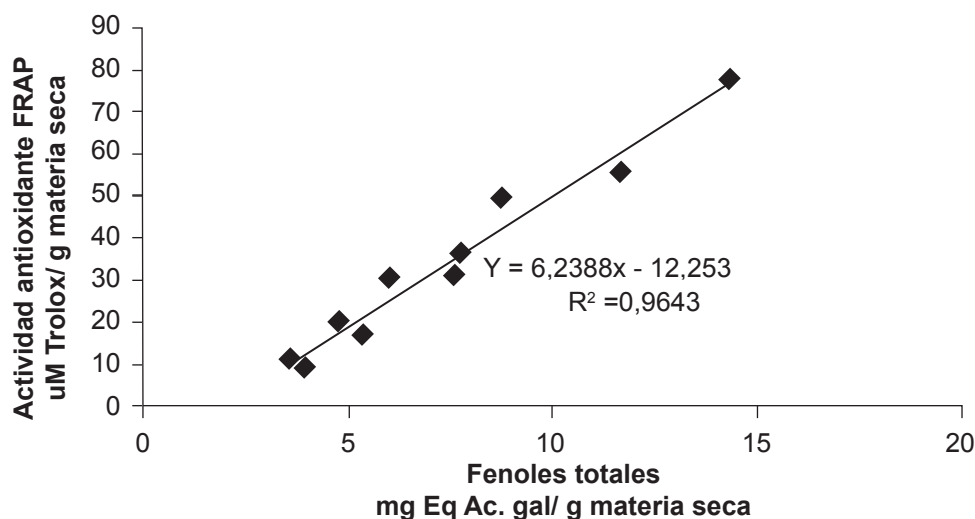


Figura 1. Relación Fenoles totales y actividad antioxidante FRAP en extractos de *Passiflora ligularis*

Actividad antimicrobiana de los extractos

Los resultados mostraron que los extractos de *P. ligularis* tienen capacidad para inhibir el crecimiento de cepas Gram negativa y Gram positiva. Las medias de inhibición de los extractos de ambas bacterias en estudio fueron diferentes ($P < 0.05$), siendo más alta la susceptibilidad en *E. coli*. En la Figura 2 se observa que existe efecto ($P < 0.05$) del tipo de solvente en la inhibición del crecimiento mi-

crobiano de *E. coli*; así, los extractos acuosos poseen mayor poder de inhibición microbiana que los hidroalcohólicos. El extracto acuoso de hojas con una concentración de 3000 ppm inhibió 72.8% de la bacteria, siendo este el máximo porcentaje alcanzado. En *S. aureus* (Gram positiva) se observó una mayor resistencia a los extractos de *P. ligularis* (Figura 3). En este caso, el solvente y el material vegetal influyen ($P < 0.05$) sobre el crecimiento de esta

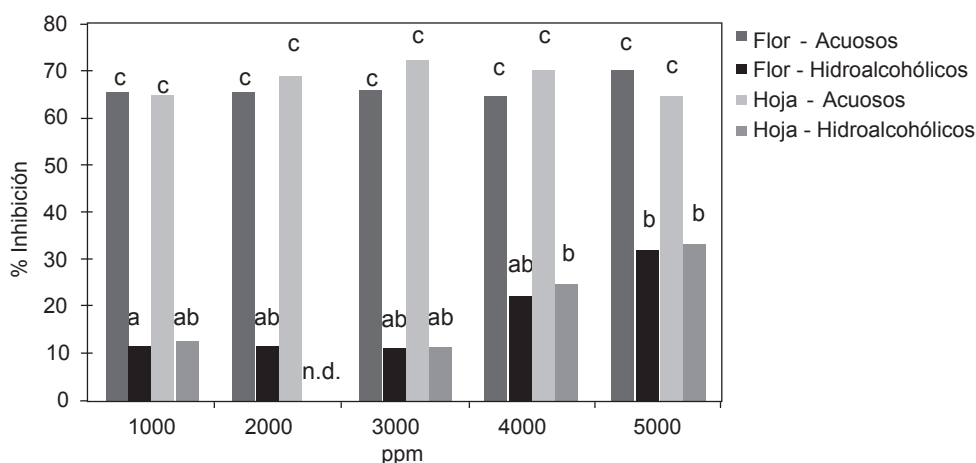


Figura 2. Porcentaje de inhibición de los extractos de partes de planta de *Passiflora ligularis* sobre el crecimiento de *E. coli*. Valores con letras diferentes en la misma columna para cada factor indican diferencias significativas ($P < 0.05$), según la prueba DMS.

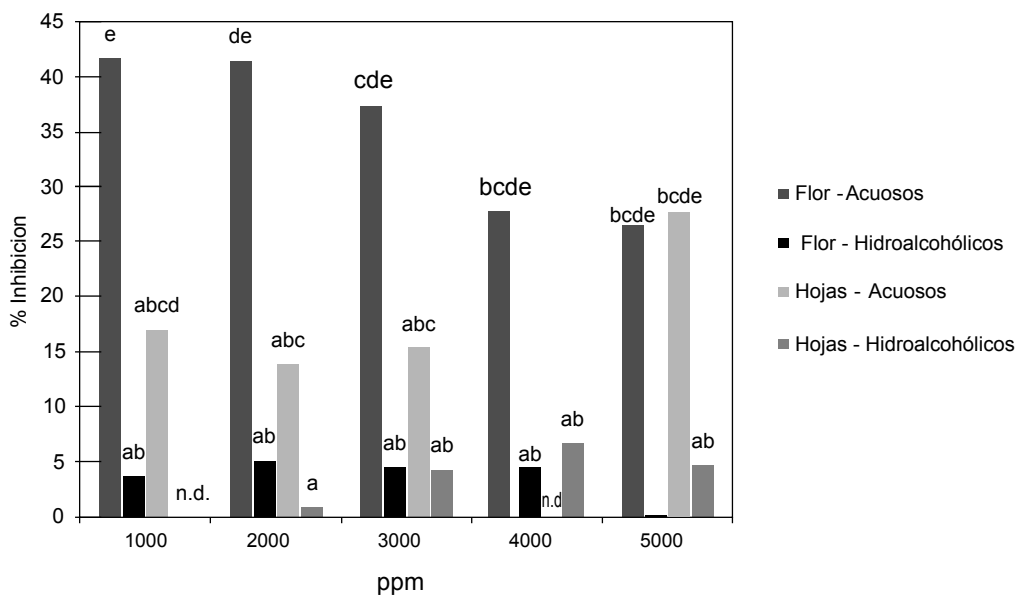


Figura 3. Determinación del porcentaje de inhibición de los extractos de *Passiflora ligularis* sobre el crecimiento de *S. aureus*. Valores con letras diferentes en la misma columna para cada factor indican diferencias significativas ($P < 0.05$), según la prueba DMS.

bacteria, encontrando que el solvente acuoso y las flores poseen mayor efecto inhibitorio que las hojas y la solución hidroalcohólica EtOH (70%), con una reducción máxima de 41.75% en el crecimiento de la bacteria, a concentraciones de 1000 ppm.

Kannan *et al.* (2011) mostraron que los compuestos puros aislados de extractos de *P. ligularis*, fueron significativamente efectivos contra bacterias Gram positiva y Gram negativa. Kannan *et al.* (2010) encontraron efectividad contra la bacteria Gram negativa *E. coli* y un menor efecto en la inhibición del crecimiento de la bacteria *S. aureus* al emplear extractos de *P. mollisima*. Tavares (2000) considera que la posible causa de este efecto en el crecimiento de *E. coli* son las alteraciones en la membrana celular en contacto con extracto de *Passiflora*, debidas al efecto de las saponinas que se encuentran en esta especie sobre la doble capa de lípidos presente en la membrana de las bacterias Gram negativas. Otros estudios también han confirmado la capacidad inhibitoria de los extractos de *Passiflora* sobre distintos microorganismos patógenos, Bendini *et al* (2006) mostraron la presencia de actividad antimicrobiana en extractos metanólicos de hojas de *P. nitida* y *P. foetida* sobre la cepa *E. coli*. Alam Ripa *et al.* (2009) encontraron que los extractos clorofórmicos de hojas y tallos de *P. edulis* tienen efecto antimicrobiano sobre *S. aureus* y *E. coli*, resultados similares hallaron Kannan *et al.* (2010) en extractos metanólicos de *P. mollisima*.

Conclusiones

- Los extractos de hojas de la especie *P. ligularis* presentaron mayor concentración de flavonoides y fenoles totales con el uso de solvente hidroalcohólico. En este caso, las concentraciones fueron mayores que en los extractos acuosos de flores. Los resultados mostraron que los extractos de *P. ligularis* tienen actividad antioxidante captadora del radical libre (DPPH) y poder reductor férrico (FRAP), lo que indica que en las hojas existen más compuestos antioxidantes que en las flores. También se observó que la actividad antioxidante en los extractos hidroalcohólicos fue supe-

rior a la observada en los acuosos, por el contrario, estos últimos mostraron mayor capacidad antimicrobiana ya que inhiben las bacterias *E. Coli* (ATCC 25922) y *S. aureus* (ATCC 25922).

- *S. aureus* fue la bacteria más resistente ante el efecto inhibitorio del extracto, no obstante con las flores se logró una mayor reducción de esta cepa, en comparación con las hojas.

Agradecimientos

Al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR) de Colombia por el financiamiento del proyecto del cual deriva este trabajo de investigación. A J. D. Segura por su asistencia técnica dentro de las instalaciones de Corpoica, en el Centro de Investigación Nataima.

Referencias

- Alam Ripa, F.; Haque, M.; Nahar, L.; e Islam, M. 2009. Antibacterial, Citotoxic and Antioxidant Activity of *Passiflora Edulis* Sims. *Europ. J. Sci. Res.* 31 (4):592 - 598.
- Apak, R.; Guclu, K.; Demirata, B.; Ozyurec, M.; Celic, S. E.; y Bektasoglu, B. 2007. Comparative evaluation of variuos of total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRA assay. *Molecules* 12:1496 - 1547.
- Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J.; y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility by standardized single disk method. *J. Clin. Pathol.* 45:493 - 496.
- Bendini, A.; Cerratini, L.; Pizzolante, L.; Gallina, T.; Guzzo, F.; Ceoldo, S., *et al.* 2006. Phenol conten related to antioxidant and antimicrobial activities of *Passiflora* spp. extracts. *Europ. Food Res. Technol.* 223:102 - 109.
- Benzie, I. F. y Strain, J. J. 1996. Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The TRAP assay. *Anal Biochem.* 239:70 - 76.
- Bisignano, G.; Tomaino, R.; Lo Cascio, G.; Crisafi, G.; Uccella, N.; y Saija, A. 1999. On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J. Pharmacol.* (31):971 - 974.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.; y Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft Und Technologie* 28:25 - 30.
- Carrero; D. A. 2013. Fluctuaciones poblacionales del insecto *Dasiops inedulis* Diptera: Lonchaeidae) en cultivos de granadilla en Boyaca, Colombia. Tesis de Maestria. Universidad Nacional de Colombia

- sede Medellín. Medellín, Antioquia, Colombia, 73 p.
- Carvajal de Pabón, L. M.; Turbay, S.; Rojano, B.; Alvarez, L. M.; Restrepo, S. L.; Alvarez, J. M., et al. 2011. Algunas especies de *Passiflora* y su capacidad antioxidante. *Rev. Cubana Plantas Medicinales* 16 (4):354 - 363.
- Cornard, J. P. y Merlin, J. C. 2001. Structural and spectroscopic investigation of 5-hydroxyflavone and its complex with aluminium. *J. Mol. Structure* 569:129 - 138.
- Dhawan, K.; Dhawan, S.; y Sharma, S. 2004. *Passiflora*: a review update. *J. Ethnoph.* 94 (1):1 - 23.
- Fuentes Fiallo, V.; Mendez, G.; Lemes Hernandez, C. M.; Rodriguez Ferrada, C. A.; Soler, B. A.; Gonzalez, R., y otros. 2001. Dinamica de acumulación mensual y diaria de alcaloides y flavonoides en *Passiflora incarnata* L. *Rev. Cubana Plantas Med.* (3), 105-111.
- Jakopic, J.; Veberic, R.; y Stampar, F. 2009. Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvents. *Acta Agric. Slovenica* 93(1):11 - 15.
- Kannan, S.; Parimala Devi, B.; & Jayakar, B. 2010. *In vitro* antibacterial activity of variuos extracts on the leaves of *Passiflora mollissima*. *J. Chem. Pharmac. Res.* 5 (2):225 - 228.
- Kannan, S.; Parimala Devi, B.; y Jayakar, B. 2011. Antibacterial activity of *Passiflora ligularis*. *Intern. J. Chem. Sci.* 9 (1):393 - 396.
- Li, H.; Zhou, P.; Yang, Q.; Shen, Y.; Deng, J.; Li, L.; y Zhao, D. 2011. Comparative studies on anxiolytic activities and flavonoid compositions of *Passiflora edullis flavicarpa*. *J. Ethnophar.* 133 (3):1085 - 1090.
- Marroquín, M. A. 2011. Comparación de la actividad antioxidante, detección y cuantificación de flavonoides y compuestos fenólicos en tres especies de la familia *Passifloraceae* *Passiflora edullis*, *Passiflora incarnata*, *Passiflora ligularis*. Tesis de pregrado. Universidad de San Carlos, Ciudad de Guatemala, Guatemala. 55 p.
- Masteikova, R.; Bernatoniene, J.; y Velziene, S. 2008. Antirradical activities of the extract of *Passiflora incarnata*. *Acta Poloniae Pharmaceutica* 65(5):577 - 583.
- Ministerio de Salud y Protección Social de la República de Colombia 2012-2020. 2012. Plan Nacional para el Control del Cancer en Colombia. Disponible en: http://www.consultorsalud.com/biblioteca/documentos/2012/Plan_Nacional_para_el_control_del_cancer_en_Colombia_2012_2020.pdf
- Mendonca Freitas, M. S.; Monnerat, P. H.; Curcino Vieira, I. J.; y Cordeiro de Carvalho, A. 2007. Flavonoides e composicao mineral de folhas de maracujazeiro amarelo em funcao da posicao da folha no ramo. *Ciencia Rural* 37006:1634 - 1639.
- Moore, J. P. 2003. Carotenoid synthesis and retention in mango fruit and puree as influenced by postharvest and processing treatments. Tesis de Maestria. University of Florida, Florida. Estados Unidos. 86 p.
- Muller, S. D.; Vasconcelos, S. B.; Coelho, M.; y Biavatti, M. 2005. LC and UV determination of flavonoids from *Passiflora alata* medicinal extracts and leaves. *J. Pharmac. Biom. Anal.* (37):309 - 403.
- Nassiri Asl, M.; Shariati Rad, S.; y Zamansoltani, F. 2007. *BMC Complement Altern. Med.* 8 - 7.
- Pallo, M. Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de granadilla *Passiflora ligularis* en ratones (*Mus musculus*). Tesis de pregrado. Escuela superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 104 p.
- Ramírez, L. S. y Díaz, B. H. 2007. Actividad antimicrobiana de extractos y fracciones del ruibarbo. *Sci. Techn.* 33:397 - 400.
- Sai-ut, S.; Jongjareonrak, A.; Chaiwut, P.; y Rawdkuen, S. 2010. Extraction optimization of antioxidant from passion fruit seeds using response surface methodology. *Food innovation Asia Conference 2010*. Bangkok. p. 481 - 489.
- Singleton, V. L., y Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstenic acid reagent. *Amer. J. Enol. Viticult.* 16:144 - 158.
- Tavares, W. 2000. Bacteria gram positivas problemas: resistencia do estafilococo, do enterococo e de pneumococo aos antimicrobianos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 33:3.
- Vasic, S. M.; Stefanovic, O. D.; Licina, B. Z.; Radojevic, I. D.; y Comic, L. R. 2012. Biological activities of extracts from cultivated granadilla *Passiflora alata*. *Exp. Clinical Sci. Int. Online J. Adv. Sci.* 11:208 - 218.
- Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstenic acid reagent. *Amer. J. Enol. Viticult.* 16:144 - 158.