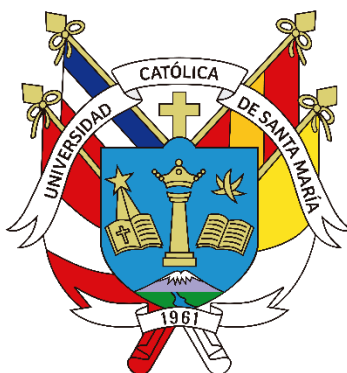


**Universidad Católica de Santa María**  
**Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y**  
**Biotechnológicas**  
**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**



**Biosíntesis de nanopartículas de oro utilizando extracto de semillas de  
papaya arequipeña para su aplicación como antibacteriano frente a  
*Escherichia coli* ATCC 25922**

Tesis presentada por las Bachilleres:

**Cuba Cutiri, Erica**

**ORCID: 0009-0006-9853-0510**

**Lema Cazorla, Rosa Luz**

**ORCID: 0009-0001-5633-2616**

para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Asesor:

**PhD. Villanueva Salas, José Antonio**

**ORCID: 0000-0001-6050-0101**

**Arequipa - Perú**

**2026**

UCSM-ERP

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**

**FARMACIA Y BIOQUIMICA**

**TITULACIÓN CON TESIS**

**DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR**

Arequipa, 26 de Noviembre del 2025

Dictamen: 011086-C-EPPyB-2025

Visto el borrador del expediente 011086, presentado por:

2020898362 - LEMA CAZORLA ROSA LUZ

2020898032 - CUBA CUTIRI ERICA

Titulado:

**BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ORO UTILIZANDO EXTRACTO DE SEMILLAS DE PAPAYA  
AREQUIPEÑA PARA SU APLICACIÓN COMO ANTIBACTERIANO FRENTE A ESCHERICHIA COLI  
ATCC 25922**

Nuestro dictamen es:

**APROBADO**

Titulo Profesional/Titulo de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

**QUÍMICO FARMACÉUTICO**

29440909 - MOLINA RODRIGUEZ FREDY NICOLAS  
DICTAMINADOR



42212200 - DE LA FUENTE TORRES MOCITA HESET LOURDES  
DICTAMINADOR



41225109 - VERA LOPEZ KARIN JANNET  
DICTAMINADOR



# Biosíntesis de nanopartículas de oro utilizando extracto de semillas de papaya arequipeña para su aplicación como antibacteriano frente a Escherichia coli ATCC 25922

## INFORME DE ORIGINALIDAD

16%	9%	9%	12%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	10%
2	Elsa Uribe, Antonio Vega-Gálvez, Alexis Pasten, Carolina Cantuarias et al. " Effect of High- and Low-Temperature Drying Methods on Fatty Acid Profile and Antimicrobial and Anti-Inflammatory Traits of Papaya ( ) ", ACS Food Science & Technology, 2022 Publicación	1%
3	bolsa-trabajo.upads.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	revuesciences-techniquesburkina.org Fuente de Internet	1%
5	Abhinav Sati, Suraj N. Mali, Nehal Samdani, Sivakumar Annadurai, Rhuta Dongre, Nikil Satpute, Tanvi N. Ranade, Amit P. Pratap. "From Past to Present: Gold Nanoparticles (AuNPs) in Daily Life—Synthesis Mechanisms, Influencing Factors, Characterization, Toxicity, and Emerging Applications in Biomedicine, Nanoelectronics, and Materials Science", ACS Omega, 2025 Publicación	1%

## DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi familia, mi mayor bendición, en especial, a la memoria de mi madre, **Flora María**, quien en vida me brindó su apoyo incondicional durante toda mi formación profesional. Su ejemplo de fortaleza, sacrificio y abnegación por sus hijos sigue siendo mi guía y mi impulso diario. Aunque ya no esté físicamente conmigo, su amor y enseñanzas permanecen en cada uno de mis logros.

A mis hermanos **José Alfredo, Alipio Johan** y a mi hermana **Gladys Elizabeth**, por su ayuda en los momentos en que más los necesité. Y con todo mi amor, a mi hijo **Mark**, quien ha sido mi motivación constante, la razón de mi esfuerzo y la inspiración para alcanzar mis ideales.

Autora: Erica Cuba Cutiri.

Dedico esta tesis a mi familia, mi mayor bendición, fuente de inspiración y apoyo, quienes han sacrificado tanto para que yo pueda alcanzar mis metas. A mi esposo **Roy**, por ser mi compañero de vida por su amor y apoyo incondicional. A mis hijos **Roy, Zayd** y **Zoe**, por ser mi motivación, fuente de alegría y mi inspiración constante. A mi querida madre, por sus palabras de aliento a seguir siempre adelante. Los amo, gracias por ser mi familia y por creer en mí.

Autora: Rosa Luz Lema Cazorla.

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseamos expresar nuestra más profunda gratitud a Dios, fuente de sabiduría, fortaleza y perseverancia, por habernos guiado en cada etapa de este proceso académico y personal. Sin su guía, esta investigación no habría sido posible.

Extendemos un agradecimiento sincero al PhD. José Antonio Villanueva Salas, por su valiosa orientación, compromiso y constante disposición durante el desarrollo de esta tesis. Su experiencia académica y científica fue fundamental para la consolidación de este trabajo.

Asimismo, agradecemos a los docentes que participaron e hicieron posible el desarrollo de esta investigación, brindando conocimientos, sugerencias y apoyo en cada fase del proyecto. En particular, expresamos nuestro reconocimiento al personal del Laboratorio de Investigación Proyecto Mercurio de la Universidad Católica de Santa María, por facilitar los materiales, equipos e infraestructura necesarios, así como por su colaboración durante la ejecución de los ensayos experimentales.

A todas las personas que contribuyeron, de forma directa o indirecta, con este estudio, les extendemos nuestro más sincero agradecimiento.

## RESUMEN

Las nanopartículas de oro (AuNPs) han demostrado efectividad frente a bacterias patógenas para el ser humano, por lo que, diferentes procesos de síntesis de estos nanomateriales se están desarrollando en los últimos años, dentro de estos procesos de síntesis, están las síntesis ecológicas que muestran un enfoque amigables con el medio ambiente, para esto se emplean extractos de diferentes órganos de plantas y algunos microorganismos, sin embargo, los procesos de biosíntesis de nanomateriales utilizando residuos de semillas de *Vasconcellea pubescens* (papaya arequipeña) no han sido estudiadas aún. En este contexto, en la presente investigación se tuvo por objetivo biosintetizar por primera vez AuNPs empleando como agente reductor al extracto de semillas de *Vasconcellea pubescens* para luego evaluar su actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922. Para esto, los procesos de biosíntesis fueron desarrollados con extractos acuosos y etanólicos de semillas de *Vasconcellea pubescens* obtenidas por reflujo y ultrasonido, posteriormente se caracterizaron las AuNPs utilizando espectrofotometría UV/vis, microscopía de transmisión de electrones (TEM) y espectroscopía FTIR, luego, se determinó la concentración de fenoles totales y capacidad antioxidante en el extracto que presente propiedades reductoras para la biosíntesis de AuNPs, asimismo, se caracterizó el extracto por espectroscopía FTIR, finalmente, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) de las AuNPs frente a *Escherichia coli* ATCC 25922. Los resultados demostraron que el extracto acuoso obtenido por reflujo presentó propiedades reductoras logrando biosintetizar AuNPs evidenciándose por la formación de un pico de absorbancia máxima a los 548 nm característico de la resonancia del plasmón de la superficie de las AuNPs en el análisis por espectrofotometría UV/vis, asimismo, el análisis por TEM mostró que las AuNPs biosintetizadas poseen un tamaño de  $8.98 \pm 2.19$  nm, y mediante el análisis por espectroscopía FTIR se identificaron grupos C-O, C=O, C-H y C-C procedentes de los compuestos presentes en el extracto acuoso. El extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens* presenta una concentración de fenoles totales de  $1707.66 \pm 23.34$  mg EAG/L con una capacidad antioxidante de  $1333.17 \pm 38.31$   $\mu$ mol ET/L, y en el análisis FTIR se encontraron grupos funcionales O-H, C-H, C=C y C-O característicos de compuestos fenólicos extraídos de semillas de *Vasconcellea pubescens*. Finalmente, las AuNPs biosintetizadas demostraron poseer efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC obteniendo una CMI y CMB de 0.938 y 1.875 mg/mL, respectivamente. En

conclusión, las semillas de *Vasconcellea pubescens* poseen compuestos reductores que pueden ser extraídos con agua para biosintetizar nanomateriales, lo que podría dar inicio a una línea de investigación en la generación de diversos materiales antibacterianos frente a diferentes cepas de interés en salud pública.

**Palabras clave:** *Escherichia coli*, nanopartículas de oro, *Vasconcellea pubescens*.



## ABSTRACT

Gold nanoparticles (AuNPs) have demonstrated effectiveness against pathogenic bacteria in humans; therefore, different processes for synthesizing these nanomaterials have been developed in recent years. Within these synthesis processes is the ecological synthesis, which shows an environmentally friendly approach. For this, extracts from different plant organs and some microorganisms are used. Within these synthesis processes, there are ecological syntheses that demonstrate an environmentally friendly approach, utilizing extracts from different plant organs and certain microorganisms. However, the biosynthesis processes of nanomaterials using *Vasconcellea pubescens* (papaya arequipeña) seed residues have not been studied yet. In this context, this research aimed to biosynthesize AuNPs for the first time using *Vasconcellea pubescens* seed extract as a reducing agent and then evaluate its antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922. For this, the biosynthesis processes were developed with aqueous and ethanolic extracts of *Vasconcellea pubescens* seeds obtained by reflux and ultrasound, this AuNPs were characterized using UV/vis spectrophotometry, transmission electron microscopy (TEM) and FTIR spectroscopy, then, the concentration of total phenols and antioxidant capacity in the extract with reducing properties for the biosynthesis of AuNPs were determined, and the extract was characterized by FTIR spectroscopy. Finally, the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the AuNPs against *Escherichia coli* ATCC 25922 were determined. The results showed that the aqueous extract obtained by refluxing presented reductive properties achieving biosynthesized AuNPs evidenced by the formation of a maximum absorbance peak at 548 nm characteristic of the surface plasmon resonance of AuNPs in the analysis by UV/vis spectrophotometry, also, the TEM analysis showed that the biosynthesized AuNPs have a size of  $8.98 \pm 2.19$  nm, and by FTIR spectroscopy analysis, C-O, C=O, C-H and C-C groups from the compounds present in the aqueous extract were identified. The aqueous extract of *Vasconcellea pubescens* seeds presents a concentration of total phenols of  $1707.66 \pm 23.34$  mg EAG/L with an antioxidant capacity of  $1333.17 \pm 38.31$   $\mu$ mol ET/L. In the FTIR analysis, O-H, C-H, C=C, and C-O functional groups characteristic of phenolic compounds extracted from *Vasconcellea pubescens* seeds were found. Finally, the biosynthesized AuNPs demonstrated antibacterial effect against *Escherichia coli* ATCC, obtaining MIC and BMC of 0.938 and 1.875 mg/mL, respectively. In conclusion, the seeds of *Vasconcellea pubescens* possess reducing

compounds that can be extracted with water to biosynthesize nanomaterials, which could initiate a line of research in the generation of various antibacterial materials against different strains of interest in public health.

**Keywords:** *Escherichia coli*, gold nanoparticles, *Vasconcellea pubescens*.



## ÍNDICE

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTOS**

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

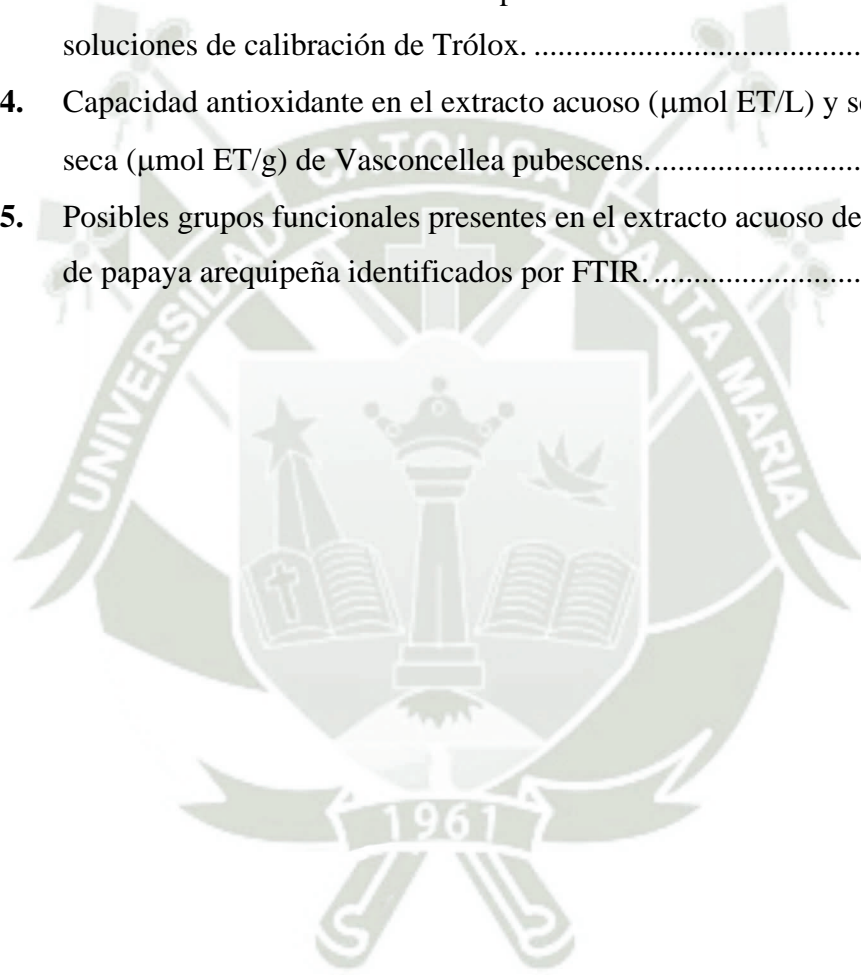
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
Objetivo general.....	3
Objetivos específicos.....	3
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>4</b>
<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>5</b>
1. MARCO TEÓRICO .....	6
1.1. Papaya Arequipeña .....	6
1.1.1. Descripción.....	6
1.1.2. Composición.....	7
1.1.3. Propiedades medicinales.....	8
1.2. Técnicas de extracción.....	8
1.2.1. Soxhlet.....	8
1.2.2. Ultrasonido.....	8
1.2.3. Percolación.....	8
1.2.4. Maceración.....	9
1.2.5. Reflujo.....	9
1.3. Compuestos fenólicos.....	9
1.3.1. Generalidades.....	9
1.3.2. Método de Folin-Ciocalteu.....	10
1.4. Antioxidantes.....	11
1.4.2. Ensayo DPPH.....	11
1.5. Nanotecnología.....	11
1.5.1. Generalidades.....	11
1.5.2. Nanopartículas.....	12
1.5.3. Biosíntesis de nanopartículas de oro.....	12

1.5.4. Características de las nanopartículas de oro .....	12
1.5.5. Aplicaciones .....	13
1.6. <i>Escherichia coli</i> . .....	13
1.7. Efecto antibacteriano. ....	13
1.7.1. Concentración mínima inhibitoria. ....	13
1.7.2. Concentración mínima bactericida. ....	13
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>14</b>
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
2.1. Ubicación del estudio.....	15
2.2. Materiales.....	15
2.2.1. Material biológico.....	15
2.2.2. Equipos e instrumentos.....	15
2.2.3. Material de laboratorio. ....	15
2.2.4. Reactivos .....	16
2.3. Métodos .....	16
2.3.1. Recolección y procesamiento de semillas .....	16
2.3.2. Obtención de extractos .....	17
2.3.3. Determinación de fenoles totales.....	17
2.3.4. Determinación de la capacidad antioxidante. ....	18
2.3.5. Caracterización del extracto acuoso. ....	18
2.3.6. Biosíntesis de nanopartículas de oro. ....	18
2.3.7. Caracterización de nanopartículas.....	19
2.3.8. Determinación de la actividad antibacteriana.....	20
2.3.8.1. Cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922. ....	20
2.3.8.2. Preparación del inóculo bacteriano.....	20
2.3.8.3. Concentración mínima inhibitoria.....	20
2.3.8.4. Concentración mínima bactericida. ....	21
2.3.9. Análisis estadístico. ....	21
<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>22</b>
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	23

3.1. Síntesis de nanopartículas de oro y caracterización por espectrofotometría UV/vis.....	23
3.2. Caracterización de nanopartículas de oro por FTIR .....	24
3.3. Caracterización de nanopartículas de oro por microscopía de transmisión de electrones. ....	25
3.4. Fenoles totales en semillas de <i>Vasconcellea pubescens</i> . ....	26
EAG: equivalente a ácido gálico.....	28
3.5. Capacidad antioxidante.....	29
3.6. Análisis FTIR del extracto acuoso.....	31
3.7. Efecto antibacteriano. ....	32
3.7.1. Concentración Mínima Inhibitoria. ....	32
3.7.2. Concentración Mínima Bactericida.....	33
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>35</b>
<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>36</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>37</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Absorbancias promedio para la elaboración del gráfico de calibración para la determinación de fenoles totales usando ácido gálico como estándar.....	27
<b>Tabla 2.</b>	Concentración de fenoles totales en el extracto acuoso (mg EAG/L) y semilla seca (mg EAG/g) de <i>Vasconcellea pubescens</i> . ....	28
<b>Tabla 3.</b>	Absorbancias a 517 nm de DPPH posteriores a la reacción con soluciones de calibración de Trólox. ....	29
<b>Tabla 4.</b>	Capacidad antioxidante en el extracto acuoso ( $\mu\text{mol ET/L}$ ) y semilla seca ( $\mu\text{mol ET/g}$ ) de <i>Vasconcellea pubescens</i> .....	31
<b>Tabla 5.</b>	Posibles grupos funcionales presentes en el extracto acuoso de semillas de papaya arequipeña identificados por FTIR. ....	32



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fruto de <i>Vasconcellea pubescens</i> (papaya arequipeña).....	6
<b>Figura 2.</b> Semilla de <i>Vasconcellea pubescens</i> (papaya arequipeña).....	7
<b>Figura 3.</b> Núcleos de estructuras de compuestos fenólicos.....	10
<b>Figura 4.</b> Proceso de preparación de extractos de semillas de <i>Vasconcellea pubescens</i> .....	17
<b>Figura 5.</b> Proceso de síntesis de nanopartículas de oro utilizando extracto de semillas de <i>Vasconcellea pubescens</i> .....	19
<b>Figura 6.</b> Ensayo para la determinación de la CMI en placas de 96 pozos.....	21
<b>Figura 7.</b> Barridos espectrofotométricos de los procesos de síntesis de AuNPs utilizando diferentes extractos de <i>Vasconcellea pubescens</i> .....	23
<b>Figura 8.</b> Barridos espectrofotométricos de las AuNPs (línea morada), del extracto acuoso obtenido por reflujo (línea marrón) y solución de ácido tetracloroáurico (línea amarilla). ....	24
<b>Figura 9.</b> Espectro FTIR de las AuNPs biosintetizadas con extracto acuoso de semillas de <i>Vasconcellea pubescens</i> .....	25
<b>Figura 10.</b> a) y b) Análisis por Microscopía de Transmisión de Electrones, y c) histograma de distribución de tamaños de partícula de las AuNPs biosintetizadas.....	26
<b>Figura 11.</b> Gráfico de calibración para la cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. ....	27
<b>Figura 12.</b> Gráfico de calibración para la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH. ....	30
<b>Figura 13.</b> Espectro FTIR del extracto acuoso de semillas de <i>Vasconcellea pubescens</i> .....	31
<b>Figura 14.</b> Ensayo para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de las AuNPs biosintetizadas frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	33
<b>Figura 15.</b> Placas para la determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) de las AuNPs biosintetizadas frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922. ....	33

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b>	Determinación del tamaño de partícula en el software Image J .....	51
<b>Anexo 2.</b>	Semillas de papaya arequipeña.....	51
<b>Anexo 3.</b>	Pulverización de semillas de papaya arequipeña en molino de cuchillas....	52
<b>Anexo 4.</b>	Semillas de papaya arequipeña pulverizadas.....	52
<b>Anexo 5.</b>	Peso de semillas de papaya arequipeña para la preparación de extractos. ..	53
<b>Anexo 6.</b>	Semillas de papaya arequipeña en el balón. ....	54
<b>Anexo 7.</b>	Adición de 100 mL de agua destilada.....	54
<b>Anexo 8.</b>	Sistema de extracción por reflujo. ....	55
<b>Anexo 9.</b>	Filtración del extracto.....	56
<b>Anexo 10.</b>	Extracto acuoso de semillas de papaya arequipeña. ....	56
<b>Anexo 11.</b>	Solución de ácido tetracloroáurico. ....	57
<b>Anexo 12.</b>	Solución de ácido tetracloroáurico con citrato trisódico. ....	57
<b>Anexo 13.</b>	Adición de 1 mL de extracto acuoso. ....	58
<b>Anexo 14.</b>	Nanopartículas de oro biosintetizadas .....	58
<b>Anexo 15.</b>	Secado de suspensiones de AuNPs.....	59
<b>Anexo 16.</b>	AuNPs en polvo.....	59
<b>Anexo 17.</b>	Autoclave.....	60
<b>Anexo 18.</b>	Placas con agar Mueller Hinton con sembrado de colonia de Escherichia coli. ....	61
<b>Anexo 19.</b>	Preparación del inóculo. ....	62
<b>Anexo 20.</b>	Placas de 96 pozos para la determinación de la concentración mínima inhibitoria. ....	62
<b>Anexo 21.</b>	Certificado de análisis de Escherichia coli ATCC 25922. ....	63
<b>Anexo 22.</b>	Constancia de determinación de análisis de semillas de papaya arequipeña.....	65
<b>Anexo 23.</b>	Diámetros de nanopartículas de oro calculadas en el software Image J.....	66

## LISTADO DE ABREVIATURAS

- ATCC:** American Type Culture Collection.
- AuNPs:** Nanopartículas de oro.
- FTIR:** Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier.
- ATR:** Reflectancia Total Atenuada.
- TEM:** Microscopía de Transmisión de Electrones.
- CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria.
- CMB:** Concentración Mínima Bactericida.
- ET/L:** Equivalentes a Trólox por litro.
- EAG/L:** Equivalentes a ácido gálico por litro.
- OMS:** Organización Mundial de la Salud.
- DPPH:** 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo.



## INTRODUCCIÓN

Actualmente existen reportes científicos de la aparición de patógenos multirresistentes que son responsables de diferentes infecciones (1) en la piel y en los tejidos blandos (2). Estas bacterias, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), han puesto en alerta a la comunidad internacional para el desarrollo de agentes antibacterianos como alternativa a los antibacterianos de uso común (3).

Dentro de las bacterias que producen infecciones y han desarrollado resistencia a antibacterianos está *Escherichia coli*, una bacteria gramnegativa asociada a infecciones intestinales, del tracto urinario, meningitis, septicemia, infecciones de la piel y de los tejidos blandos, y colisepticemia (4,5). Estos microorganismos pueden transmitirse por contacto con superficies o líquidos contaminados con esta bacteria (6), pudiendo producir infecciones y generar complicaciones (7) cuando la bacteria es resistente a los tratamientos con antibióticos (8). Estas infecciones son comunes, ya que, pese a la limpieza de las superficies, se ha reportado que *Escherichia coli* podría desarrollar incluso resistencia a antisépticos como la povidona yodada al 10 % (9).

Frente a este problema latente, la nanotecnología ofrece importantes avances en la terapia antibacteriana, siendo las nanopartículas de oro (AuNPs) uno de los nanomateriales más estudiados, que suelen tener un tamaño de entre 1 y 100 nm (10). Las AuNPs han sido utilizadas en distintas ciencias naturales por sus propiedades físicas y químicas únicas (11); asimismo, pueden presentar formas distintas como nanoesferas, nanoestrellas, nanocajas, nanoflores y otras estructuras con tamaños fijos (12). Las AuNPs se pueden fabricar a gran escala, reduciendo la oxidación del oro  $Au^{+1}$  o  $Au^{+3}$  a  $Au^0$  mediante su unión a un agente reductor, a través de diversos métodos físicos, químicos y biológicos en diferentes condiciones (13). Se pueden sintetizar AuNPs de distintos tamaños y formas controlando los parámetros de crecimiento, como el pH y la temperatura (14).

Las AuNPs funcionalizadas con propiedades geométricas y ópticas controladas son objeto de estudios intensivos y aplicaciones biomédicas que incluyen genómica, biosensorial, inmunoensayos, química clínica, fototerapia con láser para células cancerosas y tumores, administración dirigida de fármacos, ADN y antígenos, bioimagen óptica y el seguimiento de células y tejidos mediante sistemas de detección de última generación (15,16). Los procesos de síntesis de nanopartículas de oro por métodos químicos son cuestionados por su toxicidad; por ello, las investigaciones actuales buscan alternativas

más ecológicas para la síntesis de nanomateriales, aprovechando los compuestos fenólicos con capacidad antioxidante o reductora (17–19). El uso de reductores naturales hace que los procesos de biosíntesis de nanopartículas sean factibles en la mayoría de los casos, ya que diversos estudios han demostrado que estas AuNPs presentan propiedades antibacterianas, anticancerígenas, antioxidantes, antidiabéticas, antiinflamatorias y antivirales (12). Por este motivo, en la presente investigación se biosintetizaron AuNPs utilizando por primera vez como reductor el extracto acuoso de semillas de papaya arequipeña, un subproducto que normalmente es descartado sin ser aprovechado (20), y dichas AuNPs fueron aplicadas como agentes antibacterianos frente a una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.



## OBJETIVOS

### Objetivo general.

Biosintetizar nanopartículas de oro utilizando extracto de semillas de papaya arequipeña para su aplicación como antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

### Objetivos específicos.

1. Biosintetizar nanopartículas de oro utilizando el extracto de semillas de *Vasconcellea pubescens* (papaya arequipeña).
2. Cuantificar la concentración de compuestos fenólicos totales en el extracto de semillas de *Vasconcellea pubescens* (papaya arequipeña) utilizado para la biosíntesis de nanopartículas de oro.
3. Determinar la capacidad antioxidante del extracto de semilla de *Vasconcellea pubescens* (papaya arequipeña) utilizado para la biosíntesis de nanopartículas de oro.
4. Caracterizar el extracto de semilla de *Vasconcellea pubescens* (papaya arequipeña) utilizado para la biosíntesis de nanopartículas de oro por espectroscopía del infrarrojo.
5. Determinar la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de las nanopartículas de oro biosintetizadas frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

## HIPÓTESIS

Dado que las semillas de diversas especies vegetales poseen capacidad antioxidante o reductora, la cual puede ser aprovechada en la síntesis de nanomateriales, es probable biosintetizar nanopartículas de oro utilizando extracto de semillas de *Vasconcellea pubescens* (papaya arequipeña) para su posterior aplicación como antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.





## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. Papaya Arequipeña

#### 1.1.1. Descripción

La papaya arequipeña (Figura 1) pertenece a la especie *Vasconcellea pubescens*, su clasificación taxonómica se presenta a continuación (21):

La clasificación taxonómica de papaya arequipeña se presenta a continuación (Anexo 22):

- **Reino:** Plantae
- **Subreino:** Viridiplantae
- **Filo:** Tracheophyta
- **Clase:** Spermatopsida
- **Subclase:** Magnoliidae
- **Superorden:** Rosanae
- **Orden:** Brassicales
- **Familia:** Caricaceae
- **Género:** *Vasconcellea*
- **Especie:** *Vasconcellea pubescens*



**Figura 1.** Fruto de *Vasconcellea pubescens* (papaya arequipeña).

\*Fresco Orgánico. Tomado de Papayuela (22).

*Vasconcellea pubescens* crece en climas fríos y el fruto se caracteriza por poseer un color verde-amarillo con un aroma característico, siendo su parte comestible del 46 % y el contenido de azúcar de 5 % (23). Presenta un importante contenido de papaína (24), que está presente principalmente en su látex, lo que hace de este fruto una fuente valiosa para aplicaciones industriales (25).

Las semillas de papaya arequipeña poseen una forma irregular como se muestra en la Figura 2.



**Figura 2.** Semilla de *Vasconcellea pubescens* (papaya arequipeña).

\*A piece of nature. Tomado de Mountain Papaya (*Carica pubescens*) (26).

### 1.1.2. Composición.

El fruto de *Vasconcellea pubescens* posee en su composición flavonoles y carotenoides (27). Presenta una concentración de fenólicos totales de 129.1 mg EAG/100 g con una capacidad antioxidante por DPPH de 20.6 mmol ET/g y se logró identificar rutina y ácido p-cumárico (28).

Las semillas mostraron una importante concentración de aceite con presencia de ácidos oleico ( $\omega$ -9) y linoleico ( $\omega$ -6) (29). Estas semillas están presentes en desechos de *Vasconcellea pubescens* donde se encontraron flavan-3-oles, proantocianidinas, flavonoles glicosilados, carbohidratos y alcaloides (20).

### 1.1.3. Propiedades medicinales.

Diversos estudios atribuyen a *Vasconcellea pubescens* propiedades medicinales como efecto antipirético en ratas *Wistar* (30). Asimismo, los extractos de esta especie han demostrado poseer actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* y *Bacillus cereus*, y esta actividad se correlacionó con la capacidad antioxidante de los extractos de *Vasconcellea pubescens* (31). También, se reportó que el extracto del fruto posee efecto hepatoprotector (32).

## 1.2. Técnicas de extracción

### 1.2.1. Soxhlet.

La técnica de extracción por Soxhlet es un tipo de extracción líquida que utiliza disolventes a temperatura de ebullición para extraer selectivamente compuestos específicos, ya que puede lograr la mayor recuperación de compuestos de interés (33). La principal ventaja de esta técnica es la sencillez de su proceso y el bajo costo de extracción, sin embargo, su principal desventaja es el tiempo prolongado de extracción y la cantidad de disolvente empleado en el proceso de extracción (34).

### 1.2.2. Ultrasonido.

La extracción asistida por ultrasonido se fundamenta en los fenómenos de cavitación producidos por la aplicación de ultrasonido, este proceso logra altas presiones localizadas generando macro turbulencias producidas por la implosión de burbujas de cavitación lo que conlleva a la desintegración celular y posterior liberación de compuestos de interés del material vegetal (35).

### 1.2.3. Percolación.

La técnica de extracción por percolación es un proceso de extracción de compuestos fitoquímicos que se caracteriza por ser exhaustivo, donde los compuestos solubles en el solvente son recuperados por goteo, asimismo, este proceso puede ser complementado con una re-percolación para incrementar la recuperación de compuestos fitoquímicos (36).

#### 1.2.4. Maceración.

La técnica de extracción por maceración se fundamenta en la separación de los compuestos bioactivos de materiales vegetales empleando disolventes por tiempos prolongados, donde el tiempo de contacto y el tipo de solvente influyen en el rendimiento de extracción de compuestos fitoquímicos que se desean recuperar (37).

#### 1.2.5. Reflujo.

La técnica de extracción por reflujo se caracteriza por ser una extracción sólido-líquido a temperatura constante de ebullición y condensación, en repetidos ciclos y durante un tiempo determinado, donde la pérdida de solvente es mínima. Esto hace de este método una alternativa eficiente para extraer compuestos fitoquímicos que no sean termosensibles (38). Esta técnica se caracteriza por incrementar la tasa de extracción y reducir el uso de solventes (39).

### 1.3. Compuestos fenólicos.

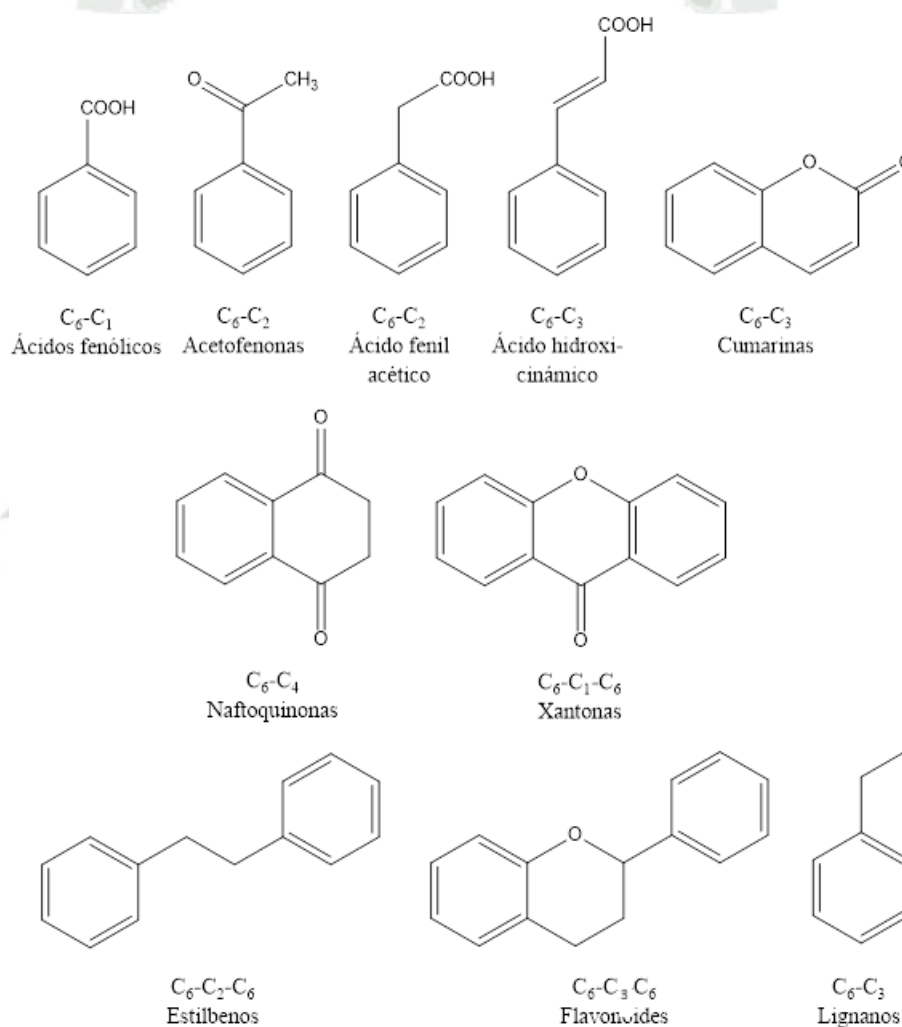
#### 1.3.1. Generalidades.

Los compuestos fenólicos, ampliamente presentes en especies vegetales, pertenecen a los metabolitos secundarios con propiedades biológicas de interés para el tratamiento de enfermedades transmisibles, enfermedades degenerativas y cáncer (40). Los compuestos fenólicos derivan de las vías de las pentosas fosfato, el shikimato y los fenilpropanoides (41); asimismo, también pueden sintetizarse por la vía de los policétidos, obteniéndose algunos fenólicos como orcinoles y quinonas (42).

Los compuestos fenólicos presentan estructuras de diferentes núcleos (43) cómo se observa en la Figura 3. El núcleo  $C_6$  característico de fenoles simples (benzoquinonas), el núcleo  $C_6-C_1$  característico de los ácidos fenólicos, el núcleo  $C_6-C_2$  de acetofenonas y ácidos fenilacéticos, el núcleo  $C_6-C_3$  de ácidos hidroxicinámicos, cumarinas, cromonas y fenilpropanos, el núcleo  $C_6-C_4$  de naftoquinonas, el núcleo  $C_6-C_1-C_6$  de xantonas, el núcleo  $C_6-C_2-C_6$  de estilbenos y antraquinonas, el núcleo  $C_6-C_3-C_6$  de flavonoides, isoflavonoides y neoflavonoides, el núcleo  $C_6-C_3$  de lignanos, neolignanos, oxineolignanos, el núcleo  $(C_6-C_3)_n$  de ligninas, el núcleo  $(C_6)_n$  característico de florotaninos, catecol melaninas y el núcleo  $(C_6-C_3-C_6)_n$  de taninos condensados (44).

### 1.3.2. Método de Folin-Ciocalteu.

El método Folin-Ciocalteu emplea el reactivo de Folin para oxidar compuestos fenólicos donde la reducción del reactivo de Folin da como resultado un color azul que se mide a 765 nm donde la intensidad de la coloración es directamente proporcional a la concentración de compuestos fenólicos en medio básico que comúnmente se controla con la adición de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (45) sin embargo, uno de sus limitantes es que también pueden reaccionar algunos azúcares reductores (46).



**Figura 3.** Núcleos de estructuras de compuestos fenólicos.

\* Tomado de Crozier *et al.* (43)

## **1.4. Antioxidantes.**

### **1.4.1. Generalidades.**

Los antioxidantes son compuestos o sustancias orgánicas que pueden interaccionar con radicales libres (47), siendo esto favorable para reducir el estrés oxidativo (48), lo que repercute en la prevención de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo, como las cardiovasculares y neurodegenerativas (47). Los compuestos antioxidantes pueden ser polifenoles, flavonoides y polisacáridos (49,50). Actualmente, están disponibles diferentes métodos para determinar la capacidad antioxidante como la prueba de Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno (ORAC), la prueba de Capacidad Antioxidante de Radicales Hidroxilo (HORAC), la prueba del Parámetro Antioxidante de Atrapamiento de Radicales Peroxilo Total (TRAP) y la prueba de Capacidad de Captura de Oxirradical Total (TOSC), por otro lado, están las pruebas basadas en la transferencia de un electrón incluyen la prueba de Poder Antioxidante Reductor Cúprico (CUPRAC), la prueba de Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP) y la prueba de Folin-Ciocalteu, finalmente, las pruebas mixtas, que incluyen la transferencia tanto de un átomo de hidrógeno como de un electrón, incluyen la prueba del ácido 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolona-6-sulfónico (ABTS) y la prueba del [2,2-di(4-terc-octilfenil)-1-picrilhidrazil] (DPPH) (51).

### **1.4.2. Ensayo DPPH.**

El ensayo de la reducción de radicales 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), conocido como ensayo DPPH, es utilizado para la determinación de la capacidad antioxidante en extractos de plantas y alimentos (52). Este ensayo se fundamenta en la transferencia de electrones o donación de átomos de hidrogeno presentes en compuestos reductores como los compuestos fenólicos produciendo la reducción del radical DPPH• lo que repercute en la reducción del color del DPPH (violeta) a amarillo (53).

## **1.5. Nanotecnología.**

### **1.5.1. Generalidades.**

La nanotecnología corresponde a una ciencia multidisciplinaria que emplea y combina conceptos de ingeniería química, ingeniería de materiales, la biotecnología y la tecnología de procesamiento industrial (54). Esta ciencia abarca el estudio de materiales que tengan

tamaños entre 1 y 100 nm (55). Actualmente, entre sus aplicaciones más importantes por sus propiedades físicas y químicas está su uso como antimicrobiano frente a microorganismos patógenos (56).

### **1.5.2. Nanopartículas.**

Las nanopartículas cuyo tamaño es menor que 100 nm se pueden clasificar en diferentes grupos como los fullerenos, nanopartículas metálicas, nanopartículas cerámicas y nanopartículas poliméricas (57). Según sus dimensiones, pueden ser nanoporos, nanotubos, puntos cuánticos, nanocapas, dendrímeros, liposomas, nanobarras, fullerenos, nanoesferas, nanocables, nanocintas, nanoanillos y nanocápsulas (58). Las nanopartículas de óxido metálico son las nanopartículas de óxido de hierro, ZnO, TiO<sub>2</sub>, CeO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub>, de plata, oro y puntos cuánticos (59). Estas se caracterizan por poseer formas geométricas como nanoesferas, nanocapas y nanobarras con distintas propiedades físicas, químicas, ópticas y electrónicas (60).

### **1.5.3. Biosíntesis de nanopartículas de oro.**

Dentro de los procesos de síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs) se distinguen los métodos físicos y químicos; sin embargo, en los últimos años se ha puesto mucho interés en los procesos de síntesis ecológica utilizando fuentes biológicas como plantas o microorganismos y se destaca por su simplicidad, rentabilidad, eficiencia energética y biocompatibilidad (61). El proceso de síntesis se fundamenta en la reducción de Au<sup>1+</sup> o Au<sup>3+</sup> a Au<sup>0</sup> empleando un agente reductor (13). Las AuNPs se pueden caracterizar empleando técnicas analíticas para conocer la morfología, grupos funcionales, estabilidad, composición elemental y cristalinidad (62).

### **1.5.4. Características de las nanopartículas de oro**

Las AuNPs presentan una gran área superficial, también se han encontrado que estas nanopartículas pueden poseer estructura rugosa lo que da ventajas en la funcionalización de estos nanomateriales, finalmente la superficie de la AuNPs puede estar anclada a polímeros, ligandos o biomoléculas que le confieren propiedades electrostáticas de atracción frente a bacterias lo que es importante para su empleo como agente antibacteriano (63).

### **1.5.5. Aplicaciones**

Las AuNPs son ampliamente utilizadas debido a su biocompatibilidad para infecciones bacterianas, así como células cancerosas, mediante calentamiento fototérmico por irradiación de luz infrarroja cercana, asimismo, exhiben actividad antimicrobiana relacionada con fuertes atracciones electrostáticas hacia bicapas cargadas negativamente de las membranas celulares (64).

### **1.6. *Escherichia coli*.**

*Escherichia coli* es un bacilo Gram negativo de la familia enterobacteriaceae que presenta forma de bastoncillos cortos con flagelos lo que permite su movilidad, asimismo, son microorganismos anaerobios facultativos (65). Esta bacteria está relacionada con infecciones del tracto gastrointestinal, infecciones urinarias, septicemia, meningitis y bacteriemia (66). Se conocen cuatro categorías de *Escherichia coli*, las cuales son la enteropatógena, enterotoxigénica, enteroinvasiva y enterohemorrágica (67).

### **1.7. Efecto antibacteriano.**

#### **1.7.1. Concentración mínima inhibitoria.**

La forma más utilizada para la determinación del efecto antibacteriano es el desarrollo de ensayos de concentración inhibitoria mínima (CMI) (68). La CMI define los niveles in vitro de susceptibilidad o resistencia de cepas bacterianas específicas de un agente antibiótico y describe la concentración mínima de un agente antimicrobiano que logra inhibir el crecimiento de microorganismos (69).

#### **1.7.2. Concentración mínima bactericida.**

La concentración mínima bactericida (CMB) se realiza comúnmente en agar Mueller Hinton (70), el procedimiento consiste en volver a cultivar las concentraciones del agente antibacteriano menores y mayores de la CMI las cuales son cultivadas a temperatura favorable al crecimiento microbiano por 24 a 48 horas, siendo la CMB aquella concentración donde no se evidencia crecimiento de colonias de la bacteria en cuestión (71). Por esto, la CMB corresponde a la concentración mínima del agente antibacteriano capaz de eliminar el 99.9 % de bacterias (70).



## 2. MATERIALES Y MÉTODOS.

### 2.1. Ubicación del estudio.

La obtención de extractos y la síntesis de AuNPs se llevaron a cabo en el Laboratorio de Investigación del Grupo de Investigación en Biotecnología y Ciencia de los Alimentos (GIBYCA) de la Universidad Tecnológica del Perú. La determinación de fenoles totales, capacidad antioxidante y efecto antibacteriano se realizó en el laboratorio de Investigación Proyecto Mercurio (H-203) de la Universidad Católica de Santa María.

### 2.2. Materiales.

#### 2.2.1. Material biológico.

- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Semillas de *Vasconcellea pubescens* (papaya arequipeña).

#### 2.2.2. Equipos e instrumentos.

- Agitador magnético.
- Balanza analítica Sartorius.
- Cocina eléctrica.
- Equipo de reflujo.
- Espectrofotómetro Cary 60 Agilent Technologies.
- Espectrofotómetro Thermoscientific Genesys 150.
- Horno de secado Faith Full.
- Incubadora FaithFull.
- Vernier.
- Baño de ultrasonido.

#### 2.2.3. Material de laboratorio.

- Aza de colle.
- Aza de Digralsky.
- Cubetas de cuarzo 1 cm Thermo Scientific.
- Discos de sensibilidad Merck.
- Fiolas 10 mL.

- Micropipeta de 10-100  $\mu\text{L}$  y 100  $\mu\text{L}$ -1000  $\mu\text{L}$ .
- Papel filtro.
- Papel Kraft.
- Pastilla magnética.
- Pizetas.
- Placas de 96 pocillos.
- Placas Petri descartables.
- Tubos centrífuga de 15 mL

#### 2.2.4. Reactivos

- Acetato de sodio p.a. JT Baker.
- Ácido gálico Sigma Aldrich.
- Ácido sulfúrico concentrado Merck.
- Agar Mueller Hinton Merck.
- Agua destilada.
- Caldo peptonado Merck.
- Carbonato de sodio p.a. Merck.
- Cloruro de bario Merck.
- Etanol absoluto JT Baker.
- Hidróxido de sodio p.a. Merck.
- Nitrato de plata Merck.
- Reactivo de Folin-Ciocalteu 2 N Merck.
- Reactivo DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) Sigma Aldrich.
- Resasurina Sigma Aldrich.
- Trólox Sigma Aldrich.

### 2.3. Métodos

#### 2.3.1. Recolección y procesamiento de semillas

Las semillas de *Vasconcellea pubescens* fueron recolectadas de puestos de venta de jugos del mercado San Camilo de la ciudad de Arequipa. Las semillas fueron lavadas con abundante agua destilada y luego fueron secadas a 40 °C en un horno de secado. Posteriormente, se pulverizaron las semillas en un molino de cuchillas. El pulverizado

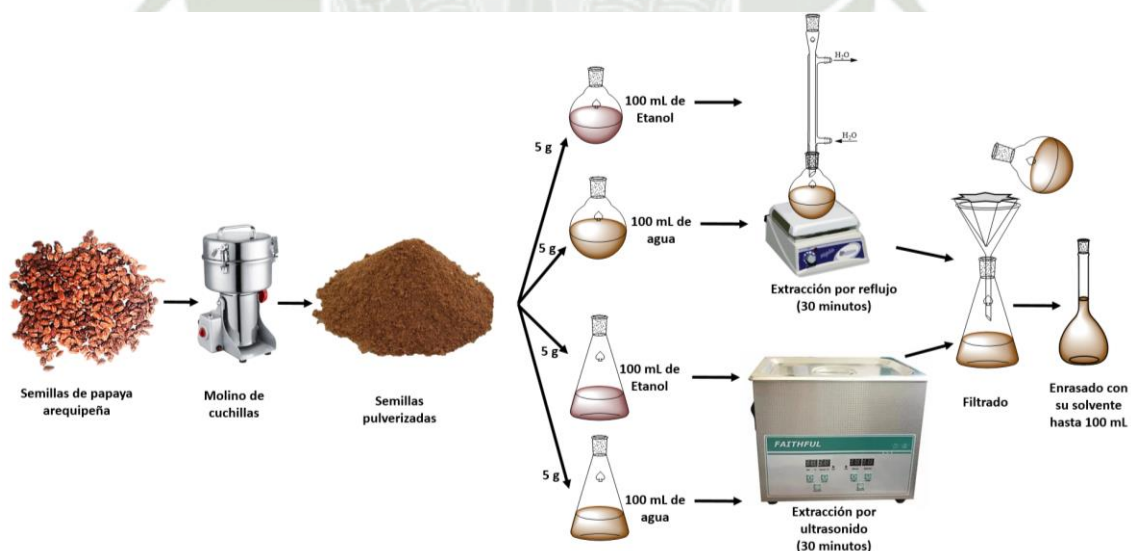
fue almacenado en frascos de borosilicato hasta su posterior uso. Las semillas fueron identificadas en un herbario acreditado de la ciudad de Arequipa (Anexo 22).

### 2.3.2. Obtención de extractos

Se prepararon extractos por reflujo y por ultrasonido utilizando como solventes agua y etanol (Figura 4). Las extracciones por reflujo se realizaron pesando 5 g de semillas pulverizadas en un balón de 250 mL donde se añadieron 100 mL de agua destilada y en otro balón se hizo lo mismo con la adición de 100 mL de etanol absoluto. Se conectaron los refrigerantes y se procedió con la extracción por reflujo durante 30 minutos después de iniciada la ebullición.

Los extractos obtenidos por ultrasonido se realizaron en matraces de 250 mL donde se agregaron 5 g de semillas pulverizadas con 100 mL de solventes (Etanol o agua). Posteriormente, se sometió a extracción por ultrasonido durante 30 minutos.

Finalizado los procesos de extracción, los extractos fluidos fueron filtrados y enrasados en fioles de 100 mL con sus respectivos solventes. Estos extractos fluidos fueron almacenados en frascos ámbar a refrigeración (4 a 8 °C) hasta su posterior uso.



**Figura 4.** Proceso de preparación de extractos de semillas de *Vasconcellea pubescens*.

### 2.3.3. Determinación de fenoles totales.

El análisis de los compuestos fenólicos se llevó a cabo mediante el método de Folin-Ciocalteu según el procedimiento desarrollado por Molole *et al.*(72). El procedimiento

consistió en preparar un gráfico de calibración utilizando soluciones de calibración de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L de ácido gálico a partir de una solución stock de 200 mg/L. Posteriormente, 0.5 mL de cada solución de ácido gálico fue llevada a fioles de 10 mL donde se agregaron 2.5 mL de reactivo de Folin 2 N, seguido de 2 mL de carbonato de sodio al 7.5 % y se enrasaron con agua destilada. Se dejaron reposar las soluciones durante 60 minutos en oscuridad y luego se leyeron las absorbancias en un espectrofotómetro a 765 nm. Los extractos fueron analizados por el mismo procedimiento utilizando 0.25 mL de extracto. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado.

#### **2.3.4. Determinación de la capacidad antioxidante.**

El análisis de la capacidad antioxidante se llevó a cabo mediante el ensayo de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) según el procedimiento desarrollado por Molole *et al.*(72). El procedimiento consistió en preparar soluciones de calibración de Trólox a concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100  $\mu\text{mol/L}$  en etanol a partir de una solución stock de 1000  $\mu\text{mol/L}$ . Posteriormente, 1 mL de cada solución de calibración fue llevada a fioles de 10 mL donde se agregaron 2 mL de solución de DPPH de 120 mM y se analizaron las absorbancias a 517 nm en un espectrofotómetro. Los extractos fueron analizados por el mismo método empleando, en vez de las soluciones de Trólox, 0.5 mL de extracto fluido.

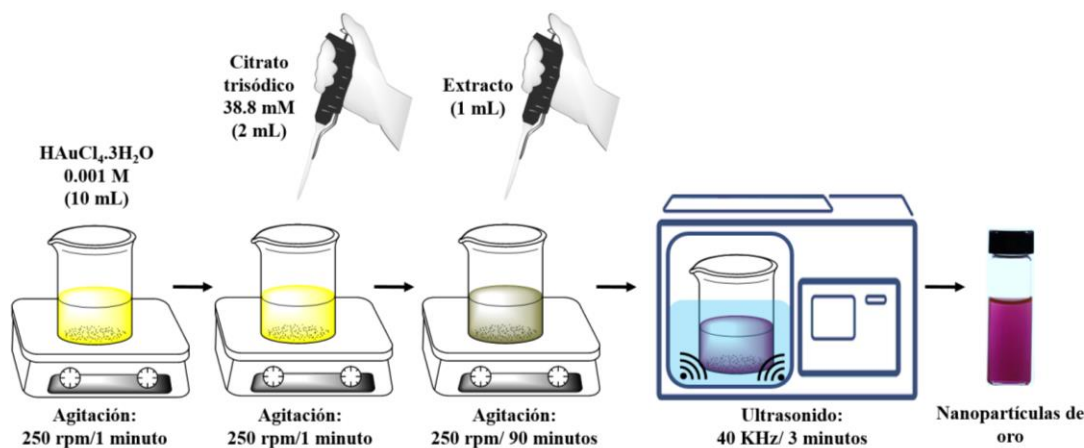
#### **2.3.5. Caracterización del extracto acuoso.**

50 mL de extracto acuoso fue sometido a baño María a 40 °C hasta obtener un extracto seco. El extracto seco fue analizado utilizando el Espectrómetro Infrarrojo Transformadas de Fourier (FTIR) con Reflectancia Total Atenuada (ATR) Agilent Cary 630 ATR-FTIR.

#### **2.3.6. Biosíntesis de nanopartículas de oro.**

La biosíntesis de las AuNPs fueron desarrolladas mediante el procedimiento de biosíntesis propuesto por Medina-Pérez *et al.*(73), cuyo procedimiento consistió en medir 10 mL de  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  0.001 M en un vaso de precipitados de 50 mL, después se agitó a 250 rpm durante 1 minuto, luego se añadió 2 mL de citrato trisódico 38.8 mM. Se continuó agitando durante 1 minuto más y se añadió 1 mL de extracto etanólico o acuoso de semillas *Vasconcellea pubescens* y se dejó agitando constantemente durante 90 minutos. Se aplicó un ultrasonido durante 3 minutos utilizando un sonificador de alta potencia (40 KHz) (Figura 5). Transcurrido ese tiempo, la suspensión de AuNPs se llevó

a moldes de silicona para luego evaporar el solvente a 40 °C en una estufa hasta obtener las AuNPs, posteriormente, se pulverizaron las AuNPs en un mortero de ágata. El polvo de AuNPs se utilizó para evaluar el efecto antibacteriano.



**Figura 5.** Proceso de síntesis de nanopartículas de oro utilizando extracto de semillas de *Vasconcellea pubescens*.

### 2.3.7. Caracterización de nanopartículas.

La caracterización de las nanopartículas de oro consistió en análisis de la Resonancia de Plasmones Superficiales mediante espectrofotometría UV/vis a longitudes de onda de 450 a 750 nm. También se realizó un análisis por Microscopía de Transmisión de Electrones (TEM) mediante un servicio de análisis en el área de Microscopía de la Universidad Nacional de San Agustín; el análisis de los tamaños se realizó mediante el software Image J (Anexo 1). Asimismo, se realizaron caracterizaciones por Espectroscopía del Infrarrojo (IR) llevando una cantidad adecuada de polvo de AuNPs al Espectrómetro Infrarrojo Transformadas de Fourier (FTIR) con Reflectancia Total Atenuada (ATR) Agilent Cary 630 ATR-FTIR.

El tamaño promedio de las nanopartículas se calculó a partir de una microfotografía obtenida por TEM. Para esto, se analizó una imagen de las nanopartículas en el software Image J (ANEXO 1), obteniéndose la tabla que se presenta en el Anexo 23. Posteriormente, se realizó el histograma en el software OriginPro 2025 para estimar el tamaño promedio  $\pm$  desviación estándar.

### **2.3.8. Determinación de la actividad antibacteriana.**

#### **2.3.8.1. Cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.**

Las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 fueron amablemente proporcionadas por el director del laboratorio de investigación de GIBYCA de la Universidad Tecnológica del Perú. Para su activación, se sembró una colonia en agar Mueller Hinton utilizando un hisopo con bacterias y se incubó durante 48 horas a 37 °C.

#### **2.3.8.2. Preparación del inóculo bacteriano.**

La preparación del inóculo bacteriano se realizó utilizando como referencia el tubo 0.5 de la escala de McFarland, la cual fue preparada haciendo reaccionar 0.05 mL de BaCl<sub>2</sub> 0.048 M y 9.95 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.36 M, formando un precipitado de BaSO<sub>4</sub> cuya turbidez corresponde a una absorbancia entre 0.08 y 0.1. La preparación del inóculo se realizó suspendiendo una cantidad adecuada de colonias bacterianas en 10 mL de solución salina utilizando un asa de Kolle, hasta alcanzar una turbidez comparable a la del tubo 0.5 de la escala de McFarland. Este inóculo se empleó en los ensayos de actividad antibacteriana y tiene una concentración de bacterias aproximadamente de  $1 \times 10^8$  células/mL (74).

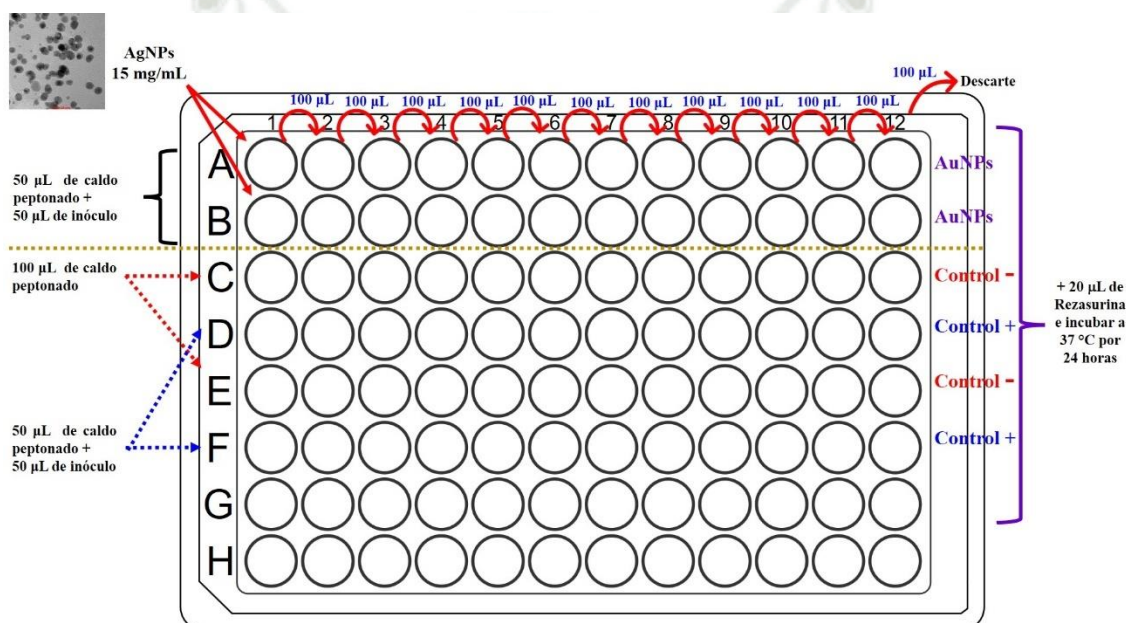
#### **2.3.8.3. Concentración mínima inhibitoria.**

Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) utilizando una placa de 96 pozos (74) (Figura 6) en las dos primeras filas se evaluó la CMI de las AuNPs, para esto se agregaron todos los pozos 50 µL de caldo peptonado y 50 µL del inóculo bacteriano, posteriormente a los primeros pozos 100 µL de una suspensión de AuNPs a 15 mg/mL, se mezcló y se tomaron de estos pozos 100 µL y se llevaron al segundo pozo donde se mezclaron y se tomaron 100 µL y se llevaron al tercer pozo y así sucesivamente hasta llegar al pozo 12, con esto las concentraciones finales de AuNPs en cada pozo es de 7.5, 3.75, 1.875, 0.938, 0.469, 0.234, 0.117, 0.059, 0.029, 0.015, 0.007 y 0.004 mg/mL. Posteriormente, se agregaron 20 µL de solución de resasurina 6.75 mg/mL y se dejó incubando por 24 horas a 37 °C. Pasado el tiempo, se procedió a observar, siendo los pozos de color rosado los que presentaron crecimiento bacteriano y los pozos violetas los que no presentaron crecimiento bacteriano.

Las filas 3 y 5 corresponden al control negativo donde se agregaron únicamente 100  $\mu\text{L}$  de caldo peptonado con 20  $\mu\text{L}$  de solución de resasurina 6.75 mg/mL y se dejó incubando por 24 horas a 37 °C.

Las filas 4 y 6 corresponden al control positivo donde se agregaron 50  $\mu\text{L}$  de caldo peptonado y 50  $\mu\text{L}$  del inóculo bacteriano seguido de 20  $\mu\text{L}$  de solución de resasurina 6.75 mg/mL y se dejó incubando por 24 horas a 37 °C.

La CMI corresponde a la menor concentración del pozo que no haya mostrado crecimiento bacteriano.



**Figura 6.** Ensayo para la determinación de la CMI en placas de 96 pozos.

#### 2.3.8.4. Concentración mínima bactericida.

De los pozos del ensayo de CMI se tomaron 50  $\mu\text{L}$  y se sembraron en placas de agar Mueller Hinton y se dejaron incubando por 24 horas a 37 °C (74). La CMB corresponde a la mínima concentración en la que no hay desarrollo de colonias en el agar.

#### 2.3.9. Análisis estadístico.

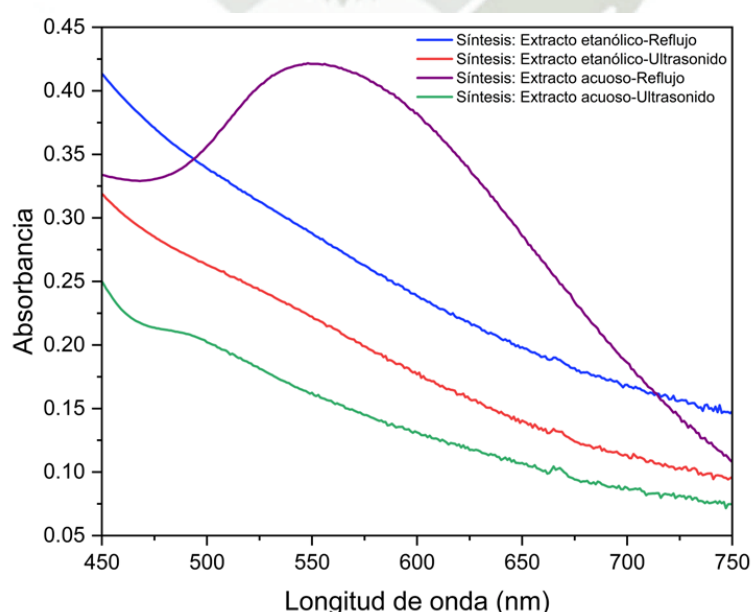
El análisis estadístico consistió en expresar la concentración de fenoles totales y capacidad antioxidante como promedio +/- desviación estándar que fueron calculados en Microsoft Excel.



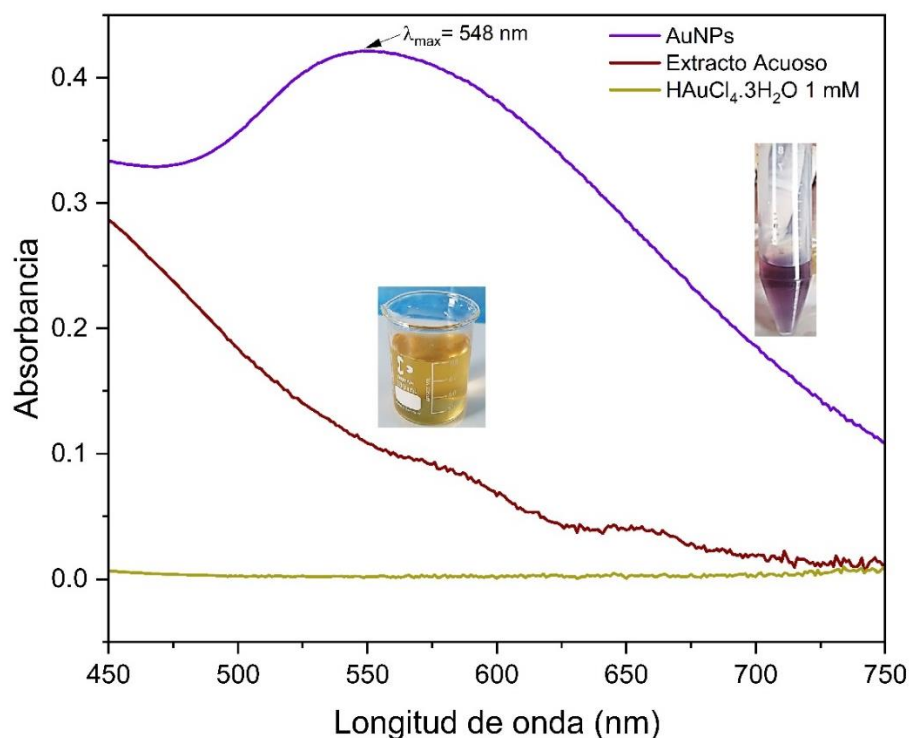
### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Síntesis de nanopartículas de oro y caracterización por espectrofotometría UV/vis.

Se realizaron diferentes procesos de síntesis de AuNPs utilizando extractos etanólicos y acuosos obtenidos por ultrasonido y reflujo. Se realizaron barridos espectrofotométricos de 450 a 750 nm y los resultados se muestran en la Figura 7. Se observa que los procesos de síntesis con extractos etanólicos obtenidos por reflujo y ultrasonido no lograron biosintetizar AuNPs al no observar la formación del pico de absorción a longitudes de onda cercana a 550 nm rango en el cual se da el fenómeno de resonancia del plasmón de la superficie en las AuNPs (75), el mismo resultado se obtuvo con el extracto de semillas obtenido por ultrasonido. Sin embargo, utilizando el extracto acuoso obtenido por reflujo en el proceso de síntesis, se observa un pico de absorbancia máxima a una longitud de onda cercana a 550 nm, lo que evidencia la formación de las AuNPs. Esto se confirma con los barridos espectrofotométricos de la Figura 8 donde se observa el barrido del precursor (ácido tetracloroáurico 1 mM) en línea de color amarilla donde no se observa picos de absorción, por otro lado, se observa el barrido del extracto acuoso de *Vasconcellea pubescens* obtenido por reflujo donde se observa que no presenta picos a 550 nm, finalmente, las AuNPs formadas con el color característico (púrpura) presenta una absorbancia máxima a 548 nm lo que confirma la formación de las AuNPs.



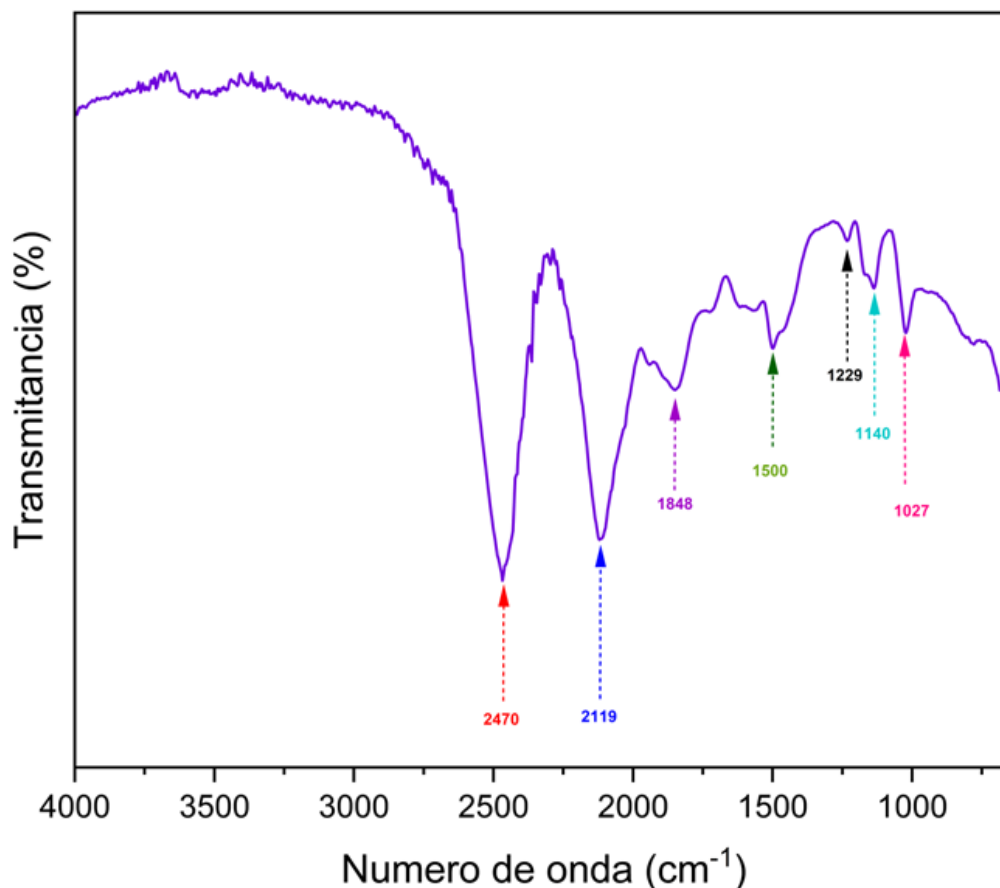
**Figura 7.** Barridos espectrofotométricos de los procesos de síntesis de AuNPs utilizando diferentes extractos de *Vasconcellea pubescens*.



**Figura 8.** Barridos espectrofotométricos de las AuNPs (línea morada), del extracto acuoso obtenido por reflujo (línea marrón) y solución de ácido tetracloroáurico (línea amarilla).

### 3.2. Caracterización de nanopartículas de oro por FTIR

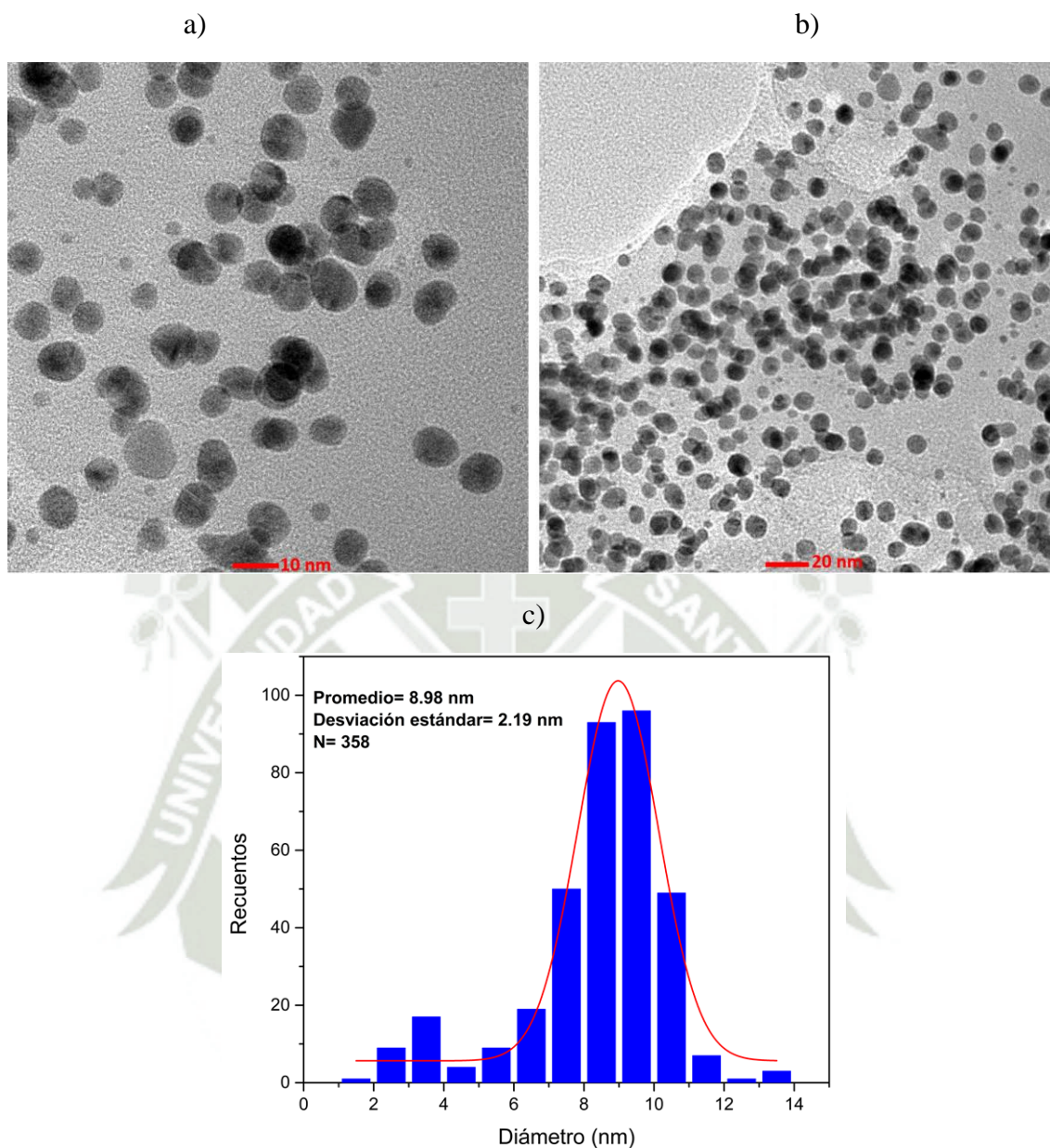
Se realizó la caracterización de las AuNPs biosintetizadas con el extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens* por espectroscopía FTIR. El espectro FTIR de las AuNPs se presenta en la Figura 9, donde se observa la presencia de un pico a  $2470\text{ cm}^{-1}$  que podría corresponder a vibraciones de estiramiento de grupos C-O (76). También se presentó un pico a  $2119\text{ cm}^{-1}$  que podría corresponder a vibraciones de estiramiento de C-O (77); asimismo, se observa un pico a  $1848\text{ cm}^{-1}$  que podría corresponder a vibraciones de estiramiento de C=O (78) de carbohidratos presentes en el extracto acuoso. Por otro lado, se observa un pico a  $1500\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a las vibraciones de estiramiento de C-H (79). Se presenta un pico pequeño a  $1229\text{ cm}^{-1}$  que puede corresponder a vibraciones de estiramiento de grupos C-C (80). También se presenta un pico a  $1140\text{ cm}^{-1}$  que correspondería a la vibración oscilatoria de C-C (81). Finalmente, se observa un pico a  $1027\text{ cm}^{-1}$  que podría corresponder a vibraciones de estiramiento de C-O de compuestos fenólicos (82).



**Figura 9.** Espectro FTIR de las AuNPs biosintetizadas con extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens*.

### 3.3. Caracterización de nanopartículas de oro por microscopía de transmisión de electrones.

Se realizó el análisis de las AuNPs por microscopía de transmisión de electrones. Los resultados se presentan en la Figura 10a y la Figura 10b, donde se observa a las AuNPs biosintetizadas con el extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens*. Se observa que las AuNPs tienen formas de esferas. En la Figura 10c se observa el histograma de los diámetros de las AuNPs donde el tamaño promedio es  $8.98 \pm 2.19$  nm. Se utilizaron diferentes plantas para la producción de AuNPs como el extracto de *Myrciaria dubia* que logró nanopartículas esféricas de aproximadamente 10 nm (73). El extracto acuoso de la cáscara de *Pistacia vera* logró biosintetizar AuNPs de 20 a 35 nm (83). El extracto de la hoja de *Glaucium flavum* obtuvo AuNPs de 32 nm (84). En comparación con la presente investigación, las AuNPs biosintetizadas con extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens* presentan tamaños de AuNPs más pequeños que los estudios anteriores.



**Figura 10.** a) y b) Análisis por Microscopía de Transmisión de Electrones, y c) histograma de distribución de tamaños de partícula de las AuNPs biosintetizadas.

#### 3.4. Fenoles totales en semillas de *Vasconcellea pubescens*.

Se determinó la concentración de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Los resultados se presentan en la Tabla 1, donde se observan las absorbancias por triplicado y su promedio a 765 nm de las soluciones donde reaccionó el reactivo de Folin con concentraciones de ácido gálico de 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L en medio básico.

**Tabla 1.** Absorbancias promedio para la elaboración del gráfico de calibración para la determinación de fenoles totales usando ácido gálico como estándar.

Ácido gálico (mg/L)	Absorbancia a 765 nm			Promedio
	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	
10	0.1455	0.1502	0.1432	0.1463
20	0.2471	0.2503	0.2312	0.2429
30	0.3546	0.3609	0.3498	0.3551
40	0.4802	0.4739	0.4843	0.4795
50	0.561	0.5543	0.5701	0.5618

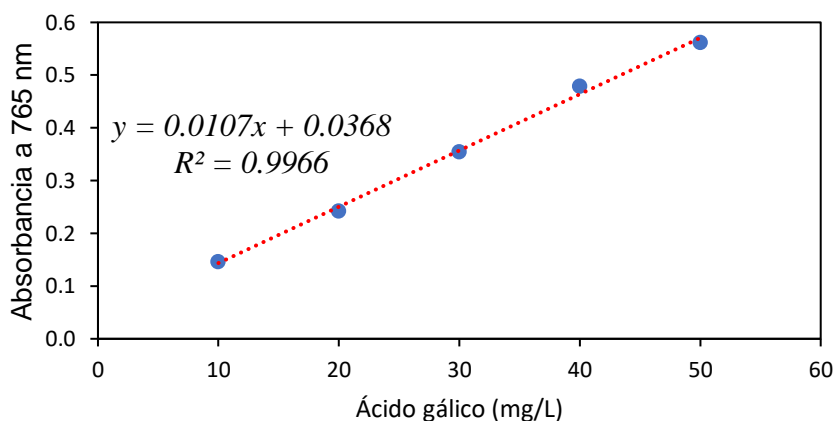
De la Tabla 1 se plotearon la concentración de ácido gálico versus la absorbancia promedio, dando como resultado el gráfico de tendencia lineal de la Figura 11. En esta figura se observa que el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del ajuste al modelo matemático lineal presenta un valor de 0.9966. Este valor es mayor que 0.995, esto indica que el método para determinar fenoles totales es lineal (85). Por lo tanto, el método es adecuado para determinar la concentración de fenoles totales en extractos.

Teniendo en cuenta lo anterior, la ecuación de la recta (Ecuación 1) que se presenta en la Figura 11 se utilizó para realizar las cuantificaciones de fenoles totales en extractos acuosos de *Vasconcellea pubescens*.

$$y = 0.0107x + 0.0368 \quad [1]$$

Donde “y” es la absorbancia a 765 nm y “x” es la concentración de fenoles totales en miligramos de ácido gálico por cada litro de extracto fluido (mg EAG/L). Reemplazando se obtiene la Ecuación 2.

$$\text{Fenoles Totales (mgEAG/L)} = \frac{\text{Absorbancia}_{765\text{nm}} - 0.0368}{0.0107} \quad [2]$$



**Figura 11.** Gráfico de calibración para la cuantificación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.

Teniendo en cuenta que en el análisis de fenoles totales se utilizó una alícuota de 0.25 mL de extracto acuoso de *Vasconcellea pubescens* y se realizó la reacción de Folin-Ciocalteu en una fiola de 10 mL, se obtuvo la Ecuación 3.

$$\text{Fenoles Totales (mgEAG/ L)} = \frac{\text{Absorbancia}_{765\text{nm}} - 0.0368}{0.0107} \times \frac{10\text{mL}}{0.25\text{mL}} \quad [3]$$

También se expresó la concentración de fenoles totales en mg EAG/g de semilla seca de *Vasconcellea pubescens*, para esto se tuvo en cuenta que para la preparación del extracto se pesaron 5 g de semilla seca y se sometió a reflujo con 100 mL de agua destilada. Teniendo en cuenta lo anterior, se obtuvo la Ecuación 4.

$$\text{Fenoles Totales (mgEAG/ g)} = \text{Fenoles Totales} \left( \frac{\text{mgEAG}}{\text{L}} \right) \times \frac{0.1\text{L}}{5\text{g}} \quad [4]$$

La concentración de fenoles totales en extracto acuoso (mg EAG/L) y semilla seca (mg EAG/g) de *Vasconcellea pubescens* se presenta en la Tabla 2, las cuales fueron calculadas con las ecuaciones 5 y 6, respectivamente. La concentración en el extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens* es de  $1707.66 \pm 23.34$  mg EAG/L, equivalente a  $34.15 \pm 0.47$  mg EAG/g de semilla seca. Resultados congruentes con el presente estudio se obtuvieron en la investigación realizada por Pino-Ramos *et al.* (20) donde determinaron la concentración de compuestos fenólicos por el método Folin-Ciocalteu hallando concentraciones de  $62.44 \pm 3.42$  y  $49.02 \pm 7.02$  mg EAG/g de extracto seco obtenido con acetato de etilo y metanol, respectivamente, asimismo, identificaron hidroquinona glicosilada, flavan-3-oles, proantocianidinas, flavonoles glicosilados y un alcaloide. Estos hallazgos sugieren la presencia de compuestos fenólicos presentes en las semillas de *Vasconcellea pubescens*.

**Tabla 2.** Concentración de fenoles totales en el extracto acuoso (mg EAG/L) y semilla seca (mg EAG/g) de *Vasconcellea pubescens*.

n	Absorbancia a 765 nm	Fenoles totales (mg EAG/L)	Muestra analizada (mL)	Volumen de la fiola (mL)	Fenoles totales corregido (mg EAG/L)	Fenoles totales corregido (mg EAG/g)
1	0.5008	43.36	0.25	10	1734.58	34.69
2	0.4897	42.33	0.25	10	1693.08	33.86
3	0.4903	42.38	0.25	10	1695.33	33.91
<b>Promedio</b>					1707.66	34.15
<b>Desviación estándar</b>					23.34	0.47

**EAG:** equivalente a ácido gálico.

### 3.5. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante fue determinada por el ensayo DPPH. Los resultados para la elaboración del gráfico de calibración se presentan en la Tabla 3, donde se observan las absorbancias promedio del DPPH a 517 nm que reaccionaron con las concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100  $\mu\text{mol/L}$  de Trólox.

**Tabla 3.** Absorbancias a 517 nm de DPPH posteriores a la reacción con soluciones de calibración de Trólox.

Trólox ( $\mu\text{mol/L}$ )	Absorbancia a 517 nm			Promedio
	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	
20	0.3774	0.3892	0.3701	0.3789
40	0.3052	0.3098	0.2998	0.3049
60	0.2163	0.2098	0.2108	0.2123
80	0.1265	0.1298	0.1303	0.1289
100	0.0584	0.0571	0.0569	0.0575

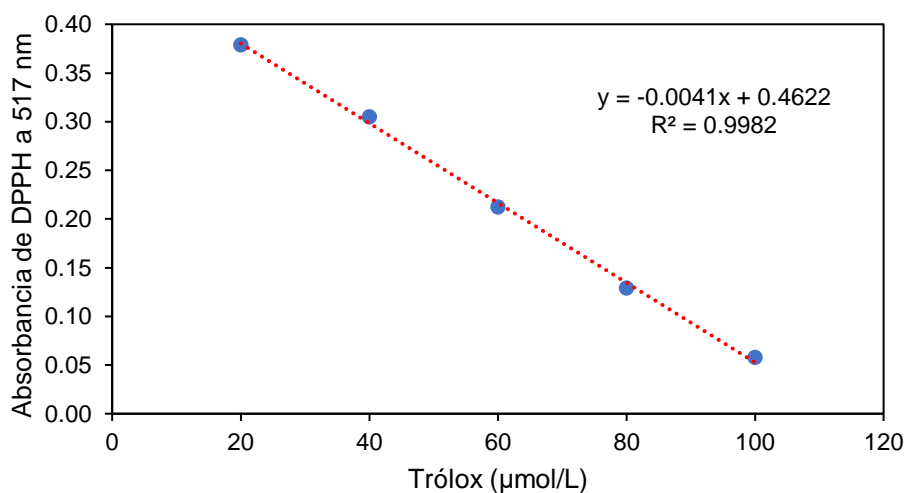
De la Tabla 3 se plotearon la concentración de Trólox vs la absorbancia promedio, dando como resultado el gráfico de tendencia lineal y negativa de la Figura 12. En esta figura se observa que el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del ajuste al modelo matemático lineal presenta un valor de 0.9982. Este valor es mayor que 0.995, esto indica que el método para determinar fenoles totales es lineal (85). Por lo tanto, el método es adecuado para determinar la capacidad antioxidante en extractos acuosos de *Vasconcellea pubescens*.

Teniendo en cuenta lo anterior, la ecuación de la recta (Ecuación 5) que se presenta en la Figura 12 se utilizó para determinar la capacidad antioxidante de los extractos acuosos de *Vasconcellea pubescens*.

$$y = -0.0041x + 0.4622 \quad [5]$$

Donde “y” es la absorbancia del Trólox a 517 nm y “x” es la capacidad antioxidante expresada en  $\mu\text{mol}$  equivalente a Trólox por cada litro de extracto fluido ( $\mu\text{mol ET/L}$ ). Reemplazando se obtiene la Ecuación 6.

$$\text{Capacidad antioxidante } (\mu\text{mol ET} / \text{L}) = \frac{\text{Absorbancia}_{517\text{nm}} - 0.4622}{-0.0041} \quad [6]$$



**Figura 12.** Gráfico de calibración para la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH.

Considerando que para el análisis de la capacidad antioxidante se utilizaron 0.5 mL de extracto acuoso de *Vasconcellea pubescens* en una fiola de 10 mL, la Ecuación 6 se ajusta a la Ecuación 7.

$$\text{Capacidad antioxidante } (\mu\text{mol ET} / \text{L}) = \frac{\text{Absorbancia}_{517\text{nm}} - 0.4622}{-0.0041} \times \frac{10\text{mL}}{0.5\text{mL}} \quad [7]$$

También se expresó la capacidad antioxidante en µmol ET/g de semilla seca de *Vasconcellea pubescens*, para esto se tuvo en cuenta que para la preparación del extracto se pesaron 5 g de semilla seca y se sometió a reflujo con 100 mL de agua destilada. Teniendo en cuenta lo anterior, se obtuvo la Ecuación 8.

$$\text{Capacidad antioxidante } (\mu\text{mol ET} / \text{g}) = \text{Capacidad antioxidante } \left( \frac{\mu\text{mol ET}}{\text{L}} \right) \times \frac{0.1\text{L}}{5\text{g}} \quad [8]$$

La capacidad antioxidante de extracto acuoso (µmol ET/L) y semilla seca (µmol ET/g) de *Vasconcellea pubescens* se presenta en la Tabla 4, las cuales fueron calculadas con las ecuaciones 7 y 8, respectivamente. La concentración en el extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens* es de  $1333.17 \pm 38.31$  µmol ET/L equivalente a  $26.66 \pm 0.77$  µmol ET/g de semilla seca. Respecto a lo encontrado, según Pino-Ramos et al. (20) el contenido de compuestos como flavan-3-oles, proantocianidinas y flavonoles glicosilados presentes en las semillas de *Vasconcellea pubescens* podrían ser las responsables de la capacidad antioxidante. Estos resultados demuestran que las semillas de *Vasconcellea*

*pubescens* presentan componentes reductores, lo que hace de este desecho un biomaterial útil en la síntesis de nanopartículas de oro.

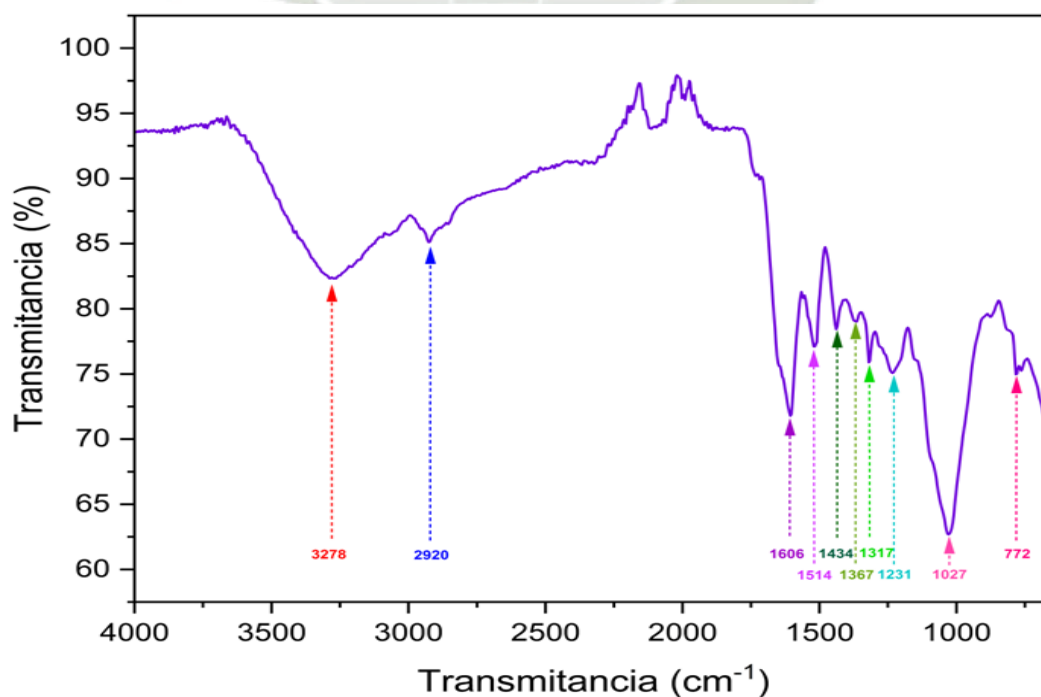
**Tabla 4.** Capacidad antioxidante en el extracto acuoso ( $\mu\text{mol ET/L}$ ) y semilla seca ( $\mu\text{mol ET/g}$ ) de *Vasconcellea pubescens*.

n	Abs. a 517 nm	Capacidad antioxidante ( $\mu\text{mol ET/L}$ )	Muestra analizada (mL)	Volumen de la fiola (mL)	Capacidad antioxidante corregida ( $\mu\text{mol ET/L}$ )	Capacidad antioxidante corregida ( $\mu\text{mol ET/g}$ )
1	0.1966	64.78	0.5	10	1295.61	25.91
2	0.1892	66.59	0.5	10	1331.71	26.63
3	0.1809	68.61	0.5	10	1372.20	27.44
<b>Promedio</b>					1333.17	26.66
<b>Desviación estándar</b>					38.31	0.77

**Abs.:** Absorbancia, **ET:** Equivalente a Trólox.

### 3.6. Análisis FTIR del extracto acuoso.

La espectroscopía del infrarrojo es una técnica analítica que puede aplicarse en materiales vegetales para predecir su contenido fenólico (86). En la Figura 13 se presenta el espectro FTIR del extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens*, el cual fue realizado a números de onda de 650 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , donde se presentan picos a números de onda de 772, 1027, 1231, 1317, 1367, 1434, 1514, 1606, 2920 y 3278  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 13.** Espectro FTIR del extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens*.

Por otro lado, en la Tabla 5 se presentan las interpretaciones correspondientes a cada uno de los picos encontrados a distintos números de onda del espectro FTIR de la Figura 13. El pico a  $3278\text{ cm}^{-1}$  correspondería a la vibración de estiramiento característico de los grupos O-H. Resultados similares fueron encontrados en el extracto acuoso de hojas de *Sisymbrium irio* donde también encontraron grupos O-H (87) característicos en compuestos fenólicos y lignina (88). A  $2920\text{ cm}^{-1}$  se observan las vibraciones de estiramiento de C-H que podrían corresponder a las estructuras químicas de cadenas hidrocarbonadas y fenoles (89). A  $1606$  y  $1514\text{ cm}^{-1}$  se presentan vibraciones de estiramiento de grupos C=C por presencia de deformaciones de anillos aromáticos (90). A  $1317$ ,  $1367$ ,  $1434\text{ cm}^{-1}$  se presentarían vibraciones de deformación de C-H. El pico a  $1231\text{ cm}^{-1}$  podría corresponder a señales relativas al estiramiento del enlace C-O de los ácidos fenólicos (91). Finalmente, a  $772$  y  $1027\text{ cm}^{-1}$  se presentan vibraciones de distorsión de grupos C=C de los anillos bencénicos (92) de los compuestos fenólicos (93) presentes en el extracto acuoso.

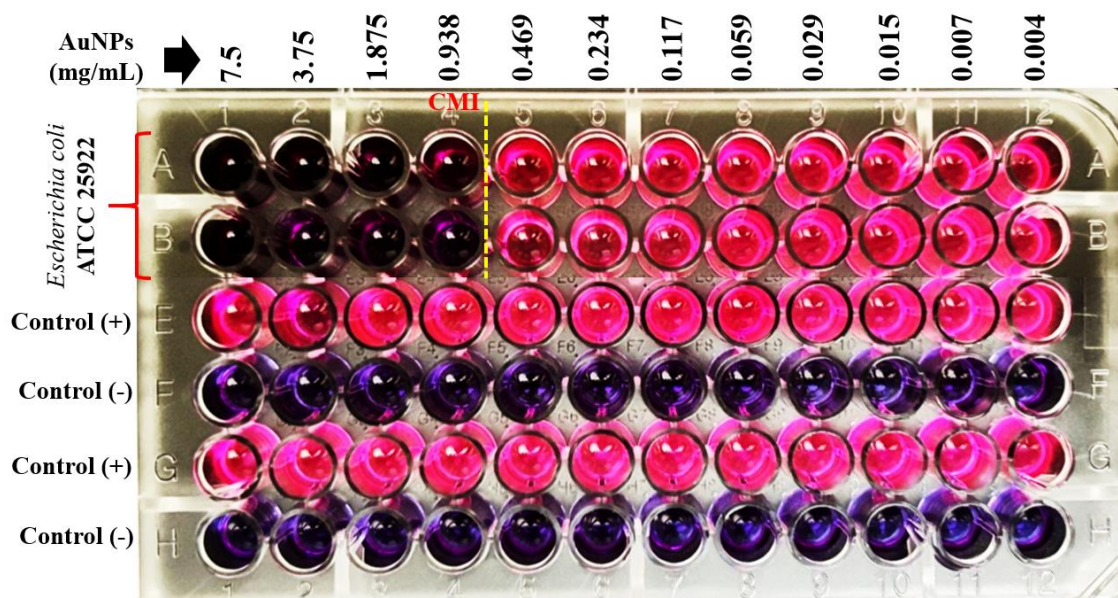
**Tabla 5.** Posibles grupos funcionales presentes en el extracto acuoso de semillas de papaya arequipeña identificados por FTIR.

Numero de onda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Interpretación
3278	Vibración de estiramiento O-H
2920	Vibración de estiramiento C-H
1606	Vibración de estiramiento C=C
1514	Vibración de estiramiento C=C
1434	Vibración de deformación C-H
1367	Vibración de deformación C-H
1317	Vibración de deformación C-H
1231	Vibración de deformación C-O
1027	Vibración del esqueleto C=C
772	Vibración del esqueleto C=C

### 3.7. Efecto antibacteriano.

#### 3.7.1. Concentración Mínima Inhibitoria.

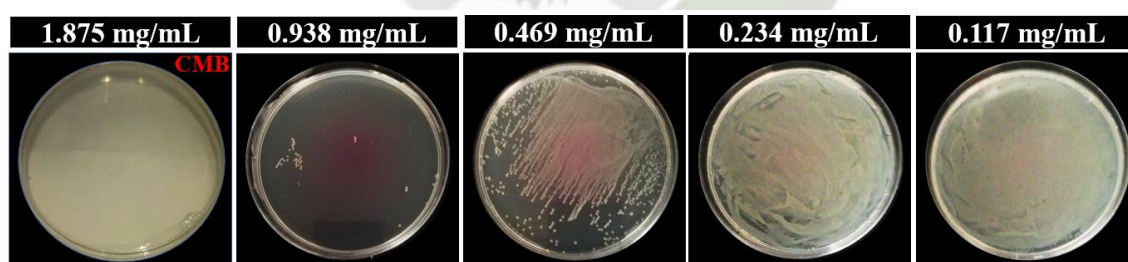
En la Figura 14 se presenta el resultado del ensayo para la determinación de la CMI. Se observa que la CMI de las AuNPs biosintetizadas con el extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens* es  $0.938\text{ mg/mL}$  frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.



**Figura 14.** Ensayo para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de las AuNPs biosintetizadas frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

### 3.7.2. Concentración Mínima Bactericida.

Para la determinación de la CMB se sembraron 50  $\mu$ L de los pozos 3, 4, 5, 6 y 7 en placas de agar Mueller Hinton con la finalidad de evaluar el crecimiento. En la Figura 15, se observa que la placa donde no se aprecia crecimiento es la placa correspondiente al pozo 3, por lo que la CMB es de 1.875 mg/mL.



**Figura 15.** Placas para la determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) de las AuNPs biosintetizadas frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

Según Tian et al. (94) dentro de los mecanismos involucrados en el efecto antibacteriano de las AuNPs estarían a) la interacción con barreras por lo que un incremento de la dosis de AuNPs aumenta la permeabilidad de la membrana bacteriana, lo que ocasiona la disminución de su viabilidad, por otro lado, b) la interacción con biomoléculas de las bacterias por inhibir la actividad enzimática al unirse al ADN e interferir con la síntesis

de las proteínas, otro mecanismo corresponde a c) el efecto fototérmico donde las AuNPs presentan propiedades de conversión de luz a calor lo que puede causar la lisis y desintegración de las bacterias, y c) el desequilibrio redox incrementando las especies reactivas de oxígeno causando estrés oxidativo causando apoptosis y necrosis celular.

Asimismo, Cui *et al.* (95) describen que las AuNPs pueden colapsar el potencial de membrana inhibiendo la actividad de la ATPasa, logrando disminuir el nivel de ATP.

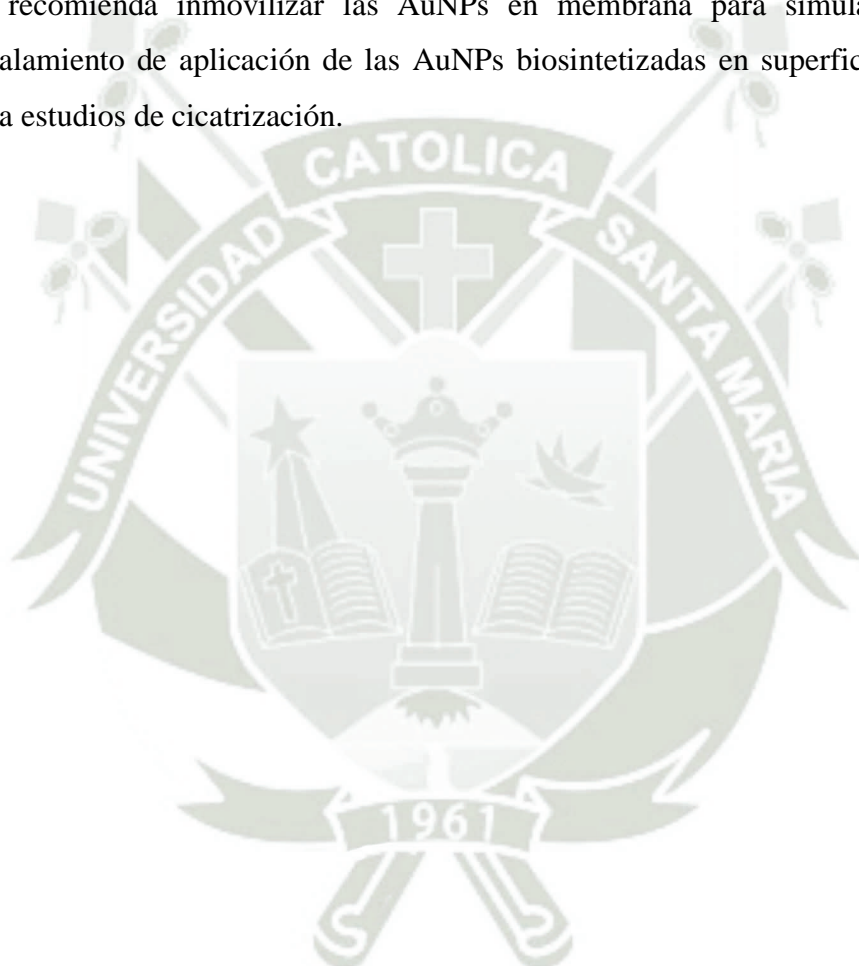


## CONCLUSIONES

1. Se demostró que el extracto acuoso de *Vasconcellea pubescens* obtenido por reflujo fue eficiente para Biosintetizar nanopartículas (AuNPs) de oro de  $8.98 \pm 2.19$  nm con un pico de absorción máxima a 548 nm característico de la resonancia del plasmón de la superficie de las nanopartículas de oro, asimismo, se identificaron grupos C-O, C=O, C-H y C-C en las AuNPs que estarían relacionados con los compuestos fenólicos presentes en el extracto acuoso de semilla de *Vasconcellea pubescens*.
2. Se logró cuantificar fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu en el extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens* utilizado para la biosíntesis de nanopartículas de oro, encontrando una concentración de  $1707.66 \pm 23.34$  mg EAG/L.
3. Se logró determinar la capacidad antioxidante por el ensayo DPPH en el extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens* utilizado para la biosíntesis de nanopartículas de oro, encontrando una capacidad antioxidante de  $1333.17 \pm 38.31$   $\mu$ mol ET/L.
4. Se logró caracterizar el extracto de semilla de *Vasconcellea pubescens* utilizado para la biosíntesis de nanopartículas de oro por espectroscopía del infrarrojo, encontrando grupos O-H, C-H, C=C y C-O, los cuales son característicos de compuestos fenólicos.
5. Se logró determinar que la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de las nanopartículas de oro biosintetizadas frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 son de 0.938 y 1.875 mg/mL, respectivamente.
6. Se lograron biosintetizar nanopartículas de oro empleando como agente reductor al extracto acuoso de semillas de *Vasconcellea pubescens*, las cuales, presentan actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda evaluar el efecto antibacteriano de las AuNPs biosintetizadas con extractos acuosos de papaya arequipeña frente a otros microorganismos patógenos.
- Se recomienda comparar el efecto bacteriano de AuNPs biosintetizadas con extractos de semillas de papaya arequipeña utilizando diferentes solventes extractores.
- Se recomienda inmovilizar las AuNPs en membrana para simular un posible escalamiento de aplicación de las AuNPs biosintetizadas en superficies biológicas para estudios de cicatrización.



**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Bassetti M, Della Siega P, Pecori D, Scarparo C, Righi E. Delafloxacin for the treatment of respiratory and skin infections. *Expert Opin Investig Drugs*. 2015;24:433–442. doi: 10.1517/13543784.2015.1005205. Cited: in: : PMID: 25604710.
2. Abid Khan RM, Dodani SK, Nadeem A, Jamil S, Zafar MN. Bacterial isolates and their antimicrobial susceptibility profile of superficial and deep-seated skin and soft tissue infections. *Asian Biomed Res Rev News*. 2023;17:55–63. doi: 10.2478/abm-2023-0045. Cited: in: : PMID: 37719324.
3. Soliman MKY, Salem SS, Abu-Elghait M, Azab MS. Biosynthesis of Silver and Gold Nanoparticles and Their Efficacy Towards Antibacterial, Antibiofilm, Cytotoxicity, and Antioxidant Activities. *Appl Biochem Biotechnol*. 2023;195:1158–1183. doi: 10.1007/s12010-022-04199-7.
4. Petkovšek Ž, Eleršič K, Gubina M, Žgur-Bertok D, Starčič Erjavec M. Virulence Potential of Escherichia coli Isolates from Skin and Soft Tissue Infections. *J Clin Microbiol*. 2009;47:1811–1817. doi: 10.1128/JCM.01421-08. Cited: in: : PMID: 19357208.
5. Ranjan A, Shaik S, Nandanwar N, Hussain A, Tiwari SK, Semmler T, Jadhav S, Wieler LH, Alam M, Colwell RR, et al. Comparative Genomics of Escherichia coli Isolated from Skin and Soft Tissue and Other Extraintestinal Infections. *mBio*. 2017;8:e01070-17. doi: 10.1128/mBio.01070-17. Cited: in: : PMID: 28811343.
6. Pitol AK, Kohn T, Julian TR. Retention of E. coli and water on the skin after liquid contact. *PloS One*. 2020;15:e0238998. doi: 10.1371/journal.pone.0238998. Cited: in: : PMID: 32941473.
7. Janny S, Bert F, Dondero F, Chanoine M-HN, Belghiti J, Mantz J, Paugam-Burtz C. Fatal Escherichia coli skin and soft tissue infections in liver transplant recipients: report of three cases. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc*. 2013;15:E49-53. doi: 10.1111/tid.12046. Cited: in: : PMID: 23278949.

8. Mellata M. Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends. *Foodborne Pathog Dis.* 2013;10:916–932. doi: 10.1089/fpd.2013.1533. Cited: in : PMID: 23962019.
9. Damiano P, Salema EJ, Silago V. The susceptibility of multidrug resistant and biofilm forming *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* to antiseptic agents used for preoperative skin preparations at zonal referral hospital in Mwanza, Tanzania. *Malawi Med J J Med Assoc Malawi.* 2021;33:59–64. doi: 10.4314/mmj.v33i1.9. Cited: in : PMID: 34422235.
10. Ahmed MM, Badawy MT, Ahmed FK, Kalia A, Abd-Elsalam KA. Chapter 10 - Fruit peel waste-to-wealth: Bionanomaterials production and their applications in agroecosystems. In: Abd-Elsalam KA, Periakaruppan R, Rajeshkumar S, editors. *Agri-Waste Microbes Prod Sustain Nanomater* [Internet]. Elsevier; 2022 [cited 2023 Sept 29]. p. 231–257. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128235751000019>.
11. Wei A, Thomas M, Mehtala J, Wang J. 13 - Gold nanoparticles (GNPs) as multifunctional materials for cancer treatment. In: Park K, editor. *Biomater Cancer Ther* [Internet]. Woodhead Publishing; 2013 [cited 2023 Sept 29]. p. 349–389e. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857096647500136>.
12. Nithin BR, Bhuyar P, Maniam GP, Rahim MHAb, Govindan N. Environment Friendly Approach for Plant Mediated Green Biosynthesis of Gold Nanoparticles and Their Modern Applications in Biomedical Aspects—an Updated Report. *BioNanoScience* [Internet]. 2023 [cited 2023 Sept 29]; doi: 10.1007/s12668-023-01134-w.
13. Hammami I, Alabdallah NM, jomaa AA, kamoun M. Gold nanoparticles: Synthesis properties and applications. *J King Saud Univ - Sci.* 2021;33:101560. doi: 10.1016/j.jksus.2021.101560.
14. Venkateswaran SP, Palaniswamy VK, Vishvanand R, Periakaruppan R. Chapter 16 - Actinomycetes-assisted nanoparticles: Synthesis and applications. In: Abd-Elsalam KA, Periakaruppan R, Rajeshkumar S, editors. *Agri-Waste Microbes Prod*

- Sustain Nanomater [Internet]. Elsevier; 2022 [cited 2023 Sept 29]. p. 375–395. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128235751000172>.
15. Rehman S, Ansari MA, Al-Dossary HA, Fatima Z, Hameed S, Ahmad W, Ali A. Chapter 17 - Current Perspectives on Mycosynthesis of Nanoparticles and Their Biomedical application. In: Azar AT, editor. Model Control Drug Deliv Syst [Internet]. Academic Press; 2021 [cited 2023 Sept 29]. p. 301–311. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128211854000051>.
  16. Dykman LA, Khlebtsov NG. Gold Nanoparticles in Biology and Medicine: Recent Advances and Prospects. *Acta Naturae*. 2011;3:34–55. Cited: in : PMID: 22649683.
  17. Haque S, Patra CR. Chapter Eleven - Biosynthesized nanoparticles (gold, silver and platinum): Therapeutic role in angiogenesis. In: Verma SK, Das AK, editors. *Compr Anal Chem* [Internet]. Elsevier; 2021 [cited 2023 Sept 29]. p. 471–505. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166526X20301100>.
  18. Ying S, Guan Z, Ofoegbu PC, Clubb P, Rico C, He F, Hong J. Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations. *Environ Technol Innov*. 2022;26:102336. doi: 10.1016/j.eti.2022.102336.
  19. Huang X, Devi S, Bordiga M, Brennan CS, Xu B. Phenolic compounds mediated biosynthesis of gold nanoparticles and evaluation of their bioactivities: A review. *Int J Food Sci Technol*. 2023;58:1673–1694. doi: 10.1111/ijfs.16346.
  20. Pino-Ramos LL, Farias DR, Olivares-Caro L, Mitsi C, Mardones C, Echeverria J, Avila F, Gutierrez M. Chilean papaya (*Vasconcellea pubescens* A. DC.) residues as a source of bioactive compounds: Chemical composition, antioxidant capacity, and antiglycation effects. *Heliyon* [Internet]. 2024 [cited 2025 July 8];10. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e38837. Cited: in : PMID: 39435094.
  21. Medina Loayza JV, Valdez Alfaro IA, Chávez Galarza JC. CATÁLOGO DE LA COLECCIÓN DE PAPAYA SERRANA (*Vasconcellea pubescebs* A. DC.) [Internet]. Instituto Nacional de Innovación Agraria; 2018 [cited 2025 July 8]. Available from: <https://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/1348>.

22. PAPAYUELA – Frescorganico [Internet]. [cited 2025 July 8]. Available from: <https://frescorganico.com/producto/papayuela>.
23. Vega-Gálvez A, Palacios M, Boglio F, Pássaro C, Jeréz C, Lemus-Mondaca R. Deshidratación osmótica de la papaya chilena (*Vasconcellea pubescens*) e influencia de la temperatura y concentración de la solución sobre la cinética de transferencia de materia. *Food Sci Technol*. 2007;27:470–477. doi: 10.1590/S0101-20612007000300008.
24. Vega-Gálvez A, Palacios M, Lemus-Mondaca R, Passaro C. Moisture sorption isotherms and isosteric heat determination in Chilean papaya (*Vasconcellea pubescens*). *Quím Nova*. 2008;31:1417–1421. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000600026>.
25. Carrasco B, Avila P, Perez-Diaz J, Muñoz P, García R, Lavandero B, Zurita-Silva A, Retamales JB, Caligari PDS. Genetic structure of highland papayas (*Vasconcellea pubescens* (Lenné et C. Koch) Badillo) cultivated along a geographic gradient in Chile as revealed by Inter Simple Sequence Repeats (ISSR). *Genet Resour Crop Evol*. 2009;56:331–337. doi: 10.1007/s10722-008-9367-1.
26. Mountain Papaya (*Carica pubescens*) | groda [Internet]. Piece Nat. [cited 2025 July 8]. Available from: <https://www.apieceofnature.se/products/bjerg-papaya-carica-pubescens-fro-15-stk>.
27. Simirgiotis MJ, Caligari PDS, Schmeda-Hirschmann G. Identification of phenolic compounds from the fruits of the mountain papaya *Vasconcellea pubescens* A. DC. grown in Chile by liquid chromatography–UV detection–mass spectrometry. *Food Chem*. 2009;115:775–784. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.12.071.
28. Uribe E, Delgadillo A, Giovagnoli-Vicuña C, Quispe-Fuentes I, Zura-Bravo L. Extraction Techniques for Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity Determination of Chilean Papaya (*Vasconcellea pubescens*) Fruit. *J Chem*. 2015;2015:347532. doi: 10.1155/2015/347532.
29. Briones-Labarca V, Plaza-Morales M, Giovagnoli-Vicuña C, Jamett F. High hydrostatic pressure and ultrasound extractions of antioxidant compounds, sulfuraphane and fatty acids from Chilean papaya (*Vasconcellea pubescens*) seeds:

- Effects of extraction conditions and methods. *LWT - Food Sci Technol.* 2015;60:525–534. doi: 10.1016/j.lwt.2014.07.057.
30. Sasongko H, Widiasih P, Putri NL. Antipyretic properties of carica (*Vasconcellea pubescens* A.DC.) fruit and seeds ethanolic extract in experimental animals. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng.* 2019;578:012044. doi: 10.1088/1757-899X/578/1/012044.
  31. Vega-Gálvez A, Stucken K, Cantuarias C, Lamas F, García V, Pastén A. Antimicrobial properties of papaya (*Vasconcellea pubescens*) subjected to low-temperature vacuum dehydration. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2021;67:102563. doi: 10.1016/j.ifset.2020.102563.
  32. Sasongko H, Wicaksono A, Sugiyarto. In-vivo acute toxicological studies of *Vasconcellea pubescens* A. DC. fruit extract against hepatic injury. *AIP Conf Proc.* 2020;2237:020060. doi: 10.1063/5.0005224.
  33. Saini RK, Keum Y-S. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chem.* 2018;240:90–103. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.07.099.
  34. Peanparkdee M, Iwamoto S. Bioactive compounds from by-products of rice cultivation and rice processing: Extraction and application in the food and pharmaceutical industries. *Trends Food Sci Technol.* 2019;86:109–117. doi: 10.1016/j.tifs.2019.02.041.
  35. Singh T, Pandey VK, Singh R, Dash KK, Kovács B, Mukarram SA. Ultrasound assisted extraction of phytochemicals from *Piper betel* L. *Ultrason Sonochem.* 2024;106:106894. doi: 10.1016/j.ultsonch.2024.106894.
  36. Jeevanandam J. 1 - Phytochemical-based approaches for the synthesis of nanomaterials. In: Dable-Tupas G, Danquah MK, Jeevanandam J, Sundaramurthy A, Xian Tan K, editors. *Emerg Phytosynthesized Nanomater Biomed Appl* [Internet]. Elsevier; 2023 [cited 2025 Oct 8]. p. 1–29. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012824373200009X>.
  37. Cacique AP, Barbosa ÉS, Pinho GP de, Silvério FO. Maceration extraction conditions for determining the phenolic compounds and the antioxidant activity of

- Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Ciênc E Agrotecnologia. 2020;44:e017420. doi: <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044017420>.
38. Chua LS, Latiff NA, Mohamad M. Reflux extraction and cleanup process by column chromatography for high yield of andrographolide enriched extract. J Appl Res Med Aromat Plants. 2016;3:64–70. doi: 10.1016/j.jarmap.2016.01.004.
39. Zhang M, Zhao J, Dai X, Li X. Extraction and Analysis of Chemical Compositions of Natural Products and Plants. Separations. 2023;10:598. doi: 10.3390/separations10120598.
40. Bandara N, Chalamaiah M. Bioactives From Agricultural Processing By-products. In: Melton L, Shahidi F, Varelis P, editors. Encycl Food Chem [Internet]. Oxford: Academic Press; 2019 [cited 2025 July 8]. p. 472–480. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081005965224086>.
41. Femenia A. 18 - High-value co-products from plant foods: cosmetics and pharmaceuticals. In: Waldron K, editor. Handb Waste Manag Co-Prod Recovery Food Process [Internet]. Woodhead Publishing; 2007 [cited 2025 July 8]. p. 470–501. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845690250500189>.
42. Richard T, Temsamani H, Cantos-Villar E, Monti J-P. Chapter Two - Application of LC–MS and LC–NMR Techniques for Secondary Metabolite Identification. In: Rolin D, editor. Adv Bot Res [Internet]. Academic Press; 2013 [cited 2025 July 8]. p. 67–98. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123979223000022>.
43. Crozier A, Jaganath IB, Clifford MN. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. Nat Prod Rep. 2009;26:1001–1043. doi: 10.1039/B802662A.
44. Negi AS, Jain S. Chapter 10 - Recent advances in natural product-based anticancer agents. In: Atta-ur-Rahman, editor. Stud Nat Prod Chem [Internet]. Elsevier; 2022 [cited 2025 July 8]. p. 367–447. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323912501000100>.

45. Lawag IL, Nolden ES, Schaper AAM, Lim LY, Locher C. A Modified Folin-Ciocalteu Assay for the Determination of Total Phenolics Content in Honey. *Appl Sci.* 2023;13:2135. doi: 10.3390/app13042135.
46. Rizvi NB, Fatima A, Busquets R, Khan MR, Ashraf S, Khan MS, Oz F. Effect of the Media in the Folin-Ciocalteu Assay for the Analysis of the Total Phenolic Content of Olive Products. *Food Anal Methods.* 2023;16:1627–1634. doi: 10.1007/s12161-023-02527-z.
47. Torres-León C, Ventura-Sobrevilla J, Serna-Cock L, Ascacio-Valdés JA, Contreras-Esquivel J, Aguilar CN. Pentagalloylglucose (PGG): A valuable phenolic compound with functional properties. *J Funct Foods.* 2017;37:176–189. doi: 10.1016/j.jff.2017.07.045.
48. Ren G, Teng C, Fan X, Guo S, Zhao G, Zhang L, Liang Z, Qin P. Nutrient composition, functional activity and industrial applications of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Chem.* 2023;410:135290. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.135290.
49. Ali Al-Mamary M, Moussa Z. Antioxidant Activity: The Presence and Impact of Hydroxyl Groups in Small Molecules of Natural and Synthetic Origin. 2021 [cited 2025 July 8]; doi: 10.5772/intechopen.95616.
50. Zhu J, Lu Y, He Q. Recent advances on bioactive compounds, health benefits, and potential applications of jujube (*Ziziphus Jujuba* Mill.): A perspective of by-products valorization. *Trends Food Sci Technol.* 2024;145:104368. doi: 10.1016/j.tifs.2024.104368.
51. Munteanu IG, Apetrei C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int J Mol Sci.* 2021;22:3380. doi: 10.3390/ijms22073380.
52. Chedea VS, Pop RM. Chapter 11 - Total Polyphenols Content and Antioxidant DPPH Assays on Biological Samples. In: Watson RR, editor. *Polyphenols Plants* Second Ed [Internet]. Academic Press; 2019 [cited 2021 Sept 27]. p. 169–183. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128137680000116>.

53. Gulcin İ, Alwasel SH. DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*. 2023;11:2248. doi: 10.3390/pr11082248.
54. Villena de Francisco E, García-Esteba RM. Nanotechnology in the agrofood industry. *J Food Eng*. 2018;238:1–11. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2018.05.024.
55. Wakeil NE, Alkahtani S, Gaafar N. 7 - Is nanotechnology a promising field for insect pest control in IPM programs? In: Grumezescu AM, editor. *New Pestic Soil Sens* [Internet]. Academic Press; 2017 [cited 2025 July 8]. p. 273–309. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128042991000084>.
56. Sotelo-Boyás ME, Bautista-Baños S, Correa-Pacheco ZN, Jiménez-Aparicio A, Sivakumar D. Chapter 13 - Biological Activity of Chitosan Nanoparticles Against Pathogenic Fungi and Bacteria. In: Bautista-Baños S, Romanazzi G, Jiménez-Aparicio A, editors. *Chitosan Preserv Agric Commod* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2016 [cited 2025 July 8]. p. 339–349. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128027356000136>.
57. Khan I, Saeed K, Khan I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arab J Chem*. 2019;12:908–931. doi: 10.1016/j.arabjc.2017.05.011.
58. Mirsasaani SS, Hemati M, Dehkord ES, Yazdi GT, Poshtiri DA. Chapter 2 - Nanotechnology and nanobiomaterials in dentistry. In: Subramani K, Ahmed W, editors. *Nanobiomaterials Clin Dent Second Ed* [Internet]. Elsevier; 2019 [cited 2025 July 8]. p. 19–37. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128158869000024>.
59. Mansfield E. 6 - Recent advances in thermal analysis of nanoparticles: methods, models and kinetics\*. In: Tewary VK, Zhang Y, editors. *Model Charact Prod Nanomater* [Internet]. Woodhead Publishing; 2015 [cited 2025 July 8]. p. 167–178. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781782422280000065>.
60. Mihai MM, Holban AM, Călugăreanu A, Orzan OA. Chapter 11 - Recent advances in diagnosis and therapy of skin cancers through nanotechnological approaches. In: Ficai A, Grumezescu AM, editors. *Nanostructures Cancer Ther* [Internet]. Elsevier;

- 2017 [cited 2025 July 8]. p. 285–306. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323461443000118>.
61. Duman H, Akdaşçi E, Eker F, Bechelany M, Karav S. Gold Nanoparticles: Multifunctional Properties, Synthesis, and Future Prospects. *Nanomaterials*. 2024;14:1805. doi: 10.3390/nano14221805.
62. Khan MdAR, Al Mamun MS, Habib MdA, Islam ABMN, Mahiuddin Md, Karim KMdR, Naime J, Saha P, Dey SK, Ara MH. A review on gold nanoparticles: Biological synthesis, characterizations, and analytical applications. *Results Chem*. 2022;4:100478. doi: 10.1016/j.rechem.2022.100478.
63. Saed M, Ayivi RD, Wei J, Obare SO. Gold nanoparticles antibacterial activity: Does the surface matter? *Colloid Interface Sci Commun*. 2024;62:100804. doi: 10.1016/j.colcom.2024.100804.
64. Das B, Patra S. Chapter 1 - Antimicrobials: Meeting the Challenges of Antibiotic Resistance Through Nanotechnology. In: Ficai A, Grumezescu AM, editors. *Nanostructures Antimicrob Ther* [Internet]. Elsevier; 2017 [cited 2025 July 8]. p. 1–22. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323461528000019>.
65. McClure P. *Escherichia coli*: virulence, stress response and resistance. In: Griffiths M, editor. *Underst Pathog Behav* [Internet]. Woodhead Publishing; 2005 [cited 2025 July 8]. p. 240–278. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781855739536500106>.
66. Aijuka M, Buys EM. Persistence of foodborne diarrheagenic *Escherichia coli* in the agricultural and food production environment: Implications for food safety and public health. *Food Microbiol*. 2019;82:363–370. doi: 10.1016/j.fm.2019.03.018.
67. Hassan AN, Frank JF. MICROORGANISMS ASSOCIATED WITH MILK. In: Fuquay JW, editor. *Encycl Dairy Sci Second Ed* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2011 [cited 2025 July 8]. p. 447–457. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123744074003095>.

68. Kadeřábková N, Mahmood AJS, Mavridou DAI. Antibiotic susceptibility testing using minimum inhibitory concentration (MIC) assays. *Npj Antimicrob Resist.* 2024;2:1–9. doi: 10.1038/s44259-024-00051-6.
69. Kowalska-Krochmal B, Dudek-Wicher R. The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens.* 2021;10:165. doi: 10.3390/pathogens10020165. Cited: in : PMID: 33557078.
70. Gillespie SH. 20 - Antimicrobial susceptibility. In: Gillespie SH, editor. *Med Microbiol Illus* [Internet]. Butterworth-Heinemann; 1994 [cited 2025 July 8]. p. 234–247. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780750601870500250>.
71. Sykes JE, Rankin SC. Chapter 3 - Isolation and Identification of Aerobic and Anaerobic Bacteria. In: Sykes JE, editor. *Canine Feline Infect Dis* [Internet]. Saint Louis: W.B. Saunders; 2014 [cited 2025 July 8]. p. 17–28. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978143770795300003X>.
72. Molole GJ, Gure A, Abdissa N. Determination of total phenolic content and antioxidant activity of *Commiphora mollis* (Oliv.) Engl. resin. *BMC Chem.* 2022;16:48. doi: 10.1186/s13065-022-00841-x.
73. Medina-Pérez JM, Zegarra-Zegarra MA, Villanueva-Salas JA, Salazar-Pinto BM, Flores-Calla SS, Ramírez-Valverde AG, Jiménez-Pacheco HG, Gonzales-Condori EG. Production of Lactobionic Acid Using Gold Nanoparticles Synthesized with Fruit *Myrciaria dubia* Extract. *J Nanotechnol.* 2023;2023:e5654802. doi: 10.1155/2023/5654802.
74. Chavez Aly KG, Labra Toledo YN. Determinación de Compuestos Bioactivos, Capacidad Antioxidante y Efecto Antibacteriano de Desechos de Orujo de Uva Variedad Negra Criolla, Arequipa - 2024. 2024 [cited 2025 May 17];
75. Dortez S, González MC, Crevillen AG, Escarpa A. Gold nanostructure-related non-plasmon resonance absorption band as a fingerprint of *ortho*-alkyl substituted phenolic compounds. *Microchem J.* 2021;171:106788. doi: 10.1016/j.microc.2021.106788.

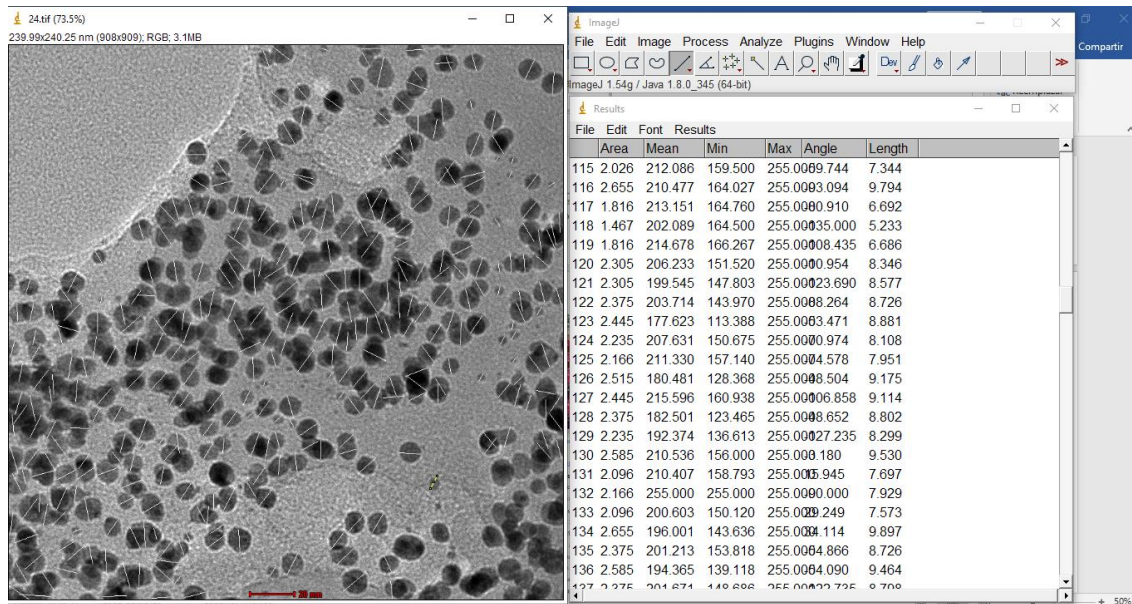
76. Reddy Bogireddy NK, Agarwal V. Persea americana seed extract mediated gold nanoparticles for mercury( ii )/iron( iii ) sensing, 4-nitrophenol reduction, and organic dye degradation. RSC Adv. 2019;9:39834–39842. doi: 10.1039/C9RA08233F.
77. Cabrera-Lara LI. Reaction Parameters for Controlled Sonosynthesis of Gold Nanoparticles. J Mex Chem Soc [Internet]. 2015 [cited 2025 July 11];59. doi: 10.29356/jmcs.v59i2.25.
78. Rotimi L, Ojemaye MO, Okoh OO, Sadimenko A, Okoh AI. Synthesis, characterization, antimalarial, antitrypanocidal and antimicrobial properties of gold nanoparticle. Green Chem Lett Rev. 2019;12:61–68. doi: 10.1080/17518253.2019.1569730.
79. Abd El-Mongy S, Seoudi R, Hussein AM. The influence of branched polyethyleneimine concentration on the spectroscopic and morphology of BPEI/AuNPs for photocatalytic reduction of 4-nitrophenol. J Mater Sci Mater Electron. 2024;35:1440. doi: 10.1007/s10854-024-13129-8.
80. Anbu P, Gopinath SC, Jayanthi S. Synthesis of gold nanoparticles using Platycodon grandiflorum extract and its antipathogenic activity under optimal conditions. Nanomater Nanotechnol. 2020;10:1847980420961697. doi: 10.1177/1847980420961697.
81. Sadalage PS, Patil RV, Havaldar DV, Gavade SS, Santos AC, Pawar KD. Optimally biosynthesized, PEGylated gold nanoparticles functionalized with quercetin and camptothecin enhance potential anti-inflammatory, anti-cancer and anti-angiogenic activities. J Nanobiotechnology. 2021;19:84. doi: 10.1186/s12951-021-00836-1.
82. Younus Ali M, B. Abdulrahman H, Ting W-T, R. Howlader MM. Green synthesized gold nanoparticles and CuO-based nonenzymatic sensor for saliva glucose monitoring. RSC Adv. 2024;14:577–588. doi: 10.1039/D3RA05644A.
83. Shirzadi-Ahodashti M, Mizwari ZM, Mohammadi-Aghdam S, Ahmadi S, Ali Ebrahimzadeh M, Mortazavi-Derazkola S. Optimization and evaluation of anticancer, antifungal, catalytic, and antibacterial activities: Biosynthesis of

- spherical-shaped gold nanoparticles using Pistacia vera hull extract (AuNPs@PV). Arab J Chem. 2023;16:104423. doi: 10.1016/j.arabjc.2022.104423.
84. Dehghani F, Mosleh-Shirazi S, Shafiee M, Kasaei SR, Amani AM. Antiviral and antioxidant properties of green synthesized gold nanoparticles using Glaucium flavum leaf extract. Appl Nanosci. 2023;13:4395–4405. doi: 10.1007/s13204-022-02705-1.
85. Quattrocchi O, Abelaira S, Felipe Laba R. Introducción a la HPLC, Aplicación y Práctica. 1992.
86. Johnson J, Mani J, Ashwath N, Naiker M. Potential for Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy toward predicting antioxidant and phenolic contents in powdered plant matrices. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc. 2020;233:118228. doi: 10.1016/j.saa.2020.118228.
87. Mickymaray S. One-step Synthesis of Silver Nanoparticles Using Saudi Arabian Desert Seasonal Plant Sisymbrium irio and Antibacterial Activity Against Multidrug-Resistant Bacterial Strains. Biomolecules. 2019;9:662. doi: 10.3390/biom9110662.
88. Maniraj A, Kannan M, Rajarathinam K, Vivekanandhan S, Muthuramkumar S. Green Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Effective Utilization in Fabricating Functional Surface for Antibacterial Activity Against Multi-Drug Resistant Proteus mirabilis. J Clust Sci. 2019;30:1403–1414. doi: 10.1007/s10876-019-01582-z.
89. Hssaini L, Razouk R, Bouslihim Y. Rapid Prediction of Fig Phenolic Acids and Flavonoids Using Mid-Infrared Spectroscopy Combined With Partial Least Square Regression. Front Plant Sci [Internet]. 2022 [cited 2025 Mar 17];13. doi: 10.3389/fpls.2022.782159.
90. Bao N, Wang D, Fu X, Xie H, Gao G, Luo Z. Green Extraction of Phenolic Compounds from Lotus Seedpod (Receptaculum Nelumbinis) Assisted by Ultrasound Coupled with Glycerol. Foods. 2021;10:239. doi: 10.3390/foods10020239.

91. Bensemmane N, Bouzidi N, Daghbouche Y, Garrigues S, de la Guardia M, Hattab ME. Prediction of total phenolic acids contained in plant extracts by PLS-ATR-FTIR. *South Afr J Bot.* 2022;151:295–305. doi: 10.1016/j.sajb.2022.10.009.
92. Ruiz-Aquino F, Feria-Reyes R, Rutiaga-Quiñones JG, Robledo-Taboada LH, Gabriel-Parra R. Characterization of tannin extracts derived from the bark of four tree species by HPLC and FTIR. *For Sci Technol.* 2023;19:38–46. doi: 10.1080/21580103.2023.2166593.
93. Lucarini M, Durazzo A, Kiefer J, Santini A, Lombardi-Boccia G, Souto EB, Romani A, Lampe A, Ferrari Nicoli S, Gabrielli P, et al. Grape Seeds: Chromatographic Profile of Fatty Acids and Phenolic Compounds and Qualitative Analysis by FTIR-ATR Spectroscopy. *Foods.* 2020;9:10. doi: 10.3390/foods9010010.
94. Tian E-K, Wang Y, Ren R, Zheng W, Liao W. Gold Nanoparticle: Recent Progress on Its Antibacterial Applications and Mechanisms. *J Nanomater.* 2021;2021:2501345. doi: 10.1155/2021/2501345.
95. Cui Y, Zhao Y, Tian Y, Zhang W, Lü X, Jiang X. The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on *Escherichia coli*. *Biomaterials.* 2012;33:2327–2333. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.11.057.



**Anexo 1.** Determinación del tamaño de partícula en el software Image J.



**Anexo 2.** Semillas de papaya arequipeña.



**Anexo 3.** Pulverización de semillas de papaya arequipeña en molino de cuchillas.



**Anexo 4.** Semillas de papaya arequipeña pulverizadas.



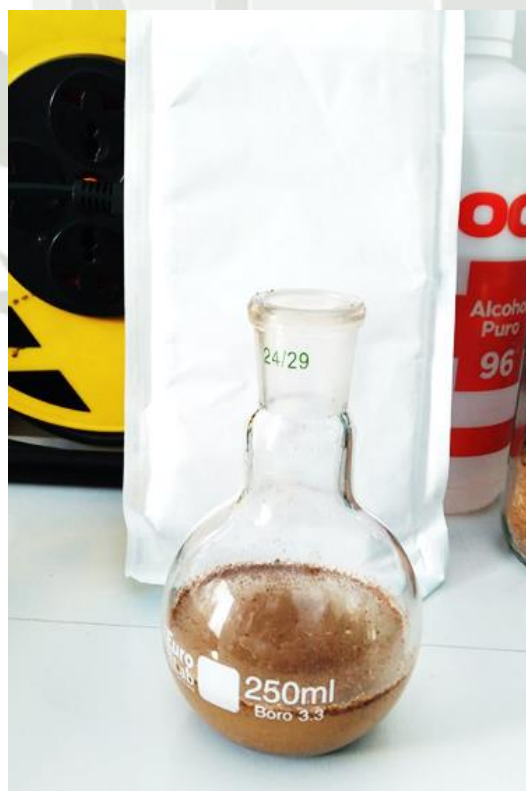
**Anexo 5.** Peso de semillas de papaya arequipeña para la preparación de extractos.



**Anexo 6.** Semillas de papaya arequipeña en el balón.



**Anexo 7.** Adición de 100 mL de agua destilada.



**Anexo 8.** Sistema de extracción por reflujo.



**Anexo 9.** Filtración del extracto.



**Anexo 10.** Extracto acuoso de semillas de papaya arequipeña.



**Anexo 11.** Solución de ácido tetracloroáurico.



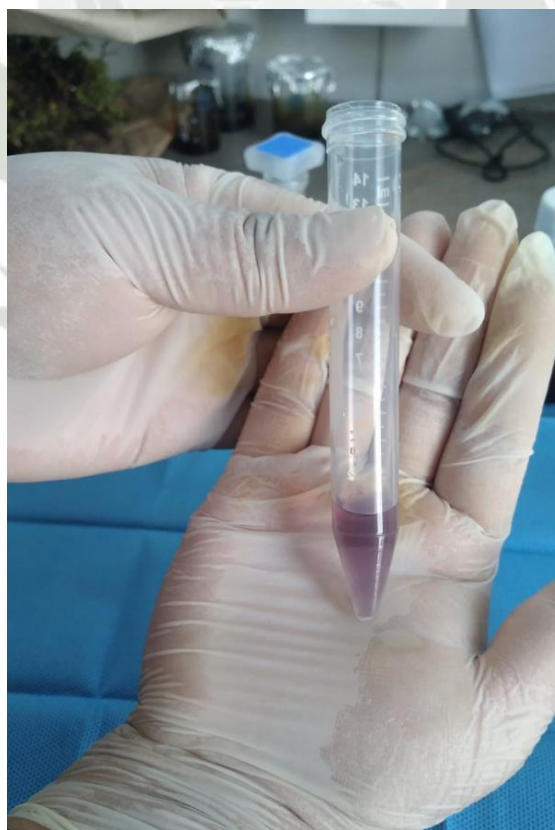
**Anexo 12.** Solución de ácido tetracloroáurico con citrato trisódico.



**Anexo 13.** Adición de 1 mL de extracto acuoso.



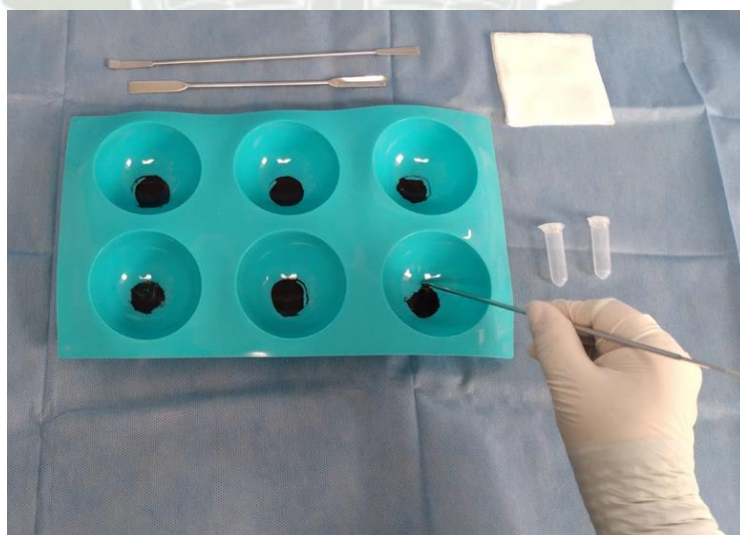
**Anexo 14.** Nanopartículas de oro biosintetizadas



**Anexo 15.** Secado de suspensiones de AuNPs



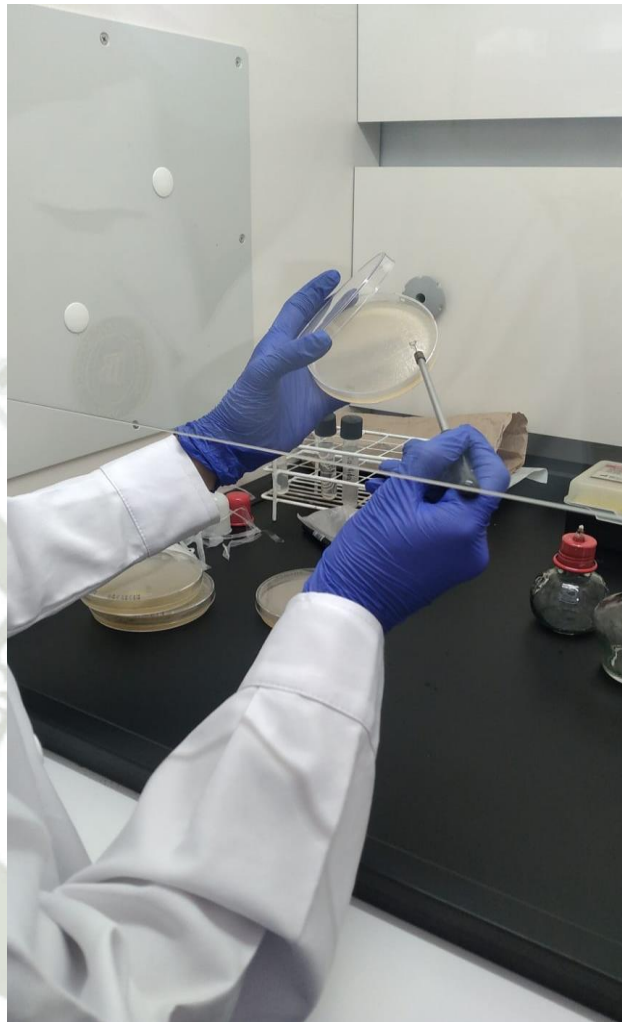
**Anexo 16.** AuNPs en polvo.



**Anexo 17. Autoclave.**



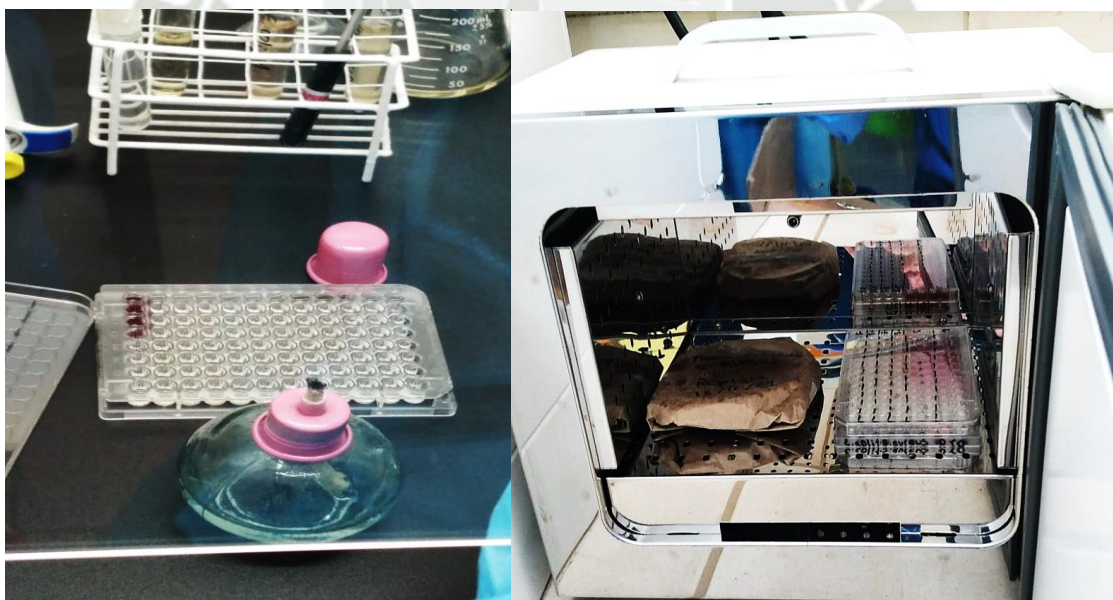
**Anexo 18.** Placas con agar Mueller Hinton con sembrado de colonia de *Escherichia coli*.



**Anexo 19.** Preparación del inóculo.



**Anexo 20.** Placas de 96 pozos para la determinación de la concentración mínima inhibitoria.







**Anexo 21.** Certificado de análisis de Escherichia coli ATCC 25922.



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p><b>SPECIFICATIONS:</b>  <b>Product Name:</b> Escherichia coli  <b>Catalog Number:</b> 0335  <b>Lot Number:</b> 335-595**  <b>Reference Number:</b> ATCC® 25922™**  <b>Passage from Reference:</b> 3  <b>Expiration Date:</b> 2027/04/30</p>	<p><b>RELEASE INFORMATION:</b>  <b>Quality Control Technologist:</b> Glenna L Jaede  <b>Release Date:</b> 2025/04/28</p>
--	--

Performance	
<p><b>Macroscopic Features:</b>                      2 colony types, both are gray &amp; beta hemolytic: one is circular to irregular, convex, slightly erose edge &amp; smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge &amp; rough</p> <p><b>Microscopic Features:</b>                      Gram negative straight rod</p>	<p><b>Medium:</b>                      SBAP</p> <p><b>Method:</b>                      Gram Stain (1)</p>
<p><b>ID System:</b> MALDI-TOF (1)</p>	
<p>See attached ID System results document.</p>	
<p><b>Other Features/ Challenges: Results</b></p> <p>(1) Oxidase (Kovacs): negative                      Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive                      (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm                      (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm                      (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm</p>	
 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE	
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p>	
<p>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p>	
 TESTING CERT #2655.01	
	
<p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p>	
 REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2455.02	

### Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



#### Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	Green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	Yellow
0.00 – 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	Red

#### Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	<b>High consistency:</b> The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	<b>Low consistency:</b> The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	<b>No consistency:</b> The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time: 4/22/2025 11:05 AM TAL

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D5 (+++) (A)	335-595	Escherichia coli	2.21

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment



**Anexo 22.** Constancia de determinación de análisis de semillas de papaya arequipeña.



INSTITUTO CIENTIFICO MICHAEL OWEN DILLON (IMOD)

Investigación, Conservación, Educación y Transformación de Recursos

Reconocido por Resolución de Dirección General Nro. 140-2016-SERFOR/DGSPFFS



"Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana"

**CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN  
N° 021-2025**

El Presidente del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD).

**HACE CONSTAR:**

Que la muestra presentada por Erica Cuba Cutiri, recolectada en el distrito, provincia y departamento de Arequipa, en las coordenadas de ubicación: S 16°24'11" y O 71°32'06", a una elevación aproximada de 2345 m, para la realización de la tesis titulada: "Biosíntesis de nanopartículas de oro utilizando extracto de semillas de *Vasconcellea pubescens* (papaya arequipeña) para su aplicación como antibacteriano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922", presentada en la Universidad Católica de Santa María. Fue determinada taxonómicamente en las instalaciones del Herbario Sur Peruano (HSP), del Instituto Científico Michael Owen Dillon, corresponde a:

**Clase:** Equisetopsida C. Agardh

**Subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.

**Orden:** Brassicales Bromhead

**Familia:** Caricaceae Dumort.

**Género:** *Vasconcellea* A. St.-Hill.

**Especie:** *Vasconcellea pubescens* A. DC.

La clasificación se ha realizado según la propuesta por: *Angiosperm Phylogeny Group (APG) IV* en "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV" (2016).

Se expide la presente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Arequipa, 20 de octubre de 2025.



Blgo. Daniel Fernando Ramos Aranibar

C. B. P. N° 9552

Presidente del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD)

Herbario Sur Peruano (HSP)

danferamos@gmail.com

dramos@imod.org.pe



**Anexo 23.** Diámetros de nanopartículas de oro calculadas en el software Image J.

<b>AuNPs</b>	<b>Diámetro (nm)</b>	<b>AuNPs</b>	<b>Diámetro (nm)</b>	<b>AuNPs</b>	<b>Diámetro (nm)</b>
<b>1</b>	8.458	<b>31</b>	8.091	<b>147</b>	8.511
<b>2</b>	7.951	<b>32</b>	7.827	<b>148</b>	8.67
<b>3</b>	6.938	<b>33</b>	10.655	<b>149</b>	5.442
<b>4</b>	8.63	<b>34</b>	8.056	<b>150</b>	3.194
<b>5</b>	8.142	<b>35</b>	3.082	<b>151</b>	8.754
<b>6</b>	7.827	<b>36</b>	9.581	<b>152</b>	8.396
<b>7</b>	7.405	<b>37</b>	8.865	<b>153</b>	8.495
<b>8</b>	6.48	<b>38</b>	10.733	<b>154</b>	9.932
<b>9</b>	7.117	<b>39</b>	7.569	<b>155</b>	9.464
<b>10</b>	7.214	<b>40</b>	8.4	<b>156</b>	8.458
<b>11</b>	5.803	<b>41</b>	2.847	<b>157</b>	8.069
<b>12</b>	2.955	<b>42</b>	8.358	<b>158</b>	7.448
<b>13</b>	2.778	<b>43</b>	7.697	<b>159</b>	9.991
<b>14</b>	10.965	<b>130</b>	9.53	<b>160</b>	10.209
<b>15</b>	7.537	<b>131</b>	7.697	<b>161</b>	8.108
<b>16</b>	7.405	<b>132</b>	7.929	<b>162</b>	9.021
<b>17</b>	8.722	<b>133</b>	7.573	<b>163</b>	8.944
<b>18</b>	9.345	<b>134</b>	9.897	<b>164</b>	9.16
<b>19</b>	9.127	<b>135</b>	8.726	<b>165</b>	9.002
<b>20</b>	9.127	<b>136</b>	9.464	<b>166</b>	8.511
<b>21</b>	9.625	<b>137</b>	8.798	<b>167</b>	10.638
<b>22</b>	8.687	<b>138</b>	9.412	<b>168</b>	8.295
<b>23</b>	8.484	<b>139</b>	9.693	<b>169</b>	9.266
<b>24</b>	9.571	<b>140</b>	9.548	<b>170</b>	7.947
<b>25</b>	7.297	<b>141</b>	13.273	<b>171</b>	9.808
<b>26</b>	9.007	<b>142</b>	8.295	<b>172</b>	9.266
<b>27</b>	7.61	<b>143</b>	9.533	<b>173</b>	8.358
<b>28</b>	9.412	<b>144</b>	12.375	<b>174</b>	8.658
<b>29</b>	3.343	<b>145</b>	9.621	<b>265</b>	10.311
<b>30</b>	6.565	<b>146</b>	10.065	<b>266</b>	10.407

AuNPs	Diámetro (nm)	AuNPs	Diámetro (nm)	AuNPs	Diámetro (nm)
<b>267</b>	8.651	<b>296</b>	10.552	<b>325</b>	3.556
<b>268</b>	10.333	<b>297</b>	7.038	<b>326</b>	7.665
<b>269</b>	8.902	<b>298</b>	11.104	<b>327</b>	9.548
<b>270</b>	10.911	<b>299</b>	13.428	<b>328</b>	9.247
<b>271</b>	5.806	<b>300</b>	8.039	<b>329</b>	9.726
<b>272</b>	8.688	<b>301</b>	10.168	<b>330</b>	8.299
<b>273</b>	10.065	<b>302</b>	11.611	<b>331</b>	9.16
<b>274</b>	13.767	<b>303</b>	10.704	<b>332</b>	11.642
<b>275</b>	9.237	<b>304</b>	9.125	<b>333</b>	8.159
<b>276</b>	10.699	<b>305</b>	10.585	<b>334</b>	7.443
<b>277</b>	10.115	<b>306</b>	9.932	<b>335</b>	10.638
<b>278</b>	11.224	<b>307</b>	8.798	<b>336</b>	4.399
<b>279</b>	10.124	<b>308</b>	10.209	<b>337</b>	8.261
<b>280</b>	9.021	<b>309</b>	10.926	<b>338</b>	8.495
<b>281</b>	8.061	<b>310</b>	10.362	<b>339</b>	7.117
<b>282</b>	10.376	<b>311</b>	8.986	<b>340</b>	9.693
<b>283</b>	9.24	<b>312</b>	9.375	<b>341</b>	10.116
<b>284</b>	6.027	<b>313</b>	10.264	<b>342</b>	3.194
<b>285</b>	9.021	<b>314</b>	9.048	<b>343</b>	3.595
<b>286</b>	9.489	<b>315</b>	9.341	<b>344</b>	6.365
<b>287</b>	8.694	<b>316</b>	7.706	<b>345</b>	8.069
<b>288</b>	10.392	<b>317</b>	7.19	<b>346</b>	10.733
<b>289</b>	6.354	<b>318</b>	7.697	<b>347</b>	7.773
<b>290</b>	8.412	<b>319</b>	10.058	<b>348</b>	9.621
<b>291</b>	9.932	<b>320</b>	6.387	<b>349</b>	10.785
<b>292</b>	9.949	<b>321</b>	8.511	<b>350</b>	8.944
<b>293</b>	10.199	<b>322</b>	3.385	<b>351</b>	8.295
<b>294</b>	10.632	<b>323</b>	3.556	<b>352</b>	9.041
<b>295</b>	8.609	<b>324</b>	2.18	<b>353</b>	10.638

AuNPs	Diámetro (nm)
354	6.343
355	6.085
356	9.464
357	10.058
358	6.148

