

UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
CAMPUS LOS ÁNGELES
ESCUELA DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA VEGETAL



**Efectos Biológicos de Extracto Acuoso obtenido desde *Acaena
pinnatifida* Ruiz et Pav.”**

PROYECTO DE TÍTULO PARA OPTAR
AL TÍTULO DE INGENIERA EN
BIOTECNOLOGÍA VEGETAL.

VALENTINA BURGOS GRANDÓN

LOS ÁNGELES - CHILE

2022

**EFFECTOS BIOLÓGICOS DE EXTRACTO ACUOSO OBTENIDO DESDE ACAENA
PINNATIFIDA (RUIZ ET PAV)**

Alumna

*Valentina Burgos Grandón
Ingeniera en Biotecnología Vegetal*

Profesor Guía

*Dr. Carlos Schneider Barrera
Profesor Asociado
Químico Farmacéutico*

Jefe de Carrera

*Ing. Pedro Quiroz Hernández
Profesor Instructor
Ingeniero de Ejecución Forestal*

Directora de Departamento

*Dra. Marely Cuba Díaz
Profesora Titular
Bióloga*

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar esta gran etapa, principalmente agradecer a mi profesor guía Carlos Schneider por haberme recibido como su alumna y confiar en mis capacidades de poder llevar a cabo esta investigación, por brindarme sus conocimientos y ayuda para seguir adelante día a día.

Agradezco a mis padres Erika y Wladimir, hermanos Sofia y Matías, a mi hijo Santino por ser mi motivación para nunca rendirme. Familia como Sergio B, Carmen G, Matias L, Ana L, Claudia C, Nicolás B, Claudia O, y muchos más, ya que cada uno aportó su granito de arena para que esto fuese posible. A mis amigas de universidad Fernanda, Vjeruscka, Constanza, Solange y Marcela por ser parte de estos largos años, por los ramos aprobados y todas las enseñanzas que nos dejó este arduo trabajo, siguiendo adelante frente a toda complicación.

Este logro se lo dedico a Sylvia Alarcón por siempre motivarme, por enseñarme el significado del trabajo honesto, sus conversaciones y consejos, por amarme tanto, sin este apoyo nada de esto sería posible, siendo un ejemplo de ser luchadora. Gracias Lelita.

Índice de contenidos

Resumen	10
Abstract	11
1. Introducción	12
2. Hipótesis	13
3. Objetivos.....	13
3.1 Objetivo general.....	13
3.2 Objetivos específicos.....	13
4. Marco teórico	13
4.1 Descripción de la especie.....	13
4.2 Actividad antioxidante.....	14
4.3 Especies reactivas del oxígeno (ROS)	15
4.4 Trolox	16
4.5 Polifenoles.....	16
4.6 Flavonoides	17
4.7 Efecto antimicrobiano	19
5 Materiales y métodos	19
5.1 Material Vegetal.....	19
5.2 Preparación de extracto vegetal	19
5.3 Evaluación de efecto antioxidante con radical DPPH.....	20
5.4 Determinación de equivalentes de AG	21
5.5 Evaluación de efecto antioxidante con radical ABTS ⁺	22
5.6 Determinación de equivalentes de Trolox	22
5.7 Evaluación de efecto antioxidante con ensayo de cinética mediante DPPH	23
5.8 Evaluación de efecto antioxidante con ensayo de cinética mediante ABTS ⁺	23
5.9 Determinación de polifenoles totales.....	24
5.10 Evaluación de concentración de flavonoides totales	25
5.11 Determinación de efecto antimicrobiano	25

5.12	Análisis de la información	26
6	Resultados	27
6.1	Rendimiento de extracto	27
6.2	Actividad antioxidante mediante ensayo de DPPH	27
6.3	Determinación de equivalentes de AG	28
6.4	Actividad antioxidante con radical ABTS ⁺	32
6.5	Determinación de equivalentes de trolox	33
6.6	Evaluación de efecto antioxidante en el tiempo mediante ensayo de DPPH	36
6.7	Evaluación de efecto antioxidante en el tiempo mediante ensayo de ABTS ⁺	37
6.8	Determinación de polifenoles totales.....	38
6.9	Determinación de flavonoides totales.....	41
6.10	Evaluación de actividad antimicrobiana	44
7	Discusión.....	45
8	Conclusiones.....	46
	Bibliografía	47
	Anexos	53

Índice de imágenes, figuras y tablas

Imagen 1.	<i>A. pinnatifida</i> . Nevados de Chillán. Región de Ñuble.....	14
Imagen 2.	Estructura química de radical ABTS ⁺	15
Imagen 3.	Estructura química de radical DPPH.....	15
Imagen 4.	Estructura química de trolox	16
Imagen 5.	Principales grupos de polifenoles.....	17
Imagen 6.	Estructura química de flavonoides	18
Imagen 7.	Estructura química de Catequina.....	18
Imagen 8.	Placas de cultivo con microorganismos bacterianos y fúngicos.....	45

Figura 1. Curva de porcentaje de inhibición en DPPH de parte aérea y raíz.....	27
Figura 2. Curva de calibración de AG.....	28
Figura 3. Curva de porcentaje de inhibición en ABTS ⁺ de parte aérea y raíz.....	32
Figura 4. Curva de calibración de Trolox.....	33
Figura 5. Curva de cinética con método DPPH en parte aérea y raíz.....	36
Figura 6. Curva de cinética con método ABTS ⁺ en parte aérea y raíz.....	37
Figura 7. Curva de calibración de AG para polifenoles.....	38
Figura 8. Curva de calibración de Catequina.....	41
Tabla 1. Patógenos empleados para la determinación en ensayos antimicrobianos.....	26
Tabla 2. Rendimiento en solvente acuoso de extractos de <i>A. pinnatifida</i>	27
Tabla 3. Ecuaciones de la curva y R ² para parte aérea y raíz en ensayo de DPPH.....	28
Tabla 4. Ecuaciones de la curva y R ² de parte aérea y raíz en ensayo de ABTS ⁺	32
Tabla 5. Concentraciones con sus determinadas absorbancias con ensayo de DPPH de extracto acuoso de parte aérea.....	53
Tabla 6. Obtención de disminución, porcentaje de disminución, promedio porcentaje de disminución absorbancias y desviación estándar para parte aérea con ensayo de DPPH.....	53
Tabla 7. Concentraciones con sus determinadas absorbancias con ensayo de DPPH de extracto acuoso de la raíz.....	54
Tabla 8. Obtención de disminución, porcentaje de disminución, promedio porcentaje de disminución absorbancias y desviación estándar para la raíz con ensayo de DPPH.....	54
Tabla 9. Absorbancias obtenidas para la curva de calibración de AG y su desviación estándar.....	54
Tabla 10. Absorbancias obtenidas en triplicado de parte aérea para AG.....	54
Tabla 11. Absorbancias obtenidas en triplicado de la raíz para AG.....	54

Tabla 12. Concentraciones con sus determinadas absorbancias con ensayo de ABTS ⁺ de extracto acuoso de parte aérea	55
Tabla 13. Obtención de disminución, porcentaje de disminución, promedio porcentaje de disminución absorbancias y desviación estándar para parte aérea con ensayo de ABTS ⁺	55
Tabla 14. Concentraciones con sus determinadas absorbancias con ensayo de ABTS ⁺ de extracto acuoso de la raíz.....	55
Tabla 15. Obtención de disminución, porcentaje de disminución, promedio porcentaje de disminución absorbancias y desviación estándar para la raíz con ensayo de ABTS ⁺	56
Tabla 16. Absorbancias obtenidas para curva de calibración de trolox y su desviación estándar	56
Tabla 17. Absorbancias obtenidas en triplicado de parte aérea para trolox.....	56
Tabla 18. Absorbancias obtenidas en triplicado de la raíz para trolox	56
Tabla 19. Absorbancias obtenidas durante el tiempo mediante ensayo de DPPH en parte aérea, las disminuciones, porcentajes de disminuciones, su promedio y la desviación estándar	57
Tabla 20. Absorbancias obtenidas durante el tiempo mediante ensayo de DPPH en la raíz, las disminuciones, porcentajes de disminuciones, su promedio y la desviación estándar	58
Tabla 21. Absorbancias obtenidas durante el tiempo mediante ensayo de ABTS ⁺ en parte aérea, las disminuciones, porcentajes de disminuciones, su promedio y la desviación estándar.....	59
Tabla 22. Absorbancias obtenidas durante el tiempo mediante ensayo de ABTS ⁺ en la raíz, las disminuciones, porcentajes de disminuciones, su promedio y la desviación estándar	60
Tabla 23. Obtención de absorbancias para cálculo de polifenoles	61
Tabla 24. Absorbancias obtenidas de parte aérea con concentración para determinación de polifenoles totales.....	61
Tabla 25. Absorbancias obtenidas de la raíz con concentración para determinación de polifenoles totales.....	61

Tabla 26. Obtención de absorbancias para cálculo de flavonoides	61
Tabla 27. Absorbancias obtenidas de parte aérea con concentración para determinación de flavonoides totales.....	61
Tabla 28. Absorbancias obtenidas de parte raíz con concentración para determinación de flavonoides totales.....	61

Lista de abreviaturas

AG: Ácido gálico

ABTS: 2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico)

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

ROS: especies reactivas de oxígeno

IC₅₀: concentración inhibitoria media (50%)

K₂S₂O₈: Persulfato de potasio

Folin-C: Folin-Ciocalteu

Na₂CO₃: Carbonato de sodio

NaNO₂: Nitrito de sodio

AlCl₃: Cloruro de aluminio

NaOH: Hidróxido de sodio

M: Molar

HNO₃: Ácido nítrico

NH₄OH: Hidróxido de amonio

NH₃: Amoniaco

g: gramos

mg: Miligramos

mL: Mililitros

μL: Microlitros

A. pinnatifida: *Acaena pinnatifida*

EA: Extracto acuoso

%I: Porcentaje de inhibición

P%I: Promedio de porcentaje de inhibición

Resumen

La especie *Acaena pinnatifida* (Ruiz et Pav), es una de las especies dominantes en la comunidad subalpina de la Cordillera de los Andes y crece principalmente en las zonas andinas de Chile y Argentina. El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto antioxidante y antimicrobiano en extracto acuoso, diferenciando entre sus partes aérea y raíces. Para determinar la actividad antioxidante se utilizaron los métodos con el radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) y el radical ABTS (2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico).

Por otro lado, se realizaron mediciones para determinar las cantidades de polifenoles totales utilizando el método de Folin-Ciocalteu entregados en equivalentes de ácido gálico (AG), y la determinación de cantidad de flavonoides totales con equivalentes de catequina, obteniendo un mayor efecto en la parte aérea de *A. pinnatifida*. Los valores obtenidos para el contenido de polifenoles en equivalentes de AG en parte aérea y raíz fueron $149,87 \pm 2,04$ y $115,37 \pm 3,10$ mg respectivamente. Por otro lado, el contenido de flavonoides expresados en catequina fue $119,33 \pm 4,04$ mg para parte aérea y $91,67 \pm 5,51$ mg en la raíz, en 1000 mg de extracto acuoso.

Además, se desarrolló un ensayo para determinar la actividad antimicrobiana de la planta con patógenos bacterianos y fúngicos, en donde no se observó efecto en ningún patógeno utilizado.

Mediante esta investigación y con los datos obtenidos, es posible concluir que los extractos de parte aérea y raíz de *A. pinnatifida* poseen efectos antioxidantes. Sin embargo, los resultados obtenidos para la actividad antimicrobiana no fueron satisfactorios, los cuales fueron realizados solo a una concentración de extracto acuoso. En comparación con otros estudios de esta especie, esta investigación fue realizada con extracto acuoso.

Es importante la búsqueda constante de nuevas fuentes de antioxidantes naturales y aplicación de métodos para evaluar dichos efectos, dejando una puerta abierta a posibles usos relacionados con el efecto biológico de la planta investigada.

Abstract

The species *Acaena pinnatifida* (Ruiz et Pav) is one of the dominant species in the subalpine community of the Andes Mountains and grows mainly in the Andean areas of Chile and Argentina. The purpose of this research was to evaluate the antioxidant and antimicrobial effect of the aqueous extract, differentiating between its aerial parts and root. To determine the antioxidant activity, the methods with the DPPH radical (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) and the ABTS radical (2,2'-Azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) were used.

On the other hand, measurements were made to determine the amounts of total polyphenols using the Folin-Ciocalteu method delivered in gallic acid equivalents and the determination of the amount of total flavonoids with catechin equivalents, obtaining a greater effect on the aerial part of *A. pinnatifida*. The values obtained for the content of polyphenols in gallic acid equivalents in the aerial part and root were 149.87 ± 2.04 and 115.37 ± 3.10 mg, respectively. On the other hand, the content of flavonoids expressed in catechin was 119.33 ± 4.04 mg for aerial part and 91.67 ± 5.51 mg for root, in 1000 mg of aqueous extract.

In addition, an assay was developed to determine the antimicrobial activity of the plant with bacterial and fungal pathogens, where no effect was observed on any pathogen used.

Through this investigation and with the data obtained, it is possible to conclude that the extracts of the aerial part and root of *A. pinnatifida* have an antioxidant effect, however, the results obtained for the antimicrobial activity were not satisfactory, which were carried out in a single concentration of aqueous extract. In comparison with other studies of this species, this study was carried out with an aqueous extract.

The constant search for new sources of natural antioxidants and the application of methods to evaluate said effects is important, leaving the door open to possible uses related to the biological effect of the plant.

1. Introducción

Existe cada día un mayor interés por los problemas relacionados con el estrés oxidativo producido por los radicales libres, y las especies reactivas del oxígeno, siendo los antioxidantes presentes en vegetales, agentes importantes para prevenir el daño producido por el estrés oxidativo (Venereo 2002).

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos, ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables, con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica (Avello y Suwalsky 2006). La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, sin embargo, tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor, provocando un gran daño a las moléculas y tejidos. La capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos, a través de los cuales, la célula anula la reactividad y/o inhibe la generación de radicales libres (Avello et al. 2006).

Actualmente existen diferentes métodos para determinar el efecto antioxidante, uno de los que se utilizarán será DPPH, que es un método espectrofotométrico con el cual es posible evaluar la capacidad total de la muestra. Además, aplicaremos el método de ABTS⁺, este se basa en la relación con la reactividad de trolox (Tena et al. 2020).

Las plantas medicinales se consideran una alternativa para controlar o solucionar enfermedades antibacterianas, antiinflamatorias, entre otras (Saavedra et al. 2018).

Acaena pinnatifida es una especie perenne, comúnmente conocida como pimpinela (Imagen 1). Es capaz de tolerar ambientes secos, grandes cambios de temperatura, tanto en invierno como en verano y grandes radiaciones solares (Troncoso 2018). *A. pinnatifida* es predominante en la comunidad subalpina de la cordillera de los Andes. Se distribuye desde la provincia chilena de Coquimbo por el norte, hasta las Islas de Magallanes por el sur. Esta planta es empleada en medicina popular por ser astringente suave y diurético (Valcic et al. 1997).

2. Hipótesis

Existe diferencia sobre el efecto antioxidante entre la raíz y la parte aérea de *A. pinnatifida*. El extracto de la raíz y la parte aérea de *A. pinnatifida* presentan efecto antimicrobiano.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Determinar actividades biológicas en extractos acuosos obtenidos desde raíz y parte aérea de *A. pinnatifida*.

3.2 Objetivos específicos

- Evaluar la actividad antioxidante *in vitro* de forma separada en el extracto acuoso obtenido desde raíz y extracto acuoso obtenido desde las partes aéreas de *A. pinnatifida*.
- Determinar el efecto antimicrobiano de los extractos acuosos obtenidos desde raíz y parte aérea de *A. pinnatifida*.

4. Marco teórico

4.1 Descripción de la especie

El género *Acaena* (Rosaceae) comprende 125 especies, de las cuales, 19 se encuentran en Chile (Squeo et al. 1994). La especie *Acaena pinnatifida* o pimpinela como nombre común, es una especie que pertenece a este género. Es una planta herbácea que crece desde unos 15 cm con un rizoma corto y numerosas hojas divididas. Es una de las especies dominantes en la comunidad subalpina de la Cordillera de los Andes (Montenegro et al. 1981). Crece principalmente en las zonas andinas de Chile y Argentina, y en Chile crece desde la región de Valparaíso hasta la región de Magallanes (Rodríguez et al. 2018).

La especie *A. pinnatifida* posee la capacidad de sobrevivir en lugares bajo condiciones de estrés abiótico, como lo es la sequedad, una alta radiación ultravioleta en zonas de altura precordillerana andina, y bajo nieve en invierno, en consecuencia, esta especie presentaría capacidad antioxidante junto a otros efectos biológicos (Troncoso 2018).



Imagen 1. *A. pinnatifida*. Nevados de Chillán. Región de Ñuble.

4.2 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa, de tal manera que un antioxidante actúa, principalmente, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres (Londoño 2012). Los antioxidantes son compuestos químicos que el cuerpo utiliza para eliminar radicales libres, que son moléculas o fragmentos de moléculas caracterizadas por tener uno o más electrones desapareados en su orbital externo, condición que los torna altamente reactivos (Guija-Poma et al. 2015).

Esta actividad puede ser evaluada con diferentes métodos, entre ellos, los más utilizados son ABTS, DPPH, DPD, DMPO y FRAP (Soni y Loonker 2022), aunque resaltan por su alta estabilidad los procedimientos que utilizan ABTS y DPPH.

El método con el radical ABTS (2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6- ácido sulfónico)) (Imagen 2) como su estructura química se muestra en la figura 1, es uno de los más aplicados. El radical catiónico ABTS⁺ es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 415 o 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS con persulfato de potasio (Rojano et al. 2008). Este método se considera de elevada sensibilidad, práctico, rápido y muy estable, a pesar de esto, los valores de actividad antioxidante pueden depender del tiempo.

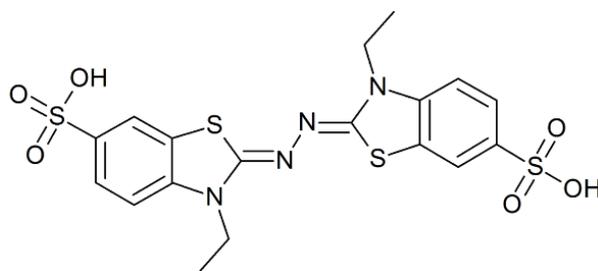


Imagen 2. Estructura química de radical ABTS⁺

Por otro lado, el método desarrollado utilizando el radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) (Imagen 3), es utilizado para determinar la capacidad antioxidante de alimentos y compuestos. La actividad antioxidante se expresa como porcentaje de inhibición, lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración (Muñoz y Gutiérrez 2004).

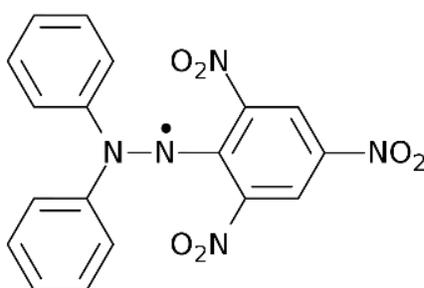


Imagen 3. Estructura química de radical DPPH

4.3 Especies reactivas del oxígeno (ROS)

Las ROS, generadas mediante una variedad de acciones extracelulares e intracelulares, han atraído la atención como nuevos mediadores de señales que involucran el crecimiento, diferenciación, progresión y muerte de la célula (Zhang et al. 2016).

Las especies reactivas del oxígeno son producidas como consecuencia del metabolismo aeróbico fisiológico normal. La cadena de transporte de electrones de la mitocondria, la NADPH oxidasa, entre otros, son las fuentes más importantes en la producción de los ROS (Carvajal 2019). El desbalance entre la producción de los ROS y el sistema de defensa antioxidante en los sistemas vivos, ocasiona una ruptura de la función celular y daño, dicho

desbalance es producido por la sobreproducción de estas especies reactivas de oxígeno y una reducción del mecanismo de defensa antioxidante (Carvajal 2019).

4.4 Trolox

Trolox (Ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) es un antioxidante (Imagen 4) como la vitamina E, que se emplea para reducir el estrés oxidativo o daño. Además, debido a su alta solubilidad en agua y su disponibilidad comercial, es usado como estándar en curvas de comparación en diferentes ensayos que involucran la actividad antioxidante (Forrest et al. 1994).

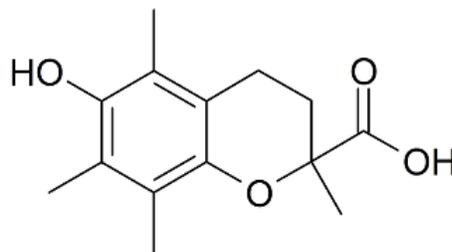


Imagen 4. Estructura química de Trolox

4.5 Polifenoles

Los polifenoles son compuestos provenientes del metabolismo secundario de las plantas y se encuentran naturalmente en alimentos y bebidas de origen vegetal. Se caracterizan por la presencia de uno o más anillos tipo benceno (Padilla et al. 2008; Zhao et al. 2022). Sus características fisicoquímicas le permiten ser partícipes de diferentes procesos metabólicos de óxido-reducción. Además, presentan propiedades antioxidantes que justifican sus efectos beneficiosos (Quiñones et al. 2012; Adomeniene y Venskutonis 2022).

El ácido gálico (AG) como muestra la Imagen 5, pertenece al grupo de los ácidos fenólicos (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico), además, es un compuesto con reconocida actividad antioxidante que reduce las ROS mediante mecanismos antiradicalarios o por quelación de metales (Nobre et al. 2019). Se encuentra en diversas fuentes naturales como plantas, frutas y verduras (Govea et al. 2013). A éste, se le atribuyen diversos efectos biológicos como actividad antiinflamatoria, antibiótica, protección cardiovascular, anticancerígena y antioxidante. En diferentes cultivos de células cancerosas, se ha observado que el AG activa

la producción de especies reactivas de oxígeno, reduciendo la concentración del glutatión intracelular, causando estrés oxidativo (Govea et al. 2013).

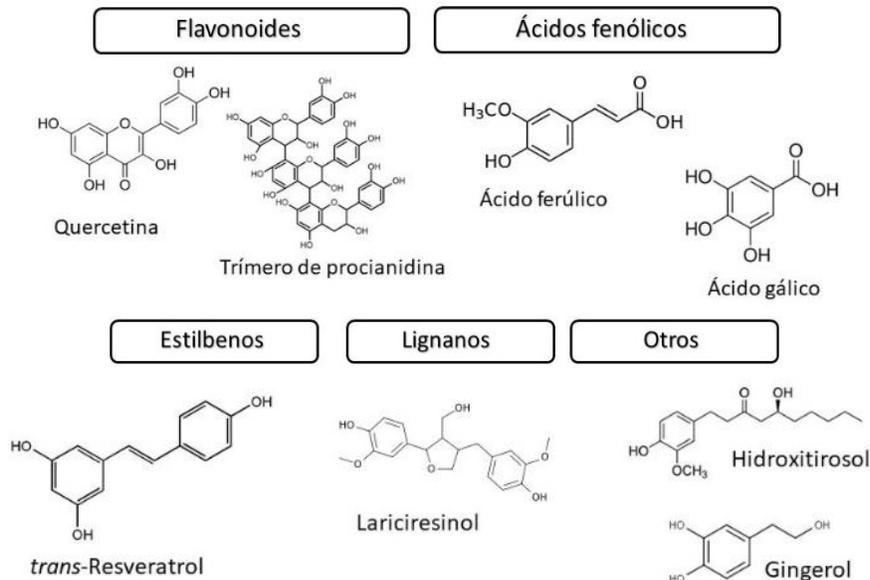


Imagen 5. Principales grupos de polifenoles

4.6 Flavonoides

El interés acerca del papel de los compuestos polifenólicos en las plantas, específicamente los flavonoides, está creciendo rápidamente (Trueba y Sanchez 2001; Wang et al. 2022). Los compuestos polifenólicos, ampliamente distribuidos en las frutas y en los vegetales, así como en el té negro, el café, la cocoa, la cerveza y el vino rojo. Pueden encontrarse desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos altamente polimerizados con pesos moleculares mayores de 30000 Da (Trueba y Sanchez 2001).

Los flavonoides son pigmentos naturales que podemos encontrar en vegetales y poseen la propiedad de proteger al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como son los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas incluidas en los alimentos, etc (Martínez-Flórez et al. 2002).

Algunos tipos de flavonoides (Imagen 6), están relacionados por una misma ruta biosintética. Entre ellos podemos encontrar las flavonas y flavonoles, los cuales se encuentran en vegetales y son de los flavonoides más comunes, se distribuyen en los

pigmentos amarillos de las plantas (Cartaya et al. 2001). También podemos encontrar las flavononas, estos son compuestos presentes en pequeñas cantidades si se compara con otros flavonoides. Este grupo es incoloro o pueden ser levemente amarillos. Las antocianinas son otro tipo de flavonoides, se encuentran como glicósidos; seguidos de la clorofila, se catalogan como un grupo importante de pigmentos en plantas visibles al ojo humano. Por otro lado, destacan los isoflavonoides, los cuales son coloreados y se encuentran menos distribuidas en la planta (Cartaya et al. 2001).

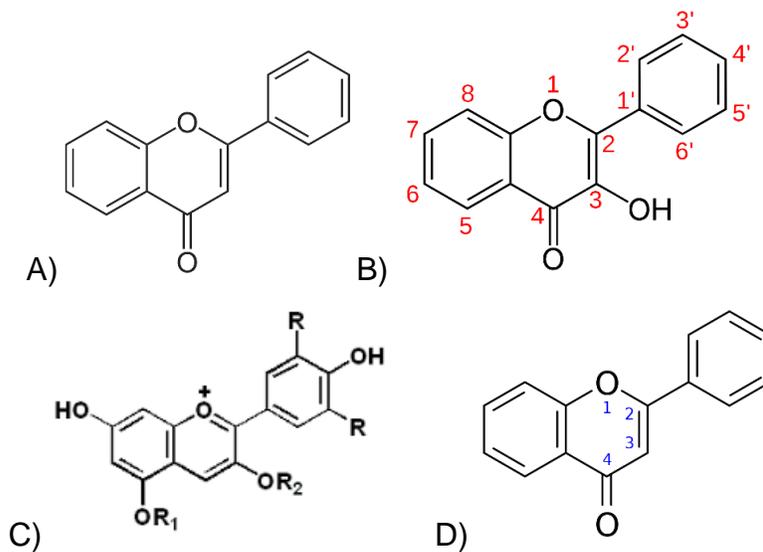


Imagen 6. Estructura química de flavonoides: A) Flavona. B) Flavonol
C) Antocianina D) Isoflavonoide

La catequina como se muestra en la Imagen 7 su estructura, (2R,3S)-2-(3,4-dihydroxifenil)-3,4-dihidro-2H-chromene-3,5,7-triol), es un antioxidante polifenólico que procede de las plantas en las cuales aparece como un metabolito secundario. Las catequinas están presentes en variedades de hierbas como el té, también en alimentos como manzanas, caquis, uvas y bayas (Isemura 2019).

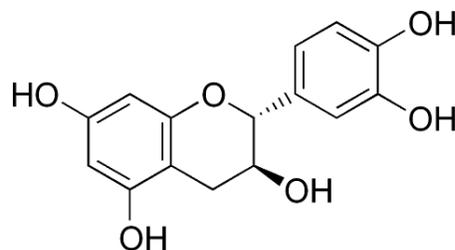


Imagen 7. Estructura química de Catequina

4.7 Efecto antimicrobiano

La búsqueda constante de principios activos mediante productos de origen natural y que se les atribuya un potencial antimicrobiano, se va transformando en necesidad (Mesa et al. 2017). En este trabajo de investigación se utilizarán diferentes bacterias y hongos. Entre las bacterias más conocidas y utilizadas, están *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

En el caso de *E. coli*, esta es la flora facultativa no patógena predominante del intestino humano. Sin embargo, algunas cepas de *E. coli* han desarrollado la capacidad de causar enfermedades del sistema nervioso central, urinario o gastrointestinal, incluso en los huéspedes humanos más robustos (Gomes et al. 2016).

Por otro lado, *S. aureus*, es considerado un patógeno con gran potencial para causar múltiples infecciones en el humano y en los animales. *S. aureus* es la especie tipo del grupo, considerada la más virulenta, responsable de un amplio espectro de enfermedades, que van desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves que amenazan con la vida (Cervantes-García 2014).

5. Materiales y métodos

5.1 Material Vegetal

El material vegetal de *A. pinnatifida* fue recolectado el día 20 de marzo del 2022 en cercanías del Hotel Nevados de Chillán, ubicado en la región de Ñuble, comuna de Chillán. Sus coordenadas son 36°51'48"S 71°22'36"O a 1.500 aproximadamente msnm.

Posteriormente, el material fue llevado al laboratorio de Extractos Vegetales para lavar con abundante agua y dejar a temperatura ambiente para luego separar en parte aérea y raíz.

5.2 Preparación de extracto vegetal

En el equipo Soxhlet (Glassco, 304918), se deben considerar varias etapas para la obtención del extracto vegetal, para empezar, es primordial la recolección de la planta y se debe separar la parte de interés desde la planta. Comienza con la ubicación del solvente en un balón, la ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador a reflujo, el

condensado cae sobre un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior, ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho hasta un punto en que se produce el reflujo, volviendo el solvente con el material extraído al balón. Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces necesaria para que la muestra quede agotada. Lo extraído se va concentrando en el balón del solvente.

Por otro lado, el equipo Rotavapor (Heidolph, Laborata 4001 efficient) evapora el solvente, por medio del principio de destilación, para luego llevarlas a condensación y lograr obtener un extracto seco. Este equipo consta de diversas aplicaciones, como la separación y purificación de solutos, destilaciones fraccionadas de mezclas de solventes, evaporación de disolventes, entre otros.

La extracción se realizó desde la parte aérea y desde la raíz por separado, utilizando el solvente agua destilada. En una balanza analítica (Mettler Toledo Ab204-5) fueron pesados los sobres que se introdujeron en el equipo Soxhlet, para obtener la masa de material vegetal. El material vegetal se mantuvo en maceración durante la noche entre los días de extracción.

Finalmente, el solvente utilizado se extrajo utilizando el equipo de rotavapor. El extracto obtenido fue vertido en placas Petri, la cual posteriormente fue introducida para secado en estufa (Memmert, UFB 500) a 40°C. Finalmente, se mantuvo en refrigerador.

De cada extracto obtenido, se calculó el rendimiento de extracción mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{Peso del extracto}}{\text{Peso inicial del material vegetal}} \times 100$$

Fórmula 1. Obtención del porcentaje de rendimiento del material vegetal.

5.3 Evaluación de efecto antioxidante con radical DPPH

Se midió la actividad antioxidante del extracto acuoso analizando diferentes concentraciones del mismo con la metodología detallada por Brand-Williams et al. (1995) con algunas modificaciones (Gaviria et al. 2009). Para esto, se preparó una solución stock de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) de marca Merck, con una concentración de 0,036

mg/mL, ajustando su absorbancia a 0.8 – 0.9, leída a una longitud de onda de 517 nm en espectrofotómetro (Termo Scientific Genesis 10UV). A su vez, se preparó una solución madre de su parte aérea y raíz de 5 mg/mL cada una, a partir de esta se realizaron diferentes diluciones para la obtención de concentración de 0,05; 0,15; 0,25; 0,35; 0,45; 0,55; 0,65; 0,75; 0,85; 0,95 para la parte aérea y concentraciones de 0,15; 0,25; 0,35; 0,45; 0,55; 0,65; 0,75; 0,85; 0,95; 1,05 mg/mL para la parte de raíz.

Posteriormente, a un volumen de 2 mL de la solución del radical DPPH se aplicaron 175 µL de extracto, y se realizó medidas de absorbancia en espectrofotómetro a 517 nm luego de transcurrido 1 minuto de agitación suave. El blanco empleado para las mediciones fue agua, y el control negativo fueron 175 µL de agua y 2 mL de solución de DPPH. Todas las mediciones se llevaron a cabo en triplicado.

Se evaluó la capacidad antioxidante calculando el porcentaje de disminución de radical DPPH presente en las muestras por medio de la absorbancia y determinando la concentración de extracto para lograr una disminución de un 50% de la absorbancia o IC₅₀, además, se calculó el IC₅₀, considerando el efecto de dilución provocado por el solvente. El porcentaje de disminución de Absorbancia se determinó según la siguiente fórmula:
 (Absorbancia control – Absorbancia extracto) = Disminución de la absorbancia.

$$\begin{array}{l} \text{Abs. Control} \quad \longrightarrow \quad 100\% \\ \text{Disminución de Abs.} \quad \longrightarrow \quad X \\ X = \% \text{ de disminución de absorbancia} \end{array}$$

Fórmula 2. Obtención del porcentaje de disminución de la absorbancia.

5.4 Determinación de equivalentes de AG

Se determinó la equivalencia en AG para la reducción de radical DPPH obtenida desde el ensayo de actividad antioxidante. Para calcular la mencionada equivalencia, se mezcló 2 mL de radical DPPH con 175 µL del extracto en concentraciones de los respectivos IC₅₀, de ambas partes de la planta, para luego leer a 517 nm luego de 1 minuto de agitación, realizada en triplicado en el espectrofotómetro.

El resultado fue comparado con una curva de calibración, desde una solución stock de 1 mg/mL confeccionada previamente con concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50 µg/mL de AG en triplicado. Los resultados fueron expresados como mg de AG equivalentes en 1 g de extracto.

5.5 Evaluación de efecto antioxidante con radical ABTS⁺

Se utilizó la metodología según Zhou et al. (2019) con modificaciones. Para esto se preparó el radical ABTS⁺ mezclando 180 mg de ABTS⁺ (2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6- ácido sulfónico)) (Merck), con 33,11 mg de K₂S₂O₈ en un matraz de 50 mL aforando con agua, dejando en incubación a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16 hrs.

Transcurrido el periodo de incubación se diluyó el ABTS⁺ hasta alcanzar una absorbancia de 0.7±0.02 a 734 nm en espectrofotómetro (Termo Scientific Genesis 10UV).

Una vez ajustado el ABTS⁺, se tomaron 2 mL del radical, al cual se le adicionó 175 µL del extracto acuoso, se agitó suavemente para homogenizar la mezcla y se midió la absorbancia luego de 1 minuto a 734nm. Se midió la actividad antioxidante de la parte aérea con concentraciones 0,01; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,35 mg/mL y para la parte de raíz se utilizaron concentraciones de 0,01; 0,03; 0,05; 0,07; 0,09; 0,11; 0,13; 0,15; 0,17 mg/mL.

Se utilizó una muestra control de 175 µL del solvente del extracto y 2 mL de solución de ABTS⁺, todas las medidas se llevaron a cabo en triplicado.

Se evaluó la capacidad antioxidante por medio del porcentaje de disminución de ABTS⁺, según las absorbancias obtenidas para cada concentración, en relación a la absorbancia del radical diluido por el solvente. Fue utilizada la Fórmula 2.

5.6 Determinación de equivalentes de Trolox

Se desarrolló una curva de calibración de Trolox con diferentes concentraciones: 0,005; 0,01; 0,015; 0,020; 0,025; 0,030; 0,035; 0,040; 0,045; 0,050 mg/mL. Se extrajeron 175µL de cada una de las concentraciones y se agregaron a 10 tubos que contenían 2 mL de radical catiónico ABTS⁺. Se preparó además un control negativo que contenía 2 mL de ABTS⁺ y

175 μ L de agua. Se agitaron enérgicamente para homogeneizar, y se realizaron lecturas en el espectrofotómetro a 734 nm. Este procedimiento fue realizado 3 veces para obtener una curva de calibración desde medidas en triplicado.

Para calcular equivalentes de Trolox se realizaron mediciones en triplicado de los extractos en concentración IC_{50} junto con 2 ml de ABTS⁺ para leer su absorbancia y se interpolaron en la curva de calibración.

5.7 Evaluación de efecto antioxidante con ensayo de cinética mediante DPPH

Se determinó el efecto antioxidante del extracto a través del tiempo, para lo que se empleó la concentración IC_{50} ajustada al efecto del solvente.

Se añadieron 2 mL de DPPH más 175 μ L de extracto, seguido de agitación vigorosa, se procedió a realizar medidas de absorbancia a 517 nm cada 5 minutos por un periodo de 2 horas 15 minutos. Las mediciones se realizaron en triplicado.

Se realizó el cálculo de la disminución de absorbancia, el porcentaje de inhibición y el promedio de estos para poder llevar al cabo la curva de cinética.

5.8 Evaluación de efecto antioxidante con ensayo de cinética mediante ABTS⁺

Se mezcló 2 mL de radical, previamente ajustado a una absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 734nm, junto a 175 μ L del extracto en estudio, en la concentración correspondiente al IC_{50} calculado desde el ensayo de actividad antioxidante con radical catiónico ABTS⁺, anteriormente realizado.

La mezcla se agitó y se midió la absorbancia a 734nm cada 5 minutos por un periodo de 2 horas y 15 minutos. Las mediciones se realizaron en triplicado en espectrofotómetro.

Se realizó el cálculo de la disminución de absorbancia, el porcentaje de inhibición y el promedio de estos para poder llevar al cabo la curva de cinética.

5.9 Determinación de polifenoles totales

Se determinó los polifenoles totales con el método Folin-Ciocalteu (FC) según Hudz et al. (2019) con modificaciones.

Se determinó que cada matraz de 25 mL debía contener concentraciones de AG de 1, 2, 3, 4, 5, y 6 $\mu\text{g/mL}$, estas diluciones se obtuvieron desde una solución stock de 1 mg/mL.

Para esto, se adicionaron 1,25 ml de reactivo Folin-Ciocalteu (Merck), 5 ml de Na_2CO_3 20% v/v, y agua destilada hasta aforar. Se agitó cada solución y se dejaron reposar en oscuridad por 30 minutos a temperatura ambiente, a continuación de esto, se leyó en espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm. Además, se realizó un control negativo con todos los componentes, con excepción de una concentración de AG, reemplazando por agua destilada.

Para una previa lectura de polifenoles en extractos acuosos, se pesaron 25 mg de extracto acuoso y fueron disueltos en 5 mL de agua utilizando el equipo de ultrasonido, para preparar una solución madre de 5 mg/mL. Desde esta solución madre se extrajeron 125 μL y se adicionaron a un matraz de 25 mL, al que luego se le agregaron adicionaron 1,25 mL de reactivo FC, 5 mL de carbonato de sodio 20% v/v, por último, la mezcla fue completada con agua destilada hasta el aforo.

La concentración final del extracto acuoso en el matraz de 25 mL fue de 0.025 mg/mL. Este procedimiento se realizó 3 veces de manera que el ensayo final tuviese 3 repeticiones, las cuales se reemplazarán en la ecuación de la curva de AG para la obtención de $\mu\text{g/mL}$ de AG en extracto acuoso.

En un matraz de 25 ml se preparó un control negativo que contenía 625 μL de agua, 12,5 mL de agua destilada, 1,25 mL de reactivo FC, 5 mL de carbonato de sodio 20% v/v y fue completado con agua destilada hasta el aforo.

5.10 Evaluación de concentración de flavonoides totales

Se determinó la concentración de flavonoides utilizando el método de Agbo et al. (2015) con algunas modificaciones.

Se preparó una solución stock de 0,5 mg/mL, pesando 25 mg de catequina en 50 mL de metanol completando hasta su aforo. Se consideraron concentraciones de 0,0025; 0,005; 0,01; 0,015; 0,02; 0,03 y 0,04 mg/mL en matraces de 5 mL.

Luego que los matraces tenían los volúmenes correspondientes, se agregaron los siguientes reactivos: 150 μ L de NaNO₂ (5%), se agitó vigorosamente y se dejó en reposo por 6 minutos. Luego se añadieron 300 μ L de AlCl₃ (10%), se agitó y se mantuvo en reposo por 5 minutos. Por último, se agregó 1 mL de NaOH (1 M) para finalmente agitar y aforar con agua destilada.

El blanco se preparó con todos los reactivos a excepción de la catequina. Esto se leyó a 510 nm en espectrofotómetro, realizado en triplicado.

Para determinar e interpolar los resultados del extracto en la curva de calibración de catequina, se realizó una solución stock de 5 mg/mL para la parte aérea y raíz, donde se preparó una concentración de 0,1 mg/mL, donde se añadieron 100 μ L de solución stock en matraces de 5 mL.

A continuación, se agregaron 150 μ L de NaNO₂ (5%), se agitó vigorosamente y se dejó en reposo por 6 minutos. Luego se añadieron 300 μ L de AlCl₃ (10%), se agitó y se mantuvo en reposo por 5 minutos. Se leyó a 510 nm en espectrofotómetro, estas mediciones se realizaron en triplicado.

Los resultados obtenidos se expresaron en X μ g de catequina equivalente por 1 g de extracto acuoso desde raíz y parte aérea de *A. pinnatifida*.

5.11 Determinación de efecto antimicrobiano

Se determinó el efecto antimicrobiano de los extractos de parte aérea y raíz, estos fueron expuestos a diferentes patógenos bacterianos y fúngicos. Estos patógenos fueron

25

suministrados por el Laboratorio de microbiología y micología aplicada de la Universidad de Concepción, Campus Chillán.

Se desarrolló el ensayo utilizando el método de difusión agar sólido (Khan et al. 2007). Se prepararon placas Petri con medios y patógenos bajo campana de flujo, según los estándares de trabajo propios del laboratorio, empleando medio papa-dextrosa agar (PDA) para hongos y medio caseína-peptona (CASO) para bacterias.

Fueron utilizados medios estériles previamente preparados con el patógeno, bajo cámara de flujo laminar de cada placa empleando un sacabocado se extrajo un disco de agar (5 mm de diámetro) para cada extracto. En cada espacio fue vertido 20 µL de solución madre de 10 mg/mL por cada extracto.

Para la evaluación del efecto antimicrobiano y antibacteriano, se utilizó un control positivo con una concentración de antibióticos específicos según bacteria y fungicida comercial.

Una vez selladas las placas, se dejaron cultivar en incubadora por un tiempo de 24 horas a una temperatura de 37°C en bacterias y 26°C en hongos. Posteriormente fueron medidos los halos de inhibición.

Bacterias	Hongos
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Escherichia coli</i> MRSA	<i>Penicillium spp.</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Rhizopus spp.</i>
<i>Salmonella spp</i>	
<i>Bacillus cereus</i>	

Tabla 1. Patógenos empleados para la determinación en ensayos antimicrobianos.

5.12 Análisis de la información

El análisis de los resultados consistió en un análisis descriptivo de acuerdo a los datos procesados en el programa Excel.

6. Resultados

6.1 Rendimiento de extracto

Se determinó el rendimiento del extracto utilizando como solvente agua. Se realizaron extracciones en equipo Soxhlet. Dado los resultados, se obtuvo un mayor rendimiento en la parte aérea de *A. pinnatifida*, con un 13,98%.

Extracto	Rendimiento
Parte aérea	13,98 %
Raíz	5,85 %

Tabla 2. Rendimiento en solvente acuoso de extractos de *A. pinnatifida*.

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{Peso extracto}}{\text{Peso del material vegetal}} \times 100$$

$$\text{Parte aérea} = \frac{4,53 \text{ gr}}{32,395 \text{ gr}} \times 100 = 13,9836\%$$

$$\text{Parte raíz} = \frac{2,125 \text{ gr}}{36,312 \text{ gr}} \times 100 = 5,8502 \%$$

6.2 Actividad antioxidante mediante ensayo de DPPH

Se realizó la comparación entre los dos partes de la especie vegetal. Se pudo determinar que existe una actividad antioxidante ascendente (Figura 1). A pesar de tomar diferentes concentraciones para la parte aérea y la raíz, en sus porcentajes máximos de inhibición se obtuvo un 84,21% para la parte aérea y 86,66% para la parte raíz. Por el contrario, en los porcentajes mínimos de inhibición en el caso de la parte aérea 10,71% y la parte de raíz un 22,49% (Tablas 5,6,7 y 8).

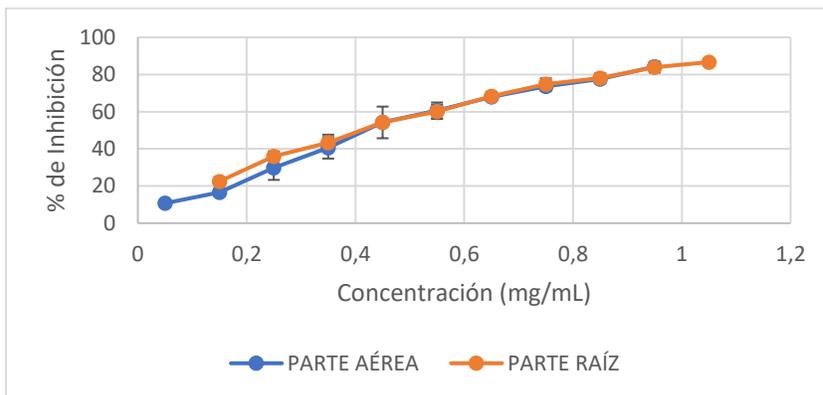


Figura 1. Curva de porcentaje de inhibición en DPPH de parte aérea y raíz

	Ecuación de la curva	R ²
Parte aérea	$y = 84,644x + 9,2458$	0,9725
Raíz	$y = 70,112x + 18,737$	0,9687

Tabla 3. Ecuaciones de la curva y R² para parte aérea y raíz en ensayo de DPPH

Cálculo de IC₅₀ en ecuación para parte aérea:

$$y = 84,644x + 9,2458$$

$$50 = 84,644x + 9,2458$$

$$50 - 9,2458 = 84,644x$$

$$\frac{50 - 9,2458}{84,644} = x$$

$$\mathbf{0,48\ mg/mL}$$

Cálculo de IC₅₀ en ecuación para parte raíz:

$$y = 70,112x + 18,737$$

$$50 = 70,112x + 18,737$$

$$50 - 18,737 = 70,112x$$

$$\frac{50 - 18,737}{70,112} = x$$

$$\mathbf{0,44 = x \rightarrow 0,45\ mg/mL}$$

Luego de la obtención de las ecuaciones de la recta y su posterior cálculo, se determinó que en la parte aérea hubo un mayor IC₅₀.

6.3 Determinación de equivalentes de AG

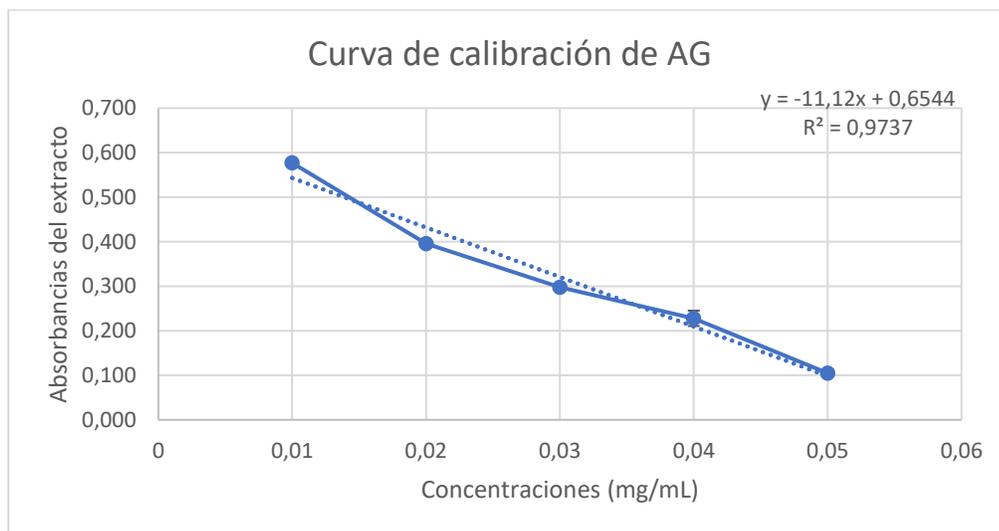


Figura 2. Curva de calibración de AG (Tabla 9)

Se reemplazarán las absorbancias en la ecuación de la recta:

$$y = -11,12x + 0,6544$$

PARTE AÉREA (Tabla 10)

Con absorbancia 0,369

$$y = -11,12x + 0,6544$$

$$0,369 = -11,12x + 0,6544$$

$$\frac{0,369 - 0,6544}{11,12} = x$$

$$0,0257 \frac{mg}{mL} \text{ en } 500 \frac{\mu g}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,317

$$y = -11,12x + 0,6544$$

$$0,317 = -11,12x + 0,6544$$

$$\frac{0,317 - 0,6544}{11,12} = x$$

$$0,0303 \frac{mg}{mL} \text{ en } 500 \frac{\mu g}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,296

$$y = -11,12x + 0,6544$$

$$0,296 = -11,12x + 0,6544$$

$$\frac{0,296 - 0,6544}{11,12} = x$$

$$0,0322 \frac{mg}{mL} \text{ en } 500 \frac{\mu g}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

RAÍZ (Tabla 11)

Con absorbancia 0,213

$$y = -11,12x + 0,6544$$

$$0,213 = -11,12x + 0,6544$$

$$\frac{0,213 - 0,6544}{11,12} = x$$

$$0,0397 \frac{mg}{mL} \text{ en } 450 \frac{\mu g}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,223

$$y = -11,12x + 0,6544$$

$$0,223 = -11,12x + 0,6544$$

$$\frac{0,223 - 0,6544}{11,12} = x$$

$$\mathbf{0,0388 \frac{mg}{mL} \text{ en } 450 \frac{\mu g}{mL} \text{ de extracto acuoso}}$$

Con absorbancia 0,202

$$y = -11,12x + 0,6544$$

$$0,202 = -11,12x + 0,6544$$

$$\frac{0,202 - 0,6544}{11,12} = x$$

$$\mathbf{0,0407 \frac{mg}{mL} \text{ en } 450 \frac{\mu g}{mL} \text{ de extracto acuoso}}$$

Reemplazamos resultados: PARTE AÉREA

- Absorbancia 0,369

$$\frac{0,0257 \frac{mg}{mL} A.G}{0,50 \frac{mg}{mL} E.A} = \frac{x \text{ mg } A.G}{1000 \text{ mg } E.A}$$

$$x \text{ mg } A.G = \frac{1000 \text{ mg } E.A \times 0,0257 \frac{mg}{mL} A.G}{0,50 \frac{mg}{mL} E.A}$$

$$\mathbf{x = 51,40 \text{ mg } AG \text{ en } 1000 \text{ mg } E.A}$$

- Absorbancia 0,317

$$\frac{0,0303 \frac{mg}{mL} A.G}{0,50 \frac{mg}{mL} E.A} = \frac{x \text{ mg } A.G}{1000 \text{ mg } E.A}$$

$$x \text{ mg } A.G = \frac{1000 \text{ mg } E.A \times 0,0303 \frac{mg}{mL} A.G}{0,50 \frac{mg}{mL} E.A}$$

$$\mathbf{x = 60,60 \text{ mg } AG \text{ en } 1000 \text{ mg } E.A}$$

- Absorbancia 0,296

$$\frac{0,0322 \frac{mg}{mL} A.G}{0,50 \frac{mg}{mL} E.A} = \frac{x \text{ mg } A.G}{1000 \text{ mg } E.A}$$

$$x \text{ mg A. G} = \frac{1000 \text{ mg E. A} \times 0,0322 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ A. G}}{0,50 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E. A}}$$

$$x = 64,40 \text{ mg AG en } 1000 \text{ mg E. A}$$

Reemplazamos resultados: RAÍZ

- Absorbancia 0,213

$$\frac{0,0397 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ A. G}}{0,45 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E. A}} = \frac{x \text{ mg A. G}}{1000 \text{ mg E. A}}$$

$$x \text{ mg A. G} = \frac{1000 \text{ mg E. A} \times 0,0397 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ A. G}}{0,45 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E. A}}$$

$$x = 88,22 \text{ mg AG en } 1000 \text{ mg E. A}$$

- Absorbancia 0,223

$$\frac{0,0388 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ A. G}}{0,45 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E. A}} = \frac{x \text{ mg A. G}}{1000 \text{ mg E. A}}$$

$$x \text{ mg A. G} = \frac{1000 \text{ mg E. A} \times 0,0388 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ A. G}}{0,45 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E. A}}$$

$$x = 86,22 \text{ mg AG en } 1000 \text{ mg E. A}$$

- Absorbancia 0,202

$$\frac{0,0407 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ A. G}}{0,45 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E. A}} = \frac{x \text{ mg A. G}}{1000 \text{ mg E. A}}$$

$$x \text{ mg A. G} = \frac{1000 \text{ mg E. A} \times 0,0407 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ A. G}}{0,45 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E. A}}$$

$$x = 90,44 \text{ mg AG en } 1000 \text{ mg E. A}$$

El contenido de equivalentes de AG fue de $58,80 \pm 6,68$ mg para parte aérea y $88,29 \pm 2,11$ mg en parte de raíz en 1000 mg de extracto acuoso.

6.4 Actividad antioxidante con radical ABTS+

Se realizó la comparación entre los dos partes de la planta (Figura 3). Se pudo determinar que existe una actividad antioxidante ascendente. A pesar de tomar diferentes concentraciones para la parte aérea y la raíz, en los máximos porcentajes de inhibición se obtuvieron 96,27% y 57,18% respectivamente. Por el contrario, en sus mínimos porcentajes de inhibición se obtuvieron 10,43% en parte aérea y 8,73% en su parte de raíz (Tablas 12,13,14 y 15).

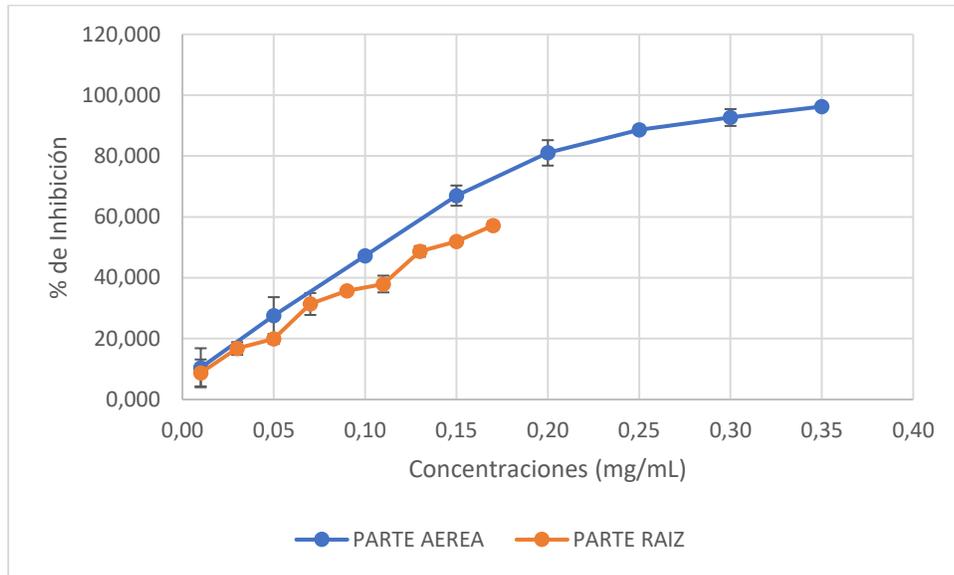


Figura 3. Curva de porcentaje de inhibición en ABTS⁺ de parte aérea y raíz

	Ecuación de la curva	R ²
Parte aérea	$y = 256,72x + 18,612$	0,9239
Raíz	$y = 302,73x + 7$	0,9855

Tabla 4. Ecuaciones de la curva y R² de parte aérea y raíz en ensayo de ABTS⁺

Cálculo de IC₅₀ en ecuación/ parte aérea:

$$y = 256,72x + 18,612$$

$$50 = 256,72x + 18,612$$

$$50 - 18,612 = 256,72x$$

$$\frac{50 - 18,612}{256,72} = x$$

$$0,1222 = x \rightarrow 0,12 \text{ mg/mL}$$

Cálculo de IC₅₀ en ecuación/ raíz:

$$y = 302,73x + 7$$

$$50 = 302,73x + 7$$

$$50 - 7 = 302,73x$$

$$\frac{50 - 7}{302,73} = x$$

$$0,1420 = x \rightarrow 0,14 \text{ mg/mL}$$

Luego de la obtención de las ecuaciones de la recta y su posterior cálculo, se determinó que en la parte de raíz hubo un mayor IC₅₀.

6.5 Determinación de equivalentes de trolox

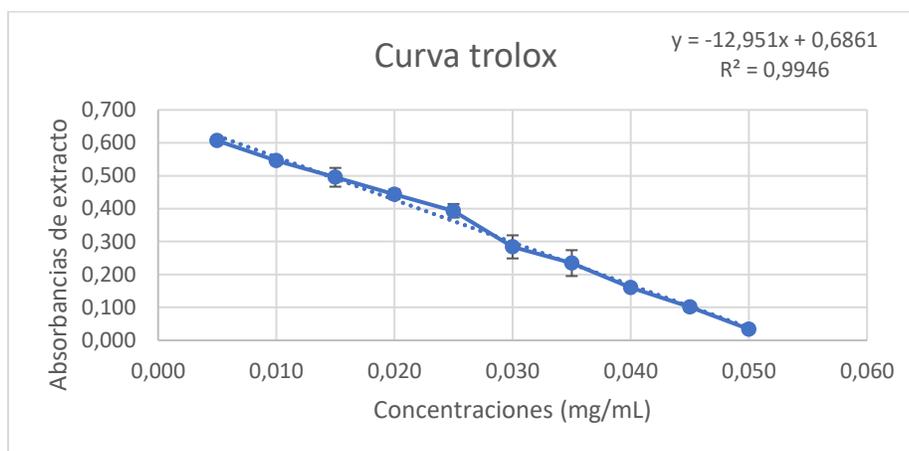


Figura 4. Curva de calibración de trolox (Tabla 16)

Se reemplazarán las absorbancias en la ecuación de la recta:

$$y = -12,951x + 0,6861$$

PARTE AÉREA (Tabla 17)

Con absorbancia 0,369

$$y = -12,951x + 0,6861$$

$$0,369 = -12,951x + 0,6861$$

$$\frac{0,369 - 0,6861}{12,951} = x$$

$$0,0245 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ en } 120 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,354

$$y = -12,951x + 0,6861$$

$$0,354 = -12,951x + 0,6861$$

$$\frac{0,354 - 0,6861}{12,951} = x$$

$$0,0256 \frac{mg}{mL} \text{ en } 120 \frac{\mu g}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,349

$$y = -12,951x + 0,6861$$

$$0,349 = -12,951x + 0,6861$$

$$\frac{0,349 - 0,6861}{12,951} = x$$

$$0,0260 \frac{mg}{mL} \text{ en } 120 \frac{\mu g}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

RAÍZ (Tabla 18)

Con absorbancia 0,340

$$y = -12,951x + 0,6861$$

$$0,340 = -12,951x + 0,6861$$

$$\frac{0,340 - 0,6861}{12,951} = x$$

$$0,0267 \frac{mg}{mL} \text{ en } 140 \frac{\mu g}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,339

$$y = -12,951x + 0,6861$$

$$0,339 = -12,951x + 0,6861$$

$$\frac{0,339 - 0,6861}{12,951} = x$$

$$0,0268 \frac{mg}{mL} \text{ en } 140 \frac{\mu g}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,337

$$y = -12,951x + 0,6861$$

$$0,337 = -12,951x + 0,6861$$

$$\frac{0,337 - 0,6861}{12,951} = x$$

$$0,0270 \frac{mg}{mL} \text{ en } 140 \frac{\mu g}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Reemplazamos resultados: PARTE AÉREA

- Absorbancia 0,369

$$\frac{0,0245 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ Trolox}}{0,12 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E.A}} = \frac{x \text{ mg Trolox}}{1000 \text{ mg E.A}}$$
$$x \text{ mg Trolox} = \frac{1000 \text{ mg E.A} \times 0,0245 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ Trolox}}{0,12 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E.A}}$$

$x = 204,17 \text{ mg Trolox en } 1000 \text{ mg E.A}$

- Absorbancia 0,354

$$\frac{0,0256 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ Trolox}}{0,12 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E.A}} = \frac{x \text{ mg Trolox}}{1000 \text{ mg E.A}}$$
$$x \text{ mg Trolox} = \frac{1000 \text{ mg E.A} \times 0,0256 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ Trolox}}{0,12 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E.A}}$$

$x = 213,33 \text{ mg Trolox en } 1000 \text{ mg E.A}$

- Absorbancia 0,349

$$\frac{0,0260 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ Trolox}}{0,12 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E.A}} = \frac{x \text{ mg Trolox}}{1000 \text{ mg E.A}}$$
$$x \text{ mg Trolox} = \frac{1000 \text{ mg E.A} \times 0,0260 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ Trolox}}{0,12 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E.A}}$$

$x = 216,67 \text{ mg Trolox en } 1000 \text{ mg E.A}$

Reemplazamos resultados: RAÍZ

- Absorbancia 0,340

$$\frac{0,0267 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ Trolox}}{0,14 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E.A}} = \frac{x \text{ mg Trolox}}{1000 \text{ mg E.A}}$$
$$x \text{ mg Trolox} = \frac{1000 \text{ mg E.A} \times 0,0267 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ Trolox}}{0,14 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E.A}}$$

$x = 190,71 \text{ mg Trolox en } 1000 \text{ mg E.A}$

- Absorbancia 0,339

$$\frac{0,0268 \frac{mg}{mL} Trolox}{0,14 \frac{mg}{mL} E.A} = \frac{x mg Trolox}{1000 mg E.A}$$

$$x mg Trolox = \frac{1000 mg E.A \times 0,0268 \frac{mg}{mL} Trolox}{0,14 \frac{mg}{mL} E.A}$$

$$x = 191,43 mg Trolox en 1000 mg E.A$$

- Absorbancia 0,337

$$\frac{0,0270 \frac{mg}{mL} Trolox}{0,14 \frac{mg}{mL} E.A} = \frac{x mg Trolox}{1000 mg E.A}$$

$$x mg Trolox = \frac{1000 mg E.A \times 0,0270 \frac{mg}{mL} Trolox}{0,14 \frac{mg}{mL} E.A}$$

$$x = 192,86 mg Trolox en 1000 mg E.A$$

El contenido de equivalentes de trolox fue de $211,39 \pm 6,47$ mg para parte aérea y $191,67 \pm 1,09$ mg en parte de raíz en 1000 mg de extracto acuoso.

6.6 Evaluación de efecto antioxidante en el tiempo mediante ensayo de DPPH

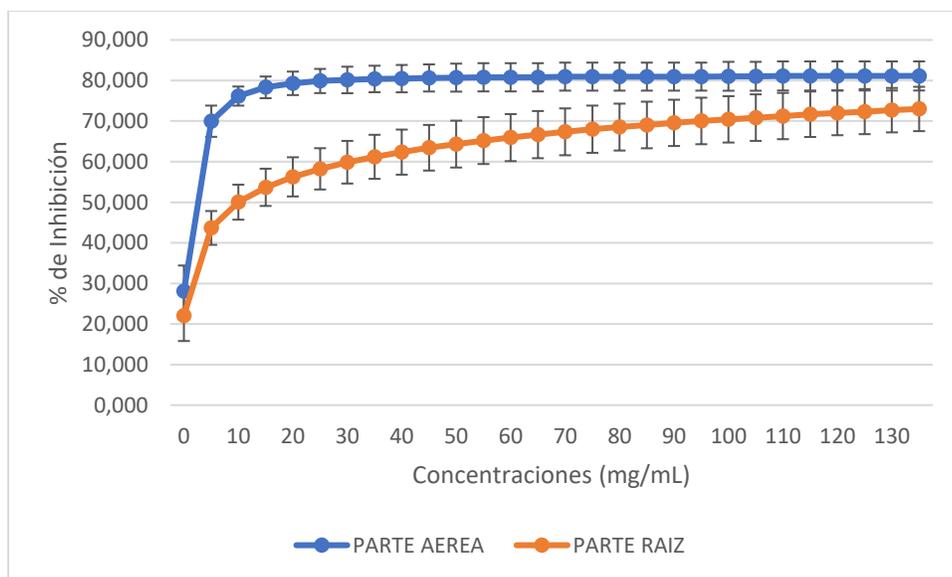


Figura 5. Curva de cinética con método DPPH en parte aérea y raíz.

Se determinó la actividad en relación a los IC_{50} obtenidos y es posible observar en la figura 5 una estabilidad al minuto 50, presentando un valor 80,80% en la parte aérea. Por otro lado, se evaluó el efecto en el tiempo en la parte raíz no obtuvo una estabilidad cómo es posible observar en la figura 5, y hasta los últimos minutos fue en aumento, obteniendo un valor máximo de 72,99% (Tablas 19 y 20).

6.7 Evaluación de efecto antioxidante en el tiempo mediante ensayo de $ABTS^+$

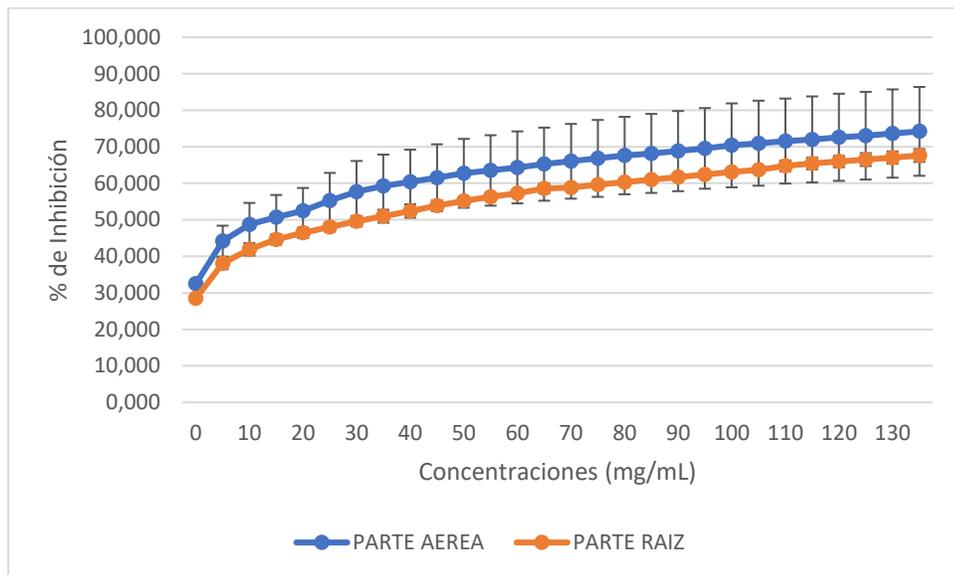


Figura 6. Curva de cinética con método $ABTS^+$ en parte aérea y raíz.

En la determinación del ensayo de cinética en el tiempo con el radical $ABTS^+$ no hubo una estabilización en ninguno de los dos extractos, incrementando sus valores a lo largo del tiempo. Se obtuvo un valor máximo 74,207% para la parte aérea y un 67,613% en la raíz (Tablas 21 y 22).

6.8 Determinación de polifenoles totales

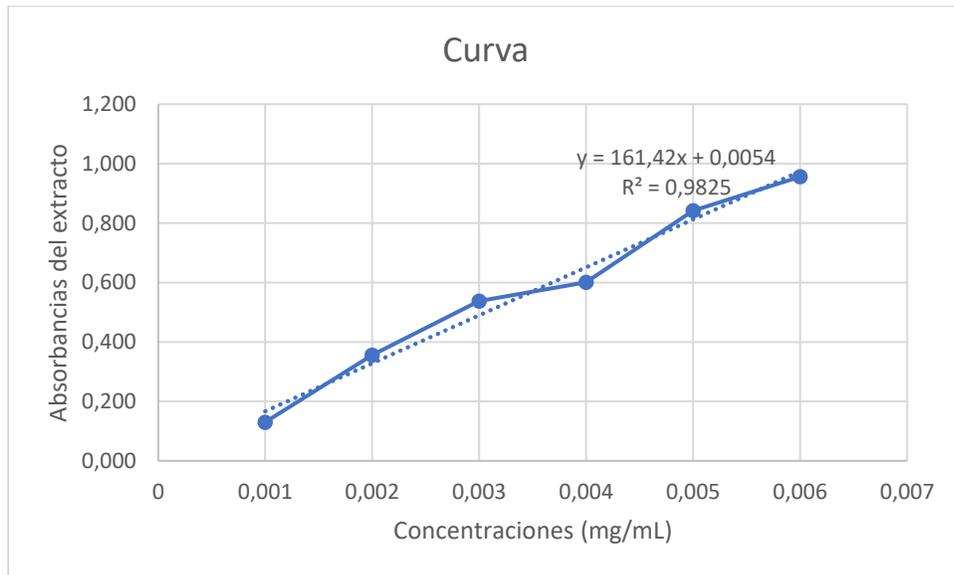


Figura 7. Curva de calibración de AG para polifenoles (Tabla 23)

Fue calculada la cantidad de polifenoles totales utilizando una curva estándar de AG:

$$y = 161,42 x + 0,0054$$

PARTE AÉREA (Tabla 24):

Con absorbancia 0,617

$$y = 161,42 x + 0,0054$$

$$0,617 = 161,42 x + 0,0054$$

$$x = \frac{0,617 - 0,0054}{161,42}$$

$$x = 0,003789 \frac{mg}{mL} \text{ en } 0,025 \frac{mg}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,602

$$y = 161,42 x + 0,0054$$

$$0,602 = 161,42 x + 0,0054$$

$$x = \frac{0,602 - 0,0054}{161,42}$$

$$x = 0,003696 \frac{mg}{mL} \text{ en } 0,025 \frac{mg}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,604

$$y = 161,42 x + 0,0054$$

$$0,604 = 161,42 x + 0,0054$$

$$x = \frac{0,604 - 0,0054}{161,42}$$

$$x = 0,003708 \frac{mg}{mL} \text{ en } 0,025 \frac{mg}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

RAÍZ (Tabla 25):

Con absorbancia 0,477

$$y = 161,42 x + 0,0054$$

$$0,477 = 1601,42 x + 0,0054$$

$$x = \frac{0,477 - 0,0054}{161,42}$$

$$x = 0,002922 \frac{mg}{mL} \text{ en } 0,025 \frac{mg}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,455

$$y = 161,42 x + 0,0054$$

$$0,455 = 161,42 x + 0,0054$$

$$x = \frac{0,455 - 0,0054}{161,42}$$

$$x = 0,002785 \frac{mg}{mL} \text{ en } 0,025 \frac{mg}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,476

$$y = 161,42 x + 0,0054$$

$$0,476 = 161,42 x + 0,0054$$

$$x = \frac{0,476 - 0,0054}{161,42}$$

$$x = 0,002915 \frac{mg}{mL} \text{ en } 0,025 \frac{mg}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Reemplazamos resultados: PARTE AÉREA

- Absorbancia 0,617:

$$\frac{0,003789 \frac{mg}{mL} A. G}{0,025 \frac{mg}{mL} E. A} = \frac{x \text{ mg } A. G}{1000 \text{ mg } E. A}$$

$$x \text{ mg } A. G = \frac{1000 \text{ mg } E. A \times 0,003789 \frac{mg}{mL} A. G}{0,025 \frac{mg}{mL} E. A}$$

$$x = 151,56 \text{ mg de AG en } 1000 \text{ mg de E. A}$$

- Absorbancia 0,602

$$\frac{0,003696 \frac{mg}{mL} A. G}{0,025 \frac{mg}{mL} E. A} = \frac{x \text{ mg } A. G}{1000 \text{ mg } E. A}$$

$$x \text{ mg } A. G = \frac{1000 \text{ mg } E. A \times 0,003696 \frac{mg}{mL} A. G}{0,025 \frac{mg}{mL} E. A}$$

$x = 147,84 \text{ mg de AG en } 1000 \text{ mg de E. A}$

- Absorbancia 0,604

$$\frac{0,003708 \frac{mg}{mL} A. G}{0,025 \frac{mg}{mL} E. A} = \frac{x \text{ mg } A. G}{1000 \text{ mg } E. A}$$

$$x \text{ mg } A. G = \frac{1000 \text{ mg } E. A \times 0,003708 \frac{mg}{mL} A. G}{0,025 \frac{mg}{mL} E. A}$$

$x = 148,32 \text{ mg de AG en } 1000 \text{ mg de E. A}$

Reemplazamos resultados: RAÍZ

- Absorbancia 0,477

$$\frac{0,002922 \frac{mg}{mL} A. G}{0,025 \frac{mg}{mL} E. A} = \frac{x \text{ mg } A. G}{1000 \text{ mg } E. A}$$

$$x \text{ mg } A. G = \frac{1000 \text{ mg } E. A \times 0,002922 \frac{mg}{mL} A. G}{0,025 \frac{mg}{mL} E. A}$$

$x = 116,88 \text{ mg de AG en } 1000 \text{ mg de E. A}$

- Absorbancia 0,455

$$\frac{0,002785 \frac{mg}{mL} A. G}{0,025 \frac{mg}{mL} E. A} = \frac{x \text{ mg } A. G}{1000 \text{ mg } E. A}$$

$$x \text{ mg } A. G = \frac{1000 \text{ mg } E. A \times 0,002785 \frac{mg}{mL} A. G}{0,025 \frac{mg}{mL} E. A}$$

$x = 111,40 \text{ mg de AG en } 1000 \text{ mg de E. A}$

- Absorbancia 0,476

$$\frac{0,002915 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ A. G}}{0,025 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E. A}} = \frac{x \text{ mg A. G}}{1000 \text{ mg E. A}}$$
$$x \text{ mg A. G} = \frac{1000 \text{ mg E. A} \times 0,002915 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ A. G}}{0,025 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ E. A}}$$

$x = 116,60 \text{ mg de AG en } 1000 \text{ mg de E. A}$

Al reemplazar absorbancias en ecuación, los valores obtenidos para el contenido de polifenoles en equivalentes de AG en parte aérea y raíz fueron $149,24 \pm 2,02$ y $114,96 \pm 3,09$ mg, respectivamente

6.9 Determinación de flavonoides totales

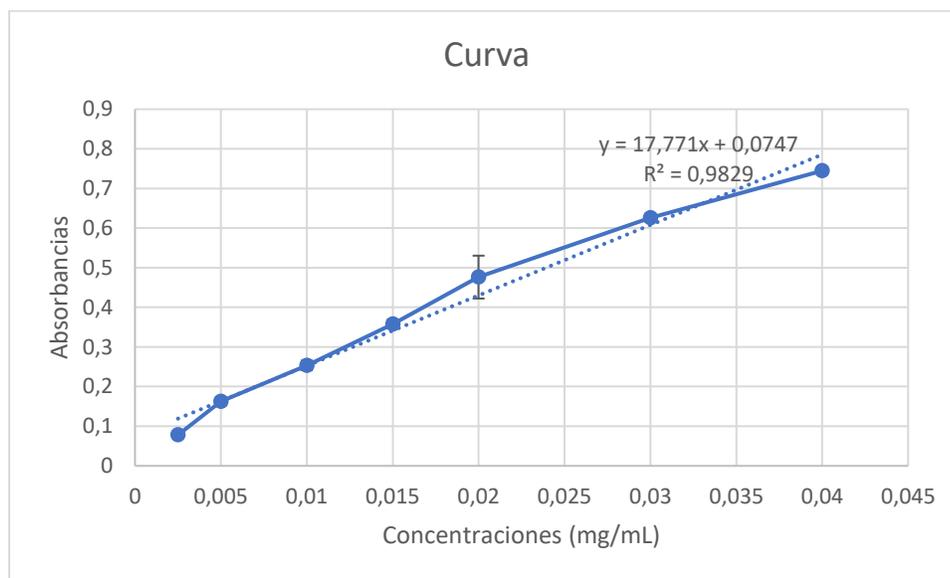


Figura 8. Curva de calibración de catequina (Tabla 26)

Fue calculada la cantidad de flavonoides totales utilizando una curva estándar de catequina. Se reemplazaron las absorbancias en la ecuación:

$$y = 17,771 x + 0,0747$$

PARTE AÉREA (Tabla 27):

Con absorbancia 0,292

$$y = 17,771 x + 0,0747$$
$$0,292 = 17,771 x + 0,0747$$
$$x = \frac{0,292 - 0,0747}{17,771}$$
$$x = 0,0122 \frac{mg}{mL} \text{ en } 0,1 \frac{mg}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,288

$$y = 17,771 x + 0,0747$$
$$0,288 = 17,771 x + 0,0747$$
$$x = \frac{0,288 - 0,0747}{17,771}$$
$$x = 0,0120 \frac{mg}{mL} \text{ en } 0,1 \frac{mg}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,279

$$y = 17,771 x + 0,0747$$
$$0,279 = 17,771 x + 0,0747$$
$$x = \frac{0,279 - 0,0747}{17,771}$$
$$x = 0,0115 \frac{mg}{mL} \text{ en } 0,1 \frac{mg}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

RAÍZ (Tabla 28):

Con absorbancia 0,234

$$y = 17,771 x + 0,0747$$
$$0,234 = 17,771 x + 0,0747$$
$$x = \frac{0,234 - 0,0747}{17,771}$$
$$x = 0,0090 \frac{\mu g}{mL} \text{ en } 0,1 \frac{mg}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,231

$$y = 17,771 x + 0,0747$$
$$0,231 = 17,771 x + 0,0747$$
$$x = \frac{0,231 - 0,0747}{17,771}$$
$$x = 0,0088 \frac{\mu g}{mL} \text{ en } 0,1 \frac{mg}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Con absorbancia 0,249

$$y = 17,771 x + 0,0747$$

$$0,249 = 17,771 x + 0,0747$$

$$x = \frac{0,249 - 0,0747}{17,771}$$

$$x = 0,0098 \frac{\mu g}{mL} \text{ en } 0,1 \frac{mg}{mL} \text{ de extracto acuoso}$$

Reemplazamos resultados: PARTE AÉREA

- Absorbancia 0,292

$$\frac{0,0122 \frac{mg}{mL}}{0,1 \frac{mg}{mL} E.A} = \frac{x \text{ mg}}{1000 \text{ mg E.A}}$$

$$x \text{ mg catequina} = \frac{1000 \text{ mg E.A} \times 0,0122 \frac{mg}{mL}}{0,1 \frac{mg}{mL} E.A}$$

$$x = 122,00 \text{ mg de catequina en } 1000 \text{ mg E.A}$$

- Absorbancia 0,288

$$\frac{0,0120 \frac{mg}{mL}}{0,1 \frac{mg}{mL} E.A} = \frac{x \text{ mg}}{1000 \text{ mg E.A}}$$

$$x \text{ mg catequina} = \frac{1000 \text{ mg E.A} \times 0,0120 \frac{mg}{mL}}{0,1 \frac{mg}{mL} E.A}$$

$$x = 120,00 \text{ mg de catequina en } 1000 \text{ mg E.A}$$

- Absorbancia 0,279

$$\frac{0,0115 \frac{mg}{mL}}{0,1 \frac{mg}{mL} E.A} = \frac{x \text{ mg}}{1000 \text{ mg E.A}}$$

$$x \text{ mg catequina} = \frac{1000 \text{ mg E.A} \times 0,0115 \frac{mg}{mL}}{0,1 \frac{mg}{mL} E.A}$$

$$x = 115,00 \text{ mg de catequina en } 1000 \text{ mg E.A}$$

Reemplazamos resultados: RAÍZ

- Absorbancia 0,234

$$\frac{0,0090 \frac{mg}{mL}}{0,1 \frac{mg}{mL} E.A} = \frac{x mg}{1000 mg E.A}$$

$$x mg catequina = \frac{1000 mg E.A \times 0,0090 \frac{mg}{mL}}{0,1 \frac{mg}{mL} E.A}$$

$$x = \mathbf{90,00 mg catequina en 1000 mg E.A}$$

- Absorbancia 0,231

$$\frac{0,0088 \frac{mg}{mL}}{0,1 \frac{mg}{mL} E.A} = \frac{x mg}{1000 mg E.A}$$

$$x mg catequina = \frac{1000 mg E.A \times 0,0088 \frac{mg}{mL}}{0,1 \frac{mg}{mL} E.A}$$

$$x = \mathbf{88,00 mg catequina en 1000 mg E.A}$$

- Absorbancia 0,249

$$\frac{0,0098 \frac{mg}{mL}}{0,1 \frac{mg}{mL} E.A} = \frac{x mg}{1000 mg E.A}$$

$$x mg catequina = \frac{1000 mg E.A \times 0,0098 \frac{mg}{mL}}{0,1 \frac{mg}{mL} E.A}$$

$$x = \mathbf{98,00 mg catequina en 1000 mg E.A}$$

El contenido de flavonoides expresados en catequina fue $119,00 \pm 3,61$ mg para parte aérea y $92,00 \pm 5,29$ mg en parte de raíz en 1000 mg de extracto acuoso.

6.10 Evaluación de actividad antimicrobiana

No hubo observación de actividad antimicrobiana frente a, hongos y bacterias en la concentración que fue insertada al ensayo cómo es posible observar en la imagen 8.

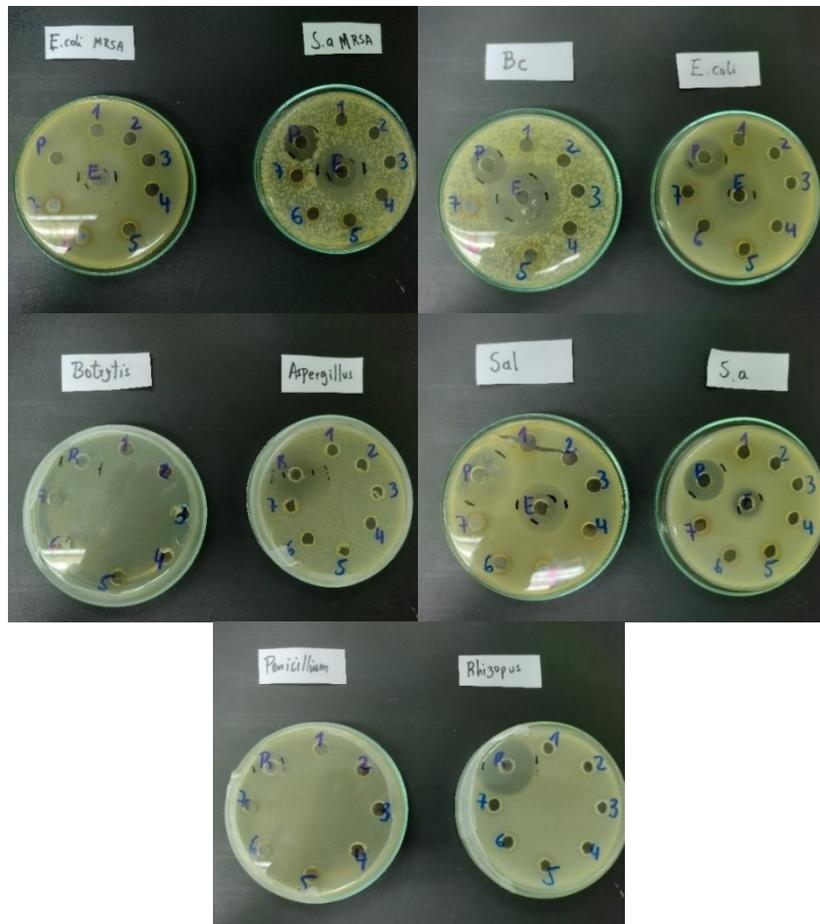


Imagen 8. Placas de cultivo con microorganismos bacterianos y fúngicos. Las letras R, P y E se ajustan a los controles positivos.

7. Discusión

Los antioxidantes se han convertido en una parte vital de nuestras vidas, y a medida que surgen descubrimientos se vuelven más importantes. Esto es, por su capacidad para neutralizar especies que puedan dañar las células (Gupta 2015). La actividad antioxidante se puede determinar mediante una variedad de ensayos con diferentes mecanismos (Shahidi y Zhong 2015). En esta investigación se determinó el potencial antioxidante del extracto acuoso de *Acaena pinnatifida* con los diferentes extractos de sus respectivas partes. Los resultados de la actividad antioxidante fueron provechosos, presentándose actividad antioxidante, según lo demuestra los valores obtenidos en sus IC_{50} donde fue menor en la parte de raíz en el ensayo de DPPH y menor en la parte aérea para el ensayo con $ABTS^+$. Es posible sugerir que el resultado por cual nos inclinamos más, es el de $ABTS^+$, por demostrar ser más sensible en relación a otros métodos. Por otro lado, pudieron

presentarse problemáticas las cuales podrían haber influido en los resultados como lo son la manipulación humana, las condiciones ambientales de laboratorio, parámetros de temperatura o la homogenización de la metodología pudiendo establecer protocolos fijos para futuros estudios. Además, se definió la actividad en el tiempo de ambas partes, como estables.

El ensayo de los equivalentes de trolox fue desarrollado como un método simple y conveniente para la determinación de la capacidad antioxidante total, se ha utilizado para medir la actividad antioxidante total de sustancias puras, fluidos corporales y materiales vegetales (Shahidi y Zhong 2015). El contenido fenólico total es otro parámetro importante de la capacidad antioxidante total y se usa ampliamente para la evaluación de extractos antioxidantes, incluidos extractos de hierbas, especias y frutas, cereales y legumbres, entre otros. El ensayo de Folin-Ciocalteu es el método más conocido (Shahidi y Zhong 2015).

Los ensayos demostraron que *A. pinnatifida* presenta polifenoles y flavonoides, sugiriendo su utilización para productos en industria farmacéutica con una previa aseguración de inocuidad, realizándose pruebas de toxicidad (Valencia-Avilés et al. 2017).

La evaluación de la actividad antimicrobiana de la especie *A. pinnatifida* se limitó a una sola concentración. Debido a estos resultados, se sugiere un nuevo estudio con concentraciones más altas para así obtener una nueva conclusión.

8. Conclusiones

El extracto acuoso de *A. pinnatifida* presenta una actividad antioxidante, evidenciándose mediante los ensayos de DPPH y ABTS⁺, siendo estos estables durante el tiempo. Se pudo diferenciar la parte aérea y raíz de la planta, obteniendo un menor IC₅₀ en la parte aérea para el método ABTS⁺.

A través de los ensayos para la determinación de flavonoides y polifenoles totales fue posible identificar estos compuestos en la especie. Se obtuvieron resultados comparables en ambas partes, siendo mayor la cantidad en su parte aérea.

A. pinnatifida no presentó actividad antimicrobiana a la concentración aplicada, descartando alguna actividad bacteriana o fúngica. Sin embargo, solo fue utilizada una concentración, por lo tanto, existe la posibilidad de comparar con concentraciones más altas u otros patógenos.

Bibliografía

Adoméniené A, Venskutonis P.R (2022) Dioscorea spp.: Comprehensive Review of Antioxidant Properties and Their Relation to Phytochemicals and Health Benefits. *Molecules*, 27:8, N.PAG

Agbo MO, Uzor PF, Akazie-Nneji UN, Eze-Odurukwe CU, Ogbatue UB, Mbaoji EC (2015) Antioxidant, total phenolic and flavonoid content of selected Nigerian medicinal plants. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences* 14

Avello M, Suwalsky M (2006) Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, (494):161-172

Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995) Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* 28:25–30

Cartaya O, Reynaldo I (2001) Flavonoides: Características químicas y aplicaciones Cultivos Tropicales, vol. 22, núm. 2. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana, Cuba, 5-14

Carvajal C (2019) Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1):91-100

Franco Ospina LA, Castro Guerrero JP, Ocampo Buendía YC, Pájaro Bolívar IB, Díaz Castillo F (2013) Actividad antiinflamatoria, antioxidante y antibacteriana de dos especies del género *Tabebuia*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 18

Forrest VJ, Kang YH, McClain DE, Robinson DH, Ramakrishnan N (1994) Oxidative stress-induced apoptosis prevented by trolox. *Free Radic Biol Med* 16

García Mejjide JA, Gómez-Reino Carnota JJ (2000) Fisiopatología de la ciclooxigenasa-1 y ciclooxigenasa-2. *Revista Espanola de Reumatologia* 27

Gaviria C, Ochoa C, Sanchez N, Medina C, Lobo M, Galeano P, Mosquera A, Tamayo A, Lopera Y, Rojano B (2009) Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale* SW). *Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat* 8:519–528

Gomes TAT, Elias WP, Scaletsky ICA, Guth BEC, Rodrigues JF, Piazza RMF, Ferreira LCS, Martinez MB (2016) Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Microbiology* 47

Gómez Estrada HA, González Ruiz KN, Medina JD (2011) Actividad antiinflamatoria de productos naturales. *Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromat* 10

Govea-Salas M, Zugasti-Cruz A, Silva-Belmares SY, Valdivia-Urdiales B, Rodríguez-Huerta R, Aguilar-González CN, Morlett-Chávez J (2013) Actividad Anticancerígena del Ácido Gálico en Modelos Biológicos in vitro. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila* 5

Guija-Poma E, Inocente-Camones M Á, Ponce-Pardo J, Zarzosa-Norabuena E (2015) Evaluación de la técnica 2, 2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico (Lima)*, 15(1):57-60

Gupta D (2015) Methods for determination of antioxidant capacity: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2):546

Hudz N, Yezerska O, Shanaida M, Sedláčková VH, Wieczorek PP (2019) Application of the Folin-Ciocalteu method to the evaluation of *Salvia sclarea* extracts. *Pharmacia* 66:209–215

Isemura, M. (2019). Catechin in human health and disease. *Molecules*, 24(3):528

Jiménez-Aspee F, Alberto MR, Quispe C, del Pilar Caramantin Soriano M, Theoduloz C, Zampini IC, Isla MI, Schmeda-Hirschmann G (2015) Anti-Inflammatory Activity of Copao (*Eulychnia Acida* Phil., Cactaceae) Fruits. *Plant Foods for Human Nutrition* 70

Khan A, Rahman M, Islam S (2007) Antibacterial, antifungal and cytotoxic activities of tuberous roots of *Amorphophallus campanulatus*. *Turkish Journal of Biology* 31

Londoño JA (2012) Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. In *Desarrollo y transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia*. Corporación Universitaria Lasallista

Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras J M, Tuñón M (2002) Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria* 17(6):271-278

Mesa Vanegas AM, Naranjo JP, Diez AF, Ocampo O, Monsalve ZL (2017) Actividad antibacterial y larvicida sobre *Aedes aegypti* L. de extractos de *Ambrosia peruviana* Willd (Altamisa). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 22(1):1-11

Montenegro G, Aljaro M E, Walkowiak A, Saenger R (1981) Seasonality, growth and net-productivity of herbs and shrubs of Chilean matorral. In: *Procc. of the Symposium on Dynamics and Management of Mediterranean-Type Ecosystems*, Conrad C. E. and Oechel W. (ed.), USDA Forest Service General Technical Report PSW-58, San Diego, CA, pp. 129-135

Muñoz Juárez MA, Gutiérrez DM (2004) Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol *Nicotiana Glauca*. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26 49

Muñoz-Velázquez EE, Rivas-Díaz K, Guadalupe M, Loarca-Piña F, Mendoza-Díaz S, Reynoso-Camacho R, Ramos-Gómez M (2012) Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. *Rev Mex De Cienc Agric* 3

Montes F O, Vásquez-Hernández A, Fenton-Navarro B (2019) Active compounds of medicinal plants, mechanism for antioxidant and beneficial effects. *Phyton (B Aires)* 88

Nobre DAC, Macedo WR, Silva GH, Lopes LS, Jaimes EHL (2019) Aplicación y efecto antioxidante del ácido gálico sobre la calidad de semillas de trigo. *Revista de Ciencias Agrarias* 42(1):22-29

Padilla FC, Rincón AM, Bou-Rached L (2008) Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 58(3):303-308

Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A (2012) Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición hospitalaria* 27(1):76-89

Rodriguez R, Marticorena C, Alarcón D, Baeza C, Cavieres L, Finot VL, Fuentes N, Kiessling A, Mihoc M, Pauchard A, Ruiz E, Sanchez P, Marticorena A (2018) Catálogo de las plantas vasculares de Chile. *Gayana: Botanica* 75(1)

Rojano BA, Gaviria CA, Gil MA, Saez JA, Schinella G, Tournier H (2008) Actividad Antioxidante Del Isoespintanol En Diferentes Medios. *Vitae* 15(1):173-181

Saavedra SLA, Herrera-Plasencia P, Enoki-Miñano E, Ruiz-Barrueto M, Gómez PAM. (2018) In vitro antibacterial activity of an ethanolic extract of *Prosopis pallida* against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 70(2):1-12

Shahidi F, Zhong Y (2015) Measurement of antioxidant activity. *Journal of functional foods* 18

Soni KS, Loonker S (2022) An Approach to Leading Antioxidant Activity of Different Plants and Food Material: A Review. *Oriental Journal Of Chemistry* 38

Squeo FA, Osorio R, Arancio G (1994) *Flora de Los Andes de Coquimbo: Cordillera de Dona Ana*, ed. by Universidad de la Serena, Chile

Tena N, Martín J, Asuero AG (2020) State of the art of anthocyanins: Antioxidant activity, sources, bioavailability, and therapeutic effect in human health. *Antioxidants* 9(5):451

Troncoso DE (2018) Determinación de efecto antioxidante en la parte aérea de la especie vascular *Acaena pinnatifida* Ruiz et Pav. Tesis pregrado, Universidad de Concepción, Campus Los Ángeles Escuela de Ciencias y Tecnologías

Trueba GP, Sanchez, GM (2001) Los flavonoides como antioxidantes naturales. *Acta Farm. Bonaerense* 20(4):297-306

Valencia Avilés E, Ignacio Figueroa I, Sosa Martínez E, Bartolomé Camacho MC, Martínez Flores HE, García Pérez ME (2017) Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*

Valcic S, Wächter GA, Montenegro G, Timmermann BN (1997) Triterpenoids from *Acaena pinnatifida* R. et P. *Zeitschrift für Naturforschung C* 52(3-4):264-266

Venereo Gutiérrez JR (2002) Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar* 31

Wang Y, Liu XJ, Chen JB, Cao JP, Li X, Sun CD (2022) Citrus flavonoids and their antioxidant evaluation. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition* 62(14), 3833–3854

Zhang J, Wang X, Vikash V, Ye Q, Wu D, Liu Y, Dong W (2016) ROS and ROS-mediated cellular signaling. *Oxidative medicine and cellular longevity*

Zhao J, Wang Z, Xu D, Sun X (2022) Advances on *Cyclocarya paliurus* polyphenols: Extraction, structures, bioactivities and future perspectives. *Food Chemistry* 396

Zhou JX, Braun M, Wetterauer P, Wetterauer B, Wink M (2019) Antioxidant, Cytotoxic, and Antimicrobial Activities of *Glycyrrhiza glabra* L., *Paeonia lactiflora* Pall., and *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. Extracts. *Medicines (Basel)* 6:43

ANEXOS

Concentraciones (mg/mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3
0,05	0,726	0,701	0,669
0,15	0,677	0,631	0,65
0,25	0,624	0,503	0,525
0,35	0,533	0,429	0,436
0,45	0,434	0,363	0,281
0,55	0,351	0,312	0,265
0,65	0,254	0,265	0,232
0,75	0,189	0,22	0,209
0,85	0,16	0,188	0,178
0,95	0,136	0,119	0,116
DPPH PURO	0,866	0,834	0,814
DPPH+AGUA	0,807	0,777	0,763

Tabla 5. Concentraciones con sus determinadas absorbancias con ensayo de DPPH de extracto acuoso de parte aérea.

Disminución 1	Disminución 2	Disminución 3	%I 1	%I 2	%I 3	P%I	Desviación estándar
0,081	0,076	0,094	10,037	9,781	12,320	10,713	1,398
0,13	0,146	0,113	16,109	18,790	14,810	16,570	2,030
0,183	0,274	0,238	22,677	35,264	31,193	29,711	6,423
0,274	0,348	0,327	33,953	44,788	42,857	40,533	5,779
0,373	0,414	0,482	46,221	53,282	63,172	54,225	8,515
0,456	0,465	0,498	56,506	59,846	65,269	60,540	4,423
0,553	0,512	0,531	68,525	65,894	69,594	68,005	1,904
0,618	0,557	0,554	76,580	71,686	72,608	73,625	2,601
0,647	0,589	0,585	80,173	75,804	76,671	77,550	2,313
0,671	0,658	0,647	83,147	84,685	84,797	84,210	0,922

Tabla 6. Obtención de disminución, porcentaje de disminución, promedio porcentaje de disminución absorbancias y desviación para parte aérea con ensayo de DPPH.

Concentraciones (mg/mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3
0,15	0,597	0,598	0,59
0,25	0,494	0,501	0,478
0,35	0,413	0,423	0,468
0,45	0,359	0,342	0,354
0,55	0,283	0,304	0,331
0,65	0,265	0,242	0,224
0,75	0,212	0,203	0,166
0,85	0,183	0,175	0,146

0,95	0,152	0,112	0,106
1,05	0,101	0,108	0,098
DPPH	0,842	0,84	0,832
DPPH+AGUA	0,788	0,748	0,768

Tabla 7. Concentraciones con sus determinadas absorbancias con ensayo de DPPH de extracto acuoso de la raíz.

Disminución 1	Disminución 2	Disminución 3	%I 1	%I 2	%I 3	P%I	Desviación estándar
0,191	0,150	0,178	24,239	20,053	23,177	22,490	2,176
0,294	0,247	0,290	37,310	33,021	37,760	36,030	2,616
0,375	0,325	0,300	47,589	43,449	39,063	43,367	4,264
0,429	0,406	0,414	54,442	54,278	53,906	54,209	0,274
0,505	0,444	0,437	64,086	59,358	56,901	60,115	3,652
0,523	0,506	0,544	66,371	67,647	70,833	68,284	2,298
0,576	0,545	0,602	73,096	72,861	78,385	74,781	3,124
0,605	0,573	0,622	76,777	76,604	80,990	78,124	2,484
0,636	0,636	0,662	80,711	85,027	86,198	83,978	2,890
0,687	0,640	0,670	87,183	85,561	87,240	86,661	0,953

Tabla 8. Obtención de disminución, porcentaje de disminución, promedio porcentaje de disminución absorbancias y desviación estándar para la raíz con ensayo de DPPH.

Concentraciones (mg/mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Promedio	Desviación Estándar
0,01	0,572	0,578	0,581	0,577	0,005
0,02	0,399	0,394	0,396	0,396	0,003
0,03	0,292	0,302	0,299	0,298	0,005
0,04	0,209	0,243	0,231	0,228	0,017
0,05	0,102	0,105	0,109	0,105	0,004

Tabla 9. Absorbancias obtenidas para curva de calibración de AG y su desviación estándar.

Concentración	Abs 1	Abs 2	Abs 3
0,50	0,369	0,317	0,296

Tabla 10. Absorbancias obtenidas en triplicado de parte aérea para AG.

Concentración	Abs 1	Abs 2	Abs 3
0,45	0,213	0,223	0,202

Tabla 11. Absorbancias obtenidas en triplicado de la raíz para AG.

Concentraciones (mg/mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3
0,01	0,622	0,572	0,530
0,05	0,454	0,488	0,449
0,10	0,359	0,324	0,333
0,15	0,242	0,183	0,212
0,20	0,149	0,088	0,130
0,25	0,085	0,068	0,066
0,30	0,069	0,041	0,032
0,35	0,030	0,022	0,020
ABTS	0,712	0,700	0,712
ABTS+AGUA	0,665	0,615	0,645

Tabla 12. Concentraciones con sus determinadas absorbancias con ensayo de ABTS⁺ de extracto acuoso de parte aérea.

Disminución 1	Disminución 2	Disminución 3	%I 1	%I 2	%I 3	P%I	Desviación estándar
0,043	0,043	0,115	6,466	6,992	17,829	10,429	6,414
0,211	0,127	0,196	31,729	20,650	30,388	27,589	6,046
0,306	0,291	0,312	46,015	47,317	48,372	47,235	1,180
0,423	0,432	0,433	63,609	70,244	67,132	66,995	3,319
0,516	0,527	0,515	77,594	85,691	79,845	81,043	4,179
0,580	0,547	0,579	87,218	88,943	89,767	88,643	1,300
0,596	0,574	0,613	89,624	93,333	95,039	92,665	2,768
0,635	0,593	0,625	95,489	96,423	96,899	96,270	0,717

Tabla 13. Obtención de disminución, porcentaje de disminución, promedio porcentaje de disminución absorbancias y desviación estándar para la parte aérea con ensayo de ABTS⁺.

Concentraciones (mg/mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3
0,01	0,588	0,541	0,617
0,03	0,547	0,504	0,541
0,05	0,527	0,491	0,514
0,07	0,433	0,453	0,425
0,09	0,411	0,405	0,412
0,11	0,407	0,399	0,380
0,13	0,326	0,312	0,344
0,15	0,318	0,294	0,308
0,17	0,284	0,258	0,277
ABTS	0,705	0,703	0,718
ABTS+AGUA	0,644	0,623	0,645

Tabla 14. Concentraciones con sus determinadas absorbancias con ensayo de ABTS⁺ de extracto acuoso de la raíz.

Disminución 1	Disminución 2	Disminución 3	%l 1	%l 2	%l 3	P%l	Desviación estándar
0,056	0,082	0,028	8,696	13,162	4,341	8,733	4,410
0,097	0,119	0,104	15,062	19,101	16,124	16,762	2,093
0,117	0,132	0,131	18,168	21,188	20,310	19,889	1,553
0,211	0,170	0,220	32,764	27,287	34,109	31,387	3,613
0,233	0,218	0,233	36,180	34,992	36,124	35,765	0,670
0,237	0,224	0,265	36,801	35,955	41,085	37,947	2,750
0,318	0,311	0,301	49,379	49,920	46,667	48,655	1,743
0,326	0,329	0,337	50,621	52,809	52,248	51,893	1,136
0,360	0,365	0,368	55,901	58,587	57,054	57,181	1,347

Tabla 15. Obtención de disminución, porcentaje de disminución, promedio porcentaje de disminución absorbancias y desviación estándar para la raíz con ensayo de ABTS⁺.

Concentraciones (mg/mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Promedio	Desviación Estándar
0,005	0,611	0,602	0,607	0,607	0,005
0,010	0,538	0,56	0,541	0,546	0,012
0,015	0,466	0,523	0,497	0,495	0,029
0,020	0,428	0,445	0,458	0,444	0,015
0,025	0,372	0,413	0,396	0,394	0,021
0,030	0,255	0,323	0,274	0,284	0,035
0,035	0,190	0,264	0,250	0,235	0,039
0,040	0,154	0,165	0,161	0,160	0,006
0,045	0,115	0,095	0,093	0,101	0,012
0,050	0,024	0,041	0,037	0,034	0,009

Tabla 16. Absorbancias obtenidas para curva de calibración de trolox y su desviación estándar.

Concentración	Abs 1	Abs 2	Abs 3
0,12	0,369	0,354	0,349

Tabla 17. Absorbancias obtenidas en triplicado de parte aérea para trolox.

Concentración	Abs 1	Abs 2	Abs 3
0,14	0,340	0,339	0,337

Tabla 18. Absorbancias obtenidas en triplicado de la raíz para trolox.

Tiempo	Abs 1	Abs 2	Abs 3	I 1	I 2	I 3	%I 1	%I 2	%I 3	P%I	Desviación estándar
0	0,614	0,602	0,528	0,188	0,206	0,288	23,441	25,495	35,294	28,077	6,334
5	0,266	0,252	0,210	0,536	0,556	0,606	66,833	68,812	74,265	69,970	3,849
10	0,194	0,210	0,174	0,608	0,598	0,642	75,810	74,010	78,676	76,166	2,353
15	0,164	0,200	0,162	0,638	0,608	0,654	79,551	75,248	80,147	78,315	2,673
20	0,15	0,194	0,158	0,652	0,614	0,658	81,297	75,990	80,637	79,308	2,892
25	0,144	0,190	0,154	0,658	0,618	0,662	82,045	76,485	81,127	79,886	2,981
30	0,138	0,190	0,154	0,664	0,618	0,662	82,793	76,485	81,127	80,135	3,269
35	0,136	0,188	0,152	0,666	0,620	0,664	83,042	76,733	81,373	80,383	3,269
40	0,134	0,188	0,152	0,668	0,620	0,664	83,292	76,733	81,373	80,466	3,372
45	0,132	0,186	0,152	0,670	0,622	0,664	83,541	76,980	81,373	80,631	3,343
50	0,13	0,186	0,152	0,672	0,622	0,664	83,791	76,980	81,373	80,714	3,453
55	0,13	0,186	0,150	0,672	0,622	0,666	83,791	76,980	81,618	80,796	3,479
60	0,13	0,186	0,150	0,672	0,622	0,666	83,791	76,980	81,618	80,796	3,479
65	0,13	0,186	0,150	0,672	0,622	0,666	83,791	76,980	81,618	80,796	3,479
70	0,128	0,184	0,150	0,674	0,624	0,666	84,040	77,228	81,618	80,962	3,453
75	0,128	0,184	0,150	0,674	0,624	0,666	84,040	77,228	81,618	80,962	3,453
80	0,128	0,184	0,150	0,674	0,624	0,666	84,040	77,228	81,618	80,962	3,453
85	0,128	0,184	0,150	0,674	0,624	0,666	84,040	77,228	81,618	80,962	3,453
90	0,128	0,184	0,150	0,674	0,624	0,666	84,040	77,228	81,618	80,962	3,453
95	0,128	0,184	0,150	0,674	0,624	0,666	84,040	77,228	81,618	80,962	3,453
100	0,126	0,184	0,150	0,676	0,624	0,666	84,289	77,228	81,618	81,045	3,565
105	0,126	0,184	0,150	0,676	0,624	0,666	84,289	77,228	81,618	81,045	3,565
110	0,126	0,184	0,148	0,676	0,624	0,668	84,289	77,228	81,863	81,127	3,588
115	0,126	0,184	0,148	0,676	0,624	0,668	84,289	77,228	81,863	81,127	3,588
120	0,126	0,184	0,148	0,676	0,624	0,668	84,289	77,228	81,863	81,127	3,588
125	0,126	0,184	0,148	0,676	0,624	0,668	84,289	77,228	81,863	81,127	3,588
130	0,126	0,184	0,148	0,676	0,624	0,668	84,289	77,228	81,863	81,127	3,588
135	0,126	0,184	0,148	0,676	0,624	0,668	84,289	77,228	81,863	81,127	3,588
DPPH	0,874	0,877	0,886								
DPPH+H ₂ O	0,802	0,808	0,816								

Tabla 19. Absorbancias obtenidas durante el tiempo mediante ensayo de DPPH en parte aérea, las disminuciones, porcentajes de disminuciones, su promedio y la desviación estándar.

Tiempo	Abs 1	Abs 2	Abs 3	I 1	I 2	I 3	%I 1	%I 2	%I 3	P%I	Desviación estándar
0	0,627	0,578	0,592	0,173	0,231	0,113	21,625	28,554	16,028	22,069	6,274
5	0,447	0,424	0,428	0,353	0,385	0,277	44,125	47,590	39,291	43,668	4,168
10	0,397	0,371	0,384	0,403	0,438	0,321	50,375	54,141	45,532	50,016	4,316
15	0,368	0,339	0,360	0,432	0,470	0,345	54,000	58,096	48,936	53,678	4,589
20	0,346	0,317	0,344	0,454	0,492	0,361	56,750	60,816	51,206	56,257	4,824
25	0,330	0,299	0,332	0,470	0,510	0,373	58,750	63,041	52,908	58,233	5,086
30	0,316	0,285	0,322	0,484	0,524	0,383	60,500	64,771	54,326	59,866	5,251
35	0,305	0,273	0,314	0,495	0,536	0,391	61,875	66,255	55,461	61,197	5,429
40	0,295	0,263	0,307	0,505	0,546	0,398	63,125	67,491	56,454	62,357	5,558
45	0,286	0,254	0,300	0,514	0,555	0,405	64,250	68,603	57,447	63,433	5,623
50	0,278	0,246	0,295	0,522	0,563	0,410	65,250	69,592	58,156	64,333	5,773
55	0,271	0,239	0,289	0,529	0,570	0,416	66,125	70,457	59,007	65,196	5,781
60	0,265	0,233	0,284	0,535	0,576	0,421	66,875	71,199	59,716	65,930	5,799
65	0,259	0,227	0,279	0,541	0,582	0,426	67,625	71,941	60,426	66,664	5,817
70	0,253	0,222	0,274	0,547	0,587	0,431	68,375	72,559	61,135	67,356	5,780
75	0,247	0,217	0,270	0,553	0,592	0,435	69,125	73,177	61,702	68,001	5,819
80	0,243	0,213	0,266	0,557	0,596	0,439	69,625	73,671	62,270	68,522	5,780
85	0,239	0,209	0,262	0,561	0,600	0,443	70,125	74,166	62,837	69,043	5,741
90	0,235	0,205	0,258	0,565	0,604	0,447	70,625	74,660	63,404	69,563	5,703
95	0,231	0,201	0,255	0,569	0,608	0,450	71,125	75,155	63,830	70,036	5,740
100	0,228	0,198	0,252	0,572	0,611	0,453	71,500	75,525	64,255	70,427	5,711
105	0,225	0,194	0,249	0,575	0,615	0,456	71,875	76,020	64,681	70,859	5,737
110	0,222	0,191	0,246	0,578	0,618	0,459	72,250	76,391	65,106	71,249	5,708
115	0,219	0,188	0,242	0,581	0,621	0,463	72,625	76,761	65,674	71,687	5,603
120	0,216	0,186	0,239	0,584	0,623	0,466	73,000	77,009	66,099	72,036	5,518
125	0,214	0,183	0,237	0,586	0,626	0,468	73,250	77,379	66,383	72,337	5,555
130	0,211	0,181	0,234	0,589	0,628	0,471	73,625	77,627	66,809	72,687	5,470
135	0,208	0,179	0,232	0,592	0,630	0,473	74,000	77,874	67,092	72,989	5,462
DPPH	0,859	0,839	0,854								
DPPH+H ₂ O	0,800	0,809	0,705								

Tabla 20. Absorbancias obtenidas durante el tiempo mediante ensayo de DPPH en la raíz, las disminuciones, porcentajes de disminuciones, su promedio y la desviación estándar.

Tiempo	Abs 1	Abs 2	Abs 3	I 1	I 2	I 3	%I 1	%I 2	%I 3	P%I	Desviación estándar
0	0,461	0,460	0,456	0,217	0,224	0,221	32,006	32,749	32,644	32,466	0,402
5	0,408	0,381	0,350	0,270	0,303	0,327	39,823	44,298	48,301	44,141	4,241
10	0,388	0,349	0,308	0,290	0,335	0,369	42,773	48,977	54,505	48,752	5,869
15	0,376	0,336	0,293	0,302	0,348	0,384	44,543	50,877	56,721	50,714	6,091
20	0,365	0,324	0,280	0,313	0,360	0,397	46,165	52,632	58,641	52,479	6,239
25	0,355	0,305	0,252	0,323	0,379	0,425	47,640	55,409	62,777	55,275	7,569
30	0,344	0,288	0,230	0,334	0,396	0,447	49,263	57,895	66,027	57,728	8,383
35	0,335	0,278	0,218	0,343	0,406	0,459	50,590	59,357	67,799	59,249	8,605
40	0,329	0,270	0,209	0,349	0,414	0,468	51,475	60,526	69,129	60,377	8,828
45	0,323	0,262	0,199	0,355	0,422	0,478	52,360	61,696	70,606	61,554	9,124
50	0,318	0,252	0,190	0,360	0,432	0,487	53,097	63,158	71,935	62,730	9,426
55	0,313	0,249	0,182	0,365	0,435	0,495	53,835	63,596	73,117	63,516	9,641
60	0,309	0,243	0,175	0,369	0,441	0,502	54,425	64,474	74,151	64,350	9,864
65	0,304	0,237	0,168	0,374	0,447	0,509	55,162	65,351	75,185	65,233	10,012
70	0,300	0,232	0,161	0,378	0,452	0,516	55,752	66,082	76,219	66,018	10,233
75	0,296	0,228	0,153	0,382	0,456	0,524	56,342	66,667	77,400	66,803	10,530
80	0,292	0,221	0,148	0,386	0,463	0,529	56,932	67,690	78,139	67,587	10,604
85	0,289	0,218	0,142	0,389	0,466	0,535	57,375	68,129	79,025	68,176	10,825
90	0,286	0,213	0,137	0,392	0,471	0,540	57,817	68,860	79,764	68,813	10,973
95	0,282	0,207	0,132	0,396	0,477	0,545	58,407	69,737	80,502	69,549	11,049
100	0,279	0,202	0,123	0,399	0,482	0,554	58,850	70,468	81,832	70,383	11,491
105	0,276	0,198	0,118	0,402	0,486	0,559	59,292	71,053	82,570	70,972	11,639
110	0,272	0,194	0,114	0,406	0,490	0,563	59,882	71,637	83,161	71,560	11,640
115	0,270	0,191	0,110	0,408	0,493	0,567	60,177	72,076	83,752	72,002	11,788
120	0,267	0,187	0,105	0,411	0,497	0,572	60,619	72,661	84,490	72,590	11,936
125	0,264	0,185	0,101	0,414	0,499	0,576	61,062	72,953	85,081	73,032	12,010
130	0,261	0,180	0,097	0,417	0,504	0,580	61,504	73,684	85,672	73,620	12,084
135	0,259	0,173	0,094	0,419	0,511	0,583	61,799	74,708	86,115	74,207	12,166
ABTS	0,706	0,719	0,712								
ABTS+H ₂ O	0,678	0,684	0,677								

Tabla 21. Absorbancias obtenidas durante el tiempo mediante ensayo de ABTS⁺ en parte aérea, las disminuciones, porcentajes de disminuciones, su promedio y la desviación estándar.

Tiempo	Abs 1	Abs 2	Abs 3	I 1	I 2	I 3	%I 1	%I 2	%I 3	P%I	Desviación estándar
0	0,469	0,459	0,479	0,196	0,176	0,189	29,474	27,717	28,293	28,495	0,896
5	0,400	0,397	0,422	0,265	0,238	0,246	39,850	37,480	36,826	38,052	1,591
10	0,374	0,371	0,398	0,291	0,264	0,270	43,759	41,575	40,419	41,918	1,696
15	0,358	0,354	0,378	0,307	0,281	0,290	46,165	44,252	43,413	44,610	1,411
20	0,346	0,342	0,366	0,319	0,293	0,302	47,970	46,142	45,210	46,440	1,404
25	0,337	0,331	0,355	0,328	0,304	0,313	49,323	47,874	46,856	48,018	1,240
30	0,327	0,318	0,347	0,338	0,317	0,321	50,827	49,921	48,054	49,601	1,414
35	0,318	0,306	0,341	0,347	0,329	0,327	52,180	51,811	48,952	50,981	1,767
40	0,309	0,296	0,332	0,356	0,339	0,336	53,534	53,386	50,299	52,406	1,826
45	0,301	0,288	0,319	0,364	0,347	0,349	54,737	54,646	52,246	53,876	1,413
50	0,294	0,281	0,308	0,371	0,354	0,360	55,789	55,748	53,892	55,143	1,084
55	0,289	0,275	0,297	0,376	0,360	0,371	56,541	56,693	55,539	56,258	0,627
60	0,283	0,269	0,290	0,382	0,366	0,378	57,444	57,638	56,587	57,223	0,559
65	0,278	0,254	0,284	0,387	0,381	0,384	58,195	60,000	57,485	58,560	1,297
70	0,273	0,258	0,280	0,392	0,377	0,388	58,947	59,370	58,084	58,800	0,656
75	0,268	0,253	0,274	0,397	0,382	0,394	59,699	60,157	58,982	59,613	0,592
80	0,264	0,248	0,269	0,401	0,387	0,399	60,301	60,945	59,731	60,325	0,608
85	0,260	0,243	0,264	0,405	0,392	0,404	60,902	61,732	60,479	61,038	0,638
90	0,256	0,239	0,259	0,409	0,396	0,409	61,504	62,362	61,228	61,698	0,592
95	0,252	0,235	0,254	0,413	0,400	0,414	62,105	62,992	61,976	62,358	0,553
100	0,248	0,230	0,249	0,417	0,405	0,419	62,707	63,780	62,725	63,070	0,614
105	0,244	0,226	0,244	0,421	0,409	0,424	63,308	64,409	63,473	63,730	0,594
110	0,241	0,213	0,240	0,424	0,422	0,428	63,759	66,457	64,072	64,763	1,475
115	0,237	0,208	0,236	0,428	0,427	0,432	64,361	67,244	64,671	65,425	1,583
120	0,234	0,205	0,232	0,431	0,430	0,436	64,812	67,717	65,269	65,933	1,562
125	0,231	0,200	0,229	0,434	0,435	0,439	65,263	68,504	65,719	66,495	1,754
130	0,227	0,197	0,225	0,438	0,438	0,443	65,865	68,976	66,317	67,053	1,681
135	0,224	0,193	0,221	0,441	0,442	0,447	66,316	69,606	66,916	67,613	1,752
ABTS	0,715	0,713	0,700								
ABTS+H ₂ O	0,665	0,635	0,668								

Tabla 22. Absorbancias obtenidas durante el tiempo mediante ensayo de ABTS⁺ en la raíz, las disminuciones, porcentajes de disminuciones, su promedio y la desviación estándar.

Concentraciones	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Promedio	Desviación Estándar
0,001	0,130	0,128	0,133	0,130	0,003
0,002	0,343	0,368	0,357	0,356	0,013
0,003	0,534	0,540	0,538	0,537	0,003
0,004	0,600	0,598	0,604	0,601	0,003
0,005	0,833	0,842	0,851	0,842	0,009
0,006	0,958	0,943	0,967	0,956	0,012

Tabla 23. Obtención de absorbancias para cálculo de polifenoles.

Parte aérea	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3
0,025 mg/mL	0,617	0,602	0,604

Tabla 24. Absorbancias obtenidas de parte aérea con concentración para determinación de polifenoles totales.

Parte Raíz	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3
0,025 mg/mL	0,477	0,455	0,476

Tabla 25. Absorbancias obtenidas de la raíz con concentración para determinación de polifenoles totales.

Concentraciones	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Promedio	Desviación Estándar
0,0025	0,082	0,079	0,073	0,078	0,005
0,005	0,170	0,151	0,168	0,163	0,010
0,010	0,243	0,267	0,251	0,254	0,012
0,015	0,346	0,362	0,366	0,358	0,011
0,020	0,529	0,421	0,479	0,476	0,054
0,030	0,636	0,616	0,627	0,626	0,010
0,040	0,756	0,739	0,739	0,745	0,010

Tabla 26. Obtención de absorbancias para cálculo de flavonoides.

Concentración	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3
0,1 mg/mL	0,292	0,288	0,279

Tabla 27. Absorbancias obtenidas de parte aérea con concentración para determinación de flavonoides totales.

Concentración	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3
0,1 mg/mL	0,234	0,231	0,249

Tabla 28. Absorbancias obtenidas de parte raíz con concentración para determinación de flavonoides totales.