

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
CAMPUS LOS ÁNGELES
ESCUELA DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS**

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA VEGETAL



Efectos biológicos evaluados en extractos metanólicos obtenidos desde hojas, estolones y raíces de *Carpobrotus edulis* (L.) N. E. Br.

MEMORIA DE TÍTULO PARA
OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO
EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL.

**SERGIO ANDRÉS MEZA ALARCÓN
LOS ÁNGELES CHILE**

2023

**Efectos biológicos evaluados en extractos metanólicos obtenidos desde
hojas, estolones y raíces de *Carpobrotus edulis* (L.) N. E. Br.**

Alumno

Sergio Andrés Meza Alarcón
Ingeniero en Biotecnología Vegetal

Profesor Guía

Dr. Carlos Schneider Barrera
Profesor Asociado
Químico Farmacéutico

Jefe de Carrera

Pedro Quiroz Hernández
Profesor Instructor
Ingeniero de Ejecución Forestal

Director de Departamento

Dr. Mauricio J. Rondanelli Reyes
Profesor Asociado
Biólogo

Agradecimientos

Agradezco a mi amor, Gise por acompañarme en las buenas y en las malas durante el último tiempo.

A mi familia que me apoyo en todo momento a lo largo de mi desarrollo académico y en mi vida; les debo mucho.



Indice

NOMENCLATURA Y ABREVIACIONES.....	9
Resumen	10
Abstract	11
1. Introducción	12
2. Hipótesis	14
3. Objetivos.....	14
3.1. Objetivo general	14
3.2. Objetivos Específicos	14
4. Marco teórico	15
4.1. Descripción de <i>Carpobrotus edulis</i>	15
4.2. Radicales libres	16
4.3. Actividad antioxidante	17
4.4. Métodos de Evaluación de la Actividad Antioxidante	19
4.4.1. DPPH.....	19
4.4.2. ABTS	20
4.4.3. Evaluación <i>in vivo</i> mediante eritrocitos humanos	20
4.5. Descripción de Metabolitos secundarios	21
4.5.1. Terpenos	22
4.5.2. Compuestos fenólicos o polifenoles	23
4.5.2.1. Ácidos fenólicos	24
4.5.2.2. Lignanos.....	24
4.5.2.3. Flavonoides.....	25
4.5.2.4. Taninos	26
4.5.3. Compuestos que contienen nitrógeno	27
4.6. Actividad antimicrobiana	27
5. Materiales y métodos.....	28
5.1. Material vegetal.....	28
5.2. Preparación de los extractos metanólicos.....	30
5.3. Determinación de actividad antioxidante mediante el radical DPPH	30
5.4. Ensayo de cinética mediante el radical DPPH	31
5.5. Equivalentes de ácido gálico para el ensayo del reactivo DPPH	32

5.6.	Determinación de actividad antioxidante mediante el radical catiónico ABTS•+	32
5.7.	Ensayo de cinética mediante el radical catiónico ABTS•+	33
5.8.	Equivalentes de Trolox para el ensayo del reactivo ABTS	33
5.9.	Determinación de cenizas	34
5.10.	Curva de calibración para determinación del contenido de Polifenoles totales 34	
5.11.	Determinación de concentración de Polifenoles totales en extractos metanólicos de <i>C. edulis</i>	35
5.12.	Determinación de contenido de Flavonoides totales.....	35
5.13.	Determinación de concentración de Flavonoides totales en extractos metanólicos de <i>C. edulis</i>	36
5.14.	Análisis estadístico para comparación de actividad antioxidante en extractos metanólicos <i>C. edulis</i>	36
5.15.	Evaluación del efecto de extractos en modelo de membrana de eritrocitos humanos.....	37
5.16.	Identificación cualitativa de metabolitos secundarios.....	37
5.16.1.	Antraquinonas oxidadas y libres.....	38
5.16.2.	Antraquinonas combinadas y reducidas.....	38
5.16.3.	Alcaloides	38
5.16.4.	Flavonoides	38
5.16.5.	Taninos.....	39
5.16.6.	Saponinas	39
5.17.	Evaluación de actividad antimicrobiana	39
6.	Resultados.....	40
6.1.	Rendimiento de los extractos	40
6.2.	Determinación de actividad antioxidante mediante el radical DPPH en extractos de hojas y estolones/raíces de <i>C. edulis</i> de crecimiento en arena y tierra	41
6.3.	Equivalentes de ácido gálico (GAE) para el ensayo del reactivo DPPH ..	44
6.4.	Efecto durante el tiempo medido con DPPH en extractos de hojas y estolones/raíces de <i>C. edulis</i> de crecimiento en arena.....	45
6.5.	Determinación de actividad antioxidante mediante el radical catiónico ABTS•+ en extractos metanólicos de hojas y estolones/raíces de <i>C. edulis</i>	46

6.7. Efecto durante el tiempo medido con el radical catiónico ABTS•+ en extractos metanólicos de hojas y estolones/raíces de <i>C. edulis</i> de crecimiento en arena.....	50
6.8. Determinación de la concentración de polifenoles totales determinada mediante el método Folin-Ciocalteu.....	52
6.9. Determinación de concentración de flavonoides.....	53
6.10. Resultados sobre la evaluación del efecto de extractos en modelo de membrana de eritrocitos humanos.....	55
6.11. Resultados sobre determinación de cenizas en suelos de arena y tierra .	55
6.12. Resultados comparativos sobre actividad antioxidante en extractos metanólicos de <i>C. edulis</i>	56
6.13. Resultados cualitativos de grupos de metabolitos secundarios en extractos metanólicos secos de <i>C. edulis</i> recolectada desde suelo de arena ...	57
6.13.1. Antraquinonas oxidadas y libres.....	57
6.13.2. Antraquinonas combinadas y reducidas.....	57
6.13.3. Alcaloides.....	58
6.13.4. Flavonoides.....	58
6.13.5. Taninos.....	59
6.13.6. Saponinas.....	60
6.14. Actividad antimicrobiana.....	61
7. Discusión.....	61
8. Conclusión.....	63
9. Bibliografía.....	64
10. Anexo.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Contenido

Página

Figura 1 A) Flor de <i>C. chilensis</i> . B) Flor de <i>C. edulis</i> . C) Corte longitudinal de flores de <i>C. edulis</i> y <i>C. chilensis</i> D) Hoja de <i>C. chilensis</i> y <i>C. edulis</i>	16
Figura 2 La molécula de DPPH se mezcla en una solución con el sustrato (AH), dona un átomo de hidrogeno dando lugar su forma reducida.....	19

Figura 3 Estructura molecular de ABTS y del catión radical ABTS ⁺ (Osman et al. 2006).	20
Figura 4 Representación simplificada de las principales vías metabólicas de los metabolitos primarios y secundarios (Bhatla 2018).	22
Figura 5 Unidad básica de terpenos (Isopreno).	22
Figura 6 Estructura básica de compuestos fenólicos.	24
Figura 7 Ácido fenólico (Ácido ferúlico).	24
Figura 8 Estructura base de lignanos: alcohol paracumarílico, el alcohol coniferílico y el alcohol sinapílico.	25
Figura 9 Estructura base de los principales tipos de flavonoides y su estructura general (Pandey y Rizvi 2009).	26
Figura 10. Taninos (Ácido gálico).	26
Figura 11 Alcaloides (Coniina).	27
Figura 12 A) <i>C. edulis</i> de crecimiento en arena, B) <i>C. edulis</i> de crecimiento en tierra.	29
Figura 13 A) hojas y estolones/raíces de <i>C. edulis</i> de crecimiento en arena, B) hojas y estolones/raíces de <i>C. edulis</i> de crecimiento en tierra.	29
Figura 14 Porcentaje de inhibición del radical DPPH a diferentes concentraciones de extracto metanólico de hojas de <i>C. edulis</i> .	42
Figura 15 Porcentaje de inhibición del radical DPPH a diferentes concentraciones de extracto metanólico de estolones/raíces de <i>C. edulis</i> .	43
Figura 16 Curva de calibración para obtener los equivalentes de ácido gálico (GAE) mediante el método DPPH.	44
Figura 17 Efecto durante el tiempo de extracto metanólico de hojas arena de <i>C. edulis</i> frente al radical DPPH.	46
Figura 18 Efecto durante el tiempo de extracto metanólico de estolones/raíces arena de <i>C. edulis</i> frente al radical DPPH.	46
Figura 19 Porcentaje de inhibición del radical catiónico ABTS a diferentes concentraciones de extracto metanólico de hojas de <i>C. edulis</i> de crecimiento en arena y tierra.	47
Figura 20 Porcentaje de inhibición del radical catiónico ABTS a diferentes concentraciones de extracto metanólico de estolones/raíces de <i>C. edulis</i> de crecimiento en arena y tierra.	48
Figura 21 Curva de calibración para obtener los equivalentes de Trolox para el ensayo de ABTS.	49
Figura 22 Ensayo de cinética mediante el radical catiónico ABTS para el extracto metanólico de hojas arena de <i>C. edulis</i> .	51
Figura 23 Ensayo de cinética mediante el radical catiónico ABTS para el extracto metanólico de estolones/raíces de arena de <i>C. edulis</i> .	51
Figura 24 Curva de calibración de ácido gálico mediante el método Folin-C.	52
Figura 25 Curva de calibración de Catequina para el contenido de flavonoides.	54

Figura 26 Determinación de antraquinonas oxidadas y libres (A) extracto hojas y (B) extracto de estolones/raíces de <i>C. edulis</i>	57
Figura 27 Determinación de antraquinonas combinadas y reducidas (A) extracto de hojas y (B) extracto de estolones/raíces de <i>C. edulis</i>	58
Figura 28 Determinación de presencia de alcaloides (A) extracto de hojas y (B) extracto de estolones/raíces de <i>C. edulis</i>	58
Figura 29 Determinación de presencia de flavonoides bajo el test HCl/Zn (A) extracto de hojas y (B) extracto de estolones/raíces de <i>C. edulis</i>	59
Figura 30 Determinación de presencia de flavonoides bajo el test de HCl/Mg (A) extracto de hojas y (B) extracto de estolones/raíces de <i>C. edulis</i>	59
Figura 31 Determinación de presencia de taninos (A) extracto de hojas y (B) extracto de estolones/raíces de <i>C. edulis</i>	59
Figura 32 Determinación de presencia de saponinas (A) extracto de hojas y (B) extracto de estolones/raíces de <i>C. edulis</i>	60
Tabla 1 Microorganismos utilizados para la evaluación de la actividad antimicrobiana, en extractos metanólicos de <i>C. edulis</i>	39
Tabla 2 Rendimiento de extractos metanólico de tejidos de <i>C. edulis</i> de crecimiento en arena y tierra.	41
Tabla 3 IC ₅₀ de DPPH y ABTS, equivalente de ácido gálico (GAE), equivalente Trolox, contenido de flavonoides y polifenoles de cada extracto obtenido de <i>C. edulis</i> de crecimiento en arena y tierra.	56
Tabla 4 Metabolitos secundarios identificados de extracto secos de hojas y estolones/raíces de <i>C. edulis</i>	60

NOMENCLATURA Y ABREVIACIONES

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

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo

CAT: catequina

C. edulis: *Carpobrotus edulis*

GAE: equivalentes de ácido gálico

IC₅₀: concentración inhibitoria media (50%)

O₂: oxígeno

7β-OHC: 7-β-hidroxicolesterol

ROS: especies reactivas de oxígeno

RNS: especies reactivas de nitrógeno

nm: nanómetro

K₂S₂O₈: persulfato de potasio

Folin-C: Folin-Ciocalteu

M: molar

NaOH: hidróxido de sodio

NH₃: Amoniaco

HA: Hojas Arena

HT: Hojas Tierra

ERA: Estolones/ Raíces Arena

ERT: Estolones/ Raíces Tierra

Resumen

Carpobrotus edulis (L.) N. E. Br. (*Aizoaceae*) corresponde a una planta invasora originaria de Sudáfrica, que presenta una alta capacidad de crecimiento en espacios abiertos y zonas cercanas al mar y adaptándose en hábitats costeros. La tolerancia al estrés ambiental provocado por crecer cerca de costas marinas está ampliamente relacionada con una alta producción de metabolitos secundarios con diversos efectos biológicos. El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos metanólicos obtenidos a partir de hojas, raíces y estolones de *C. edulis*, provenientes de plantas que crecen en suelo de arena y en suelo de tierra, con el fin de comparar su potencial biológico. La actividad antioxidante fue evaluada mediante ensayos *in vitro* utilizando los radicales DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3- etilbenzotiazolina -6-sulfónico)), así como mediante un modelo *in vivo* basado en eritrocitos humanos. Además, se determinó el contenido de polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu, expresados como equivalentes de ácido gálico, y el contenido de flavonoides totales, expresados como equivalentes de catequina. Asimismo, se realizó la identificación cualitativa de metabolitos secundarios. Finalmente, se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos frente a patógenos bacterianos y fúngicos. Los resultados fueron positivos para la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de *C. edulis*. Sin embargo, al compararse los valores IC₅₀ de los extractos de *C. edulis* de arena medidos mediante DPPH (HA = 0,13 y ERA = 0,56) y mediante ABTS (HA = 0,08 y ERA = 0,13), con los extractos de *C. edulis* de tierra medidos mediante DPPH (HT = 0,15 y ERT = 0,69) y mediante ABTS (HT = 0,09 y ERT = 0,15), se observaron menores valores para los extractos obtenidos desde *C. edulis* de arena. En cuanto al contenido de compuestos fenólicos y flavonoides, los extractos metanólicos de hojas provenientes de plantas en arena presentaron valores levemente superiores al obtener 259,1 ± 27,8 mg para polifenoles y 112,85 ± 6,9 mg para flavonoides, en comparación con aquellos provenientes de tierra con valores de 200,1 ± 20,8 mg para polifenoles y 96,9 ± 4,2 mg para flavonoides. El análisis fitoquímico cualitativo evidenció la presencia de diversos metabolitos secundarios, destacando principalmente compuestos fenólicos y flavonoides, además de la detección de saponinas. En el modelo de eritrocitos humanos, no se observó una actividad antioxidante significativa. Sin embargo, los extractos mostraron un efecto hemolítico bajo las condiciones evaluadas, lo que sugiere la posible presencia de compuestos con actividad citotóxica en este sistema biológico. Por otra parte, los extractos no mostraron actividad antimicrobiana frente a los microorganismos evaluados. En conjunto, los resultados indican que *C. edulis* posee compuestos con actividad antioxidante, con diferencia según el tipo de suelo.

Abstract

Carpobrotus edulis (L.) N. E. Br. (Aizoaceae) is an invasive plant native to South Africa, which has a high capacity for growth in open spaces and areas near the sea, and adaptability to coastal habitats. Tolerance to the environmental stress from growing in coastal areas is widely associated with a high production of secondary metabolites with various biological effects. The objective of this study was to determine the antioxidant and antimicrobial activity of methanolic extracts obtained from leaves, roots, and stolons of *C. edulis* from plants growing in sandy soil and loamy soil, in order to compare their biological potential. Antioxidant activity was evaluated by in vitro assays using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS (2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) radicals, as well as by an in vivo model based on human erythrocytes. In addition, the total polyphenol content was determined by the Folin–Ciocalteu method and expressed as gallic acid equivalents, and the total flavonoid content was determined and expressed as catechin equivalents. A qualitative identification of secondary metabolites was also performed. Finally, the antimicrobial activity of the extracts was evaluated against bacterial and fungal pathogens. The results were positive for the antioxidant activity of the methanolic extracts of *C. edulis*. However, when comparing the IC₅₀ values of sand-grown *C. edulis* extracts measured by DPPH (HA = 0,13; REA = 0,56) and ABTS (HA = 0,08; REA = 0,13) with those of soil-grown *C. edulis* extracts measured by DPPH (HT = 0,15; RET = 0,69) and ABTS (leaf: HT = 0,09; root: RET = 0,15), lower values were observed for the extracts obtained from sand-grown *C. edulis*. Regarding the content of phenolic compounds and flavonoids, the methanolic leaf extracts from sand-grown plants exhibited slightly higher values, obtaining $259,1 \pm 27,8$ mg for polyphenols and $112,85 \pm 6,9$ mg for flavonoids, compared to those from soil-grown plants, which showed values of $200,1 \pm 20,8$ mg for polyphenols and $96,9 \pm 4,2$ mg for flavonoids. The qualitative phytochemical analysis evidenced the presence of various secondary metabolites, mainly phenolic compounds and flavonoids, as well as the detection of saponins. In the human erythrocyte model, no significant antioxidant activity was observed. However, the extracts showed a hemolytic effect under the evaluated conditions, suggesting the possible presence of compounds with cytotoxic activity in this biological system. Furthermore, the extracts did not show antimicrobial activity against the evaluated microorganisms. The results indicate that *C. edulis* possesses compounds with antioxidant activity, with differences according to soil type.

1. Introducción

La investigación de plantas medicinales es un método establecido para el descubrimiento de nuevos fármacos y tratamientos que contribuyen al desarrollo de la industria farmacéutica. Las antiguas civilizaciones utilizaban hierbas o mezclas de ellas como un tratamiento farmacológico, por lo que desde la antigüedad el ser humano ha buscado remedios para curar sus enfermedades y así aliviar sus malestares (Srivastava 2018).

La actividad terapéutica en plantas está relacionada con los compuestos bioactivos, que son aquellos compuestos orgánicos dotados de una gama de efectos farmacológicos (Chikezie et al. 2015). Las investigaciones fitoquímicas proponen la posibilidad de los compuestos bioactivos presentes en las plantas, como agentes preventivos útiles contra enfermedades como la diabetes, complicaciones neurodegenerativas y cáncer (Zhao et al. 2014).

Uno de los principales efectos de los compuestos bioactivos investigados en plantas es la actividad antioxidante. Es una actividad biológica altamente estudiada para prevenir los procesos destructivos causados por el estrés oxidativo. Los antioxidantes naturales estabilizan los radicales libres, que a menudo atacan los organelos o macromoléculas en las células (Saeed et al. 2012). Las plantas medicinales contienen grandes cantidades de antioxidantes como los polifenoles y flavonoides, que pueden desempeñar un papel importante en la adsorción y neutralización de los radicales libres. Muchos de estos fitoquímicos poseen capacidades antioxidantes significativas que están asociadas con una menor incidencia y tasas de mortalidad más bajas de varias enfermedades humanas. Por lo que, en los últimos años ha crecido el interés para sus usos en productos alimenticios, farmacéuticos y cosméticos (Djeridane et al. 2006).

Carpobrotus edulis (*C. edulis*) es una halófita facultativa y pertenece a la familia *Aizoaceae*, es originaria de Sudáfrica y fue introducido a Europa junto con otras plantas de su género en el siglo 19 como planta ornamental. Desde ahí se ha propagado como una planta invasora cerca de las costas en diversos continentes,

ya que presenta una tasa de crecimiento amplia en espacios abiertos y zonas cercanas al mar (Traveset et al. 2007). Históricamente ha sido conocida por su uso ornamental, estabilizadora y controladora de erosión de suelos, pero originalmente era utilizada como planta suculenta medicinal y comestible. Sus hojas y frutos se utilizan tradicionalmente para tratar la inflamación, disentería, problemas digestivos, tuberculosis, dolor de muelas, dolor de oído, tratamiento de infecciones de garganta, quemaduras estomacales, problemas de sabañones, úlceras bucales, sinusitis y diabetes (Akinyede et al. 2020).

La capacidad antioxidante de *C. edulis* ha sido altamente estudiada, cuyo enfoque se ha centrado en sus hojas y frutos, no obstante, las raíces y estolones de esta especie han sido objeto de interés para la investigación de esta actividad biológica. En la investigación de Falleh et al. (2011), se exploró la capacidad antioxidante de raíces, sin embargo, las hojas y los tallos de *C. edulis* presentaron mayor capacidad antioxidante, igualmente presentaron un mayor contenido de polifenoles y flavonoides. De manera complementaria, Falleh et al. (2013) señalaron que las diferentes fracciones metanólicas de hojas, tallos y raíces presentan un alto contenido fenólico, destacando la raíz como una de las fracciones con mayor actividad antioxidante. En conjunto, estos antecedentes indican que las distintas partes de *C. edulis* constituyen una fuente potencial de antioxidantes naturales.

Las raíces y estolones de *C. edulis* no han sido estudiadas en profundidad en comparación a sus otros órganos vegetativos. Por lo que, en el presente trabajo se determinarán las actividades antioxidantes de extractos metanólicos de estolones y raíces de *C. edulis*, comparándolas con la actividad antioxidante de hojas, igualmente se considera el lugar de crecimiento de las plantas investigadas (Arena y tierra), efectuando un estudio comparativo de los tejidos sobre su capacidad antioxidante.

2. Hipótesis

Hipótesis 1:

Los extractos metanólicos de hojas y de estolones/raíces de la especie *C. edulis* presentan actividad antioxidante, relacionada con su contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y otros metabolitos secundarios presentes.

Hipótesis 2:

C. edulis, al ser una especie de crecimiento preferente en arena, se desarrolla de mejor manera en suelos de arena, para así tener una mayor cantidad de fitocompuestos, y presentando una mayor capacidad antioxidante en relación con las plantas de la misma especie presentes en suelo de tierra.

Hipótesis 3

Los extractos metanólicos de hojas y de estolones/raíces *Carpobrotus edulis* presentan actividad antimicrobiana en relación con su contenido de metabolitos secundarios.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Evaluar la capacidad antioxidante *in vivo* e *in vitro* y la capacidad antimicrobiana de extractos metanólicos obtenidos desde hojas y estolones/raíces de *C. edulis* de crecimiento en arena y tierra, y determinar además el contenido de polifenoles y flavonoides.

3.2. Objetivos Específicos

- Determinar y comparar la actividad antioxidante en extractos metanólicos de hojas y estolones/raíces de *C. edulis* de crecimiento en arena y tierra mediante los radicales DPPH y ABTS.

- Evaluar el efecto antioxidante de extractos metanólicos de hojas y estolones/raíces de *C. edulis* en modelo de membrana de eritrocitos humanos.

- Identificar cuantitativamente y comparar el contenido total de polifenoles y concentración de flavonoides de extractos de hojas y estolones/raíces de *C. edulis* de crecimiento en arena y tierra.
- Identificar cualitativamente la presencia de grupos de metabolitos secundarios en los extractos estudiados como lo son: antraquinonas, alcaloides, flavonoides, saponinas y taninos, mediante métodos de carácter cualitativo.

4. Marco teórico

4.1. Descripción de *Carpobrotus edulis*

La familia *Aizoaceae* es una de las más grandes familias de plantas con hojas suculentas, dentro de la familia *Aizoaceae* se encuentra la subfamilia *Rushhioideae* contienen alrededor de 1585 especies en 112 géneros, a la que pertenece la especie *C. edulis* (Kubitzki et al. 2013). Es nativa del sur de África donde se encuentra de manera natural. Fue introducida en Europa con fines ornamentales y de estabilización de suelos erosionados a principios del siglo 19, donde actualmente se encuentra ampliamente naturalizada en los hábitats costeros del sur y Europa Oriental. Otro porcentaje menor de individuos han sido reportados también en Nueva Zelanda, Islas Canarias, distintas áreas mediterráneas y en zonas costeras occidentales como California y Chile, donde fue naturalizada en el Archipiélago de Juan Fernández y zonas costeras de las regiones de Valparaíso al Biobío (Campoy et al. 2018; Traveset et al. 2007).

C. edulis corresponde a una hierba perenne, suculenta, rastrera, cuyos tallos miden hasta 2 m de longitud. Sus hojas son carnosas, opuestas y algo conadas en la base, miden entre 7-10 cm de largo y alrededor de 1-1,5 cm de ancho, erectas, ligeramente curvadas y triangularmente transversales. Las flores de esta especie

son solitarias, de 6-10 cm de diámetro con ovario ínfero, posee diversos pétalos linear lanceolados de colores amarillos, rosáceos o púrpura dependiendo de la edad del individuo, con matices blancos; posee abundantes estambres, erectos y después convergentes hacia los estigmas, cuyos filamentos son amarillentos; sus estigmas están en disposición radial, son sésiles y plumosos (Figura 1). El fruto es una baya con cáliz persistente, indehiscente, carnoso, comestible, se torna amarillo con el tiempo, sus bayas con cáliz persistente, carnosas, indehiscentes y comestibles de 2,5-3 cm de largo, éstos son dispersados ampliamente por aves y mamíferos; se reproduce vegetativamente y por semillas (Campoy et al. 2018; Sotes et al. 2015). Hace poco tiempo, el género *Carpobrotus* era solo representado por una especie nativa, *Carpobrotus chilensis* (Figura 1). Sin embargo, luego de una investigación de las poblaciones litorales de este género, se encontró naturalizada en forma híbrida con *C. edulis*, en la Región de Valparaíso y del Biobío, la cual no había sido descrita como una especie distribuida de forma naturalizada en el país (Sotes et al. 2015).



Figura 1 A) Flor de *C. chilensis*. B) Flor de *C. edulis*. C) Corte longitudinal de flores de *C. edulis* y *C. chilensis* D) Hoja de *C. chilensis* y *C. edulis*.

4.2. Radicales libres

Por definición un radical libre es un tipo de átomo o molécula que contiene al menos un electrón desapareado. Debido a este electrón desapareado, un radical libre es

altamente reactivo. Un ejemplo común, es el radical OH ($\bullet$ OH) es una de las especies más activas jamás encontradas. Por lo tanto, puede oxidar casi todo tipo de compuestos orgánicos de forma rápida y eficaz (Pan et al. 2019). Los radicales libres pueden formarse como consecuencia de los procesos oxidativos. Muchos radicales son inestables y pueden ser capaces de dañar moléculas biológicamente relevantes como ADN, proteínas, carbohidratos y lípidos. Por estas características se le atribuyen enfermedades como afección inflamatoria, enfermedades cardiovasculares y ciertos cánceres (Lobo et al. 2010). Los radicales libres igualmente son conocidos como especies reactivas oxigénicas de oxígeno (ROS) y especies reactivas del nitrógeno (RNS). Son necesarios para el buen funcionamiento celular a bajas concentraciones, pudiendo actuar como segundos mensajeros estimulando la proliferación celular y actuando como mediadores para la activación de las células (Agudo 2010). Sin embargo, si los radicales libres superan la capacidad del organismo para controlarlos, un exceso de éstos puede acumularse hasta niveles tóxicos y dando como resultado el estrés oxidativo, produciéndose diversas acciones sobre el metabolismo de los principios inmediatos, que pueden ser origen del daño celular (Di Meo y Venditti 2020). El aumento de radicales libres puede ser provocado por el estrés oxidativo de los procesos metabólicos celulares o provenir de fuentes externas (como fumar o contaminantes ambientales), causando un exceso tóxico en los organismos, por lo que es importante su control para la salud humana (Pan et al. 2019).

4.3. Actividad antioxidante

El daño celular causado por los ROS y RNS, puede prevenirse mediante el uso de antioxidantes, siendo estos compuestos naturales o sintéticos capaces de retrasar el daño celular causado por oxidantes (Bedlovičová et al. 2020). En consecuencia, la actividad antioxidante se puede definir como la capacidad que tienen algunos compuestos para retrasar o inhibir los procesos oxidativos (Plaza et al. 2014). Para que la sustancia sea considerada como un buen antioxidante, debe ser activa a bajas concentraciones, y su cantidad debe ser suficientemente alta para neutralizar los radicales libres. No existe un antioxidante universal, ya que diferentes

antioxidantes reaccionan con diferentes especies reactivas por varios mecanismos, en varios lugares y protegen objetivos moleculares específicos (Babior 2000).

La mayoría de los organismos dispone de mecanismos de defensa antioxidantes frente a las especies reactivas de oxígeno, que comprenden sistemas enzimáticos y no enzimáticos, en ciertas situaciones (Fernández et al. 2006). Se ha postulado que el consumo de alimentos ricos en antioxidantes aumenta la defensa del organismo evitando el daño oxidativo, especialmente alimentos ricos en polifenoles, como vegetales e infusiones con efectos protectores contra diversas enfermedades debido a la presencia de distintos componentes bioactivos, tales como flavonoides, vitaminas, antocianinas y otros compuestos fenólicos. Por lo tanto, los antioxidantes naturales son de interés en la industria cosmética, farmacéutica y especialmente en la alimentaria, ya que pueden ser utilizados como sustitutos de los antioxidantes sintéticos (Beserra et al. 2011).

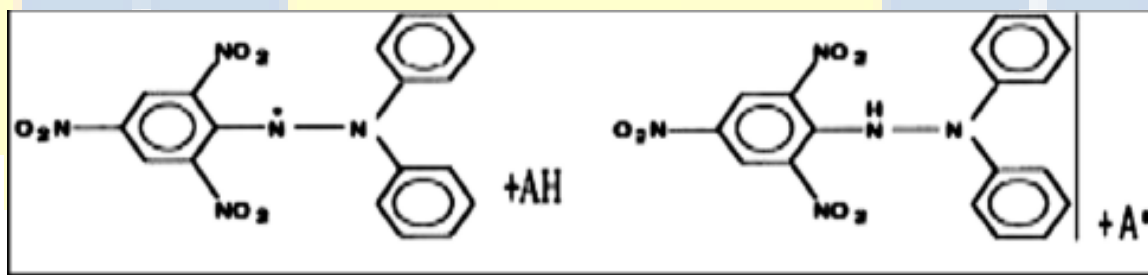
C. edulis ha sido ampliamente investigada por su capacidad antioxidante. En la investigación de Falleh et al. (2011), se postuló que las diferentes partes de la planta tallo, hoja y raíz, tenían una mayor actividad antioxidante en comparación con el control positivo hidroxitolueno butilado. Igualmente, Falleh et al (2013), investigaron el contenido fenólico de las distintas fracciones metanólicas acuosas de hojas, tallos y raíces de *C. edulis*. Las fracciones fueron ricas en fenoles en los extractos de hojas, tallo y raíz. Mediante el método de FRAP el efecto antioxidante total más alto se observó en la raíz (40%). Mulaudzi et al. (2019) evaluaron la capacidad antioxidante y el contenido total de polifenoles y flavonoides en extractos acuosos y metanólicos de *C. edulis*, presentando mayor capacidad antioxidante que *Carpobrotus dimidiatus*, evidenciando su capacidad antiinflamatoria y antidiabética al contener este tipo de moléculas. Omoruyi et al. (2012), evaluaron la actividad antioxidante de los extractos acuosos de etanólicos, acetónicos y hexánicos de *C. edulis*. Los flavonoides y flavonoles presentaron un mayor contenido en el extracto de hexano en comparación con otros extractos. Los resultados indicaron que tanto los extractos acuosos de etanol de las hojas de *C. edulis* fueron los mejores para obtener una mayor capacidad antioxidante.

4.4. Métodos de Evaluación de la Actividad Antioxidante

Los métodos más utilizados para evaluar la actividad antioxidante total de los extractos vegetales mediante un espectrofotómetro son el del radical (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) DPPH y el del radical catiónico ABTS•+ (2-2'- azino bis (ácido 3 etilbenzotiazolina-6-sulfónico), ambos métodos se basan en reacciones químicas y la evaluación de la cinética o la consecución del estado de equilibrio en la espectrofotometría a 517 nm y 734 nm, respectivamente, suponiendo la aparición de colores característicos o la decoloración de las soluciones a analizar, que son procesos monitoreados por absorción de longitud de onda específica (Apetrei 2021).

4.4.1. DPPH

El método de radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), es ampliamente utilizado para determinar la capacidad antioxidante de alimentos y plantas medicinales. Este radical es capaz de reaccionar con un átomo de hidrogeno proporcionado por el agente antioxidante (Guija et al. 2015)



2,2-difenil-1-picrilhidracilo (Radical libre) 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (Radical reducido) (Alam et al. 2012).

Figura 2 La molécula de DPPH se mezcla en una solución con el sustrato (AH), dona un átomo de hidrogeno dando lugar su forma reducida.

El DPPH se caracteriza como un radical libre estable en virtud de la deslocalización del electrón de reserva sobre la molécula. Esta deslocalización da origen a su característico color violeta, que posee una absorbancia de 520 nm. Al mezclar la solución con una sustancia que puede donar átomos de hidrógenos, da lugar a su forma reducida con pérdida del color violeta (Figura 2). El DPPH reducido posee

una banda de absorción de 517 nm, que en su estado oxidado puede ser determinado mediante un espectrofotómetro. Es un método simple, rápido y económico para medir la capacidad antioxidante (Kedare y Singh 2011).

4.4.2. ABTS

El método de radical catiónica ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)), se basa principalmente en la capacidad de las moléculas antioxidantes de reaccionar con el catión radical $ABTS^+$, al reaccionar las moléculas de antioxidante disminuye su color verdeazulado. El catión radical $ABTS^+$ es producto de la reacción de oxidación con persulfato de potasio, dicha reacción le da un color verdeazulado que puede tener una absorbancia de 754 nm (Rodríguez et al. 2015).

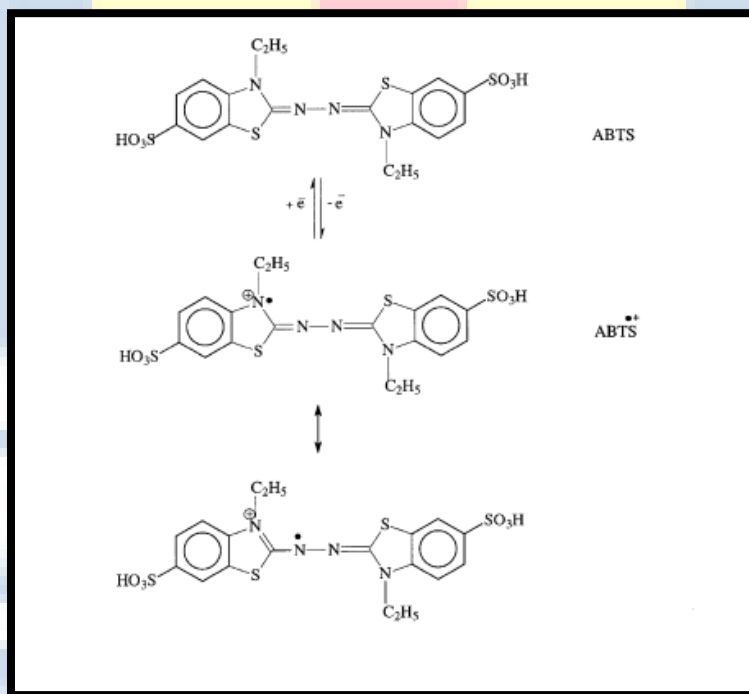


Figura 3 Estructura molecular de ABTS y del catión radical $ABTS^+$ (Osman et al. 2006).

4.4.3. Evaluación *in vivo* mediante eritrocitos humanos

Los seres humanos han desarrollado defensas antioxidantes intra y extracelulares para protegerse contra las acciones de las ROS. Estas defensas aseguran que

exista suficiente flexibilidad para mantener un metabolismo normal en estado estacionario con suficiente capacidad antioxidante de reserva cuando se produce un exceso de ROS. Los glóbulos rojos contienen las enzimas responsables de eliminar los radicales libres porque pueden brindar protección antioxidante no solo a sí mismos sino también a otros tejidos y órganos del cuerpo. Pero en ocasiones estos mecanismos fallan y pueden provocar la desnaturalización oxidativa. Los extractos de plantas pueden ayudar frente a este estrés oxidativo. La incubación *in vitro* de eritrocitos humanos recién preparado en solución tampón genera radicales libres de oxígeno los cuales se pueden reducir pueden significativamente mediante la adición mezclas complejas, como los extractos vegetales, previniendo la formación de ROS, utilizándose como método para evaluar la capacidad antioxidante (Arbos et al. 2008; Suwalsky et al. 2005)

4.5. Descripción de Metabolitos secundarios

Los diversos fitoquímicos que participan directamente en el crecimiento, desarrollo y metabolismo de la planta se denominan colectivamente metabolitos secundarios. Aunque no son esenciales para el crecimiento de las plantas, son necesarios para conferirles protección ante herbívoros y patógenos, además algunos metabolitos secundarios debido a su dulce fragancia y atractivos colores también atraen animales para facilitar la polinización y la dispersión de semillas (Ali 2021). Los metabolitos primarios y secundarios se sintetizan a partir de las mismas vías metabólicas básicas, pero se diferencian en cuanto a estructura y funcionamiento (Figura 4). Hasta el momento se han identificado innumerables metabolitos secundarios, los cuales se pueden clasificar de acuerdo con la base de su estructura molecular en tres grandes grupos: Terpenos, fenoles y aquellos que se contienen nitrógeno en su estructura (Bhatla 2018).



Figura 4 Representación simplificada de las principales vías metabólicas de los metabolitos primarios y secundarios (Bhatla 2018).

4.5.1. Terpenos

Los Terpenos también conocidos como isoprenos, son compuestos orgánicos constituidos por unidades de ramificación de 5 átomos de carbonos. Juegan un papel importante en las interacciones de las plantas con el medio ambiente, ya que la mayoría de los terpenos al ser sustancias orgánicas volátiles son utilizadas por las plantas para repeler el ataque de herbívoros o patógenos, para atraer polinizadores e igualmente atraer insectos depredadores de herbívoros (Chen et al. 2011). Los terpenos poseen como estructura base una unidad de isopreno constituidos por 5 átomos de carbono (Figura 5). Se pueden clasificar en función del número de unidades de isoprenos que poseen, dividiéndose en monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterpenos y triterpenos (Perveen 2018).

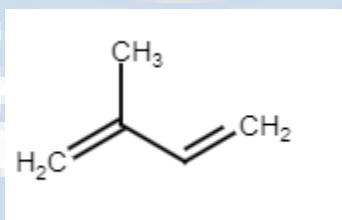


Figura 5 Unidad básica de terpenos (Isopreno).

Entre las principales funciones de los terpenos se encuentra el crecimiento y desarrollo de las plantas, por lo que también se pueden considerar metabolitos

primarios, defensa vegetal pegajosos, ya que presentan la capacidad de disuadir herbívoros e insectos, ya que son pegajoso, irritantes y tóxicos, aceites esenciales, esteroides y esteroides y también forman polímeros resistentes como el caucho que se presenta como partículas microscópicas suspendidas en una suspensión acuosa viscosa, llamada comúnmente látex. Debido a la gran variedad de funciones biológicas que poseen, igualmente se pueden categorizar de acuerdo con su función, como en hormonas, pigmentos, aceites esenciales, esteroides y caucho (Bhatla 2018).

4.5.2. Compuestos fenólicos o polifenoles

Los compuestos fenólicos o polifenoles corresponden a un amplio grupo de moléculas químicas, con diferentes estructuras químicas y actividades biológicas, de los cuales se han identificado más de 8.000 compuestos distintos (Bhatla 2018). Son el grupo de metabolitos secundarios más ampliamente distribuidos, se encuentran en todas las plantas del reino vegetal. En términos generales, los polifenoles vegetales son aquellas sustancias constituidas por un anillo fenilo que posee uno o más hidroxilos. Varias clases fenólicas se han clasificado en función a su esqueleto básico C_6H_5OH (Figura 6). El grupo hidroxilo que poseen en su estructura les confiere capacidades bioactivas como la actividad antioxidante, ya que los compuestos fenólicos tienen la capacidad de neutralizar radicales libres (Lattanzio 2013). Los polifenoles tienen como principal función en las células vegetales actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, actuar como agentes protectores ante el estrés biótico y abiótico, como el ataque ante herbívoros y patógenos, protección ante la radiación UV, otra función importante es la atracción de polinizadores para facilitar la dispersión de frutos y semillas, igualmente poseen una función alelopática para inhibir el crecimiento de otras plantas vecinas. De acuerdo con su estructura molecular los fenoles se pueden clasificar en ácidos fenoles, ligninas, flavonoides y taninos (Bhatla 2018).

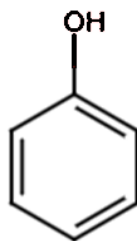


Figura 6 Estructura básica de compuestos fenólicos.

4.5.2.1. Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos son una de las principales clases de compuestos fenólicos, presentan como estructura principal un grupo carboxílico (Figura 7). Se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas. Los ácidos fenólicos, poseen un grupo hidroxilo, con el cual, pueden donar su átomo de hidrogeno eliminando radicales libres, resultando en una propiedad antioxidante de gran interés por los posibles beneficios para la salud (Kumara y Goelb 2019).

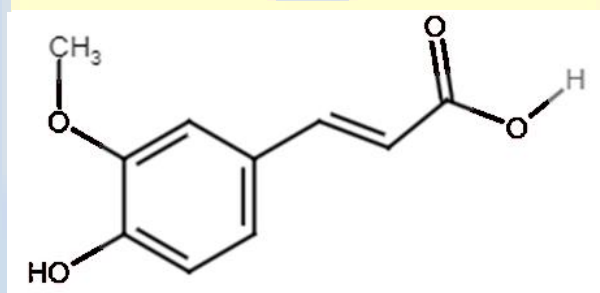


Figura 7 Acido fenólico (Ácido ferúlico).

4.5.2.2. Lignanos

Los lignanos corresponden a un grupo de polifenoles que forman parte de los componentes estructurales de las plantas. La estructura base de los lignanos vegetales está compuesta por dímeros, trímeros o tetrámeros derivados de unidades de fenilpropano, denominadas monolignoles. Los principales monolignoles corresponden al alcohol paracumarílico, el alcohol coniferílico y el alcohol sinapílico (Figura 8), los cuales actúan como precursores en la formación de lignanos y otros compuestos fenólicos. El estudio de los lignanos es de gran interés

debido a sus diversas actividades biológicas, entre las que destacan la actividad anticancerígena, actividad antiinflamatoria, protección cardiovascular, actividad antimicrobiana, control de la obesidad y la prevención de la diabetes (Zarei y Ryan, 2019).

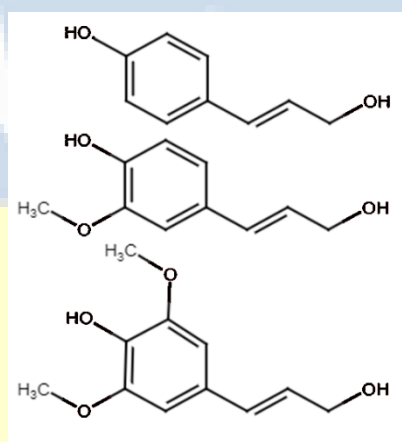


Figura 8 Estructura base de lignanos: alcohol paracumarílico, el alcohol coniferílico y el alcohol sinapílico.

4.5.2.3. Flavonoides

Los flavonoides son el grupo de compuestos fenólicos más grande en las plantas. Tienen una estructura base de 15 carbonos constituidos por un esqueleto común de fenil benzopirano (C₆-C₃-C₆), también conocido como núcleo flavo, compuesto por dos anillos fenólicos y un anillo heterocíclico (Figura 9). Igualmente, presentan diversas estructuras fenólicas variables y se pueden subdividir en flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanoles, isoflavonoides y antocianinas (Pandey y Rizvi 2009). Los flavonoides son indispensables por sus aplicaciones en el área de farmacéutica, medicina y cosmetología, debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimutagénicas y anticancerígenas (Panche et al. 2016).

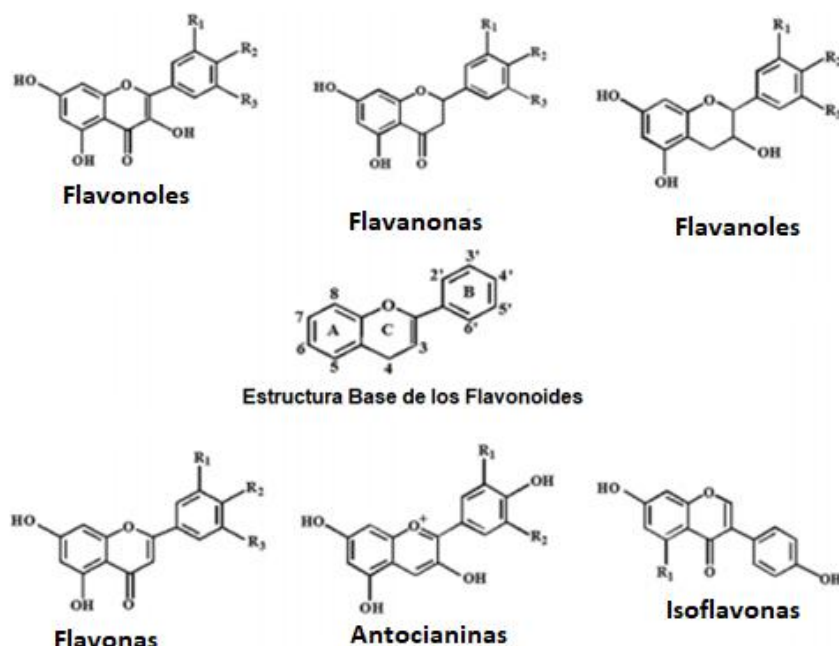


Figura 9 Estructura base de los principales tipos de flavonoides y su estructura general (Pandey y Rizvi 2009).

4.5.2.4. Taninos

Los taninos son un grupo de metabolitos secundarios que se distribuye ampliamente en todas las plantas (figura 8). Los Taninos actúan naturalmente en las plantas como mecanismo de defensa ante patógenos, insectos y herbívoros, por tal motivo presentan actividades biológicas que son útiles para la salud, como la actividad antioxidante, antimicrobiana, antihelmíntica, antiviral y antiinflamatoria (Fraga et al. 2020).

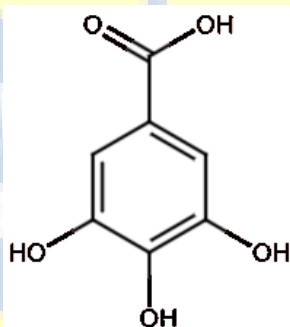


Figura 10. Taninos (Acido gálico).

4.5.3. Compuestos que contienen nitrógeno

Los metabolitos secundarios que contienen nitrógeno están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. La mayoría de estos metabolitos secundarios son sintetizados a partir de aminoácidos en comunes que contienen las plantas. Su principal función es defensiva contra herbívoros, ya que algunos de ellos pueden ser tóxicos. Se conocen principalmente como alcaloides (Bhatla 2018; Kishor et al. 2018). Los Alcaloides son el grupo de metabolitos secundarios nitrogenados más abundante en plantas. Son compuestos abundantes en la naturaleza, se encuentran en al menos el 25 % de las plantas. Son sustancias complejas derivadas de aminoácidos cíclicos, poseen un anillo cíclico de carbono junto que contienen en su estructura átomos de nitrógeno intracíclico, que pueden formar sales al unirse con ácidos (Figura 11). Son producidos por la planta para facilitar su supervivencia, debido a que son compuestos alelopáticos, lo que les permite ser herbicidas naturales. La mayoría de los fármacos conocidos presentan alcaloides producto de las capacidades farmacológicas que presentan estos compuestos, como anestésicos, antibacterianos, antipalúdicos, analgésicos, agentes antihipertensivos, fármacos anticancerígenos, terapéuticos antiasmáticos, vasodilatadores, agentes antiarrítmicos, etc (Gutiérrez et al. 2020).

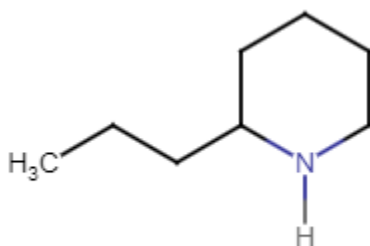


Figura 11 Alcaloides (Coniina).

4.6. Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana es la capacidad de algunos compuestos químicos para eliminar poblaciones de microorganismos o inhibir su crecimiento. La resistencia antimicrobiana se ha vuelto uno de los problemas más importantes del siglo 21, esto

se debe principalmente al uso indiscriminado por parte del ser humano de fármacos y de compuestos antimicrobianos en alimentos, generando de este modo resistencia desde los microorganismos (Alcântara et al. 2020). Este problema, ha requerido de mayores esfuerzos para encontrar agentes antimicrobianos efectivos contra microbios patógenos resistentes a los antibióticos actuales. La búsqueda racional de productos bioactivos de plantas de uso etnomedicinal, es la esperanza para el descubrimiento de nuevos compuestos eficaces contra microorganismos (Sibanda y Okoh 2007). Los metabolitos secundarios proveen a las plantas de diversos mecanismos antimicrobianos, que incluyen la alteración de la membrana celular, inhibición de enzimas y prevención de colonización de bacterias, por nombrarse algunos (Reddy et al. 2020). La actividad antimicrobiana de *C. edulis* ha sido ampliamente estudiada, Ibtissem et al. (2012) informaron las actividades antibacterianas de extractos acuosos de *C. edulis*, utilizando concentraciones de 100, 200, 300 y 600 mg, contra cepas bacterianas; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Omoruyi et al. (2014) Informaron las actividades antifúngicas de los extractos de hexano, acetona, etanol y extractos acuosos de hojas de *C. edulis*. Los extractos anteriormente mencionados fueron probados en cinco cepas fúngicas patógenas: *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida rugosa*, *Candida glabrata* y *Cryptococcus neoformans*. El extracto de hexano fue el más potente contra las cinco cepas fúngicas con MIC (Mínimo inhibitorio) que a concentraciones entre 0,02 y 1,25 mg/mL, mientras que los extractos acuoso y etanólico no tuvieron actividad antifúngica notable.

5. Materiales y métodos

5.1. Material vegetal

Las muestras vegetales de *C. edulis* fueron recolectadas en el sector costero de Punta Parra camino a la comuna de Tomé, con fecha 30 de abril de 2023, en la Región del Biobío (coordenadas: -36,441782 latitud norte y -72,594039 longitud este), se obtuvieron plantas que crecían sobre arena (A) y tierra (B) del sector costero. En la Figura 12 se observan los lugares de recolección de la planta con

suelo de arena y con suelo de tierra. Una vez recolectado, el material vegetal se lavó con abundante agua para quitar el exceso de tierra, se procedió a secar a temperatura ambiente durante una semana.



Figura 12 A) *C. edulis* de crecimiento en arena, B) *C. edulis* de crecimiento en tierra. Las muestras se llevaron en bolsas cerradas a la Universidad de Concepción, Campus Los Ángeles, donde los órganos vegetativos fueron separados en hojas y estolones/raíces. Posteriormente, se compararon cualitativamente de acuerdo con su tamaño, seleccionando hojas, estolones y raíces de manera aleatoria de cada muestra obtenida (Figura 13).



Figura 13 A) hojas y estolones/raíces de *C. edulis* de crecimiento en arena, B) hojas y estolones/raíces de *C. edulis* de crecimiento en tierra.

5.2. Preparación de los extractos metanólicos

Los tejidos vegetales separados en hojas y estolones/raíces fueron cortados y picados con una tijera podadora en pequeños fragmentos. Los órganos vegetales picados fueron dispuestos en sacos de papel filtro y pesados en una balanza analítica (Mettler Toledo, AB204-5). Asimismo, los sacos de papel filtro se pesaron por sí solos, sin el tejido vegetal, con el fin de obtener el porcentaje de rendimiento de los extractos. Los sacos con los tejidos vegetales fueron depositados al interior de un sifón del equipo Soxhlet (Glassco, 304918). Para la extracción, se agregaron aproximadamente 500 mL de metanol, cubriendo la totalidad del material vegetal. El manto calefactor del equipo se ajustó a una temperatura de 30–35 °C, procediendo con la extracción durante un periodo de 8 horas, hasta que el solvente no presentó color en el sifón del equipo.

Una vez completada la extracción, el solvente se extrajo desde el balón utilizando un rotavapor (Heidolph, Laborata 4001 efficient), a una temperatura de 30–35 °C y una rotación de 90–120 rpm, hasta obtener el extracto concentrado. Los extractos concentrados fueron retirados del matraz y el sobrante se eliminó con cloroformo. Posteriormente, los extractos se dispusieron en placas Petri previamente pesadas para determinar su rendimiento. Las placas fueron colocadas en una estufa de secado (Memmert UFB 500), a una temperatura entre 36–40 °C, hasta obtener un extracto seco. Finalmente, se determinó el rendimiento de los extractos en relación con el peso seco inicial del material vegetal (Fórmula 1).

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{Peso extracto (g)}}{\text{Peso organo Vegetal (g)}} * 100$$

Formula 1. Fórmula para calcular el porcentaje de rendimiento de obtención de los extractos.

5.3. Determinación de actividad antioxidante mediante el radical DPPH

Para determinar la actividad antioxidante mediante el método del DPPH, se empleó la metodología descrita por Brand et al. (1995) y modificada por Gaviria et al. (2009).

Se preparó una solución stock del reactivo DPPH, para lo cual se pesaron 1,8 mg del reactivo en 50 mL de metanol (0,036 mg/mL). La solución de DPPH fue ajustada utilizando metanol como solvente, en un rango de absorbancia de 0,8–0,9 a una longitud de onda de 517 nm, en un espectrofotómetro (Genesys 10 UV). Se prepararon tres soluciones madre de 5 mg/mL para cada extracto metanólico de *C. edulis*. A partir de estas, se prepararon concentraciones de 0,03; 0,05; 0,07; 0,09; 0,11; 0,13; 0,15; 0,17; 0,19 y 0,21 mg/mL para hojas (arena y tierra), y de 0,05; 0,15; 0,25; 0,35; 0,45; 0,55; 0,65; 0,75; 0,85 y 0,95 mg/mL para estolones/raíces (arena y tierra), en matraces aforados de 5 mL. La actividad antioxidante de los extractos se determinó a partir de cada disolución preparada previamente, de la cual se tomaron alícuotas de 175 µL que se mezclaron con 2 mL de solución de DPPH ajustada. La mezcla fue agitada suavemente y luego trasvasijada a tubos de espectrofotometría. Transcurrido un minuto, se realizó la lectura en el equipo. El blanco utilizado para las mediciones fue metanol técnico, mientras que el control negativo correspondió a una mezcla de 2 mL de DPPH y 175 µL de metanol. Cada ensayo se realizó por triplicado con su respectiva solución madre. Posteriormente, los datos fueron registrados en una planilla Excel, donde los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición del radical DPPH, utilizando la ecuación descrita por Zhou et al. (2019), donde “Q” corresponde al porcentaje de inhibición, “A muestra” a la absorbancia de la dilución del extracto y “A control” a la absorbancia del control negativo (Fórmula 2). Finalmente, la concentración inhibitoria del 50% (IC₅₀) se determinó a partir del gráfico de concentración versus porcentaje de inhibición.

$$Q = \left(1 - \frac{A_{muestra}}{A_{control}}\right) * 100$$

Formula 2. Fórmula para determinar el porcentaje de inhibición para los métodos de DPPH y ABTS.

5.4. Ensayo de cinética mediante el radical DPPH

Una vez obtenido el valor de la concentración media inhibitoria (IC₅₀), se evaluó el efecto antioxidante del extracto a lo largo del tiempo. Se mezclaron 2 mL de DPPH ajustado con 175 µL de extracto a concentración IC₅₀. Posteriormente, se realizaron

mediciones de absorbancia a 517 nm cada 5 minutos, durante un período de 180 minutos, efectuándose los ensayos por triplicado. Los resultados fueron registrados en Excel y se aplicó la fórmula de inhibición (Fórmula 2). Como control negativo, se utilizó una mezcla de 2 mL de DPPH y 175 μ L de metanol.

5.5. Equivalentes de ácido gálico para el ensayo del reactivo DPPH

Se preparó una solución stock de ácido gálico a una concentración de 0,5 mg/mL para la determinación de equivalentes de ácido gálico mediante el reactivo DPPH.

En primera instancia, se realizó una curva de calibración utilizando ácido gálico como estándar. A partir de la solución stock, se prepararon concentraciones de 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 y 0,05 mg/mL en matraces aforados de 5 mL. Se utilizó el reactivo DPPH previamente preparado y ajustado con metanol, del cual se tomaron 2 mL, a los que se agregaron 175 μ L de las soluciones de ácido gálico. La mezcla se incubó durante un minuto y posteriormente se efectuó la lectura en un espectrofotómetro a 517 nm. Los ensayos se realizaron por duplicado para cada una de las concentraciones preparadas. Los valores de IC_{50} obtenidos para los extractos de hojas (arena y tierra) y estolones/raíces (arena y tierra) mediante DPPH fueron medidos por triplicado, interpolando los resultados en las curvas de ácido gálico correspondientes. Los resultados, junto con su respectiva desviación estándar, se expresaron en mg de ácido gálico contenidos en 1000 mg (1 g) de extracto seco.

5.6. Determinación de actividad antioxidante mediante el radical catiónico ABTS•+

Se utilizó la metodología descrita por Kuskoski et al. (2005), con modificaciones. Se preparó el radical catiónico ABTS•+ (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) pesando 180,1 mg, los cuales se mezclaron con 33,111 mg de $K_2S_2O_8$ (persulfato de potasio) en un matraz aforado de 50 mL. Posteriormente, se aforó con metanol técnico y se agitó la solución para su homogenización. El frasco fue cubierto con papel aluminio y se dejó reposar durante 16 h en oscuridad, a temperatura ambiente. Una vez formado el radical catiónico, el reactivo fue ajustado

a una absorbancia de $0,7 \pm 0,02$ en un espectrofotómetro (Genesys UV 10), a una longitud de onda de 734 nm.

A partir de una solución madre de extracto metanólico de *C. edulis* a una concentración de 0,5 mg/mL, se prepararon concentraciones de 0,001; 0,005; 0,02; 0,035; 0,05; 0,065; 0,08; 0,095; 0,11 y 0,125 mg/mL para hojas (arena y tierra), y de 0,005; 0,025; 0,045; 0,065; 0,085; 0,105; 0,125; 0,145; 0,165 y 0,185 mg/mL para estolones/raíces (arena y tierra), en matraces aforados de 5 mL, utilizando metanol como solvente. Posteriormente, se realizó la lectura en el espectrofotómetro. Para ello, se mezclaron 2 mL de ABTS ajustado con 175 μ L de extracto metanólico de *C. edulis* de cada concentración preparada. La mezcla se agitó suavemente y se transfirió a tubos de espectrofotometría, efectuándose la lectura en el equipo (Genesys UV 10) al cabo de un minuto. El blanco utilizado para las mediciones fue metanol grado técnico, mientras que el control negativo correspondió a una mezcla de 2 mL de ABTS y 175 μ L de metanol. Los ensayos se realizaron por triplicado.

Los resultados se registraron en una planilla Excel para calcular el porcentaje de inhibición, utilizando la fórmula descrita previamente (Fórmula 2). Finalmente, se determinó el IC₅₀, correspondiente a la concentración de extracto necesaria para inhibir el 50% de la absorbancia del radical ABTS•+.

5.7. Ensayo de cinética mediante el radical catiónico ABTS•+

Se evaluó el efecto antioxidante del extracto a lo largo del tiempo, utilizando las concentraciones correspondientes a la media inhibitoria (IC₅₀). Para ello, se mezclaron 2 mL de ABTS⁺ con 175 μ L de extracto. Posteriormente, se realizaron mediciones de absorbancia a 734 nm cada 5 minutos, durante un período de 180 minutos, efectuándose los ensayos por triplicado.

5.8. Equivalentes de Trolox para el ensayo del reactivo ABTS

Se preparó una solución stock de Trolox a una concentración de 0,5 mg/mL para la determinación de equivalentes mediante el reactivo ABTS. A partir de esta solución, se prepararon concentraciones de 0,005; 0,015; 0,025; 0,035 y 0,045 mg/mL en

matraces aforados de 5 mL, utilizando metanol como solvente. De manera similar a los ensayos anteriores, se utilizó el reactivo ABTS previamente ajustado. De este, se tomaron 2 mL, a los cuales se agregaron 175 µL de cada una de las concentraciones preparadas. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 734 nm para ABTS, efectuando los ensayos por duplicado para cada concentración. Los valores de IC₅₀ obtenidos para los extractos de hojas (arena y tierra) y estolones/raíces (arena y tierra) mediante ABTS fueron medidos por triplicado, interpolando los resultados en la curva de Trolox. Los resultados, junto con su respectiva desviación estándar, se expresaron en mg equivalentes de Trolox contenidos en 1000 mg (1 g) de extracto seco.

5.9. Determinación de cenizas

Se utilizó la metodología descrita por Hirán et al. (2012). Se pesaron muestras de suelo constituido por arena (15,0629 g) y de suelo constituido por tierra (15,3020 g). Cada muestra fue dividida y colocada en crisoles previamente pesados. Para la muestra de arena, se utilizaron 3 crisoles, cuya masa total fue de 84,9985 g, mientras que para las muestras de tierra la masa total de los crisoles fue de 80,9066 g. Los crisoles fueron calentados en un horno mufla (Thermolyne 4800), de manera suave, hasta alcanzar una temperatura de 600 °C, durante un período de 2 horas. Posteriormente, se dejaron enfriar durante 2 horas adicionales y se pesaron junto con las cenizas obtenidas. Los resultados se expresaron mediante la ecuación correspondiente:

$$\% \text{ total de cenizas} = \frac{\text{Masa crisol con cenizas} - \text{Masa crisol vacío}}{\text{Masa de crisol con muestra suelo} - \text{Masa crisol vacío}} * 100$$

Formula 3. Determinación de porcentaje total de cenizas.

5.10. Curva de calibración para determinación del contenido de Polifenoles totales

Se utilizó el método del reactivo Folin-Ciocalteu, descrito por Kupina et al. (2018), para determinar la concentración de polifenoles totales. Los polifenoles presentes en los extractos se oxidan mediante este reactivo, provocando la aparición de una

coloración azul. Se utilizó ácido gálico como estándar para la elaboración de la curva de calibración en duplicado. Cada muestra se ensayó por triplicado y los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico (GAE). En matraces aforados de 25 mL, se prepararon concentraciones de 0,001; 0,002; 0,003; 0,004; 0,005 y 0,006 mg/mL a partir de una solución stock de 1 mg/mL. A cada matraz se le agregaron 12,5 mL de agua destilada y 1,25 mL del reactivo Folin-Ciocalteu; posteriormente, se añadieron 5 mL de Na_2CO_3 al 20%. Finalmente, los matraces se aforaron con agua destilada. Para el blanco, se preparó un matraz similar, pero sin ácido gálico. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro (Genesys UV 10) a una longitud de onda de 765 nm.

5.11. Determinación de concentración de Polifenoles totales en extractos metanólicos de *C. edulis*

Se determinó la concentración de los extractos con el fin de interpolar los resultados en la curva de calibración de ácido gálico. Se evaluó inicialmente una concentración de 0,1 mg/mL, previamente determinada, la cual resultó fuera de rango ($A = 1,010$). Posteriormente, se estableció que la concentración de 0,015 mg/mL se encontraba dentro de un rango adecuado, considerándose óptima para el ensayo. Las soluciones se prepararon utilizando la misma metodología descrita anteriormente, empleando extractos vegetales. Los ensayos se realizaron por triplicado para cada uno de los extractos, y los resultados obtenidos se expresaron en mg de ácido gálico por 1000 mg (1 g) de extracto acuoso de *C. edulis*.

5.12. Determinación de contenido de Flavonoides totales

Se utilizó la metodología descrita por Gajula et al. (2009), con modificaciones, para determinar la concentración de flavonoides. Se empleó catequina como estándar para la elaboración de la curva de calibración, y el ensayo se realizó por duplicado. En primera instancia, se preparó una solución stock de 0,5 mg/mL, pesando 25 mg del reactivo en 50 mL de metanol y completando el volumen en un matraz aforado. A partir de esta solución, se prepararon concentraciones de 0,005; 0,01; 0,015; 0,02 y 0,03 mg/mL en matraces aforados de 5 mL. A cada matraz se le agregaron los

siguientes reactivos: 150 μL de NaNO_2 (5%), se agitó vigorosamente y se dejó reposar durante 6 minutos; posteriormente, se añadieron 300 μL de AlCl_3 (10%), se agitó e incubó durante 5 minutos; finalmente, se agregó 1 mL de NaOH (1 M), se agitó y se aforó con metanol. Para el blanco, se preparó la misma dilución con los reactivos especificados, pero sin catequina, realizando la lectura a 510 nm en un espectrofotómetro (Genesys UV 10).

5.13. Determinación de concentración de Flavonoides totales en extractos metanólicos de *C. edulis*

Se determinó la concentración de los extractos con el fin de interpolar los resultados en la curva de calibración de catequina. Inicialmente, se evaluó una concentración de 0,1 mg/mL previamente determinada, la cual presentó valores de absorbancia de $A_1 = 0,170$; $A_2 = 0,156$; $A_3 = 0,130$ y $A_4 = 0,117$, considerados bajos. Por ello, se estableció una concentración de 0,2 mg/mL como óptima para el ensayo.

Para preparar esta concentración, en matraces de 5 mL se añadieron 200 μL a partir de una solución stock de extracto vegetal de 5 mg/mL. Para cada repetición se preparó una nueva solución. Posteriormente, se agregaron 150 μL de NaNO_2 (5%), se agitó vigorosamente y se dejó reposar durante 6 minutos; luego se añadieron 300 μL de AlCl_3 (10%), se agitó e incubó durante 5 minutos; finalmente, se agregó 1 mL de NaOH (1 M), se agitó y se llevó a volumen en matraces de 5 mL. Las mediciones se realizaron a 510 nm en un espectrofotómetro (Genesys UV 10), por triplicado para cada extracto. El blanco se preparó utilizando la misma dilución, pero sin extracto vegetal.

5.14. Análisis estadístico para comparación de actividad antioxidante en extractos metanólicos *C. edulis*

Para el análisis de los datos y la obtención de medias de los ensayos, junto con sus respectivas desviaciones estándar, se utilizó el software Microsoft Excel 2013 para Windows. Para la comparación de la capacidad antioxidante entre extractos de tejidos de *C. edulis* provenientes de arena y tierra, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95 % sobre los datos experimentales,

utilizando el programa Statistica v10 (StatSoft). La significación estadística se determinó mediante la prueba de Tukey, considerando valores de $P \leq 0,05$.

5.15. Evaluación del efecto de extractos en modelo de membrana de eritrocitos humanos

Los efectos de los extractos sobre un modelo de membrana de eritrocitos humanos fueron evaluados mediante un ensayo de hemólisis directa (Arbos et al., 2008). Para el ensayo, se requirieron 10 mL de sangre obtenida mediante punción de la vena braquial de un donante sano sin tratamiento medicamentoso. La sangre se recolectó en tubos heparinizados de 4 mL y se centrifugó para eliminar el sobrenadante. A continuación, se realizaron tres lavados utilizando PBS 1X pH 7,4, mediante centrifugación a 2500 rpm durante 10 minutos. Posteriormente, se preparó una suspensión de eritrocitos al 10% en PBS 1X pH 7,4. A partir de esta suspensión, se distribuyeron 150 μ L en tubos Eppendorf. A estos tubos se les añadieron 675 μ L de extracto y se completó el volumen con PBS 1X pH 7,4 hasta un volumen final de 1,5 mL. Se preparó un patrón de referencia con 100% de hemólisis utilizando agua destilada, y un blanco con PBS. De cada extracto se estudiaron las siguientes concentraciones: hojas: 0,07; 0,13 y 0,19 mg/mL, y estolones/raíces: 0,25; 0,55 y 0,75 mg/mL. Las concentraciones fueron estimadas según la EC_{50} . Los tubos se incubaron durante 30 minutos a 37 °C, luego se centrifugaron a 3300 rpm por 3 minutos y se realizó la lectura de la absorbancia del sobrenadante a 540 nm utilizando un espectrofotómetro. El porcentaje de hemólisis se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de hemólisis} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del control}} * 100$$

Formula 4. Porcentaje de hemólisis

5.16. Identificación cualitativa de metabolitos secundarios

Se determinó cualitativamente la presencia de los siguientes metabolitos secundarios: antraquinonas oxidadas y libres; antraquinonas combinadas y reducidas, alcaloides, flavonoides, taninos y saponinas, para lo cual, los extractos

secos de hojas y estolones/raíces arena fueron sometidos a reacciones coloreadas para detectar la menor o mayor presencia demarcando con “+; ++ y +++” o ausencia demarcando con “–”, de acuerdo con la metodología descrita por Navarro et al. (2012) con modificaciones.

5.16.1. Antraquinonas oxidadas y libres

Se llevó a cabo la reacción de Bornträger, los extractos secos fueron dispuestos en distintos tubos de ensayo, se les vertió éter dietílico y se dispusieron a baño maría en un agitador magnético calefactor. Una vez disueltos los extractos, fueron dispuestos en nuevos tubos y tratados con NaOH concentrado, se agitó vigorosamente bajo campana extractora de gases. La aparición de una coloración rojo cereza o rosado indica presencia positiva.

5.16.2. Antraquinonas combinadas y reducidas

Para este método, los extractos secos se dispusieron en tubos de ensayo, se diluyeron con agua acidulada con ácido nítrico (HNO_3) al 65%, se agitó y luego se llevó a ebullición a baño maría en un agitador magnético calefactor. Luego de enfriar los tubos se agregó cloroformo y se agitó vigorosamente hasta observar la formación de dos fases. La fase orgánica fue decantada a un nuevo tubo, posteriormente se trató la muestra con 1ml de NaOH concentrado. La aparición de color rojo indica presencia positiva.

5.16.3. Alcaloides

Los extractos secos fueron dispuestos en tubos de ensayo y se trató con un solvente orgánico poco polar (éter) en un medio alcalino amoniacal (NH_3), el extracto obtenido fue filtrado y su fase orgánica fue decantada a un vidrio reloj, el solvente fue evaporado sobre la placa calefactora de un agitador magnético. El residuo obtenido fue tratado con 3 gotas de HCl al 1% y 5 gotas de Lugol. La presencia de alcaloides se determina por la aparición de un precipitado oscuro.

5.16.4. Flavonoides

Se dispusieron 4 tubos de ensayo con los extractos secos, dos para cada órgano vegetal (hojas-estolones/raíces arena y tierra). A cada par de tubos se les adicionó 4 gotas de ácido clorhídrico (HCl), dos tubos se les agregó Mg y otros dos fueron tratados con Zn. La aparición de un color rojo-cereza indica presencia de flavonoles y el color anaranjado denota la presencia de flavonas.

5.16.5. Taninos

Se dispusieron los extractos secos en distintos tubos de ensayo y fueron disueltos en agua destilada, se hirvió hasta obtener una solución acuosa. Los extractos obtenidos fueron puestos en nuevos tubos de ensayo a los cuales se les agregaron 5 gotas de cloruro de hierro (FeCl_3) al 5%. La aparición de un color negro-verdoso indica presencia de taninos catéquicos no hidrolizables y un color negro-azulado indica presencia de taninos catéquicos hidrolizables.

5.16.6. Saponinas

Se dispuso los extractos secos en tubos de ensayos para cada tejido (hojas-estolones/raíces arena y tierra) con agua destilada, se agitaron vigorosamente por un minuto aproximado. La aparición de espuma abundante luego del proceso de agitación denota la presencia positiva de saponinas.

5.17. Evaluación de actividad antimicrobiana

Para la evaluación antimicrobiana, se analizaron bacterias y hongos. Estos microorganismos fueron proporcionados por el Laboratorio de Microbiología y Micología Aplicada, perteneciente a la Facultad de Ingeniería Agrícola de la Universidad de Concepción, Campus Chillán.

Tabla 1 Microorganismos utilizados para la evaluación de la actividad antimicrobiana, en extractos metanólicos de *C. edulis*.

Bacterias	Hongos
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Rhizopus spp.</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Aspergillus niger</i>

Staphylococcus aureus
Staphylococcus aureus MRS
Salmonella spp.

Penicillium spp.
Alternaria spp.
Botrytis cinerea

Se realizaron ensayos utilizando el método de difusión en agar sólido. Para ello, se prepararon placas Petri bajo una cámara de flujo laminar, siguiendo los protocolos establecidos por el laboratorio. Los medios empleados fueron caseína-peptona (CASO) para los ensayos con bacterias y extracto de levadura, malta y glucosa (YMG) para los ensayos con hongos. Ambos medios, previamente esterilizados y con el patógeno incorporado, fueron distribuidos en volúmenes aproximados de 40 mL por placa. Posteriormente, se utilizó una cámara de flujo laminar para extraer de cada placa Petri un disco de agar de 5 mm de diámetro mediante un sacabocado. En cada uno de estos orificios se depositaron 20 µL de una solución stock del extracto a una concentración de 10 mg/mL. Para evaluar la eficacia antimicrobiana, se establecieron controles positivos utilizando un antibiótico (penicilina) para bacterias y un fungicida (Rovral) para hongos. Las placas fueron selladas e incubadas durante 24 horas a 37 °C para bacterias y a 26 °C para hongos. Posteriormente, se midieron los halos de inhibición para evaluar el efecto de los extractos sobre el crecimiento de los microorganismos.

6. Resultados

6.1. Rendimiento de los extractos

Se realizaron cuatro extracciones metanólicas utilizando el equipo Soxhlet, determinando el rendimiento de los extractos obtenidos a partir de tejidos de *C. edulis* de crecimiento en arena y tierra (Anexo 1).

En la Tabla 2 se presenta el porcentaje de rendimiento obtenido a partir de la masa seca de los tejidos y del extracto seco, correspondiente al porcentaje del peso seco de cada uno de los extractos de *C. edulis*.

Tabla 2 Rendimiento de extractos metanólico de tejidos de *C. edulis* de crecimiento en arena y tierra.

Extracto	% De rendimiento
HA	47,02
ERA	64,35
HT	66,17
ERT	69,15

HA: Extracto metanólico de hojas *C. edulis* arena; ERA: Extracto metanólico de estolones/raíces *C. edulis* arena; HT: Extracto metanólico de hoja *C. edulis* tierra; ERT: Extracto metanólico de estolones/raíces *C. edulis* tierra.

6.2. Determinación de actividad antioxidante mediante el radical DPPH en extractos de hojas y estolones/raíces de *C. edulis* de crecimiento en arena y tierra

Para las concentraciones estudiadas, se observó una actividad antioxidante positiva (Figuras 14 y 15). En los extractos de hojas de *C. edulis*, se obtuvo un porcentaje máximo de inhibición de $71,74 \pm 6,21$ % para el extracto de arena, mientras que para el extracto de hojas de tierra se observó un valor máximo de $74,12 \pm 1,32$ % a la mayor concentración evaluada (0,21 mg/mL). Por otro lado, el porcentaje mínimo de inhibición para el extracto de hojas de arena fue de $12,59 \pm 1,22$ %, mientras que para hojas de tierra fue de $14,86 \pm 0,41$ % a la menor concentración evaluada (0,03 mg/mL) (Anexos 2 y 4). A partir de este rango de concentraciones, se determinó el valor de IC_{50} para cada uno de los extractos, con el fin de expresar la actividad antioxidante en equivalentes de ácido gálico.

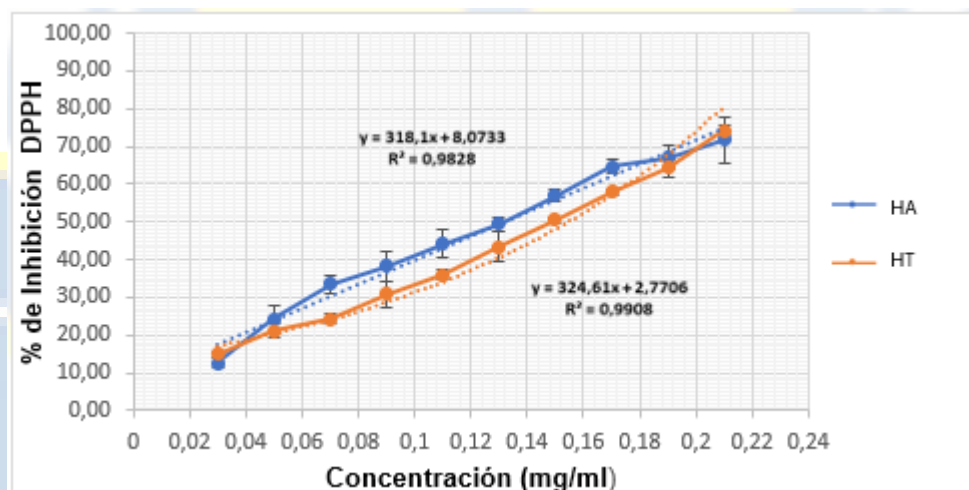


Figura 14 Porcentaje de inhibición del radical DPPH a diferentes concentraciones de extracto metanólico de hojas de *C. edulis*.

Los extractos metanólicos de estolones/raíces de *C. edulis* también presentaron actividad antioxidante, evidenciada en los porcentajes de inhibición del radical DPPH. Los extractos de estolones/raíces provenientes de arena presentaron un porcentaje máximo de inhibición de $73,15 \pm 6,55$ % y un mínimo de $1,42 \pm 1,10$ % (Anexo 3). En tanto, los extractos de estolones/raíces de tierra presentaron un valor máximo de $68,07 \pm 2,12$ % y un mínimo de $7,75 \pm 0,99$ % (Anexo 5), correspondientes a las concentraciones máxima (0,95 mg/mL) y mínima (0,05 mg/mL), respectivamente. A partir de estos resultados, se determinaron los valores de IC_{50} , los cuales fueron utilizados para su posterior interpolación en la curva de ácido gálico.

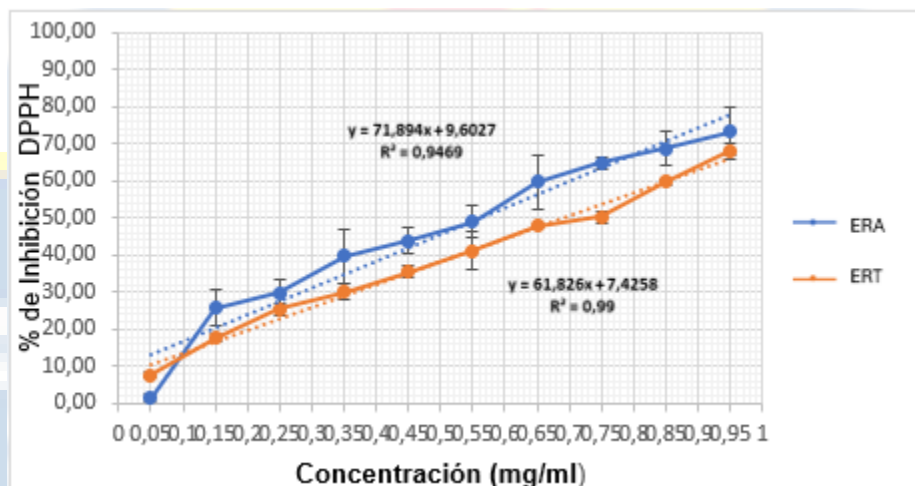


Figura 15 Porcentaje de inhibición del radical DPPH a diferentes concentraciones de extracto metanólico de estolones/raíces de *C. edulis*.

Cálculo de IC₅₀ (DPPH) de Hojas y estolones/raíces arena:

HA	ERA
$y = 318,1x + 8,0733$	$71,894x + 9,6027$
$50 = (318,1 \cdot x) + 8,0733$	$50 = (71,894 \cdot x) + 9,6027$
$X = 0,13 \text{ mg/ml}$	$X = 0,56 \text{ mg/ml}$

Cálculo de IC₅₀ (DPPH) de Hojas y estolones/raíces tierra:

HT	ERT
$y = 324,61x + 2,7706$	$y = 61,826x + 7,4258$
$50 = (324,61 \cdot x) + 2,7706$	$50 = (61,826 \cdot x) + 7,4258$
$X = 0,15 \text{ mg/ml}$	$X = 0,69 \text{ mg/ml}$

6.3. Equivalentes de ácido gálico (GAE) para el ensayo del reactivo DPPH

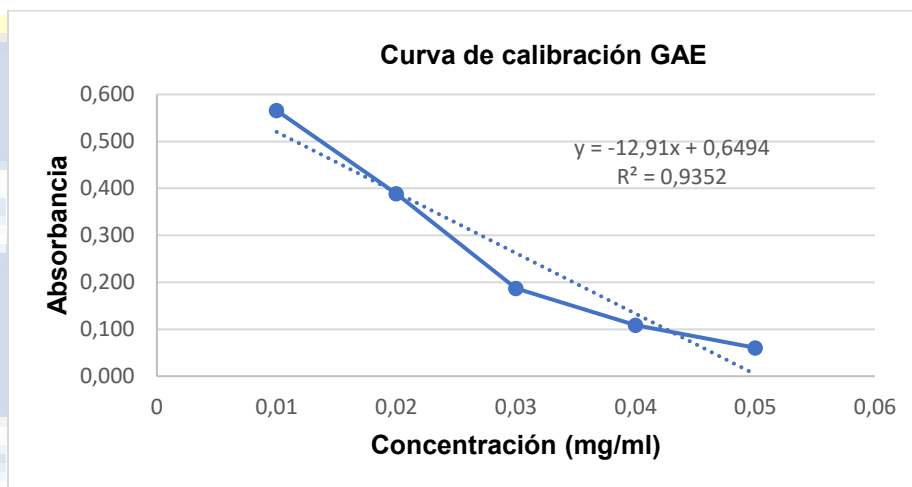


Figura 16 Curva de calibración para obtener los equivalentes de ácido gálico (GAE) mediante el método DPPH

Para el cálculo de los valores de IC_{50} , se utilizaron las ecuaciones de la recta obtenidas a partir de los gráficos de porcentaje de inhibición del DPPH. Los valores de IC_{50} obtenidos para los extractos de hojas fueron de 0,13 mg/mL para arena y 0,15 mg/mL para tierra, mientras que para los extractos de estolones/raíces fueron de 0,56 mg/mL para arena y 0,69 mg/mL para tierra. Al realizar la lectura de absorbancia de los valores de IC_{50} en triplicado, se obtuvieron los siguientes resultados: HA: $A_1 = 0,412$; $A_2 = 0,396$; $A_3 = 0,370$; HT: $A_1 = 0,327$; $A_2 = 0,300$; $A_3 = 0,326$; ERA: $A_1 = 0,400$; $A_2 = 0,398$; $A_3 = 0,415$; ERT: $A_1 = 0,349$; $A_2 = 0,329$; $A_3 = 0,444$. A partir de estos valores, se determinaron los equivalentes de ácido gálico mediante la interpolación de las absorbancias correspondientes a los IC_{50} en la ecuación de la recta de la curva de calibración estándar de GAE. (Figura 16) (Anexo 14).

Cálculos de efecto antioxidante expresado en Equivalentes de ácido gálico:

HA

1) $y = -12,91x + 0,6494$ $0,412 = (-12,91 \cdot x) + 0,6494$ $X = 0,01839 \text{ mg}$ $0,01839 \text{ mg} / 0,13 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 141,452 \text{ mg/g}$	2) $y = -12,91x + 0,6494$ $0,396 = (-12,91 \cdot x) + 0,6494$ $X = 0,01963 \text{ mg}$ $0,01963 \text{ mg} / 0,13 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 150,986 \text{ mg/g}$	3) $y = -12,91x + 0,6494$ $0,370 = (-12,91 \cdot x) + 0,6494$ $X = 0,02164 \text{ mg}$ $0,02164 \text{ mg} / 0,13 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 166,477 \text{ mg/g}$
--	--	--

ERA

4) $y = -12,91x + 0,6494$ $0,400 = (-12,91 \cdot x) + 0,6494$ $X = 0,01931 \text{ mg}$ $0,01931 \text{ mg} / 0,56 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 34,497 \text{ mg/g}$	5) $y = -12,91x + 0,6494$ $0,398 = (-12,91 \cdot x) + 0,6494$ $X = 0,01947 \text{ mg}$ $0,01947 \text{ mg} / 0,56 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 34,773 \text{ mg/g}$	6) $y = -12,91x + 0,6494$ $0,415 = (-12,91 \cdot x) + 0,6494$ $X = 0,01815 \text{ mg}$ $0,01815 \text{ mg} / 0,56 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 32,422 \text{ mg/g}$
---	---	---

HT

7) $y = -12,91x + 0,6494$ $0,327 = (-12,91 \cdot x) + 0,6494$ $X = 0,02497 \text{ mg}$ $0,02497 \text{ mg} / 0,15 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 166,485 \text{ mg/g}$	8) $y = -12,91x + 0,6494$ $0,300 = (-12,91 \cdot x) + 0,6494$ $X = 0,02706 \text{ mg}$ $0,02706 \text{ mg} / 0,15 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 180,428 \text{ mg/g}$	9) $y = -12,91x + 0,6494$ $0,326 = (-12,91 \cdot x) + 0,6494$ $X = 0,02505 \text{ mg}$ $0,02505 \text{ mg} / 0,15 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 167,002 \text{ mg/g}$
--	--	--

ERT

10) $y = -12,91x + 0,6494$ $0,349 = (-12,91 \cdot x) + 0,6494$ $X = 0,023268784 \text{ mg}$ $0,02326 \text{ mg} / 0,69 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 33,722 \text{ mg/g}$	11) $y = -12,91x + 0,6494$ $0,329 = (-12,91 \cdot x) + 0,6494$ $X = 0,02481 \text{ mg}$ $0,02481 \text{ mg} / 0,69 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 35,968 \text{ mg/g}$	12) $y = -12,91x + 0,6494$ $0,444 = (-12,91 \cdot x) + 0,6494$ $X = 0,01591 \text{ mg}$ $0,01591 \text{ mg} / 0,69 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 23,058 \text{ mg/g}$
--	--	--

6.4. Efecto durante el tiempo medido con DPPH en extractos de hojas y estolones/raíces de *C. edulis* de crecimiento en arena

Las concentraciones de IC_{50} con menor valor y mayor inhibición del radical DPPH fueron utilizadas para evaluar la cinética del reactivo DPPH. Para ello, se seleccionaron los IC_{50} de los extractos de arena, los cuales presentaron valores levemente superiores (Tabla 3). Las mediciones se realizaron durante un período de 180 minutos, en intervalos de 5 minutos. Se observa que el efecto del extracto aumenta durante los dos primeros intervalos evaluados y posteriormente se mantiene constante. El porcentaje máximo de inhibición para el extracto de hojas

fue de $96,77 \pm 0,38$ % (Figura 17) (Anexo 10), mientras que para el extracto de estolones/raíces fue de $94,13 \pm 0,25$ % (Figura 18) (Anexo 11).

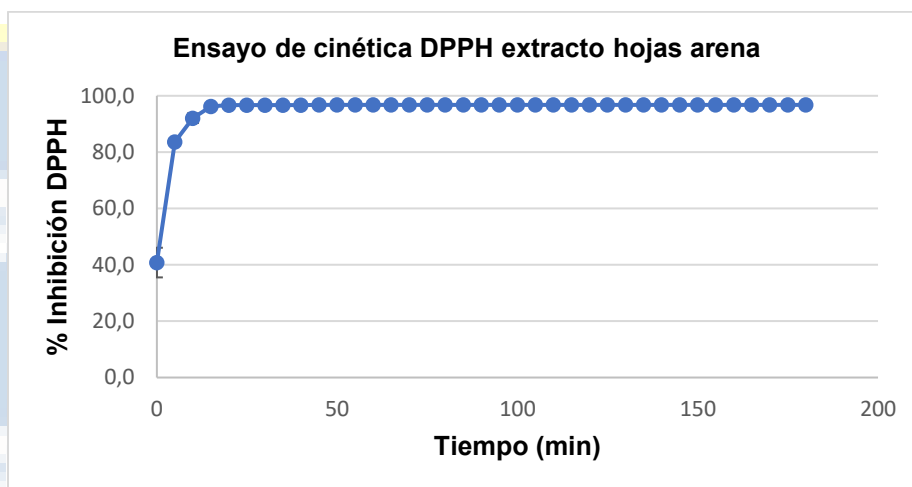


Figura 17 Efecto durante el tiempo de extracto metanólico de hojas arena de *C. edulis* frente al radical DPPH.

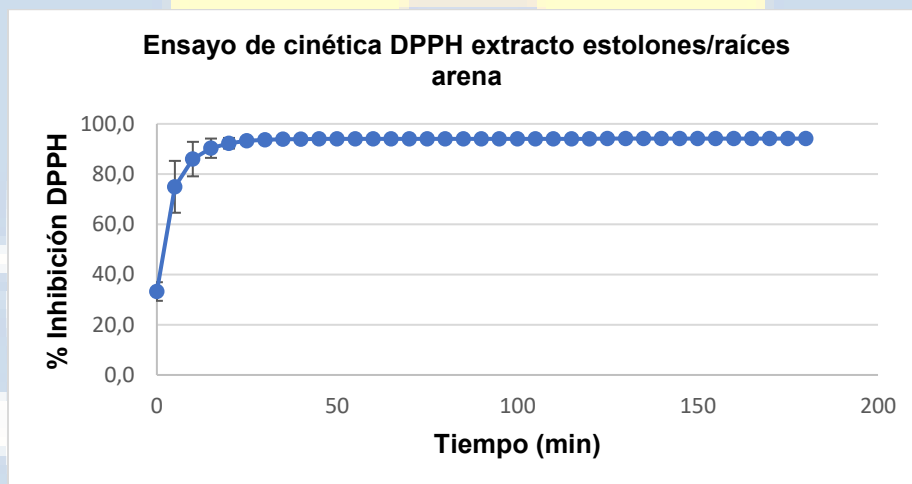


Figura 18 Efecto durante el tiempo de extracto metanólico de estolones/raíces arena de *C. edulis* frente al radical DPPH.

6.5. Determinación de actividad antioxidante mediante el radical catiónico ABTS•+ en extractos metanólicos de hojas y estolones/raíces de *C. edulis*

Para las concentraciones estudiadas se pudo observar una actividad antioxidante positiva, puesto que a mayores concentraciones se logró una mayor inhibición del ABTS (Figura 19 y 20). Los extractos de hojas de *C. edulis* presentaron una actividad antioxidante positiva. Para los extractos de hojas arena se obtuvo un

porcentaje máximo de inhibición del ABTS de $74,9 \pm 3,86\%$ y un porcentaje mínimo de inhibición de $4,9 \pm 4,00\%$ (anexo 6), mientras que para los extractos de hojas tierra se obtuvo un porcentaje máximo de inhibición de $75,58 \pm 1,12 \%$ y un porcentaje mínimo de $5,18 \pm 2,90 \%$ (anexo 8).

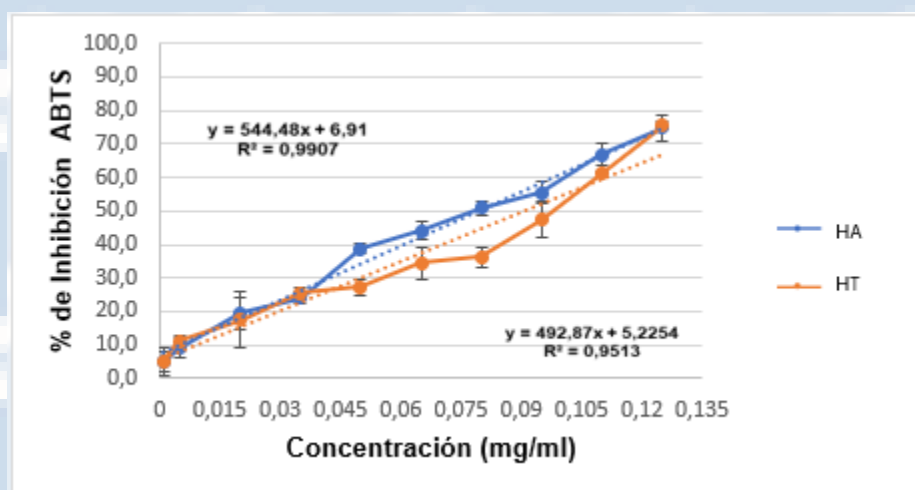


Figura 19 Porcentaje de inhibición del radical catiónico ABTS a diferentes concentraciones de extracto metanólico de hojas de *C. edulis* de crecimiento en arena y tierra.

Los extractos metanólicos de estolones y raíces de *C. edulis* igualmente presentaron una actividad positiva (Figura 20). En los extractos de estolones/raíces arena se obtuvo un porcentaje máximo de inhibición de un $71,27 \pm 1,86 \%$ para la concentración máxima evaluada (0,185 mg/ml) y el mínimo porcentaje de inhibición fue de $3,6 \pm 2,8\%$ para la mínima concentración estudiada (0,005 mg/ml)(anexo 7), mientras que para los extractos de estolones/raíces tierra se obtuvo un porcentaje máximo de inhibición de un $62,41 \pm 2,07\%$ para la concentración máxima evaluada (0,185 mg/ml) y el mínimo porcentaje de inhibición fue de $0,99 \pm 0,47\%$ para la mínima concentración estudiada (0,005 mg/ml) (anexo 9). Se obtuvo los valores IC_{50} para los distintos extractos vegetativos estudiados, para posteriormente expresar la actividad antioxidante en equivalentes de Trolox.

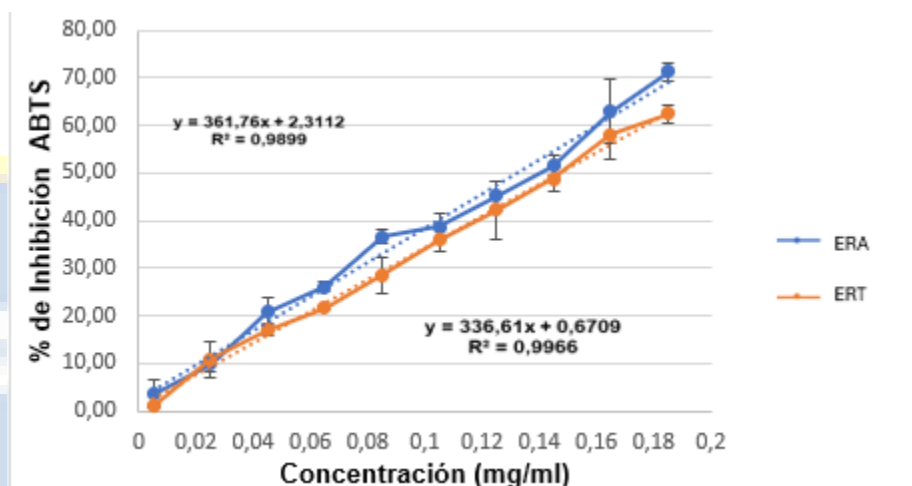


Figura 20 Porcentaje de inhibición del radical catiónico ABTS a diferentes concentraciones de extracto metanólico de estolones/raíces de *C. edulis* de crecimiento en arena y tierra.

Cálculo de IC₅₀ (ABTS) de Hojas y estolones/raíces arena:

HA	ERA
$y = 544,48x + 6,91$	$y = 361,76x + 2,3112$
$50 = (318,1 \cdot x) + 8,0733$	$50 = (71,894 \cdot x) + 9,6027$
$X = 0,08 \text{ mg/ml}$	$X = 0,13 \text{ mg/ml}$

Cálculo de IC₅₀ (ABTS) de Hojas y estolones/raíces tierra:

HT	ERT
$y = 492,87x + 5,2254$	$Y = 336,61x + 0,6709$
$50 = (324,61 \cdot x) + 2,7706$	$50 = (61,826 \cdot x) + 7,4258$
$X = 0,09 \text{ mg/ml}$	$X = 0,15 \text{ mg/ml}$

6.6. Equivalentes de Trolox para el ensayo del radical catiónico ABTS•+

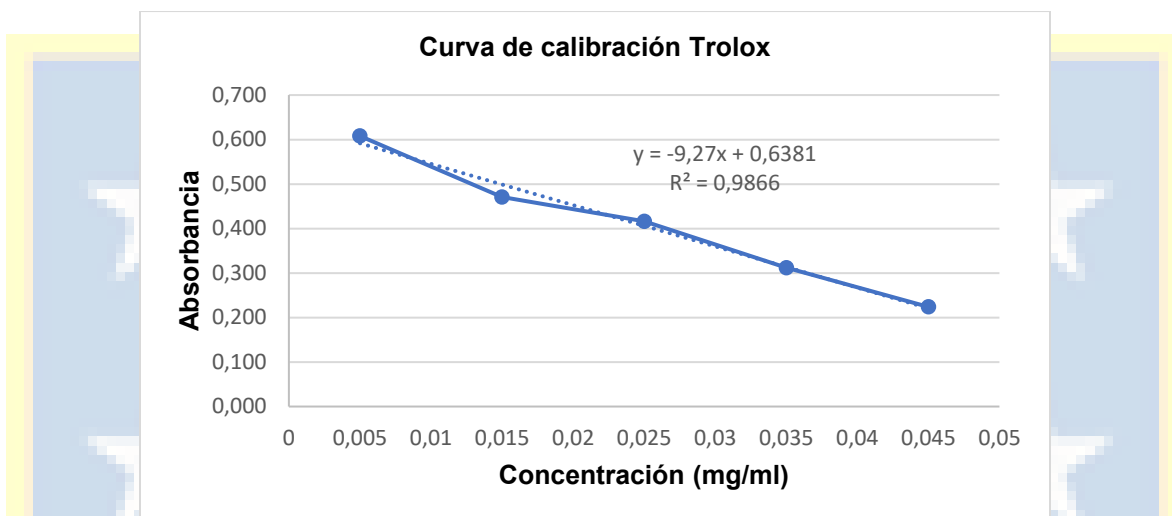


Figura 21 Curva de calibración para obtener los equivalentes de Trolox para el ensayo de ABTS.

Para el cálculo de los IC_{50} se utilizaron las ecuaciones de la recta obtenidas en los gráficos de las Figuras 19 y 20. Para los extractos de hojas se obtuvo un valor de IC_{50} de 0,08 mg/ml extracto hojas arena y de 0,09 mg/ml extracto hojas tierra, mientras que para el extracto de estolones/raíces se obtuvieron un IC_{50} de 0,13 mg/ml extracto estolones/raíces arena y 0,15 mg/ml extracto de estolones/raíces tierra.

Con estas concentraciones se determinaron los equivalentes de Trolox, interpolando los valores de las absorbancias de los IC_{50} en la ecuación de la recta de la curva de calibración estándar de Trolox (Figura 21) (Anexo 15). Al efectuar la lectura de absorbancia del IC_{50} por triplicado de los extractos de hojas, se obtuvieron los siguientes resultados: HA ($A_1 = 0,402$; $A_2 = 0,397$; $A_3 = 0,385$) y HT ($A_1 = 0,320$; $A_2 = 0,327$; $A_3 = 0,297$). Para el IC_{50} de los extractos de estolones/raíces, se obtuvieron: ERA ($A_1 = 0,353$; $A_2 = 0,337$; $A_3 = 0,318$) y ERT ($A_1 = 0,412$; $A_2 = 0,318$; $A_3 = 0,349$).

Mediante los cálculos se determinó los extractos de hojas arena obtuvieron en promedio $432,08 \pm 20,64$ mg de equivalentes de Trolox en 1 g de extracto, los extractos hojas tierra de obtuvieron en promedio $294,17 \pm 25,4$ mg de equivalentes

de Trolox en 1 g de extracto, los extractos de estolones/raíces arena obtuvieron en promedio $193,98 \pm 7,71$ mg de equivalentes de Trolox en 1 g de extracto y los extractos de estolones/raíces tierra obtuvieron en promedio $200,23 \pm 34,44$ mg de equivalentes de Trolox en 1 g de hojas de *C. edulis* (Tabla 3).

Cálculos de efecto antioxidante expresado en Equivalentes de Trolox:

HA

1) $y = -9,27x + 0,6381$ $0,327 = (-9,27 \cdot x) + 0,6381$ $X = 0,03355 \text{ mg}$ $0,03355 \text{ mg} / 0,08 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 419,498 \text{ mg/g}$	2) $y = -9,27x + 0,6381$ $0,300 = (-9,27 \cdot x) + 0,6381$ $X = 0,03647 \text{ mg}$ $0,03647 \text{ mg} / 0,08 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 455,906 \text{ mg/g}$	3) $y = -9,27x + 0,6381$ $0,326 = (-9,27 \cdot x) + 0,6381$ $X = 0,03366 \text{ mg}$ $0,03366 \text{ mg} / 0,08 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 420,846 \text{ mg/g}$
--	--	--

ERA

4) $y = -9,27x + 0,6381$ $0,400 = (-9,27 \cdot x) + 0,6381$ $X = 0,02568 \text{ mg}$ $0,02568 \text{ mg} / 0,13 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 197,576 \text{ mg/g}$	5) $y = -9,27x + 0,6381$ $0,398 = (-9,27 \cdot x) + 0,6381$ $X = 0,0259 \text{ mg}$ $0,0259 \text{ mg} / 0,13 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 199,236 \text{ mg/g}$	6) $y = -9,27x + 0,6381$ $0,415 = (-9,27 \cdot x) + 0,6381$ $X = 0,02406 \text{ mg}$ $0,02406 \text{ mg} / 0,13 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 185,129 \text{ mg/g}$
--	--	--

HT

7) $y = -9,27x + 0,6381$ $0,412 = (-9,27 \cdot x) + 0,6381$ $X = 0,02439 \text{ mg}$ $0,02439 \text{ mg} / 0,09 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 271,006 \text{ mg/g}$	8) $y = -9,27x + 0,6381$ $0,396 = (-9,27 \cdot x) + 0,6381$ $X = 0,02611 \text{ mg}$ $0,02611 \text{ mg} / 0,09 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 290,183 \text{ mg/g}$	9) $y = -9,27x + 0,6381$ $0,370 = (-9,27 \cdot x) + 0,6381$ $X = 0,02892 \text{ mg}$ $0,02892 \text{ mg} / 0,09 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 321,347 \text{ mg/g}$
--	--	--

ERT

10) $y = -9,27x + 0,6381$ $0,412 = (-9,27 \cdot x) + 0,6381$ $X = 0,02439 \text{ mg}$ $0,02439 \text{ mg} / 0,15 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 162,603 \text{ mg/g}$	11) $y = -9,27x + 0,6381$ $0,318 = (-9,27 \cdot x) + 0,6381$ $X = 0,03453 \text{ mg}$ $0,03453 \text{ mg} / 0,15 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 230,204 \text{ mg/g}$	12) $y = -9,27x + 0,6381$ $0,349 = (-9,27 \cdot x) + 0,6381$ $X = 0,03118 \text{ mg}$ $0,03118 \text{ mg} / 0,15 \text{ mg} = X/1000$ mg $X = 207,910 \text{ mg/g}$
---	---	---

6.7. Efecto durante el tiempo medido con el radical catiónico ABTS•+ en extractos metanólicos de hojas y estolones/raíces de *C. edulis* de crecimiento en arena.

El efecto cinético con utilizando el radical ABTS fue efectuado utilizando las concentraciones de IC₅₀ de los extractos de *C. edulis* de crecimiento de arena al tener mayor rendimiento (Tabla 3). Se llevó a cabo los ensayos de cinética para el

reactivo ABTS por un periodo de 180 minutos efectuando las lecturas en intervalos de 5 minutos. Se puede observar que el efecto del extracto de hojas arena después del intervalo 9 se mantuvo constante en función del tiempo (Figura 22), resultando en un máximo de inhibición de ABTS de $91,26 \pm 4,87 \%$ (anexo 12), mientras que el extracto de estolones/raíces arena después del intervalo 5 se mantuvo constante en función del tiempo (Figura 23), resultando en un máximo de inhibición del ABTS de $96,66 \pm 5,05\%$ (anexo 13).

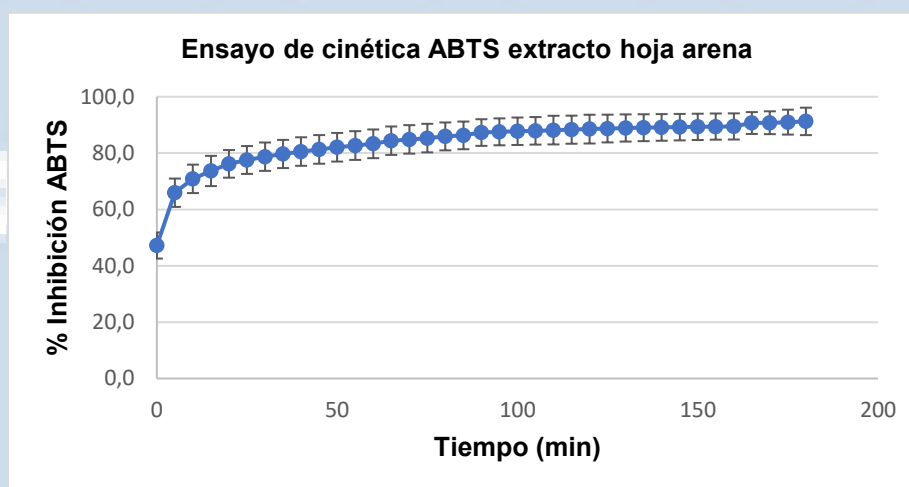


Figura 22 Ensayo de cinética mediante el radical catiónico ABTS para el extracto metanólico de hojas arena de *C. edulis*.

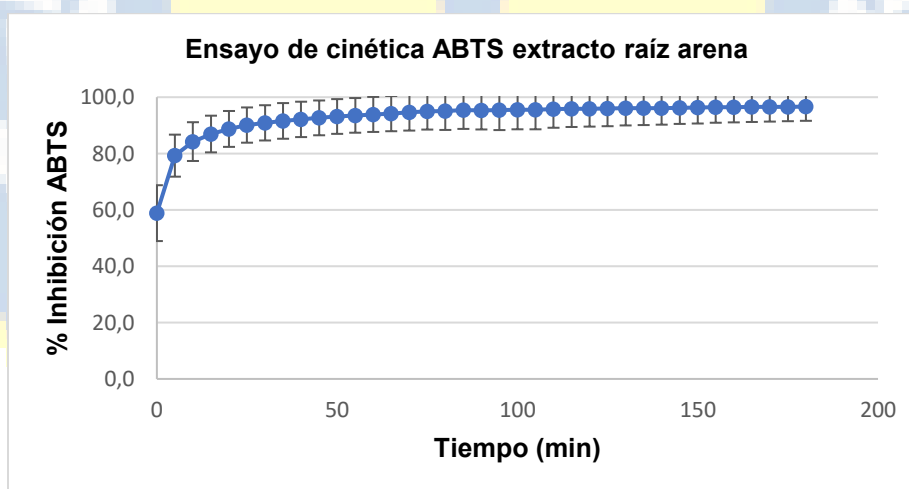


Figura 23 Ensayo de cinética mediante el radical catiónico ABTS para el extracto metanólico de estolones/raíces de arena de *C. edulis*.

6.8. Determinación de la concentración de polifenoles totales determinada mediante el método Folin-Ciocalteu

Se obtuvo una curva de calibración de ácido gálico realizada bajo el método Folin-C. La concentración evaluada para este ensayo fue de 0,015 mg/ml puesto que resultó dentro del rango de la curva estándar (Anexo 16), para interpolar en la ecuación de la recta obtenida (Figura 24) y efectuar los cálculos.

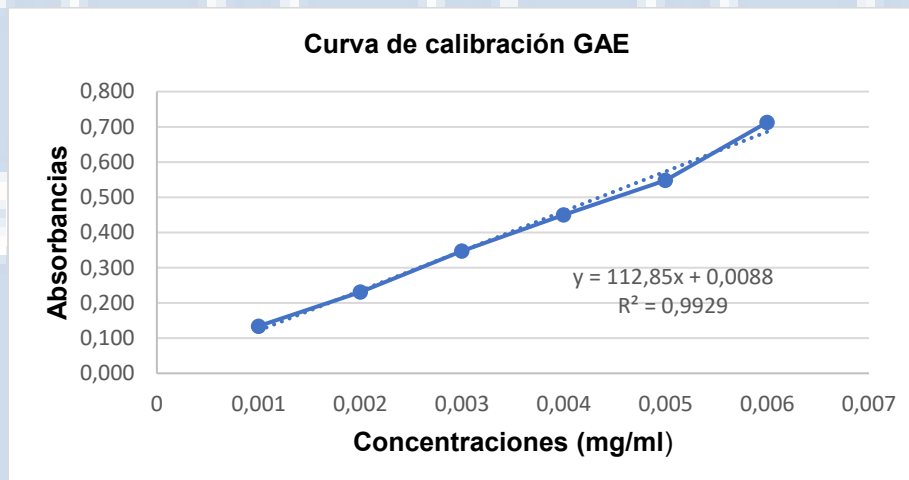


Figura 24 Curva de calibración de ácido gálico mediante el método Folin-C.

Las absorbancias registradas para el extracto metanólicos de hojas de *C. edulis* son: HA ($A_1 = 0,407$; $A_2 = 0,499$; $A_3 = 0,436$) y HT ($A_1 = 0,307$; $A_2 = 0,367$; $A_3 = 0,369$). Para los extractos metanólicos de estolones/raíces, se registraron las siguientes absorbancias: ERA ($A_1 = 0,330$; $A_2 = 0,467$; $A_3 = 0,417$) y ERT ($A_1 = 0,266$; $A_2 = 0,337$; $A_3 = 0,288$). Al llevar a cabo los cálculos se obtuvieron: $259,1 \pm 27,8$ mg de equivalentes de ácido gálico (polifenoles) en 1 g de extracto de hojas arena, $200,2 \pm 20,8$ mg de equivalentes de ácido gálico (polifenoles) en 1 g de extracto de hojas tierra, $233,9 \pm 41,01$ mg de equivalentes de ácido gálico (polifenoles) en 1 g de extracto de estolones/raíces arena y $170,3 \pm 21,5$ mg de equivalentes de ácido gálico (polifenoles) en 1 g de extracto de hojas arena (Tabla 3).

Cálculos de Equivalentes de ácido gálico (método Folin-C):

HA

1) $y = 112,85x + 0,0088$ $0,407 = (112,85 \cdot x) + 0,0088$ $X = 0,003528578 \text{ mg}$ $0,003528578 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 235,238 \text{ mg/g}$	2) $y = 112,85x + 0,0088$ $0,499 = (112,85 \cdot x) + 0,0088$ $X = 0,004343819 \text{ mg}$ $0,004343819 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 289,587 \text{ mg/g}$	3) $y = 112,85x + 0,0088$ $0,436 = (112,85 \cdot x) + 0,0088$ $X = 0,003785556 \text{ mg}$ $0,003785556 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 252,370 \text{ mg/g}$
--	--	--

ERA

4) $y = 112,85x + 0,0088$ $0,330 = (112,85 \cdot x) + 0,0088$ $X = 0,002846256 \text{ mg}$ $0,002846256 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 189,750 \text{ mg/g}$	5) $y = 112,85x + 0,0088$ $0,467 = (112,85 \cdot x) + 0,0088$ $X = 0,004060257 \text{ mg}$ $0,004060257 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 270,683 \text{ mg/g}$	6) $y = 112,85x + 0,0088$ $0,417 = (112,85 \cdot x) + 0,0088$ $X = 0,003617191 \text{ mg}$ $0,003617191 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 241,146 \text{ mg/g}$
--	--	--

HT

7) $y = 112,85x + 0,0088$ $0,307 = (112,85 \cdot x) + 0,0088$ $X = 0,002642446 \text{ mg}$ $0,002642446 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 176,163 \text{ mg/g}$	8) $y = 112,85x + 0,0088$ $0,367 = (112,85 \cdot x) + 0,0088$ $X = 0,003174125 \text{ mg}$ $0,003174125 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 211,608 \text{ mg/g}$	9) $y = 112,85x + 0,0088$ $0,369 = (112,85 \cdot x) + 0,0088$ $X = 0,003191848 \text{ mg}$ $0,003191848 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 212,789 \text{ mg/g}$
--	--	--

ERT

10) $y = 112,85x + 0,0088$ $0,266 = (112,85 \cdot x) + 0,0088$ $X = 0,002279132 \text{ mg}$ $0,002279132 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 151,942 \text{ mg/g}$	11) $y = 112,85x + 0,0088$ $0,337 = (112,85 \cdot x) + 0,0088$ $X = 0,002908285 \text{ mg}$ $0,002908285 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 193,885 \text{ mg/g}$	12) $y = 112,85x + 0,0088$ $0,288 = (112,85 \cdot x) + 0,0088$ $X = 0,002474081 \text{ mg}$ $0,002474081 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 164,938 \text{ mg/g}$
---	---	---

6.9. Determinación de concentración de flavonoides

Se obtuvo una curva de calibración de Catequina (Figura 25). La concentración evaluada para este ensayo fue de 0,2 mg/ml puesto que resultó dentro del rango de la curva estándar (Anexo 17).

Las absorbancias registradas para el extracto metanólico de hojas de *C. edulis* son: HA ($A_1 = 0,697$; $A_2 = 0,630$; $A_3 = 0,657$) y HT ($A_1 = 0,580$; $A_2 = 0,565$; $A_3 = 0,606$), mientras que para los extractos metanólicos de estolones/raíces se registraron las siguientes absorbancias: ERA ($A_1 = 0,636$; $A_2 = 0,670$; $A_3 = 0,615$) y ERT ($A_1 = 0,577$; $A_2 = 0,523$; $A_3 = 0,520$).

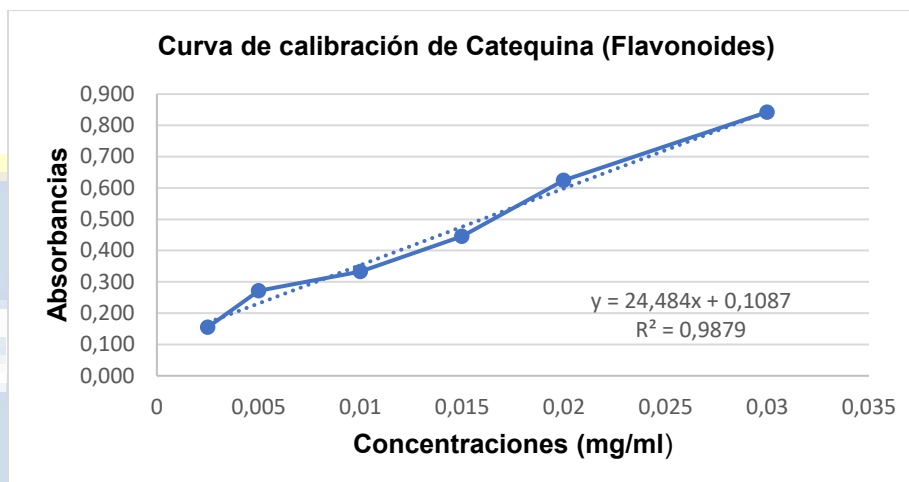


Figura 25 Curva de calibración de Catequina para el contenido de flavonoides.

Al llevar a cabo los cálculos se obtuvieron $112,85 \pm 6,9$ mg de equivalentes de ácido catequina en 1 g de extracto de hojas arena, $96,9 \pm 4,2$ mg de equivalentes de catequina en 1 g de extracto de hojas tierra, $108,56 \pm 5,7$ mg de equivalentes de catequina en 1 g de extracto de estolones/raíces arena y $88,2 \pm 6,6$ mg de equivalentes catequina en 1 g de extracto de hojas arena (Tabla 3).

Cálculos de Equivalentes de catequina (Flavonoides):

HA

1) $y = 24,484x + 0,1087$ $0,697 = (24,484 \cdot x) + 0,1087$ $X = 0,024027937 \text{ mg}$ $0,024027937 \text{ mg} / 0,2 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 120,134 \text{ mg/g}$	2) $y = 24,484x + 0,1087$ $0,630 = (24,484 \cdot x) + 0,1087$ $X = 0,021291456 \text{ mg}$ $0,021291456 \text{ mg} / 0,2 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 106,457 \text{ mg/g}$	3) $y = 24,484x + 0,1087$ $0,657 = (24,484 \cdot x) + 0,1087$ $X = 0,022394217 \text{ mg}$ $0,022394217 \text{ mg} / 0,2 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 111,970 \text{ mg/g}$
--	--	--

ERA

4) $y = 24,484x + 0,1087$ $0,636 = (24,484 \cdot x) + 0,1087$ $X = 0,021536514 \text{ mg}$ $0,021536514 \text{ mg} / 0,2 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 102,682 \text{ mg/g}$	5) $y = 24,484x + 0,1087$ $0,670 = (24,484 \cdot x) + 0,1087$ $X = 0,022925176 \text{ mg}$ $0,022925176 \text{ mg} / 0,2 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 114,625 \text{ mg/g}$	6) $y = 24,484x + 0,1087$ $0,615 = (24,484 \cdot x) + 0,1087$ $X = 0,020678811 \text{ mg}$ $0,020678811 \text{ mg} / 0,015 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 241,146 \text{ mg/g}$
--	--	--

HT

7) $y = 24,484x + 0,1087$ $0,580 = (24,484 \cdot x) + 0,1087$ $X = 0,019249306 \text{ mg}$ $0,019249306 \text{ mg} / 0,2 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 96,246 \text{ mg/g}$	8) $y = 24,484x + 0,1087$ $0,565 = (24,484 \cdot x) + 0,1087$ $X = 0,018636661 \text{ mg}$ $0,018636661 \text{ mg} / 0,2 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 93,183 \text{ mg/g}$	9) $y = 24,484x + 0,1087$ $0,606 = (24,484 \cdot x) + 0,1087$ $X = 0,020311224 \text{ mg}$ $0,020311224 \text{ mg} / 0,2 \text{ mg} =$ $X/1000 \text{ mg}$ $X = 101,556 \text{ mg/g}$
---	---	--

ERT

$$\begin{aligned}10) y &= 24,484x + 0,1087 \\0,577 &= (24,484 \cdot x) + 0,1087 \\X &= 0,019126777 \text{ mg} \\0,019126777 \text{ mg} / 0,2 \text{ mg} &= \\X/1000 \text{ mg} \\X &= 95,633 \text{ mg/g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}11) y &= 24,484x + 0,1087 \\0,523 &= (24,484 \cdot x) + 0,1087 \\X &= 0,016921255 \text{ mg} \\0,016921255 \text{ mg} / 0,2 \text{ mg} &= \\X/1000 \text{ mg} \\X &= 84,606 \text{ mg/g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}12) y &= 24,484x + 0,1087 \\0,520 &= (24,484 \cdot x) + 0,1087 \\X &= 0,016798726 \text{ mg} \\0,016798726 \text{ mg} / 0,2 \text{ mg} &= \\X/1000 \text{ mg} \\X &= 83,993 \text{ mg/g}\end{aligned}$$

6.10. Resultados sobre la evaluación del efecto de extractos en modelo de membrana de eritrocitos humanos

Se obtuvieron resultados negativos para actividad antioxidante probado de manera *in vivo* mediante eritrocitos humanos. Tanto la interacción de los extractos sobre membranas de glóbulos rojos, como la interacción de HOCl en presencia de extractos (n=2) dieron porcentajes de hemólisis > 100%.

6.11. Resultados sobre determinación de cenizas en suelos de arena y tierra

Porcentaje de cenizas totales en suelo de arena

De una masa de total de muestra de suelo de arena de 15,06 g, se obtuvo un 99,98 g de cenizas más los crisoles, a los que se les resto el total de los pesos de los crisoles 84,99, obteniendo un 99,5 % de cenizas en las muestras de suelo arena

$$\% \text{ porcentaje cenizas arena} = \frac{99,98 - 84,99}{15,06} \times 100$$

$$\% \text{ porcentaje cenizas arena} = 99,53\%$$

Porcentaje de cenizas totales en suelo de tierra

De una masa de total de muestra de suelo de tierra de 15,31 g, se obtuvo un 93,66 g de cenizas más los crisoles, a los que se les resto el total de los pesos de los crisoles 80,91, obteniendo un 83,4 % de cenizas en las muestras de suelo tierra.

$$\% \text{ porcentaje cenizas tierra} = \frac{93,66 - 80,91}{15,31} \times 100$$

$$\% \text{ porcentaje cenizas tierra} = 83,27\%$$

Las muestras de suelo de arena presentan un porcentaje materia inorgánica más alto que las muestras de suelo tierra.

6.12. Resultados comparativos sobre actividad antioxidante en extractos metanólicos de *C. edulis*

No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los distintos extractos metanólicos de *C. edulis*. Sin embargo, se evidenciaron leves variaciones entre los tejidos, siendo los extractos de hojas superiores en comparación con los de estolones/raíces. Asimismo, se observaron pequeñas diferencias entre los extractos provenientes de plantas de crecimiento en arena y tierra (Tabla 3).

Tabla 3 IC₅₀ de DPPH y ABTS, equivalente de ácido gálico (GAE), equivalente Trolox, contenido de flavonoides y polifenoles de cada extracto obtenido de *C. edulis* de crecimiento en arena y tierra.

Extracto	IC ₅₀ DPPH	GAE	IC ₅₀ ABTS	Trolox	Polifenoles	Flavonoides
HA	0,13 mg/ml	171,3 mg/g	0,08 mg/ml	432,08 ± 20,64 mg/g	259,1 ± 27,8 mg/g	112,85 mg/g ± 6,9
HT	0,15 mg/ml	153 mg/g	0,09 mg/ml	294,17 ± 25,4 mg/g	200,2 ± 20,8 mg/g	96,9 mg/g ± 4,2

ERA	0,56 mg/ml	30,9 mg/g	0,13 mg/ml	193,98 ± 7,71 mg/g	233,9 ± 41,01 mg/g	108,56 mg/g ± 5,7
ERT	0,69 mg/ml	33,9 mg/g	0,15 mg/ml	200,23 ± 34,44 mg/g	170,3 ± 21,5 mg/g	88,7 mg/g ± 6,6

6.13. Resultados cualitativos de grupos de metabolitos secundarios en extractos metanólicos secos de *C. edulis* recolectada desde suelo de arena

6.13.1. Antraquinonas oxidadas y libres

Se evaluó la presencia de antraquinonas oxidadas y libres en extractos secos de hojas (Figura 26A) y estolones/ raíces (Figura 26B). No se observó la presencia de antraquinonas oxidadas y libres en ninguno de los extractos.

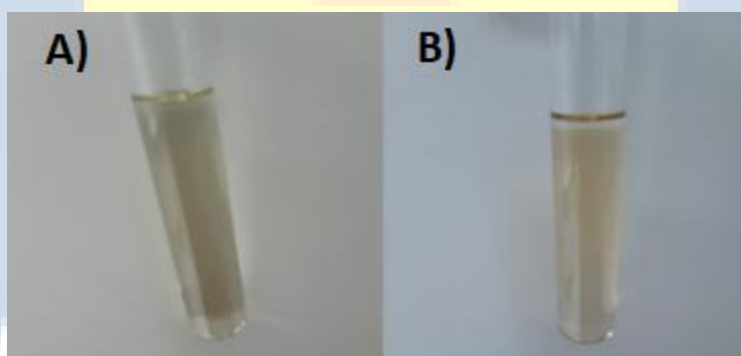


Figura 26 Determinación de antraquinonas oxidadas y libres (A) extracto hojas y (B) extracto de estolones/raíces de *C. edulis*.

6.13.2. Antraquinonas combinadas y reducidas

Se determinó la presencia de antraquinonas combinadas y reducidas en extracto seco de hojas y estolones/raíces de *C. edulis* (Figura 27). Se evidencio un cambio en la coloración para el extracto de estolones/raíces (Figura 27 B), indicando la presencia de este metabolito secundario.

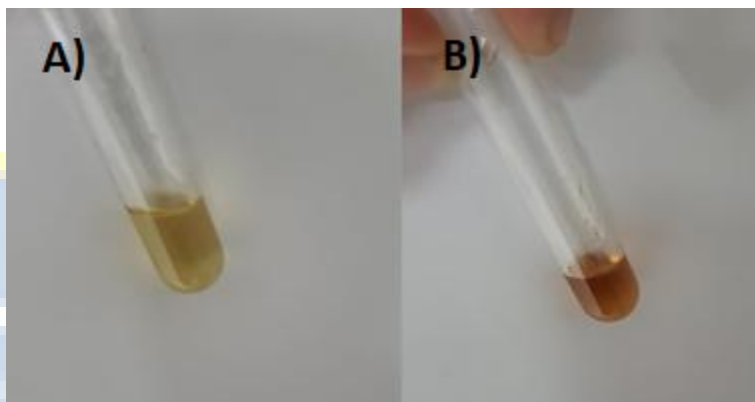


Figura 27 Determinación de antraquinonas combinadas y reducidas (A) extracto de hojas y (B) extracto de estolones/raíces de *C. edulis*.

6.13.3. Alcaloides

Se detecto la presencia de alcaloides en extracto secos de hojas y estolones/raíces de *C. edulis* (Figura 28). Se observo un leve precipitado negro en ambas muestras dando positivo para cada extracto (Figura 28 A y B).

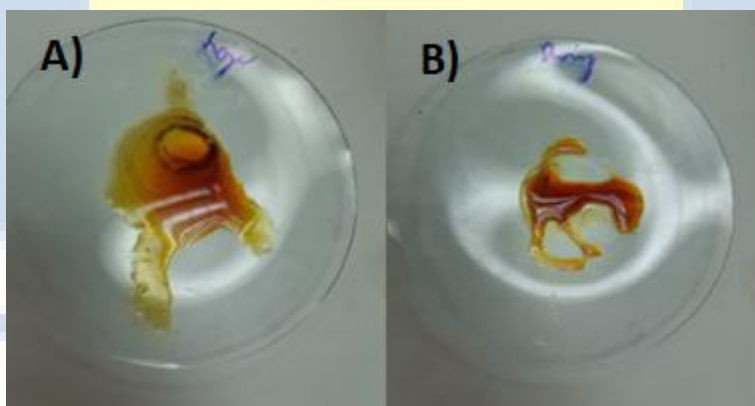


Figura 28 Determinación de presencia de alcaloides (A) extracto de hojas y (B) extracto de estolones/raíces de *C. edulis*.

6.13.4. Flavonoides

Se realizaron dos ensayos, HCl/Zn (Figura 29) y HCl/Mg (Figura 30), para la determinación cualitativa de flavonoides en los extractos secos de hojas y estolones/raíces de *C. edulis*. Se detectó la presencia positiva de estos metabolitos mediante ambos ensayos en los extractos secos de hojas y estolones/ raíces.

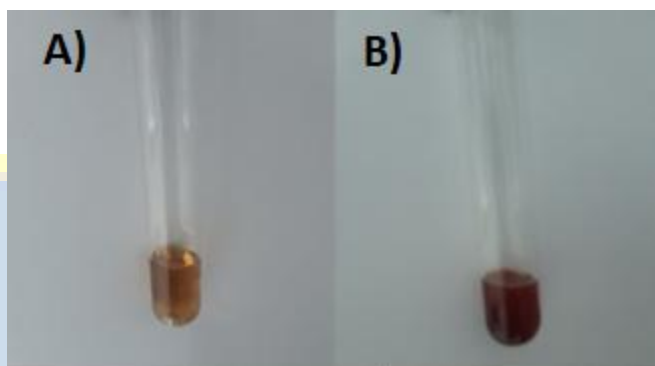


Figura 29 Determinación de presencia de flavonoides bajo el test HCl/Zn (A) extracto de hojas y (B) extracto de estolones/raíces de *C. edulis*.

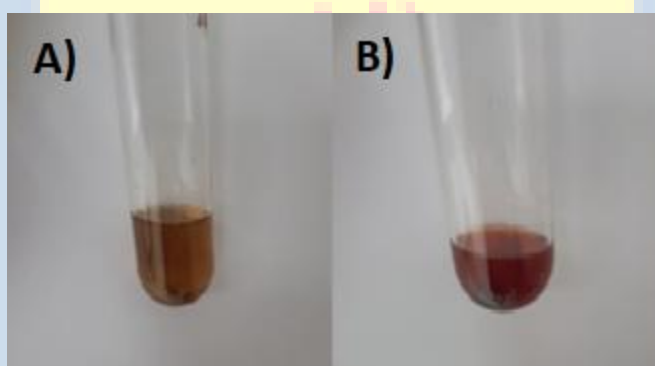


Figura 30 Determinación de presencia de flavonoides bajo el test de HCl/Mg (A) extracto de hojas y (B) extracto de estolones/raíces de *C. edulis*.

6.13.5. Taninos

Se detectó presencia positiva de taninos para extracto seco de hojas (Figura 31 A) y para extracto seco de estolones/raíces (Figura 31 B) resultando en ambos casos una coloración negra/verdosa.

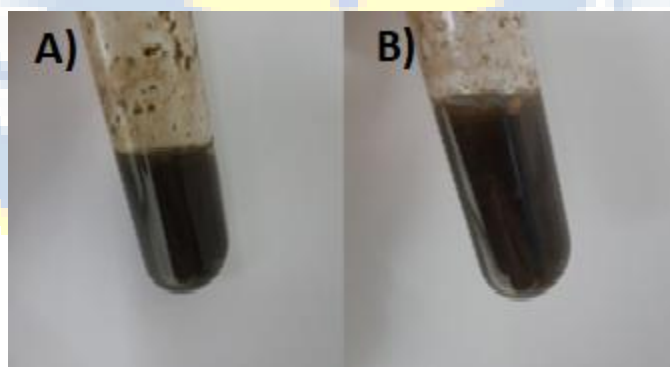


Figura 31 Determinación de presencia de taninos (A) extracto de hojas y (B) extracto de estolones/raíces de *C. edulis*.

6.13.6. Saponinas

Se detecto la presencia de saponinas al formarse agitar los tubos de ensayo vigorosamente en extractos secos de estolones/raíces (Figura 32 B)

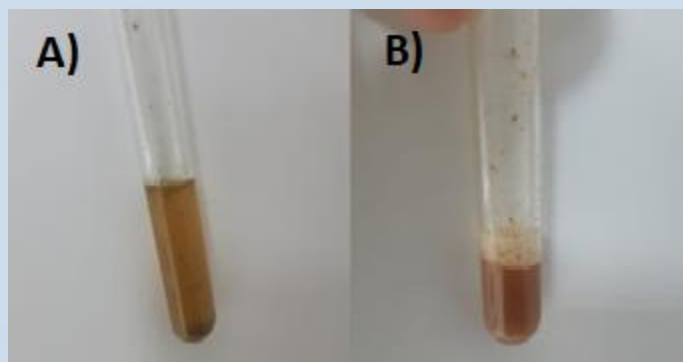


Figura 32 Determinación de presencia de saponinas (A) extracto de hojas y (B) extracto de estolones/raíces de *C. edulis*.

Los resultados a indican presencia positiva para los metabolitos secundarios. Los resultados obtenidos se interpretan utilizando un sistema de cruces donde: “+++” denota presencia abundante, “++” representa presencia relativamente abundante, “+” significa presencia escasa y “-” denota reacción negativa (Tabla 4).

Tabla 4 Metabolitos secundarios identificados de extracto secos de hojas y estolones/raíces de *C. edulis*.

Metabolito secundario	Prueba Química	Resultado	
		Hojas	Estolones/Raíces
Antraquinonas	Oxidadas y libres	-	-
	Combinadas y reducidas	-	++
Alcaloides	NH ₃ /Lugol	+	+
Flavonoides	HCl/Zn	++	++
	HCl/Mg	++	++
Taninos	FeCl ₃	+++	+++
Saponinas	Agitación	-	+

6.14. Actividad antimicrobiana

No se observó inhibición de patógenos fúngicos ni bacterianos, frente a la concentración de 10 mg/ml utilizado en los ensayos para cada extracto.

7. Discusión

Los resultados obtenidos a partir de los extractos metanólicos de *C. edulis* demostraron ser efectivos en la actividad antioxidante evaluada in vitro, evidenciada por la capacidad de reducir los radicales DPPH y ABTS. En este contexto, destacaron los extractos metanólicos de hojas, los cuales presentaron una mayor actividad antioxidante en comparación con los extractos de estolones y raíces, al evidenciar valores de IC₅₀ más bajos y mayores porcentajes de inhibición en ambos ensayos. Asimismo, estos extractos mostraron mayores equivalentes antioxidantes de ácido gálico y Trolox. De igual manera, el contenido de polifenoles y flavonoides fue levemente superior en los extractos metanólicos de hojas, lo que se correlaciona directamente con la capacidad antioxidante en plantas, debido a su función como captadores de radicales libres (Shanmugam et al. 2018). Además, los extractos metanólicos de *C. edulis* demostraron estabilidad en su actividad antioxidante a lo largo del tiempo, manteniendo porcentajes de inhibición superiores al 90 % en los ensayos de cinética con DPPH y ABTS, lo que sugiere su potencial como inhibidores de radicales libres (Sultana et al. 2009). En cuanto a la comparación entre los extractos provenientes de plantas de crecimiento en arena y tierra, no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, se evidenciaron leves diferencias, donde los extractos de tejidos provenientes de arena presentaron una tendencia a una mayor actividad antioxidante, así como mayores contenidos de polifenoles y flavonoides. Estas variaciones podrían estar relacionadas con factores ambientales y las características del sustrato. Las plantas que crecen en arena probablemente estuvieron sometidas a mayores condiciones de estrés debido a la menor disponibilidad de nutrientes. En este sentido, diversos estudios han demostrado que diferentes tipos de estrés ambiental, como el déficit de boro y nitrógeno, pueden incrementar los niveles de compuestos fenólicos en plantas

(Quirós et al. 2017). Asimismo, al desarrollarse en un hábitat costero, estas plantas pueden experimentar estrés hídrico y estrés iónico asociado a la salinidad, lo que induce la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Este aumento en ROS puede estimular la síntesis de compuestos antioxidantes, como polifenoles, con el fin de mitigar el daño celular (Niggeweg et al. 2004). Adicionalmente, el estrés abiótico derivado de la baja materia orgánica en el sustrato podría ser un factor relevante. De acuerdo con el análisis de cenizas, las muestras de arena presentaron un mayor contenido de materia inorgánica en comparación con las muestras de tierra. Las plantas de la familia *Aizoaceae*, que crecen comúnmente en ambientes áridos o costeros, tienden a acumular compuestos orgánicos para mantener el equilibrio osmótico frente a la presencia de sales, como el NaCl. Estos compuestos también participan en la síntesis de flavonoides y polifenoles, contribuyendo a la protección frente al estrés oxidativo, radiación UV y ataque de patógenos (Lokhande et al. 2013).

Por otra parte, no se observaron efectos antioxidantes en el modelo de membrana de eritrocitos humanos; sin embargo, se registró un alto porcentaje de hemólisis. Esto podría estar relacionado con la presencia de compuestos bioactivos con potencial citotóxico, ya que algunos metabolitos secundarios pueden afectar la integridad de membranas celulares. En este contexto, los ensayos con eritrocitos son utilizados para evaluar la posible citotoxicidad de extractos vegetales (Figueirêdo et al., 2019). No obstante, este efecto también podría sugerir un potencial uso en estudios de actividad anticancerígena. En este sentido, Martins et al. (2010) identificaron compuestos presentes en extractos metanólicos de *C. edulis*, tales como β -amirina, uvaol, ácido oleanólico, monogalactosildiacilglicerol, catequina, epicatequina y procianidina B5, destacando el uvaol como uno de los compuestos más prometedores en estudios sobre líneas celulares de linfoma multirresistente. Los resultados de la marcha fitoquímica evidenciaron la presencia de diversos metabolitos secundarios en los extractos de *C. edulis*, incluyendo alcaloides, flavonoides, taninos y saponinas, mientras que la presencia de antraquinonas fue prácticamente nula. Estos compuestos han sido ampliamente asociados con diversas actividades biológicas, tales como antioxidante,

antimicrobiana, antidiabética, anticancerígena y antiinflamatoria (Mudimba y Nguta, 2019).

Finalmente, en relación con la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de *C. edulis*, no se observaron efectos inhibitorios frente a los microorganismos evaluados. Esto podría atribuirse a la utilización de una única concentración en el ensayo, lo que podría haber limitado la detección de un posible efecto. Estudios previos han reportado actividad antibacteriana en compuestos aislados de *C. edulis*, como catequina, uvaol y ácido oleanólico, los cuales han demostrado eficacia frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas (Meddeb et al. 2017).

8. Conclusión

Los resultados del presente estudio confirman la presencia de actividad antioxidante en extractos metanólicos de hojas y estolones/raíces de *C. edulis*, determinada *in vitro* mediante los ensayos con los radicales DPPH y ABTS, lo cual se relaciona con su contenido de polifenoles y flavonoides.

Los extractos metanólicos provenientes de plantas de *C. edulis* de crecimiento en arena presentaron una leve tendencia a una mayor actividad antioxidante en comparación con aquellos provenientes de suelo, lo que podría estar asociado a condiciones de estrés ambiental y a las características del sustrato.

La evaluación *in vivo* mediante eritrocitos humanos no evidenció actividad antioxidante de los extractos metanólicos de *C. edulis*; sin embargo, se observó un efecto citotóxico, lo que sugiere un potencial interés para futuras investigaciones relacionadas con actividad anticancerígena.

Por otra parte, no se detectó actividad antimicrobiana en los extractos evaluados bajo las condiciones del estudio. Esto podría estar relacionado con la concentración utilizada o con la metodología empleada, por lo que se sugiere la realización de estudios adicionales que consideren diferentes concentraciones o métodos de evaluación, considerando los antecedentes reportados sobre la actividad antimicrobiana de *C. edulis*.

9. Bibliografía

Agudo L (2010) Técnicas para la determinación de compuestos antioxidante en. Revista de la educación en Extremadura 27-34

Akinyede K, Ekpo O, Oguntibeju O (2020) Ethnopharmacology, Therapeutic Properties and Nutritional Potentials of *Carpobrotus edulis*: A Comprehensive Review. Scientia Pharmaceutica 88:1-16

Alam, M, Bristi N, Rafiquzzaman M (2012) Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal 21:143-152

Alcântara I. d, Gomes R, Henrique P, Borges S, Conte Junior C (2020) Chapter Four - Antimicrobial resistance genes in bacteria from animal-based foods. Advances in Applied Microbiology 112:143-183

Ali B (2021) Salicylic acid: An efficient elicitor of secondary metabolite production in plants. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 31:1878-1881

Apetrei I. M (2021) Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. International Journal of Molecular Sciences 22:1-30

Arbos K, Claro L, Borges L, Santos C. A, Weffort, A (2008) Human erythrocytes as a system for evaluating the antioxidant capacity of vegetable extracts. Nutrition Research 457-463

Babior B (2000) Phagocytes and oxidative stress. The American Journal of Medicine 109:33-44

Bedlovičová Z, Strapáč I, Baláž M, Salayová A (2020) A Brief Overview on Antioxidant Activity Determination of Silver Nanoparticles. Molecules 1-24

Beserra M, Machado P, Campos Â, do G, Carvalho C, Arraes G, Gomes T (2011) Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. Food Research International 44:2155-2159

Bhatla S. C (2018) Secondary Metabolites. Nueva Delhi, India: Department of Botany. University of Delh 1099-1166

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

Campoy J, Acosta A, Affrec L, Barreirrod R, Brundue G, Buissonf E, Fagúndez J (2018) Monographs of invasive plants in Europe: Carpobrotus. Botany Letters 440-475

Chen F, Tholl Bohlmann J, Pichersky E (2011) The family of terpene synthases in plants: a mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. The plant journal 66:212-229

Chikezie P, Ibegbulem C, Mbagwu F (2015) Bioactive Principles from Medicinal. Research Journal of Phytochemistry 9:88-115

Di Meo S, Venditti P (2020) Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. Oxidative Medicine and Cellular Longevity 1-32

Djeridane A, Yousfi M, Nadjemib B, Boutassouna D, Stockerc P, Vidal N (2006) Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry 97:654-660

Falleh H, Ksouri R, Medini F, Guyot S, Abdelly C, Magné C (2013) Polyphenol content and biological activities of Mesembryanthemum edule organs after fractionation. Industrial Crops and Products 42:145-152

Falleh H, Ksouri R, Medini F, Guyotc S, Abdelly C, Magneb C (2011) Antioxidant activity and phenolic composition of the medicinal and edible halophyte Mesembryanthemum edule L. Industrial Crops and Products 34:1066-1071

Fernández S, Villaño D, Troncoso A, García C (2006) Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del vino y valoración de sus efectos *in vivo*. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 56:110-122

Figueirêdo E, Costa B, Palhano J, Sousa W, Freire H, Castro D, Vieira J (2019) Use of erythrocytes in cytotoxicity and toxicity assays of medicinal plant extracts: analysis of their application and bibliometric study. Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas 18:359 - 377

Fraga M, García P, Pereira A, Lourenço C, Jimenez C, Prieto M, Simal J (2020) Technological Application of Tannin-Based Extracts. *Molecules* 25:1-27

Gajula D, Verghese M, Boateng J, Walker L, Shackelford L, Mentreddy S, Cedric S (2009) Determination of Total Phenolics, Flavonoids and Antioxidant and Chemopreventive Potential of Basil (*Ocimum basilicum* L. and *Ocimum tenuiflorum* L.). *International Journal of Cancer Research* 5:130-143

Gaviria C, Ochoa C, Sánchez N, Medina C, Lobo M, Galeano P, Rojano B (2009) Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale* SW). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 8:519 - 528

Guija E, Inocente M, Ponce J, Zarzosa E (2015) Evaluación de la técnica 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico (Lima)* 15:57-60

Gutiérrez E, Lopez L, Contreras L, Elizalde C, Heredia J (2020) Plant Alkaloids: Structures and Bioactive Properties. *Plant-derived Bioactives* 85-117

Hirán M, Cabrera R, Francisco C, Morón J, Carmen M, Acosta L (2012) Composición fitoquímica de partes aéreas frescas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 268-278

Ibtissem B, Abdelly C, Sfar S (2012) Antioxidant and Antibacterial Properties of *Mesembryanthemum crystallinum* and *Carpobrotus edulis* Extracts. *Advances in Chemical Engineering and Science* 1-7

Kedare S, Singh R (2011) Génesis y desarrollo del método DPPH de ensayo antioxidante. *Revista de ciencia y tecnología de los alimentos. Revista de ciencia y tecnología de los alimentos* 48:412-420

Kishor S, Vasantrao P, Venkatrao P, Hanumantrao V (2018) Nitrogen Containing Secondary Metabolites from Endophytes of Medicinal Plants and their Biological/Pharmacological Activities Review. *Sys Rev Pharm* 9:22-30

Kubitzki K, Rohwer J, Bittrich V (2013) Plantas con Flores · Dicotiledóneas: Familias Magnoliid, Hamamelid y Caryophyllid. *Springer Science & Business Media* (2)

Kumara N, Goelb N (2019) Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports* 24:1-10

Kupina S, Fields C, Roman M, & Brunelle S (2018) Determination of Total Phenolic Content Using the Folin-C Assay: Single-Laboratory Validation. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* 1466–1472

Kuskoski M, Asuero A, Troncoso A, Mancini J (2005) Aplicaciones de diversos métodos químicos para determinar. *Food Sci. Techno* 25:726-732

Lattanzio V (2013) Phenolic Compounds: Introduction. *Natural Products* 1543-1580

Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N (2010) Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. *Pharmacognosy Reviews* 4:118-126.

Lokhande V, Gor B, Desai N, Nikam T, Suprasanna P (2013) *Sesuvium portulacastrum*, a plant for drought, salt stress, sand fixation, food and phytoremediation. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 33:329–348

Martins A, Vasas A, Schelz Z, Viveiros M, Molnar J, Hohmann J, Amaral L (2010) Constituents of *carpobrotus edulis* inhibit p-glycoprotein of *mdr1*-transfected mouse lymphoma cells. *Anticancer Research* 30:829-835

Meddeb E, Charni M, Ghazouani T, Cozzolino A, Fratianni F, Raboudi F, Fattouch, S (2017) Biochemical and Molecular Study of *Carpobrotus edulis* Bioactive Properties and Their Effects on *Dugesia sicula* (Turbellaria, Tricladida) Regeneration. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 182:1131–1143

Mudimba T, Nguta J (2019) Traditional uses, phytochemistry and pharmacological. *The Journal of Phytopharmacology*. 8:111-116

Mulaudzi R, Aremu A, Rengasamy K, Adebayo S, McGaw L, Amo S, .Du Plooy C (2019) Antidiabetic, anti-inflammatory, anticholinesterase and cytotoxicity determination of two *Carpobrotus* species. *South African Journal of Botany* 125: 142-148

Navarro E, Rodríguez de Vera B, Díaz J. J, Navarro R, Alonso S (2012) Identificación y aislamiento de compuestos de *Rumex lunaria* L. Endemismo canario con actividad farmacológica. *Canarias médica y Quirúrgica* 9:53-59

Niggeweg R, Michael A. J, Martin C (2004) Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. *Nature Biotechnology* 22:746–754

Omoruyi B, Afolayan A, Bradley G (2014) Chemical composition profiling and antifungal activity of the essential oil and plant extracts of *Mesembryanthemum edule* (L.) bolus leaves. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 11: 19–30

Omoruyi, B., Bradley, G., & Afolayan, A. (2012) Antioxidant and phytochemical properties of *Carpobrotus edulis* (L.) bolus leaf used for the management of common infections in HIV/AIDS patients in Eastern Cape Province. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 1-9

Osman A, Wong K, Fernyhough A (2006) ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: Isolation and structural elucidation of covalent adducts. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 346:321–329

Pan B, Li H, Lang D, Xing B (2019) Environmentally persistent free radicals: Occurrence, formation mechanisms and implications. *Environmental Pollution* 320-331

Panche A, Chandra A, Diwan S (2016) Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* 5:1-15

Pandey K, Rizvi S (2009) Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev* 2:270–278

Perveen S (2018) Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids. *Terpenes and Terpenoids* 1 pp

Plaza C, Torres L, Lücking R, Vizcaya M, Medina G (2014) Antioxidant activity, total phenols, and flavonoids of lichens. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 2:138-147

Quirós A, Sáyo S, Ayala J, Wall A, Rosa L, González G, Álvarez E (2017) Biological Actions of Phenolic Compounds. Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health 125–138

Reddy P. R, Elghandour M, Salem A, Yasaswini D, Reddy P. P, Reddy A. N, Hyder I (2020) Plant secondary metabolites as feed additives in calves for antimicrobial stewardship. Animal Feed Science and Technology 114-469

Rodríguez O, Andrade W, Diaz F (2015) Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae). Revista de Tecnología 14:21-36

Saeed N, Khan M, Shabbir M (2012) Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. BMC Complementary and Alternative Medicine volume 1-12

Shanmugam H, Jayaprakasha G, Patil B (2018) Extraction and Identification of Health-Promoting Phytochemicals from Brussels Sprouts. Advances in Plant Phenolics: From Chemistry to Human Health 8:151-174

Sibanda T, Okoh A. (2007) The challenges of overcoming antibiotic resistance: Plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. African Journal of Biotechnology 6:2886-2896

Sotes G, Cavieres L, Rodríguez R (2015) *Carpobrotus edulis* (L.) N.E. Br. (Aizoaceae) and its presence in the Chilean flora. Gayana Bot 72:149-151

Srivastava A. k (2018) Chapter 1 - Significance of medicinal plants in human life. Synthesis of Medicinal Agents from Plants 1-24

Sultana B, Anwar F, Ashraf M. (2009) Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. Molecules 14: 2167–2180

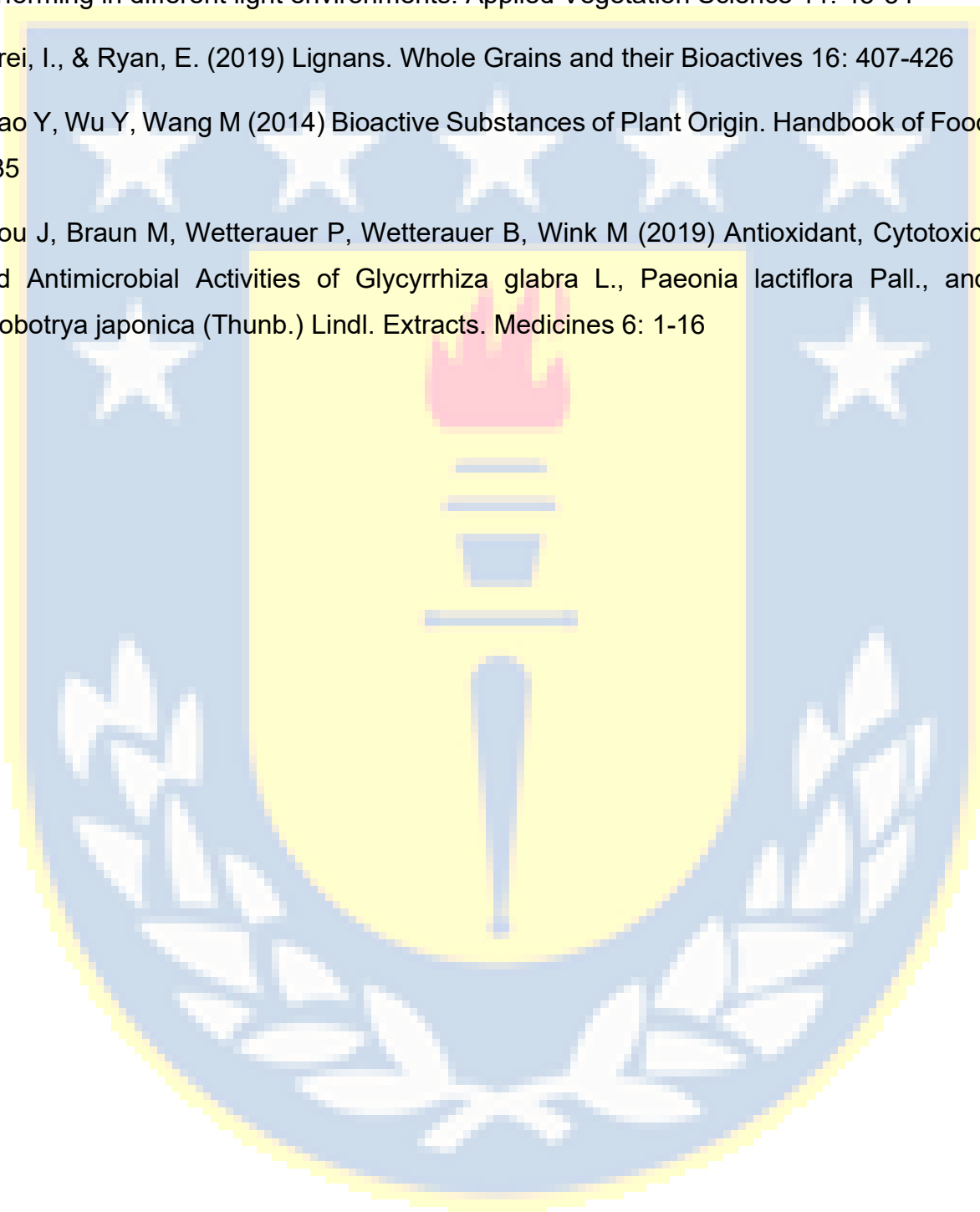
Suwalsky M, Schneider C, Villena F, Norris B, Cardenas H, Cuevasd F, Sotomayord C (2005) A study of the perturbation effects of the local anesthetic procaine on human erythrocyte and model membranes and of modifications of the sodium transport in toad skin. Biophysical Chemistry 116: 227-235

Traveset A, Moragues E, Valladares F (2007) Spreading of the invasive *Carpobrotus aff. acinaciformis* in Mediterranean ecosystems: The advantage of performing in different light environments. *Applied Vegetation Science* 11: 45-54

Zarei, I., & Ryan, E. (2019) Lignans. *Whole Grains and their Bioactives* 16: 407-426

Zhao Y, Wu Y, Wang M (2014) Bioactive Substances of Plant Origin. *Handbook of Food* 1-35

Zhou J, 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* 6: 1-16



10. Anexo

Anexo 1. Gramos de masa seca por extracto.

Extracto	Peso extracto obtenido (g)	Material Vegetal seco (g)
HA	9,287	19,75
ERA	19,103	29,684
HT	13,216	19,973
ERT	15,103	21,84

Anexo 2. Datos de absorbancia (A) y porcentajes de inhibición (Q) del DPPH de extracto metanólico de hojas de *C. edulis* de crecimiento en arena.

(mg/ml)	A1	A2	A3	Q1	Q2	Q3	Q	desvest
0,03	0,675	0,689	0,671	13,02	11,21	13,53	12,59	1,22
0,05	0,566	0,577	0,623	27,06	25,64	19,72	24,14	3,90
0,07	0,534	0,515	0,5	31,19	33,63	35,57	33,46	2,20
0,09	0,508	0,48	0,448	34,54	38,14	42,27	38,32	3,87
0,11	0,453	0,448	0,401	41,62	42,27	48,32	44,07	3,70
0,13	0,407	0,378	0,391	47,55	51,29	49,61	49,48	1,87
0,15	0,321	0,338	0,341	58,63	56,44	56,06	57,04	1,39
0,17	0,285	0,257	0,282	63,27	66,88	63,66	64,60	1,98
0,19	0,266	0,227	0,275	65,72	70,75	64,56	67,01	3,29
0,21	0,275	0,191	0,192	64,56	75,39	75,26	71,74	6,21
DPPH	0,822	0,822	0,822					
Control (-)	0,776	0,776	0,776					

Anexo 3. Datos de absorbancia (A) y porcentajes de inhibición (Q) del DPPH de extracto metanólico de estolones y raíces de *C. edulis* de crecimiento en arena.

(mg/ml)	A1	A2	A3	Q1	Q2	Q3	Q	desvest
0,05	0,757	0,774	0,764	2,45	0,26	1,55	1,42	1,10
0,15	0,555	0,621	0,552	28,48	19,97	28,87	25,77	5,03
0,25	0,575	0,517	0,543	25,90	33,38	30,03	29,77	3,74
0,35	0,403	0,501	0,502	48,07	35,44	35,31	39,60	7,33
0,45	0,442	0,461	0,407	43,04	40,59	47,55	43,73	3,53
0,55	0,381	0,373	0,435	50,90	51,93	43,94	48,93	4,35
0,65	0,325	0,361	0,252	58,12	53,48	67,53	59,71	7,16
0,75	0,282	0,278	0,26	63,66	64,18	66,49	64,78	1,51
0,85	0,251	0,274	0,205	67,65	64,69	73,58	68,64	4,53
0,95	0,248	0,226	0,151	68,04	70,88	80,54	73,15	6,55

DPPH	0,822	0,822	0,822
Control (-)	0,776	0,776	0,776

Anexo 4. Datos de absorbancia (A) y porcentajes de inhibición (Q) del DPPH de extracto metanólico de hojas de *C. edulis* de crecimiento en tierra.

(mg/ml)	A1	A2	A3	Q1	Q2	Q3	Q	desvest
0,03	0,663	0,66	0,677	14,56	15,38	14,63	14,86	0,46
0,05	0,63	0,61	0,615	18,81	21,79	22,45	21,02	1,94
0,07	0,6	0,588	0,593	22,68	24,62	25,22	24,17	1,33
0,09	0,536	0,57	0,517	30,93	26,92	34,80	30,89	3,94
0,11	0,51	0,493	0,5	34,28	36,79	36,95	36,01	1,50
0,13	0,476	0,425	0,43	38,66	45,51	45,78	43,32	4,03
0,15	0,376	0,388	0,397	51,55	50,26	49,94	50,58	0,85
0,17	0,32	0,33	0,338	58,76	57,69	57,38	57,94	0,73
0,19	0,254	0,298	0,287	67,27	61,79	63,81	64,29	2,77
0,21	0,202	0,191	0,215	73,97	75,51	72,89	74,12	1,32
DPPH	0,822	0,833	0,838					
Control (-)	0,776	0,78	0,793					

Anexo 5. Datos de absorbancia (A) y porcentajes de inhibición (Q) del DPPH de extracto metanólico de estolones y raíces *C. edulis* de crecimiento en tierra.

(mg/ml)	A1	A2	A3	Q1	Q2	Q3	Q	desvest
0,05	0,719	0,71	0,712	6,74	7,79	8,72	7,75	0,99
0,15	0,63	0,645	0,636	18,29	16,23	18,46	17,66	1,24
0,25	0,588	0,574	0,57	23,74	25,45	26,92	25,37	1,60
0,35	0,53	0,527	0,566	31,26	31,56	27,44	30,08	2,30
0,45	0,511	0,497	0,488	33,72	35,45	37,44	35,54	1,86
0,55	0,498	0,43	0,437	35,41	44,16	43,97	41,18	5,00
0,65	0,403	0,399	0,41	47,73	48,18	47,44	47,78	0,38
0,75	0,398	0,375	0,38	48,38	51,30	51,28	50,32	1,68
0,85	0,317	0,308	0,312	58,88	60,00	60,00	59,63	0,64
0,95	0,265	0,235	0,241	65,63	69,48	69,10	68,07	2,12
DPPH	0,884	0,890	0,880					
Control (-)	0,771	0,770	0,780					

Anexo 6 . Datos de absorbancia (A) y porcentajes de inhibición (Q) del ABTS de extracto metanólico de hojas de *C. edulis* de crecimiento en arena.

(mg/ml)	A1	A2	A3	Q1	Q2	Q3	Q	desvest
0,001	0,62	0,568	0,602	7,88	6,43	0,33	4,9	4,00
0,005	0,606	0,57	0,535	9,96	6,10	11,42	9,2	2,75
0,02	0,523	0,473	0,52	22,29	22,08	13,91	19,4	4,78
0,035	0,508	0,457	0,469	24,52	24,71	22,35	23,9	1,31
0,05	0,403	0,374	0,38	40,12	38,39	37,09	38,5	1,52
0,065	0,396	0,33	0,328	41,16	45,63	45,70	44,2	2,60
0,08	0,315	0,3	0,308	53,19	50,58	49,01	50,9	2,12
0,095	0,303	0,25	0,288	54,98	58,81	52,32	55,4	3,27
0,11	0,202	0,204	0,22	69,99	66,39	63,58	66,7	3,21
0,125	0,197	0,147	0,131	70,73	75,78	78,31	74,9	3,86
ABTS	0,714	0,682	0,684					
Control (-)	0,673	0,607	0,604					

Anexo 7. Datos de absorbancia (A) y porcentajes de inhibición (Q) del ABTS de extracto metanólico de estolones y raíces de *C. edulis* de crecimiento en arena.

(mg/ml)	A1	A2	A3	Q1	Q2	Q3	Q	desvest
0,005	0,647	0,636	0,67	3,43	6,47	0,89	3,60	2,80
0,025	0,603	0,615	0,6	10,00	8,21	11,24	9,82	1,53
0,045	0,527	0,551	0,517	21,34	17,76	23,52	20,88	2,91
0,065	0,502	0,491	0,496	25,07	26,72	26,63	26,14	0,92
0,085	0,435	0,424	0,419	35,07	36,72	38,02	36,60	1,47
0,105	0,404	0,43	0,4	39,70	35,82	40,83	38,78	2,63
0,125	0,391	0,353	0,361	41,64	47,31	46,60	45,18	3,09
0,145	0,32	0,34	0,317	52,24	49,25	53,11	51,53	2,02
0,165	0,253	0,29	0,203	62,24	56,72	69,97	62,98	6,66
0,185	0,202	0,197	0,18	69,85	70,60	73,37	71,27	1,86
ABTS	0,72	0,716	0,71					
Control (-)	0,67	0,68	0,676					

Anexo 8. Datos de absorbancia (A) y porcentajes de inhibición (Q) del ABTS de extracto metanólico de hojas de *C. edulis* de crecimiento en tierra.

(mg/ml)	A1	A2	A3	Q1	Q2	Q3	Q	desvest
0,001	0,63	0,62	0,65	5,97	7,60	1,96	5,18	2,90
0,005	0,589	0,588	0,602	12,09	12,24	9,20	11,18	1,71
0,02	0,527	0,516	0,612	21,34	22,99	7,69	17,34	8,40
0,035	0,499	0,512	0,481	25,52	23,58	27,45	25,52	1,93
0,05	0,49	0,47	0,496	26,87	29,85	25,19	27,30	2,36
0,065	0,402	0,45	0,462	40,00	32,84	30,32	34,38	5,02
0,08	0,436	0,405	0,437	34,93	39,55	34,09	36,19	2,94
0,095	0,361	0,383	0,31	46,12	42,84	53,24	47,40	5,32
0,11	0,264	0,255	0,262	60,60	61,94	60,48	61,01	0,81
0,125	0,157	0,162	0,17	76,57	75,82	74,36	75,58	1,12
ABTS	0,687	0,683	0,676					
Control (-)	0,67	0,671	0,663					

Anexo 9. Datos de absorbancia (A) y porcentajes de inhibición (Q) del ABTS de extracto metanólico de estolones y raíces de *C. edulis* de crecimiento en tierra.

(mg/ml)	A1	A2	A3	Q1	Q2	Q3	Q	desvest
0,005	0,641	0,632	0,622	1,08	1,40	0,48	0,99	0,47
0,025	0,57	0,598	0,538	12,04	6,71	13,92	10,89	3,74
0,045	0,535	0,526	0,526	17,44	17,94	15,84	17,07	1,10
0,065	0,509	0,498	0,492	21,45	22,31	21,28	21,68	0,55
0,085	0,437	0,468	0,464	32,56	26,99	25,76	28,44	3,62
0,105	0,411	0,398	0,418	36,57	37,91	33,12	35,87	2,47
0,125	0,38	0,33	0,397	41,36	48,52	36,48	42,12	6,05
0,145	0,333	0,311	0,335	48,61	51,48	46,40	48,83	2,55
0,165	0,302	0,273	0,227	53,40	57,41	63,68	58,16	5,18
0,185	0,251	0,249	0,22	61,27	61,15	64,80	62,41	2,07
ABTS	0,702	0,68	0,67					
Control (-)	0,648	0,641	0,625					

Anexo 10. Datos de absorbancia (A) y porcentajes de inhibición (Q) para el ensayo de cinética del DPPH de extracto metanólico de hojas de *C. edulis*.

Minuto	A1	A2	A3	Q1	Q2	Q3	Q	desvest
0	0,45	0,433	0,414	37,33	38,23	46,85	40,80	5,26
5	0,118	0,12	0,121	83,57	82,88	84,47	83,64	0,80
10	0,043	0,062	0,07	94,01	91,16	91,01	92,06	1,69
15	0,028	0,026	0,028	96,10	96,29	96,41	96,27	0,15
20	0,027	0,02	0,026	96,24	97,15	96,66	96,68	0,45
25	0,027	0,02	0,026	96,24	97,15	96,66	96,68	0,45
30	0,027	0,02	0,026	96,24	97,15	96,66	96,68	0,45
35	0,027	0,02	0,025	96,24	97,15	96,79	96,73	0,46
40	0,027	0,02	0,025	96,24	97,15	96,79	96,73	0,46
45	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
50	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
55	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
60	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
65	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
70	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
75	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
80	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
85	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
90	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
95	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
100	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
105	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
110	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
115	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
120	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
125	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
130	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
135	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
140	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
145	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
150	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
155	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
160	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
165	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
170	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
175	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
180	0,026	0,02	0,025	96,38	97,15	96,79	96,77	0,38
Control (-)	0,718	0,701	0,779					

Anexo 11. Datos de absorbancia (A) y porcentajes de inhibición (Q) para el ensayo de cinética del DPPH de extractos metanólicos de estolones y raíces de *C. edulis*.

Minuto	A1	A2	A3	Q1	Q2	Q3	Q	desvest
0	0,554	0,633	0,555	35,58	28,96	35,16	33,23	3,71
5	0,22	0,313	0,124	74,42	64,87	85,51	74,93	10,33
10	0,119	0,187	0,062	86,16	79,01	92,76	85,98	6,87
15	0,078	0,123	0,053	90,93	86,20	93,81	90,31	3,84
20	0,06	0,09	0,052	93,02	89,90	93,93	92,28	2,11
25	0,053	0,072	0,052	93,84	91,92	93,93	93,23	1,13
30	0,05	0,063	0,052	94,19	92,93	93,93	93,68	0,66
35	0,049	0,059	0,052	94,30	93,38	93,93	93,87	0,46
40	0,049	0,057	0,052	94,30	93,60	93,93	93,94	0,35
45	0,049	0,056	0,052	94,30	93,71	93,93	93,98	0,30
50	0,049	0,056	0,052	94,30	93,71	93,93	93,98	0,30
55	0,049	0,055	0,052	94,30	93,83	93,93	94,02	0,25
60	0,049	0,055	0,052	94,30	93,83	93,93	94,02	0,25
65	0,049	0,055	0,052	94,30	93,83	93,93	94,02	0,25
70	0,049	0,055	0,052	94,30	93,83	93,93	94,02	0,25
75	0,049	0,055	0,052	94,30	93,83	93,93	94,02	0,25
80	0,049	0,055	0,052	94,30	93,83	93,93	94,02	0,25
85	0,049	0,055	0,052	94,30	93,83	93,93	94,02	0,25
90	0,049	0,055	0,052	94,30	93,83	93,93	94,02	0,25
95	0,049	0,055	0,052	94,30	93,83	93,93	94,02	0,25
100	0,049	0,055	0,052	94,30	93,83	93,93	94,02	0,25
105	0,049	0,054	0,052	94,30	93,94	93,93	94,06	0,21
110	0,049	0,054	0,052	94,30	93,94	93,93	94,06	0,21
115	0,049	0,054	0,052	94,30	93,94	93,93	94,06	0,21
120	0,049	0,054	0,052	94,30	93,94	93,93	94,06	0,21
125	0,049	0,054	0,051	94,30	93,94	94,04	94,09	0,19
130	0,049	0,054	0,051	94,30	93,94	94,04	94,09	0,19
135	0,049	0,054	0,051	94,30	93,94	94,04	94,09	0,19
140	0,048	0,054	0,051	94,42	93,94	94,04	94,13	0,25
145	0,048	0,054	0,051	94,42	93,94	94,04	94,13	0,25
150	0,048	0,054	0,051	94,42	93,94	94,04	94,13	0,25
155	0,048	0,054	0,051	94,42	93,94	94,04	94,13	0,25
160	0,048	0,054	0,051	94,42	93,94	94,04	94,13	0,25
165	0,048	0,054	0,051	94,42	93,94	94,04	94,13	0,25
170	0,048	0,054	0,051	94,42	93,94	94,04	94,13	0,25
175	0,048	0,054	0,051	94,42	93,94	94,04	94,13	0,25
180	0,048	0,054	0,051	94,42	93,94	94,04	94,13	0,25
Control (-)	0,86	0,891	0,856					

Anexo 12. Datos de absorbancia (A) y porcentajes de inhibición (Q) para el ensayo de cinética del ABTS de extractos de hojas de *C. edulis*.

Minuto	A1	A2	A3	Q1	Q2	Q3	Q	desvest
0	0,362	0,302	0,378	45,48	52,44	43,67	47,20	4,63
5	0,235	0,181	0,257	64,61	71,50	61,70	65,93	5,03
10	0,201	0,15	0,225	69,73	76,38	66,47	70,86	5,05
15	0,183	0,13	0,208	72,44	79,53	69,00	73,66	5,37
20	0,17	0,116	0,185	74,40	81,73	72,43	76,19	4,90
25	0,161	0,107	0,176	75,75	83,15	73,77	77,56	4,94
30	0,153	0,099	0,169	76,96	84,41	74,81	78,73	5,04
35	0,147	0,093	0,162	77,86	85,35	75,86	79,69	5,01
40	0,142	0,087	0,156	78,61	86,30	76,75	80,55	5,06
45	0,137	0,082	0,151	79,37	87,09	77,50	81,32	5,08
50	0,133	0,077	0,145	79,97	87,87	78,39	82,08	5,08
55	0,129	0,073	0,141	80,57	88,50	78,99	82,69	5,10
60	0,126	0,069	0,136	81,02	89,13	79,73	83,30	5,10
65	0,123	0,062	0,124	81,48	90,24	81,52	84,41	5,05
70	0,12	0,059	0,121	81,93	90,71	81,97	84,87	5,06
75	0,117	0,056	0,118	82,38	91,18	82,41	85,32	5,07
80	0,112	0,053	0,114	83,13	91,65	83,01	85,93	4,96
85	0,11	0,051	0,111	83,43	91,97	83,46	86,29	4,92
90	0,101	0,046	0,105	84,79	92,76	84,35	87,30	4,73
95	0,101	0,044	0,102	84,79	93,07	84,80	87,55	4,78
100	0,101	0,042	0,1	84,79	93,39	85,10	87,76	4,88
105	0,101	0,041	0,098	84,79	93,54	85,39	87,91	4,89
110	0,101	0,038	0,096	84,79	94,02	85,69	88,17	5,09
115	0,101	0,038	0,093	84,79	94,02	86,14	88,31	4,98
120	0,101	0,036	0,091	84,79	94,33	86,44	88,52	5,10
125	0,099	0,036	0,089	85,09	94,33	86,74	88,72	4,93
130	0,099	0,036	0,085	85,09	94,33	87,33	88,92	4,82
135	0,099	0,036	0,083	85,09	94,33	87,63	89,02	4,77
140	0,099	0,036	0,081	85,09	94,33	87,93	89,12	4,73
145	0,099	0,036	0,079	85,09	94,33	88,23	89,22	4,70
150	0,099	0,036	0,077	85,09	94,33	88,52	89,32	4,67
155	0,099	0,036	0,075	85,09	94,33	88,82	89,41	4,65
160	0,099	0,036	0,074	85,09	94,33	88,97	89,46	4,64
165	0,08	0,031	0,074	87,95	95,12	88,97	90,68	3,88
170	0,08	0,029	0,074	87,95	95,43	88,97	90,79	4,06
175	0,08	0,025	0,074	87,95	96,06	88,97	91,00	4,42
180	0,08	0,02	0,074	87,95	96,85	88,97	91,26	4,87
Control (-)	0,664	0,635	0,671					

Anexo 13. Datos de absorbancia (A) y porcentajes de inhibición (Q) para el ensayo de cinética del ABTS de extractos acuoso de estolones y raíces de *C. edulis*.

Minuto	A1	A2	A3	Q1	Q2	Q3	Q	desvest
0	0,362	0,263	0,252	45,65	62,05	63,48	57,06	9,91
5	0,224	0,131	0,167	66,37	81,10	75,80	74,42	7,46
10	0,186	0,099	0,135	72,07	85,71	80,43	79,41	6,88
15	0,165	0,082	0,118	75,23	88,17	82,90	82,10	6,51
20	0,151	0,069	0,108	77,33	90,04	84,35	83,91	6,37
25	0,14	0,059	0,101	78,98	91,49	85,36	85,28	6,25
30	0,132	0,051	0,101	80,18	92,64	85,36	86,06	6,26
35	0,125	0,044	0,101	81,23	93,65	85,36	86,75	6,32
40	0,119	0,039	0,098	82,13	94,37	85,80	87,43	6,28
45	0,114	0,033	0,076	82,88	95,24	88,99	89,04	6,18
50	0,109	0,028	0,07	83,63	95,96	89,86	89,82	6,16
55	0,105	0,024	0,067	84,23	96,54	90,29	90,35	6,15
60	0,102	0,02	0,062	84,68	97,11	91,01	90,94	6,22
65	0,099	0,017	0,05	85,14	97,55	92,75	91,81	6,26
70	0,094	0,013	0,03	85,89	98,12	95,65	93,22	6,47
75	0,091	0,01	0,029	86,34	98,56	95,80	93,56	6,41
80	0,089	0,008	0,016	86,64	98,85	97,68	94,39	6,74
85	0,086	0,005	0,015	87,09	99,28	97,83	94,73	6,66
90	0,087	0,005	0,013	86,94	99,28	98,12	94,78	6,81
95	0,085	0,005	0,001	87,24	99,28	99,86	95,46	7,12
100	0,083	0,005	0,001	87,54	99,28	99,86	95,56	6,95
105	0,083	0,005	0,001	87,54	99,28	99,86	95,56	6,95
110	0,079	0,005	0,001	88,14	99,28	99,86	95,76	6,60
115	0,077	0,005	0,001	88,44	99,28	99,86	95,86	6,43
120	0,076	0,005	0,001	88,59	99,28	99,86	95,91	6,34
125	0,075	0,005	0,001	88,74	99,28	99,86	95,96	6,26
130	0,073	0,005	0,001	89,04	99,28	99,86	96,06	6,09
135	0,072	0,005	0,001	89,19	99,28	99,86	96,11	6,00
140	0,071	0,005	0,001	89,34	99,28	99,86	96,16	5,91
145	0,069	0,005	0,001	89,64	99,28	99,86	96,26	5,74
150	0,068	0,005	0,001	89,79	99,28	99,86	96,31	5,65
155	0,066	0,005	0,001	90,09	99,28	99,86	96,41	5,48
160	0,065	0,005	0,001	90,24	99,28	99,86	96,46	5,39
165	0,064	0,005	0,001	90,39	99,28	99,86	96,51	5,31
170	0,063	0,005	0,001	90,54	99,28	99,86	96,56	5,22
175	0,062	0,005	0,001	90,69	99,28	99,86	96,61	5,13
180	0,061	0,005	0,001	90,84	99,28	99,86	96,66	5,05
Control (-)	0,666	0,693	0,69					

Anexo 14. Datos de absorbancia (A) para curva de calibración de ácido gálico (DPPH).

(mg/ml)	A1	A2	A	desvest
0,01	0,568	0,564	0,566	0,0028
0,02	0,405	0,372	0,389	0,0233
0,03	0,194	0,18	0,187	0,0099
0,04	0,12	0,097	0,109	0,0163
0,05	0,059	0,062	0,061	0,0021

Anexo 15. Datos de absorbancia (A) para curva de calibración Trolox (ABTS).

(mg/ml)	A1	A2	A	desvest
0,005	0,607	0,609	0,608	0,0014
0,015	0,434	0,508	0,471	0,0523
0,025	0,399	0,434	0,417	0,0247
0,035	0,318	0,306	0,312	0,0085
0,045	0,203	0,245	0,224	0,0297

Anexo 16. Datos de absorbancia (A) para curva de calibración GAE mediante método Folin-Ciocalteu (Polifenoles).

(mg/ml)	A1	A2	A	Q	desvest
0,001	0,11	0,146	0,146	0,134	0,0255
0,002	0,202	0,206	0,284	0,231	0,0028
0,003	0,355	0,369	0,316	0,347	0,0099
0,004	0,463	0,443	0,444	0,450	0,0141
0,005	0,538	0,544	0,563	0,548	0,0042
0,006	0,766	0,672	0,7	0,713	0,0665

Anexo 17. Datos de absorbancia (A) para curva de calibración de Catequina (Flavonoides).

(mg/ml)	A1	A2	A	Q	desvest
0,0025	0,166	0,144	0,155	0,0156	0,0025
0,005	0,285	0,258	0,272	0,0191	0,005
0,01	0,33	0,337	0,334	0,0049	0,01
0,015	0,431	0,46	0,446	0,0205	0,015
0,02	0,627	0,621	0,624	0,0042	0,02
0,03	0,864	0,821	0,843	0,0304	0,03