



**Evaluación de la composición fenólica y carácter antioxidante del aceite esencial proveniente de hojas de *Myrcianthes hallii* (O. Berg) Mc Vaugh "arrayán" en sus tres estadios fenológicos**

Topón Quinga Lisbeth Marisol

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

Ph.D. Mihai, Raluca Alexandra

23 de noviembre del 2023



## Scan details

Scan time:  
February 29th, 2024 at 1:20 UTC

Total Pages:  
59

Total Words:  
14672

## Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	0.2%	24
Minor Changes	0.1%	11
Paraphrased	0.3%	48
Omitted Words	26.5%	3883

## AI Content Detection



Text coverage  
 AI text  
 Human text

## 🔍 Plagiarism Results: (7)

**ndice** 0.5%

[http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/lmnf/carral\\_s\\_dm/preliminar.pdf](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lmnf/carral_s_dm/preliminar.pdf)

Dulce

Agradecimientos. Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de d...

**Microsoft Word - C1411\_2022\_Salcedo\_vl\_caratula** 0.2%

[https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/18908/salcedo\\_vl.pdf?sequence=3&isallow...](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/18908/salcedo_vl.pdf?sequence=3&isallow...)

BCProceso

Universidad Nacional Mayor de San Marcos Universidad del Perú. Decana de América Facultad de Ciencias Biológicas Escuela Profesional de ...

**Microsoft Word - Portadas\_Tesis.doc** 0.2%

[https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2512/9788498871739\\_content.pdf;sequence=1](https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2512/9788498871739_content.pdf;sequence=1)

Benigno

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA ESCOLA POLITÉCNICA SUPERIOR DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN VEXETAL CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL CULTI...

**tapa 571.pmd** 0.2%

<http://www.inia.uy/publicaciones/documentos%20compartidos/14445020909163924.pdf>

Peri

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION AGROPECUARIA URUGUAY ARROZ RESULTADOS EXPERIMENTALES 2008 - 2009 Septiembre 2009 ACTIVIDADES DE D...



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Ingeniería en Biotecnología**

### **Certificación**

Certifico que el trabajo de titulación: **“Evaluación de la composición fenólica y carácter antioxidante del aceite esencial proveniente de hojas de *Myrcianthes hallii* (O. Berg) Mc Vaugh “arrayán” en sus tres estadios fenológicos”** fue realizado por la señorita **Topón Quinga, Lisbeth Marisol**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

**Sangolquí, 21 de Febrero del 2024**



Firmado electrónicamente por:  
**RALUCA ALEXANDRA  
MIHAI**

**Ph.D. Mihai, Raluca Alexandra**

**C. C 1757487507**



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Ingeniería en Biotecnología**

**Responsabilidad de Autoría**

Yo, **Topón Quinga, Lisbeth Marisol**, con cédula de ciudadanía n° 1723407217, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“Evaluación de la composición fenólica y carácter antioxidante del aceite esencial proveniente de hojas de *Myrcianthes hallii* (O. Berg) Mc Vaugh “arrayán” en sus tres estadios fenológicos”**, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

**Sangolquí, 29 de febrero del 2024**

**Topón Quinga, Lisbeth Marisol**

**C.C.: 1723407217**



**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**

**Carrera de Ingeniería en Biotecnología**

**Autorización de Publicación**

Yo **Topón Quinga, Lisbeth Marisol**, con cédula de ciudadanía n° 1723407217, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **“Evaluación de la composición fenólica y carácter antioxidante del aceite esencial proveniente de hojas de *Myrcianthes hallii* (O. Berg) Mc Vaugh “arrayán” en sus tres estadios fenológicos”**, en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

**Sangolquí, 29 de febrero del 2024**

**Topón Quinga, Lisbeth Marisol**

**C.C.: 1723407217**

### **Dedicatoria**

Dedicado a mis padres, Lupe Isabel Quinga Amagua y Luis René Topón Nasimba, por el cariño, apoyo y comprensión brindados a lo largo de estos años de estudio.

A mi abuelita, Asencia Amagua, gracias por tu confianza y aprecio hacia mi persona.

A Emerson Velasco, mi compañero, mi apoyo y soporte en todos estos años de universidad. También, a mis hermanos, Luz y César, por estar orgullosos de mis logros y tener altas expectativas sobre mí.

A mi sobrina, Melanie, por motivarme con sus frases peculiares para finalizar mi época estudiantil.

A Jack, mi querida mascota, por su compañía; siempre a mi lado, culminamos juntos esta etapa y noches de desvelos.

**Lisbeth Marisol Topón Quinga**

## Agradecimientos

Agradezco a Dios por permitirme llegar hasta este punto, por brindarme sabiduría y guiarme cuando las cosas parecían perdidas, por nunca abandonarme y ayudarme siempre, por estar presente en cada una de mis alegrías y tristezas, y por enseñarme que el tiempo de Dios es perfecto.

A mi mami, Lupe, la principal responsable de que esté aquí cumpliendo mis sueños. Gracias por tu dedicación, tu esfuerzo y trabajo duro, por cuidarme, por tus palabras y abrazos, por estar conmigo en mis tristezas y compartir mis alegrías. Me has sacado adelante sola con mucho esfuerzo; te admiro y te agradezco infinitamente. Espero que la vida nos dé el regalo de cumplir muchas metas más juntas.

A mi papi, René, por compartirme su carácter, por enseñarme que las metas que cumpliría serían mis logros y mi felicidad, por ayudarme en los momentos difíciles y hacerme una persona más fuerte.

A mi novio, Emmerson, por su amor incondicional, por ser mi lugar seguro, por sus palabras de ánimo y su confianza a lo largo de este camino, por hacerme sentir alguien importante y admirable. Gracias por tu apoyo, por ser generoso conmigo y ayudarme a cumplir mis propósitos. Gracias por aparecer en mi camino y recorrer juntos esta etapa.

A mi hermano, César, por haberme ayudado en mis inicios y cuidarme cuando lo necesité. Gracias por estar al pendiente y por considerarme un buen ejemplo.

A mi hermana, Luz, por sus muestras de cariño, por siempre hacerme saber que estás orgullosa de mis metas y aspiraciones.

A mi abuelita, Asencia, gracias mamita bella por ser la primera que confió en que podría ser profesional, por tu cariño, por preocuparte por mí y por tu apoyo para lograr muchas cosas.

A mis amigos, Ruty, Nelson, Leidy, Michu que han sido un apoyo a lo largo de estos años, nada ha sido fácil pero sin ustedes sinceramente el camino hubiera sido mucho más difícil, gracias por sus consejos, cariño, por no ser egoístas, por compartir conmigo sus conocimientos, las risas y los momentos a su lado siempre los llevare como un hermoso recuerdo, me enseñaron el verdadero compañerismo y que si existen amigos en la universidad, los quiero mucho.

A la Dra. Raluca Mihai, por dejarme pertenecer a su grupo de investigadores, por su confianza a pesar de conocerme muy poco, gracias por su preocupación cada que obtenía resultados de la investigación y por estar al pendiente de cada uno de sus tesis, espero haber hecho un buen trabajo.

**Con cariño, Lisbeth**

## Índice de contenidos

Dedicatoria.....	6
Agradecimientos .....	7
Resumen .....	15
Abstract.....	16
Capítulo I: Introducción .....	17
Antecedentes .....	17
Justificación e Importancia del problema.....	18
Objetivos del proyecto.....	19
Objetivos Específicos.....	19
Hipótesis del proyecto .....	19
Capítulo II: Marco Referencial .....	20
Antecedentes de investigación.....	20
Generalidades del arrayán.....	20
Composición química del arrayán.....	21
Generalidades de los compuestos fenólicos.....	22
Generalidades de los fenoles simples.....	22
Generalidades de los polifenoles.....	22
Otros compuestos fenólicos .....	23
Antioxidante.....	24

	10
Capacidad antioxidante .....	24
Propiedades y usos de arrayan .....	24
Aceite esencial .....	25
Destilación con arrastre de vapor ventajas y desventajas.....	25
Fundamento de la prueba de poder antioxidante reductor del hierro .....	26
Fundamento de la prueba de eliminación del catión ABTS•+ .....	26
Fundamento de la prueba DPPH•.....	26
Capítulo III: Metodología .....	27
Obtención la muestra de investigación .....	27
Procesamiento de la muestra vegetal para obtención del aceite esencial. ....	27
Ensayo de DPPH .....	27
Ensayo del radical ABTS <sup>+</sup> .....	27
Poder antioxidante reductor del hierro (FRAP) .....	28
Determinación de la cantidad total de fenoles en aceite esencial.....	28
Identificación del contenido de flavonoides totales en aceite esencial .....	28
Análisis estadístico .....	28
Factores de estudio.....	28
Unidad experimental .....	28
Capítulo IV: Resultados .....	30
Obtención y preparación de las muestras .....	30

Procesamiento del material vegetal y obtención del aceite esencial.....	31
Capacidad antioxidante .....	32
Determinación del carácter antioxidante por el ensayo DPPH en aceite esencial.....	32
Porcentaje de inhibición respecto al tiempo en la recolección de muestras para el método DPPH .....	37
Determinación del carácter antioxidante por ensayo de ABTS .....	38
Porcentaje de inhibición respecto al tiempo de recolección de las muestras en el método ABTS.....	42
Comparación entre ensayos ABTS-DPPH para analizar el poder antioxidante de los tres estadios fenológicos.....	43
Determinación del poder antioxidante reductor del hierro .....	46
Determinación de contenido fenólico total.....	48
Identificación de la cantidad total de flavonoides.....	52
Capítulo V: Discusión .....	56
Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones .....	63
Conclusiones .....	63
Recomendaciones.....	64
Referencias.....	65
Apéndices.....	76

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Clasificación taxonómica del arrayán.....	21
<b>Tabla 2</b> DCA de arrayán para determinación de fenoles totales .....	29
<b>Tabla 3</b> DCA de arrayán para identificación de flavonoides .....	29
<b>Tabla 4</b> DECA de arrayán para FRAP .....	29
<b>Tabla 5</b> Diseño experimental factorial a x b para determinación de carácter antioxidante del aceite esencial de hojas de arrayán .....	30
<b>Tabla 6</b> Porcentaje de rendimiento del aceite de arrayán en los tres estadios fenológicos.....	31

### Índice de figuras

<b>Figura 1</b> Muestras recolectadas de <i>Myrcianthes hallii</i> (O. Berg) Mc Vaugh.....	30
<b>Figura 2</b> Extracción del aceite esencial de arrayán.....	31
<b>Figura 3</b> Método DPPH empleado en aceite esencial en el estadio fenológico de floración.....	32
<b>Figura 4</b> Gráfico de cajas de las muestras de aceite esencial en DPPH.....	33
<b>Figura 5</b> Resumen de medidas descriptivas de aceite esencial para DPPH.....	34
<b>Figura 6</b> Prueba de Shapiro-Wilk para el método DPPH.....	34
<b>Figura 7</b> Prueba de Levene para verificar supuesto de homocedasticidad en el método DPPH.....	35
<b>Figura 8</b> ANOVA del aceite esencial en los estadios fenológicos para el método DPPH.....	36
<b>Figura 9</b> Prueba de Duncan en DPPH.....	36
<b>Figura 10</b> Gráfico de dispersión del tiempo de recolección de las muestras.....	37
<b>Figura 11</b> Gráfico de dispersión con estimación lineal del tiempo de recolección de la muestra.....	38
<b>Figura 12</b> Método ABTS empleado en aceite esencial del estadio fenológico de floración.....	39
<b>Figura 13</b> Gráfico del porcentaje de inhibición en muestras de aceite esencial respecto al estadio fenológico por método ABTS.....	39
<b>Figura 14</b> Resumen de medidas descriptivas para ABTS.....	40
<b>Figura 15</b> Prueba de .Shapiro-Wilk en el método ABTS.....	40
<b>Figura 16</b> Prueba de Levene en el método ABTS.....	41
<b>Figura 17</b> ANOVA del aceite esencial en los estadios fenológicos para ABTS.....	41
<b>Figura 18</b> Prueba de Duncan para las medias del porcentaje de inhibición en ABTS.....	42
<b>Figura 19</b> Gráfico de dispersión del tiempo de recolección de las muestras respecto al porcentaje de inhibición en ABTS.....	42
<b>Figura 20</b> Gráfico de dispersión con estimación lineal del tiempo de recolección de la muestra respecto al porcentaje de inhibición en ABTS.....	43

<b>Figura 21</b> Interacción entre ensayo DPPH, ABTS respecto al estadio fenológico.....	44
<b>Figura 22</b> Gráfico de cajas del porcentaje de inhibición respecto al estadio indistintamente del método.....	44
<b>Figura 23</b> Análisis de varianza del porcentaje de inhibición respecto al estadio fenológico y métodos ...	45
<b>Figura 24</b> Prueba de Duncan para el porcentaje de inhibición respecto al estadio fenológico y métodos.....	46
<b>Figura 25</b> Método FRAP empleado en aceite esencial en el estadio fenológico de floración.....	46
<b>Figura 26</b> Gráfico de la capacidad de reducción de ion férrico en muestras de aceite esencial.....	47
<b>Figura 27</b> ANOVA de FRAP respecto al estadio fenológico.....	48
<b>Figura 28</b> Prueba de Duncan respecto al estadio fenológico en FRAP .....	48
<b>Figura 29</b> Método de Folin-Ciocalteu para las muestras en los tres estadios fenológicos .....	49
<b>Figura 30</b> Contenido de fenoles totales del aceite esencial .....	49
<b>Figura 31</b> Resumen de medidas descriptivas del contenido fenólico total del aceite esencial .....	50
<b>Figura 32</b> Prueba de .Shapiro-Wilk del contenido fenólico total.....	50
<b>Figura 33</b> Prueba de Levene del contenido fenólico total.....	51
<b>Figura 34</b> Análisis de varianza del contenido fenólico total .....	51
<b>Figura 35</b> Prueba de Duncan para contenido fenólico total.....	52
<b>Figura 36</b> Ensayo colorimétrico con tricloruro de aluminio para determinar cantidad total de flavonoides de aceite esencial en el estadio de floración .....	52
<b>Figura 37</b> Gráfico de cajas para contenido de flavonoides totales respecto a los estadios fenológicos....	53
<b>Figura 38</b> Resumen de medidas descriptivas del contenido de flavonoides total en aceite esencial de los tres estadios fenológicos .....	54
<b>Figura 39</b> Prueba de .Shapiro-Wilk del contenido total de flavonoides .....	54
<b>Figura 40</b> Prueba de Levene de la cantidad total de flavonoides.....	54
<b>Figura 41</b> ANOVA de la cantidad total de flavonoides en los estadios fenológicos .....	55
<b>Figura 42</b> Prueba de Duncan para contenido de flavonoides totales.....	55

## Resumen

Arrayán, también conocido científicamente como *Myrcianthes hallii* (O. Berg) Mc Vaugh, es una especie presente en algunas regiones de la sierra ecuatoriana. Debido a su estructura y componentes posee varias aplicaciones en industrias como la alimentaria, farmacéutica, agrícola entre otras. En la actualidad se está investigando el uso de aceites esenciales, por lo cual esta investigación se centra en evaluar el carácter antioxidante del aceite esencial extraído del arrayán en sus tres estadios fenológicos, además de evaluar su contenido fenólico. La obtención del aceite esencial se hizo a través de la técnica de arrastre con vapor usando las hojas de arrayán y las pruebas para determinar la capacidad antioxidante incluyeron ensayos como FRAP, ABTS y DPPH, donde el cambio en el color indica que existen antioxidantes dentro del aceite esencial que neutralizan el radical. Posteriormente se midieron las absorbancias y se calculó el porcentaje de inhibición para los tres estadios, obteniendo mayor porcentaje en el estadio de floración con 42.81%, en el método ABTS el porcentaje de inhibición fue mayor en floración con 47.15% y como complemento para verificar los resultados se realizó la prueba FRAP para los tres estadios dando como resultado que el poder antioxidante para reducir el ion férrico fue mayor en floración con 78.86  $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{mL}$  y el menor en foliación 74.78  $\mu\text{M Fe}^{2+}/\text{mL}$ . La cantidad total de fenoles para estos tres casos se determinó mediante Folin-Ciocalteu reportando mayor contenido fenólico en fructificación y floración (7.71 mg GAE/mL; 7.56 mg GAE/mL). Usando la prueba del tricloruro de aluminio se determinó la cantidad total de flavonoides y de igual manera que en el resto de pruebas en floración se alcanzó mayor contenido de flavonoides totales con 1.62 mg QE/mL. Todas las pruebas se verificaron mediante análisis estadísticos paramétricos para establecer las diferencias estadísticamente significativas entre los estadios fenológicos.

*Palabras clave:* aceite esencial, pruebas paramétricas, antioxidante, estadio fenológico, arrayán

## Abstract

Arrayán, also known scientifically as *Myrcianthes hallii* (O. Berg) Mc Vaugh, is a species present in some regions of the Ecuadorian highlands. Due to its structure and components, it has various applications in industries such as food, pharmaceuticals, agriculture, among others. Currently, research is being conducted on the use of essential oils, and this study focuses on evaluating the antioxidant character of the essential oil extracted from bayberry in its three phenological stages, as well as assessing its phenolic content. The essential oil was obtained through steam distillation using bayberry leaves, and antioxidant capacity tests included assays such as FRAP, ABTS, and DPPH, where the change in color indicates the presence of antioxidants within the essential oil that neutralize the radical. Subsequently, absorbances were measured, and the inhibition percentage was calculated for the three stages, with the highest percentage at the flowering stage with 42.81%. In the ABTS method, the inhibition percentage was higher during flowering with 47.15%, and as a complementary measure to verify the results, the FRAP test was conducted for all three stages, resulting in higher antioxidant power to reduce ferric ion during flowering with 78.86  $\mu\text{M Fe}^{2+}$  /mL and the lowest during leafing with 74.78  $\mu\text{M Fe}^{2+}$  /mL. The total phenolic content for these three cases was determined using Folin-Ciocalteu, reporting higher phenolic content during fruiting and flowering (7.71 mg GAE/mL; 7.56 mg GAE/mL). Using the aluminum trichloride test, the total amount of flavonoids was determined, and similarly, as in the other tests, higher total flavonoid content was achieved during flowering with 1.62 mg QE/mL. All tests were verified through parametric statistical analyzes to establish statistically significant differences between phenological stages.

*Key words:* essential oil, parametric tests, antioxidant, phenological stages, myrtle

## Capítulo I: Introducción

### Antecedentes

Los materiales vegetales, tales como extractos, oleorresinas, infusiones y aceites esenciales, están siendo investigados debido a una gran variedad de funciones. Desde la antigüedad los aceites esenciales han sido usados en aromaterapia, y en la actualidad su aplicación se extiende a propiedades antivirales, antiinflamatorias y antioxidantes. Las propiedades antioxidantes se estiman por métodos espectrofotométricos como ensayo de ABTS, ensayo de DPPH y FRAP (Ziyatdinova et al., 2022).

En Ecuador, la familia *Myrtaceae*, que incluye especies como *Myrcianthes rhopaloides* (Kunth) McVaugh y *Myrcianthes hallii* (O. Berg) McVaugh, se encuentra tanto de forma nativa como cultivada (Carvajal et al., 2016). Dentro la familia *Myrtaceae* se identifican aceites esenciales y compuestos como ácidos grasos, flavonoides, taninos, ácidos fenólicos y también pigmentos de antocianinas (Gorjian & Khaligh, 2023).

De 295 familias de plantas estudiadas, entre 60 y 80 de ellas originan aceite esencial. La familia *Myrtaceae*, especialmente en su especie *Myrtus communis* L. "arrayán", posee estudios en relación a su aceite esencial, donde se recalca sus propiedades antioxidantes (Gonzales et al., 2010). Othman et al. (2007) menciona que, la especie *M. communis* L. de la familia *Myrtaceae* contiene principalmente aceites esenciales y compuestos fenólicos, recalcando sus funciones antimutagénicas, antioxidantes y antitumorales. Así mismo Aleksic y Knezevic (2014) indican que, *M. communis* L. contiene compuestos como fenilpropenos, fenilpropanoides, terpenos y terpeinodios.

El arrayán, conocido también como mirto tiene metabolitos secundarios como flavonoides, antocianos y ácidos fenólicos, que caracterizan a esta familia como una fuente de antioxidantes. En estudios realizados a la especie *M. communis* L. se ha determinado la presencia de taninos,  $\alpha$  tocoferol y flavonoides. Además de indicar que esta especie tiene actividad antioxidante y anticancerígena como mencionan Aleksic y Knezevic (2014).

En países como Marruecos, se ha estudiado la composición de las hojas de arrayán señalando la presencia de aceite esencial en un 2%. Este aceite esencial posee compuestos como mirceno, 1,2 cineol, geraniol, myrtinal, acetato de myrtinal, myrtinol, linalool y  $\alpha$  pineno. Por otro lado, en Irán se han investigado los extractos de arrayán mostrando la presencia de limoneno, linalool,  $\alpha$  pineno y 1,8 cineol (Gorjian & Khaligh, 2023).

En países del medio oriente como Arabia Saudita, estudios indican la presencia de casi 50 componentes en el aceite de mirto, mayormente hidrocarburos monoterpénicos y compuestos característicos de esta familia tales como el linalool,  $\alpha$  pineno, 1,8 cineol, verbenol y carveol (Gorjian & Khaligh, 2023).

### **Justificación e Importancia del problema**

El arrayán posee varias aplicaciones en algunas industrias incluyendo la cosmética, farmacéutica, agrícola y alimentaria generando un aporte económico notable (Gonzales et al., 2010). Por esta razón y debido a sus componentes activos como aceites esenciales, flavonoides, vitaminas, alcaloides, fenoles y taninos, se está estudiando en la actualidad esta planta para comprender de mejor manera su actividad (Dhouibi et al., 2023).

La presente investigación pretende analizar el aceite de arrayán en sus tres estadios fenológicos, ya que sus componentes podrían cambiar dependiendo de la época de recolección, órgano de la planta estudiada, manejos agrícolas y otros factores relevantes (Dhouibi et al., 2023).

También, se propone determinar el carácter antioxidante en el aceite de arrayán, dado que esto podría marcar un punto de partida significativo en términos de beneficios para la industria alimentaria. Debido a que los antioxidantes retrasan la peroxidación lipídica y amplían la vida útil en los alimentos (Amensour et al., 2009).

Recientemente, se ha dado atención a las investigaciones que pretenden hallar antioxidantes naturales, priorizando las fuentes naturales sobre las sintéticas, como lo son los antioxidantes butilados, entre los más usados en la industria alimentaria está el hidroxitolueno butilado e hidroxianisol (Amensour et al., 2009).

### **Objetivos del proyecto**

#### **Objetivo General**

Evaluar la composición fenólica y carácter antioxidante del aceite esencial proveniente de hojas *Myrcianthes hallii* (O. Berg) McVaugh “arrayán” en sus tres estadios fenológicos.

#### **Objetivos Específicos**

- Obtener aceite esencial de las hojas *Myrcianthes hallii* (O. Berg) McVaugh “arrayán” recolectadas en tres estadios fenológicos en la parroquia de Guasaganda.
- Determinar el contenido de fenoles presente en el aceite esencial extraído de hojas de arrayán en sus tres estadios fenológicos mediante el método de Folin-Ciocalteu.
- Establecer la presencia de flavonoides en el aceite esencial extraído de hojas de arrayán en sus tres estadios fenológicos.
- Identificar el carácter antioxidante del aceite esencial extraído de hojas de arrayán en sus tres estadios fenológicos mediante los métodos DPPH, ABTS, FRAP.

#### **Hipótesis del proyecto**

La capacidad antioxidante del aceite esencial de la muestra *Myrcianthes hallii* (O. Berg) McVaugh, proviene de sus compuestos fenólicos y varía de forma estadísticamente significativa según el estadio fenológico en el que se recolecten sus muestras.

## Capítulo II: Marco Referencial

### Antecedentes de investigación

El arrayán en algunos países también es conocido como mirto, este se considera un potente antioxidante natural debido a que contiene compuestos como aceites esenciales y polifenoles. Por lo que hoy en día ha aumentado su interés en la investigación de esta planta como alternativa a los antioxidantes sintéticos, dado que algunas de estas sustancias están siendo restringidas por su actividad cancerígena (Aidi Wannes et al., 2010).

La familia Myrtaceae tiene especies como *Myrtus communis* L. "arrayán". Estudios referentes con su aceite esencial indican que, por la presencia de fenoles totales, taninos hidrolizables y otros compuestos fenólicos, posee capacidad antioxidante. Por lo cual se propone considerar a los aceites esenciales como un reemplazo de productos químicos (Maharik et al., 2023).

Algunos aceites esenciales de ciertas plantas aromáticas se consideran antioxidantes naturales, y el aceite esencial de arrayan es uno de ellos. Este aceite además es aprovechado en la fitoterapia por sus diferentes actividades como antivirales, espasmolíticas, antimicrobianas, antioxidantes y anticancerígenas (Mimica-Dukic et al., 2010).

### Generalidades del arrayán

El arrayán en Ecuador fue inicialmente nombrado por Otto Berg de origen alemán con el nombre de *Eugenia halli*, hoy en día se conoce como *Myrcianthes halli*, nombre atribuido por McVaugh. Esta planta presenta su periodo de floración al final de la primavera, comprendiendo los meses de mayo y junio, ocasionalmente se produce floración entre julio y septiembre. El periodo de fructificación se da desde el mes de octubre, incluso antes (Mirallas, 2018).

En los páramos y bosques de diferentes partes del Ecuador se encuentran 7 géneros nativos de arrayan de los 15 existentes en el país. Entre las especies nativas más conocidas esta *Myrcianthes halli* (O. Berg) Mc Vaugh y *rhopaloides*. Esta especie se utilizan en las comunidades como planta medicinal, también como fuente de madera, además que sus frutos son comestibles (Carvajal et al., 2016).

**Tabla 1**

*Clasificación taxonómica del arrayán*

<b>Categoría</b>	<b>Taxón</b>
<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Fanerogamae
<b>Subdivisión</b>	Angiospermae
<b>Clase</b>	Dicotyledonae
<b>Orden</b>	Myrtales
<b>Familia</b>	Myrtaceae
<b>Género</b>	Myrcianthes
<b>Especie</b>	<i>M. hallii</i>
<b>Nombre científico</b>	<i>Myrcianthes hallii</i> (O. Berg) Mc Vaugh
<b>Nombres comunes</b>	Arrayan, mirto

*Nota:* Adaptado de Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de hojas de arrayán (*Myrcianthes hallii*), in vitro por inhibición de la hialuronidasa e *in vivo* en heridas inducidas en ratones, por Chávez, 2016.

### **Composición química del arrayán**

Se indica la presencia de diversos compuestos en el arrayán, entre ellos compuestos terpénicos ( $\alpha$ - $\beta$  pineno, cineol) y flavonoides (catequina, epigalocatequina, galocatequina, galato de epigalocatequina y epicatequina). También derivados de flavanona, flavona, antocianinas, taninos condensados (isómeros de dímero de procianidina, isómeros de diglato de procianidina y galato de procianidina), flavonoles, además de taninos hidrolizables (Chávez Daquilema, 2016).

### **Generalidades de los compuestos fenólicos**

Estos compuestos se conocen como polifenoles o fenilpropanoides, en las plantas estos compuestos cumplen ciertos papeles como: defensa, reproducción, características sensoriales y protegen a la planta de los oxidantes y la radiación ultravioleta (Peñarrieta et al., 2017).

### **Generalidades de los fenoles simples**

Tienen una unidad fenólica con representación C<sub>6</sub>, los fenoles simples pueden ser hidroxifenoles o dihidroxibencenos y dihidroxifenoles o trihidroxibencenos. En este grupo están los ácidos fenólicos, por ejemplo cuando el grupo funcional está unido de manera directa con el anillo fenólico se llama ácido hidroxibenzoico, y si el ácido carboxílico y el anillo fenólico se encuentran separados por dos carbonos con un doble enlace, se llama ácido hidroxicinámico (Cheng et al., 2016).

### **Generalidades de los polifenoles**

Son compuestos que contienen más de un grupo fenol, dentro de este grupo se encuentran los flavonoides y taninos. Los Flavonoides son solubles en agua ya que se presentan como glucósidos (Vasantha Rupasinghe et al., 2014). Los flavonoles se encuentran en frutas (uvas rojas, arándanos y cítricos). Ejemplos relevantes de estos compuestos incluyen el kaempferol y quercetina. Es importante mencionar que la biosíntesis en los flavonoles está influenciada por la luz solar, por esta razón, se encuentran en los tejidos externos, como la piel o cáscara de las frutas (Vasantha Rupasinghe et al., 2014).

Las flavonas constan de glucósidos de luteolina, crisina y apigenina. Un ejemplo de flavonas polimetoxiladas incluye la tangeretina y nobiletina, las cuales se encuentran en las cáscaras de los cítricos. Por otro lado, las flavanonas están como agliconas presentes en frutas cítricas. Además, los flavanoles se encuentran presentes en forma de monómero como las catequinas y en forma polimérica como las proantocianidinas (Vasantha Rupasinghe et al., 2014).

En algunas frutas, se pueden encontrar compuestos como la catequina y la epicatequina, que desempeñan un papel al proteger del cáncer al modular las señales proinflamatorias y oncogénicas. Este hallazgo destaca la importancia del consumo de frutas y verduras (Vasantha Rupasinghe et al., 2014).

Las antocianinas otorgan los colores a los órganos de las plantas, en la naturaleza se han identificado entre 300 compuestos de antocianinas. Además estudios *in vitro* e *in vivo* indicaron que las antocianinas tienen propiedad en la eliminación de radicales (Tsimogiannis & Oreopoulou, 2019).

Las chalconas vienen de la biosíntesis de los flavonoides de puente cerrado, mientras que las dihidrochalconas son producto de la reducción de chalconas. Estos compuestos tienen propiedades antioxidantes, anticancerígenas y antiinflamatorias (Tsimogiannis & Oreopoulou, 2019).

Los taninos como menciona Vuolo et al. (2019), son hidrolizables y complejos. Los hidrolizables (galotaninos o elagitaninos) están formados por una molécula de glucosa o polisacárido. Los galotaninos simples suelen encontrarse en las agallas de roble y en las frutas, mientras que los elagitaninos se encuentran especialmente en la frambuesa. Por otro lado, los taninos condensados también denominados proantocianidinas, son compuestos fenólicos poliméricos formados con unidades de catequina, y los taninos complejos o también llamados flavanoelagitaninos son galotaninos e elagitaninos unidos a una catequina (Vuolo et al., 2019).

### **Otros compuestos fenólicos**

Los estilbenos constan de un núcleo de 1,2 difeniletieno con hidroxilos sustituidos en los anillos aromáticos. El trans resveratrol, un estilbeno, actúa en la planta como una fitoalexina y, además, tiene propiedades anticancerígenas y se encuentra en las uvas y el vino (Vasantha Rupasinghe et al., 2014).

Las ligninas tienen alto peso molecular, en las plantas cumplen la función de transporte de agua. En cuanto los lignanos, que se consideran compuestos fenólicos dímeros, poseen propiedades antioxidantes y se encuentran especialmente en granos y uvas (Gan et al., 2018).

## **Antioxidante**

La sustancia química que detiene o controla la oxidación de un sustrato es considerada como antioxidante y se clasifican en secundarios y primarios. Las grandes cantidades de radicales libres son neutralizados con cantidades mínimas de antioxidante primarios, un ejemplo de estos antioxidantes son los compuestos fenólicos. Los antioxidantes secundarios tienen un mecanismo de neutralización pro oxidante de catalizadores, como quelante de iones metálicos como el cobre y hierro. Estos antioxidantes a diferencia de los primarios se agotan rápidamente ya que solo pueden neutralizar un solo radical libre (Zeb, 2020).

## **Capacidad antioxidante**

Los compuestos fenólicos como los flavonoides desempeñan una función crucial al atrapar radicales libres y producir el radical flavínico que es un radical menos reactivo. Así los flavonoides actúan como tampones (Martin, 2018).

Otra forma de actuar como antioxidantes es evitar los ROS, ejemplo la quercetina entre otros flavonoles y flavanonas quelan hierro o cobre que son iones metálicos de transición (Martin, 2018). Además los compuestos fenólicos inhiben enzimas como nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa y xantina oxidasa que generan ROS (Pregowska et al., 2012).

## **Propiedades y usos de arrayan**

Esta planta se usa en las bebidas como un aditivo también como saborizante para carnes. Además, tiene propiedades medicinales, siendo reconocido como analgésico, antiinflamatorio, astringente, tónico estimulante, antiespasmódico, antiséptico, antigripal. Su funcionalidad se extienden incluso en la odontología, donde se usa en el fortalecimiento de las encías, como blanqueador de dientes y para tratar caries (Rios et al., 2017).

El tronco y ramas de este árbol se utilizan como leña y en la fabricación de carbón, mientras que en la industria de la madera se usa para fabricación de muebles (postes, puertas, vigas), su madera se usa para la construcción, elaboración de artesanías, arcos de violín y herramientas en la agricultura

(Lara, 2021). En el ámbito ambiental, se considera que este tipo de árboles retienen el agua en el suelo beneficiando la neutralización evitando inundaciones o deslaves al evitar la libre circulación del agua (K. Jaramillo, 2013).

Otras propiedades biológicas que presenta esta planta son con sus extractos de hojas, las cuales poseen actividad cicatrizante y actividad antibacteriana. El extracto alcohólico destaca por su actividad antimicrobiana gracias a la presencia de compuestos polifenólicos, siendo efectivo contra cepas de *Enterococcus spp*, *S. pyogenes*, *S. aureus* y *P. aeruginosa* (Carvajal et al., 2016).

### **Aceite esencial**

Estas sustancias se forman en diferentes órganos de las plantas debido al metabolismo secundario. Se caracterizan porque poseen alta volatilidad y son aromáticos, cumplen dentro de la planta la función de protección al actuar como agentes antifúngicos e insecticidas, antibacterianos y antivirales (Esther et al., 2017). En su composición tienen compuestos fenólicos, ésteres, alcoholes, terpenoides, siendo los hidrocarburos, especialmente los terpenos, los que se encuentran en mayor concentración (Segura, 2022).

Los aceites esenciales se obtienen por: hidrodestilación, destilación con arrastre de vapor, maceración, solventes y prensado que son poco eficaces porque generan productos no deseados que hace difícil la extracción del aceite (Contreras Puentes & Ruiz Pérez, 2012).

### **Destilación con arrastre de vapor ventajas y desventajas**

El proceso consiste en la separación de los componentes por medio del vapor. Cuando se realiza este proceso al producirse el vapor los compuestos volátiles son extraídos de la planta y se forman dos fases cuando se enfría. Donde se puede observar a los compuestos volátiles condensados y en la otra fase el agua (Cárdenas López, 2014).

Ventajas.- Se produce sustancias naturales sin solventes orgánicos que se pueden usar directamente sin pasar por otro proceso de separación, se puede trabajar con una cantidad abundante de muestra en el equipo de destilación, su costo de inversión es bajo, su equipo es de fácil montaje y manejo y no se necesita licencia para destilar muestras herbáceas (Cárdenas López, 2014).

Desventajas.- Si se excede la temperatura de operación se produce degradación térmica de la muestra debido a un mal manejo del equipo, la temperatura interna podría superar los 98 °C y se forman oligómeros y otros compuestos que disminuyen la calidad y durabilidad del producto (Cárdenas López, 2014).

#### **Fundamento de la prueba de poder antioxidante reductor del hierro**

En esta prueba, el  $\text{Fe}^{3+}$ TPTZ, llamado complejo férrico en presencia de antioxidantes a un pH de aproximadamente 3.6 para que el hierro este soluble en el complejo, se reduce de complejo férrico a ferroso y presenta un color característico (Llamocca, 2018).

#### **Fundamento de la prueba de eliminación del catión ABTS•+**

Esta prueba se fundamenta en la formación del radical ABTS al reaccionar con el persulfato, se obtendrá un color azul-verdoso, los antioxidantes presentes reducirán el radical ABTS formado presentando un cambio colorimétrico. Es decir se medirá la capacidad que presentan los antioxidantes para reducir radicales (Munteanu & Apetrei, 2021).

#### **Fundamento de la prueba DPPH•**

Esta prueba utiliza el DPPH, que tiene un electrón desapareado característico por su color morado intenso, los antioxidantes sometidos a esta prueba reducen el radical DPPH formándose así la hidracina (DPPH-H) de color amarillo pálido y se mide mediante el espectrofotómetro las absorbancias, al disminuir el color del DPPH (Echegaray et al., 2021).

### Capítulo III: Metodología

#### Obtención la muestra de investigación

Se recolectó en 5 árboles, hojas de arrayan en perfecto estado, no cortados y sin plaga, durante tres periodos, primero en el periodo de floración, posteriormente en fructificación y finalmente en foliación. El muestreo se dio en la mañana en la parroquia de Guasaganda, aproximadamente un kilo de muestras por periodo, se lavó las muestras de las hojas con agua destilada y se extendió en un cedazo para el secado.

#### Procesamiento de la muestra vegetal para obtención del aceite esencial

Las hojas secas se pesaron en una balanza analítica y luego se cortó en trozos para favorecer el proceso. Se colocó 400 gramos de material vegetal y agua en un valor aproximado de 600 mL en el extractor para aceites esenciales. El tiempo de extracción fue de 3 a 4 horas, por último en los frascos ámbar se guardaron las muestras obtenidas.

#### Ensayo de DPPH

El protocolo de Decana et al. (2017) menciona que, primero se diluyó DPPH 0.15 mM en etanol 95%, la solución stock preparada de DPPH se agregó a 0.1 mL de la dilución del aceite esencial, se realizó tres repeticiones y dos blancos. Según Jaramillo et al. (2011), los tubos con las muestras y los blancos que no poseen la muestra se incubaron durante 30 minutos en la oscuridad, la longitud de onda en la que se tomó la medición fue a 517 nm.

$$\%inhibición = \frac{Ac - Am}{Ac} * 100$$

#### Ensayo del radical ABTS<sup>+</sup>

Se realizó lo mencionado por Melo-Guerrero et al. (2020), se formó ABTS luego de la reacción con 2.5 mM de persulfato, estas muestras se incubaron en la oscuridad durante un periodo de 16 a 24 horas a una temperatura de 2°C a 8°C. Luego se mezcló con etanol para acomodar la absorbancia a 734 nm, se colocó 20 µL de Trolox a 2 mL de la mezcla del reactivo ABTS con persulfato de potasio en un tiempo de 6 minutos y se midió la absorbancias.

### **Poder antioxidante reductor del hierro (FRAP)**

Según el protocolo de Boom et al. (2018), primero se diluyó las tres muestras de aceite esencial en etanol, se colocó 0.1 mL de muestra y 0.4 mL de agua. Finalmente 3mL del reactivo FRAP previamente preparado, se dejó en reposo por 4 minutos y se midió a 593 nm.

### **Determinación de la cantidad total de fenoles en aceite esencial**

Sarmiento (2020) indicó que, el ácido gálico se utiliza para elaborar la curva de calibración, primero se puso 0.5 mL de muestra, seguido del reactivo Folin, segundo se colocó 2.5 mL de agua, luego de 5 minutos en reposo se añadió el carbonato de sodio y agua destilada 0.8 mL. Se dejó reposar por 1 hora, estas pruebas se hicieron por triplicado y la absorbancia se leyó a 765 nm.

### **Identificación del contenido de flavonoides totales en aceite esencial**

Como describió Vega et al. (2017), en 1 mL aceite esencial diluido, se colocó 2 mL de etanol y 0.2 de acetato de sodio, seguido de 0.1 mL de tricloruro de aluminio. Finalmente se agregó a esta mezcla 2.5 mL de agua, entre 40-45 minutos se dejó en un lugar oscuro. La curva de calibración se realizó con quercetina y las absorbancias se midieron a 435 nm.

### **Análisis estadístico**

Para determinar la cantidad total de fenoles, flavonoides y FRAP se plantea un (DECA), mientras en la capacidad antioxidante se plantea un diseño experimental factorial a x b, siendo a igual a dos indicando el método DPPH, ABTS y b igual a 3 indicando los tres estadios fenológicos

### **Factores de estudio**

Evaluación de composición fenólica y capacidad antioxidantes presente en aceite esencial extraído de hojas de arrayán recolectado en floración, fructificación, foliación.

### **Unidad experimental**

Aceite esencial obtenido de arrayán en tres estadios: foliación, floración y fructificación.

**Tabla 2***DCA de arrayán para determinación de fenoles totales*

<b>Método</b>	<b>Floración</b>	<b>Fructificación</b>	<b>Foliación</b>
<b>Fenoles totales</b>	3	3	3

**Tabla 3***DCA de arrayán para identificación de flavonoides*

<b>Método</b>	<b>Floración</b>	<b>Fructificación</b>	<b>Foliación</b>
<b>Flavonoides</b>	3	3	3

**Tabla 4***DECA de arrayán para FRAP*

<b>Método</b>	<b>Floración</b>	<b>Fructificación</b>	<b>Foliación</b>
<b>FRAP</b>	3	3	3

**Tabla 5**

*Diseño experimental factorial a x b para determinación de carácter antioxidante del aceite esencial de hojas de arrayán*

Método	Floración	Fructificación	Foliación
DPPH	3	3	3
ABTS	3	3	3

#### Capítulo IV: Resultados

##### Obtención y preparación de las muestras

Se recolectó aproximadamente un kilo de hojas para el estadio fenológico de floración luego de un periodo de tiempo de 120 días, se recolecto un kilo de hojas para el estadio de fructificación, después de 60 días se recolecto un kilo de hojas para el estadio de foliación, en la figura 1 se presenta las muestras recolectadas.

##### Figura 1

*Muestras recolectadas de Myrcianthes hallii (O. Berg) Mc Vaugh*



*Nota.* Hojas en estadio fenológico de floración (A), hojas en estadio fenológico de fructificación (B), hojas en estadio fenológico de foliación (C).

Foto tomada por: Lisbeth Topón (2023)

### Procesamiento del material vegetal y obtención del aceite esencial

Se pesó 400 gramos de hojas, se cortó a trozos y fue colocado en el destilador de aceite esencial junto con 1.6 litros de agua destilada durante 4 horas, por último se retiró el aceite esencial con una pipeta graduada, y se guardó en frascos ámbar, en la tabla 6 se indica el porcentaje de rendimiento del aceite de arrayán obtenido.

**Tabla 6**

*Porcentaje de rendimiento del aceite de arrayán en los tres estadios fenológicos*

Estadio fenológico	Peso del material vegetal (gramos)	Volumen (mL)	Rendimiento (%)
<b>Floración</b>	400	2	0.5
<b>Fructificación</b>	400	1.3	0.3
<b>Foliación</b>	400	0.9	0.2

**Figura 2**

*Extracción del aceite esencial de arrayán*



Foto tomada por: Lisbeth Topón (2023)

### Capacidad antioxidante

Se utilizó tres pruebas para evaluar el poder antioxidante como: FRAP, DPPH y ABTS, para estos procedimientos las muestras fueron diluciones 1 en 3, es decir por 1 mL de muestra 3 mL de etanol (95%). Además se realizó una comparación entre los métodos que evalúan poder antioxidante respecto al porcentaje de inhibición, estadio fenológico y tiempo en el que se recolecto cada muestra para extracción del aceite esencial.

### Determinación del carácter antioxidante por el ensayo DPPH en aceite esencial

DPPH es utilizado para analizar propiedades antioxidantes mediante espectrofotometría, posee un color púrpura característico que al relacionarse con compuestos que contengan antioxidantes presenta una decoloración (Gerasimova et al., 2022). En este estudio la prueba de colorimetría mostró resultados positivos en los tres estadios fenológicos, sin embargo las muestras obtenidas en el estadio fenológico de floración sometidas a la prueba de DPPH presentaron de manera cualitativa un cambio notorio en la coloración (fig. 3).

### Figura 3

*Método DPPH empleado en aceite esencial en el estadio fenológico de floración*

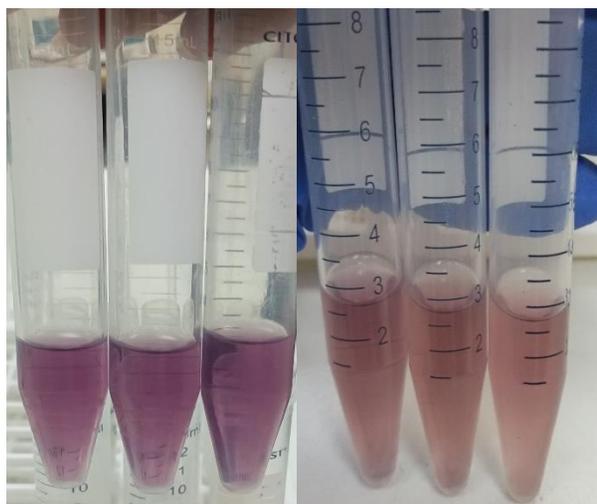
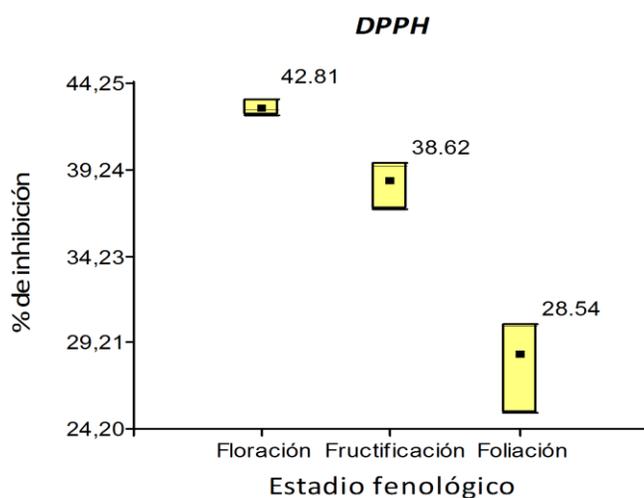


Foto tomada por: Lisbeth Topón (2023)

Como se tiene datos experimentales se realiza una estadística descriptiva e inferencial, primero en la estadística descriptiva se usan métodos para visualizar las probables relaciones entre las variables y para analizar la distribución de los valores como gráficos, tablas y medidas de resumen (Balzarini et al., 2016). Se realizó un gráfico de cajas (fig. 4) del porcentaje de inhibición respecto al estadio fenológico y presentó como resultado un mayor porcentaje de inhibición en las muestras provenientes del estadio fenológico de floración con 42.81 % y el porcentaje más bajo en las muestras provenientes del estadio fenológico de foliación con 28.54 %, el porcentaje intermedio fue en fructificación con 38.62 %.

#### Figura 4

*Gráfico de cajas de las muestras de aceite esencial en DPPH*



Elaborado por: Lisbeth Topón (2024)

Además se indica de forma numérica y tabular (fig. 5) las medidas descriptivas del poder antioxidante de las muestras en los tres estadios fenológicos para la prueba de DPPH.

**Figura 5***Resumen de medidas descriptivas de aceite esencial para DPPH***Medidas resumen**

Estadio fenológico	Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana	Q1	Q3
Floración	% de inhibición	3	42,81	0,47	1,11	42,42	43,34	42,68	42,42	43,34
Foliación	% de inhibición	3	28,54	2,97	10,41	25,11	30,30	30,21	25,11	30,30
Fructificación	% de inhibición	3	38,62	1,49	3,85	36,91	39,59	39,37	36,91	39,59

Una vez realizado la estadística descriptiva se procedió a la estadística inferencial mediante intervalos de confianza (fig. A1) y análisis de varianza (ANOVA), previo a la obtención del ANOVA se verificó dos supuestos el de normalidad y homocedasticidad de manera gráfica e inferencial. El supuesto de normalidad se comprobó mediante el gráfico Q-Q plot normal elaborado con los residuos, si estos se alinean sobre la recta siguen una distribución normal (Balzarini et al., 2016), como se observa en el (fig. A2). Para corroborar la distribución de manera inferencial se realizó la prueba de Shapiro-Wilk modificada que utiliza los residuos como variable para el análisis donde  $p\_valor > 0.05$  indica que los datos se distribuyen normalmente (Souza et al., 2023), cumpliendo con la normalidad con p valor de 0.3170 (fig. 6).

**Figura 6***Prueba de Shapiro-Wilk para el método DPPH***Shapiro-Wilks (modificado)**

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO % de inhibición	9	0,00	1,68	0,89	0,3170

Para corroborar el supuesto de homocedasticidad se realizó el gráfico de dispersión de residuos frente a predichos (fig. A3), si los puntos del gráfico de dispersión no presentan un patrón se verifica la homogeneidad de varianzas, en este estudio el gráfico de dispersión no presentó patrón.

Sin embargo para confirmar el supuesto de manera inferencial, se realizó la prueba de Levene a partir de una ANOVA con el valor absoluto de los residuos, para que el supuesto de homogeneidad de varianzas se sostenga el  $p\_valor > 0.01$  (Avanza et al., 2003), cumpliéndose con un  $p$  valor de 0.0299 (fig. 7).

### Figura 7

*Prueba de Levene para verificar supuesto de homocedasticidad en el método DPPH*

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RABS % de inhibición	9	0,69	0,59	51,82

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5,68	2	2,84	6,66	0,0299
Estadio fenológico	5,68	2	2,84	6,66	0,0299
Error	2,56	6	0,43		
Total	8,24	8			

Tras verificar los supuestos de normalidad y homocedasticidad, el ANOVA con  $\alpha = 0.05$  si el valor  $p < \alpha$ , se rechaza la hipótesis nula, no hay cambio significativo entre las medias en los tratamientos (Balzarini et al., 2016), en este caso se obtuvo un  $p$  valor de 0.0003 (fig. 8). Señalando que hay cambio estadísticamente significativo en el porcentaje de inhibición respecto al estadio fenológico en el método DPPH. El  $R^2$  ajustado muestra el porcentaje de cambio total en Y (Cayuela, 2014), expresado en porcentaje indica que el 91% del cambio observado en el porcentaje de inhibición está dado por el cambio realizado experimentalmente en el estadio fenológico (fig. 8).

Figura 8

ANOVA del aceite esencial en los estadios fenológicos para el método DPPH

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
% de inhibición	9	0,93	0,91	5,29

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	322,96	2	161,48	43,01	0,0003
Estadio fenológico	322,96	2	161,48	43,01	0,0003
Error	22,53	6	3,75		
Total	345,49	8			

Posteriormente se realizó el test de Duncan que con p valor < 0.05 indica que el modelo es válido (Depetris-Chauvin et al., 2014). Duncan clasifica en grupos al atribuir una letra en este caso A,B,C en donde letras diferentes indican que estadísticamente el estadio fenológico cambia el porcentaje de inhibición. Para el estadio fenológico de floración (Grupo C), se verificó que hay cambio estadísticamente significativo con mayor porcentaje de inhibición respecto al estadio de fenológico de foliación (Grupo A) y respecto al estadio fenológico de fructificación (Grupo B). Determinando que el estadio fenológico de donde se obtienen las muestras influye en el porcentaje de inhibición (fig. 9).

Figura 9

Prueba de Duncan en DPPH

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 3,7548 gl: 6

Estadio fenológico	Medias	n	E.E.	
Foliación	28,54	3	1,12	A
Fructificación	38,62	3	1,12	B
Floración	42,81	3	1,12	C

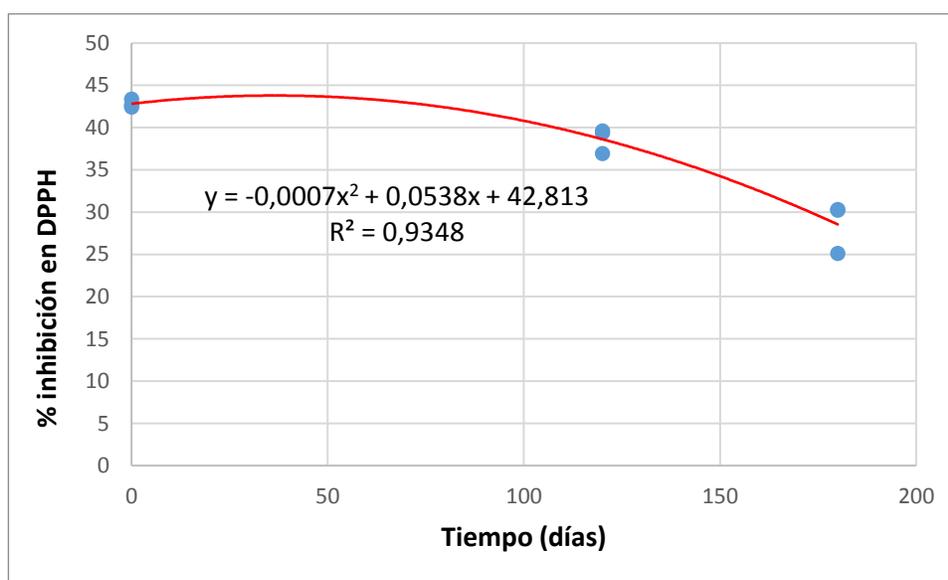
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

### Porcentaje de inhibición respecto al tiempo en la recolección de muestras para el método DPPH

Se estableció un rango de tiempo en la recolección de las muestras tomando a floración como el día cero, ciento veinte días después el estadio de fructificación y ciento ochenta días después de floración la foliación. Se realizó un gráfico de dispersión donde ( $R^2$ ) alcanzó un valor 0.9348 señalando que el 93.48% del cambio en el porcentaje de inhibición se explica por el tiempo. Así mismo la ecuación indicada en la figura 10, permite pronosticar para cualquier tiempo la inhibición en porcentaje.

#### Figura 10

*Gráfico de dispersión del tiempo de recolección de las muestras*

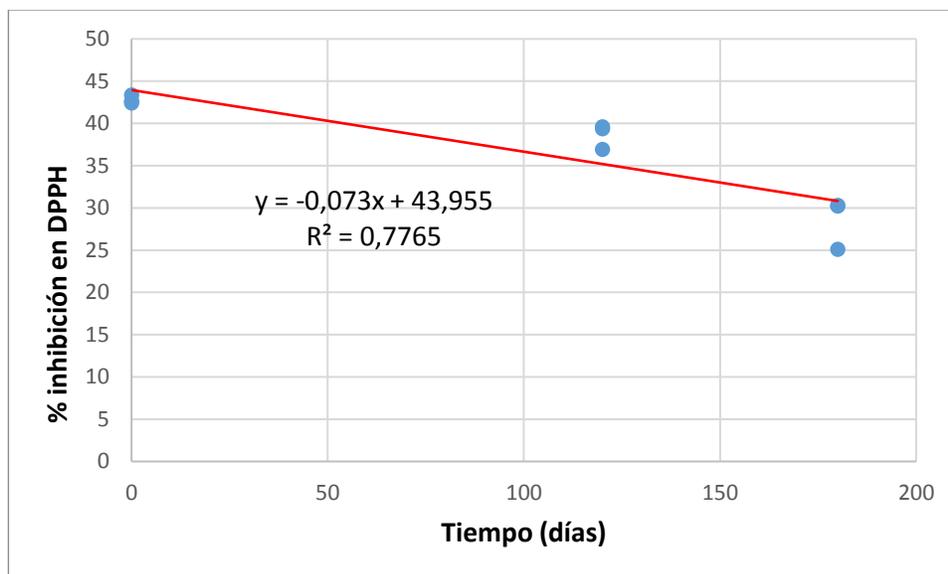


Elaborado por: Lisbeth Topón (2024)

Al tomar al estadio fenológico ya no como una variable categórica sino continua, se determinó que mientras avanza el tiempo va a disminuir el porcentaje de inhibición, como lo indica el gráfico de dispersión con la estimación lineal mediante su ecuación (fig. 11). Es decir desde que empieza el estadio de floración hasta la foliación por cada cien días el porcentaje de inhibición disminuirá en 7.3%.

**Figura 11**

Gráfico de dispersión con estimación lineal del tiempo de recolección de la muestra



Elaborado por: Lisbeth Topón (2024)

#### Determinación del carácter antioxidante por ensayo de ABTS

El ensayo de ABTS cuantifica la decoloración de su radical producto de la interacción de compuestos como los antioxidantes al donar hidrógeno o un electrón (Rojano et al., 2008). En este estudio la prueba de colorimetría mostró decoloración en los tres estadios fenológicos. En la figura 12 se aprecia el color verde azulado de las muestras del estadio de floración y como se decolora al reaccionar el radical ABTS con el antioxidante.

## Figura 12

*Método ABTS empleado en aceite esencial del estadio fenológico de floración*

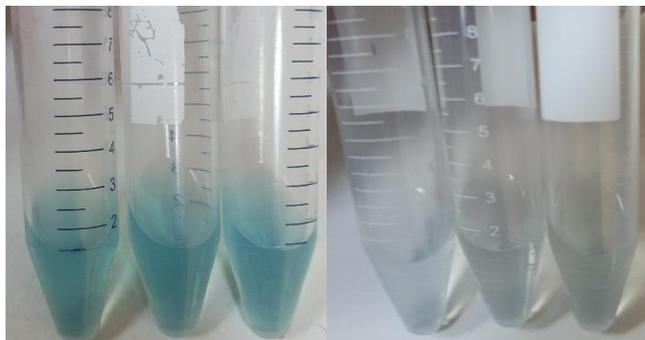
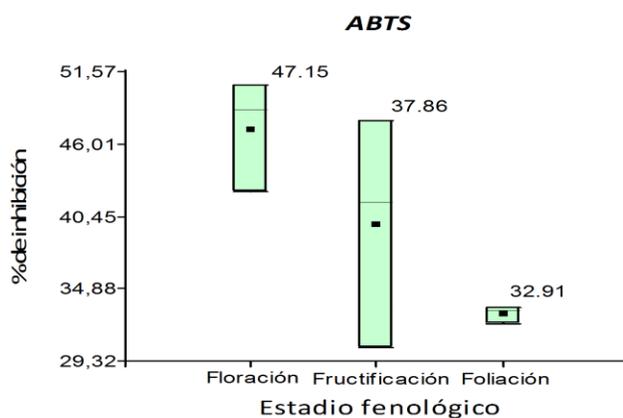


Foto tomada por: Lisbeth Topón (2024)

Se elaboró un gráfico de cajas del método ABTS utilizando como variable el porcentaje de inhibición y como criterio de clasificación el estadio fenológico. Se obtuvo mayor porcentaje de inhibición en las muestras obtenidas en el estadio fenológico de floración con 47.15%, el porcentaje más bajo se dio con las muestras obtenidas en el estadio de foliación con 32.91% y el porcentaje de inhibición intermedio fue en fructificación con 37.86 % (fig. 13).

## Figura 13

*Gráfico del porcentaje de inhibición en muestras de aceite esencial respecto al estadio fenológico por método ABTS*



Elaborado por: Lisbeth Topón (2024)

Dado que se tiene datos experimentales se realizó un análisis exploratorio de forma numérica y tabular con las medidas descriptivas (fig. 14).

#### Figura 14

*Resumen de medidas descriptivas para ABTS*

##### Medidas resumen

Estadio fenológico	Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana	Q1	Q3
Floración	% de inhibición	3	47,15	4,30	9,12	42,32	50,56	48,58	42,32	50,56
Foliación	% de inhibición	3	32,91	0,69	2,10	32,12	33,38	33,24	32,12	33,38
Fructificación	% de inhibición	3	39,86	8,83	22,14	30,33	47,75	41,51	30,33	47,75

Luego de analizar de manera exploratoria los datos se realizó intervalos de confianza (fig. B1), el supuesto de normalidad se comprobó de manera gráfica con Q-Q plot (fig. B2) y con Shapiro-Wilk modificado ( $p\_valor > 0.05$ ), lo resultados validan la prueba con un p valor de 0.8308 (fig. 15).

#### Figura 15

*Prueba de Shapiro-Wilk en el método ABTS*

##### Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO % de inhibición	9	0,00	4,92	0,96	0,8308

El supuesto de homocedasticidad se verificó con el gráfico de dispersión (fig. B3) y mediante la prueba de Levene con un p valor de 0.0870 como se evidencia en la figura 16 constatándose que se cumple el supuesto.

**Figura 16**

*Prueba de Levene en el método ABTS*

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RABS % de inhibición	9	0,56	0,41	77,20

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	51,02	2	25,51	3,77	0,0870
Estadio fenológico	51,02	2	25,51	3,77	0,0870
Error	40,58	6	6,76		
Total	91,61	8			

En el ANOVA se obtuvo un p valor de 0.0589 (fig. 17), mayor al establecido entonces la hipótesis nula no se rechaza, comprobándose que no hay cambio significativo en la inhibición expresada en porcentaje en relación con el estadio fenológico.

**Figura 17**

*ANOVA del aceite esencial en los estadios fenológicos para ABTS*

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
% de inhibición	9	0,61	0,48	14,21

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	304,22	2	152,11	4,71	0,0589
Estadio fenológico	304,22	2	152,11	4,71	0,0589
Error	193,75	6	32,29		
Total	497,98	8			

Duncan clasificó en dos grupos mostrando en el estadio fenológico de fructificación las letras (A,B) indicando que las medias que tienen letras en común no tienen cambio estadísticamente significativo, es decir que en fructificación el porcentaje de inhibición es tan malo como en foliación, pero también tan bueno como floración (fig. 18).

Sin embargo sí debería elegir alguno se escoge al subgrupo que este solo a pesar de no existir diferencia significativa, en este caso floración con mayor promedio en la comparación de medias.

**Figura 18**

*Prueba de Duncan para las medias del porcentaje de inhibición en ABTS*

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 32,2919 gl: 6

Estadio fenológico	Medias	n	E.E.	
Foliación	32,91	3	3,28	A
Fructificación	39,86	3	3,28	A B
Floración	47,15	3	3,28	B

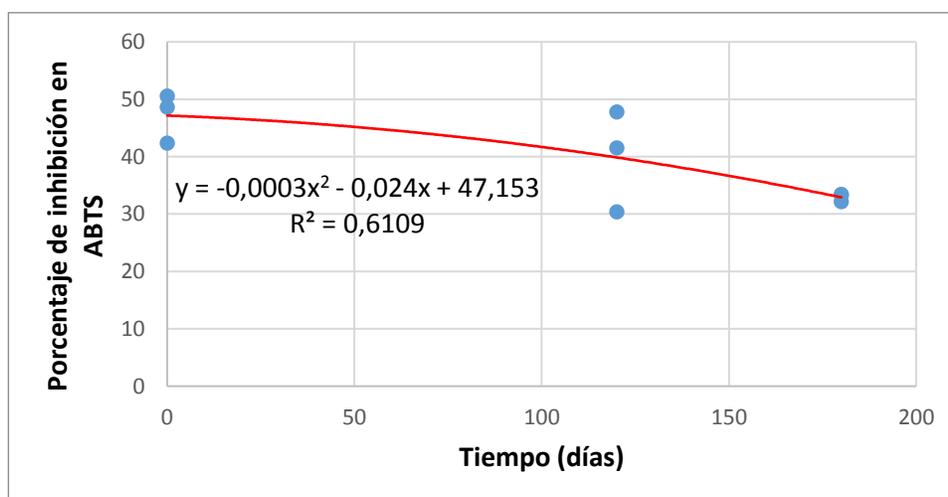
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### Porcentaje de inhibición respecto al tiempo de recolección de las muestras en el método ABTS

Se realizó un gráfico de dispersión donde ( $R^2$ ) alcanzó un valor 0.6109, señalando que el 61.09 % del cambio en el porcentaje de inhibición se explica por el tiempo. Así mismo la ecuación indicada en la figura 19 permite pronosticar para cualquier tiempo el porcentaje de inhibición en el método ABTS.

**Figura 19**

*Gráfico de dispersión del tiempo de recolección de las muestras respecto al porcentaje de inhibición en ABTS*

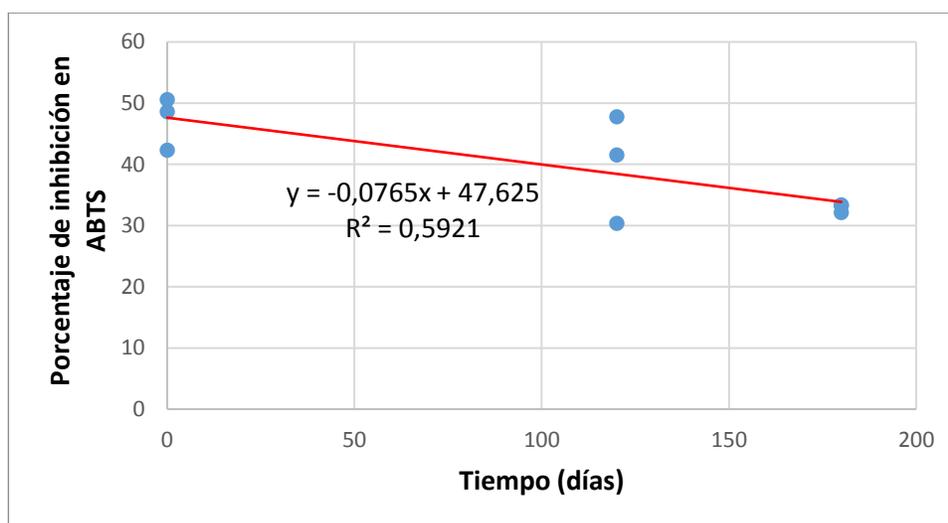


Elaborado por: Lisbeth Topón (2024)

Se tomó al estadio fenológico como una variable continua, determinándose que al avanzar el tiempo disminuye el porcentaje de inhibición como lo indica el gráfico de dispersión con la estimación lineal mediante su ecuación (fig. 20). Es decir desde que empieza el estadio de floración hasta la foliación por cada cien días el porcentaje de inhibición disminuirá en 7.65 %.

**Figura 20**

*Gráfico de dispersión con estimación lineal del tiempo de recolección de la muestra respecto al porcentaje de inhibición en ABTS*



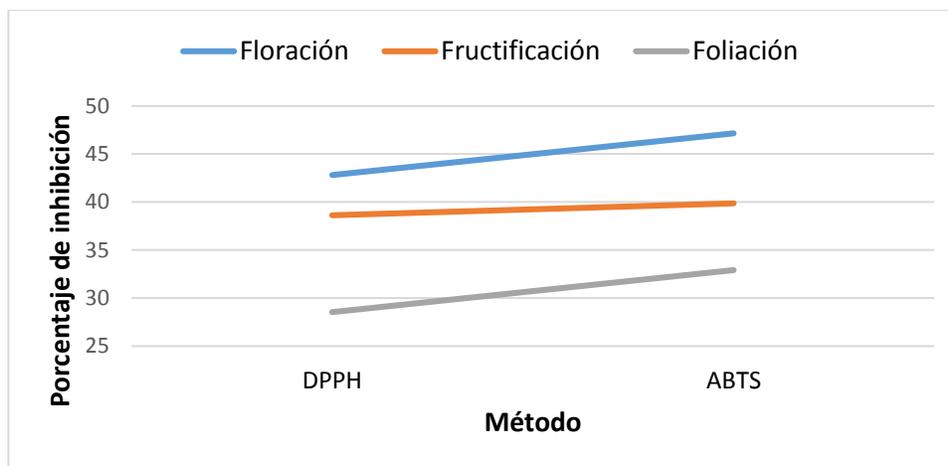
Elaborado por: Lisbeth Topón (2024)

### **Comparación entre ensayos ABTS-DPPH para analizar el poder antioxidante de los tres estadios fenológicos**

Independientemente del método se obtiene mayor porcentaje de inhibición en las muestras provenientes del estadio de floración, un valor intermedio en el estadio de fructificación y un menor porcentaje de inhibición en el estadio de foliación (fig. 21).

**Figura 21**

*Interacción entre ensayo DPPH, ABTS respecto al estadio fenológico*

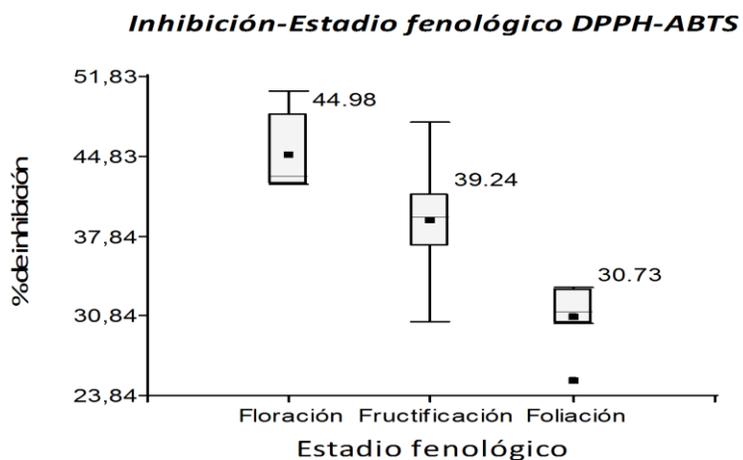


Elaborado por: Lisbeth Topón (2024)

Para corroborar que indistintamente del método existe mayor porcentaje de inhibición en el estadio fenológico de floración se elaboró un gráfico de cajas arrojando, en el estadio de floración 44.98 % y en foliación el porcentaje más bajo con 30.73%.

**Figura 22**

*Gráfico de cajas del porcentaje de inhibición respecto al estadio indistintamente del método*



Elaborado por: Lisbeth Topón (2024)

Se realizó Shapiro-Wilk modificada (fig. B4) y para homocedasticidad el test de Levene (fig. B5). El ANOVA indicó que el 69.3% del cambio observado en el porcentaje de inhibición está dado por el cambio realizado experimentalmente en el estadio fenológico y el método ya que el coeficiente de determinación fue de 0.693 (fig. 23).

### Figura 23

*Análisis de varianza del porcentaje de inhibición respecto al estadio fenológico y métodos*

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
% de inhibición	18	0,747	0,693	10,485

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	667,002	3	222,334	13,773	0,0002
Estadio fenológico	617,468	2	308,734	19,126	0,0001
Método	49,534	1	49,534	3,069	0,1017
Error	225,994	14	16,142		
Total	892,996	17			

Duncan mostró a los estadios en grupos de tres: Grupo A (foliación), Grupo B (fructificación), Grupo C (floración), evidenciando que en la foliación se produce una inhibición estadísticamente más pequeña y que se alcanza de forma inferencial mayor porcentaje de inhibición en el estadio fenológico de floración. Segundo para el método se obtuvo un solo grupo (A), señalando estadísticamente que el método no cambia el porcentaje de inhibición (fig. 24).

**Figura 24**

*Prueba de Duncan para el porcentaje de inhibición respecto al estadio fenológico y métodos*

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 16,1425 gl: 14

Estadio fenológico	Medias	n	E.E.	
Foliación	30,727	6	1,640	A
Fructificación	39,243	6	1,640	B
Floración	44,983	6	1,640	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 16,1425 gl: 14

Método	Medias	n	E.E.	
DPPH	36,659	9	1,339	A
ABTS	39,977	9	1,339	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Determinación del poder antioxidante reductor del hierro**

El ensayo se fundamenta en la poder que tienen los antioxidantes de reducir el complejo de  $[\text{Fe}^{3+} (\text{TPTZ})_2]^{3+}$ , transformándose el complejo incoloro a un complejo de color azul  $[\text{Fe}^{2+} (\text{TPTZ})_2]^{2+}$  como lo indica la figura 25. Por lo tanto este método no neutraliza radicales libres pero evalúa la capacidad de reducción producto de la transferencia de electrones (Mendonça et al., 2022).

**Figura 25**

*Método FRAP empleado en aceite esencial en el estadio fenológico de floración*

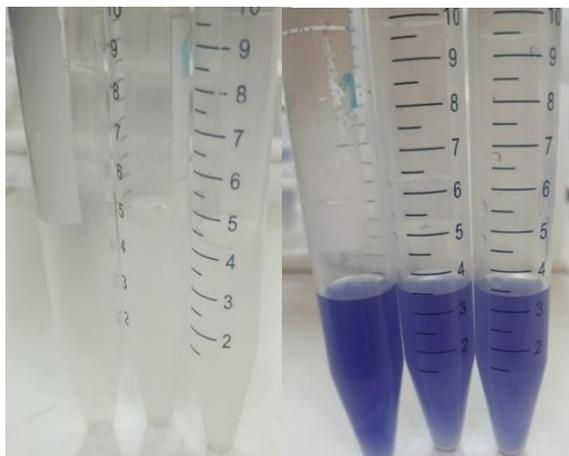
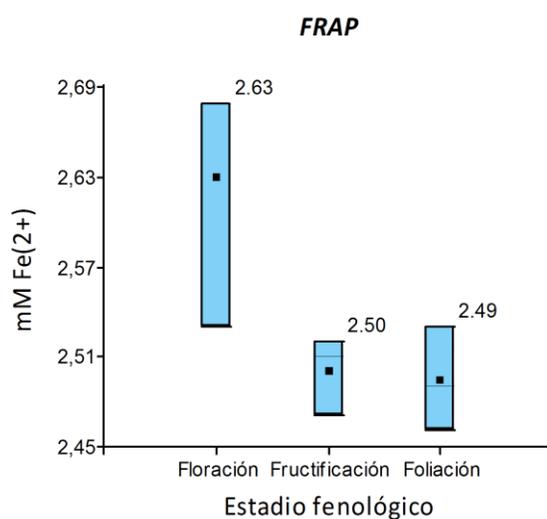


Foto tomada por: Lisbeth Topón (2024)

Mediante la curva de calibración con  $\text{FeSO}_4$  (fig. C1), se calculó la ecuación  $y=0.5981x-0.0082$  con  $R^2=0.9989$  que arrojó como resultados mayor concentración en el estadio de floración con 2.63 mM equivalentes de  $\text{Fe}^{2+}$ , en foliación menor capacidad de reducción de ion férrico con 2.49 mM equivalentes de  $\text{Fe}^{2+}$  y como resultado intermedio el estadio de fructificación con 2.50 mM equivalentes de  $\text{Fe}^{2+}$  (fig. 26).

### Figura 26

*Gráfico de la capacidad de reducción de ion férrico en muestras de aceite esencial*



Elaborado por: Lisbeth Topón (2024)

Los valores obtenidos en milimolar (Mm) equivalentes de  $\text{Fe}^{2+}$ , se transformaron en micromolar ( $\mu\text{M}$ )  $\text{Fe}^{2+}$  sobre mililitro expresando para floración  $78.86 \mu\text{M Fe}^{2+}/\text{mL}$  seguido de fructificación con  $74.98 \mu\text{M Fe}^{2+}/\text{mL}$  y por ultimo foliación con  $74.78 \mu\text{M Fe}^{2+}/\text{mL}$  (fig. C2). Se verificó la normalidad (fig. C3) y homocedasticidad (fig. C4). El análisis de varianza arrojó un p valor de 0.0441 confirmando que existe cambio estadísticamente significativo entre la capacidad de reducción de ion férrico respecto al estadio fenológico. Además el coeficiente de determinación ( $R^2$  ajustado) indicó que el 53% del cambio observado en la poder de reducción de ion férrico está dado por el cambio que hago experimentalmente en el estadio fenológico (fig. 27).

**Figura 27**

ANOVA de FRAP respecto al estadio fenológico

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
umol Fe2+/mL	9	0,65	0,53	2,23

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	31,77	2	15,88	5,49	0,0441
Estadio fenológico	31,77	2	15,88	5,49	0,0441
Error	17,36	6	2,89		
Total	49,13	8			

La prueba de Duncan mostró dos grupos: Grupo A (foliación y fructificación), Grupo B (floración), demostrando mayor poder de reducción en la floración mientras que en la foliación y fructificación se produce menor poder de reducción como lo indica la figura 28.

**Figura 28**

Prueba de Duncan respecto al estadio fenológico en FRAP

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 2,8937 gl: 6

Estadio fenológico	Medias	n	E.E.	
Foliación	74,78	3	0,98	A
Fructificación	74,98	3	0,98	A
Floración	78,86	3	0,98	B

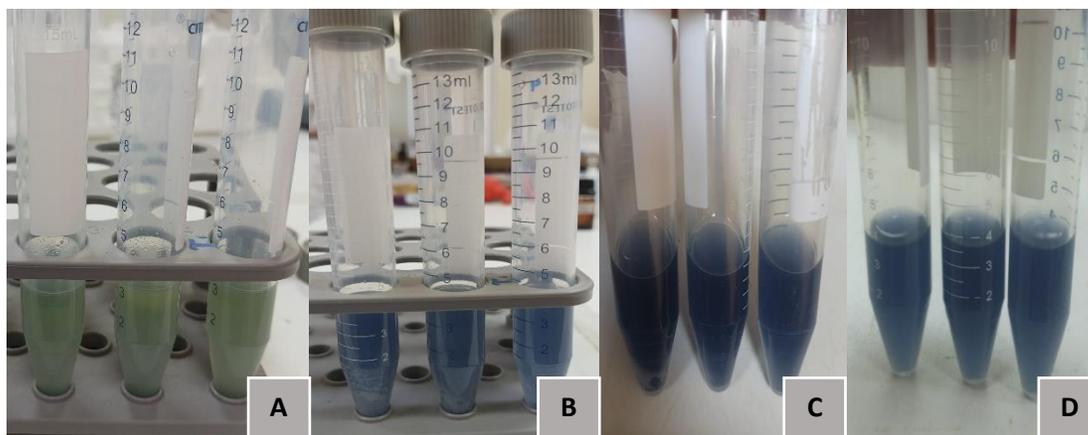
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Determinación de contenido fenólico total**

Los compuestos reducidos toman un color azul intenso, se observa una ligera diferencia entre las muestras obtenidas en fructificación y floración su color es más intenso que las muestras obtenidas en foliación (fig. 29).

**Figura 29**

*Método de Folin-Ciocalteu para las muestras en los tres estadios fenológicos*



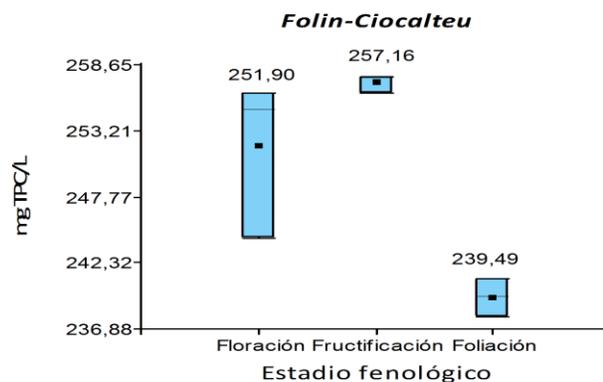
*Nota:* Blanco (A), ensayo F-C en foliación (B), ensayo F-C en fructificación (C), ensayo F-C en floración (D)

Foto tomada por: Lisbeth Topón (2024)

La curva uso como estándar ácido gálico que arrojó la ecuación  $y=0,0061x+0,1393$  con  $R^2=0,9941$  (fig. D1), se evidenció en el estadio fenológico de fructificación con 257,16 mg TPC/L mayor concentración, seguido del estadio de floración con una concentración de 251,90 mg TPC/L y menor contenido de fenoles en foliación con 239,49 mg TPC/L representados en la figura 30.

**Figura 30**

*Contenido de fenoles totales del aceite esencial*



Elaborado por: Lisbeth Topón (2024)

Los resultados en miligramos de contenido fenólico total sobre litros se transformaron obteniéndose los siguientes valores 7.71 mg GAE/mL en fructificación, 7.56 mg GAE/mL en floración y la menor concentración en foliación con 7.19 mg GAE/mL.

### Figura 31

*Resumen de medidas descriptivas del contenido fenólico total del aceite esencial*

#### Medidas resumen

Estadio fenológico	Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana	Q1	Q3
Floración	mg GAE/mL	3	7,56	0,20	2,61	7,33	7,69	7,65	7,33	7,69
Foliación	mg GAE/mL	3	7,19	0,05	0,63	7,14	7,23	7,19	7,14	7,23
Fructificación	mg GAE/mL	3	7,71	0,02	0,27	7,69	7,73	7,72	7,69	7,73

Se elaboró intervalos de confianza (fig. D2) y se verificó los supuestos de normalidad de manera gráfica con Q-Q plot (fig. D3) y homocedasticidad con gráfico de dispersión de residuos contra predichos (fig. D4). La normalidad se confirmó con p\_valor de 0.4459 representado en la figura 32.

### Figura 32

*Prueba de Shapiro-Wilk del contenido fenólico total*

#### Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO mg GAE/mL	9	0,00	0,10	0,91	0,4459

La homocedasticidad se verificó mediante la prueba de Levene como se observó en la figura 33 con p valor de 0.0146.

**Figura 33**

*Prueba de Levene del contenido fenólico total*

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RABS mg GAE/mL	9	0,76	0,67	63,96

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,03	2	0,02	9,29	0,0146
Estadio fenológico	0,03	2	0,02	9,29	0,0146
Error	0,01	6	1,8E-03		
Total	0,04	8			

En el ANOVA se obtuvo un valor p de 0.004 validando el modelo que señala que existe cambio estadísticamente significativo del contenido fenólico respecto al estadio fenológico evidenciado en la figura 34.

**Figura 34**

*Análisis de varianza del contenido fenólico total*

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
mg GAE/mL	9	0,84	0,79	1,57

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,44	2	0,22	15,90	0,0040
Estadio fenológico	0,44	2	0,22	15,90	0,0040
Error	0,08	6	0,01		
Total	0,52	8			

La prueba de Duncan identificó como grupo (A), al estadio de foliación y como grupo (B), al estadio de fructificación y foliación, presentando menor contenido de fenoles en la foliación y mayor contenido fenólico en fructificación y floración. Estadísticamente entre estos dos estadios no hay cambio (fig. 35).

**Figura 35**

*Prueba de Duncan para contenido fenólico total*

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,0138 gl: 6

Estadio fenológico Medias n E.E.

Foliación	7,19	3	0,07	A
Floración	7,56	3	0,07	B
Fructificación	7,71	3	0,07	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Identificación de la cantidad total de flavonoides**

El método se fundamenta en la creación de quelatos de flavonoides con Al (III), al adicionar  $AlCl_3$  se forma un complejo amarillo pálido debido a la afinidad de los flavonoides con el ion Al (III) (Shraim et al., 2021). Se evidencia en la figura 36 el cambio de color respecto al blanco el cual no tiene la muestra de aceite esencial.

**Figura 36**

*Ensayo colorimétrico con tricloruro de aluminio para determinar cantidad total de flavonoides de aceite esencial en el estadio de floración*

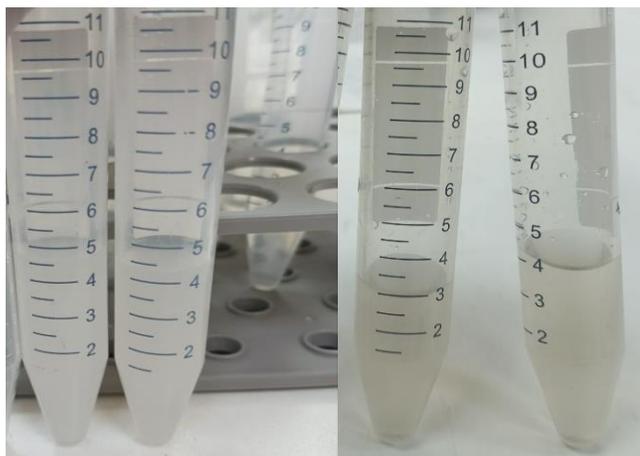
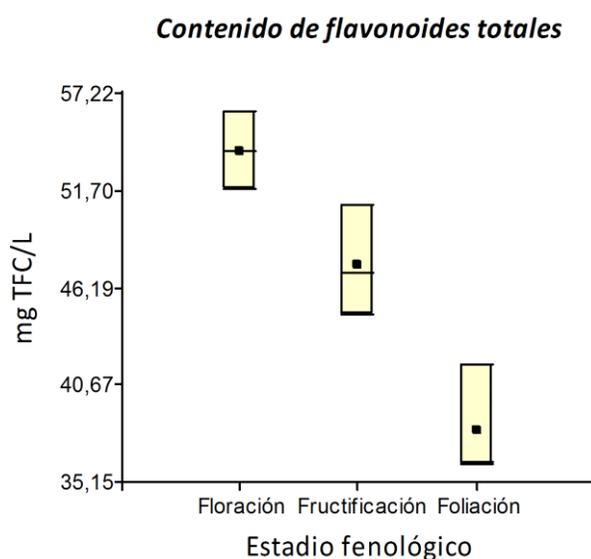


Foto tomada por: Lisbeth Topón (2024)

Los valores del contenido total de flavonoides se obtuvieron por la curva de calibración con quercetina la cual arrojó la ecuación de regresión  $y=0.0149x+0.0983$  con  $R^2=0.9915$  (fig. E1). Se evidenció como resultado un mayor contenido de flavonoides en floración con una concentración promedio de 53.98 mg TFC/L, un menor resultado presentó el estadio de foliación con 38.08 mg TFC/L y un resultado intermedio en el estadio de fructificación con 47.52 mg TFC/L (fig. 37).

### Figura 37

*Gráfico de cajas para contenido de flavonoides totales respecto a los estadios fenológicos*



Elaborado por: Lisbeth Topón (2024)

Los resultados expresados en miligramos de contenido de flavonoides totales sobre litro también se expresaron en unidades de miligramos equivalentes de quercetina sobre mililitro y los promedios se muestran sintetizados en la figura 38. Se obtuvo una mejor concentración en el estadio de floración con 1.62 mg QE/mL y en el estadio de foliación con promedio de 1.14 mg QE/mL una menor concentración (fig. 38).

**Figura 38**

*Resumen de medidas descriptivas del contenido de flavonoides total en aceite esencial de los tres estadios fenológicos*

**Medidas resumen**

Estadio fenológico	Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana	Q1	Q3
Floración	mg QE/mL	3	1,62	0,07	4,32	1,55	1,69	1,62	1,55	1,69
Foliación	mg QE/mL	3	1,14	0,10	8,37	1,08	1,25	1,09	1,08	1,25
Fructificación	mg QE/mL	3	1,43	0,10	6,74	1,34	1,53	1,41	1,34	1,53

Se realizó intervalos de confianza (fig. E2) y se comprobó los supuestos de normalidad de manera gráfica con Q-Q plot (fig. E3) y homocedasticidad con gráfico de dispersión de residuos contra predichos (fig. E4) y con valor p de 0.1092 representado en la figura 39 se confirmó la normalidad.

**Figura 39**

*Prueba de Shapiro-Wilk del contenido total de flavonoides*

**Shapiro-Wilks (modificado)**

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO mg QE/mL	9	0,00	0,08	0,85	0,1092

Se verificó la homocedasticidad, como se representa en la figura 40 con p valor 0.696.

**Figura 40**

*Prueba de Levene de la cantidad total de flavonoides*

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RABS mg QE/mL	9	0,11	0,00	63,41

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,2E-03	2	6,1E-04	0,38	0,6966
Estadio fenológico	1,2E-03	2	6,1E-04	0,38	0,6966
Error	0,01	6	1,6E-03		
Total	0,01	8			

El ANOVA indicó un valor p de 0.0016 y  $R^2=0.84$  presentado en la figura 41, indicando que el 84 % del cambio observado en la cantidad total de flavonoides está dado por la variación realizada experimentalmente al recolectar las muestras en diferentes estadios fenológicos.

#### Figura 41

*ANOVA de la cantidad total de flavonoides en los estadios fenológicos*

#### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
mg QE/mL	9	0,88	0,84	6,31

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,35	2	0,17	22,59	0,0016
Estadio fenológico	0,35	2	0,17	22,59	0,0016
Error	0,05	6	0,01		
Total	0,40	8			

En la prueba de Duncan los estadios se clasificaron en grupos de tres: grupo (A) estadio de foliación, grupo (B) estadio de fructificación y como grupo (C) estadio de floración, con un p valor menor a 0.05 se determinó que existe cambio estadísticamente significativo entre la cantidad total de flavonoides y el estadio fenológico. Presentando menos concentración de flavonoides en la foliación y mayor contenido de flavonoides en floración como lo representa la figura 42.

#### Figura 42

*Prueba de Duncan para contenido de flavonoides totales*

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,0077 gl: 6

Estadio fenológico	Medias	n	E.E.	
Foliación	1,14	3	0,05	A
Fructificación	1,43	3	0,05	B
Floración	1,62	3	0,05	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## Capítulo V: Discusión

Los aceites esenciales se almacenan dentro de la planta en hojas, flores e incluso tallos. La cantidad y composición del aceite varía según el órgano escogido, generalmente las hojas son las muestras más usadas ya que poseen tricomas glandulares que generan y guardan los aceites esenciales que contienen fenoles, terpenoides, alcoholes y otros compuestos (Camina et al., 2018).

Algunos aceites esenciales de plantas como la menta, eucalipto, orégano entre otros, presentan numerosas actividades entre las más destacadas esta la actividad antioxidante, antimicrobiana y herbicida. Estas actividades ayudan a que sean posicionados como conservantes naturales beneficiando así al ambiente y la salud humana al reemplazar productos de origen sintético (Ibáñez & Blázquez, 2021).

El cambio en el porcentaje de rendimiento se debe a la parte utilizada, recolección, clima, origen, especie, disposición de la muestra y a la extracción principalmente (Ochoa Pumaylle et al., 2012). En este trabajo se obtuvo diferentes porcentajes de rendimiento en los tres estadios fenológicos, obteniéndose mayor porcentaje en el estadio de floración con 0.5% seguido del estadio de fructificación con 0.3% y foliación con 0.2%.

En otras investigaciones con arrayán, usando el método de arrastre de vapor, se han obtenidos diferentes rendimientos como: *Luma chequen* (Molina) A. Gray con 0.049 % (Moína, 2015), *Myrcianthes rhopaloides* (Kunt) McVaugh 0.28% (Silva et al., 2016), *Myrcianthes fragans* McVaugh 0.36%. Además la familia *Myrtaceae* se caracteriza por rendimientos que oscilan entre 0.18-0.30% (Maldonado & Dacarro, 2007). Señalando que el estadio de foliación y fructificación están dentro de los rangos de rendimiento típicos de esta familia, pero se recalca que el estadio de floración supera el porcentaje delimitado.

El porcentaje de rendimiento en el estadio fenológico de floración fue de 0.5 %, siendo un porcentaje bajo en relación al óptimo que va desde 1% a 3% (Granados et al., 2014). Sin embargo se menciona que para aceites esenciales de esta familia, con otros métodos de extracción, como

hidrodestilación muestra un rango que va desde 0.5 hasta el 2% (Gonzales et al., 2010), indicando así que el porcentaje obtenido está dentro del rango aceptable.

Ibáñez y Blázquez (2021) señalan que, DPPH, ABTS y FRAP son las pruebas más utilizadas para evaluar el poder antioxidante. En general, estas pruebas mediante una reacción dada por un antioxidante y un radical libre evalúan la capacidad antioxidante. Si se jerarquizaran según su uso, en primer lugar se ubica la prueba de DPPH debido a su exactitud, costo reducido y facilidad de ejecución. Por otro lado ABTS tiende en cambio a encontrar variaciones en el mismo antioxidante y la prueba de FRAP es utilizada como complemento, para analizar a profundidad el poder antioxidante. Debido a la estructura del radical DPPH, esta prueba es más específica que ABTS, ya que no se puede llegar con facilidad al sitio activo, permitiendo evaluar la capacidad antioxidante de manera eficaz (Rojano et al., 2008). Combinar pruebas de poder antioxidante permite la obtención de un estudio más completo respecto a la capacidad de inhibir de la muestra estudiada.

El poder antioxidante de la familia *Myrtaceae* a lo largo del desarrollo del estadio fenológico está influenciada por compuestos que conforman la especie, estos se pueden aglomerar dependiendo del ciclo de desarrollo. Estudios similares con *M. communis* L. en la prueba de DPPH señalan que, se alcanza mayor capacidad antioxidante en floración y menor capacidad antioxidante en foliación (Gardeli et al., 2008). Concordando con los resultados expresados en la figura 4, al realizar la prueba de DPPH al aceite de arrayán en los tres estadios fenológicos, con un porcentaje de inhibición en floración de 42.81% y foliación con 28.54%. Los resultados respecto a la capacidad antioxidante también pueden estar influenciados por el órgano y tipo de extracción (Sharifi-Rad et al., 2017), edad de la planta, etapa de recolección y condiciones ambientales (Guerrero & Pozo, 2016). Además el cambio de color presentado al realizar la prueba de DPPH, se atribuye a la transferencia de hidrógeno del antioxidante hacia el radical DPPH produciéndose un aclaramiento en el color violeta (Li et al., 2022).

Estudios respecto a la actividad antioxidante con la prueba DPPH en aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* (Kunth) Mc Vaugh, arrojan resultados en el porcentaje de inhibición de 26.40 % para diluciones uno en tres (Al-Khayri et al., 2023). Comparativamente, usando como método de extracción hidrodestilación en lavanda en el ensayo DPPH mostró 12% de inhibición, en cambio el mirto en la misma prueba mostro un 41 % (Bungau et al., 2023). Respecto al aceite de arrayán de este trabajo en el estadio de floración se obtuvo 42.81 % de porcentaje de inhibición, lo cual se considera aceptable en relación con otros resultados.

El ABTS antes de ser oxidado por el persulfato de potasio es incoloro, después de la reacción toma un color verdoso y cuando el antioxidante neutraliza al radical ABTS•+ vuelve a ser incoloro. El radical formado se va descomponiendo por ello es importante medir a tiempo las absorbancias de los blancos. Algunos antioxidantes en treinta minutos aún muestran actividad con el radical ABTS, demostrando que los valores de la medición se pueden afectar al pasar desde el radical ABTS hasta ABTS. La longitud de onda utilizada en la prueba de ABTS varia aproximadamente desde 400-800 nm, siendo 734nm la longitud de onda óptima para que no exista confusiones con otros compuestos, al utilizar dicha longitud se evita valores sobreestimado (Vukovic et al., 2023).

Los valores de porcentaje de inhibición pueden varían debido a la medición de las absorbancias, específicamente al modificar factores como el tiempo de reacción del reactivo con el antioxidante. En condiciones específicas con seis minutos de tiempo de reacción con el antioxidante y dieciséis horas de elaboración del ABTS se tiene una conversión del 60% (Ilyasov et al., 2020). En este estudio se realizaron condiciones ligeramente diferentes, con 7 minutos de reacción del radical con el antioxidante y 72 horas después de agregar persulfato de potasio al ABTS. Se observó una conversión del 70% del radical, lo que influyó en los valores obtenidos del porcentaje de inhibición.

Granados et al. (2014) señala en su estudio para evaluar el poder antioxidante de *Myrcianthes leucoxylla* (Ortega) Mc Vaugh perteneciente a la familia *Myrtaceae*, usando la técnica de arrastre con

vapor y aplicando el ensayo ABTS, obtuvo un porcentaje de inhibición de 41.04%. Siendo los resultados congruentes para los obtenidos en aceite esencial de nuestra especie con 47.15% en floración, 37.86% en fructificación, 32.91% en foliación. La estadística indica que no hay cambios significativos, lo que permite establecer una relación entre estos valores y los obtenidos en otras pruebas.

Guerrero y Pozo (2016) sugieren que, al comparar las pruebas DPPH y ABTS en la evaluación del carácter antioxidante, por el método ABTS hay un ligero aumento del porcentaje de inhibición en comparación con DPPH. Esta comparación se llevó a cabo mediante Kruskal-Wallis en los estudios de *Myrciantes rhopaloides* (Kunth) Mc Vaugh respecto a otros aceites esenciales, afirmando que no existe diferencias entre los valores obtenidos, indicando que el método no manda sobre el porcentaje de inhibición.

Zenil et al. (2014), en su estudio de relación entre estos métodos de evaluación de carácter antioxidante en extractos de rosa encontró un  $R^2$  de 0.91. Este hallazgo sugiere que la capacidad antioxidante puede determinarse con cualquiera de los dos métodos, ya que sus valores no representan una variación significativa. Esto se debe a que tienen similar mecanismo, en ambos casos interviene un radical con un color característico y la variación del color del cromóforo es igual al contenido de antioxidante presente en la muestra. Siendo congruente con lo presentado en la figura 21 de este trabajo, señalando que indistintamente del método, se obtiene un mayor porcentaje de inhibición en el estadio fenológico de floración.

El método FRAP se diferencia de ABTS y DPPH al medir los antioxidantes reductores del complejo del ion férrico a ferroso mientras que las otras pruebas neutralizan radicales libres. El tiempo de reacción de FRAP varía entre 4 a 6 minutos, debido a que se considera la rapidez de las reacciones redox que suceden en este tiempo, es así que los resultados pueden variar dependiendo del tiempo utilizado (Huaccho, 2016). En comparación con otras especies de aceites esenciales que utilizan la

prueba FRAP para evaluar los antioxidantes, se obtuvo por ejemplo en el aceite de ruda con similar metodología de elaboración un valor de  $37.65 \mu\text{M Fe}^{2+}/\text{mL}$  (Romero & Reasco, 2022).

(Gardeli et al., 2008) relaciona el tiempo de recolección de las muestras respecto al contenido fenólico en *Myrtus communis* L. Al medir el poder reductor del ion férrico en tres meses, obteniendo mayor resultado entre mayo y agosto donde indica que la planta alcanza máxima floración y valores de  $70.2 \mu\text{M Fe}^{2+}/\text{mL}$ . Los resultados obtenidos por *Myrcianthes halli* (O. Berg) Mc Vaugh están por encima de los descritos en literatura respecto a otros. En el estadio de floración, en el mes de julio alcanza un valor de  $74.78 \mu\text{M Fe}^{2+}/\text{mL}$ .

El contenido fenólico total depende de la especie, disolvente y proceso de obtención de la muestra. Se observan variaciones al usar hexano y etanol, a mayor polaridad del solvente se obtendrá mayor concentración de contenidos fenólicos (Chaquilla et al., n.d.). En investigaciones que relacionan los extractos de plantas con aceites esenciales mencionan que se tendrá mayor contenido fenólico en los extractos y menor contenido en aceites, por la estructura química de cada uno de ellos y por el método usado para extraer la muestra (García et al., 2019).

La cantidad de contenido fenólico se puede ver afectada por el solvente usado en la dilución de las muestras. En el caso de aceite extraído de semillas de mirto, con solventes polares n-hexano y 2 metiltetrahidrofirano. Se observó mayor cantidad de contenido fenólico total en el solvente con más polaridad. Los resultados expresados en ácido cafeico fueron  $14.05 \text{ mg/mL}$  mientras que con el solvente n-hexano el valor fue de  $0.45 \text{ mg/mL}$  es decir a mayor polaridad del solvente, mayor cantidad de contenido fenólico (Fadda et al., 2023).

García et al. (2019), en el análisis del contenido fenólico total para aceite esencial de lavanda, menta y eucalipto usando destilación por arrastre de vapor, dilución en etanol al 95% y ácido gálico como referente para los valores obtenidos indicó  $1.34$ ,  $1.2$ ,  $1.23 \text{ mg GAE/mL}$  respectivamente. En

comparación con estos aceites esenciales en las mismas condiciones, se obtuvo un buen resultado significativamente mayor en nuestra especie estudiada, con un valor superior a 7 mg GAE/mL.

El contenido fenólico puede tener variaciones dependiendo del estado estacionario y la hora de recolección de las muestras. Se observa que en la mañana se obtiene mayor cantidad de aceite esencial respecto al medio día, ya que los compuestos químicos difieren dependiendo del instante en el que son recolectados. En la época húmeda hay mayor contenido fenólico ya que en la época seca empiezan a morir algunos órganos de las plantas (Linde et al., 2016). Este fenómeno podría estar relacionado con este estudio, ya que las muestras para el aceite esencial de *Myrcianthes hallii* (O. Berg) Mc Vaugh, fueron recolectadas en la mañana en un tiempo establecido. En este caso el estadio de fructificación y floración no tienen variación significativa, ambos indican un contenido fenólico total superior al de foliación. Esto puede ser porque en Ecuador la época seca termina a finales de febrero, momento en el cual se recolectaron las muestras del estadio de foliación.

Los flavonoides están presentes en las plantas, sin embargo su cantidad depende del órgano de la planta, especie y condiciones ambientales. Se caracterizan por su carácter antioxidante, además de sus actividades antitumorales, antialérgicos, vasodilatadoras, antivirales y antimicrobianas (Carmona & Alejandra, 2023). Dentro de la planta, los flavonoides cumplen funciones de defensa, aportan color a las flores y hojas y cierto sabor a los frutos (Varas, 2004).

Para la cantidad total de flavonoides en aceite esencial de nuestra especie de arrayán, respecto a los estadios fenológicos no se han realizado investigaciones todavía, ya que sus estudios se orientan a analizar los extractos. Pero hay resultados de aceites esenciales con métodos similares de obtención y pruebas comparables. Por ejemplo, el aceite esencia de orégano presenta un valor de flavonoides totales expresados en quercetina de 0.28 mg QE/mL (Costa et al., 2020). Aunque los valores varían independientemente del estadio fenológico, oscilando entre 1.62 mg QE/mL y 1.14 mg QE/mL, sigue siendo un valor relativamente alto en comparación con otros.

Los valores de la prueba de tricloruro de aluminio para determinar la cantidad total de flavonoides expresados en quercetina, pueden cambiar según el proceso de extracción, solvente utilizado, tiempo de reacción y cantidad del reactivo colocado en la muestra. La intervención de estos factores puede conducir a tener valores bajos de TFC (Vasquez, 2018). El color amarillo característico que resulta luego de la reacción del tricloruro de aluminio con la muestra, se da al formarse el complejo estable en presencia de etanol y así no interfieren otros compuestos fenólicos en la medición de estos (Torres, 2018).

## Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones

### Conclusiones

Se obtuvo aceite esencial de las hojas de arrayán mediante el proceso de destilación con arrastre de vapor. La recolección se realizó en diferentes estadios fenológicos, obteniéndose 2 mL en floración con un rendimiento del 0.5%, en fructificación 1.3 mL con un porcentaje de rendimiento de 0.3% y en el estadio de foliación 0.9 mL con un porcentaje de rendimiento de 0.2%.

Mediante el ensayo de Folin se determinó la cantidad total de fenoles con valores de 257.16 mg TPC/L; 7.71 mg GAE/mL para fructificación, seguido de floración con una concentración de 251.90 TPC/L; 7.56 mg GAE/mL y menor contenido de fenoles en foliación con 239.49 mg TPC/L; 7.19 mg GAE/mL. Mediante métodos estadísticos se determinó que existe mayor cantidad total de fenoles en el estadio de fructificación y floración.

Se estableció la presencia de flavonoides en los tres estadios fenológicos del aceite esencial mediante colorimetría y cuantificación con la prueba de tricloruro de aluminio. En la cual se evidenció una variación de color al formarse el complejo estable entre un flavonoide y aluminio. Los valores obtenidos fueron mayoritarios en el estadio de floración con una concentración promedio de 53.98 mg TFC/mL; 1.62 mg QE/mL, un menor resultado presentó foliación con 38.08 mg TFC/mL; 1.14 mg QE/mL y un valor intermedio fructificación con 47.52 mg TFC/mL; 1.14 mg QE/mL.

Se identificó el carácter antioxidante en el aceite esencial mediante las pruebas de ABTS y DPPH, mostrando una inhibición más significativa en floración con 42.81% y para ABTS 47.15%. Dada la selectividad de DPPH, los análisis estadísticos categorizaron en tres grupos las variables, indicando que existe cambio tanto en floración, fructificación y foliación. Sin embargo ABTS no detecta cambio entre floración y fructificación. Estos resultados fueron respaldados por la prueba de FRAP, que confirmó con valores expresados para floración de 78.86  $\mu\text{M Fe}^{2+}$  /mL, seguido de fructificación con 74.98  $\mu\text{M Fe}^{2+}$  /mL y 74.78  $\mu\text{M Fe}^{2+}$  /mL en foliación, que existe mayor capacidad antioxidante en el estadio de floración.

En conclusión se obtuvo mayor capacidad antioxidante en el estadio fenológico de floración debido a los altos porcentajes de inhibición presentados en las pruebas. La variación en los resultados se debe a factores que afectan el carácter antioxidante, como factores ambientales, periodos de cosecha, tiempo de recolección de muestra, especie y método utilizado entre otros. Por lo cual es importante aplicar más de una prueba para confirmar los resultados.

### **Recomendaciones**

Se sugiere realizar la extracción del aceite esencial con otros métodos alternativos, como hidrodestilación, para poder aumentar el porcentaje de rendimiento y tener una comparación entre los diferentes procesos de obtención.

Se sugiere recolectar las muestras para destilación en un horario determinado para evitar variaciones en los valores. Además, se recomienda realizar la destilación utilizando otras partes de la planta, como flores, con el fin de obtener diferencias entre los resultados y poder hacer comparaciones.

Se aconseja cumplir rigurosamente el tiempo destinado para cada prueba, dado que un cambio en la variación del tiempo de medición de las absorbancias podría conducir a la obtención de valores erróneos o sobreestimados que afectan a los resultados.

Se recomienda complementar los estudios de capacidad antioxidante mediante la incorporación de pruebas adicionales, como cromatografía de gases, que permite conocer específicamente los componentes individuales del aceite.

## Referencias

- Aidi Wannas, W., Mhamdi, B., Sriti, J., Ben Jemia, M., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Kchouk, M. E., & Marzouk, B. (2010). Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food and Chemical Toxicology*, *48*(5), 1362–1370. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.03.002>
- Al-Khayri, J. M., Banadka, A., Nandhini, M., Nagella, P., Al-Mssallem, M. Q., & Alessa, F. M. (2023). Essential Oil from *Coriandrum sativum*: A review on Its Phytochemistry and Biological Activity. *Molecules*, *28*(2). <https://doi.org/10.3390/molecules28020696>
- Aleksic, V., & Knezevic, P. (2014). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*, *169*(4), 240–254. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.10.003>
- Amensour, M. ., Sendra, E. ., Abrini, J. ., Bouhdid, S. ., & Pérez-Alvarez, J. A.; Fernández-López, J. (2009). Natural Product Communications Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Myrtle. *Natural Product Communications*, *4*(6), 819–824.
- Avanza, M., Mazza, S., Martínez, G., & Giménez, L. (2003). Los Supuestos De Normalidad Y Homocedasticidad, a Concentraciones Foliare De N, P Y K En Mandarino. *Agrotecnia*, *11*, 18–23.
- Balzarini, M., Di Rienzo, J., Tablada, M., Gonzalez, L., Bruno, C., Córdoba, M., & Casanoves, F. (2016). Estadística y biometría: Ilustraciones del uso de Infostat en problemas de agronomía [Statistics and biometrics: Illustrations of the use of Infostat in agronomic problems]. In *Córdoba, Argentina: Editorial Brujas* (Issue December).
- Boom, E. A., Orozco, J. A., Alean, J. D., & Rojano, B. (2018). Evaluation of antioxidant activity of eucalyptus essential oils grown in Colombia. *Informacion Tecnologica*, *29*(6), 57–66.

<https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000600057>

- Bungau, A. F., Radu, A. F., Bungau, S. G., Vesa, C. M., Tit, D. M., Purza, A. L., & Endres, L. M. (2023). Emerging Insights into the Applicability of Essential Oils in the Management of Acne Vulgaris. *Molecules*, 28(17), 1–25. <https://doi.org/10.3390/molecules28176395>
- Camina, J. L., Dambolena, J. S., Zygadlo, J. A., & Ashworth, L. (2018). Chemical composition of essential oils of peltate glandular trichomes from leaves and flowers of *Lepechinia floribunda* (Lamiaceae). *Boletín de La Sociedad Argentina de Botánica*, 53(3), 375–384. <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v53.n3.21312>
- Cárdenas López, E. M. (2014). *Determinación de parámetros de operación para la destilación con vapor de agua del aceite esencial de molle en el equipo modular de extracción de aceites*. 1–196.
- Carmona, J., & Alejandra, C. (2023). Aprovechamiento integral de los residuos generados del Eucalipto (*Eucalyptus* spp.) mediante un proceso de extracción secuencial para la obtención de aceite esencial, polifenoles, flavonoides y etanol. *Universidad Mariana*, 78.
- Carvajal, P. C., Coppo, E., Di Lorenzo, A., Gozzini, D., Bracco, F., Zanoni, G., Nabavi, S. M., Marchese, A., Arciola, C. R., & Daglia, M. (2016). Chemical characterization and in vitro antibacterial activity of *myrcianthes hallii* (O. Berg) mcVaugh (Myrtaceae), a traditional plant growing in Ecuador. *Materials*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/ma9060454>
- Cayuela, L. (2014). Modelos lineales : Regresión , ANOVA y ANCOVA. *R-Project*, 36.
- Chaquilla, G., Waldir, Q., Escalante, D. E., Torres, V., & Ballinas, M. D. L. (n.d.). *Composición química y contenido de fenoles totales en aceites esenciales de muña *Minthostachys setosa* Briq Epl y anís *Pimpinella anísium* L . Chemical composition and total phenols of essential oils from muña *Minthostachys setosa* Briq EPL and anise *Pimpinella*. 107–111.*

- Chávez Daquilema, J. D. C. (2016). Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de hojas de arrayán (*Myrcianthes hallii*), in vitro por inhibición de la hialuronidasa e in vivo en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*). *Facultad de Ciencias, Bachelor*, 91.  
<http://dspace.esoch.edu.ec/handle/123456789/5030>
- Cheng, Y.-L., Lee, C.-Y., Huang, Y.-L., Buckner, C. A., Lafrenie, R. M., Dénomée, J. A., Caswell, J. M., Want, D. A., Gan, G. G., Leong, Y. C., Bee, P. C., Chin, E., Teh, A. K. H., Picco, S., Villegas, L., Tonelli, F., Merlo, M., Rigau, J., Diaz, D., ... Mathijssen, R. H. J. (2016). We are IntechOpen , the world ' s leading publisher of Open Access books Built by scientists , for scientists TOP 1 % . *Intech*, 11(tourism), 13. <https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>
- Contreras Puentes, E., & Ruiz Pérez, J. D. (2012). *Estudio comparativo de dos métodos de extracción para el aceite esencial presente en la cáscara de Pomelo (Citrus maxima)*. 1–101.
- Costa, F., Del Toro, C., Wong, F., Robles, M., Cárdenas, J., & Borboa, J. (2020). Aceites esenciales para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) y efecto sobre la calidad del grano de maíz *Zea mays* Linnaeus (Poales: Poaceae). *Revista Chilena de Entomología*, 8994, 639–652.
- Decana, P., Jorge, A., & Luna, C. (2017). *Universidad Nacional Mayor de San Marcos Actividad antimicrobiana , antioxidante in vitro y determinación de la composición química de tres aceites esenciales del género Senecio del Perú Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico Julio Reyna*.
- Depetris-Chauvin, A., Fernández-Gamba, Á., Gorostiza, E. A., Herrero, A., Castaño, E. M., & Ceriani, M. F. (2014). Mmp1 Processing of the PDF Neuropeptide Regulates Circadian Structural Plasticity of Pacemaker Neurons. *PLoS Genetics*, 10(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004700>

- Dhouibi, I., Flamini, G., & Bouaziz, M. (2023). Comparative Study on the Essential Oils Extracted from Tunisian Rosemary and Myrtle: Chemical Profiles, Quality, and Antimicrobial Activities. *ACS Omega*, *8*(7), 6431–6438. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c06713>
- Echegaray, N., Pateiro, M., Munekata, P. E. S., Lorenzo, J. M., Chabani, Z., Farag, M. A., & Domínguez, R. (2021). Measurement of antioxidant capacity of meat and meat products: Methods and applications. *Molecules*, *26*(13). <https://doi.org/10.3390/molecules26133880>
- Esther, M., Alarcón, T., Pájaro, N. P., & Méndez, G. L. (2017). *esenciales de diferentes especies del género Citrus Resumen Antibacterial activity in vitro of essential oils Introducción*. *46*(2), 160–175.
- Fadda, A., Montoro, P., Urso, G. D., Ravasio, N., Zaccheria, F., & Sanna, D. (2023). *Sustainable Extraction Methods Affect Metabolomics and Oxidative Stability of Myrtle Seed Oils Obtained from Myrtle Liqueur By-Products : An Electron Paramagnetic Resonance and Mass Spectrometry Approach*.
- Gan, R. Y., Chan, C. L., Yang, Q. Q., Li, H. Bin, Zhang, D., Ge, Y. Y., Gunaratne, A., Ge, J., & Corke, H. (2018). Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains. In *Sprouted Grains: Nutritional Value, Production, and Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811525-1.00009-9>
- García, M., Gutierrez, M., Hernandez, N., García, R., Labastida, F., & Guajardo, J. (2019). Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de aceites esenciales y extractos de plantas aromáticas. *XXVIII Verano de La Ciencia*, *21*, 1–7.
- Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., & Komaitis, M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, *107*(3), 1120–1130. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.036>
- Gerasimova, E., Gazizullina, E., Kolbaczkaya, S., & Ivanova, A. (2022). The Novel Potentiometric Approach

- to Antioxidant Capacity Assay Based on the Reaction with Stable Radical 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Antioxidants*, *11*(10). <https://doi.org/10.3390/antiox11101974>
- Gonzales, P., Mansilla, A., & Rengifo, L. (2010). Extracción de aceite esencial de *Myrtus communis* L. y estudio de su actividad antimicrobiana. *Peruvian Green Chemistry*, 1–34.
- Gorjian, H., & Khaligh, N. G. (2023). Myrtle: a versatile medicinal plant. *Nutrire*, *48*(1). <https://doi.org/10.1186/s41110-023-00194-y>
- Granados, C., Yáñez, X., & Acevedo, D. (2014). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *myrcianthes leucoxylla* de Norte de Santander (Colombia). *Informacion Tecnologica*, *25*(3), 11–16. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000300003>
- Guerrero, P., & Pozo, K. (2016). Evaluación de la capacidad antioxidante bioautográfica de cinco variedades de aceites esenciales andinos. *Tesis*, 1–92. [http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf%0Afile:///C:/Users/Usuario/Desktop/Camila/papers 1/31.pdf](http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf%0Afile:///C:/Users/Usuario/Desktop/Camila/papers%201/31.pdf)
- Huaccho, C. (2016). *Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y carotenoides, antocianinas de 84 cultivares de mashua (Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón)*. 118.
- Ibáñez, M. D., & Blázquez, M. A. (2021). Curcuma longa l. Rhizome essential oil from extraction to its agri-food applications. a review. *Plants*, *10*(1), 1–31. <https://doi.org/10.3390/plants10010044>
- Ilyasov, I. R., Beloborodov, V. L., Selivanova, I. A., & Terekhov, R. P. (2020). *ABTS / PP Decolorization Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways*.
- Jaramillo, B. E., Duarte, E., & Martelo, I. (2011). Volatile chemical composition of the essential oil from Colombian *Eryngium foetidum* L. and determination of its antioxidant activity. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, *16*(2), 140–150.

- Jaramillo, K. (2013). Evaluación De Medios De Cultivo Para La Micropropagación De Arrayán ( *Myrcianthes Hallii* ). *Universidad Central Del Ecuador*, 1–87.  
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1103/1/T-UCE-0004-17.pdf>
- Lara, J. E. L. (2021). *Determinación de tratamientos pregerminativos en semillas de Morella Pubescens (Humb. & Bonpl. Ex Willd.) Wilbur y Myrcianthes hallii (O. Berg) Mc Vaugh, Ibarra, Ecuador*. 134.  
<http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/11891>
- Li, M., Zhao, X., & Xu, M. (2022). Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oil from *Allium tenuissimum* L. Flowers. *Foods*, 11(23).  
<https://doi.org/10.3390/foods11233876>
- Linde, G., Canauto, B., & Gazil, Z. (2016). Quimiotipos, Extracción, Composición y Aplicaciones del Aceite Esencial de *Lippia alba*. *Rev. Bras. Pl. Med., Campinas*, 18, 191–200.
- Llamocca, M. (2018). Universidad Nacional De San. *Universidad Nacional de San Martín*, 1, 1–125.  
[http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/2418/TP\\_AGRO\\_00662\\_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/2418/TP_AGRO_00662_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Maharik, N. Al, Jaradat, N., Hajj, N. Al, & Jaber, S. (2023). *Myrtus communis* L. : essential oil chemical composition , total phenols and flavonoids contents , antimicrobial , antioxidant , anticancer , and  $\alpha$  - amylase inhibitory activity. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 1–13.  
<https://doi.org/10.1186/s40538-023-00417-4>
- Maldonado, M. E., & Dacarro, C. (2007). Análisis de la composición del aceite esencial de *Myrcianthes rhopaloides* (Kunth in H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae, y evaluación de su actividad biológica. *La Granja*, 6(2), 17. <https://doi.org/10.17163/lgr.n6.2007.03>
- Martin, D. (2018). Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad

- Biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9, 81–104.  
<https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/1968/2813>
- Melo-Guerrero, M. C., Ortiz-Jurado, D. E., & Hurtado-Benavides, A. M. (2020). Comparison of the composition and antioxidant activity of the chamomile essential oil (*Matricaria chamomilla* L.) obtained by supercritical fluids extraction and other green techniques. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 44(172), 845–856.  
<https://doi.org/10.18257/RACCEFYN.862>
- Mendonça, J. da S., Guimarães, R. de C. A., Zorretto-Pinheiro, V. A., Fernandes, C. D. Pietro, Marcelino, G., Bogo, D., Freitas, K. de C., Hiane, P. A., Melo, E. S. de P., Vilela, M. L. B., & Do Nascimento, V. A. (2022). Natural Antioxidant Evaluation: A Review of Detection Methods. *Molecules*, 27(11), 1–37. <https://doi.org/10.3390/molecules27113563>
- Mimica-Dukic, N., Bugarin, D., Grbovic, S., Mitic-Culafic, D., Vukovic-Gacic, B., Orcic, D., Jovin, E., & Couladis, M. (2010). Essential oil of *myrtus communis* L. As a potential antioxidant and antimutagenic agents. *Molecules*, 15(4), 2759–2770.  
<https://doi.org/10.3390/molecules15042759>
- Mirallas, E. (2018). *Evaluación de la actividad antioxidante y antiinflamatoria in vitro de extractos hidroalcohólicos de hojas de Myrcianthes hallii*. 85.
- Moina, V. (2015). *Actividad antibacteriana in vitro de colutorios elaborados con aceites esenciales de Luma chequen (Feuilleé ex Mo/ina) A.Gray "ARRAYÁN" Y Minthostachys spicata (Benth). Epling "YURAQ MUÑA" FRENTE A LA CEPA DE Streptococcus mutans ATCC*. 158.
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7).

<https://doi.org/10.3390/ijms22073380>

Ochoa Pumaylle, K., Paredes Quiroz, L. R., Bejarano Luján, D. L., & Silva Paz, R. J. (2012). Extraction, characterization and evaluation of antibacterial activity of essential oil of *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). *Scientia Agropecuaria*, 3, 291–302.

<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2012.04.03>

Othman, A., Ismail, A., Abdul Ghani, N., & Adenan, I. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry*, 100(4), 1523–1530.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.021>

Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2017). [Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos]. Phenolic Compounds in Food. *Revista Boliviana De Química*, 31, 68–81.

<https://www.redalyc.org/pdf/4263/426339682006.pdf>

Pregowska, A., Konowrocki, R., & Szolc, T. (2012). Experimental verification of the semi-active control concepts for torsional vibrations of the electro-mechanical system using rotary magneto-rheological actuators. *Vibrations in Physical Systems*, 25(1), 329–334.

<https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418>

Rios, M., Tinitana, F., Jarrín-v, P., Donoso, N., & Romero-Benavides, J. C. (2017). “Horchata” drink in Southern Ecuador: Medicinal plants and people’s wellbeing. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 13(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s13002-017-0145-z>

Rojano, B., Gaviria, C., Gil, M., Saez, J., Guillermo, S., & Tournier, H. (2008). Actividad Antioxidante Del Isoespintanol En Diferentes Medios Antioxidant Activity of the Isoespintanol in Different Media. *Vitae, Revista de La Facultad de Química Farmacéutica*, 15(1), 173–181.

<http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v15n1/v15n1a21.pdf>

- Romero, L., & Reasco, C. (2022). *Extracción de aceite esencial de ruda (Ruta graveolens) mediante la metodología de arrastre de vapor*. 99.
- Sarmiento, C. (2020). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*), obtenido a partir de dos pretratamientos. *Repositorio de La Universidad Politécnica Salesiana*, 2–83. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18905/1>
- Segura, J. (2022). *Diseño para la obtención de aceite esencial con base al aprovechamiento de la semilla del aguacate utilizando diferentes especies*. 1–23.  
<http://repository.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/9100>
- Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G. C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., Tundis, R., Sharifi-Rad, M., Loizzo, M. R., Oluwaseun Ademiluyi, A., Sharifi-Rad, R., Ayatollahi, S. A., & Iriti, M. (2017). Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems. In *Molecules* (Vol. 22, Issue 1). <https://doi.org/10.3390/molecules22010070>
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *Lwt*, 150(June), 111932.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>
- Silva, D., Matulevich, J., & Devia, B. (2016). *Composición química del aceite esencial de hojas de Myrcianthes rhopaloides (Kunt) McVaugh*. 12, 84–91.
- Souza, R., Mello, A., Toebeb, M., & Bittencourt, K. (2023). Tamaño de muestra y prueba de Shapiro-Wilk: un análisis del rendimiento de grano de soja. *Revista Europea de Agronomía*, 1–6.
- Torres, V. (2018). *Contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante de Brachyotum naudinii Triana "qihwncha"*. Universidad Nacional de San Cristobal de Huamanga.
- Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Classification of Phenolic Compounds in Plants. *Polyphenols*

- in Plants*, 263–284. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813768-0.00026-8>
- Varas, D. (2004). Análisis de flavonoides en plantas medicinales del sur de Chile. *Universidad Austral de Chile*, 55.
- Vasantha Rupasinghe, H. P., Nair, S. V. G., & Robinson, R. A. (2014). Chemopreventive Properties of Fruit Phenolic Compounds and Their Possible Mode of Actions. In *Studies in Natural Products Chemistry* (1st ed., Vol. 42). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63281-4.00008-2>
- Vasquez, J. (2018). Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de *Berberis flexuosa* R. & P. In *Universidad Nacional San Cristobal de Huamanga*.
- Vega, A., De León, J. A., & Reyes, S. M. (2017). Determinación del Contenido de Polifenoles Totales, Flavonoides y Actividad Antioxidante de 34 Cafés Comerciales de Panamá. *Informacion Tecnologica*, 28(4), 29–38. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000400005>
- Vukovic, N. L., Galovič, L., Kluz, M. I., Puchalski, C., & Bakay, L. (2023). *Salvia sclarea* Essential Oil Chemical Composition and Biological Activities.
- Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2019). Phenolic Compounds. In *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>
- Zeb, A. (2020). Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *Journal of Food Biochemistry*, 44(9), 1–22. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13394>
- Zenil, N., Colinas León, M. T., Bañuelos, C. B., Vázquez Rojas, T. R., Lozoya Saldaña, H., & Martínez Damián, M. T. (2014). Total phenols and antioxidant capacity estimated with DPPH/ABTS assays in roses on preservative solutions. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(6), 1029–1039.

Ziyatdinova, G., Kalmykova, A., & Kupriyanova, O. (2022). Constant–Current Coulometry with Electrogenerated Titrants as a Novel Tool for the Essential Oils Screening Using Total Antioxidant Parameters. *Antioxidants*, *11*(9). <https://doi.org/10.3390/antiox11091749>

## Apéndices