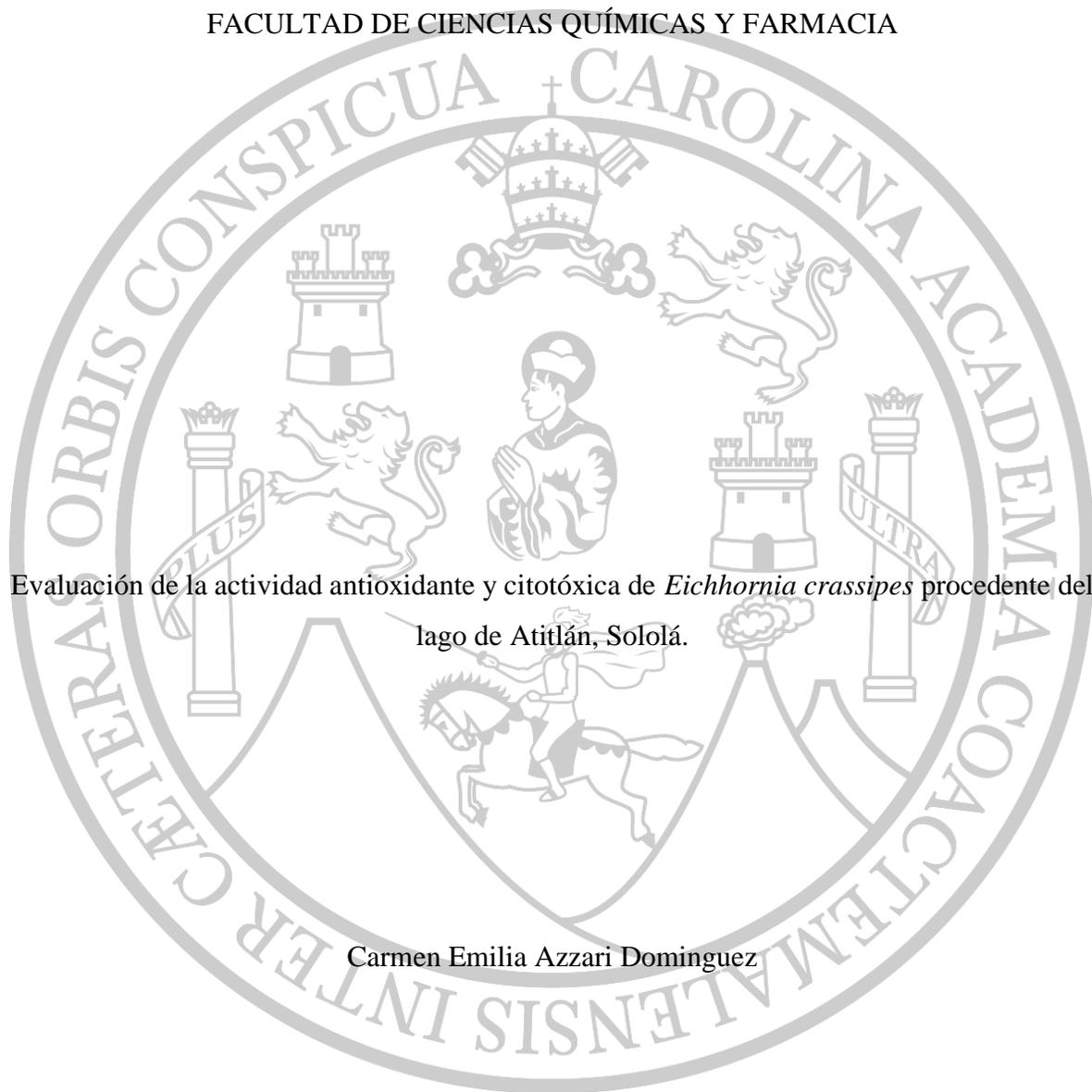


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Evaluación de la actividad antioxidante y citotóxica de *Eichhornia crassipes* procedente del lago de Atitlán, Sololá.

Carmen Emilia Azzari Dominguez

Química Farmacéutica

Guatemala, septiembre de 2022

## **Junta Directiva**

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto	Decano
Lcda. Miriam Roxana Marroquín Leiva	Secretaria
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal I
Dr. Roberto Enrique Flores Arzú	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Carmen Amalia Rodríguez Ortiz	Vocal IV
Br. Paola Margarita Gaitán Valladares	Vocal V

## **Agradecimientos**

A mis abuelas, por ser mi guía y las raíces que sostienen lo que soy.

A mi padre, por inculcarme el amor al conocimiento, enseñarme a luchar por mis convicciones y apoyarme en la búsqueda de un mejor futuro.

A mi hermano, por brindarme consejos que impulsaron el inicio de este trabajo de investigación.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, especialmente a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por brindarme herramientas y conocimientos para desarrollarme profesionalmente.

A la Dra. Sully Cruz, por creer en mis ideas, brindarme su tiempo y asesoría en la realización de este trabajo.

A la Msc. Nereida Marroquín, por confiar en mis capacidades y aconsejarme en la realización de este proyecto.

A Layla y Daniel, por su solidaridad y colaboración para la realización de esta investigación.

Al Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, por proporcionarme un espacio y los recursos necesarios para realizar este trabajo de investigación. Sin la ayuda de su equipo de trabajo, esta investigación no habría sido posible.

A los profesores y profesoras que me brindaron conocimientos a lo largo de mi vida académica y me inspiraron a aplicar la ciencia por el bien común.

A la naturaleza y a las personas que velan por la protección de la misma.

## **Dedicatoria**

- A mis padres: María Linda Dominguez y Jorge Azzari, por haberme brindado cariño, protección, comprensión y apoyo incondicional durante el poco tiempo que coincidimos en lo terrenal.
- A mis abuelas: Yoli y Milita, sin su inmenso amor y consejos no habría llegado a ser la persona que soy ahora. Son luz, inspiración y un ejemplo a seguir.
- A mi hermano: Jorge Luis, por su paciencia y sabios consejos.
- A Tina y Rosita: Por cuidarme y apoyarme siempre.
- A mis amigas: Irma y Paola, por el cariño, aventuras, risas y estar siempre a mi lado durante los momentos difíciles.
- A mis amigos: Blanca, Marcos, Gaby, Kitze y Pablo, por haberme acompañado durante mi vida universitaria y brindarme su apoyo y amistad.
- A mis primos: En especial a Layla, por ser como una hermana para mí.
- A mis tíos: Berlen y René, por acompañarme desde que era una niña y brindarme su cariño y apoyo cuando más lo he necesitado.
- A mis sobrinas: Melina y Sofía, y a las niñas y niños del mundo. Que su derecho a la educación y sus sueños nunca les sean arrebatados.
- A Mochis: Por haber sido mi acompañante fiel durante los momentos de estrés y las noches de desvelo.

## Índice

1. Resumen	1
2. Introducción	3
3. Marco teórico	4
3.1 Descripción botánica	4
3.2 Hábitat	5
3.3 Presencia en Lago de Atitlán, Sololá	5
3.4 Usos	5
3.4.1 Usos comestibles	5
3.4.2 Usos medicinales	5
3.5 Composición química	6
3.6 Actividad antioxidante	7
3.7 Compuestos fenólicos	8
3.7.1 Flavonoides.	8
3.8 Evaluación de la actividad antioxidante	9
3.8.1 Ensayo de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	10
3.8.2 Ensayo de ABTS	10
3.8.3 Ensayo FRAP	11
3.9 Actividad citotóxica	12
3.9.1 Determinación de la citotoxicidad por medio del ensayo de <i>Artemia salina</i>	12
3.10 Determinación del factor de protección solar (FPS)	13
4. Antecedentes	15
5. Justificación	18
6. Objetivos	19
7. Hipótesis	20
8. Materiales y métodos	21
9. Resultados	33
10. Discusión	38
11. Conclusiones	43
12. Recomendaciones	45
13. Referencias	46
14. Anexos	52

## 1. Resumen

*Eichhornia crassipes* es una planta acuática caracterizada por ser una maleza flotante de lagos y ríos de agua dulce. En Guatemala se ha identificado la presencia de *Eichhornia crassipes* en aguas dulces, como el lago de Atitlán, Sololá. Esta es una especie invasora que puede afectar la biodiversidad de los cuerpos de agua dulce, suprimiendo el crecimiento de plantas nativas (Degaga, 2018). En países como Egipto e India, se ha reportado que esta especie posee potencial actividad antioxidante y citotóxica. Sin embargo, no se han realizado estudios en Guatemala que evalúen su actividad terapéutica. Mediante la evaluación de sus propiedades terapéuticas, ya sea antioxidantes, fotoprotectoras y citotoxicidad, se busca brindar alternativas para controlar este problema ambiental y contribuir a la aplicación medicinal de esta especie (Aguilar e Iza, 2009).

Esta investigación se enfocó en validar la actividad antioxidante, citotóxica y fotoprotectora de extractos obtenidos de las hojas, peciolo y raíces de *Eichhornia crassipes* para explorar su posible uso medicinal y en cosmética, debido a la necesidad de fuentes de materia prima naturales, las cuales son un importante recurso. Se evaluó la actividad antioxidante mediante el método de DPPH por cromatografía en capa fina y mediante tres métodos cuantitativos DPPH, ABTS y FRAP. La actividad fotoprotectora se determinó mediante la medición del factor de protección solar de cada uno de los extractos, con el fin de demostrar y considerar su uso como aditivo antioxidante en formulaciones que protegen la piel de la luz solar. Además, se estimó la actividad citotóxica de los extractos por medio del cultivo de *Artemia salina* con la finalidad de evaluar la toxicidad y validar su seguridad.

Los resultados mostraron que los extractos etanólicos de las hojas y peciolo poseen mayor actividad antioxidante que los extractos de diclorometano, al presentar valores de  $CI_{50}$  menores. Los extractos de raíces no presentaron actividad significativa ya que se requiere concentraciones por arriba de 20 mg/mL para evidenciar una posible actividad antioxidante. También se detectó la presencia de metabolitos secundarios, como compuestos fenólicos y flavonoides en los extractos de hojas y peciolo, los cuales son compuestos que se relacionan con la actividad antioxidante.

En el ensayo de citotoxicidad se estableció que los extractos de hojas, peciolo y raíces de *Eichhornia crassipes* no presentaron citotoxicidad significativa, ya que menos del 50% de nauplios de *Artemia salina* murieron durante el estudio, lo que evidenció el nivel bajo de daño y toxicidad de los extractos.

El ensayo de factor de protección solar evidenció que los extractos de diclorometano de hojas, peciolo y raíces tienen un factor de protección solar mayor a los extractos etanólicos, por lo que se determinó que estos extractos tienen potencial aplicación en cosmética.

En conclusión, los resultados indican que los extractos etanólicos y de diclorometano de las hojas y peciolo presentan actividad antioxidante. También se evidenció que los extractos etanólicos de hojas y peciolo poseen mayor capacidad antioxidante que los extractos de diclorometano, lo cual podría relacionarse con la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, mostrando una potencial aplicación medicinal. Se demostró que ninguno de los extractos mostró un nivel de toxicidad significativa. Además, se encontró que los extractos de hojas, peciolo y raíces poseen actividad fotoprotectora, siendo los extractos de diclorometano los que poseen un mejor potencial uso en formulaciones fotoprotectoras.

## 2. Introducción

*Eichhornia crassipes* es una planta acuática de tamaño muy variable. Se caracteriza por ser una maleza flotante de lagos y ríos de agua dulce tropicales y subtropicales, especialmente aquellos enriquecidos con nutrientes vegetales (Batcher, 2000; CABI, 2019).

El uso de *Eichhornia crassipes* en diferentes áreas de aplicación, tales como comestibles, agroforestales, control de contaminación y medicinales la convierte en una especie muy importante (Surendraraj, Farvin y Anandan, 2013; Tropical Plants Database, 2021). La investigación científica en esta especie ha mostrado el posible efecto citotóxico y la variedad de compuestos activos con actividad antioxidante, como lo es la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas y poliaminas como homosperina, caldopetamina, espermidina y espermita (Rivera, 2005; Prasetya y Mandang, 2012).

En Guatemala se ha identificado *Eichhornia crassipes*, que se encuentra presente en aguas dulces, como el lago de Atitlán y Amatitlán (DICA, 2015). Esta especie afecta el sistema de los lagos, incluyendo especies autóctonas y hábitat. En el país tiene usos de control de contaminación para el tratamiento de efluentes o aguas residuales (DICA, 2015). Sin embargo, no se han realizado estudios que evalúen su actividad terapéutica. Por lo que, es necesario obtener información sobre dicha especie, ya que puede ser una alternativa para el aprovechamiento de esta planta invasiva en cuerpos de agua del país con un posible uso medicinal (Aguilar e Iza, 2009).

El uso terapéutico de estas plantas se ha reportado desde hace décadas, evaluando su actividad antioxidante de diferentes extractos, debido a la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides y diversos minerales (Surendraraj, Farvin y Anandan, 2013). Es importante que se sigan realizando investigaciones sobre la misma, ya que, es un recurso valioso para la investigación de compuestos naturales con propiedades medicinales, como antioxidantes, antienvjecimiento y anticancerígeno. Además, el determinar el posible efecto citotóxico de la especie con la finalidad de validar la seguridad de su uso y comprobar dicha actividad, en la búsqueda de nuevas posibles fuentes de medicamentos.

### 3. Marco teórico

#### 3.1 Descripción botánica

*Eichhornia crassipes* es una planta acuática de tamaño muy variable; tienen hojas de sólo unos pocos centímetros de diámetro o de altura, mientras que las plantas maduras con buen suministro de nutrientes pueden alcanzar 1 m de altura. Las hojas pueden ser ovaladas a elípticas, gruesas y cerosas. Las hojas iniciales de las plántulas son alargadas y en forma de tirantes, pero en condiciones sin sombra desarrollan pecíolos hinchados que aseguran a las plántulas el flotar en el agua (CABI, 2019; Batcher, 2000).

Las raíces se desarrollan en la base de cada hoja y forman una masa densa. Son de color blanco cuando se forman en la oscuridad total, pero a menudo son púrpura en condiciones de bajos nutrientes. La proporción de la raíz depende de las condiciones de los nutrientes.

Las flores son tristélicas. Tienen seis estambres y un estilo, dispuestos en tres configuraciones posibles, con estilo corto (estambres medianos y largos), estilo medio (estambres cortos y largos) o estilo largo (estambres cortos y medianos). Cada flor tiene un tubo perianto, que se expande en seis lóbulos violeta. El lóbulo principal tiene un parche en forma de diamante de color amarillo rodeado de un púrpura más intenso. Cada cápsula puede contener hasta 450 semillas. La forma de estilo medio es genéticamente dominante y es la forma más común en casi todas las áreas infestadas (CABI, 2019).



**Figura 1.** *Eichhornia crassipes*

Fuente: CABI. (2019). *Eichhornia crassipes* (water hyacinth). Recuperado de:  
<https://www.cabi.org/isc/datasheet/20544#tosummaryOfInvasiveness>

### 3.2 Hábitat

*Eichhornia crassipes* es una maleza flotante de lagos y ríos de agua dulce tropicales y subtropicales, especialmente aquellos enriquecidos con nutrientes. Crece en estanques poco profundos, humedales y marismas, aguas de flujo lento, grandes lagos, embalses y ríos. Pueden tolerar fluctuaciones extremas del nivel del agua, variaciones estacionales en la velocidad del flujo y extremos en la disponibilidad de nutrientes, pH, temperatura y sustancias tóxicas. Se puede encontrar en asociación con una variedad de otras plantas acuáticas de aguas profundas o que flotan libremente (Batcher, 2000; CABI, 2019).

### 3.3 Presencia en Lago de Atitlán, Sololá

Se ha registrado el crecimiento abundante de esta especie en el lago Atitlán. En diferentes muestreos realizados en el lago se ha registrado una mayor abundancia de *Eichhornia crassipes* en sitios de muestreo ubicados en San Pablo La Laguna y San Juan La Laguna, con más del 70% de cobertura. También se registró su presencia en menor cantidad en el relleno, fondo de la bahía de Santiago, Isla de los gatos, Quiscab y Uxlabil (DICA, 2015).

### 3.4 Usos

**3.4.1 Usos comestibles:** se ha descrito que las hojas tiernas, pecíolos y espigas de flores cocidas pueden comerse, además, se utiliza como verdura de mesa por su alto contenido de carotenos.

**3.4.2 Usos medicinales:** en diversos estudios, se menciona que los pecíolos de las hojas se utilizan para el tratamiento de la diarrea. También se utilizan infusiones de los pecíolos inflados para tratar la fiebre.

Diversos estudios relacionados a su actividad biológica se han realizado por considerarse como un recurso valioso para la investigación de compuestos naturales con propiedades medicinales, como antioxidantes, antienvjecimiento y anticancerígeno (Surendraraj, Farvin y Anandan, 2013). Se ha demostrado que las hojas, el pecíolo y los extractos de las raíces de

esta especie poseen una buena actividad antioxidante, mostrando que el contenido fenólico y flavonoides tiene una correlación con esta actividad.

**3.4.3 Usos agroforestales:** esta planta puede usarse para mejorar el suelo o como material de abono. Las plantas secas y limpias se pueden utilizar como fertilizante y mantillo vegetal.

**3.4.4 Otros usos:** estas plantas son fuente de biomasa. Las plantas de *Eichhornia crassipes* contaminadas pueden convertirse en metano, por medio de una fermentación anaeróbica. También se utiliza para tratar aguas residuales y se puede incorporar a un sistema donde la biomasa se recolecta para la producción de combustible. Además, las raíces absorben de forma natural contaminantes, y productos químicos (Tropical Plants Database, 2021).

### 3.5 Composición química

Se han encontrado contenido de cenizas en estas plantas, al igual que se ha determinado la presencia de lignina, holocelulosa, celulosa y hemicelulosa (Lara, Rutiaga, López, Fileto, Pedraza, Rico y Rutiaga, 2016).

En extractos totales, usando agua y etanol como solventes, se ha determinado presencia de taninos. En caracterizaciones fitoquímicas de *E. crassipes* el contenido de minerales de las plantas estudiadas oscila entre 12,4 y 26,8% en peso, lo cual depende de la calidad del agua en donde se encuentra la muestra. Los elementos principales encontrados son silicio, calcio y potasio. Se detectaron altas concentraciones de potasio, cloro y calcio en los tallos, mientras que el potasio y el calcio se encuentran principalmente en las hojas (Lara et al, 2016). En extractos etanólicos y acuosos de *Eichhornia crassipes* se ha determinado la presencia de azúcares reductores, flavonoides y quinonas en los tallos. Sin embargo, la presencia de triterpenoides en los tallos es escasa, al igual que la presencia de taninos. Se ha determinado que los flavonoides tienen una gran capacidad antioxidante, por lo que tienen un papel esencial en la protección del daño oxidativo. Además, en extractos polares y apolares de hojas y tallos se han identificado ácidos carboxílicos y terpenos, como el escualeno (Fileto, Rutiaga, Sytsma, Lorne, Luo y Pankow, 2015; Ben, Ezzariai, Karouach, Sobeh, Kibret, Hafidi, Kouisni y Yasri, 2022).

Por otra parte, se han encontrado compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y saponinas en las hojas de *Eichhornia crassipes*. Las raíces adsorben metales pesados como plomo, mercurio, estroncio, cadmio, zinc, cromo, cobre, níquel y zinc. También se reporta la presencia de saponinas y poliaminas como homosperina, caldopetamina, espermidina y espermita (Rivera, 2005; Prasetya y Mandang, 2012). En las flores se ha determinado la presencia de flavonoides y glicósidos (Lalitha, Sripathi y Jayanthi, 2012).

Según los resultados obtenidos de perfiles de cromatografía de gases-espectrometría de masas, se ha determinado que los compuestos detectados en el extracto de etér de petróleo de *E. crassipes* fueron 2-metil-2-[2-dimetil(fenil)sililprop-2-en-1-il] tetrahidrofurano, 2-fenil(4-pirimidinil) metanonaoxima, ácido dodecanoico, 6,7-dimetoxi-2-tetralona, del cual se reporta actividad y 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol. Este último reporta tener actividad antiinflamatoria, anticancerígena y antioxidante (Manjula, 2018).

Los perfiles de cromatografía de gases-espectrometría de masas de los compuestos detectados en el extracto etanólico de *E. crassipes* muestran que esta planta contiene ácido fosfónico, fenil-metil fenil éster, 5-hidroxi-1-deutero-1,2-pentadieno, fenol, 2-metoxi-5-(1-propenil)-, ácido 2-bromolaurico, cicloheptano, 1.3.5-tris(metileno), 4-(6,6-dimetil-2-metilenociclohex-3-enilideno) pentan-2-ol, 5,5,5-trifluoro-2-metil-4-trifluorometil-1,3-pentadieno, ácido tetradecanoico y loliolida. Los últimos dos compuestos reportan tener actividad antioxidante (Manjula, 2018).

### **3.6 Actividad antioxidante**

El término “antioxidante” hace referencia a una sustancia que, retrasa significativamente o previene la oxidación de un sustrato oxidable. Estos compuestos tienen un papel vital en la preservación de la calidad de los alimentos y el mantenimiento de la salud del ser humano (Sehwag y Das, 2013).

Los compuestos antioxidantes son importantes para los seres humanos, ya que protegen a las células del daño oxidativo de los radicales libres, por lo que cumplen un rol importante en la prevención de ciertas enfermedades y el desarrollo del envejecimiento (CIT, 2003).

### 3.7 Compuestos fenólicos

Existen diversos metabolitos secundarios que poseen actividad antioxidante. Muchas de estas propiedades están asociadas a la presencia de compuestos fenólicos. Su estructura consta de uno o más grupos hidroxilo unido a un anillo aromático y, puede clasificarse desde moléculas simples como los ácidos fenólicos, flavonoides, lignanos y estilbenos, hasta moléculas polimerizadas como los taninos. Los ácidos fenólicos y flavonoides son solubles en agua, mientras que los taninos condensados son insolubles (Hernández, Baquero y Larrota, 2019).

La presencia de compuestos fenólicos puede manifestar propiedades redox en las plantas, lo que les permite actuar como antioxidantes. Esto se debe a su capacidad para captar radicales libres gracias a sus grupos hidroxilo. La actividad antioxidante de los flavonoides, como los flavonoles, flavonas y taninos condensados, depende de la presencia de grupos hidroxilo libres, especialmente 3-OH (Hernández, Baquero y Larrota, 2019).

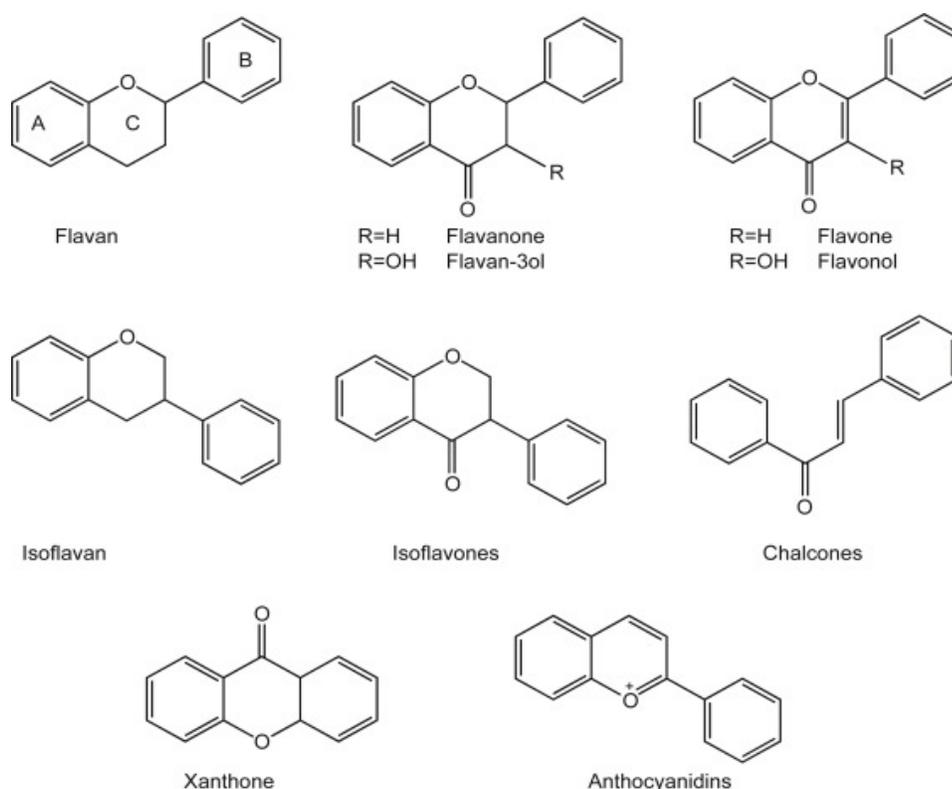
La extracción de compuestos fenólicos puede ser afectada por el tamaño de las partículas de la muestra, el tipo de solvente, la relación de soluto-disolvente, la velocidad de agitación y la eficiencia en la transferencia de masa y temperatura. La pulverización de las muestras mejora la extracción de estos compuestos debido al aumento de la superficie. Además, los solventes orgánicos de alta polaridad, como el etanol, metanol, acetona, acetato de etilo y sus combinaciones con agua se utilizan en dichas extracciones. Su actividad antioxidante está relacionada con el grado de glicosilación, el número y posición de los grupos hidroxilo y su conjugación con otros compuestos; estos tienen la capacidad de donar átomos de hidrógeno o un electrón a los radicales libres para formar compuestos más estables (Hernández, Baquero y Larrota, 2019).

**3.7.1 Flavonoides:** estos son metabolitos secundarios que se clasifican dentro de los polifenoles. Se clasifican en flavonoles, flavonas, flavonoides, flavanonas, antocianidinas e isoflavonas. La actividad antioxidante de los flavonoides se debe a diversos mecanismos, entre los cuales está la disminución de la actividad enzimática de oxidasas como la lipoxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa, NADPH oxidasa y xantina oxidasa. Ciertos

estudios muestran que la inhibición de las NADPH oxidasa previene el aumento de radicales libres. Los flavonoides actúan como captadores de radicales libres porque su estructura estable les permite reducir los radicales reactivos, al convertirlos en radicales aroxilo menos reactivos (Hernández, Baquero y Larrota, 2019).

**Figura 2.** Clasificación de los flavonoides

Fuente: Hernández, P., Baquero, L., & Larrota, H. (2019). Flavonoids: Potential Therapeutic Agents by Their Antioxidant Capacity. *Flavonoids. Bioactive Compounds*, 265–288. doi:10.1016/b978-0-12-814774-0.00014-



1

### 3.8 Evaluación de la actividad antioxidante

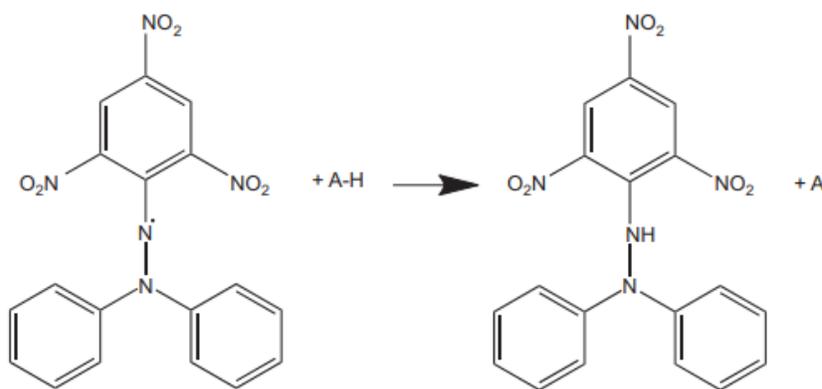
Existen diversos métodos para la evaluación de la capacidad antioxidante, entre los cuales se encuentra el ensayo del poder antioxidante reductor férrico (FRAP), el ensayo de 2,2'-azino-

bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (ABTS), el ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), el ensayo de capacidad antioxidante reductora de iones cúpricos (CUPRAC) y el ensayo de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) (Hernández, Baquero y Larrota, 2019).

**3.8.1 Ensayo de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo):** este método es eficiente, simple, estable, sensible y de bajo costo. El DPPH es un radical libre estable que puede aceptar un electrón o un átomo de hidrógeno de la molécula antioxidante secuestrante; esta reacción provoca un cambio de coloración de violeta a amarillo pálido, lo que indica que existe un DPPH reducido. Cuanto mayor es la capacidad de captura de radicales libres de un compuesto antioxidante, mayor es la reducción de DPPH y menor será la coloración púrpura.

Los resultados se expresan como CE50, que corresponde a la cantidad de muestra necesaria para disminuir la concentración inicial de radicales DPPH en un 50% (Hernández, Baquero y Larrota, 2019).

**Figura 3.** Mecanismo de reacción del radical DPPH con un antioxidante.

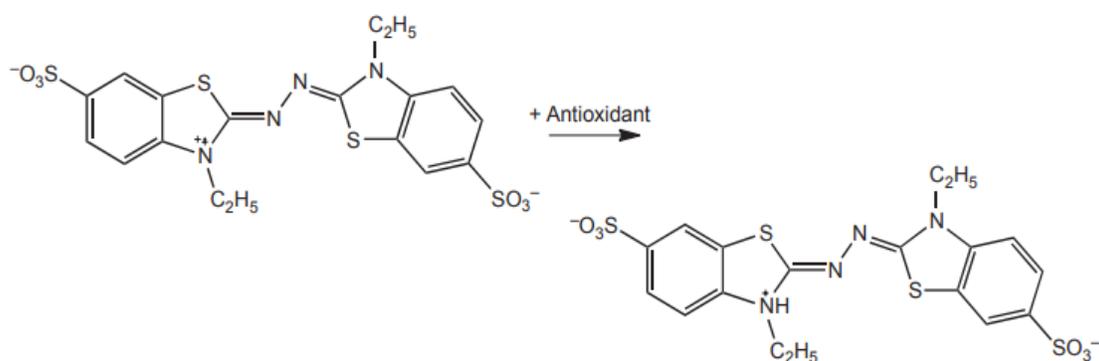


Fuente: Hernández, P., Baquero, L., & Larrota, H. (2019). Flavonoids: Potential Therapeutic Agents by Their Antioxidant Capacity. *Flavonoids. Bioactive Compounds*, 265–288. doi:10.1016/b978-0-12-814774-0.00014-

**3.8.2 Ensayo de ABTS:** el ensayo ABTS es un método que se basa en la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical catiónico coloreado ABTS (2,2 azinobis- (3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfónico)) que puede formarse al oxidar ABTS. El radical

catiónico ABTS se obtiene tras la reacción de ABTS con persulfato potásico. Una vez formado el radical, se diluye con etanol hasta obtener un valor específico de absorbancia. El grado de decoloración permite evaluar el porcentaje de inhibición del radical catiónico ABTS, que se determina en función de la concentración de antioxidante y el tiempo de reacción (Hernández, Baquero y Larrota, 2019; Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini-Filho, & Fett, 2005).

**Figura 4.** Mecanismo de reacción de ABTS con un compuesto antioxidante.

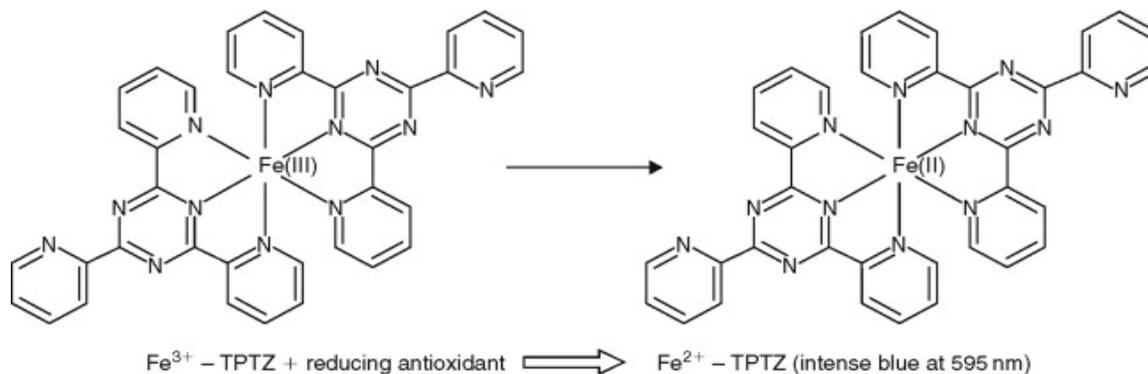


Fuente: Hernández, P., Baquero, L., & Larrota, H. (2019). Flavonoids: Potential Therapeutic Agents by Their Antioxidant Capacity. *Flavonoids. Bioactive Compounds*, 265–288. doi:10.1016/b978-0-12-814774-0.00014-

1

**3.8.3 Ensayo FRAP:** el mecanismo del método FRAP (poder antioxidante reductor férrico) se basa en la transferencia de electrones y en la capacidad del PH para reducir  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ . La reacción se lleva a cabo a un pH ácido para mantener la solubilidad del hierro. Cuando la reducción ocurre en presencia de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ), se da la formación de un complejo coloreado con  $\text{Fe}^{2+}$ . A pesar de que este método no puede detectar compuestos que actúan por transferencia de hidrógeno, es simple, rápido y económico (Cerretani y Bendini, 2010).

**Figura 5.** Reacción producida en el ensayo FRAP.



Fuente: Proestos, C., y Komaitis, M. (2009). *Beer in Health and Disease Prevention*. London: Elsevier.

### 3.9 Actividad citotóxica

La actividad citotóxica se refiere al efecto tóxico causado por agentes tóxicos para las células, por la cual pueden sufrir apoptosis o puede ocurrir necrosis. El primer proceso se caracteriza por contracciones citoplasmáticas, condensaciones nucleares y escisiones controladas del ADN. La necrosis provoca que las células se hinchen y pierdan la integridad de su membrana. Los ensayos de citotoxicidad miden la inhibición del crecimiento y muerte por vías apoptóticas-necróticas. Pueden realizarse mediante sistemas de prueba *in vitro* y / o *in vivo* en diferentes tipos de células utilizando diversos métodos (Salih, Tahir y Basri, 2019).

**3.9.1 Determinación de la citotoxicidad por medio del ensayo de *Artemia salina*:** este ensayo se caracteriza por ser confiable, rápido y de bajo presupuesto y se basa en la determinación de la mortalidad *in vivo* de las larvas de *Artemia salina*, el cual es un crustáceo sensible a diversas sustancias, en 24 horas, a dosis iguales o menores de 1000 mg/mL.

Fue desarrollado en 1982 para la determinación de citotoxicidad con la utilización de *Artemia* spp. Además, permite la evaluación rápida de extractos crudos, fracciones y compuestos puros obtenidos de plantas, los cuales son evaluados a concentraciones iniciales de 10, 100 y 1000 mg/mL en 5mL de solución salina que contienen 10 larvas. Después de realizar tres

réplicas por concentración y, luego de 24 horas, se cuenta el número de larvas muertas, al observar la falta de movimiento de estas durante 10 segundos (Pino y Jorge, 2010).

De esta manera, se evalúa la  $CL_{50}$ , la cual es la concentración que puede ser letal para el 50% de los organismos de muestra. Los valores de  $CL_{50}$  e intervalos de confianza 95% se determinan utilizando el método análisis estadístico Probit (Pino y Jorge, 2010).

El análisis estadístico Probit se utiliza en toxicología para determinar la toxicidad relativa de productos químicos en organismos vivos, probando y comparando la respuesta de un organismo bajo varias concentraciones de cada sustancia de estudio. Este utiliza la regresión, en donde la variable dependiente tiene dos valores (Finney, 1952).

Este análisis puede ejecutar una regresión lineal en la relación de los resultados, por lo que se utiliza para analizar la relación entre un estímulo (dosis) y la respuesta (muerte) y, comparar la cantidad de sustancia necesaria para crear la misma respuesta en cada una de las diversas muestras. Los criterios más usados para comparar las diferentes toxicidades son la  $CL_{50}$  (líquidos) o la  $DL_{50}$  (sólidos) (Finney, 1952; Pino y Jorge, 2010).

Las dosis logarítmicas pueden usarse como variables para leer el porcentaje de muerte de una normal acumulada. Al graficar las respuestas contra sus estímulos causales o logaritmos, se forma una curva sigmoidea (NCSS, 2021).

### **3.10 Determinación del factor de protección solar (FPS)**

En 1978, la FDA definió este factor como la energía UV requerida para producir una dosis mínima de eritema en la piel protegida con un producto antisolar. El Factor de Protección Solar se calcula al valorar la dosis mínima de radiación ultravioleta que produce la primera reacción eritemática en la piel humana. Por lo que, el factor de protección se obtiene al relacionar la mínima dosis eritemática con y sin protección. La Agrupación Europea de Fabricantes de Productos de Cosmética y Perfumería clasifica el nivel de fotoprotección en: 2-4-6 (bajo); 8-10-12 (medio). 15-20-25 (alto), 30-40-50 (muy alto) y más de 50 (factor ultra).

**3.10.1 Método espectrofotométrico de Vogelmann:** se determina el FPS utilizando el método espectrofotométrico. Las lecturas se realizan tomando en cuenta el espectro de absorción UVB y la longitud de onda crítica (308 nm), la cual está establecida por el método internacional para la determinación del FPS (Flores y Pérez, 2014).

La determinación del factor de protección solar en extractos vegetales se realiza por medio de la lectura de las absorbancias de las soluciones de las muestras o extractos. El principio del método se basa en preparar soluciones de la muestra. Se procede a leer las absorbancias de las soluciones por triplicado en un espectrofotómetro UV-VIS (Alayo y Fiestas, 2016). Al obtener las lecturas, se calcula el factor de protección mediante la fórmula a continuación:

Donde:

FPS Patrón: Protector solar con FPS conocido

= Sumatoria de picos de absorbancia en el rango 250 – 350 nm

= absorbancia del protector solar con FPS conocido

(Flores y Pérez, 2014).

#### 4. Antecedentes

Las propiedades antioxidantes tienen un importante rol en la disminución de enfermedades crónicas, como el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Robinson, Suriya, Subbaiya y Ponmurugan, 2017).

En un estudio donde se evaluó el efecto citotóxico y anticancerígeno del extracto metanólico de *Orobancha crenata* en líneas celulares cancerosas, se observó que la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos juega un papel vital en la neutralización de los radicales libres. Además, la actividad anticancerígena y antimutagénica de los polifenoles evaluados se debe a su actividad antioxidante, la cual desactiva los carcinógenos mutágenos directos y previene la estimulación extracelular de carcinógenos mutágenos indirectos (Hegazy, Imam y Abdelghany, 2020). Por otra parte, investigaciones realizadas para determinar la actividad antioxidante de los flavonoides demuestran que la relación entre la actividad anticancerígena y antioxidante sigue sin estar clara y aún debe estudiarse más a fondo en estos compuestos (Grigalius y Petrikaite, 2017).

En otro estudio se correlacionó la citotoxicidad en las células cancerosas y la actividad de eliminación de radicales libres, evaluando *in vitro* extractos de plantas medicinales. Dado que las especies reactivas de oxígeno son desencadenantes de varios cánceres, se utilizan antioxidantes para contrarrestar estas especies. Al observar los resultados, se llegó a la conclusión de que no existe correlación entre la captación de radicales libres y la citotoxicidad. Sin embargo, un análisis de los resultados revela que los extractos de plantas que tenían una  $CE_{50} \leq 10 \mu\text{g} / \text{ml}$ , para la captación de radicales libres, mostraron cierto enriquecimiento hacia más citotoxicidad (Sammar, Abu-Farich, Rayan, Falah y Rayan, 2019).

*Eichhornia crassipes*, conocida comúnmente como jacinto de agua y lirio acuático, es de tamaño muy variable; tienen hojas de sólo unos pocos centímetros de diámetro o de altura, mientras que las plantas maduras con buen suministro de nutrientes pueden alcanzar 1 m de altura. Las raíces se desarrollan en la base de cada hoja y forman una masa densa. Son de color blanco cuando se forman en la oscuridad total, pero a menudo son púrpura en

condiciones de bajos nutrientes. Las flores son tristélicas. Tienen seis estambres y un estilo, dispuestos en tres configuraciones posibles (CABI, 2019).

En un estudio realizado por el Centro Nacional de Investigación de El Cairo, se demostró mediante el método de difusión de pozos que, extractos de las hojas de *Eichhornia crassipes* tienen actividad antibacteriana y antifúngica contra *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Lactobacillus casei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Candida albicans* y *Fusarium solani*, ya que los extractos mostraron un amplio espectro de inhibición del crecimiento de dichas bacterias y hongos (Haggag, Abou El Ella y Abouziena, 2017). Otro estudio realizado en Etiopía, determinó la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos y metanólicos de las hojas de *E. crassipes*, en donde los extractos etanólicos mostraron una significativa inhibición contra bacterias Gram positivas y moderada inhibición contra bacterias Gram negativas. Se concluyó que el extracto etanólico de las hojas de *E. crassipes* podría ser una fuente posible para aislar nuevas variedades de agentes antibacterianos de origen vegetal (Kiristos, Kebede, Chaithanya y Teka, 2018). Además, se han realizado ensayos sobre la actividad larvicida de esta especie contra *Culex quinquefasciatus*. Los resultados demostraron el potencial uso de *E. crassipes* en el control del vector *C. quinquefasciatus* (Jayanthi, Lalitha y Aarthi, 2012).

Se ha demostrado que las hojas, el pecíolo y los extractos de las raíces de esta especie poseen una buena actividad antioxidante, mostrando que el contenido fenólico y flavonoides tiene una correlación con la actividad antioxidante, esto puede deberse a diferencias estructurales. Además, se ha observado que a menor valor de IC<sub>50</sub> tiene una actividad antioxidante más potente y se mostró un aumento de la concentración de polifenoles y flavonoides. Según estudios realizados en India, el jacinto de agua, como comúnmente se le conoce, contiene flavonoides, alcaloides, taninos, glucósidos y fenoles, los cuales son buenos compuestos antioxidantes que previenen trastornos relacionados con el estrés oxidativo. El extracto de hoja (metanólico y etanólico) de jacinto de agua han mostrado una buena capacidad de eliminación de radicales de DPPH y el extracto de etanol de esta especie ha mostrado una buena capacidad de reducción. Los resultados han indicado que el *E. crassipes* es una fuente

potencial de actividad antioxidante y podría utilizarse como antioxidante y conservante en alimentos y en sistemas no alimentarios (Tyagi y Agarwal, 2017; Thamaraiselvi y Jayanthi, 2012).

Según un estudio egipcio, *E. crassipes* ha causado problemas en los sistemas de irrigación y drenaje en ríos, como el río Nilo, por lo cual se ha buscado utilizar esta especie como recurso alternativo comercial y medicinal. En este estudio, tanto el extracto crudo como nueve compuestos identificados fueron probados por su actividad antioxidante (usando los métodos DPPH y ABTS) y anticancerígena (usando las líneas celulares MCF-7, HeLa, Hep.G2 y EACC). Los resultados revelaron la presencia de compuestos alcaloides y terpenoides con actividades antioxidantes y anticancerígenas variables que condujeron a una mayor actividad del extracto crudo. En conclusión, el estudio determinó el potencial de *E. crassipes* como un recurso valioso, en cuanto a compuestos naturales con propiedades medicinales antioxidantes y anticancerígenas (Aboul-Enein, Shanab y Shalaby, 2014).

Varias alternativas han sido planteadas con el objeto de dar tratamiento adecuado a la invasión de plantas acuáticas en embalses, que se presenta como consecuencia del gran aporte de nutrientes a los sistemas acuáticos, por las malas prácticas en actividades agrícolas, domésticas e industriales es por ello que se pretende evaluar su actividad antioxidante y determinar su posible potencial medicinal o cosmético.

## 5. Justificación

*Eichhornia crassipes* es considerada una maleza acuática a nivel mundial, crece muy rápido y causa problemas en lagunas, presas y canales de riego. Es conocida como jacinto de agua o lirio acuático. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura describe que esta especie tiene un impacto ambiental negativo y representa un problema ambiental y de salud pública, al reducir la calidad del agua y crear un hábitat para la reproducción de muchos vectores de enfermedades humanas. *E. crassipes* causa la inestabilidad ecológica de los cuerpos de agua dulce y supone una amenaza para la biodiversidad acuática, ya que, al ser una especie invasora, suprime el crecimiento de plantas nativas (Degaga, 2018).

Estudios realizados en India y Egipto sobre *Eichhornia crassipes* han demostrado que la presencia de compuestos fenólicos como flavonoides y tocoferoles, están relacionados con su actividad antioxidante. Además, se ha estudiado su potencial actividad anticancerígena (Tyagi y Agarwal, 2017; Aboul-Enein, Shanab y Shalaby, 2014). Diversos estudios relacionados a su actividad biológica se han realizado por considerarse como un recurso valioso para la investigación de compuestos naturales con propiedades medicinales, como antioxidantes, antienvjecimiento y anticancerígeno (Surendraraj, Farvin y Anandan, 2013). Sin embargo, no se han realizado investigaciones de *Eichhornia crassipes* distribuida en Guatemala. Por lo tanto, es importante que se evalúe tanto su actividad antioxidante, como la actividad citotóxica de todos los órganos de la especie y de esta manera, comprobar dicha actividad y validar su seguridad; por medio de los estudios citotóxicos se validan las especies del país, generando posibles nuevas fuentes de medicamentos. También es importante mencionar que *Eichhornia crassipes* es una planta macrófita invasiva, por lo cual ha causado problemas en diversos cuerpos de agua del país, como lo es el lago Atitlán, ya que afecta su sistema, incluyendo especies autóctonas y hábitat. Es necesario obtener información sobre dicha especie, ya que puede ser una alternativa para el control de esta planta invasiva en cuerpos de agua del país con un posible uso medicinal. Por lo tanto, se buscaría resolver este problema ambiental y contribuir a la aplicación medicinal de esta especie (Aguilar e Iza, 2009).

## 6. Objetivos

### Objetivo General

Validar la actividad antioxidante, citotóxica y factor de protección solar de extractos obtenidos de las hojas, peciolo y raíces de *Eichhornia crassipes* para explorar su posible uso medicinal y en cosmética.

### Objetivos Específicos

- Comprobar la actividad antioxidante de extractos de las hojas, peciolo y raíces de *Eichhornia crassipes* mediante los ensayos DPPH, ABTS y FRAP.
- Estimar la actividad citotóxica de extractos de las hojas, peciolo y raíces de *Eichhornia crassipes* por medio del cultivo de *Artemia salina*.
- Detectar la presencia de metabolitos secundarios responsables de la actividad antioxidante de los extractos de las hojas, peciolo y raíces de *Eichhornia crassipes*.
- Determinar el factor de protección solar de los extractos de las hojas, peciolo y raíces de *Eichhornia crassipes* mediante el ensayo de medición de factor de protección solar.

## 7. Hipótesis

Al menos uno de los extractos de diferentes órganos de *Eichhornia crassipes* procedentes del lago de Atitlán, Sololá, presenta actividad antioxidante, actividad citotóxica y un buen factor de protección solar.

## 8. Materiales y métodos

### 8.1 Universo

Población: Plantas de *Eichhornia crassipes* procedentes del Lago Atitlán.

Muestra: Hojas, peciolo y raíces de la planta *Eichhornia crassipes*

### 8.2 Recursos Humanos

Investigadora: Carmen Emilia Azzari Dominguez

Asesora: Dra. Sully Cruz Velásquez

Revisora: MSc. María Nereida Marroquín Tinti

### 8.3 Recursos Materiales

#### 8.3.1 Reactivos

- Terc-butylhidroquinona (TBHQ)
- Agua destilada
- Agua desmineralizada
- Metanol
- Etanol
- Diclorometano
- Ácido tricloroacético
- DPPH (1,1-Difenil-2-picril-hidrazilo)
- ABTS (2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolino-6-sulfónico)
- TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina)
- Trolox
- Persulfato de potasio
- Vitamina C
- Rutina

- Quercetina
- Ferrocianuro de potasio
- Cloruro férrico
- Buffer de acetato de sodio
- Ácido acético

### **8.3.2 Cristalería y equipo**

- Vaso de precipitados
- Probetas
- Balanza semianalítica, analítica
- Balanza de humedad
- Espátula
- Pipetas automáticas
- Microplacas
- Tips para micropipetas
- Horno de convección de aire forzada
- Tubos de ensayo
- Percolador de acero inoxidable
- Rotavapor
- Cromatoplasmas de sílica gel 60 F<sub>254</sub>
- Estereoscopio
- Espectrofotómetro UV/VIS Agilent 8453
- Sonicador
- Incubadora
- Centrifugadora
- Balones aforados
- Baño de maría
- Lector de microplacas ELISA Biotek ELx800
- Agitador tipo vórtex

## 8.4 Metodología

**8.4.1** Se realizó la recolección de hojas, pecíolos y raíces en el lago Atitlán, Sololá. Las muestras se lavaron y se secaron en un horno de convección de aire forzada a 40°C hasta obtener una humedad menor del 10%.

**8.4.2.** Se tamizó el material ya seco en tamices de cedazo. Se realizó la molienda de raíces en una licuadora. Se almacenó el material vegetal para su procesamiento.

**8.4.3.** Obtención de extractos.

- Se obtuvieron extractos diclorometánicos y etanólicos por percolación fraccionada y se concentraron utilizando un rotavapor. Se utilizaron 100 g de materia vegetal por litro de disolvente.

### **8.4.4. Determinación de flavonoides y antocianinas (Pernillo, 2018).**

- Ensayo macrométrico

Se disolvió 0.2 g del extracto en 10 mL de metanol., se disolvió empleando el baño ultrasonido, se filtró y se dividió en 5 tubos:

Tubo 1: se agregó 0.5 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Tubo 2: se agregó 3 a 5 gotas de cloruro férrico al 10 % (p/v).

Tubo 3: se agregó 0.5 ml de ácido clorhídrico concentrado y se calentó en baño de maría por 5 minutos (prueba para leucoantocianinas).

Tubo 4: se agregó magnesio metálico y 0.5 ml de ácido clorhídrico concentrado.

Tubo 5: testigo.

Reacciones: cambios de color y/o formación de precipitado al compararse con el testigo. Desarrollo inmediato de color en flavonas y flavonoles (amarillo a rojo), en flavanoles (rojo a magenta), en flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul) y en isoflavonas (amarillo). Isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración.

- Identificación de flavonoides por medio de cromatografía en capa fina

Se concentró 1 mL del extracto y se aplicó en cromatoplaqa. Se preparó una solución 0.05 por ciento en metanol para la solución estándar. Se utilizaron 10 µL para la cromatografía.

Fase móvil: n-butanol: ácido acético glacial: agua (40:10:50 ó 20:5:25)

Fase Estacionaria: silica gel cromatofolios de aluminio 60 F<sub>264</sub>

Detección: Spray revelador: reactivo de productos naturales (NP/PEG). Un típico color fluorescente intenso en UV-365 nm se produce al agregar el revelador, inmediatamente o después de 15 minutos.

NP: solución metanólica al 1% de difenilboriloxietilamina.

PEG: solución etanólica al 5% de polietilenglicol 4000.

#### **8.4.5 Determinación de taninos (Gudiel, 2009; Pernillo, 2018).**

Se disolvió 1 g de extracto seco vegetal con metanol y se evaporó a sequedad. Se adicionó 25 mL de agua caliente al residuo, se agitó y se dejó enfriar. Se agregó 1 mL de solución de cloruro de sodio al 10 % y se filtró. Se añadió 3 mL del filtrado a 4 tubos de ensayo.

Tubo 1: testigo.

Tubo 2: se agregó 4 a 5 gotas de solución de gelatina al 1%

Tubo 3: se agregó 4 a 5 gotas de gelatina-sal (1% de gelatina + cloruro de sodio al 10%).

Tubo 4: se agregó 3 a 4 gotas de solución de cloruro férrico al 10%

Reacciones: Formación de precipitado y/o cambio de coloración.

#### **8.4.6. Evaluación de la actividad antioxidante (Gudiel, 2009; Pernillo, 2018).**

La evaluación de esta actividad se realizó con tres repeticiones para cada dilución que se obtenga.

#### 8.4.6.1 Determinación de actividad antioxidante por método de DPPH por cromatografía en capa fina

Aplicar 10  $\mu\text{L}$  de muestra y 5  $\mu\text{L}$  de los estándares en una placa cromatográfica de silica gel. Colocar la placa en una cámara de vidrio saturada con la fase móvil.

- Fase móvil: acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico, agua (100:11:11:26).
- Secar y asperjar la cromatoplaca con solución DPPH (1 mg/mL en metanol).
- Detección: si los extractos presentan actividad antioxidante se observa la decoloración de DPPH en las bandas respectivas.

#### 8.4.6.2 Evaluación de la actividad antioxidante por espectrofotometría UV-VIS mediante la prueba de DPPH (Flores, 2017; Pernillo, 2018).

- a) Preparación de solución madre: pesar 20 mg de extracto seco y agregar 1 mL de metanol absoluto luego introducirlo en el sonificador por 30 minutos, para obtener la solución madre. De esta solución madre se preparó una serie de diluciones:

No.	Muestra ( $\mu\text{L}$ )	Metanol ( $\mu\text{L}$ )	Dilución	Concentración (mg/mL)
D-1	50	200	0.2	4
D-2	100	150	0.4	8
D-3	150	100	0.6	12
D-4	200	50	0.8	16
D-5	250	--	1	20

- b) Solución de 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH) 150 $\mu\text{M}$  en metanol: se pesó 1.7 mg de reactivo de DPPH y se disolvió con metanol hasta un volumen de 25ml en un balón aforado. Se agitó y se conservó la solución en un recipiente ámbar.
- c) Preparación de los pozos de reacción: se utilizaron microplacas de 96 pozos de fondo plano. La preparación se realizó bajo luz indirecta, tratando de proteger la reacción de la luz.

Pozo/Reactivo	Muestra	Metanol	Solución de DPPH (150µM)
Blanco control	--	220 µL	--
Control	--	20 µL	200 µL
Blanco de Ensayo	20 µL	200 µL	--
Ensayo	20 µL	--	200

- d) Se prepararon los pozos de reacción, la microplaca se agitó en un vortex para placas durante 30 segundos y luego se incubó a temperatura ambiente protegidos de la luz durante 30 minutos. Se leyó en lector de microplacas de 96 pozos a una longitud de onda de 490 nm.
- e) Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de inhibición de cada uno de los pozos de reacción:

$$\frac{\text{Absorbancia del control} - \text{Absorbancia del ensayo}}{\text{Absorbancia del control}} * 100 = \% \text{ Inhibición}$$

Absorbancia del control = Absorbancia del Control – Absorbancia del Blanco Control  
 Absorbancia del ensayo = Absorbancia del Ensayo – Absorbancia del Blanco del Ensayo.

Se elaboró una gráfica lineal con los valores de porcentaje de inhibición y concentración de cada dilución; esperando que valores de porcentaje de inhibición se encuentren entre el 60-70%. La ecuación de la recta debe tener un R<sup>2</sup> entre 0.97-0.99, para que la corrida sea aceptada. Si no se cumple con un porcentaje de inhibición ente 60-70% y un R<sup>2</sup> entre 0.97-0.99, se realiza la repetición del ensayo preparando otras diluciones. Si se tiene una adecuada ecuación de regresión lineal se determina la concentración inhibitoria media, según la siguiente fórmula:

$$\text{IC50: } \frac{50 \% - \text{pendiente}}{\text{Intersecto}}$$

### 8.4.6.3 Determinación de la actividad antioxidante por espectrofotometría UV-VIS mediante el método de ABTS (Flores, 2017; Pernillo, 2018).

- a) Preparación de la solución madre: se pesó 0.1 g de extracto y se agregó 5 mL de metanol absoluto, luego se introdujo en el sonificador durante 30 minutos para obtener la solución madre. De esta solución madre se prepararon las diluciones que, en el método de DPPH por espectrofotometría UV-visible, presentaron un porcentaje de inhibición entre 60-70% con un  $R^2$  de 0.97-0.99.
- b) Preparación de la solución 2,2-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolin 6-ásulfónico) (ABTS<sup>+</sup>) 7 mM en agua: se pesó 38.41 mg y se disolvió en 10 mL de agua desmineralizada.
- c) Preparación de persulfato de potasio 2.45 mM en agua: se pesó 3.31 mg y se disolvió en 5 mL de agua desmineralizada.
- d) Preparación del catión ABTS<sup>+</sup>: se produjo por la reacción de la solución stock de ABTS con el persulfato de potasio en una proporción 2:1. Se dejó la mezcla en un lugar oscuro al menos 16-18 horas a temperatura ambiente antes de su uso. Esta se preparó un día antes de realizar la prueba.
- e) Preparación de la solución de uso: la solución ABTS<sup>+</sup> se diluyó con etanol hasta lograr una absorbancia  $0.70 \pm 0.02$  a 734 nm a 30°C. La solución empleada para obtener dicha absorbancia fue 1/30 a 1/35.
- f) Preparación de los tubos de reacción: se emplearon tubos de vidrio con capacidad de 10 mL. Se recubrieron completamente con papel aluminio para proteger de la luz la reacción. Se preparó una serie de tubos con los reactivos.

Reactivo	Control	Ensayo
Solución ABTS <sup>+</sup>	3 mL	3 mL
Muestra	--	30 $\mu$ L

Cada tubo de ensayo de cada dilución de muestra se preparó por triplicado, el blanco de la corrida fue etanol al 95%. Tanto la solución ABTS como la muestra estuvieron en la incubadora a 30°C, 30 minutos antes de mezclarlos. La lectura de la absorbancia se tomó a 30°C, al minuto seis.

Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de inhibición de cada uno de los pozos de reacción:

$$\frac{\text{Absorbancia del control} - \text{Absorbancia del ensayo}}{\text{Absorbancia del control}} * 100 = \% \text{ Inhibición}$$

Se elaboró una gráfica lineal con los valores de porcentaje de inhibición y concentración de cada dilución; esperando que valores de porcentaje de inhibición se encuentren entre el 60-70%. La ecuación de la recta debe tener un  $R^2$  entre 0.97-0.99, para que la corrida sea aceptada. Si no se cumple con un porcentaje de inhibición ente 60-70% y un  $R^2$  entre 0.97-0.99, se realiza la repetición del ensayo preparando otras diluciones, controlando el pipeteo para mejorar el  $R^2$ . Si se tiene una adecuada ecuación de regresión lineal se determina la concentración inhibitoria media, según la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{IC50: 50 \% - pendiente}}{\text{Intersecto}}$$

#### **8.4.6.4. Determinación de la actividad antioxidante por espectrofotometría UV-VIS mediante el método de FRAP (Flores, 2017; Pernillo, 2018).**

- a) Preparación de la solución madre del extracto: se pesó 20 mg de extracto seco y se agregó 1mL de metanol luego se introdujo en el sonificador por 30 minutos. De esta solución madre se preparó una serie de diluciones.

No.	Muestra ( $\mu\text{L}$ )	Metanol ( $\mu\text{L}$ )	Dilución	Concentración (mg/mL)
D-1	50	200	0.2	4
D-2	100	150	0.4	8
D-3	150	100	0.6	12
D-4	200	50	0.8	16
D-5	250	--	1	20

- b) Preparación de la solución madre de los estándares y diluciones: dependiendo de cada uno de los estándares, se preparó la solución madre y sus diluciones.
- c) Preparación de las soluciones para realizar solución FRAP.
- Cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) 1%: se pesó 1 g de cloruro férrico y se disolvió con agua desmineralizada en un balón aforado de 100 mL.
  - Ferrocianuro de potasio 1%: se pesó 1 g de ferrocianuro de potasio y se disolvió con agua desmineralizada en un balón aforado de 100 mL.
  - Buffer de acetato pH 3.6: se disolvió 5.78 mL de ácido acético con agua desmineralizada en un balón de 500 mL. Se pesó 2.72 g acetato de sodio y se disolvió en un balón aforado de 100 mL con agua desmineralizada. Se disolvieron las soluciones en un balón aforado de 500 mL.
- d) Solución FRAP: se mezclaron 1.5 mL de  $\text{FeCl}_3$  1%, 1 mL de ferrocianuro de potasio 1% y 15 mL de buffer de acetato pH 3.6. Se agitó y se incubó a  $37^\circ\text{C}$  durante 20 minutos.
- e) Preparación de los estándares y muestras para ser analizados: se mezclaron 1 mL de cada estándar/muestra con 1 mL de ácido tricloroacético al 10% (10 g de ácido tricloroacético disuelto en un balón aforado de 100 mL con agua desmineralizada). Se mezcló durante 10 segundos en el vórtex y luego se centrifugó a 3000 rpm por 10 minutos.

- f) Preparación de los pozos de reacción: se utilizaron microplacas de 96 pozos de fondo plano. La preparación se realizó bajo luz indirecta, tratando de proteger la reacción de la luz.

#### **8.4.7. Evaluación de actividad citotóxica por medio de cultivo de *Artemia salina***

- a) Preparación de agua de mar: se disolvió 35 g de sal de mar en un litro de agua destilada. Se puso a hervir por 30 minutos y se completó el volumen que se evaporó. Se filtró y se refrigeró hasta el momento de usar.
- b) Cultivo de *Artemia salina*: se colocó en un vaso de precipitar 200 mL de agua de mar y se aireó por 30 minutos. Se incubaron los nauplios por 48 horas a temperatura ambiente, con luz artificial. Se utilizaron los nauplios de no más de 18h de nacimiento para la prueba de toxicidad.
- c) Determinación de la Citotoxicidad: se pesó 0.01 g del extracto a ensayar y se disolvieron con 1 mL de agua de mar. Para extractos de diclorometano se añadió 0.1 % de dimetilsulfóxido para solubilizar. Los extractos se agregaron por triplicado en una microplaca: 100 µl del extracto disuelto + 100 µl de agua de mar con 10-15 nauplios.

Si el extracto mata al 100% de nauplios, se deben realizar diluciones de la concentración inicial.

- Control negativo: 100 µl de agua de mar + 100 µl de agua de mar con 10 nauplios. Se agrega metanol a los pozos.
- Control positivo: 100 µl de alguna sustancia de actividad citotóxica reconocida + 100 µl de agua de mar con 10-15 nauplios.
- Control de disolventes utilizados: controles con los solventes utilizados para disolver las respectivas muestras a analizar.

Se determinó la citotoxicidad mediante el cálculo del % de nauplios muertos. Si el número de nauplios muertos es mayor del 50%, se debe repetir la prueba. Si el % es menor del 50%, la citotoxicidad es mayor de 1 mg/mL

Se realizó la determinación de citotoxicidad, mediante el cálculo de Dosis Letal media (DL<sub>50</sub>), por medio del modelo estadístico Probit, con el programa Statgraphics (Pernillo, 2018).

#### **8.4.8. Determinación de la actividad fotoprotectora *in vitro* por medio de la medición del factor de protección solar (Sutar y Chaudhari, 2020; Alayo y Fiestas, 2016).**

- a) Se pesó 0,5g de extractos, se transfirió a un matraz de 100 ml, se agregó 30 ml de etanol al 95% y se aforó a volumen con el mismo solvente.
- b) De esta solución se midió una alícuota de 1mL, transfiriéndose a un matraz de 25 mL y se aforó el volumen con etanol al 95%L, lo cual dio una concentración de 0,2 mg/ml.
- c) Se leyeron las absorbancias de las soluciones por triplicado en un espectrofotómetro UV-VIS, en el rango de 290 a 320 nm, en intervalos de 5 nm. Se calculó el factor de protección solar, utilizando las lecturas obtenidas, mediante la siguiente fórmula.

Dónde:

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

CF = factor de la corrección (=10).

EE ( $\lambda$ ) = efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda  $\lambda$ .

I ( $\lambda$ ) = intensidad de la solución en la longitud de onda.

A ( $\lambda$ )= absorbancia de la solución en la longitud de onda.

#### **8.4.9. Diseño estadístico**

Fue un diseño descriptivo cuantitativo para determinar la actividad antioxidante, fotoprotectora y actividad citotóxica de la especie *Eichhornia crassipes*.

El análisis de regresión lineal es ampliamente utilizado para medir valores de IC<sub>50</sub>. En cuanto a la evaluación de la actividad antioxidante, los datos se analizan por medio de un estudio de varianza, en donde se utiliza la diferencia menos significativa (LSD) a niveles de 0.01 para comparar las medias y los datos se presentan como desviación estándar de la media, en un modelo de dispersión. Los datos obtenidos en la evaluación de la actividad antioxidante fueron sometidos a un análisis de regresión, en donde se analizó su comportamiento y linealidad. Se obtuvo el valor del coeficiente de determinación R<sup>2</sup>, el cual se mantuvo entre 0.97-0.99, rango con el cual se considera válido el ensayo. Con estos resultados se determinó el IC<sub>50</sub>, desviaciones estándar y los respectivos intervalos de confianza al 95.

Para la estimación de DL<sub>50</sub>/DE<sub>50</sub> y DI<sub>50</sub>, en el estudio de citotoxicidad, se utilizó el método Probit, en Statgraphics. Este es un método paramétrico, en donde las variables dependientes son cualitativas y las variables independientes son cuantitativas y, se le llama función Probit a la inversa de la función de distribución o función cuantil asociada a la distribución normal estándar (Córdova, 2012).

$$p = ( ) \times 100$$

En donde, el número de individuos (n), número de organismos muertos o afectados (r) y porcentaje de efecto (p). Al representarse gráficamente la relación porcentaje vs. dosis, ó, relación dosis-respuesta, se produce una curva parabólica. Sin embargo, la concentración o dosis de la sustancia en estudio (d) se puede transformar en una escala logarítmica que permitirá que la relación dosis-respuestas se muestre de forma S ó sigmoidea normal. Posteriormente, se establecen los límites de confianza para DL<sub>50</sub>, utilizando los coeficientes de ponderación para cada Probit. El intervalo de confianza se representa con la siguiente ecuación:

$$DL_{50} \pm 1,96. S_{\log DL_{50}}$$

(Córdova, 2012).

## 9. Resultados

### 9.1 Extracción

Se puede observar el porcentaje de rendimiento, según el disolvente utilizado, mediante la extracción fraccionada de hojas, peciolo y raíces. En los tres órganos se obtuvo un mayor rendimiento al emplear etanol 70% como solvente. Además, el extracto que mayor porcentaje de rendimiento presentó fue el extracto etanólico de la raíz, con un valor de 38.79%.

**Tabla 1. Porcentajes de rendimiento de extractos obtenidos de *Eichhornia crassipes*.**

Muestra	Solvente	Porcentaje de rendimiento
Hojas	Etanol al 70%	15.21%
	Diclorometano	3.32%
Peciolo	Etanol al 70%	19.59%
	Diclorometano	1.48%
Raíces	Etanol al 70%	38.79%
	Diclorometano	0.77%

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

### 9.2 Caracterización fitoquímica

En la tabla 2 se muestra que ninguno de los extractos etanólicos presentó resultado positivo en la prueba de gelatina-sal y gelatina 1%, sólo se observó un cambio de coloración en la prueba de cloruro férrico. Esto indica que puede haber ausencia de taninos, sin embargo, se obtuvo que los extractos etanólicos de hojas y peciolo evidenciaron presencia de flavonoides, según la prueba de identificación macrométrica.

**Tabla 2. Identificación macrométrica de taninos, flavonoides y antocianinas.**

<b>Prueba</b>	<b>Extracto de Hojas Etanol 70%</b>	<b>Extracto de Peciolos Etanol 70%</b>	<b>Extracto de Raíces Etanol 70%</b>
Gelatina-sal	-	-	-
Gelatina 1%	-	-	-
FeCl <sub>3</sub> (Taninos)	Cambio de coloración, marrón (+)	Cambio de coloración, marrón amarillento (+)	Cambio de coloración, marrón amarillento (+)
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Cambio de coloración (+)	Cambio de coloración (+)	Cambio de coloración (+)
FeCl <sub>3</sub> (Flavonoides)	Cambio de coloración (+)	Precipitado, cambio de coloración (+)	Cambio de coloración (+)
HCl [ ], calor	Cambio de coloración (+)	Cambio de coloración (+)	Cambio de coloración (+)
Mg metálico y HCl	Burbujeo (+)	Burbujeo (+)	Burbujeo (+)

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala. (-) ausencia, (+) presencia. (Ver Anexos No. 3 y 4).

En la tabla 3 se evidencia la presencia de flavonoides en los tres extractos, comparando los R<sub>f</sub> de los extractos con los estándares, así como las características observadas en las bandas.

**Tabla 3. Identificación de flavonoides por medio de cromatografía en capa fina.**

	<b>Extracto/Solvente</b>	<b>R<sub>f</sub></b>	<b>Características/coloración</b>
	Hojas Etanol 70%	0.66/0.79/0.93	Celeste/celeste/rojo-violeta
	Peciolos Etanol 70%	0.36/0.64/0.77/0.94	Naranja/celeste/celeste/rojo- violeta
	Raíces Etanol 70%	0.93	Rojo-violeta
<b>Estándares</b>	Rutina	0.39/0.51/0.7	Naranja/naranja/naranja
	Quercetina	0.76/0.94	Naranja/naranja-rojo
	Ácido clorogénico	0.53/0.83	Celeste/celeste
	Hiperósido	0.79	Naranja

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala. Fase móvil: acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético glacial, agua (100:11:11:27). (Ver Anexo No. 5).

### 9.3 Evaluación de actividad antioxidante

En la tabla 4 se puede observar que los extractos de raíces presentaron actividad antioxidante, sin embargo, la intensidad observada en las zonas de decoloración fue muy baja. Se obtuvo que los valores de  $CI_{50}$  en cada uno de los extractos de hojas y peciolo muestran que los extractos etanólicos de hojas y peciolo mostraron mayor capacidad antioxidante mediante el método de DPPH micrométrico. Asimismo, los extractos etanólicos de hojas y peciolo mostraron mayor capacidad antioxidante mediante el método de ABTS. También se muestran los milimoles de estándar presentes en cada extracto que son capaces de reducir el ion  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$ , en el método FRAP. Los extractos etanólicos de hojas y peciolo mostraron una mejor capacidad reductora.

**Tabla 4. Determinación de la actividad antioxidante de los extractos de hojas, peciolo y raíces por medio de los métodos de cromatografía en capa fina de DPPH, DPPH, ABTS y FRAP micrométricos.**

Muestra	CCF DPPH	DPPH	ABTS	FRAP ( $Fe^{2+}$ mmol)				
		$CI_{50}$ (mg/mL) [ IC ]	$CI_{50}$ (mg/mL) [ IC ]	Vitamina C	Trolox	TBHQ	Quercetina	Sulfato Ferroso
Hojas	++	7.79 (0.02)	7.83 (0.04)	2 (0.00)	4 (0.00)	2 (0.00)	1 (0.00)	101 (0.004)
Diclorometano		[7.64, 7.95]	[7.50, 8.18]	[1.0, 3.0]	[3.0, 4.0]	[1.0, 2.0]	[1.0, 1.0]	[83.0, 119.0]
Hojas	++	7.54 (0.05)	7.55 (0.03)	4 (0.00)	7 (0.00)	4 (0.00)	2 (0.00)	160 (0.01)
Etanol 70%		[7.14, 7.94]	[7.33, 7.79]	[3.0, 5.0]	[5.0, 7.0]	[3.0, 4.0]	[1.0, 2.0]	[140.0, 190.0]
Peciolo	++	9.93 (0.06)	14.53 (0.10)	2 (0.00)	3 (0.00)	2 (0.00)	1 (0.00)	80 (0.00)
Diclorometano		[9.44, 10.43]	[13.50, 15.57]	[2.0, 2.0]	[3.0, 3.0]	[2.0, 2.0]	[1.0, 1.0]	[80.0, 80.0]
Peciolo	++	8.85 (0.23)	12.58 (0.08)	3 (0.00)	5 (0.00)	3 (0.00)	2 (0.00)	120 (0.00)
Etanol 70%		[7.17, 10.55]	[11.82, 13.34]	[3.0, 3.0]	[5.0, 5.0]	[3.0, 3.0]	[1.0, 1.0]	[120.0, 120.0]
Raíces	+	>20	>20	---	---	---	---	---
Diclorometano								
Raíces	+	>20	>20	---	---	---	---	---
Etanol 70%								
Vitamina C	---	0.09 (0.01)	0.21 (0.01)	---	---	---	---	---
Trolox	---	0.12 (0.00)	0.30 (0.00)	---	---	---	---	---
TBHQ	+++	0.12 (0.00)	0.19 (0.01)	---	---	---	---	---
Quercetina	---	0.07 (0.00)	0.10 (0.00)	---	---	---	---	---
Rutina	---	0.17 (0.01)	0.85 (0.04)	---	---	---	---	---

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala. Fase móvil: acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético glacial, agua (100:11:11:27). Detección: con DPPH. + intensidad baja, ++ intensidad moderada, +++ intensidad alta. IC: Intervalo de confianza al 95%. (Ver Anexos No. 6 y 7).

#### 9.4 Evaluación de la actividad citotóxica

En la tabla 5 se observa que ninguno de los extractos mostró citotoxicidad mayor a 1 mg/mL. Asimismo, se obtuvo que los extractos de los tres órganos que mayor porcentaje de nauplios muertos presentaron fueron los de diclorometano. El extracto que mayor porcentaje de nauplios mostró fue el extracto de diclorometano de las hojas, con 27% de nauplios muertos.

**Tabla 5. Determinación de actividad citotóxica mediante *Artemia salina* en extractos de hojas, peciolas y raíces de *Eichhornia crassipes*.**

Extracto	Solvente	% de nauplios muertos	Citotoxicidad
Hojas	Diclorometano	27%	> a 1 mg/ml
	Etanol 70%	10%	> a 1 mg/ml
Peciolas	Diclorometano	23%	> a 1 mg/ml
	Etanol 70%	20%	> a 1 mg/ml
Raíces	Diclorometano	10%	> a 1 mg/ml
	Etanol 70%	7%	> a 1 mg/ml
Controles	Positivo	100%	
	Negativo	0%	

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala. (Ver Anexo No. 22).

### 9.5 Evaluación de actividad fotoprotectora

En la tabla 6 se muestran los valores obtenidos de factor de protección solar para cada extracto. Se muestra que los extractos de diclorometano de los peciolos y hojas tuvieron un mayor factor de protección solar.

**Tabla 6. Determinación de la actividad fotoprotectora por medio de la medición del factor de protección solar, a una concentración de 200 µg/mL.**

<b>Muestra (Concentración 200 µg/mL)</b>	<b>FPS</b>
Hojas-Diclorometano	5.4903 (0.03)
Hojas-Etanol	1.6295 (0.01)
Peciolos-Diclorometano	5.7714 (0.03)
Peciolos-Etanol	0.5987 (0.0031)
Raíces-Diclorometano	2.3444 (0.01)
Raíces-Etanol	0.2522 (0.0013)

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala. (Ver Anexos No. 23 y 24).

## 10. Discusión

La recolección de hojas, pecíolos y raíces de *Eichhornia crassipes* se realizó en el lago Atitlán, sitio ubicado entre San Pablo La Laguna y San Juan La Laguna, Sololá. Se realizó la extracción fraccionada, en orden creciente de polaridad, de hojas, pecíolos y raíces, utilizando diferentes solventes, siendo estos diclorometano y etanol. Se determinó que los extractos que obtuvieron mejor porcentaje de rendimiento fueron los extractos etanólicos. En estudios se ha reportado que los extractos acuosos de esta especie muestran mayor rendimiento, en comparación con extractos etanólicos y metanólicos. Determinando que, disolventes con más polaridad, como el agua, tienen mayores porcentajes de rendimiento de extracción en comparación con disolventes menos polares, como el etanol y metanol. (Surendraraj, et al, 2013; Rufchaei, Abbas-Mohammadi, Mirzajani y Nedaei, 2022). Por lo tanto, es probable que se obtuvo mayor rendimiento en extractos etanólicos debido a que este es un disolvente polar, mientras que el diclorometano es apolar. Además, es probable que factores como el tamaño de las partículas de la muestra, el empaquetamiento en el percolador y la cantidad de material vegetal, afectara la eficiencia de la interacción disolvente-muestra y, por lo tanto, disminuyera el rendimiento de extracción apolar de las hojas, pecíolos y raíces (Kulczycki y Godin, 2019). (Ver Tabla 1 y Anexo No. 2).

Debido a la poca cantidad de extracto de diclorometano, se realizó la determinación cualitativa de metabolitos secundarios solamente en los extractos etanólicos. Los extractos etanólicos de las hojas, pecíolos y raíces mostraron presencia de flavonoides. Esto coincide con lo reportado en otros estudios, en donde se ha demostrado que los extractos etanólicos de *Eichhornia crassipes* contienen mayores cantidades de polifenoles, teniendo un alto poder reductor (Lalitha, Sripathi y Jayanthi, 2012). Según los datos de la Tabla 2, se evidencia la presencia de flavonoides en los extractos etanólicos de hojas, raíces y pecíolos. Las bandas obtenidas mostraron coloraciones celeste, naranja, rojo y violeta. Se comparó el Rf de los extractos con los Rf de los estándares utilizados. Los extractos de hojas presentaron valores que podrían indicar que poseen ácido clorogénico. Los extractos de pecíolos indican tener presencia de rutina. En estudios anteriores, se ha determinado que extractos de hojas y pecíolos de *Eichhornia crassipes* tienen presencia de rutina (Lalitha, et. al, 2012). Se

comparó el valor de Rf de los extractos con el Rf del estándar de quercetina, indicando que este compuesto puede estar presente en los extractos etanólicos de raíces, peciolo y raíz. También se comparó el Rf del extracto de peciolo con el Rf del estándar de ácido clorogénico, evidenciando que este compuesto puede estar presente en los extractos etanólicos de peciolo. Ninguno de los extractos presentó presencia de hiperósido. La presencia de ácido clorogénico y quercetina ya ha sido reportada en extractos de las hojas de esta planta (Rufchaei, et al, 2022). (Ver Tabla 3. Ver Anexo No. 5).

Durante la realización de la prueba de taninos, se obtuvieron resultados negativos en la prueba de gelatina-sal, gelatina al 1%, demostrando la ausencia de taninos, debido a que no se formó precipitado al evaluar las muestras. Sin embargo, se observó que los extractos etanólicos de hojas, peciolo y raíz tuvieron un cambio de coloración a marrón amarillento. Esto podría indicar la presencia de compuestos fenólicos, los cuales precipitan en presencia de cloruro férrico, debido a la formación de un complejo (Barrera, Parra y Cuca, 2014). (Ver Tabla 2 y Anexo No. 3).

Se midió la actividad antioxidante de los extractos de diclorometano y etanólicos por medio de tres métodos, los cuales fueron DPPH, ABTS y FRAP. Los extractos etanólicos y de diclorometano de las raíces presentaron una actividad menor a 20 mg/mL, lo cual se demostró cualitativamente con la cromatografía de capa fina de DPPH. Debido a que la decoloración de la reacción para los extractos de las raíces fue de poca intensidad, en comparación con la mayor intensidad observada en los extractos de hojas y peciolo, no fue necesario realizar el ensayo de ABTS y FRAP en estos extractos, ya que la solución madre no tuvo una actividad significativa, comparada con el estándar TBHQ. Esta información no muestra diferencia con la reportada en un estudio hecho en India, donde se determinó que los extractos de hojas poseen mejor actividad antioxidante. Sin embargo, en el mismo estudio se reportó que las raíces tienen una mejor actividad antioxidante, lo cual difiere con los datos obtenidos (Tyagi y Agarwal, 2017). Los valores obtenidos en la prueba cuantitativa de DPPH muestran que los extractos etanólicos de peciolo y hojas ( $CI_{50}$  8.85 y 7.54 mg/mL) mostraron mejor actividad antioxidante que los extractos de diclorometano ( $CI_{50}$  9.93 y 7.79 mg/mL) debido a que obtuvieron valores de concentración inhibitoria media ( $CI_{50}$ ) más bajos.

Como estándares se utilizó TBHQ, Trolox, Quercetina, Rutina y Vitamina C. En esta determinación se emplearon cinco diluciones de cada extracto y sus respectivas tres repeticiones para establecer una ecuación de la recta que permitiera obtener el  $CI_{50}$ . (Ver Tabla 4. Ver Anexo No. 7).

Según Tyagi y Agarwal (2017), se realizó la cuantificación de DPPH en extractos metanólicos de hojas, peciols y raíces de *E. crassipes* y se obtuvo  $CI_{50}$  de 0.74, 6.41 y 4.32 mg/mL, respectivamente. El estudio realizado por Shanab y Shalaby (2012) concluyó que los extractos metanólicos de *E. crassipes* tuvieron un porcentaje de actividad antioxidante mayor a extractos hexánicos, al evaluar mediante el método de DPPH (55.42 y 43.15%). Mientras que, por medio del método de ABTS también se obtuvo resultados similares (56.93 y 55.95 %). Surendraraj, et al. (2013), cuantificó, mediante el método de DPPH, los extractos etanólicos y acuosos de hojas y peciols de *E. crassipes*, determinando que los porcentajes de actividad antioxidante fueron mayores en los extractos etanólicos de hojas (62.83%), en comparación con los extractos etanólicos de peciols (33.35%), que mostraron menor actividad a 1000  $\mu$ g/mL. Además, en el mismo estudio se evaluó la actividad antioxidante, por medio de FRAP, en donde se obtuvo que, a concentración de 1000  $\mu$ g/mL, casi todos los extractos de hojas y peciols mostraron una actividad mayor al 90%, concluyendo que los extractos acuosos de peciols mostraron la mayor actividad a esa concentración (94.76 %).

Otros estudios han evaluado la actividad antioxidante de plantas acuáticas. Según Müller, Caovila y Olguin (2017) se evaluaron los extractos hidroalcohólicos de la raíz y partes aéreas de *Ludwigia peploides*, *Paspalum repens*, *Hydrocotyle ranunculoides*, *Lemna valdiviana*, *Salvinia auriculata* y *Azolla caroliniana*. En donde, se evidenció que las partes aéreas de *P. repens* y *L. peploides* presentaron la mayor capacidad antioxidante, con valores de  $CI_{50}$  de 0.0804 y 0.0708 mg/mL, respectivamente. Al evaluar por medio del método FRAP, se demostró que *L. peploides* ( $CI_{50}$  10.22 mg/mL), *P. repens* ( $CI_{50}$  23.27 mg/mL) y *A. Caroliniana* ( $CI_{50}$  9.36 mg/mL) mostraron los mejores resultados. El estudio concluye mencionando que los resultados muestran que las plantas acuáticas poseen potencial actividad antioxidante y merecen ser estudiadas.

El ensayo de ABTS proporcionó datos que indican que los extractos etanólicos de hojas y peciolo poseen mejor actividad antioxidante, con valores de 7.55 y 12.58 mg/mL, que los extractos apolares, ya que se obtuvieron valores de  $CI_{50}$  más bajos, los cuales fueron 7.83 y 14.53 mg/mL, respectivamente. En este ensayo se utilizaron los estándares TBHQ, Trolox, Quercetina, Rutina y Vitamina C. Cabe mencionar que los valores obtenidos en este ensayo fueron mayores que los determinados en el ensayo de DPPH, esto puede deberse a que DPPH mide la capacidad antioxidante solamente de compuestos hidrofílicos, mientras que ABTS puede medir la capacidad antioxidante ya sea de compuestos hidrofílicos y lipofílicos (Munteanu y Apetrei, 2021). (Ver Tabla 4 y Anexo No. 7).

Mediante el ensayo FRAP se midió la capacidad reductora que tienen los polifenoles de transformar  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$ . Se observó que los extractos etanólicos de hojas y peciolo tuvieron mejor actividad que los extractos de diclorometano, ya que se obtuvo mayor cantidad de milimoles de cada estándar utilizado; los estándares usados fueron TBHQ, Trolox, Quercetina, Vitamina C y Sulfato ferroso. Los extractos mostraron cambio de coloración a azul oscuro al momento de realizar el ensayo, indicando la reducción de  $Fe^{3+}$ . (Ver Tabla 4 y Anexo 7). La capacidad reductora se relaciona con el grado de conjugación en fenoles y el número de constituyentes de hidroxilo. Por lo que, los extractos etanólicos de *Eichhornia crassipes* podrían tener mayor número de constituyentes y grado de conjugación (Gupta, 2014).

Se evaluó la actividad citotóxica de los extractos de hojas, peciolo y raíces por medio del método de *Artemia salina*. Los extractos no presentaron actividad citotóxica significativa. En India se ha reportado que los extractos de hojas tienen actividad citotóxica de baja a moderada en líneas celulares (Kumar, Kumar, Dwivedi y Pandey, 2014). Sin embargo, es probable que factores asociados a las condiciones ambientales al momento de colectar la planta, la cantidad de metabolitos relacionados a esta actividad y las diferentes concentraciones utilizadas pudieron haber causado la disminución de la toxicidad. (Ver Tabla 5 y Anexo No. 22).

También se realizó el ensayo de Factor de protección solar a cada uno de los extractos. Todos los extractos mostraron absorbancias significativas en un rango de longitud de onda de 290

a 320, en intervalos de 5 nm. Estudios sugieren que los compuestos fenólicos y flavonoides brindan propiedades antioxidantes, por lo que plantas con presencia de estos compuestos pueden tener potencial fotoprotector al ser absorbidos en dicha región UV (Sutar y Chaudhari, 2020). El factor de protección solar es un estándar de medición *in vitro* importante en estudios de desarrollo de productos fotoprotectores (Sutar y Chaudhari, 2020). La medición del factor de protección se realizó en concentración de 200 µg/ml. Los extractos que tuvieron un mayor factor de protección solar fueron los extractos de diclorometano de hojas, peciolo y raíces en comparación a los extractos etanólicos. Esto puede deberse a que ciertos compuestos con actividad fotoprotectora podrían haber sido muy solubles, en la concentración usada, en diclorometano y tener una solubilidad inferior en etanol (Naik y Desai, 2019). Entre los extractos etanólicos, el extracto de hojas tuvo un mejor factor de protección solar. (Ver Tabla 6 y Anexo No. 23 y 24).

## 11. Conclusiones

- 11.1 Se determinó que los extractos etanólicos y de diclorometano de hojas y pecíolos de *Eichhornia crassipes*, procedente del lago de Atitlán, Sololá poseen actividad antioxidante, por medio de los métodos DPPH, ABTS y FRAP, mientras que los extractos etanólicos y de diclorometano de raíces no reportaron actividad a 20 mg/mL.
- 11.2 Se detectó la presencia de metabolitos secundarios, como compuestos fenólicos y flavonoides en los extractos etanólicos de hojas y pecíolos de *Eichhornia crassipes*, responsables de la actividad antioxidante.
- 11.3 Se evidenció, mediante el método de DPPH y ABTS, que los extractos etanólicos de hojas (7.54, 7.55 mg/mg<sub>L</sub>), seguidos de los extractos etanólicos de pecíolos (8.85, 12.58 mg/mL) de *Eichhornia crassipes* tienen una mayor capacidad antioxidante que los extractos de diclorometano de hojas (7.79, 7.83 mg/mL) y pecíolos (9.93, 14.53 mg/mL) ya que presentaron un valor de CI<sub>50</sub> menor.
- 11.4 Se evidenció que los extractos etanólicos de hojas, seguido de los extractos etanólicos de pecíolos tuvieron mejor capacidad reductora de transformar Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup>, en el ensayo FRAP, en comparación a los extractos de diclorometano, ya que se obtuvo mayor cantidad de milimoles de Fe<sup>2+</sup> por extracto.
- 11.5 Se determinó que los extractos de diclorometano de hojas, pecíolos y raíces de *Eichhornia crassipes* tienen un factor de protección solar mayor a los extractos etanólicos, evidenciándose con los valores de factor de protección solar obtenidos de estos extractos, lo cual confirma el potencial de aplicación de la especie en la fotoprotección.

- 11.6 Se estableció que los extractos de hojas, peciolo y raíces de *Eichhornia crassipes* no presentaron toxicidad significativa, ya que la citotoxicidad fue mayor a 1mg/mL.

## 12. Recomendaciones

- 12.1 Se recomienda recolectar y evaluar los extractos apolares y polares de las flores de *Eichhornia crassipes*, procedentes del lago de Atitlán para determinar si presentan posible actividad antioxidante.
- 12.2 Realizar un fraccionamiento, separación y aislamiento de los compuestos presentes en hojas, peciolo y flores de *Eichhornia crassipes* para determinar su potencial y actividad terapéutica.
- 12.3 Identificar y aislar los flavonoides y compuestos fenólicos de los extractos de hojas, flores y peciolo de *Eichhornia crassipes* para explorar su potencial antioxidante.
- 12.4 Evaluar la actividad antioxidante, fotoprotectora y citotóxica de *Eichhornia crassipes* procedente de otras regiones del país.

### 13. Referencias

- Aboul-Enein, A., Shanab, S., Shalaby, E., y *et al.* (2014). Cytotoxic and antioxidant properties of active principals isolated from water hyacinth against four cancer cells lines. *BMC Complement Altern Med.* 14, 397.
- Alayo, W., y Fiestas, R. (2016). *Factor de protección solar del extracto hidroalcohólico de Hojas de Piper aduncum “matico”*. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional de Trujillo, Perú.
- Barrera, C., Parra, J., y Cuca, L. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (rutaceae). *Elementos*, 4.
- Batcher, M. (2000). *invasive.org*. Recuperado de: <https://www.invasive.org/gist/esadocs/documnts/eichcra.pdf>
- Ben, W., Ezzariai, A., Karouach, F., Sobeh, M., Kibret, M., Hafidi, M., Kouisni, L., y Yasri, A. (2022). *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms: A Comprehensive Review of Its Chemical Composition, Traditional Use, and Value-Added Products. *Front. Pharmacol.* 13:842511. doi: 10.3389/fphar.2022.842511
- Cerretani, L., & Bendini, A. (2010). Rapid Assays to Evaluate the Antioxidant Capacity of Phenols in Virgin Olive Oil. *Health and Disease Prevention*, 625–635.
- Aguilar, G., e Iza, A. (2009). *Gobernanza del agua en Mesoamérica*. Suiza: UICN.
- CABI. (2019). *Eichhornia crassipes (water hyacinth)*. Recuperado de: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/20544#tosummaryOfInvasiveness>
- CIT. (2003). *Información tecnológica*. Chile: Del Norte.
- Córdova, K. (2012). *Análisis Probit en la determinación de la dosis y el tiempo letal medio en nematodos*. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional de Trujillo, Perú.

- Degaga, A. (2018). Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Biology and its Impacts on Ecosystem, Biodiversity, Economy and Human Wellbeing. *J. Life Sci. Biomed.* 8(6), 94-100.
- Departamento de Investigación y calidad ambiental -DICA-. (2015). *Informe de vegetación acuática en el lago de Atitlán 2015*. Guatemala: AMSCLAE.
- Fileto, H., Rutiaga, O., Sytsma, M., Lorne, I., Luo, W., y Pankow, J. (2015). GC/MS Analysis of Some Extractives from. *Eichhornia crassipes*. *Bioresources*, 10 (4), 7353–7360.
- Finney, D. (1952). *Probit Analysis*. England: Cambridge University Press.
- Flores, I. (2017). Evaluación de la actividad antioxidante y caracterización fitoquímica del extracto de hojas de matiliguete (*Tabebuia rosea*). (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Flores, P., y Pérez, S. (2014). *Determinación del factor de protección solar (FPS) in vitro para las antocianinas del maíz morado y su inclusión en el diseño de bioprotectores solares*. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Perú.
- Grigalius, I., & Petrikaite, V. (2017). Relationship between Antioxidant and Anticancer Activity of Trihydroxyflavones. *Molecules*, 22, 2169.
- Gupta, D. (2015). Methods for determination of antioxidant capacity: a review. *IJPSR*, 6(2): 546-566
- Haggag, M., Abou El Ella, S., & Abouzienna, H. (2017). Phytochemical Analysis, Antifungal, Antimicrobial Activities and Application of *Eichhornia crassipes* Against Some Plant Pathogens. *Planta Daninha*, 35(0).
- Hegazy, M., Imam, A., y Abdelghany, B. (2020). Evaluation of cytotoxic and anticancer effect of *Orobancha crenata* methanolic extract on cancer cell lines. *Tumor Biology*, 42(5), 101042832091868. doi:10.1177/1010428320918685

- Hernández, P., Baquero, L., & Larrota, H. (2019). Flavonoids: Potential Therapeutic Agents by Their Antioxidant Capacity. *Flavonoids. Bioactive Compounds*, 265–288. doi:10.1016/b978-0-12-814774-0.00014-1
- Jayanthi, P., Lalitha, P., & Aarthi, N. (2012). Larvicidal and pupicidal activity of extracts and fractionates of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms against the filarial vector *Culex quinquefasciatus* Say. *Parasitology research*, 111(5), 2129-2135.
- Kiristos, T., Kebede, A., Chaithanya, K., y Teka, Z. (2018). Evaluation of *in vitro* antibacterial potential of *Eichhornia crassipes* leaf extracts. *Drug Invention Today*, 10(5).
- Kulczycki, K., y Godin, A. (2019). *Cannabis Science and Technology*, 2(4), 66–68
- Kumar, S., Kumar, R., Dwivedi, A., & Pandey, A. K. (2014). *In vitro* antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activity and in vivo effect of *Syngonium podophyllum* and *Eichhornia crassipes* leaf extracts on isoniazid induced oxidative stress and hepatic markers. *BioMed research international*, 2014, 459452. <https://doi.org/10.1155/2014/459452>
- Kuskoski, M., Asuero, G., Troncoso, A., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), 726-732. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>.
- Lalitha, P., Sripathi, S., y Jayanthi, P. (2012). Secondary Metabolites of *Eichhornia crassipes* (Waterhyacinth): A Review. *Natural Product Communications*, 7(9). <https://doi.org/10.1177/1934578x1200700939>
- Lara, J., Rutiaga, O., López, J., Fileto, H., Pedraza, F., Rico, J., y Rutiaga, J. (2016). Physicochemical characterization of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms). *BioRes*. 11(3), 7214-7223.

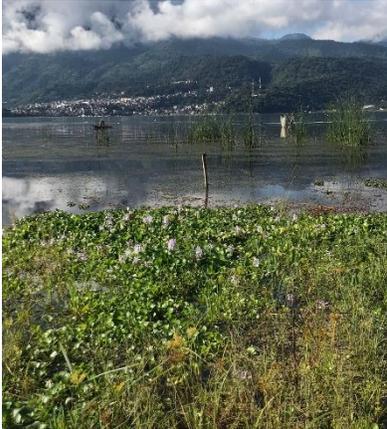
- Manjula, T. (2018). Phytochemical Characterization of *Eichhornia crassipes* and *Sargassum cristaefolium*, and Their Effects on the Growth of the Prawn *Macrobrachium rosenbergii*. 6. 71-83. 10.21276/sajb.2018.6.1.10.
- Munteanu, I., y Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int. J. Mol. Sci*, 22, 3380
- Naik, S., y Desai, S. (2019). Estimation and Comparison of Hydro-Alcoholic and Water Extract for Sun Protection Factor Activity from Naturally Available Resources. *Int J Environ Sci Nat*, 21(1), 556052. DOI: 10.19080/IJESNR.2019.21.556052
- NCSS Statistical Software. (2021). Probit Analysis. Recuperado de: [https://ncss-wpengine.netdna-ssl.com/wp-content/themes/ncss/pdf/Procedures/NCSS/Probit\\_Analysis.pdf](https://ncss-wpengine.netdna-ssl.com/wp-content/themes/ncss/pdf/Procedures/NCSS/Probit_Analysis.pdf)
- Pernillo, L. (2018). *Comprobación de la actividad antioxidante y evaluación de la actividad citotóxica de Theobroma bicolor procedente de Samayac, Suchitepéquez*. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Pino, O., & Jorge, F. (2010). Ensayo de artemia: útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. *Revista de Protección Vegetal*, 25(1), 34-43.
- Prasetya, B., & Mandang, J. (2012). Phytochemical analysis of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) of agricultural waste as biosensitizer for ferri photoreduction agrivita. *Journal of Agricultural Science*, 34, 152-160.
- Proestos, C., & Komaitis, M. (2009). Antioxidant Capacity of Hops. *Beer in Health and Disease Prevention*, 467–474.
- Rivera, S. (2005). *Caracterización preliminar de Eichhornia crassipes y aproximación a su actividad biológica contra larvas de Culex quinquefasciatus*. (Tesis de Licenciatura). Universidad de los Andes.

- Robinson, J., Suriya, K., Subbaiya, R., & Ponmurugan, P. (2017). Antioxidant and cytotoxic activity of *Tecoma stans* against lung cancer cell line (A549). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 53(3), e00204.
- Rufchaei R., Abbas-Mohammadi M, Mirzajani A., Nedaei S. (2022). Evaluation of the Chemical Compounds and Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Leaves of *Eichhornia crassipes* (Water Hyacinth). *Jundishapur J Nat Pharm Prod*, 17(1): e101436.
- Salih, E., Tahir, M., & Basri, H. (2019). Cell Division, Cytotoxicity, and the Assays Used in the Detection of Cytotoxicity. *Cytotoxicity - Definition, Identification, and Cytotoxic Compounds*. doi:10.5772/intechopen.88368
- Sammar, M., Abu-Farich, B., Rayan, I., Falah, M., y Rayan, A. (2019). Correlation between cytotoxicity in cancer cells and free radical-scavenging activity: *In vitro* evaluation of 57 medicinal and edible plant extracts. *Oncol Lett*, 18(6), 6563-6571.
- Shanab, S. (2012). Biological activities and anticorrosion efficiency of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(23).
- Sehwag, Sneha & Das, Madhusweta. (2013). Antioxidant Activity: An Overview. Research & Reviews. *Journal of Food Science & Technology*. 2, 1-10.
- Surendraraj, A., Farvin, K., & Anandan, R. (2013). Antioxidant Potential of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*): *In Vitro* Antioxidant Activity and Phenolic Composition. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 22(1), 11–26.
- Sutar, M., y Chaudhari, S. (2020). Screening of *in vitro* sun protection factor of some medicinal plant extracts by ultraviolet spectroscopy method. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 8(6), 48-53.
- Tropical Plants Database, Ken Fern. (2021). *Eichhornia crassipes*. Recuperado de: <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Eichhornia+crassipes>

- Thamaraiselvi, P., y Jayanthi, P. (2012). Study of antioxidant activity of ethanolic extract of fresh *Eichhornia crassipes* (Mart) Solms. *Der Pharmacia Sinica*, 3 (2):271-277.
- Tyagi, T., & Agarwal, M. (2017). Antioxidant Properties and Phenolic Compounds in Methanolic Extracts of *Eichhornia crassipes*. *Research Journal of Phytochemistry*. 11. 85-89.

## 14. Anexos

### Anexo No. 1. Recolección de muestras de *Eichhornia crassipes* en el lago de Atitlán, Sololá.

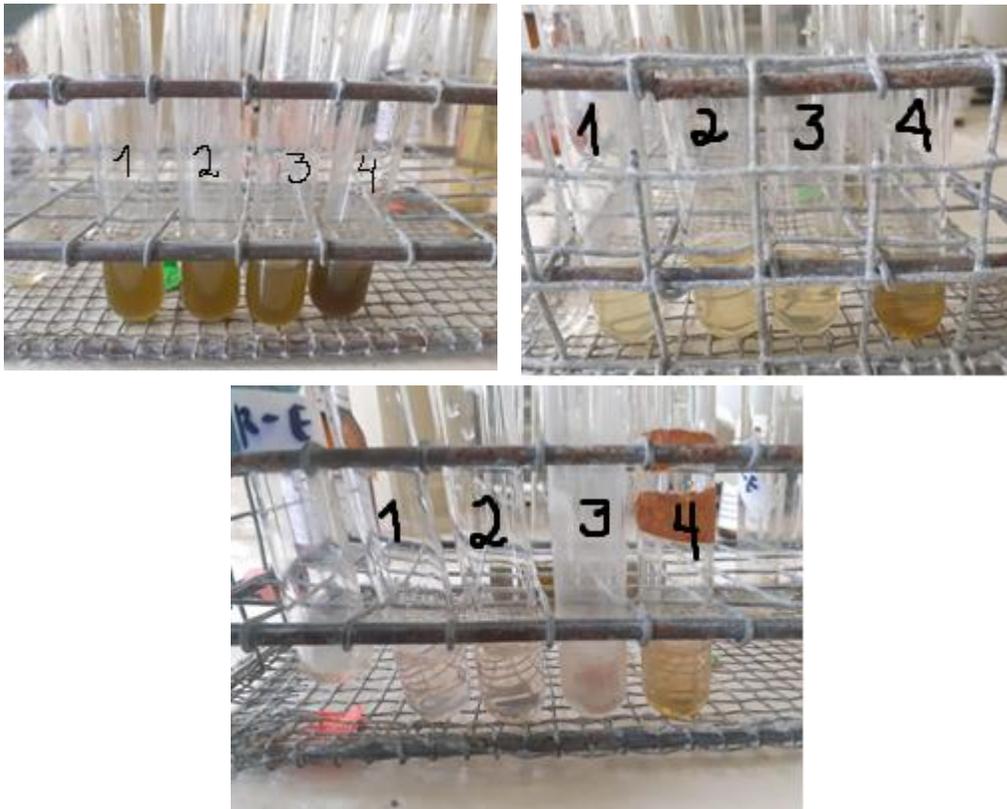


**Anexo No. 2. Secado, molienda, prueba del mejor solvente, extracción de muestras y concentración de extractos en rotavapor.**



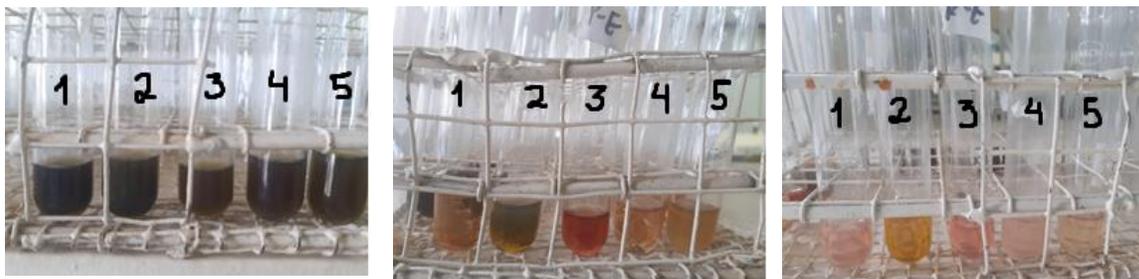
Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 3. Determinación macrométrica de taninos en extractos etanólicos de hojas, raíces y peciolo.** Tubo 1: testigo. Tubo 2: gelatina al 1%. Tubo 3: gelatina-sal. Tubo 4: cloruro férrico al 10%. Se observa cambio de coloración en prueba de cloruro férrico.



Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 4. Determinación macrométrica de flavonoides en extractos etanólicos de hojas, raíces y peciolo.** Tubo 1:  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado. Tubo 2:  $\text{FeCl}_3$  10%. Tubo 3:  $\text{HCl}$  + calentamiento. Tubo 4: magnesio metálico +  $\text{HCl}$  concentrado. Tubo 5: testigo. Se observaron cambios de color en todos los tubos y formación de burbujas en tubo 4.



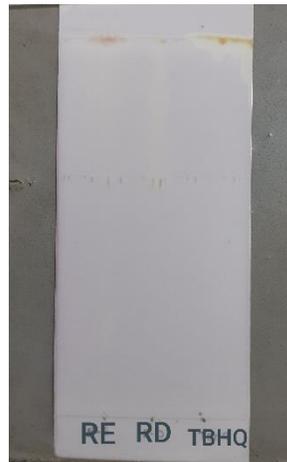
Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 5. Determinación macrométrica de flavonoides y antocianinas en extractos etanólicos de hojas, raíces y peciolo mediante cromatografía de capa fina.** HE: Hojas. PE: Peciolo. RE: Raíces. Q: Quercetina. R: Rutina. AC: Ácido clorogénico. H: Hiperósido.



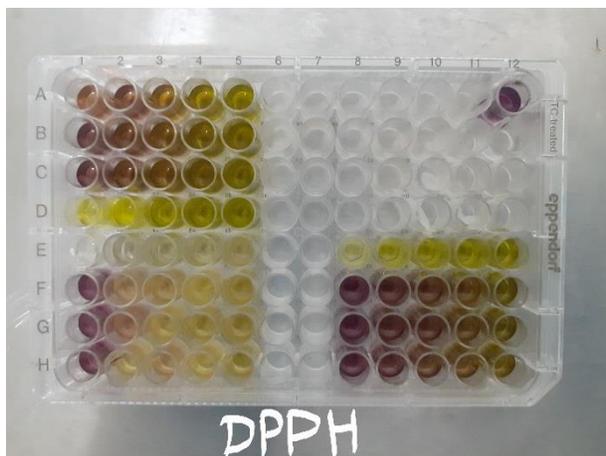
Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 6. Determinación cualitativa de actividad antioxidante en extractos de raíces mediante el método DPPH en cromatografía de capa fina.** RE: Extractos etanólicos de raíces. RD: Extractos de diclorometano de raíces TBHQ: estándar. La intensidad de las bandas fue baja.



Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 7. Cuantificación de la actividad antioxidante mediante método de DPPH, ABTS y FRAP.**



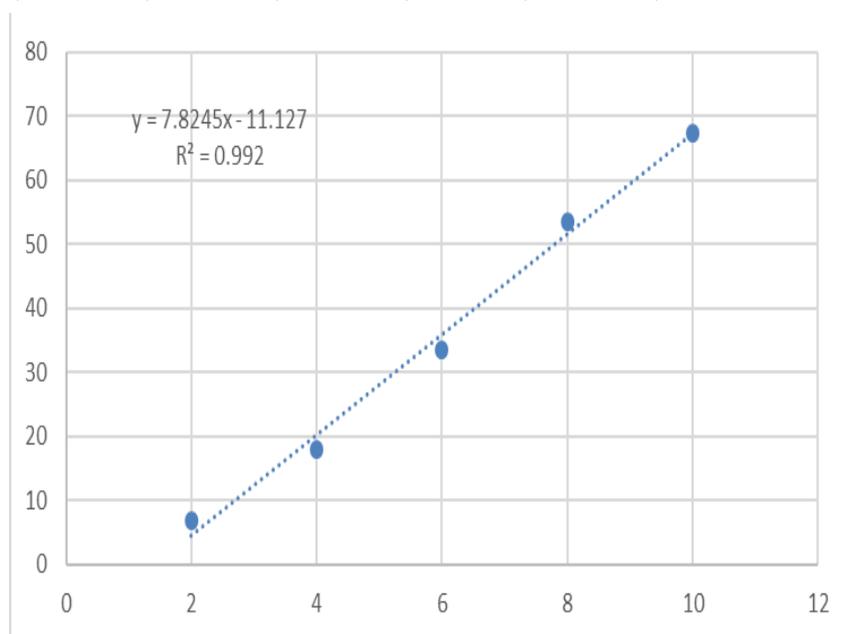


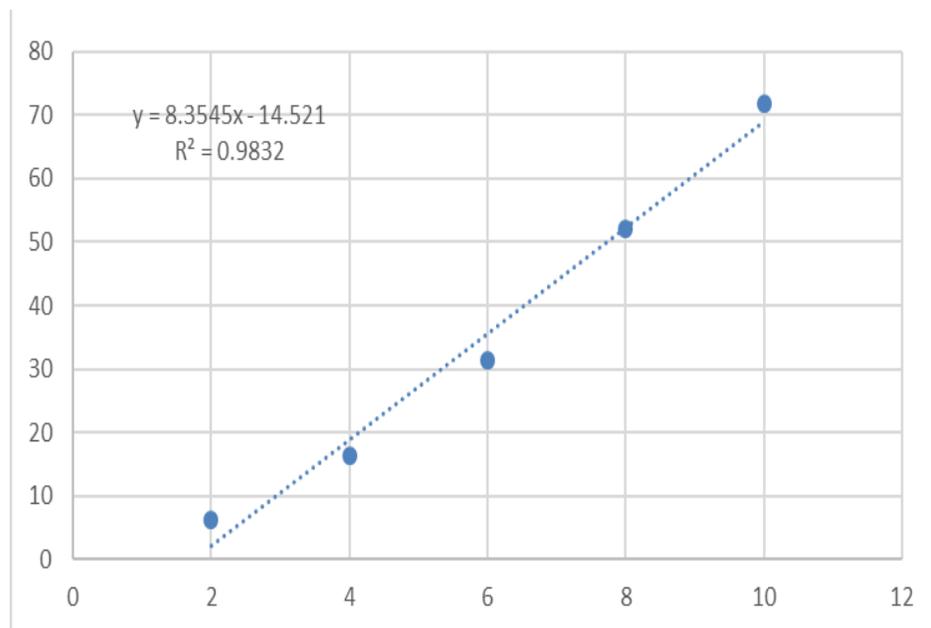
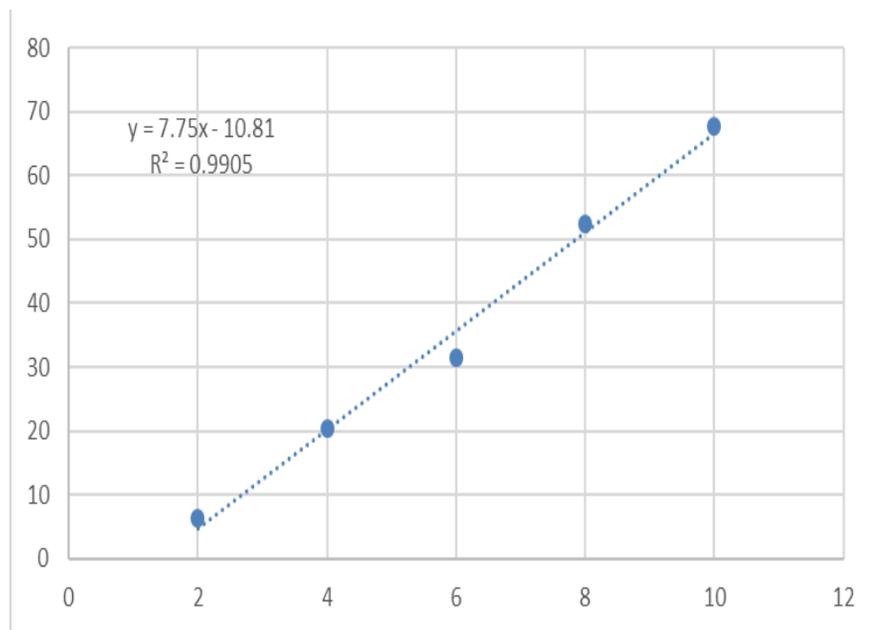
Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

### Anexo No. 8. Datos obtenidos de actividad antioxidante cuantitativa, por el método DPPH, del extracto de diclorometano de hojas.

Se realizaron lecturas de cinco diluciones diferentes del extracto de diclorometano de las hojas por medio de ELISA a 490 nm. En la tabla se muestran las absorbancias obtenidas, el porcentaje de inhibición y la concentración inhibitoria media del extracto. Se realizaron tres repeticiones y se obtuvo un coeficiente de determinación mayor a 0.97, como puede observarse en las gráficas.

Muestra	Blanco	Absorbancia mx	Diferencia	% inhibición	CI50	Promedio	Desviación	Concentración (mg/mL)
Control	0.053	0.961	0.908					
D1	0.075	0.936	0.861	6.8181818				2
50µL/450µL		0.941	0.866	6.2770563				
		0.942	0.867	6.1688312				
D2	0.133	0.892	0.759	17.857143				4
100µL/400µL		0.868	0.735	20.454545				
		0.905	0.772	16.450216				
D3	0.189	0.802	0.613	33.658009				6
150µL/350µL		0.822	0.633	31.493506				
		0.823	0.634	31.385281				
D4	0.208	0.637	0.429	53.571429				8
200µL/300µL		0.647	0.439	52.489177				
		0.65	0.442	52.164502				
D5	0.272	0.575	0.303	67.207792	7.8122564			10
250µL/250µL		0.57	0.298	67.748918	7.8464516	7.7938706	0.06379296	
		0.532	0.26	71.861472	7.7229038			



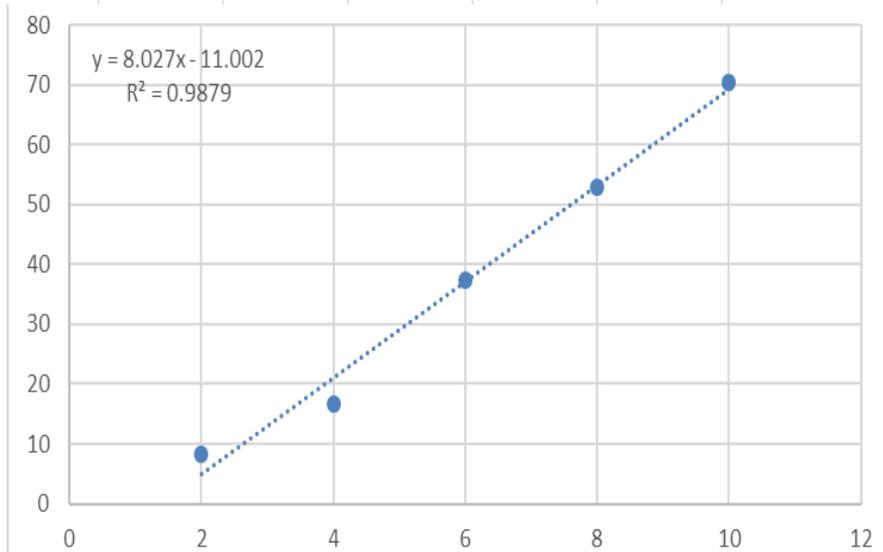


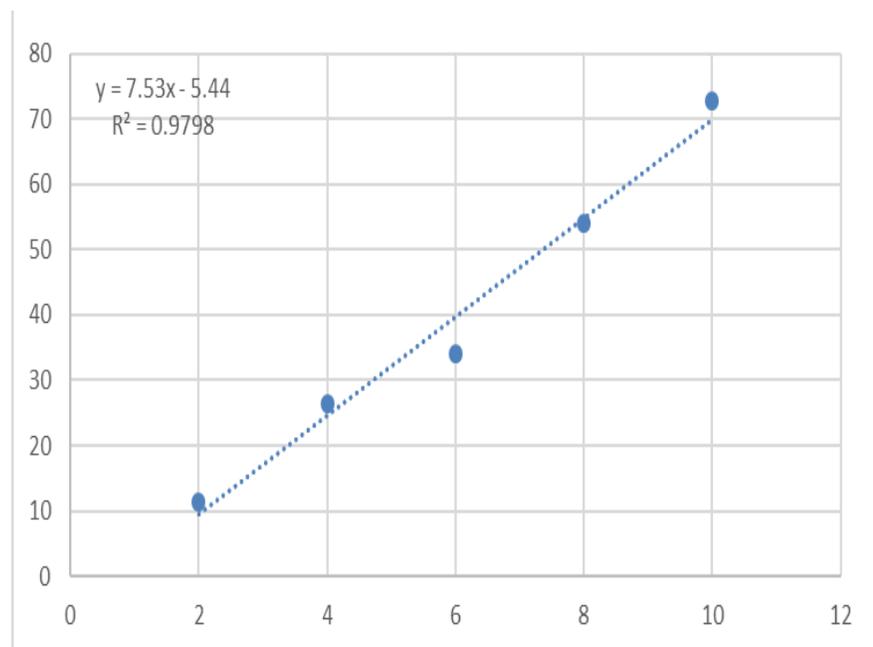
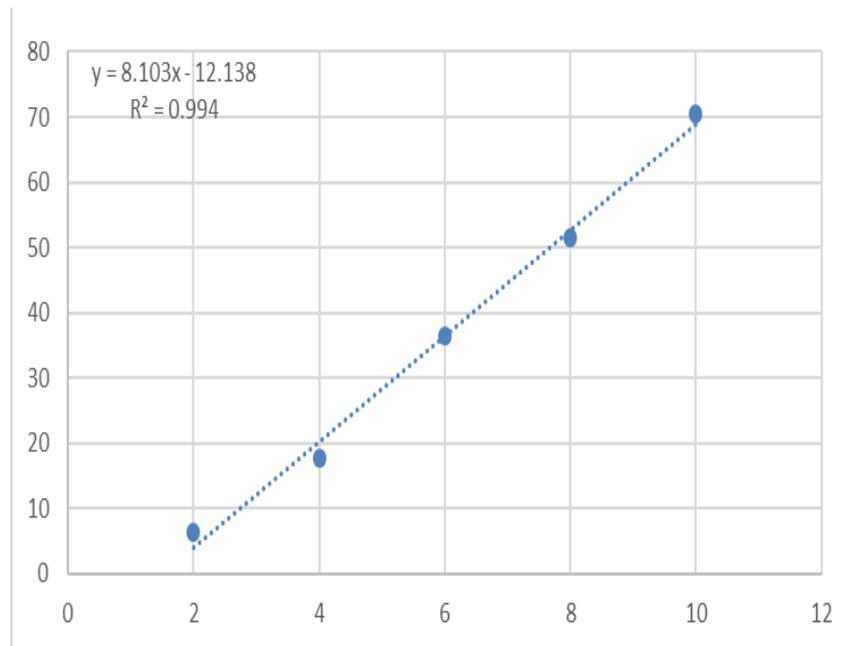
Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

### Anexo No. 9. Datos obtenidos de actividad antioxidante cuantitativa, por el método DPPH, del extracto etanólico de hojas.

Se realizaron lecturas de cinco diluciones diferentes del extracto etanólico de las hojas por medio de ELISA a 490 nm. En la tabla se muestran las absorbancias obtenidas, el porcentaje de inhibición y la concentración inhibitoria media del extracto. Se realizaron tres repeticiones y se obtuvo un coeficiente de determinación mayor a 0.97, como puede observarse en las gráficas.

Muestra	Blanco	Absorbancia mx	Diferencia	% inhibición	Cl50	Promedio	Desviación	Concentración (mg/mL)
Control	0.046	0.961	0.915					
D1	0.051	0.908	0.857	6.33879781				2
50µL/450µL		0.89	0.839	8.30601093				
		0.862	0.811	11.3661202				
D2	0.063	0.817	0.754	17.5956284				4
100µL/400µL		0.825	0.762	16.7213115				
		0.737	0.674	26.3387978				
D3	0.076	0.657	0.581	36.5027322				6
150µL/350µL		0.649	0.573	37.3770492				
		0.679	0.603	34.0983607				
D4	0.093	0.536	0.443	51.5846995				8
200µL/300µL		0.524	0.431	52.8961749				
		0.513	0.42	54.0983607				
D5	0.129	0.4	0.271	70.3825137	7.66851783			10
250µL/250µL		0.399	0.27	70.4918033	7.59960135	7.54355633	0.16049889	
		0.378	0.249	72.7868852	7.3625498			



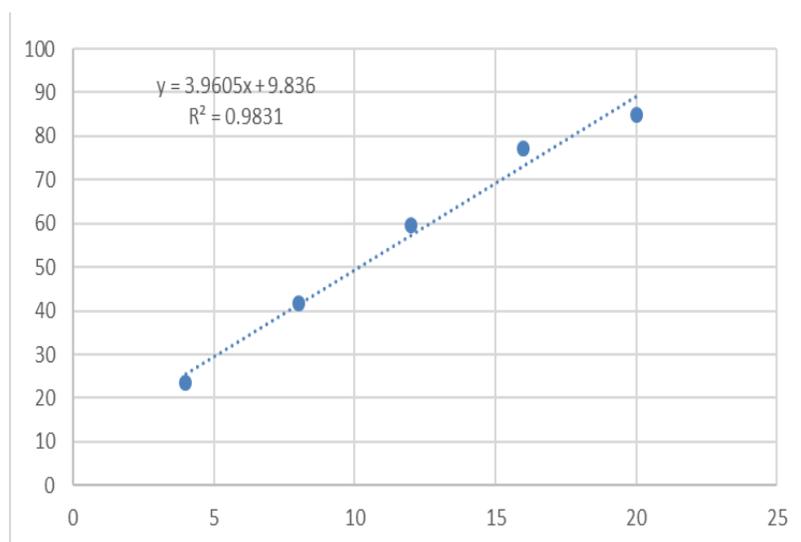


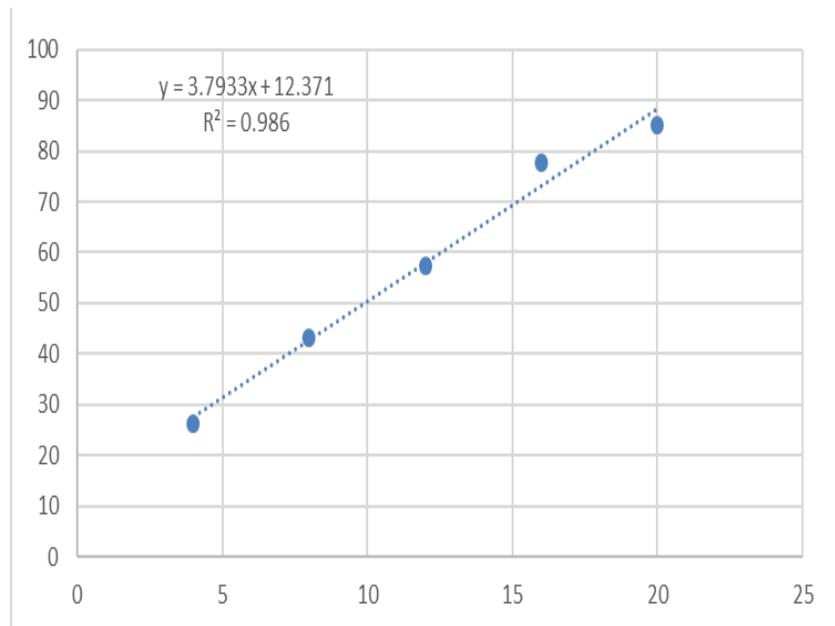
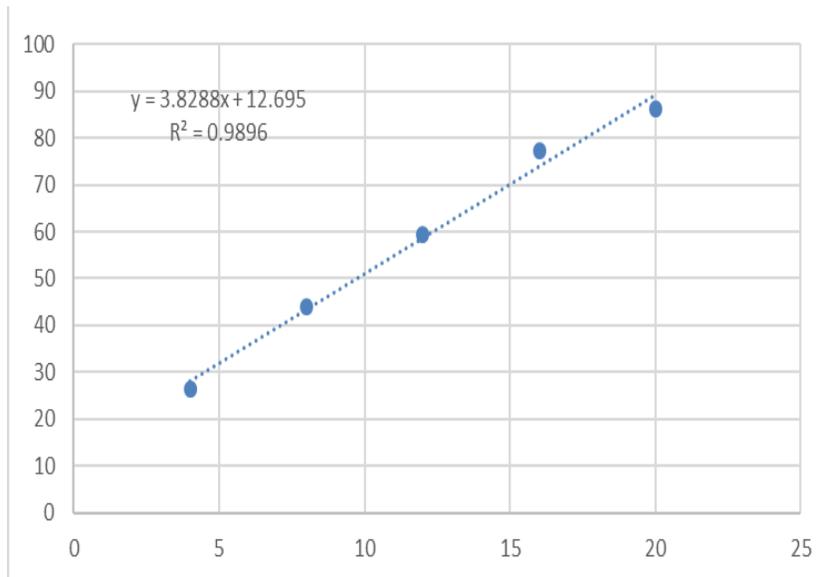
Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 10. Datos obtenidos de actividad antioxidante cuantitativa, por el método DPPH, del extracto de diclorometano de peciolos.**

Se realizaron lecturas de cinco diluciones diferentes del extracto de diclorometano de los peciolos por medio de ELISA a 490 nm. En la tabla se muestran las absorbancias obtenidas, el porcentaje de inhibición y la concentración inhibitoria media del extracto. Se realizaron tres repeticiones y se obtuvo un coeficiente de determinación mayor a 0.97, como puede observarse en las gráficas.

Muestra	Blanco	Absorbancia mx	Diferencia	% inhibición	CI50	Promedio	Desviación	Concentración (mg/mL)
Control	0.05	1.036	0.986					
D1	0.142	0.896	0.754	23.52941176				4
50µL/200µL		0.868	0.726	26.36916836				
		0.868	0.726	26.36916836				
D2	0.272	0.848	0.576	41.5821501				8
100µL/150µL		0.833	0.561	43.10344828				
		0.825	0.553	43.9148073				
D3	0.392	0.791	0.399	59.53346856				12
150µL/100µL		0.812	0.42	57.40365112				
		0.793	0.401	59.3306288				
D4	0.526	0.75	0.224	77.28194726				16
200µL/50µL		0.747	0.221	77.5862069				
		0.749	0.223	77.38336714				
D5	0.633	0.782	0.149	84.88843813	10.1411438			20
250µL µL		0.781	0.148	84.98985801	9.9198587	9.9347547	0.19935892	
		0.769	0.136	86.20689655	9.7432616			



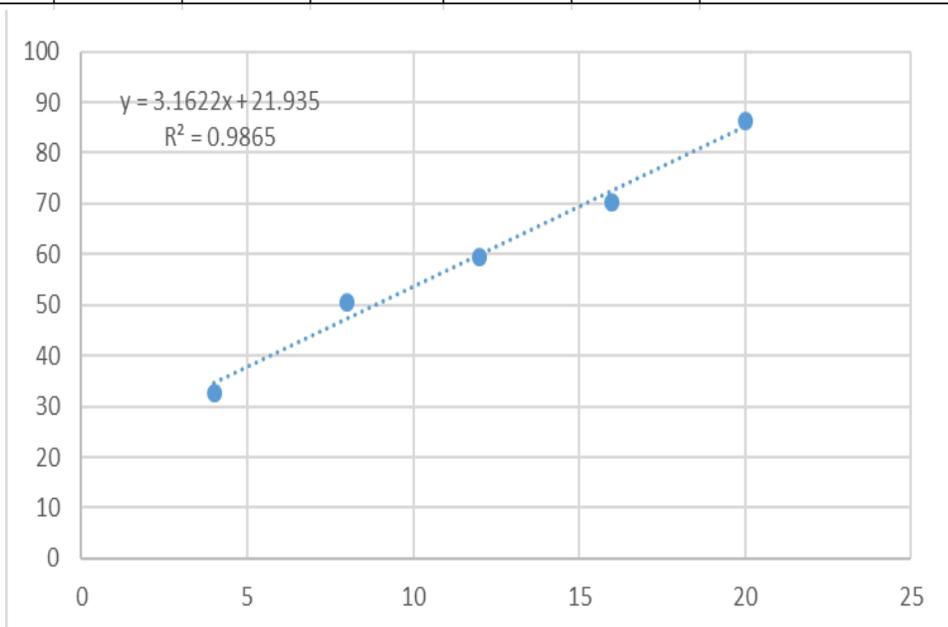


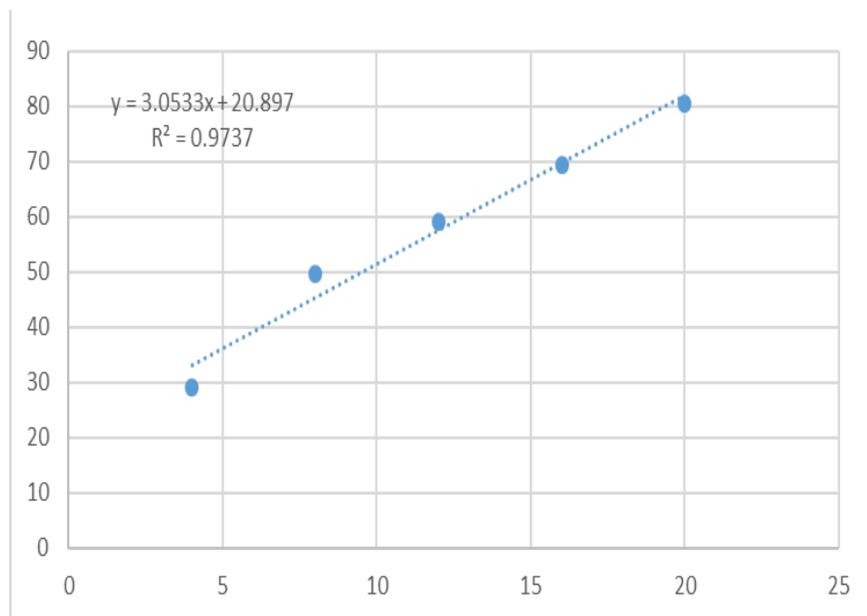
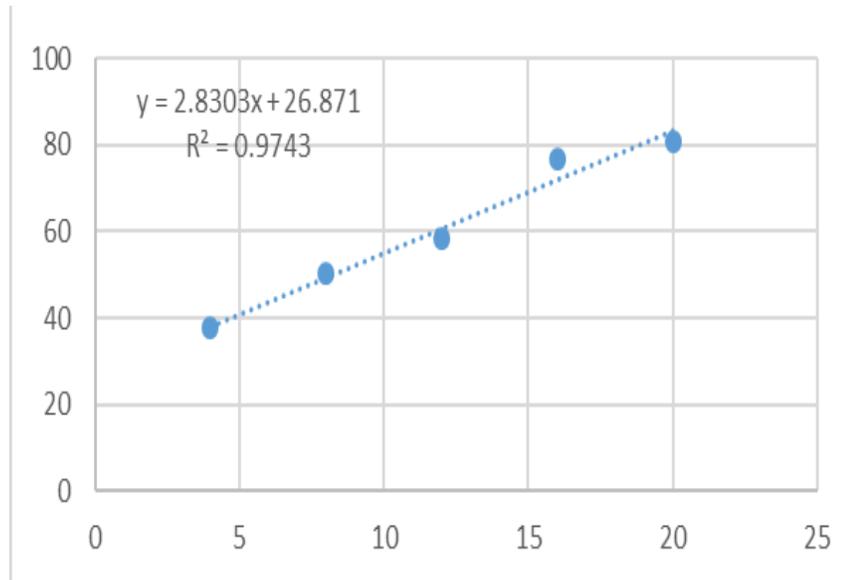
Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

### Anexo No. 11. Datos obtenidos de actividad antioxidante cuantitativa, por el método DPPH, del extracto etanólico de pecíolos.

Se realizaron lecturas de cinco diluciones diferentes del extracto etanólico de los pecíolos por medio de ELISA a 490 nm. En la tabla se muestran las absorbancias obtenidas, el porcentaje de inhibición y la concentración inhibitoria media del extracto. Se realizaron tres repeticiones y se obtuvo un coeficiente de determinación mayor a 0.97, como puede observarse en las gráficas.

Muestra	Blanco	Absorbancia	Diferencia	% inhibición	CI50	Promedio	Desviación	Concentración (mg/mL)
Control	0.039	1.069	1.03					
D1	0.044	0.686	0.642	37.6699029				4
50µL/200µL		0.774	0.73	29.1262136				
		0.737	0.693	32.7184466				
D2	0.051	0.564	0.513	50.1941748				8
100µL/150µL		0.569	0.518	49.7087379				
		0.559	0.508	50.6796117				
D3	0.062	0.489	0.427	58.5436893				12
150µL/100µL		0.483	0.421	59.1262136				
		0.478	0.416	59.6116505				
D4	0.066	0.305	0.239	76.7961165				16
200µL/50µL		0.382	0.316	69.3203883				
		0.373	0.307	70.1941748				
D5	0.063	0.259	0.196	80.9708738	8.171925238			20
250µL µL		0.265	0.202	80.3883495	9.531654276	8.85957658	0.67999829	
		0.205	0.142	86.2135922	8.875150212			



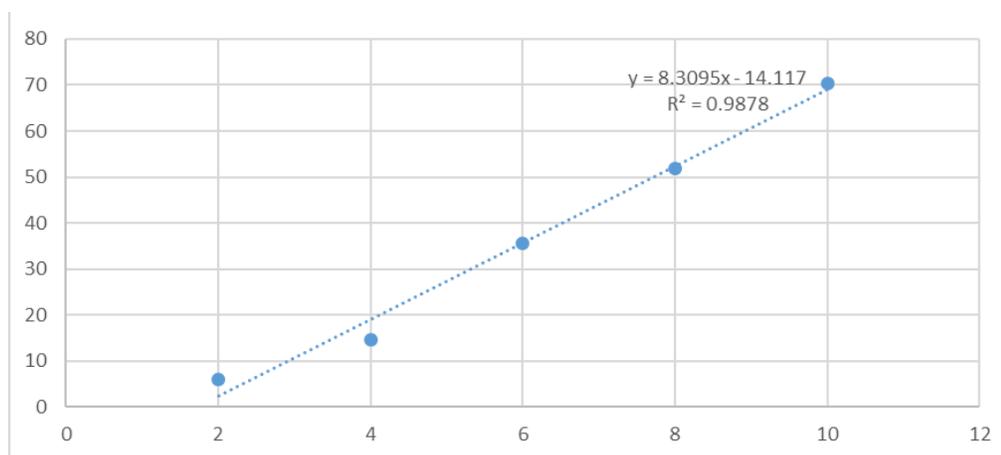


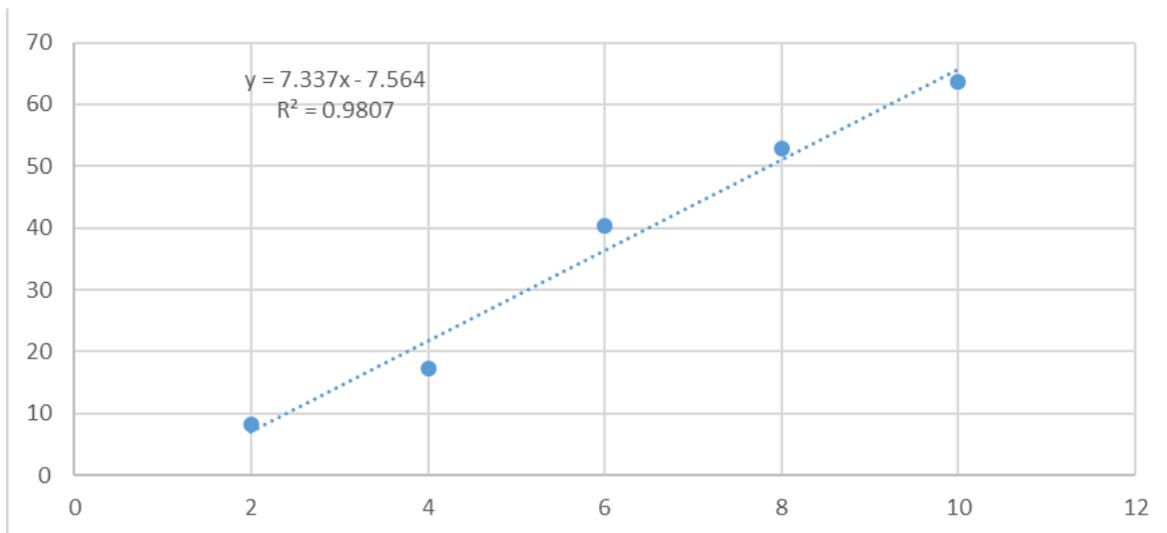
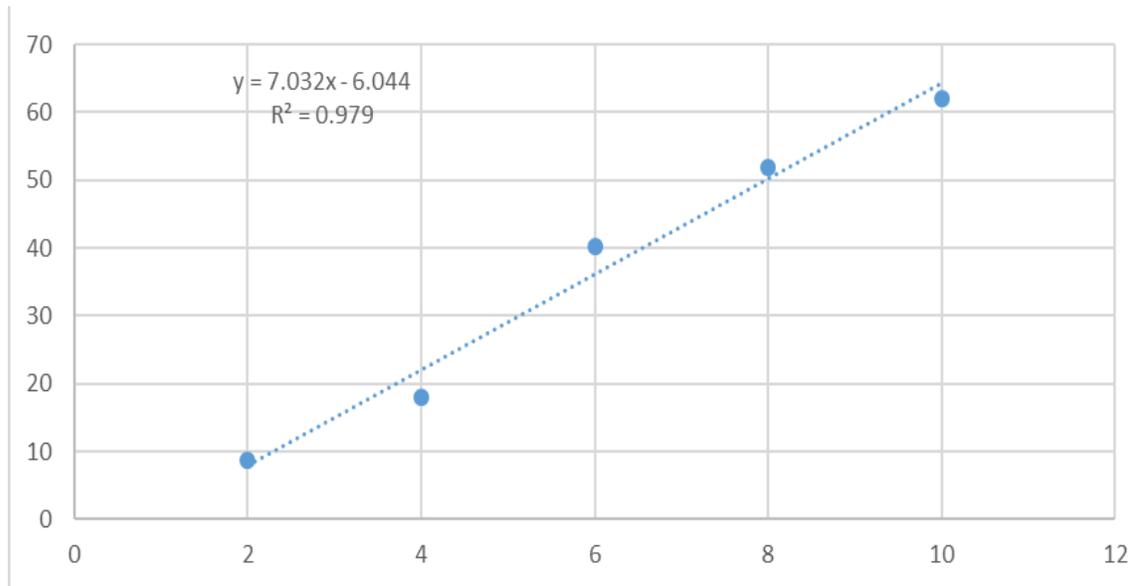
Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 12. Datos obtenidos de actividad antioxidante cuantitativa, por el método ABTS, del extracto de diclorometano de hojas.**

Se realizaron lecturas de cinco diluciones diferentes del extracto de diclorometano de las hojas en un espectrofotómetro a 734 nm. En la tabla se muestran las absorbancias obtenidas, el porcentaje de inhibición y la concentración inhibitoria media del extracto. Se realizaron tres repeticiones y se obtuvo un coeficiente de determinación mayor de 0.97, como puede observarse en las gráficas.

Muestra	Absorbancia	% inhibición	Cl50	Promedio	Desviación	Concentración (mg/mL)
Control	0.703					
	0.706					
D1	0.661	5.974395448				2
50µL/450µL	0.642	8.677098151				
	0.646	8.108108108				
D2	0.6	14.6514936				4
100µL/400µL	0.577	17.92318634				
	0.581	17.3541963				
D3	0.452	35.70412518				6
150µL/350µL	0.42	40.25604552				
	0.42	40.25604552				
D4	0.339	51.98300283				8
200µL/300µL	0.34	51.84135977				
	0.333	52.83286119				
D5	0.209	70.39660057	7.69830529			10
250µL/250µL	0.268	62.03966006	7.9698521	7.83795697	0.13593948	
	0.256	63.73937677	7.84571351			



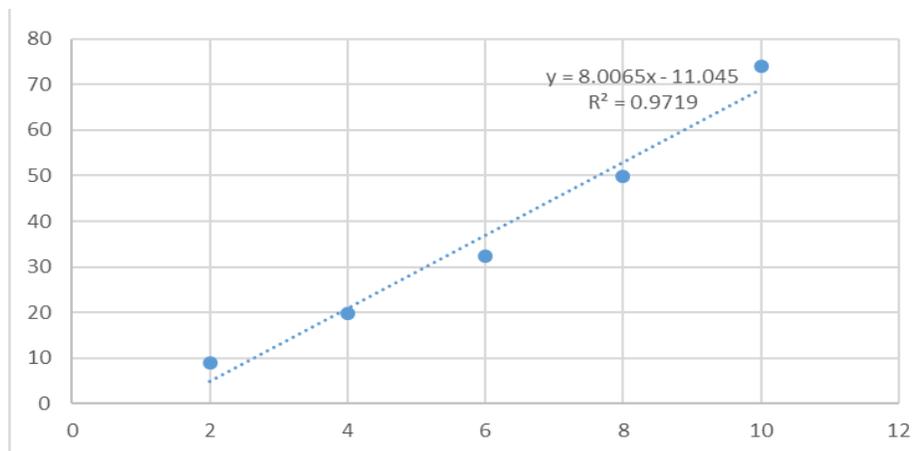
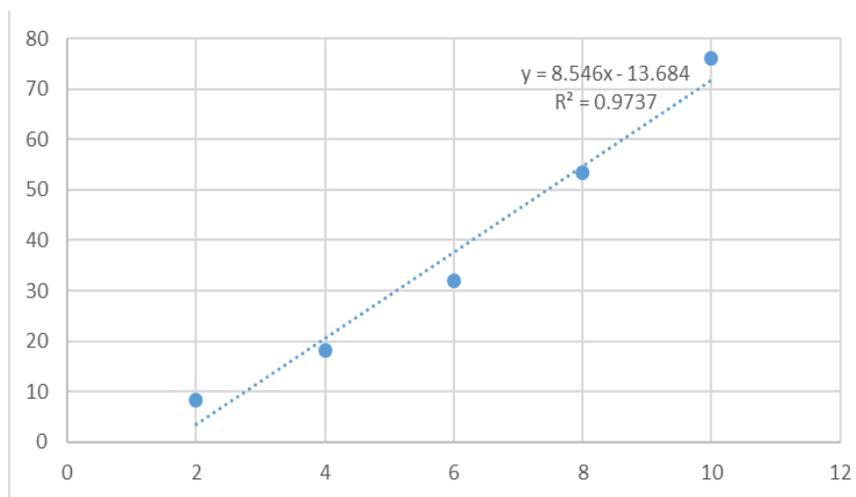
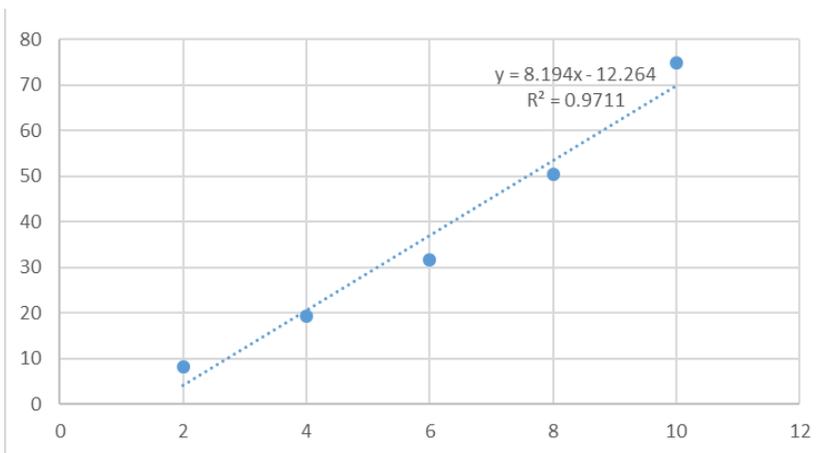


Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 13. Datos obtenidos de actividad antioxidante cuantitativa, por el método ABTS, del extracto etanólico de hojas.**

Se realizaron lecturas de cinco diluciones diferentes del extracto etanólico de las hojas en un espectrofotómetro a 734 nm. En la tabla se muestran las absorbancias obtenidas, el porcentaje de inhibición y la concentración inhibitoria media del extracto. Se realizaron tres repeticiones y se obtuvo un coeficiente de determinación mayor de 0.97, como puede observarse en las gráficas.

Muestra	Absorbancia	% inhibición	CI50	Promedio	Desviación	Concentración (mg/mL)
Control	0.705					
D1	0.647	8.226950355				2
50µL/450µL	0.646	8.368794326				
	0.642	8.936170213				
D2	0.577	18.15602837				4
100µL/400µL	0.569	19.29078014				
	0.565	19.85815603				
D3	0.479	32.05673759				6
150µL/350µL	0.481	31.77304965				
	0.477	32.34042553				
D4	0.328	53.4751773				8
200µL/300µL	0.35	50.35460993				
	0.354	49.78723404				
D5	0.169	76.02836879	7.45190733			10
250µL/250µL	0.178	74.75177305	7.59873078	7.55835608	0.09307856	
	0.183	74.04255319	7.62443015			

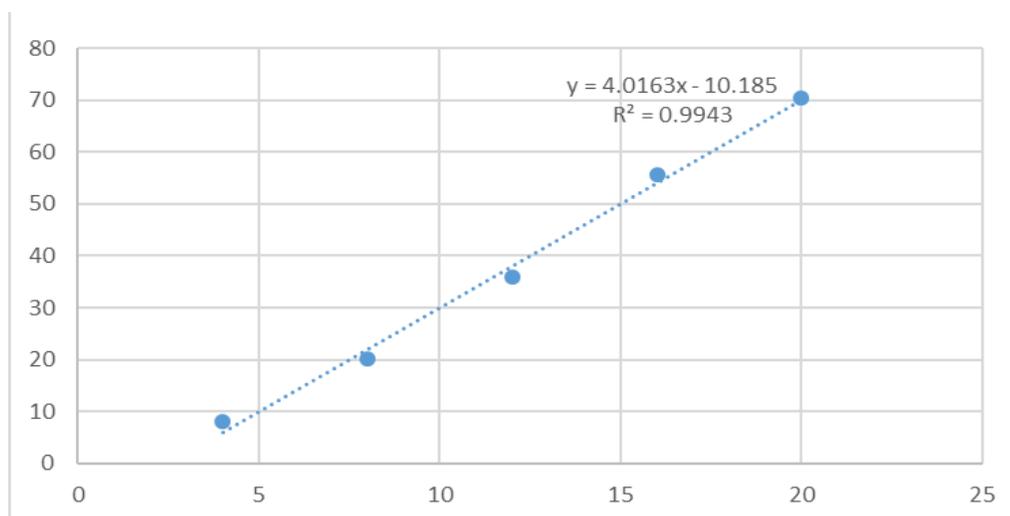


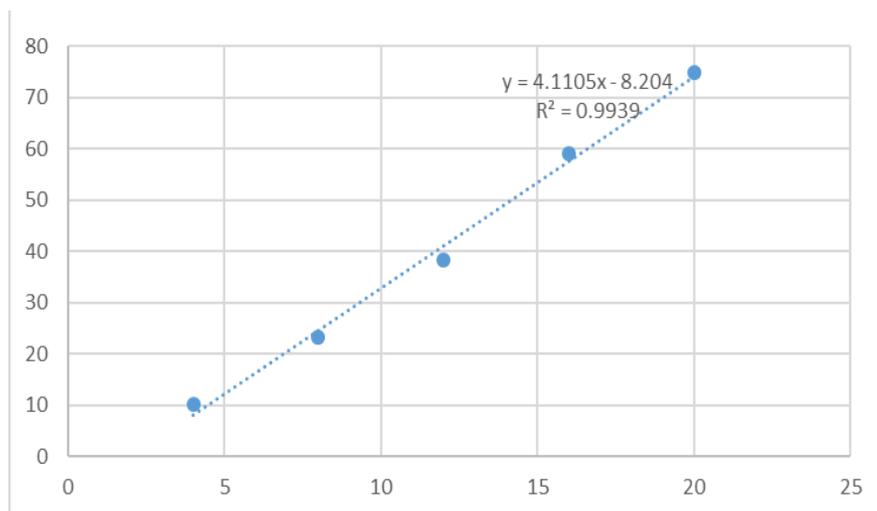
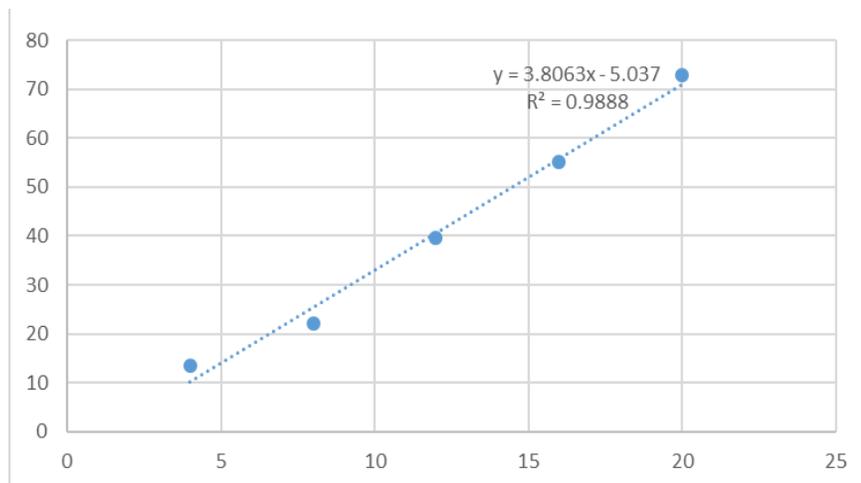
Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 14. Datos obtenidos de actividad antioxidante cuantitativa, por el método ABTS, del extracto de diclorometano de peciols.**

Se realizaron lecturas de cinco diluciones diferentes del extracto de diclorometano de los peciols en un espectrofotómetro a 734 nm. En la tabla se muestran las absorbancias obtenidas, el porcentaje de inhibición y la concentración inhibitoria media del extracto. Se realizaron tres repeticiones y se obtuvo un coeficiente de determinación mayor de 0.97, como puede observarse en las gráficas.

Muestra	Absorbancia	% inhibición	CI50	Promedio	Desviación	Concentración (mg/mL)
Control	0.704					
D1	0.648	7.954545455				4
50µL/200µL	0.646	8.238636364				
	0.651	7.528409091				
D2	0.563	20.02840909				8
100µL/150µL	0.557	20.88068182				
	0.554	21.30681818				
D3	0.451	35.9375				12
150µL/100µL	0.479	31.96022727				
	0.477	32.24431818				
D4	0.312	55.68181818				16
200µL/50µL	0.315	55.25568182				
	0.289	58.94886364				
D5	0.208	70.45454545	14.9851854			20
250µL	0.191	72.86931818	14.4594488	14.5348229	0.41780609	
	0.178	74.71590909	14.1598346			



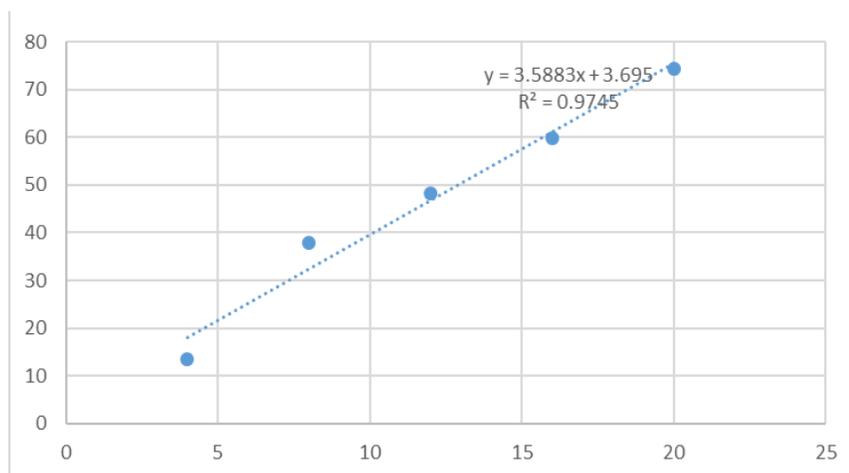


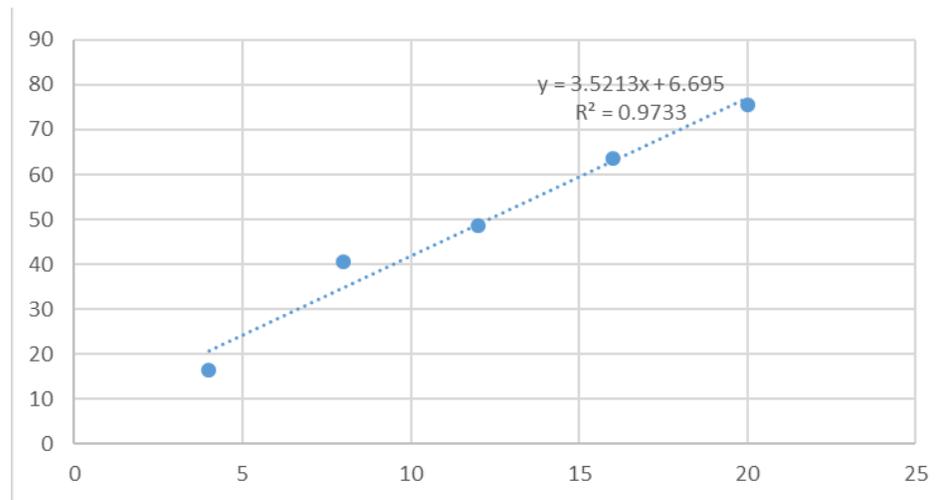
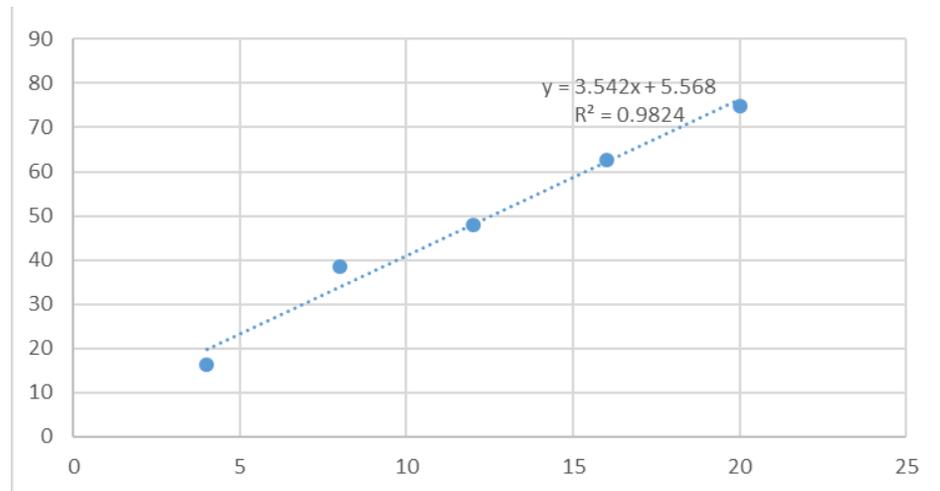
Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 15. Datos obtenidos de actividad antioxidante cuantitativa, por el método ABTS, del extracto etanólico de peciolos.**

Se realizaron lecturas de cinco diluciones diferentes del extracto etanólico de los peciolos en un espectrofotómetro a 734 nm. En la tabla se muestran las absorbancias obtenidas, el porcentaje de inhibición y la concentración inhibitoria media del extracto. Se realizaron tres repeticiones y se obtuvo un coeficiente de determinación mayor de 0.97, como puede observarse en las gráficas.

Muestra	Absorbancia	% inhibición	CI50	Promedio	Desviación	Concentración (mg/mL)
Control	0.706					
	0.702					
D1	0.61	13.59773371				4
50µL/200µL	0.594	15.86402266				
	0.592	16.14730878				
D2	0.439	37.81869688				8
100µL/150µL	0.436	38.24362606				
	0.421	40.36827195				
D3	0.366	48.15864023				12
150µL/100µL	0.369	47.73371105				
	0.364	48.44192635				
D4	0.282	59.82905983				16
200µL/50µL	0.264	62.39316239				
	0.259	63.10541311				
D5	0.18	74.35897436	12.9044394			20
250µL/250µL	0.176	74.92877493	12.5443252	12.5822599	0.30498679	
	0.172	75.4985755	12.2980149			

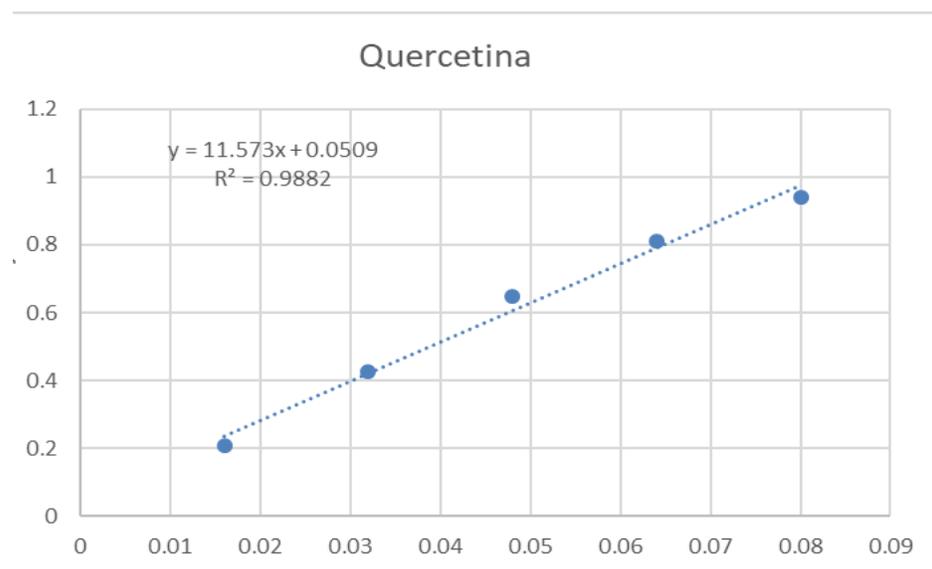
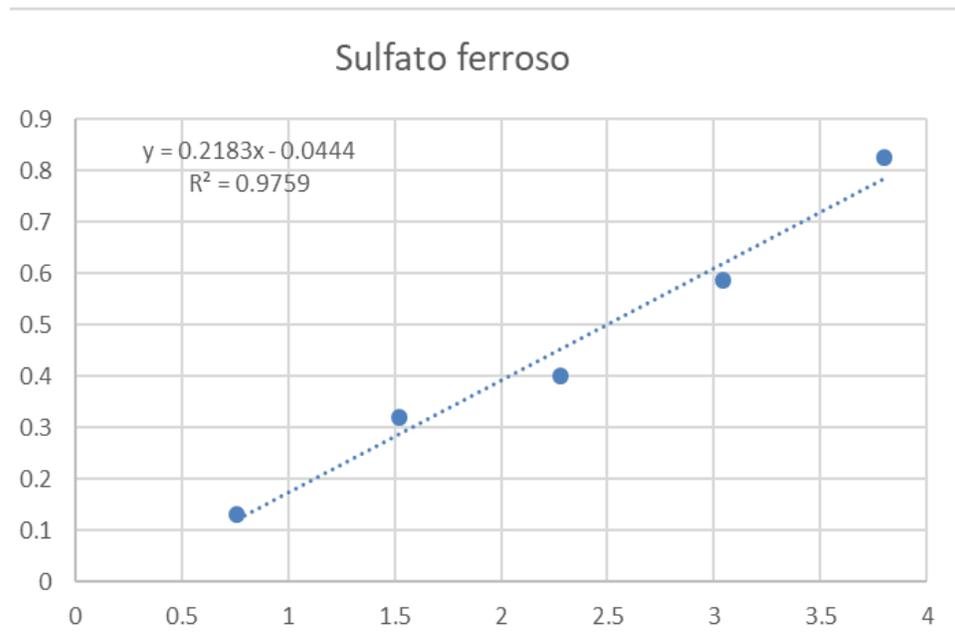


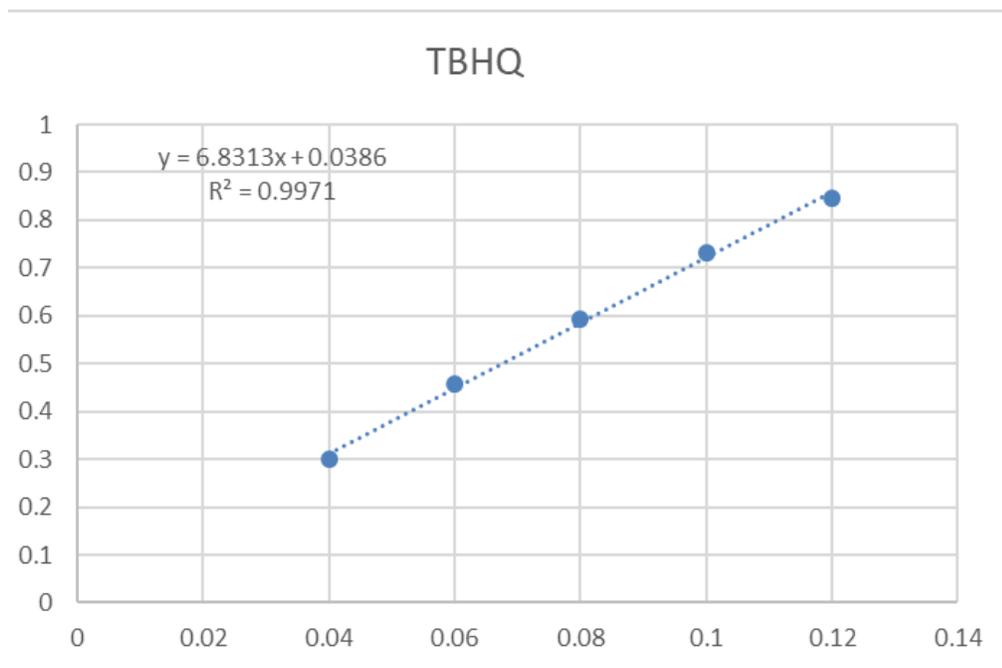
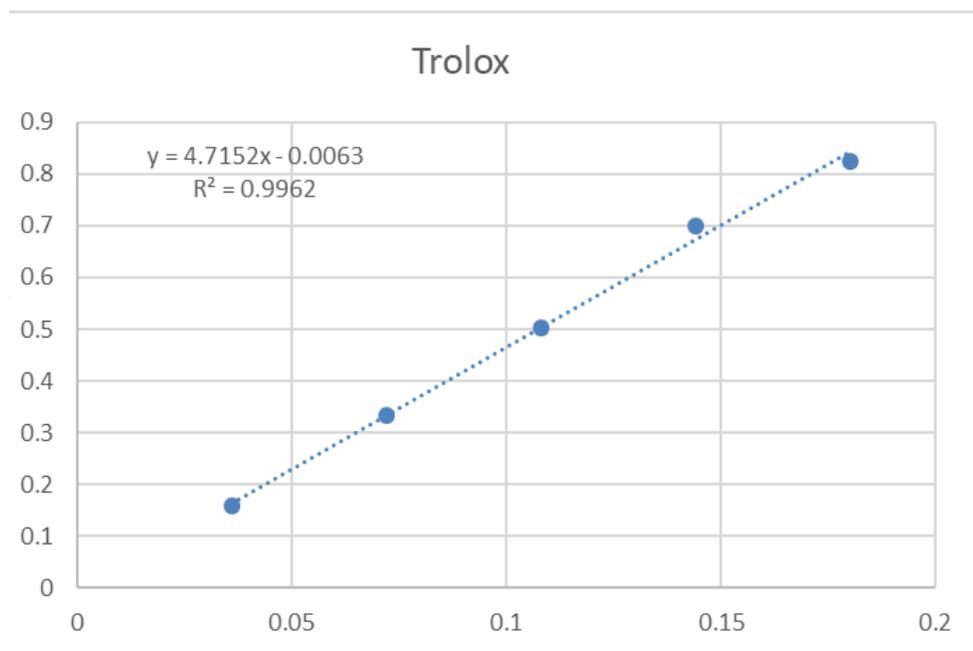


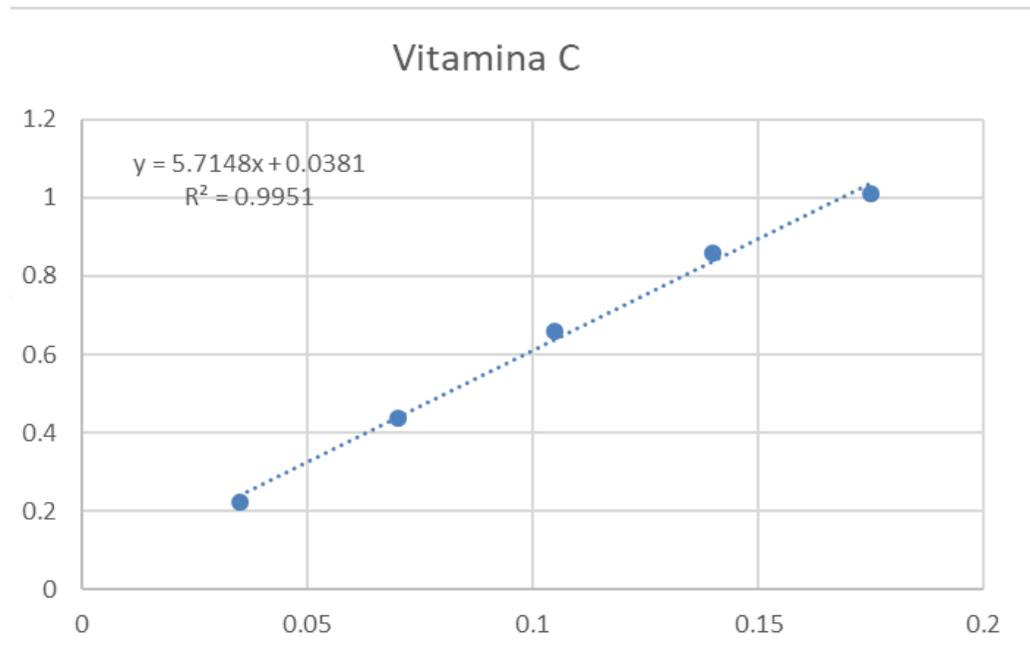
Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

### Anexo No. 16. Resultados obtenidos al evaluar la actividad antioxidante del estándar de sulfato ferroso por el método FRAP.

Se observan las absorbancias obtenidas de cinco diferentes diluciones de los estándares de sulfato ferroso, quercetina, rutina, trolox, TBHQ y vitamina C. Se realizaron las lecturas por medio de lector ELISA a 630 nm Se obtuvo un coeficiente de determinación mayor a 0.97, como puede observarse en las gráficas.







Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 17. Datos obtenidos al evaluar la actividad antioxidante por el método de FRAP micrométrico en extractos etanólicos y de diclorometano de hojas y pecíolos de *Eichhornia crassipes*.**

Se realizaron tres repeticiones para cada extracto por medio del lector ELISA a 630 nm. En la tabla se muestran los resultados obtenidos a partir del estándar de Sulfato ferroso, mostrando la cantidad de moles que muestran capacidad reductora.

SULFATO FERROSO											
Absorbancia	Diferencia	Promedio	Concentración (mg/mL)	Factor de dilución	Peso alícuota (g)	mM estándar	Promedio	Desviación estándar	M estándar	Promedio	Desviación estándar
BLANCO											
0,093											
DICLOROMETANO - HOJAS											
0,251	0,158		0,9266055046			92,66055046			0,09266055046		
0,281	0,188	0,1756666667	1,064220183	2	0,02	106,4220183	100,764526	7,19954579	0,1064220183	0,100764526	0,00719954579
0,274	0,181		1,032110092			103,2110092			0,1032110092		
DICLOROMETANO - PECIOLOS											
0,413	0,32		1,669724771			83,48623853			0,08348623853		
0,413	0,32	0,3203333333	1,669724771	1	0,02	83,48623853	83,56269113	0,1324197865	0,08348623853	0,08356269113	0,0001324197865
0,414	0,321		1,674311927			83,71559633			0,08371559633		
ETANOL 70% - HOJAS											
0,427	0,334		1,733944954			173,3944954			0,1733944954		
0,392	0,299	0,3096666667	1,573394495	2	0,02	157,3394495	162,2324159	9,691102066	0,1573394495	0,1622324159	0,009691102066
0,389	0,296		1,559633028			155,9633028			0,1559633028		
ETANOL 70% - PECIOLOS											
0,563	0,47		2,357798165			117,8899083			0,1178899083		
0,568	0,475	0,4723333333	2,380733945	1	0,02	119,0366972	118,4250765	0,5772044675	0,1190366972	0,1184250765	0,0005772044675
0,565	0,472		2,366972477			118,3486239			0,1183486239		

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 18. Datos obtenidos al evaluar la actividad antioxidante por el método de FRAP micrométrico en extractos etanólicos y de diclorometano de hojas y pecíolos de *Eichhornia crassipes*.**

Se realizaron tres repeticiones para cada extracto por medio del lector ELISA a 630 nm. En la tabla se muestran los resultados obtenidos a partir del estándar de Quercetina, mostrando la cantidad de moles que muestran capacidad reductora.

QUERCETINA											
Absorbancia	Diferencia	Promedio	Concentración (mg/mL)	Factor de dilución	Peso alícuota (g)	mM estándar	Promedio	Desviación estándar	M estándar	Promedio	Desviación estándar
0,067					BLANCO						
DICLOROMETANO - HOJAS											
0,281	0,188		0,01192739844			1,192739844			0,001192739844		
0,294	0,201	0,193	0,01305099395	2	0,02	1,305099395	1,235955056	0,06050129646	0,001305099395	0,001235955056	0,00006050129646
0,283	0,19		0,01210025929			1,210025929			0,001210025929		
DICLOROMETANO - PECIOLOS											
0,413	0,32		0,02333621435			1,166810717			0,001166810717		
0,413	0,32	0,3203333333	0,02333621435	1	0,02	1,166810717	1,168251224	0,002495031414	0,001166810717	0,001168251224	0,000002495031414
0,414	0,321		0,02342264477			1,171132239			0,001171132239		
ETANOL 70% - HOJAS											
0,427	0,334		0,02454624028			2,454624028			0,002454624028		
0,392	0,299	0,3096666667	0,02152117545	2	0,02	2,152117545	2,244309997	0,1825981202	0,002152117545	0,002244309997	0,0001825981202
0,389	0,296		0,02126188418			2,126188418			0,002126188418		
ETANOL 70% - PECIOLOS											
0,563	0,47		0,03621360062			1,810680031			0,001810680031		
0,568	0,475	0,4723333333	0,03664564072	1	0,02	1,832282036	1,820760967	0,01087277058	0,001832282036	0,001820760967	0,00001087277058
0,565	0,472		0,03638641666			1,819320833			0,001819320833		

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 19. Datos obtenidos al evaluar la actividad antioxidante por el método de FRAP micrométrico en extractos etanólicos y de diclorometano de hojas y pecíolos de *Eichhornia crassipes*.**

Se realizaron tres repeticiones para cada extracto por medio del lector ELISA a 630 nm. En la tabla se muestran los resultados obtenidos a partir del estándar de Trolox, mostrando la cantidad de moles que muestran capacidad reductora.

TROLOX											
Absorbancia	Diferencia	Promedio	Concentración (mg/mL)	Factor de dilución	Peso alícuota (g)	mM estándar	Promedio	Desviación estándar	M estándar	Promedio	Desviación estándar
BLANCO											
0,093											
DICLOROMETANO - HOJAS											
0,251	0,158		0,0347826087			3,47826087			0,00347826087		
0,281	0,188	0,1756666667	0,04114528102	2	0,02	4,114528102	3,852951573	0,3328740153	0,004114528102	0,003852951573	0,0003328740153
0,274	0,181		0,03966065748			3,966065748			0,003966065748		
DICLOROMETANO - PECIOLOS											
0,413	0,32		0,06914103924			3,457051962			0,003457051962		
0,413	0,32	0,3203333333	0,06914103924	1	0,02	3,457051962	3,46058678	0,006122484297	0,003457051962	0,00346058678	0,000006122484297
0,414	0,321		0,06935312831			3,467656416			0,003467656416		
ETANOL 70% - HOJAS											
0,427	0,334		0,07211028632			7,211028632			0,007211028632		
0,392	0,299	0,3096666667	0,06468716861	2	0,02	6,468716861	6,69494521	0,4480721634	0,006468716861	0,00669494521	0,0004480721634
0,389	0,296		0,06405090138			6,405090138			0,006405090138		
ETANOL 70% - PECIOLOS											
0,563	0,47		0,1009544008			5,047720042			0,005047720042		
0,568	0,475	0,4723333333	0,1020148462	1	0,02	5,100742312	5,072463768	0,02668729033	0,005100742312	0,005072463768	0,00002668729033
0,565	0,472		0,101378579			5,06892895			0,00506892895		

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 20. Datos obtenidos al evaluar la actividad antioxidante por el método de FRAP micrométrico en extractos etanólicos y de diclorometano de hojas y peciolos de *Eichhornia crassipes*.**

Se realizaron tres repeticiones para cada extracto por medio del lector ELISA a 630 nm. En la tabla se muestran los resultados obtenidos a partir del estándar de TBHQ, mostrando la cantidad de moles que muestran capacidad reductora.

TBHQ											
Absorbancia	Diferencia	Promedio	Concentración (mg/mL)	Factor de dilución	Peso alícuota (g)	mM estándar	Promedio	Desviación estándar	M estándar	Promedio	Desviación estándar
BLANCO											
0,093											
DICLOROMETANO - HOJAS											
0,251	0,158		0,01762114537			1,762114537			0,001762114537		
0,281	0,188	0,1756666667	0,02202643172	2	0,02	2,202643172	2,021536955	0,2304700414	0,002202643172	0,002021536955	0,0002304700414
0,274	0,181		0,02099853157			2,099853157			0,002099853157		
DICLOROMETANO - PECIOLOS											
0,413	0,32		0,04140969163			2,070484581			0,002070484581		
0,413	0,32	0,3203333333	0,04140969163	1	0,02	2,070484581	2,072931963	0,004238988761	0,002070484581	0,002072931963	0,000004238988761
0,414	0,321		0,04155653451			2,077826725			0,002077826725		
ETANOL 70% - HOJAS											
0,427	0,334		0,04346549192			4,346549192			0,004346549192		
0,392	0,299	0,3096666667	0,03832599119	2	0,02	3,832599119	3,989231522	0,3102291116	0,003832599119	0,003989231522	0,0003102291116
0,389	0,296		0,03788546256			3,788546256			0,003788546256		
ETANOL 70% - PECIOLOS											
0,563	0,47		0,06343612335			3,171806167			0,003171806167		
0,568	0,475	0,4723333333	0,06417033774	1	0,02	3,208516887	3,188937837	0,01847732363	0,003208516887	0,003188937837	0,00001847732363
0,565	0,472		0,0637298091			3,186490455			0,003186490455		

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 21. Datos obtenidos al evaluar la actividad antioxidante por el método de FRAP micrométrico en extractos etanólicos y de diclorometano de hojas y peciolos de *Eichhornia crassipes*.**

Se realizaron tres repeticiones para cada extracto por medio del lector ELISA a 630 nm. En la tabla se muestran los resultados obtenidos a partir del estándar de Vitamina C, mostrando la cantidad de moles que muestran capacidad reductora.

VITAMINA C											
Absorbancia	Diferencia	Promedio	Concentración (mg/mL)	Factor de dilución	Peso alícuota (g)	mM estándar	Promedio	Desviación estándar	M estándar	Promedio	Desviación estándar
BLANCO											
0,09											
DICLOROMETANO - HOJAS											
0,251	0,158		0,02100105005			2,100105005			0,002100105005		
0,281	0,188	0,1756666667	0,02625131257	2	0,02	2,625131257	2,409287131	0,2746764057	0,002625131257	0,002409287131	0,0002746764057
0,274	0,181		0,02502625131			2,502625131			0,002502625131		
DICLOROMETANO - PECIOLOS											
0,413	0,32		0,04935246762			2,467623381			0,002467623381		
0,413	0,32	0,3203333333	0,04935246762	1	0,02	2,467623381	2,470540194	0,005052067459	0,002467623381	0,002470540194	0,000005052067459
0,414	0,321		0,04952747637			2,476373819			0,002476373819		
ETANOL 70% - HOJAS											
0,427	0,334		0,05180259013			5,180259013			0,005180259013		
0,392	0,299	0,3096666667	0,04567728386	2	0,02	4,567728386	4,754404387	0,3697340305	0,004567728386	0,004754404387	0,0003697340305
0,389	0,296		0,04515225761			4,515225761			0,004515225761		
ETANOL 70% - PECIOLOS											
0,563	0,47		0,07560378019			3,780189009			0,003780189009		
0,568	0,475	0,4723333333	0,07647882394	1	0,02	3,823941197	3,800606697	0,02202145151	0,003823941197	0,003800606697	0,00002202145151
0,565	0,472		0,07595379769			3,797689884			0,003797689884		

Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 22. Evaluación de la actividad citotóxica mediante el cultivo de *Artemia salina*.**



Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 23. Evaluación de la actividad fotoprotectora por medio de espectrofotometría UV-Vis.**



Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

**Anexo No. 24. Determinación de la actividad fotoprotectora por medio de espectrofotometría UV-Vis, de los extractos de hojas, peciolo y raíces, a concentración de 200 ug/mL**

Se realizaron tres lecturas de absorbancias para cada extracto a diferente longitud de onda, en intervalos de 5 nm, de lo cual se obtuvo el factor de protección solar.

No.	Longitud de onda	EExIx	Diclorometano-Hojas		Etanol-Hojas		Diclorometano-Peciolo		Etanol - Peciolo		Diclorometano-Raíces		Etanol-Raíces	
			Abs	EExIx Abs	Abs	EExIx Abs	Abs	EExIx Abs	Abs	EExIx Abs	Abs	EExIx Abs	Abs	EExIx Abs
1	290	0,015	0,572		0,231		0,626		0,105		0,295		0,051	
			0,572	0,0085845	0,232	0,00347	0,626	0,00939	0,102	0,001545	0,294	0,00442	0,051	0,00077
			0,573		0,231		0,626		0,102		0,295		0,052	
2	295	0,0817	0,545		0,197		0,597		0,084		0,276		0,041	
			0,544	0,04447203333	0,199	0,01620383333	0,599	0,04888383333	0,082	0,006753866667	0,277	0,02260366667	0,042	0,003404166667
			0,544		0,199		0,599		0,082		0,277		0,042	
3	300	0,2874	0,535		0,172		0,582		0,072		0,253		0,031	
			0,537	0,1541422	0,172	0,0494328	0,582	0,1672668	0,075	0,0217466	0,255	0,0730954	0,031	0,0089094
			0,537		0,172		0,582		0,08		0,255		0,031	
4	305	0,3278	0,55		0,163		0,577		0,054		0,23		0,023	
			0,55	0,1805085333	0,162	0,0531036	0,578	0,1893591333	0,052	0,0173734	0,23	0,07550326667	0,023	0,0075394
			0,552		0,161		0,578		0,053		0,231		0,023	
5	310	0,1865	0,584		0,152		0,59		0,049		0,219		0,018	
			0,584	0,1088576	0,152	0,028348	0,591	0,1102215	0,047	0,008952	0,218	0,04071916667	0,018	0,003419166667
			0,584		0,152		0,592		0,048		0,218		0,019	
6	315	0,0839	0,626		0,148		0,62		0,043		0,215		0,014	
			0,625	0,05246546667	0,148	0,01238923333	0,62	0,052018	0,041	0,003495833333	0,216	0,01809443333	0,014	0,0011746
			0,625		0,147		0,62		0,041		0,216		0,014	
7	320	0,018	0,674		0,143		0,65		0,037		0,213		0,011	
			0,674	0,012138	0,143	0,002568	0,652	0,011724	0,038	0,00066	0,213	0,003834	0,01	0,000192
			0,675		0,142		0,652		0,035		0,213		0,011	
<b>SPF</b>			5,4903 ± 0.03		1,6295 ± 0.01		5,7714 ± 0.03		0,5987 ± 0.0031		2,3444 ± 0.01		0,2522 ± 0.0013	

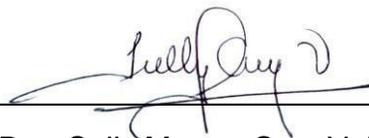
Fuente: Datos experimentales obtenidos en Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Universidad de San Carlos de Guatemala.



---

Br. Carmen Emilia Azzari Dominguez

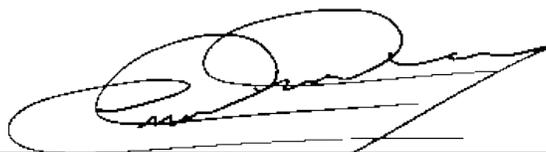
Autora



---

Dra. Sully Margot Cruz Velásquez

Asesora



---

MSc. María Nereida Marroquín Tintí

Revisora



---

M.A. Lucrecia Martínez de Haase

Directora

Escuela de Química Farmacéutica



---

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto

Decano