

Caracterización fenólica y capacidad antioxidante de plantas de uso medicinal.

Flores-Flores, J.A.^a, López-Rodríguez, B.^a, Hernández-López, D.^a, Guzmán-Maldonado, S.H.^b

Tecnológico Nacional de México en Celaya, Departamento de Ingeniería Bioquímica, Celaya Guanajuato, México, b) INIFAP. CP 39010. jareff.93@gmail.com

RESUMEN

En la actualidad existe un interés creciente en la medicina alternativa para la cura de numerosos padecimientos y enfermedades que afectan a los seres humanos, por lo que las investigaciones que tengan como objetivo el cultivo, estudio y procesamiento de plantas medicinales con fines terapéuticos se consideran estratégicas e importantes. Son pocas las investigaciones en el uso y manejo de las plantas medicinales, y, por tanto, hay escasa información etnobotánica en este tema. La información que se pueda recopilar en las diversas regiones del país tendría relevancia y serviría para definir estrategias que mejoren el aprovechamiento y manejo de los recursos de la flora medicinal.

En el presente trabajo se determinó el contenido de Fenoles Totales, Flavonoides, Antocianinas y Capacidad antioxidante de siete plantas distintas: Hierbabuena (*Mentha piperita L.*), Epazote (*Chenopodium ambrosioides L.*), Árnica montana (*Asteraceae*), Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Sábila (*Aloe Vera*), Insulina (*Cissus verticillata (L.)*) y Lavanda (*Lavandula angustifolia*) del estado de Guanajuato. Los fenoles totales, flavonoides y antocianinas se determinaron por espectrofotometría. Para determinar la capacidad antioxidante de cada muestra se siguió el método ORAC y TEAC.

Palabras clave: Fenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante, hierbabuena, epazote, árnica, manzanilla, sábila, insulina, lavanda.

ABSTRACT

Currently there are an increasing interest about alternative medicine to treat several health problems that affect humans been, for this reason research about the study, culture, and processing of medical plants are strategic to therapeutic proposes. Only few reports about research on the use and management of medical plants have been published, and therefore the ethnobotanic information on this area is almost unknown. Then it is important to generate information on the diverse regions in the country, which could help to develop new strategies to improve the use and management of the medical flora resources.

In the present study the content of total phenols, flavonoids, anthocyanins and antioxidant capacity was determined to seven plant species: Peppermint (*Mentha piperita L.*), Epazote (*Chenopodium ambrosioides L.*), Arnica montana (*Asteraceae*), Chamomile (*Matricaria chamomilla*), Sabila (*Aloe vera*), Insulin (*Cissus verticillata (L.)*) and Lavender (*Lavandula angustifolia*) of the state of Guanajuato. The total phenols, flavonoids and anthocyanins was determined by spectrophotometry. To determine the antioxidant capacity of each sample, two methods were followed: ORAC and TEAC.

Key words: total phenols, anthocyanins, antioxidant capacity, peppermint, epazote, arnica, chamomile, sabila, insulin, lavender.

Área: Alimentos funcionales

INTRODUCCIÓN

A través de la historia de la humanidad se ha observado que muchos pueblos han adquirido una información empírica sobre las propiedades medicinales de un gran número de plantas propias de su medio ambiente. Las plantas aromáticas hoy en día se han vuelto una alternativa en la medicina moderna. Sin embargo, el número de estudios relacionados con sustento científico, en cuanto a los beneficios que nos proporcionan, es muy escaso. Por este motivo, se estudiaron algunas plantas de uso medicinal: hierbabuena, epazote, árnica, manzanilla, sábila, insulina y lavanda provenientes del estado de Guanajuato determinando Fenoles Totales, Flavonoides, Antocianinas y Capacidad Antioxidante (dos ensayos: ORAC y TEAC).

Los compuestos fenólicos presentan un numeroso grupo ampliamente distribuido en la naturaleza, ejercen una acción antioxidante actuando como captadores de radicales libres neutralizando peligrosas especies reactivas de oxígeno e iones metálicos quelantes. Debido a su reactividad, se encuentran combinadas con un ácido orgánico, un azúcar o bien, con ellas mismas para formar un polímero. Son componentes importantes en la dieta humana, el consumo promedio de fenoles en los países europeos se estima en 23 mg/día. Existe un interés creciente en los

compuestos fenólicos debido a su efecto contra algunas enfermedades como ciertos cánceres y desordenes cardíacos.

Los flavonoides, son un grupo extenso de compuestos derivados del benzo- γ -pirano. Dependiendo del grado de oxidación y de sustitución del anillo pirano central pueden subdividirse en flavonas, flavonoles, flavononas, isoflavonas, flavanos y antocianinas. Está comprobado que los flavonoides son importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas al protegerlas contra agentes agresores externos, como la radiación UV, microorganismos, animales herbívoros y del medio ambiente. Pueden actuar como señalizadores químicos, indicando a los insectos que planta es apropiada para su alimentación, oviposición o simplemente guiándolos y facilitando así la polinización. En su relación con el hombre, se utilizan para tratar enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios y desordenes cardiovasculares debido a la actividad que ejercen sobre el sistema circulatorio mejorando la circulación periférica, la movilización del colesterol y disminuyendo la fragilidad capilar. Algunos flavonoides pueden presentar actividad hepática protectora, antialérgica, antitrombótica, anticancerígena, antibacteriana, antifúngica, e incluso pueden ejercer efectos inhibidores sobre algunas enzimas.

Las antocianinas son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en varias frutas, vegetales y cereales, acumulados en las vacuolas de la célula. Poseen diferentes funciones en la planta como son la atracción de polinizadores para la posterior dispersión de semillas y la protección de la planta contra los efectos de la radiación ultravioleta y contra la contaminación viral y microbiana. El interés por los pigmentos antociánicos e investigación científica se han incrementado en los últimos años, debido no solamente al color que confieren a los productos que las contienen sino a su probable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer, diabetes; a sus efectos antiinflamatorios y mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo. Por lo tanto, además de su papel funcional como colorantes, son agentes potenciales en la obtención de productos con valor agregado para el consumo humano.

La capacidad antioxidante de un producto alimenticio está determinada por interacciones entre diferentes compuestos con diferentes mecanismos de acción. Esta se evalúa *in vitro* y puede usarse como un indicador indirecto de la actividad *in vivo*. La mayoría de los métodos para determinar capacidad antioxidante consisten en acelerar la oxidación en un sistema biológico. Por esto mismo, la determinación de la capacidad antioxidante de extractos complejos se lleva a cabo usualmente por diferentes métodos complementarios, que evalúen diversos mecanismos de acción. En este caso, se realizó por dos mecanismos: ORAC (capacidad de absorción de radicales oxígeno) y el método ABTS, también conocido en la literatura científica como el método TEAC (Capacidad antioxidante en equivalentes de trolox, por sus siglas en inglés).

En el trabajo fue determinado el contenido de fenoles totales, flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante, en siete plantas de uso medicinal del estado de Guanajuato.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material biológico proviene de diferentes estados de la región centro de México. En el laboratorio se conservaron en condiciones normales previamente liofilizadas y molidas de donde se tomó la muestra necesaria para cada prueba. Los ensayos por espectrofotometría para cuantificación de fenoles totales, flavonoides, antocianinas, así como la determinación de capacidad antioxidante se llevaron a cabo en el Laboratorio de Alimentos Funcionales utilizando solamente la centrifuga para la extracción de la muestra para flavonoides totales que se encuentra en el Laboratorio de Biología Molecular, ambos laboratorios se encuentran dentro del Instituto de Investigación, INIFAP.

Cada lote de plantas asignado se dividió en dos o tres partes Sólo se analizó la parte de la hoja de las muestras de sábila debido a que el gel fue difícil de mantener y lograr su óptima adecuación para realizarle las pruebas. En cuanto a la planta árnica y manzanilla, se analizaron tanto la flor como las hojas. Los lotes fueron divididos en tres partes cada uno y se analizaron de forma independiente. Todas las plantas provienen del estado de Guanajuato.

Una vez cosechadas cada una de las plantas, se procedió a liofilizarlas; el proceso duró un aproximado de 3 días en promedio y se introducían alrededor de 5 muestras. Para terminar de preparar la muestra para someterlas a las pruebas, una vez liofilizadas, se molieron y almacenaron en bolsas Ziploc.

Fenoles Totales

El método empleado fue el propuesto por Folín Ciocalteu, descrito por Singleton *et al.* (1999). El reactivo Folin es una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y de ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), el cual se reduce por oxidación de los fenoles, a una mezcla de ácidos azules de tungsteno y molibdeno en presencia de un álcali (Na_2CO_3). Extracción: en un tubo Falcón se pesaron 100 mg de muestra y se agregó 10 mL de metanol al 30%, posteriormente se agito en vórtex a 8000 rpm, por 10 minutos. A continuación, se centrifugo a las mismas condiciones. Se tomaron 125 μ L del sobrenadante y se colocó en un tubo de ensaye y se adicionaron 500 μ L de agua desionizada, se agito a 3000 rpm. Enseguida se agregaron 125 μ L del reactivo de Folin Ciocalteu y se agito a 3000 rpm, se dejó reposar en la oscuridad durante 6 minutos. Transcurrido este tiempo se adicionaron 1.25 mL de Na_2CO_3 al 7% y 1 mL de agua desionizada, se agito brevemente a 3000 rpm y se reposó 1.5 horas en la oscuridad a temperatura ambiente. Después del tiempo de reposo se leyó a una absorbancia de 750 nm en el espectrofotómetro. A la par, se prepararon en otro tubo el factor de corrección con 125 μ L del extracto de la muestra y todos los reactivos bajo las mismas condiciones a excepción del reactivo de Folin Ciocalteu. Blancos de calibración: Se preparan dos tubos, uno para la muestra y el otro para el factor de corrección, a estos tubos se les realizó el mismo tratamiento, pero se sustituyeron los 125 μ L del extracto por 125 μ L del solvente de extracción (metanol al 30%) más todos los reactivos bajo las mismas condiciones. Para la cuantificación de fenoles totales se realizó una curva de calibración de ácido gálico a diferentes concentraciones, se graficó la absorbancia contra la concentración, la ecuación que se obtiene con el gráfico fue la utilizada para calcular la concentración final de fenoles totales en mg EAG/100 mg de muestra. La curva se anexo en este trabajo.

Flavonoides

Para la determinación de flavonoides se siguió la técnica descrita por Dewanto *et al.* (2002). El extracto se obtuvo pesando 200 mg de muestra se adicionaron 5 mL de metanol acuoso (40:60), se agitó en un vórtex por 10 minutos. Posteriormente en un sonicador Transsonic-310, se sónico a temperatura ambiente durante 30 minutos, para después centrifugar a 10000 a una temperatura de 4°C durante, 15 minutos. Del sobrenadante se tomó una alícuota de 250 μ L y se colocó en un tubo de ensaye, se agregaron 75 μ L de $NaNO_2$ al 5% y se agito brevemente. En seguida se adicionaron 150 μ L de $AlCl_3$ al 10% (recién preparado) y después 500 μ L de $NaOH$ 1M agitando nuevamente, por último, se agregaron 1525 μ L de agua desionizada para ajustar a un volumen final de 2.5 mL; se agitó brevemente y se dejó reposar por 5 min. Blancos de calibración: se prepararon dos blancos; para el primero, en un tubo de ensaye se agregaron 250 μ L de metanol acuoso (40:60) y todos los reactivos bajo las mismas condiciones. En un segundo tubo se preparó el blanco para el factor de corrección: para este se usó metanol acuoso y todos los reactivos a excepción del $AlCl_3$; bajo las mismas condiciones. Cada muestra se leyó una absorbancia de 510 nm en el espectrofotómetro. Para el cálculo de la concentración final (mg EC/100 mg de muestra), se elaboró una curva estándar de catequina, la cual se obtuvo con solución de catequina en metanol diferentes concentraciones.

Antocianinas

La reacción se lleva a cabo durante la cuantificación, se realiza a pH ácido con la finalidad de llevar a las antocianinas a la forma de ion flavilio que presenta coloración y de esta forma poder cuantificarlas espectrofotométricamente.

Etanol acidificado (etanol absoluto: HCl 1N) (85mL:15) para 100mL.

Pesar en tubos falcón 50 mg de muestra seca y pesar por duplicado. Añadir 24 mL de etanol acidificado. Agitar en vórtex a 8000 rpm/30 min. Determinar pH al extracto directamente en el tubo y de ser necesario a pH=1 con HCl 4N. Centrifugar a 5000 rpm por 15 minutos. Decantar el sobrenadante en matraces de 50 mL. Aforar a volumen de 50 mL con etanol acidificado. Agitar los matraces en vórtex. Leer en espectrofotómetro a una longitud de onda de 535 nm. Nota: si el pH es de 1 o cercano a 1 en todas las muestras este paso se omite en las siguientes repeticiones. Las soluciones deben estar protegidas de la luz.

Capacidad Antioxidante

Método ORAC

Método para la extracción de muestra sólida: Pesar 100 mg de muestra, agregar 5 mL de solución de extracción (acetona:agua 1:1). Agitar 10 minutos en vórtex, 10 minutos sonicar. 10 minutos vórtex y centrifugar 10 minutos a 3000 rpm, poner sobrenadante en frasco ámbar. Solución amortiguadora de fosfatos: Esta solución se usa para preparar todos los reactivos y diluciones necesarias. Se mezclan 71 mL de fosfato de sodio monobásico 0.2 M con 304 mL de una solución de fosfato dibásico 0.2 M. Ambos se llevan a 900 mL con agua destilada y se ajusta el pH a 7.4 cuidando de no rebasar 1L de volumen. Se almacena en botella ámbar a 4°C. Solución madre de fluoresceína: 5 mg de fluoresceína aforar a 25 mL (0.5315x10⁻⁵mM) con la solución de fosfatos. De ésta sólo se preparó la solución de trabajo (8.185x10⁻⁵mM) 7.7 µL de solución madre aforado a 50 mL. Nota: La solución de trabajo se prepara el día de trabajo y sólo se usa en ese día. Solución AAPH: Se aforan 0.415 g del radical AAPH a 10 mL. Se tienen los mismos cuidados que para la solución madre de fluoresceína, pero adicionalmente se debe mantener en baño de hielo. Técnica: Mantener Baño María a 37°C. Se agrega a la celda, 1.5 mL de solución de trabajo de fluoresceína además de 0.75 mL de muestra. Reposar en Baño María durante 4 minutos. Pasado ese tiempo, sacar y agregar 0.75 mL de radical AAPH e inmediatamente tomar la primera lectura y regresar al Baño María. Se continúa leyendo la celda cada minuto hasta que el valor de la intensidad corresponda al 10% del valor inicial.

Determinación de la capacidad antioxidante in vitro por el método TEAC

La capacidad antioxidante equivalente de trolox se realizó mediante el método descrito por Van den Berg *et al.* (999). Extracción: se pesaron 500 mg de muestra seca y molida y se extrajeron con 10 ml de solución de acetona: agua (50/50 v/v). Se agito durante 10 min a 8000 rpm, después se sónico por 10 min y nuevamente se agito durante 10 min a 8000 rpm, posteriormente se centrifugo por 5 min a 5000 rpm. Si el sobrenadante aun después de centrifugado presenta partículas suspendidas se filtra con papel Whatman 41. El radical ABTS. - se obtuvo disolviendo 0.0038 g de ABTS (7 mM) en 1 mL de persulfato de potasio (0.0033 g de K₂ S₂ O₈ en 5 mL de agua destilada 2. 45mM). La solución se almaceno en refrigeración y se protegió de la luz 12 horas antes de su uso. La solución concentrada de ABTS se diluyo con solución amortiguadora de fosfato salino (8 g de NaCl, 0.2 g de KCl, 1.44g de Na₂ HPO₄ y 0.24 g KH₂ PO₄ fueron disueltos en 1 L de agua destila y ajustado el pH 7.4), 0.15 mL en 14 mL de solución amortiguadora aproximadamente para obtener una absorbancia final en la dilución de 0.7 ± 0.02 a una longitud de onda de 734 nm. En un tubo eppendorf se colocaron 0.99 mL de solución de ABTS diluida con la solución amortiguadora de fosfato salino y la absorbancia se midió nuevamente (Abs al t=0 min) e inmediatamente se adicionaron 0.01 mL de muestra al tubo, se agito y transcurridos 6 min se midió nuevamente la absorbancia (Abs al t=6 min). El blanco consistió en solvente de extracción de la muestra y para el caso de la curva de trolox etanol. Para cuantificar la capacidad antioxidante se realizó una curva de trolox utilizando la absorbancia neta (AN) y se expresó como µmol equivalentes de trolox por gramo de muestra (µmol ET/g). La absorbancia neta de la siguiente manera:

$$AN = (A_{t=0 \text{ min}} \text{ muestra ó estándar} - A_{t=6 \text{ min}} \text{ muestra ó estándar}) - (A_{t=0 \text{ min}} \text{ solvente} - A_{t=6 \text{ min}} \text{ solvente})$$

Donde A [=] absorbancia.

Nota: la solución concentrada de ABTS solo se utilizó entre las 12- 16 horas de su preparación. La solución amortiguadora de fosfatos salinos se mantuvo a temperatura ambiente ya que si se refrigeraba afectaba considerablemente la estabilidad del radical.

CURVA DE TROLOX

Para determinar la capacidad antioxidante se hace una curva estándar de trolox.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para hacer una comparación entre los valores de compuestos funcionales presentes en las diferentes plantas se realizó la determinación de Fenoles Totales, Flavonoides, Antocianinas y Capacidad Antioxidante por los métodos ORAC y TEAC.

Tabla 1. Determinación de antocianinas, fenoles totales y flavonoides en hoja

Muestra (Hoja)	Antocianinas mg/100g	Fenoles Totales mgEAG/100mg	Flavonoides mgEC/100g
Sábila 1	38.04±4.89	473.97±47.22	64.92±11.93
Sábila 2	56.20±6.11	668.45±19.68	91.66±1.86
Sábila 3	82.43±8.70	985.33±22.71	136.37±5.58
Sábila 4	131.42±1.73	389.04±63.08	92.51±4.74
Árnica	240.37±22.88	481.25±74.79	1042.86±111.72
Manzanilla	238.64±6.23	825.11±47.51	213.08±21.70
Insulina	205.78±17.55	3300.22±111	1625.51±434.98
Hierbabuena	265.15±17.06	1919.99±209.62	2833.62±356.72
Epazote	255.35±8.53	1106.31±184.69	196.42±43.72
Lavanda	123.35±7.20	2158.37±98.24	2142.79±56.24

Referente al contenido de antocianinas, podemos observar en la **Tabla 1.** Determinación de antocianinas, fenoles totales y flavonoides en hoja que los valores más altos corresponden a las plantas: hierbabuena (265.15±17.06 mg/100g), epazote (255.35±8.53 mg/100g), árnica (hoja: 240.37±22.88 mg/100g) y manzanilla (hoja: 238.64±6.23). Los valores más bajos se encuentran en las muestras de sábila 1 y sábila 2 con 38.04±4.89 y 56.20±6.11 mg/100g respectivamente.

Tabla 2. Determinación de capacidad antioxidante en hoja

Muestra (Hoja)	CA ORAC $\mu\text{M ET/g}$	CA TEAC $\mu\text{M ET/g}$
Sábila 1	136.83±5.14	103.14±8.99
Sábila 2	207.16±13.98	112.80±14.50
Sábila 3	299.52±15.55	117.13±9.82
Sábila 4	71.41±2.93	29.30±1.09
Árnica	186.65±25.13	64.47±7.07
Manzanilla	448.50±45.12	73.05
Insulina	989.77±134.20	444.70±26.16
Hierbabuena	1538.17±70.59	626.20±53.11
Epazote	520.06±30.46	227.20±4.24
Lavanda	1106.53±66.38	284.53±17.50

Tabla 3 Determinación de antocianinas, fenoles totales y flavonoides en flor

Muestra (Flor)	Antocianinas mg/100g	Fenoles Totales mgEAG/100mg	Flavonoides mgEC/100g
Árnica	70.90±1.73	2822.11±264.67	2176.11±114.64
Manzanilla	104.33±11.12	991.40±14.26	240.69±26.70

Tabla 4. Determinación de capacidad antioxidante en flor

Muestra (Flor)		

	CA ORAC μM ET/g	CA TEAC μM ET/g
Árnica Flor	1237.24±48.33	581.87±47.43
Manzanilla Flor	656.21±63.21	193.38±19.59

El comportamiento de las determinaciones de fenoles totales en las plantas se ve encabezado por insulina, la flor de árnica y lavanda con valores respectivos de 3300.22±111, 2822.11±264.67 y 2158.37±98.24 mgEAG/100mg. Le siguen con valores cercanos hierbabuena (1919.99±209.62 mgEAG/100mg), epazote (1106.31±184.69 mgEAG/100mg) y la flor de manzanilla (991.40±14.26 mgEAG/100mg) pero con el contenido de fenoles totales más bajo árnica hoja (481.25±74.79), sábila 1 hoja (473.97±47.22 mgEAG/100mg) y sábila 4 hoja (389.04±63.08). dichos datos están en la **Tabla 1**. Determinación de antocianinas, fenoles totales y flavonoides en hoja y **Tabla 3**. Determinaciones de antocianinas, fenoles totales y flavonoides en flor.

En cuanto a los flavonoides todas las muestras de sábila que fueron analizadas obtuvieron el contenido más bajo de flavonoides con 64.92±11.93, 91.66±1.86, 92.51±4.74 y 136.37±5.58 mgEC/100g para sábila 1, sábila2, sábila 4 y sábila 3 respectivamente. Por otro lado, hierbabuena (2833.62±356.72 mgEC/100g), la flor de árnica (2176.11±114.64 mgEC/100g) y lavanda (2142.79±56.24 mgEC/100g) mostraron el mayor contenido de flavonoides. No por mucho, continúan insulina y la hoja de árnica con 1625.51±434.98 y 1042.86±111.72 mgEC/100g.

Se realizaron dos determinaciones en cuanto a capacidad antioxidante: ORAC Y TEAC. En la **Tabla 2**. Determinación de capacidad antioxidante en hoja, y **Tabla 4**. Determinación de capacidad antioxidante en flor, se muestra que en el primer ensayo, hierbabuena (1538.17±70.59 μM ET/g), flor de árnica (1237.24±48.33 μM ET/g) y lavanda (1106.53±66.38 μM ET/g) son los más altos pero hoja de sábila 4 y sábila 1 son los menores con, 71.41±2.93 y 136.83±5.14 μM ET/g respectivamente.

En el segundo ensayo, TEAC, también tenemos la hierbabuena con una concentración mayor con 626.20±53.11 μM ET/g y continúan flor de árnica (581.87±47.43 μM ET/g) e insulina (444.70±26.16 μM ET/g) para estar en los tres primeros. Del lado opuesto, los de menor concentración sábila 4 y la hoja de árnica con 29.30±1.09 y 64.47±7.07 μM ET/g respectivamente

CONCLUSIÓN

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar compuestos funcionales de diferentes plantas de uso medicinal, la cuales son: Hierbabuena (*Mentha piperita L.*), Epazote (*Chenopodium ambrosioides L.*), Árnica montana (*Asteraceae*), Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Sábila (*Aloe Vera*), Insulina (*Cissus verticillata (L.)*) y Lavanda (*Lavandula angustifolia*). Proviene del estado de Guanajuato y la toma de muestra de dichas plantas se realizó en el invernadero del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Inifap) en Celaya, Gto.

La Flor de árnica destacó con valores altos referentes al contenido de fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante por ambos métodos; también la hierbabuena es una planta con alto contenido en cada una de las determinaciones junto con insulina.

Los valores mínimos en cuanto a todas las pruebas pertenecen a los cuatro lotes de sábila analizados. Se pudieron determinar antocianinas, fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante por ORAC y TEAC en las siete plantas a excepción del gel de sábila ya que no se logró una buena extracción para cada una de las técnicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Cartaya, O., E., Reynaldo I. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos tropicales*. Vol. 22. No. 2. 5-14.
- Garzón, G.A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biológica Colombiana*. Vol. 13. No. 3. 27-36.

- Mercado-Mercado, G, Carrillo, L, Wall-Medrano, A., López-Días, J.A. & Álvarez-Parrilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria*. Vol. 28. No.1. 36-46.
- Muñoz-Velázquez, E.E., Rivas-Díaz, K, Loarca-Piña, M. G. F., Mendoza-Díaz, S.A, Reynoso-Camacho, R. & Ramos-Gómez, M. (2012). Comparación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad antiinflamatoria de infusiones herbales comerciales. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. Vol. 3. No.3. 481-495.
- Pérez-Trueba, G. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. Vol. 22. No. 1. 48-57.
- Repo de Carrasco, R, & Encina Zelada, C. R. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: quinua (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*. Vol. 74. No. 2. 85-99.
- Sotero-García, A. I., Gheno-Heredia, Y. A., Martínez-Campos, Á. R. & Arteaga-Reyes, T. (2016). Plantas medicinales usadas para las afecciones respiratorias en Loma Alta, Nevado de Toluca, México. *Acta botánica mexicana*. No.114. 51-68.
- Waizel-Bucay, J., & Cruz-Juárez, M. L. (2014). Árnica montana L., planta medicinal europea con relevancia. *Revista mexicana de ciencias forestales*. Vol. 5. No. 25. 98-109.
- Zapata, S., Piedrahita, A. M., & Rojano, B. (2014). Capacidad atrapadora de radicales de oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Perspectivas en Nutrición Humana*. Vol. 16. No. 1. 25-36.