

INFLUENCIA DE LA MACERACIÓN Y EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO EN EL PERFIL FITOQUÍMICO, CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE LAS PARTES AÉREAS DE *Encelia canescens* LAMARCK “girasol silvestre”

Rocío Garay Muñoz^{*a}, María Bendeú Acevedo^a, Felipe Surco Laos^a, Derian Gonzales Vargas^a, Ronaldo Medina Donayre^a, Shiomara Bendeu Granda^a, Sofia Pacheco Ninahuanca^a

RESUMEN

Esta presente investigación tuvo como objetivo comparar la influencia de los métodos de extracción por maceración y extracción asistida por ultrasonido en el perfil fitoquímico, caracterización y actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de la especie *Encelia canescens* Lamarck. El tamizaje fitoquímico evidenció presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, catequinas y esteroides/triterpenoides en ambos extractos, destacando una mayor diversidad de metabolitos en el extracto obtenido por ultrasonido, incluyendo taninos ausentes en la maceración. El extracto hidroalcohólico preparado mediante maceración presentó mejores características organolépticas. En cuanto a los parámetros fisicoquímicos, se observaron diferencias en el contenido de sólidos y rendimiento extractivo, siendo superior en el método asistido por ultrasonido (51,76%) en comparación con la maceración (15,56%). La actividad antioxidante fue evaluada mediante tres métodos, evidenciándose una respuesta dependiente de la concentración en ambos extractos. El ultrasonido resultó más efectivo en los ensayos CUPRAC y ABTS al lograr el mismo efecto que el estándar utilizando menos miligramos de extracto (3,82 mg y 4,76 mg) que la maceración (4,16 mg y 5,29 mg). Por el contrario, el ensayo FRAP favoreció ligeramente a la maceración, la cual alcanzó la misma meta con 9,49 mg frente a los 10,26 mg del método asistido. Estos hallazgos sugieren que el método de extracción influye significativamente en la composición química y en la actividad antioxidante del extracto, posicionándolo al ultrasonido como una alternativa más eficiente para la obtención de compuestos bioactivos.

Palabras clave: *Encelia canescens* Lamarck, extracto hidroalcohólico, maceración, ultrasonido, actividad antioxidante.

^a Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional San Luis Gonzaga, Av. de los Maestros, Ica,
^{*}rociomilagrosaraymunoz5@gmail.com

**INFLUENCE OF MACERATION AND ULTRASOUND-ASSISTED
EXTRACTION ON THE PHYTOCHEMICAL PROFILE,
CHARACTERIZATION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF
HYDROALCOHOLIC EXTRACTS OF THE AERIAL PARTS OF
Encelia canescens LAMARCK “wild sunflower”**

ABSTRACT

The present study aimed to compare the influence of conventional maceration and ultrasound-assisted extraction on the phytochemical profile, characterization, and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts obtained from *Encelia canescens* Lamarck. Phytochemical screening revealed the presence of phenolic compounds, flavonoids, catechins, and steroids/triterpenoids in both extracts. Notably, the ultrasound-assisted extract exhibited a greater diversity of secondary metabolites, including tannins that were absent in the maceration-derived extract. In contrast, the hydroalcoholic extract obtained by maceration showed superior organoleptic characteristics. Regarding physicochemical parameters, differences were observed in both solid content and extraction yield. The ultrasound-assisted method achieved a substantially higher extraction yield (51.76%) compared with conventional maceration (15.56%). Antioxidant activity was evaluated using three complementary assays, and both extracts demonstrated a concentration-dependent response. Ultrasound-assisted extraction proved more effective in the CUPRAC and ABTS assays, achieving an equivalent antioxidant effect to the reference standard with lower amounts of extract (3.82 mg and 4.76 mg, respectively) than those required for the maceration extract (4.16 mg and 5.29 mg, respectively). Conversely, the FRAP assay slightly favored the maceration extract, which reached the same antioxidant target with 9.49 mg compared with 10.26 mg for the ultrasound-assisted extract. These findings suggest that the extraction method significantly influences both the chemical composition and antioxidant activity of *E. canescens* extracts. Overall, ultrasound-assisted extraction emerges as a more efficient alternative for the recovery of bioactive compounds.

Keywords: *Encelia canescens*, hydroalcoholic extract, maceration, ultrasound-assisted extraction, antioxidant capacity.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el interés por los compuestos bioactivos de origen vegetal ha aumentado significativamente debido a su potencial aplicación en las industrias farmacéutica y cosmética, particularmente por sus propiedades antioxidantes. El estrés oxidativo, generado por especies reactivas de oxígeno, está asociado a diversas alteraciones dermatológicas, lo que ha impulsado la búsqueda de antioxidantes naturales como alternativas a los compuestos sintéticos¹. Los metabolitos secundarios presentes en las plantas, tales como compuestos fenólicos, flavonoides y taninos, desempeñan un papel fundamental en la neutralización de radicales libres mediante mecanismos de transferencia de electrones o quelación de metales², es por ello, que las plantas medicinales han adquirido un papel protagónico como fuentes sostenibles de metabolitos bioactivos con propiedades antioxidantes fortaleciendo la convergencia entre innovación

tecnológica y sostenibilidad³. La eficiencia en la obtención de estos compuestos depende en gran medida del método de extracción empleado. La maceración es uno de los métodos tradicionales más utilizados; sin embargo, presenta limitaciones en términos de tiempo y rendimiento⁴. En contraste, la extracción asistida por ultrasonido ha emergido como una técnica eficiente que favorece la disrupción de las paredes celulares mediante fenómenos de cavitación, incrementando la liberación de compuestos bioactivos y reduciendo los tiempos de extracción⁵. *Encelia canescens* Lamarck, conocida como “girasol silvestre”, es una especie nativa de zonas áridas del Perú, es utilizada tradicionalmente por sus propiedades galactóforas, empleándose para estimular la producción de leche materna en mujeres lactantes, así como en el tratamiento de la retención urinaria. No obstante, los extractos etanólicos de sus hojas muestran presencia de compuestos fenólicos y flavonoides con actividad antioxidante⁶, sin embargo, existen escasos estudios que evalúen comparativamente la influencia de diferentes métodos de extracción sobre su composición química y actividad biológica. En este contexto, el presente estudio tuvo como objetivo comparar los métodos de maceración y extracción asistida por ultrasonido en la obtención de extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de *Encelia canescens*, evaluando su perfil fitoquímico, características fisicoquímicas y actividad antioxidante mediante los ensayos CUPRAC, FRAP y ABTS. Asimismo, se busca determinar el método más eficiente para la obtención de compuestos con potencial aplicación dermocosmética.

PARTE EXPERIMENTAL

Lugar de ejecución

La investigación se realizó en los Laboratorios de Ciencias químicas de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga.

Muestra y recolección

La especie *Encelia canescens* Lamarck fue recolectada durante los meses de marzo y abril de 2025, en el centro poblado de Molletambo, a una altitud de 1,222 msnm, ubicado en el distrito de Rosario de Yauca, provincia de Ica, región de Ica (Ica-Perú). Se llevó a cabo a primeras horas de la mañana, con el propósito de que el material vegetal sea trasladado en buen estado.

Equipos

Balanza analítica EUROTECH, espectrofotómetro Peak Instrumental T-9200, estufa Binder ED 56, mufla Thermolyne FB1414M, potenciómetro HANNA® Hi 9813 y baño ultrasonido (Bransom 5800).

Clasificación taxonómica de la muestra vegetal

El material vegetal fue autenticado en el Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Id. 028-USM-MHN-2025), según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

Tratamiento de la muestra vegetal

Se inició con la limpieza de la especie vegetal para evitar la presencia de sustancias que alteren los resultados por una posible contaminación. Se efectuó un secado natural bajo sombra durante 3 semanas, posterior a ello se realizó la operación estabilización, utilizando una estufa de bandejas (Binder) para el secado a una temperatura de 38 °C hasta lograr el peso constante⁷. Este proceso permitió preservar las características fitoquímicas de las muestras y facilitar su posterior extracción. Finalmente, el material vegetal fue triturado mediante un molino manual, con el fin de obtener partículas homogéneas.

Obtención de los extractos de partes aéreas

Se prepararon extractos hidroalcohólicos, utilizando como solvente etanol 70%, para los dos métodos, en una proporción 60g/500mL: con maceración, durante 21 días con agitación manual intermitente 2 minutos por 30 minutos, mediante una varilla de vidrio previamente desinfectada, transcurrido el tiempo, el macerado se filtró con papel Whatman N.º 40 y se concentró en evaporación parcial a temperatura ambiente; además, se realizó la extracción asistida por baño ultrasonido (Bransom 5800), el proceso se llevó a cabo durante 2 h, en seis intervalos de 20 min, con una potencia media (20 kHz), a condición de temperatura ambiente. El extracto fue filtrado con papel Whatman N.º 40 y se concentró por evaporación parcial a temperatura ambiente.

Tamizaje fitoquímico

Los distintos extractos de *Encelia canescens* Lamack, estos fueron fraccionados y sometidos a análisis fitoquímico para identificar cualitativamente los principales grupos químicos presentes, mediante reacciones de coloración y/o formación de precipitado, según lo descrito por Olga Lock ⁸. La intensidad de la presencia de cada metabolito fue clasificada: alta (+++), moderada (++) , baja (+) y ausencia (-).

Caracterización organoléptica y fisicoquímica

La evaluación organoléptica se llevó a cabo como parte de la caracterización inicial, de acuerdo con metodologías descritas en estudios fitoquímicos de extractos vegetales⁹. Para la caracterización fisicoquímica se utilizaron los métodos oficiales de análisis: sólidos totales (AOAC 925.03), sólidos solubles (AOAC 932.12), cenizas (AOAC 923.03) y pH (AOAC 981.12)¹⁰.

MÉTODOS PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE LOS EXTRACTOS:

Determinación de la actividad antioxidante por CUPRAC¹¹

Este método, desarrollado por Apak et al, con pequeñas modificaciones, siguiendo el flujograma de la Figura 1. Se pesaron 25 mg de extracto, los cuales fueron disueltos en 5 mL de etanol, las muestras fueron sometidas a ultrasonido para garantizar su dilución y homogenización. Posteriormente, se prepararon diluciones seriadas con etanol a 70°. De cada dilución, se transfirieron 50 µL a viales ámbar, a los que se añadieron 1200 µL de agua destilada y 750 µL del reactivo CUPRAC. Su absorbancia se midió a 450 nm, frente a un blanco de alcohol. (46)

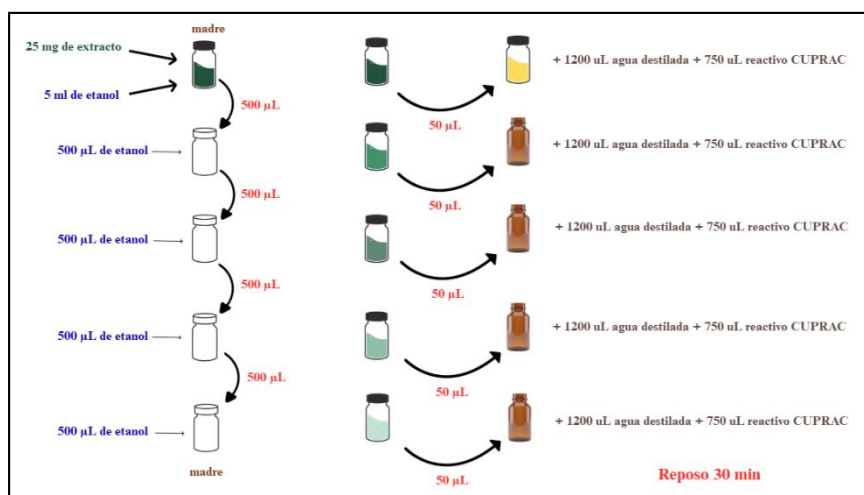


Figura 1. Proceso de disolución de los extractos partes aéreas por el método CUPRAC.

Determinación de la actividad antioxidante por FRAP¹²

Se determinó empleando el procedimiento descrito por Benzie y Strain (1996) con algunas modificaciones. Según el flujograma indicado en la Figura 2. Se pesaron 25 mg de extracto, los cuales fueron disueltos en 5 mL de etanol; dicha solución fue sometida a ultrasonido para garantizar su homogenización. Posteriormente, se prepararon diluciones seriadas mediante la adición de 500 µL de etanol. En los viales ámbar, a los que se añadieron 1500 µL de reactivo y se transfirieron 50 µL de cada dilución. Su absorbancia se midió a 593 nm, generando un color azul intenso. (47)

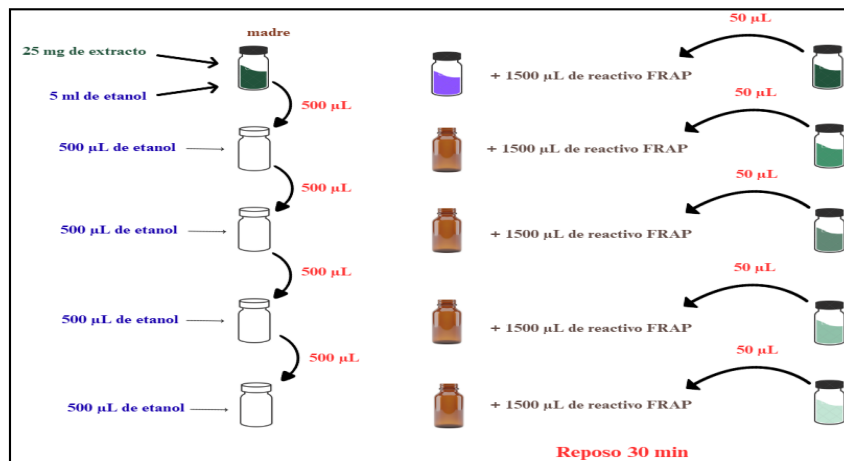


Figura 2. Proceso de disolución y reacción del extracto para el método FRAP.

Determinación de la actividad antioxidante por ABTS¹³

Este método descrito por Miller *et al.* (1993), se emplea para determinar la capacidad antioxidante total de una muestra mediante la reducción del catión radical ABTS. Se realizó según el flujograma en la figura 3. Se pesaron 25 mg de extracto de partes aéreas, los cuales fueron disueltos en 5 mL de etanol. Posteriormente, se prepararon diluciones seriadas mediante la adición de 500 µL de etanol. En los viales ámbar, a los que se añadieron 1000 µL de reactivo ABTS y se transfirieron 25 µL de cada dilución. Su absorbancia se midió a 734 nm, generando un color azul verdoso.

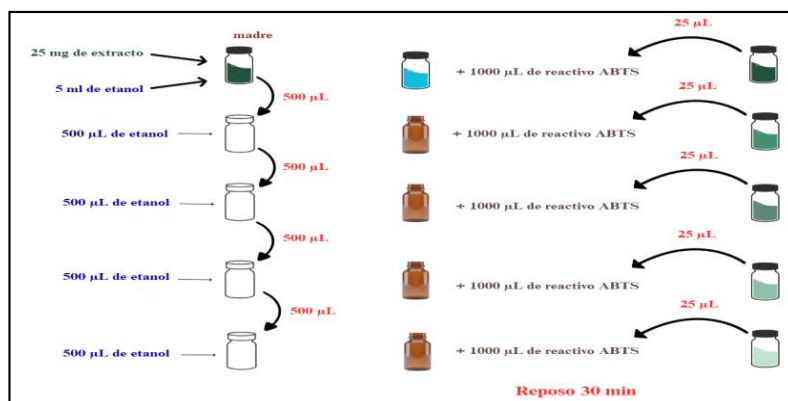


Figura 3. Proceso de disolución de la muestra de extracto partes aéreas para el método ABTS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Determinación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el tamizaje fitoquímico evaluados en los extractos de *Encelia canescens* L.

FRACCIÓN	METABOLITO SECUNDARIO	REACCIONES	EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO	
			MACERACIÓN	ULTRASONIDO
A	Taninos	Rx. de Gelatina-sal	-	++
	Grupos fenólicos libres	Rx. de cloruro férrico	++	+++
	Aminoácidos	Rx. de Ninhidrina	++	++
	Flavonoides	Rx. de Shinoda	++	+++
B	Esteroides y/o triterpenoides	Rx. de Liebermann Burchard	+	++
	Antraquinonas	Rx. de Borntager	-	-
	Esteroides y/o triterpenoides	Rx. de Liebermann Burchard	+	++
C	Cardenólidos	Rx. de Kedde	-	-
	Alcaloides	Rx. de Dragendorff	-	-
		Rx. de Mayer	-	-
D	Flavonoides	Rx. de Shinoda	-	-
	Catequinas	Rx. de Rosenheim	++	+++
	Esteroides y/o triterpenoides	Rx. de Liebermann Burchard	+	++
	Cardenólidos	Rx. de Kedde	-	-
	Alcaloides	Rx. de Dragendorff	-	-
		Rx. de Mayer	-	-
		Rx. de Wagner	-	-
	Flavonoides	Rx. de Shinoda	++	+++
E	Catequinas	Rx. de Rosenheim	+++	+++
F	Saponinas	Rx. de Espuma	++	+++
	Antraquinonas	Rx. de Bornträger	-	-

Leyenda: alta (+++), moderada (++), baja (+) y ausencia (-).

En el tamizaje fitoquímico (Tabla 1) se evidenció la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y catequinas en ambas técnicas de extracción. Sin embargo, el extracto

obtenido por ultrasonido mostró una mayor diversidad de metabolitos, destacando la presencia de taninos. Los alcaloides, antraquinonas y cardenólidos no fueron detectados en ninguna de las fracciones evaluadas. Estos hallazgos concuerdan con lo reportado por Fernández et al.¹⁴, quienes identificaron en extractos etanólicos de hojas flavonoides, grupos fenólicos, triterpenoides y/o esteroides y taninos. La diferencia podría atribuirse al tipo de órgano vegetal analizado. Del mismo modo, Cayún et al.¹⁵ reportaron taninos, esteroides y/o triterpenoides, flavonoides, pero sin presencia de cumarinas ni saponinas, lo cual podría deberse a las condiciones agroclimáticas de la especie originaria de Chile frente a la especie de clima árido procedente de Perú, además del tipo de tejido vegetal empleado. Por su parte, Cochachi y Fernández¹⁶, registraron aminoácidos, esteroides y/o triterpenoides, antraquinona, flavonoides y polifenoles en extractos etanólicos de tallos, coincidiendo en la presencia de compuestos clave para la capacidad antioxidante. Asimismo, Sepúlveda⁶, informó la presencia de esteroides y/o triterpenoides y flavonoides en extractos de partes aéreas, aunque con diferencias en alcaloides y cumarinas, probablemente debido a la naturaleza del solvente extractivo utilizado.

Tabla 2. Caracterización fisicoquímica de los extractos hidroalcohólicos obtenidos de las partes aéreas de la especie *Encelia canescens* L.

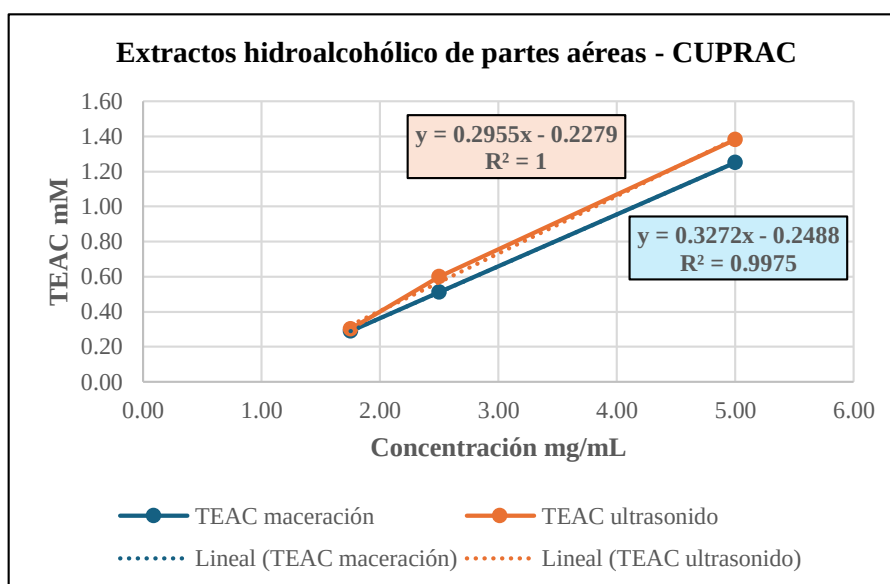
PARÁMETROS	EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS		UNIDAD
	MACERACIÓN	ULTRASONIDO	
Sólidos totales	83,94	83,55	g/100g
Sólidos solubles	43,7	43,2	°Brix
Cenizas	15	15	g/100g
pH	5	4,19	-
% rendimiento	15,56	51,76	%
Color	Verde oscuro	Verde marrón	-
Olor	Característico ligeramente dulce	Suigénensis	-
Aspecto	Viscoso	Viscoso	-

Se efectuaron los controles fisicoquímicos observados en la **Tabla 2**, los cuales no son contrastados con otros estudios debido a que no se encontraron reportes científicos, a excepción del rendimiento extractivo, fue superior en la extracción asistida por ultrasonido (51,76 %) respecto a la maceración (15,56%), superando los valores informados por Fernández¹⁴ y Sepúlveda⁶.

En la **Tabla 3**, y su correspondiente figura se puede apreciar que el extracto obtenido por ultrasonido presenta una capacidad antioxidante significativamente mayor, esto corresponde a que 1mM de Trolox equivale a 4.16 mg de extracto y 3.82 mg de extracto hidroalcohólico de partes aéreas por maceración y ultrasonido respectivamente.

Tabla 3. Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de partes aéreas de *Encelia canescens* L. “girasol silvestre”, mediante el método CUPRAC.

Método de extracción	Extracto mg/mL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs prom	DS	TEAC mM
Maceración	5	0,405	0,405	0,406	0,446	0,0006	1,25
	2,5	0,169	0,171	0,171	0,192	0,0012	0,51
	1,75	0,130	0,088	0,089	0,101	0,0240	0,29
Ultrasonido	5	0,446	0,449	0,446	0,446	0,0017	1,38
	2,5	0,199	0,207	0,192	0,192	0,0075	0,60
	1,75	0,102	0,106	0,101	0,101	0,0026	0,30

**Figura 4.** Correlación entre concentración de los extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de *Encelia canescens* L. “girasol silvestre” y TEAC (mM), por CUPRAC.**Tabla 4.** Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de partes aéreas de *Encelia canescens* L., mediante el método FRAP.

Método de extracción	Extracto mg/mL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs prom	DS	TEAC mM
Maceración	10	1,942	1,950	1,959	1,950	0,0085	1,06
	5	0,981	0,987	0,994	0,987	0,0065	0,52
	2,5	0,521	0,525	0,533	0,526	0,0061	0,26
Ultrasonido	1,3	0,308	0,318	0,327	0,318	0,0095	0,14
	10	1,787	1,789	1,793	1,790	0,0031	0,97
	5	0,984	0,986	0,994	0,988	0,0053	0,52

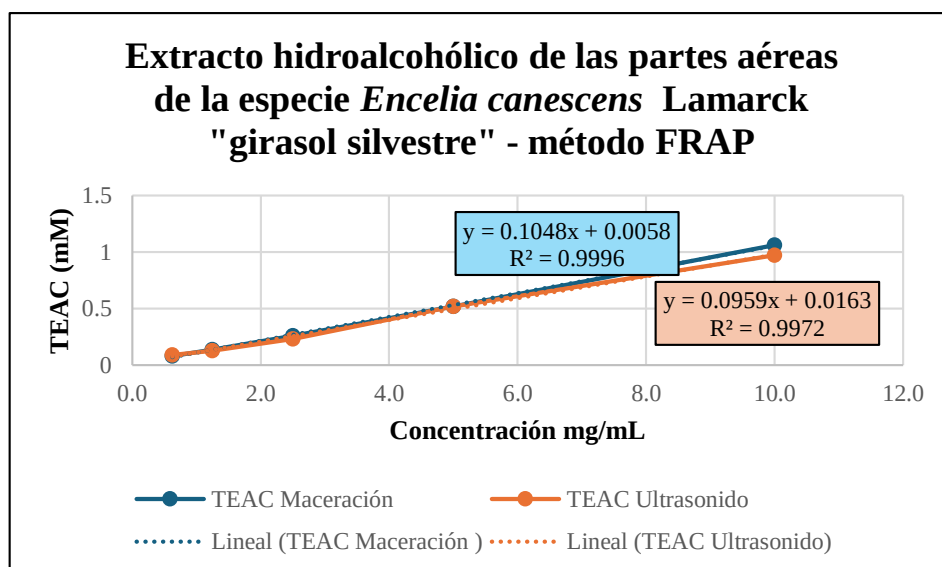


Figura 5. Correlación entre concentración de los extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de *Encelia canescens* L. y TEAC (mM), por FRAP. 1 mM de Trolox equivale a 9.49 mg y 10.26 mg de extracto hidroalcohólico de partes aéreas por maceración y ultrasonido, respectivamente.

Tabla 5. Capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de partes aéreas de *Encelia canescens* L. “girasol silvestre”, mediante el método ABTS.

Método de extracción	Extracto mg/mL	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs prom	DS	TEAC mM
Maceración	2,500	0,131	0,132	0,135	0,133	0,558	0,49
	1,250	0,348	0,349	0,351	0,349	0,342	0,28
	0,625	0,461	0,464	0,466	0,464	0,227	0,16
Ultrasonido	0,313	0,532	0,533	0,533	0,533	0,158	0,09
	2,500	0,065	0,066	0,069	0,067	0,624	0,56
	1,250	0,275	0,277	0,279	0,277	0,414	0,35

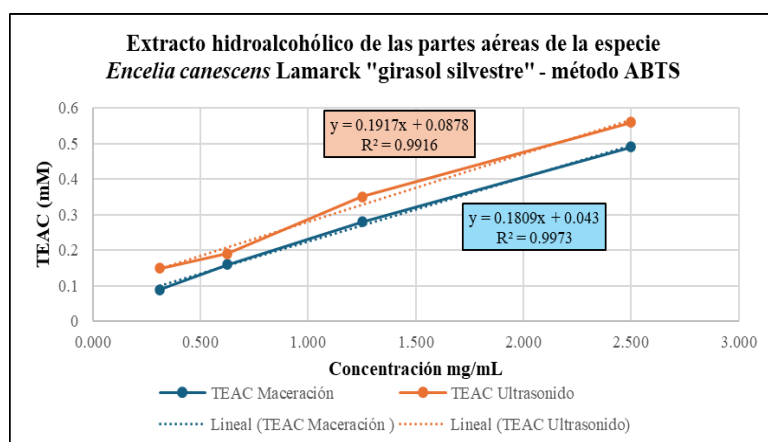


Figura 6. Correlación entre concentración del extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Encelia canescens* L. “girasol silvestre” y TEAC (mM), por ABTS. 1 mM de Trolox equivale a 5.29 mg y 4.76 mg de extracto hidroalcohólico de partes aéreas por maceración y ultrasonido, respectivamente.

En la Tabla 5 y su correspondiente figura se observa que el extracto obtenido por ultrasonido presentó una mayor capacidad antioxidante respecto al obtenido por maceración en las concentraciones evaluadas mediante el método ABTS. Esto se evidencia debido a que 1 mM de Trolox equivale a 5,29 mg y 4,76 mg de extracto hidroalcohólico de partes aéreas obtenidos por maceración y ultrasonido, respectivamente. Asimismo, la correlación lineal mostró una relación directamente proporcional entre la concentración del extracto y la actividad antioxidante en ambos métodos de extracción ($R^2=0.9973$) y ($R^2=0.9916$), observándose valores ligeramente superiores en los extractos obtenidos mediante ultrasonido. Las ondas ultrasónicas facilitan la ruptura de las células de la planta, liberando mayor cantidad de especies antioxidantes polares. Cabe destacar que, a diferencia del protocolo original del ensayo ABTS descrito por Re et al.¹⁶, en el cual la absorbancia se registra aproximadamente a los 7 minutos de reacción, en el presente estudio la medición se realizó a los 30 minutos. Esta modificación metodológica permitió prolongar el tiempo de interacción entre el radical ABTS•+ y los compuestos antioxidantes presentes en los extractos, favoreciendo la detección de moléculas con cinética de reacción más lenta. En consecuencia, la capacidad antioxidante determinada podría reflejar de manera más integral la contribución de los diferentes metabolitos antioxidantes presentes en *Encelia canescens* L.

Por otra parte, al comparar las metodologías antioxidantes empleadas, el ensayo CUPRAC mostró valores de capacidad antioxidante superiores respecto al método ABTS. Esta marcada diferencia se atribuye a los distintos mecanismos de reacción de cada ensayo; el método CUPRAC presenta una mayor sensibilidad y selectividad frente a compuestos fenólicos con alta capacidad reductora de cobre Cu^{+2} ; mientras que el ensayo ABTS evalúa estrictamente la capacidad de neutralización por transferencia electrónica del radical catiónico ABTS.

Finalmente, los valores de actividad antioxidante obtenidos en la presente investigación fueron superiores a los reportados por otros autores en la literatura para la misma especie (Sepúlveda⁶ y Cayún¹⁵). Esto confirma de manera concluyente que, la actividad biológica de los extractos vegetales es multifactorial y varía notablemente en función del método de extracción, la polaridad del solvente empleado y las condiciones agroclimáticas específicas del lugar de recolección de la muestra, consolidando al baño ultrasónico como el método más eficiente para el procesamiento de esta especie.

CONCLUSIONES

Los extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de *Encelia canescens* Lamarck presentaron una rica diversidad de metabolitos secundarios tales como, fenoles, catequinas, esteroides y triterpenos.

El método de extracción asistida por ultrasonido resultó más eficiente con un mayor rendimiento y optimización de la intensidad de taninos y flavonoides frente a la maceración.

Todos los ensayos de actividad antioxidante exhibieron un comportamiento dosis-dependiente, donde el extracto por ultrasonido fue claramente superior en CUPRAC y

ABTS, mientras que en el ensayo FRAP ambos tratamientos mostraron resultados similares con una ligera ventaja para la maceración.

AGRADECIMIENTO

Agradecer al Dr. Jorge García Cecarelli, Dra. Haydee Chavez Orellana y al Semillero de Investigación ACIF (Asociación Científica de Investigación Farmacéutica) por el apoyo para la realización de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Xie M, Jiang Z, Lin X, Wei X. Aplicación de extractos de plantas en la cosmética antienviejecimiento. *J Dermatol Sci Cosmet Technol*. 2024;1(2):100014 doi:10.1016/j.jdscst.2024.100014
2. Ribeiro C, editor. *Cosmetologia: aplicada a dermoestética*. 2ª ed. São Paulo: Pharmabooks; 2010. 598 p.
3. Elsner P. *Cosmeceuticals: Drugs vs. Cosmetics*. 1st ed. New York: Marcel Dekker Inc.; 2000.
4. Tituaña PGI, Córdova GIV, Tobar JMC, Lascano SAV. Estudio del proceso de obtención de extractos de plantas medicinales [Internet]. *Rev Caribeña Cienc Soc*. 2018.
5. Azuola R. Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). *Investigación & Ciencia*. 2007;14(4):23-30.
6. Sepúlveda Zurita R. Estudio fitoquímico y farmacológico de *Encelia Canescens* Lam. (Asteraceae) [Internet]. Santiago de Chile (Chile): Universidad de Chile; 2007.
7. Muñoz López de Bustamante F. Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado [Internet]. Madrid (España): Mundi-Prensa; 2004, 314.
8. Lock de Ugaz O. *Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales*. 2ª ed. Lima (Perú): Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
9. M. J. López Vallejos, L. B. Huber, P. A. Vaculik, R. O. Rosende, L. A. Lozina, *Rev. ION*, 2023, 36(1), 91–99.
10. Latimer GW, Association of Official Analytical Chemists International. *Official methods of analysis of AOAC International*. 21st ed. Gaithersburg (MD): AOAC International; 2019.
11. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademir SE, Altun M. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. *Free Radic Res*. 2005;39(9):949–61. doi:10.1080/10715760500210145.
12. Sánchez-Moreno C, Cano MP, de Ancos B, Plaza L, Olmedilla B. Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP) [Internet]. Dialnet; 2021.
13. Munteanu IG, Apetrei C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: a review. *Int J Mol Sci*. 2021;22(7):3380. doi:10.3390/ijms22073380.
14. Fernández-Flores N, Rojas-Cardenas NF, Vásquez-Quispe AD, et al. Protection of erythrocytes against lipoperoxidation and anti-inflammatory effects of ethanolic

- extract of *Encelia Canescens* leaves in mice. Pharmacogn J. 2020;12(4):798–804. doi:10.5530/pj.2020.12.113.
15. Cayún JP, Zamorano J, Quiñones L, Varela NM, Squicciarini V, Larenas HD, et al. Preclinical evaluation of the *Encelia Canescen* Lam. extract: medicinal properties useful for cancer treatment. J Nat Remedies [Internet]. 2015.
 16. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med. 1999;26(9-10):1231-1237. doi:10.1016/S0891-5849(98)00315-3.