

POSGRADOS

Maestría en **Biología Molecular**

RPC-SO-26-NO.430-2023

Opción de Titulación:

Proyectos de Desarrollo

Tema:

Cultivo in vitro de la Matricaria chamomilla (Manzanilla) para incrementar la producción de aceites esenciales y la actividad antioxidante.

Autor(es)

DORA TATIANA ERAZO NAVARRETE

Director:

Paco Fernando Noriega Rivera

QUITO – Ecuador
2025

Autor(es):***Dora Tatiana Erazo Navarrete***

Licenciada en Laboratorio Clínico E Histotecnológico
Candidata a Magíster en Biotecnología Molecular por la
Universidad Politécnica Salesiana – Sede Quito.
derazon@est.ups.edu.ec.

Dirigido por:***Paco Fernando Noriega Rivera***

Químico.
Doctor en Ciencias Farmacéuticas.
pnoriega@ups.edu.ec.

Todos los derechos reservados.

Queda prohibida, salvo excepción prevista en la Ley, cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública y transformación de esta obra para fines comerciales, sin contar con autorización de los titulares de propiedad intelectual. La infracción de los derechos mencionados puede ser constitutiva de delito contra la propiedad intelectual. Se permite la libre difusión de este texto con fines académicos investigativos por cualquier medio, con la debida notificación a los autores.

DERECHOS RESERVADOS

2025 © Universidad Politécnica Salesiana.

QUITO– ECUADOR – SUDAMÉRICA

Dora Tatiana Erazo Navarrete

MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi esposo, mi hija por su aliento y compañía en los momentos difíciles, y a mis profesores por compartir su conocimiento y por su ayuda motivacional día a día.

Por otra parte a todas las personas que, de una u otra forma, han creído en mí y me han impulsado a alcanzar mis metas.

AGRADECIMIENTO

Mi más profundo agradecimiento a la Universidad Politécnica Salesiana por su invaluable apoyo durante el desarrollo de esta investigación. A mi tutor Doctor Paco Noriega, y a la Doctora Ivonne Vaca quienes me han brindado su conocimiento, orientación y dedicación en cada proceso realizado, han sido una inspiración y me han guiado en este proceso.

Tabla de Contenido

Resumen	8
Abstract	9
1. Introducción	10
2. Determinación del Problema.....	12
3. Marco teórico referencial.....	13
3.1 INTRODUCCIÓN AL CULTIVO IN VITRO	13
3.2 Matricaria chamomilla	14
3.2.1 Taxonomía	14
3.2.2 Morfología	14
3.3 Ecología de la manzanilla.....	15
3.4 Química y Farmacología de la Manzanilla	16
3.4.1 Componentes químicos de la manzanilla.....	16
3.5 Farmacología de la manzanilla.....	19
3.6 Técnicas y Métodos en el Cultivo In Vitro	23
3.6.1 Preparación y esterilización de medios de cultivo	23
3.6.2 Protocolos de desinfección de material vegetal	24
3.6.3 Multiplicación y regeneración de plantas	24
3.7 Elicitores químicos y físicos para mejorar la producción de aceites esenciales	25
3.8 Análisis Químico y Actividad Biológica	26
3.8.1 Métodos de extracción de aceites esenciales.....	26
3.9 Métodos para la caracterización química de aceites esenciales.....	29
3.9.1 Cromatografía de gases (GC).....	30
3.9.2 Espectroscopía de Rotación	31
3.9.3 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) .	32
3.10 Métodos de evaluación antioxidante	33
3.10.1 Ensayo de Captura del Radical DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo).....	33
3.10.2 Ensayo ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico))....	34
3.10.3 Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power)	35

3.10.4	Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno (<i>ORAC - Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>)	35
3.11	Otros Métodos de Evaluación Antioxidante	36
3.12	Actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla	37
4.	Materiales y metodología.....	38
4.1	<i>Propagación in vitro</i>	38
4.1.1	Fase de preparación de material y medios de cultivo.....	38
4.1.2	Fase de desinfección e introducción	42
4.1.3.	Fase de multiplicación	48
4.2.	<i>Evaluación de la actividad antioxidante</i>	51
4.2.1.	Métodos espectrofotométricos DPPH y ABTS.....	51
4.3	<i>Análisis estadístico</i>	52
4.4.	<i>Operacionalización de las variables</i>	53
5.	Resultados y discusión.....	54
6.	Conclusiones.....	69
7.	Recomendaciones.....	70
8.	Referencias	71
9.	Anexos	77

*Cultivo in vitro de la
Matricaria chamomilla
(Manzanilla) para
incrementar la
producción de aceites
esenciales y la actividad
antioxidante.*

Autor(es):

DORA TATIANA ERAZO NAVARRETE

Resumen

Este estudio presenta un análisis exhaustivo del efecto de las nano partículas de óxido de zinc en la actividad antioxidante de plántulas de *Matricaria chamomilla* L. cultivadas *in vitro*. El objetivo principal fue evaluar cómo diferentes tratamientos con nano partículas de óxido de zinc (T0, T1, T2 y T3) impactan la capacidad antioxidante, medida a través de la absorbancia y el porcentaje de inhibición de radicales libres DPPH.

Se llevaron a cabo experimentos *in vitro* con cuatro tratamientos distintos, variando en volúmenes y diluciones, y se realizaron dos repeticiones para cada tratamiento para asegurar la validez de los resultados. Los resultados mostraron diferencias significativas en la actividad antioxidante entre los tratamientos, siendo el tratamiento T3 el más eficaz con el IC₅₀ más bajo en la reducción del DPPH. Otros tratamientos también mostraron resultados prometedores, lo que sugiere que múltiples enfoques pueden ser efectivos para aumentar la producción de compuestos bioactivos.

Aunque las plantas de manzanilla son conocidas por sus metabolitos secundarios como el bisabolol y aceites esenciales, no fue posible determinar su presencia debido al estado juvenil de las plantas en este estudio. El cultivo *in vitro* demostró ser una técnica efectiva para el crecimiento controlado de plántulas, pero se requiere un desarrollo adicional para evaluar plenamente su potencial bioquímico y farmacológico.

Palabras clave: cultivo *in vitro*, Manzanilla, aceites, esenciales, antioxidante

Abstract

This study presents a comprehensive analysis of the effect of zinc oxide nanoparticles on the antioxidant activity of *Matricaria chamomilla* L. seedlings grown *in vitro*. The primary objective was to evaluate how different zinc oxide nanoparticle treatments (TO, T1, T2, and T3) impact antioxidant capacity, as measured by absorbance and the percentage of inhibition of DPPH free radicals.

In vitro experiments were conducted with four different treatments, varying in volumes and dilutions, and two replicates were performed for each treatment to ensure the validity of the results. The results showed significant differences in antioxidant activity among treatments, with treatment T3 being the most effective with the lowest IC50 in reducing DPPH. Other treatments also showed promising results, suggesting that multiple approaches may be effective in increasing the production of bioactive compounds.

Although chamomile plants are known for their secondary metabolites such as bisabolol and essential oils, their presence could not be determined due to the juvenile stage of the plants in this study. *In vitro* culture has proven to be an effective technique for controlled seedling growth, but further development is required to fully evaluate its biochemical and pharmacological potential.

Palabras clave:

in vitro culture, Chamomile, essential oils, antioxidant, antioxidant

1. Introducción

La biotecnología de origen vegetal ha experimentado un crecimiento significativo en las últimas décadas, impulsada por la creciente demanda global de productos derivados de plantas con propiedades terapéuticas (Camacho-Escobar et al., 2020).

Una de las especies medicinales de mayor relevancia es *Matricaria chamomilla*, comúnmente conocida como camomila o manzanilla. Esta planta posee una notable actividad farmacológica, caracterizada por propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y antioxidantes. Sus aceites esenciales contienen compuestos bioactivos, como el camazuleno y el bisabolol, que contribuyen a sus efectos terapéuticos. La sinergia entre estos compuestos bioactivos permite la modulación de respuestas biológicas, incluyendo la reducción de la inflamación, la inhibición del crecimiento microbiano y la neutralización de radicales libres (Coral Moreno et al., 2025).

Matricaria chamomilla, es una planta que necesita de sol, viento, suelo, lluvia y las prácticas agrícolas son muy importantes, puesto que mejoran el rendimiento y concentración de aceites, estos factores influyen al momento de la extracción de sus aceites esenciales, ya que la composición de los mismos puede fluctuar significativamente en función de la estacionalidad, la edad de la planta y las condiciones de recolección, lo que impacta su calidad y aplicación comercial (El Mihyaoui et al., 2022).

Situación que resalta la importancia de desarrollar estrategias biotecnológicas para optimizar su rendimiento y calidad. Por ejemplo, Camacho-Escobar et al., (2020), indican que factores ambientales tales como la disponibilidad de agua y la exposición solar influyen en la biosíntesis de metabolitos secundarios en las plantas.

Como alternativas a ello, se ha evidenciado la aplicación exitosa del cultivo *in vitro* en diversas especies medicinales ha permitido optimizar la producción de compuestos bioactivos, incluidos los aceites esenciales. De acuerdo con, Coral Moreno et al. (2025), esta técnica facilita la manipulación de factores como la composición del medio de cultivo, la iluminación y el uso de reguladores de crecimiento, lo que favorece un aumento en la biosíntesis de metabolitos de interés.

Así, para el caso de *Matricaria chamomilla*, investigaciones recientes han demostrado que el cultivo *in vitro* es una estrategia eficiente para la producción de aceites esenciales ya que mediante el uso de reguladores de crecimiento como auxinas y citoquininas es posible aumentarla producción de compuestos en plantas medicinales (Marcos, 2023).

La creciente preocupación por los efectos adversos de los antioxidantes sintéticos en la salud humana ha motivado a varios investigadores a explorar el desarrollo de antioxidantes de origen natural, (Xue, 2023), en este contexto, la presente investigación se centra en el desarrollo de aceites esenciales ricos en compuestos antioxidantes mediante técnicas de cultivo *in vitro*, como una alternativa prometedora para obtener compuestos con propiedades terapéuticas.

2. Determinación del Problema

La creciente demanda de compuestos bioactivos naturales ha impulsado la búsqueda de estrategias biotecnológicas para la producción sustentable de estas a partir de plantas ampliamente disponibles según, (Sarría Villa et al., 2021).

En el caso de la manzanilla, como se mencionó anteriormente, sus propiedades medicinales se atribuyen a su contenido de aceites esenciales y compuestos antioxidantes. Sin embargo, la obtención convencional de estos compuestos enfrenta limitaciones relacionadas con factores ambientales, condiciones agronómicas y variabilidad genética, lo que afecta su calidad y rendimiento. En este contexto, el cultivo *in vitro* se presenta como una alternativa eficiente para superar estas limitaciones, ya que permite la producción estandarizada de metabolitos secundarios bajo condiciones controladas, lo que garantiza una mayor consistencia y calidad en la producción de estos compuestos (Shahrajabian & Sun, 2023).

Investigaciones previas como la de, Shahrajabian & Sun (2023), han demostrado que las técnicas de cultivo *in vitro* son eficaces para mejorar la concentración de principios activos en especies medicinales. Sin embargo, su aplicación en *Matricaria chamomilla* (manzanilla) aún se encuentra en etapas preliminares, y existe una limitada información sobre protocolos específicos para la producción eficiente de aceites esenciales y evaluación de su capacidad antioxidante. Esto se debe a que el perfil fitoquímico de la manzanilla puede variar significativamente dependiendo del sistema de cultivo, lo que hace necesario diseñar y optimizar metodologías *in vitro* específicas para esta especie (Qasem et al., 2022).

3. Marco teórico referencial

3.1 INTRODUCCIÓN AL CULTIVO IN VITRO

Ardisana (2021), explica que un elemento clave el cultivo *in vitro* es lo que se conoce como la totipotencialidad, es decir aquella característica distintiva de las células vegetales que les permite regenerar un organismo completo cuando se encuentran en el entorno adecuado.

A partir de la propuesta inicial del biólogo Gottlieb Haberlandt (1854-1945) sobre la totipotencialidad celular, el cultivo *in vitro* experimentó avances significativos con la germinación aséptica de semillas de orquídeas en 1922. Este logro marcó el inicio de una técnica que fue posteriormente optimizada con el descubrimiento de las hormonas vegetales, como las auxinas y citoquininas, las cuales desempeñaron un papel esencial en la regeneración de tejidos y la micro propagación, (Ardisana, 2021). Así, esta evolución consolidó al cultivo *in vitro* como un método versátil y altamente aplicable en biotecnología vegetal.

En el desarrollo de soluciones agrícolas, el cultivo *in vitro* destaca por su capacidad para facilitar la conservación de germoplasma, la producción masiva de plantas libres de patógenos y la obtención de metabolitos secundarios (Orellana Carrión et al., 2024).

3.2 Matricaria chamomilla

3.2.1 Taxonomía

Matricaria chamomilla L. pertenece al reino *Plantae*, división *Magnoliophyta*, clase *Magnoliopsida*, orden *Asterales* y familia *Asteraceae*. Si bien su género: *Matricaria*, agrupa diversas especies con propiedades medicinales, *chamomilla* es una de las más utilizadas debido a su alto contenido en aceites esenciales y flavonoides (Tropicos., 2025).

3.2.2 Morfología

En cuanto a su ciclo de vida se trata de una hierba anual, es decir en un solo año va desde la germinación hasta la producción de semillas y su muerte. Originaria de Europa y Asia occidental, pero actualmente se encuentra en diversas regiones templadas y subtropicales alrededor del mundo (Raja et al., 2022).

Se caracteriza por tener raíces delgadas y alargadas que le permiten anclarse en suelos ligeros y bien drenados como indica, Akram (2024), su tallo es erecto, ramificado y delgado, con una altura variable que va de 10 a 80 cm según las condiciones ambientales en las cuales se desarrolle (El Mihyaoui et al., 2022).

Las hojas emergen dispuestas de forma alterna estrechas y alargadas bi-y tripinnadas con finas divisiones filiformes que les dan un aire delicado y segmentado esa estructura única facilita distinguirlas de otras especies de *Matricaria* (Akram et al., 2024).

Los brotes muestran secciones florales asentadas sobre pedúnculos cuyo diámetro fluctúa entre 10 y 30 mm, en el centro de cada sección se agrupa un racimo de diminutas flores tubulares amarillas de 1,5 a 2,5 mm rematadas por glándulas, a lo largo de su desarrollo el receptáculo transita de un perfil plano a una silueta cónica marcando con nitidez la transición entre floración y maduración (Akram et al., 2024).

3.3 Ecología de la manzanilla

En su ecología la manzanilla exhibe una notable adaptabilidad a distintos suelos y climas, Chauhan et al. (2021), describe su capacidad para prosperar en terrenos de alcalinidad moderada y sobrevivir desde regiones templadas hasta ambientes áridos. Sin embargo, esta variabilidad de condiciones modula su rendimiento y la composición de los aceites esenciales cuando se cultiva en campo abierto.

Su capacidad para secretar compuestos bioactivos le permite actuar como un repelente natural, reduciendo la necesidad de pesticidas químicos y promoviendo prácticas de cultivo sostenible (Camacho-Escobar et al., 2020).

Autores como, El Mihyaoui et al. (2022), sostienen que prefiere suelos arenosos o limosos con un rango de pH de 6.0 a 7.0, lo que favorece su crecimiento y producción de aceites esenciales. Además, las variaciones en la composición de los aceites esenciales, como la presencia de óxidos de bisabolol, destacan la adaptabilidad ecológica de la manzanilla a las diferentes condiciones ambiental (Salamonbr & Khazaei, 2010).

Su resistencia a condiciones ambientales adversas y su rápida regeneración la posicionan como un recurso valioso en la agricultura regenerativa, mejorando la calidad del ecosistema agrícola y reduciendo la dependencia de insumos químicos (Chauhan et al., 2021).

3.4 Química y Farmacología de la Manzanilla

3.4.1 Componentes químicos de la manzanilla

Su composición química ha sido ampliamente estudiada debido a su contenido de metabolitos secundarios bioactivos, los cuales le confieren propiedades terapéuticas, farmacológicas y funcionales en diversos usos e industrias (Sah et al., 2022).

Según Marković et al. (2020), esta planta contiene una variedad de compuestos bioactivos, incluyendo flavonoides, cumarinas, poliacetilenos y aceites esenciales, que exhiben propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y relajantes.

La manzanilla es rica en flavonoides y ácidos fenólicos, que contribuyen a sus efectos terapéuticos. Los aceites esenciales, sin embargo, son los responsables de la actividad farmacológica potente de la planta, ejerciendo efectos antiinflamatorios y antimicrobianos a través de la modulación del sistema nervioso y la inhibición de patógenos (Catani et al., 2021).

Los flavonoides presentes en *Matricaria chamomilla*, como la apigenina, luteolina y quercetina, ejercen efectos antiinflamatorios y antioxidantes mediante la modulación de rutas de señalización celular y la reducción del estrés oxidativo, lo que promueve la estabilidad y supervivencia celular y proporciona una protección integral contra la inflamación y el daño celular (Catani et al., 2021).

Además de sus efectos a nivel molecular, estos flavonoides también ejercen una acción calmante y relajante en el sistema nervioso y muscular. Al aliviar la tensión nerviosa y reducir las contracciones involuntarias del tracto digestivo, estos compuestos proporcionan un efecto terapéutico integral. La preparación tradicional de infusiones a partir de flores secas de manzanilla es un ejemplo de cómo se ha utilizado esta planta para promover el bienestar y aliviar el insomnio. Los extractos concentrados de manzanilla refuerzan esta función antiespasmódica y ansiolítica, lo que perpetúa una práctica ancestral de uso de plantas medicinales para promover la salud y el bienestar (Shahrajabian & Sun, 2023).

Otros estudios fitoquímicos han identificado que la apigenina y la luteolina se encuentran mayoritariamente en la fracción flavonoide de la manzanilla, con una concentración particularmente elevada en las flores, mientras que en las semillas predominan los ácidos fenólicos y los ácidos grasos esenciales (Qasem et al., 2022).

Los ácidos fenólicos como el ácido clorogénico, caféico, p-cumárico y ferúlico ejercen un potente efecto antioxidante y antiinflamatorio, actuando como protectores celulares que neutralizan los radicales libres y promueven la reparación celular. Y cuando se combinan con flavonoides, se produce una sinergia que amplifica el efecto terapéutico, (Shahrajabian & Sun, 2023), ha demostrado que la unión de estos compuestos es más efectiva que cada uno por separado. Esta combinación molecular convierte a los extractos de manzanilla en una fórmula de beneficios reforzados, con un potencial terapéutico aumentado.

Los aceites esenciales de la planta se reconocen por su acción antiinflamatoria, su eficacia contra microorganismos y sus efectos relajantes; por estas razones, se emplea de forma habitual en la producción de fármacos, cosméticos y alimentos (Marković et al., 2020).

El núcleo aromático de la esencia de manzanilla está compuesto por camazuleno, α -bisabolol, óxidos de bisabolol y sesquiterpenos. Estos compuestos contribuyen significativamente a la actividad bioquímica de la planta, exhibiendo un perfil terapéutico notable. La sinergia entre estos componentes volátiles refuerza funciones biológicas esenciales, favoreciendo procesos fisiológicos y revitalizando respuestas celulares (Qasem et al., 2022).

El aceite esencial de manzanilla se ve influenciado por factores ambientales como el viento, la lluvia y el suelo donde crece cada planta, Alarcón (2023), indica que la carga genética de la especie también juega un papel importante en la determinación de los matices únicos de cada cosecha. Posteriormente, el proceso de extracción puede redefinir significativamente el perfil aromático del aceite esencial. Técnicas como la extracción con fluidos supercríticos (SFE) y CO₂ permiten una extracción suave y cuidadosa de los compuestos volátiles sensibles al calor,

como el óxido de bisabolol, preservando su integridad y calidad (Melo-Guerrero et al., 2020).

Por otro lado, los métodos tradicionales de extracción, como la hidrodestilación y la destilación por arrastre de vapor, siguen siendo ampliamente utilizados en la industria, aunque su rendimiento varía dependiendo del compuesto objetivo (Marković et al., 2020).

En cuanto a la distribución de compuestos dentro del aceite esencial Qasem et al, (2022), identifico las siguientes concentraciones promedio en muestras obtenidas mediante *GC-MS*:

- Camazuleno (6.54 %): propiedades antiinflamatorias y antioxidantes.
- α -Bisabolol y óxidos de bisabolol: acción antimicrobiana, antiespasmódica y calmante.
- Sesquiterpenos (*β -myrcene*, *camphor*, *3-carene*): propiedades antisépticas y relajantes.

Melo-Guerrero (2020), afirman que el método de arrastre con vapor es especialmente efectivo para maximizar la concentración de camazuleno, un compuesto clave en la actividad antioxidante de la manzanilla, sin embargo, la calidad final del aceite esencial está influenciada por factores ambientales como la temperatura, la humedad, la intensidad de la luz y la época de recolección, los cuales afectan la síntesis y concentración de bisabolol y camazuleno.

Además de sus aplicaciones tradicionales en cosmética y farmacología, el aceite esencial de esta especie ha demostrado su potencial como aditivo en la producción animal, en si el aceite esencial de manzanilla tiene una capacidad antioxidante, sus propiedades antimicrobianas son excelentes. Al mismo tiempo tiene un efecto regulador del perfil lipídico al reducir el colesterol total y triglicéridos en la sangre, el aceite impulsa enzimas antioxidantes que refuerza el microbiota intestinal y fortalece barreras inmunológicas (Cáceres, 2021).

3.5 Farmacología de la manzanilla

La manzanilla contiene diversos flavonoides con potentes propiedades antiinflamatorias.

La apigenina inhibe la producción de citocinas proinflamatorias, moléculas cruciales en las respuestas inflamatorias y ha mostrado potencial en el tratamiento de enfermedades inflamatorias cutáneas al reducir marcadores inflamatorios (Hamed Ghavimi, 2012).

La quercetina, por su parte, ejerce efectos antiinflamatorios mediante la inhibición de la xantina oxidasa, enzima implicada en procesos inflamatorios, y presenta buena absorción y estabilidad en plasma, características que refuerzan su potencial terapéutico (Hamed Ghavimi, 2012).

La luteolina inhibe la producción de óxido nítrico y prostaglandina E2, mediadores clave de la respuesta inflamatoria, lo que reduce la inflamación y el daño tisular. Además, su acción antioxidante neutraliza radicales libres y mitiga el estrés oxidativo, protegiendo así las células y tejidos del daño oxidativo (Catani et al., 2021).

Las cumarinas, como la herniarina, exhiben propiedades antiinflamatorias y antioxidantes significativas, lo que justifica la aplicación de la manzanilla en el tratamiento de problemas cutáneos e inflamatorios. Además, la planta contiene ácidos fenólicos, principalmente ácido clorogénico y ácido cafeico, que refuerzan su actividad antimicrobiana y potencian su capacidad antioxidante (El Mihyaoui et al., 2022).

Un estudio reciente realizado por Raja et al. (2022), investigó los efectos del extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* en la osteoporosis inducida por corticosteroides en ratas de laboratorio. A través de análisis bioquímicos, se observó que la administración del extracto redujo el estrés oxidativo y moduló los niveles séricos de calcio, fosfato, magnesio, creatinina y fosfatasa alcalina, que son marcadores esenciales del metabolismo óseo. Los resultados mostraron una disminución significativa en la pérdida de calcio (54,01%) y fosfato (27,73%), lo que sugiere una reducción de la resorción ósea asociada con el daño oxidativo (Raja et al., 2022).

El mecanismo antiosteoclástico de la manzanilla implica la inhibición de la catepsina K, una enzima clave en la degradación de la matriz ósea. Estudios de modelado molecular in silico han demostrado que, compuestos como la rutina, la luteolina-7-O- β -glucósido y apigenina-7-O- β -glucósido presentan una notable afinidad por el sitio activo de esta proteasa. Las simulaciones moleculares resaltan la estabilidad de los complejos flavonoide-enzima, lo que sugiere que, al unirse con firmeza, estos compuestos pueden interferir con la función de los osteoclastos (El Mihyaoui et al., 2022).

La manzanilla no solo tiene efectos beneficiosos en la salud ósea, sino que también actúa como un protector contra el daño oxidativo en diversos órganos. Su extracto, rico en compuestos fenólicos como el ácido clorogénico y el ácido cafeico, ha demostrado capacidad para neutralizar radicales libres y reducir el estrés oxidativo. Estudios han mostrado que estos compuestos pueden eliminar radicales DPPH y ABTS, y frenar la peroxidación lipídica, lo que ayuda a proteger las membranas plasmáticas y el ADN del daño oxidativo (El Mihyaoui et al., 2022).

La manzanilla también ejerce una modulación enzimática que refuerza su efecto antioxidante. La planta puede aumentar la actividad de enzimas endógenas como la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa, que desempeñan un papel crucial en la reducción de la inflamación y la mitigación del envejecimiento celular. La sinergia entre estos mecanismos enzimáticos y antioxidantes contribuye

a un efecto protector profundo contra el estrés oxidativo y el daño celular (Qasem et al., 2022)

La manzanilla se destaca como un potente antiinflamatorio natural gracias a su riqueza en compuestos bioactivos, incluyendo flavonoides, ácidos fenólicos, bisabolol, camazuleno y cumarinas. Estos compuestos trabajan sinérgicamente para reducir la inflamación y el estrés oxidativo, lo que la convierte en una opción prometedora para el tratamiento y la prevención de diversas afecciones inflamatorias (Gupta et al., 2010).

Sepp et al. (2024), descubrieron que estas moléculas encajan con alta precisión en la 5-lipoxigenasa LOX-5 al bloquear esa enzima baja la oleada de leucotrienos mediadores de la lesión crónica.

El aceite esencial de manzanilla ha demostrado efectos prometedores en el tratamiento del eczema en modelos murinos, Wang et al. (2021), indicó que el aceite modula las poblaciones de linfocitos T, inhibiendo específicamente la diferenciación de células Th17 y reduciendo los niveles de IL-17. Esto conduce a la inhibición de las vías de señalización NF- κ B y MAPK, lo que a su vez disminuye la producción de TNF- α y IL-6. Como resultado, se reduce significativamente la respuesta inflamatoria en la piel (Wang et al., 2021).

El aceite esencial de manzanilla ha demostrado actividad antimicrobiana frente a diversas bacterias resistentes a antibióticos, incluyendo *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Además, se ha observado que el aceite interrumpe la formación de biopelículas en *P. aeruginosa* y *Candida albicans*, lo que sugiere su potencial para combatir infecciones resistentes a tratamientos convencionales. La capacidad del aceite esencial de manzanilla para actuar tanto en bacterias como en hongos patógenos lo convierte en una opción prometedora para el desarrollo de terapias naturales en medicina veterinaria y humana (Wang et al., 2021).

Estudios respaldados por Munteanu & Apetrei. (2021), avalan su eficacia, las propiedades antiadherentes del aceite esencial crean una barrera contra formaciones microbianas rebeldes. La manzanilla extiende su influencia al campo oncológico con extractos que muestran citotoxicidad selectiva en líneas celulares de cáncer de mama MCF-7 y melanoma reducen la viabilidad celular (Gupta et al., 2010).

La manzanilla ha sido utilizada durante siglos como un remedio natural para aliviar la ansiedad, el insomnio y el abatimiento. Sus flores secas y aceites esenciales, preparados en infusión, pueden ayudar a calmar la inquietud nocturna y promover un sueño más reparador (Koshovyi et al., 2024).

Los estudios sugieren que la manzanilla tiene un efecto ansiolítico comparable al de las benzodiazepinas, pero sin los efectos secundarios de somnolencia y dependencia. Esta mezcla natural puede reducir el nerviosismo de manera suave mientras mantiene la alerta mental. Además, se ha observado que la manzanilla puede mejorar el estado de ánimo y aumentar la vitalidad en vías neuronales dañadas, El Mihyaoui et al. (2022), afirma que en modelos animales, se ha demostrado que la manzanilla puede prolongar el sueño y aumentar la fase de descanso en un 158,9% (Sepp et al., 2024).

Todos estos, hallazgos respaldan el uso de la manzanilla en el tratamiento de trastornos del sueño y ansiedad, destacando su potencial como una alternativa natural para la modulación del sistema nervioso (Sepp et al., 2024).

3.6 Técnicas y Métodos en el Cultivo In Vitro

El cultivo *in vitro* emerge como una plataforma biotecnológica prometedora para la producción de metabolitos secundarios, sin depender de las condiciones climáticas o del suelo natural. Al controlar cuidadosamente los nutrientes, el pH, la temperatura y los fotoperiodos, se pueden obtener lotes homogéneos de moléculas bioactivas. La introducción de elicitores químicos, como el jasmonato de metilo, puede estimular la producción de metabolitos selectos a niveles que superan ampliamente los obtenidos en cultivos convencionales (Jiménez Monreal, 2012).

3.6.1 Preparación y esterilización de medios de cultivo

Para el cultivo *in vitro* de plantas, la preparación y esterilización del medio de cultivo son pasos cruciales para asegurar un ambiente aséptico y adecuado para el desarrollo del material vegetal. Entre los medios más utilizados destacan el Murashige y Skoog (MS), el cual es rico en sales minerales y vitaminas y el Gamborg B5, especialmente recomendado para cultivos celulares debido a su bajo contenido en nitrógeno amoniacal (Qasem et al., 2022).

Para prevenir contaminaciones microbianas, los sustratos de cultivo se esterilizan en autoclave a 121°C durante 15-20 minutos. Posteriormente, el pH se ajusta cuidadosamente a un rango de 5.6-5.8, lo que optimiza la absorción de nutrientes y promueve un crecimiento celular uniforme (Meza Peter & Dicovski Riobóo, 2020).

3.6.2 Protocolos de desinfección de material vegetal

La desinfección del tejido vegetal inicial es crucial para prevenir contaminaciones microbianas en cultivos *in vitro*. Una combinación de hipoclorito de sodio al 1-2% y etanol al 70% puede ser efectiva para eliminar bacterias y hongos sin dañar la viabilidad de las células (Shahrajabian & Sun, 2023).

El Tween 20 es un agente tensioactivo que puede mejorar la eficacia de la desinfección en tejidos vegetales. Al reducir la tensión superficial, facilita la penetración de desinfectantes y permite la eliminación de microorganismos sin dañar el tejido (Alvis et al., 2012).

3.6.3 Multiplicación y regeneración de plantas

En la generación vegetal, dos grupos de hormonas juegan un papel crucial: las auxinas y las citoquinas. Las auxinas, como el ácido indol-3 acético (IAA), promueven la formación de raíces vigorosas, mientras que las citoquinas, como la benzilaminopurina (BAP), estimulan la formación y el crecimiento de brotes. La interacción precisa entre estas hormonas en términos de tiempo y dosis es fundamental para regular la proliferación, diferenciación y equilibrio celular, lo que permite esculpir el desarrollo de nuevos tejidos de manera controlada (Sosnowski et al., 2023).

En el cultivo *in vitro* de manzanilla, es crucial encontrar el equilibrio adecuado entre auxinas y citoquininas para promover la regeneración de brotes vigorosos y en cantidad suficiente. Una proporción desequilibrada puede resultar en tallos débiles y una proliferación deficiente. Por lo tanto, determinar la combinación óptima de estas hormonas es esencial para maximizar la eficiencia en la propagación vegetal y obtener plantas de alta calidad (Meza Peter & Dicovski Riobóo, 2020).

3.7 Elicitores químicos y físicos para mejorar la producción de aceites esenciales

El jasmonato de metilo y el ácido salicílico actúan como elicitores químicos que estimulan la síntesis de metabolitos secundarios en plantas. Este proceso puede resultar en la producción de aceites esenciales ricos en compuestos como el camazuleno y el bisabolol. Estas moléculas no solo refuerzan las defensas de la planta, sino que también ofrecen potenciales beneficios terapéuticos para los humanos, ya sea a través de la inhalación o la aplicación tópica (Benavides et al., 2023).

Estímulos específicos de luz, como el rojo y el azul, combinados con calor uniforme, pueden activar rutas metabólicas en plantas que de otro modo permanecerían inactivas. Estos estímulos controlados pueden desencadenar la producción de compuestos protectores, fortaleciendo las defensas de la planta y generando un arsenal bioactivo más robusto sin necesidad de aditivos químicos (Kandoudi & Németh-Zámboriné, 2022).

Las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO-NPs), han demostrado tener un alto potencial en el cultivo *in vitro* de plantas medicinales como la manzanilla (*Matricaria chamomilla*) debido a sus altas propiedades antimicrobianas, antioxidantes y su capacidad para liberar lentamente zinc, un micronutriente esencial (Meza Peter & Dicoyskiy Riobóo, 2020).

Su aplicación en medios de cultivo tiende a estimular el crecimiento vegetal, aumentar la biomasa y favorecer la producción de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, flavonoides y aceites esenciales. Estudios en otras especies, han mostrado resultados positivos al incorporar ZnO-NPs a concentraciones moderadas (10–50 mg/L), observando mejoras en el crecimiento y contenido

fitoquímico; sin embargo, concentraciones elevadas pueden ser tóxicas y generar estrés oxidativo. La incorporación de estas nanopartículas al medio MS debe realizarse bajo condiciones estériles, y es fundamental evaluar parámetros como el número de brotes, longitud de raíces y presencia de metabolitos mediante técnicas analíticas como HPLC o GC-MS para determinar su efecto en el desarrollo de plántulas de manzanilla (Meza Peter & Dicovski Riobóo, 2020).

3.8 Análisis Químico y Actividad Biológica

3.8.1 Métodos de extracción de aceites esenciales

La extracción de aceites esenciales es un paso crucial en diversas industrias, como la cosmética, la farmacéutica y la alimentaria. La elección del método de extracción es fundamental para garantizar la pureza y la calidad del aceite esencial, ya que puede afectar directamente el rendimiento y la integridad de los compuestos (Sepp et al., 2024).

Los métodos tradicionales de extracción de aceites esenciales, como la destilación por vapor y la enfleurage, coexisten con técnicas más avanzadas como la extracción asistida por microondas, fluidos supercríticos y métodos verdes. Todos estos métodos tienen como objetivo común extraer los aceites esenciales de manera eficiente sin perder los componentes volátiles que definen su aroma y calidad (Aziz et al., 2018).

La destilación por arrastre de vapor es una de las técnicas más utilizadas para extraer aceites esenciales debido a su eficacia y simplicidad. Este método implica inyectar vapor en la materia vegetal para capturar los aceites esenciales. La mezcla de vapor y compuestos se condensa posteriormente en un serpentín enfriado, separando el hidrolato del aceite esencial. Una ventaja significativa de este método es que no requiere solventes agresivos ni equipos complejos (Alarcón, 2023).

De esta técnica emergen diferentes métodos, como la inmersión total en agua hirviente y la destilación por arrastre de vapor. En la inmersión total, el material vegetal se sumerge completamente en agua hirviendo para liberar las esencias mediante calor suave. En la destilación por arrastre de vapor, el vapor se inyecta directamente en el material vegetal para capturar los aceites esenciales, luego el material queda suspendido sobre el líquido sin tocarlo mientras el vapor lo atraviesa liberando aromas con menos estrés térmico, por último, se dispara vapor a alta presión sobre las hojas y flores optimizando la captura de volátiles y acortando el ciclo de destilación (Noriega et al., 2020).

La producción de aceites esenciales para la industria cosmética, farmacéutica y alimentaria enfrenta desafíos significativos. La generación de vapor necesaria para la destilación implica un alto consumo energético, lo que aumenta los costos operativos. Además, el calor puede dañar los compuestos delicados, afectando la calidad del aceite esencial. Para obtener una cantidad adecuada de aceite, se requiere una gran cantidad de materia prima, lo que puede resultar en un bajo rendimiento y hacer que la obtención de volúmenes significativos sea un desafío (Sarria Villa et al., 2021)

En la búsqueda de métodos más limpios y veloces surge la extracción asistida por microondas (*Microwave-Assisted Extraction*, MAE), allí calientan de forma selectiva la biomasa liberando aceites esenciales con un pulso casi instantáneo, esta técnica recorta tiempos extensos y prescinde de disolventes extra, lo que reduce el gasto energético frente a los sistemas clásicos (Noriega et al., 2020).

En la hidrodestilación asistida por microondas (*Microwave-Assisted Hydrodistillation*, MAHD), el agua vibra bajo radiación y arranca esencias con pulso fugaz, ese cruce de calor y humedad reduce tiempos y preserva estructuras químicas sin exponerlas a calor prolongado. La destilación al vapor asistida por microondas (*Microwave-Assisted Steam Distillation*, MASD) impulsa la extracción directa sobre tejido vegetal, el vapor cargado de energía microonda penetra y libera compuestos bioactivos intactos, esa combinación dispara la eficiencia y refuerza la conservación de los compuestos valiosos (Cartaya Ríos et al., 2016).

La extracción con fluidos supercríticos (*Supercritical Fluid Extraction, SFE*), surge como alternativa de vanguardia. El CO₂ en estado supercrítico se comporta a la vez como gas y como líquido penetrando la matriz vegetal sin esfuerzo, esa dualidad permite capturar aromas específicos sin arrastrar contaminantes ni dejar residuos tóxicos y al regular presión y temperatura se define la selectividad de compuestos bioactivos así se obtiene aceites esenciales puros con un proceso sostenible que minimiza el impacto ambiental (Noriega et al., 2020).

Esta técnica que permite obtener aceites esenciales de alta calidad y pureza. Al aplicar temperaturas moderadas y presiones controladas, se logra extraer los compuestos aromáticos sin degradarlos térmicamente. Una vez finalizado el proceso, el CO₂ se evapora completamente, dejando un producto libre de residuos de solventes. Esta técnica es especialmente valorada en la industria farmacéutica y cosmética por su capacidad para preservar la integridad química de los extractos (Marcos, 2023).

Sin embargo, la necesidad de utilizar sistemas de alta presión y temperatura controlada encarece su implementación, limitando su acceso a empresas con mayor capacidad tecnológica, aun así, su eficiencia, selectividad y respeto por el medio ambiente hacen que esta técnica continúe siendo una de las más prometedoras en la extracción de aceites esenciales (Alarcón, 2023).

Junto con estos avances, persisten métodos más convencionales como la extracción con solventes volátiles, que emplea disolventes como alcohol, cloroformo o hexano para disolver los aceites esenciales presentes en la materia vegetal (Alarcón, 2023).

La enfleurage es una técnica tradicional utilizada para extraer aceites esenciales de flores delicadas como el jazmín y la rosa, cuyas fragancias son sensibles al calor. En este proceso, las flores se colocan sobre una capa de grasa pura que absorbe lentamente sus esencias volátiles. Posteriormente, la grasa impregnada de aroma

se trata con alcohol para separar el aceite esencial de los lípidos. Aunque esta técnica permite conservar el perfume genuino de las flores, es un método laborioso y costoso que solo produce pequeñas cantidades de aceite esencial, lo que lo hace exclusivo para la perfumería de lujo (Miettinen et al., 2017).

En años recientes la urgencia por métodos sostenibles disparó el auge de la extracción verde de aceites esenciales, esta vía alternativa nace para repensar cada paso de la obtención de aceites esenciales y minimizar huellas ecológicas sin sacrificar la calidad. Métodos como la extracción asistida por ultrasonido (Ultrasound-Assisted Extraction, UAE), la extracción asistida por microondas (Microwave-Assisted Extraction, MAE) y la extracción con fluidos supercríticos (Supercritical Fluid Extraction, SFE) se presentan como opciones más eficientes y ecológicas (Díaz-Cama et al., 2023).

3.9 Métodos para la caracterización química de aceites esenciales

Las técnicas de análisis químico son fundamentales para la caracterización y el control de calidad de los aceites esenciales, ya que permiten catalogar y cuantificar sus componentes bioactivos. Entre los métodos más utilizados se encuentran la cromatografía de gases (GC), la espectroscopía de rotación y la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), cada una con aplicaciones y características específicas (Meza Peter & Dicoyskiy Riobóo, 2020).

Mientras que la GC es ampliamente empleada para la separación de mezclas complejas de compuestos volátiles, facilitando la cuantificación de monoterpenos y sesquiterpenos en diversas especies vegetales, (Benavides Calvache, 2010), indica que la GC-MS reúne dos fuerzas analíticas sin igual por una parte un sistema de cromatografía de gases capaz de separar cada componente volátil de un aceite esencial y por otro un espectrómetro de masas que luego identifica la huella molecular de cada fracción, la secuencia arranca descomponiendo la mezcla en

picos bien definidos para después asignar un patrón de masa a cada señal (Sarria Villa et al., 2021).

3.9.1 Cromatografía de gases (GC)

La cromatografía de gases (GC) es una técnica analítica ampliamente utilizada en la caracterización de aceites esenciales debido a su alta resolución y capacidad para separar mezclas complejas de compuestos volátiles. Esta técnica ofrece una visión detallada de los compuestos presentes, detectando y cuantificando cada molécula con precisión. Esta exactitud es fundamental en estudios de fitoquímica y en la industria de aceites esenciales, donde la composición exacta puede influir en la calidad y eficacia del producto (Sarria Villa et al., 2021).

En este proceso, la muestra es inyectada en un cromatógrafo de gases, donde se volatiliza y es transportada a través de una columna capilar mediante un gas portador inerte, como helio o nitrógeno. A medida que los compuestos avanzan por la columna, interactúan con la fase estacionaria, separándose en función de su volatilidad y afinidad química. Finalmente, los compuestos alcanzan un detector de ionización de llama (FID), que mide la cantidad relativa de cada sustancia presente en la muestra, generando un cromatograma en el que cada pico representa un compuesto específico (Cáceres, 2021).

Por su precisión y sensibilidad, la cromatografía de gases se ha empleado en el análisis de aceites esenciales de diversas especies vegetales, como *Critoniopsis pycnantha*, *Myrcia aliena*, *Piper macrotrichum* y *Siparuna schimpffii*, permitiendo la identificación de una amplia gama de monoterpenos y sesquiterpenos (Montalván Ruilova et al., 2023).

3.9.2 Espectroscopía de Rotación

La espectroscopia de rotación es una técnica poderosa que examina las rotaciones moleculares en estado gaseoso mediante microondas. Las moléculas con dipolo permanente interactúan con la radiación, cambiando de nivel energético y generando espectros característicos que revelan constantes rotacionales únicas. Estas constantes actúan como huellas químicas distintivas, incluso en mezclas complejas. La técnica no requiere la destrucción de la muestra, solo su exposición a microondas, lo que permite trazar la estructura interna y la distribución de masa con precisión. De esta manera, se pueden identificar compuestos con exactitud y sin ambigüedades (Raja et al., 2022).

Al colocar la muestra bajo un campo electromagnético los estados rotacionales se agitan y saltan de nivel esa danza interna genera un espectro de absorción único, para descifrar se recurre a equipos de última generación, el espectrómetro de microondas con transformación de Fourier traza un mapa de frecuencias invisibles y extrae la firma rotacional de cada molécula (Miettinen et al., 2017). La rotación molecular revela gemelos disfrazados de enantiómeros e isómeros que otros métodos confunden, esa sintonía con sus constantes rotacionales brinda una nitidez única frente a la GC-MS donde picos similares ocultan señales (Miettinen et al., 2017).

La espectroscopia de rotación ofrece una ventaja significativa al proporcionar un contraste más agudo en el análisis de perfiles en aceites esenciales. Esta técnica permite una identificación más precisa y detallada de los compuestos presentes en las muestras, lo que resulta especialmente útil en la caracterización de aceites esenciales complejos (Sarria Villa et al., 2021).

3.9.3 Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) es una técnica analítica poderosa que combina la separación de compuestos volátiles mediante cromatografía de gases con la identificación precisa de sus huellas moleculares mediante espectrometría de masas. El proceso comienza con la dilución de la muestra en un solvente adecuado, seguida de la inyección en el inyector, donde el calor la vaporiza. Un gas inerte, generalmente helio, transporta el vapor a través de una columna capilar revestida con una fase estacionaria apolar, donde las moléculas se separan según su afinidad y tamaño. Finalmente, las moléculas separadas llegan al detector de masas, que identifica cada fragmento con precisión (Sarria Villa et al., 2021).

Las moléculas separadas según su volatilidad atraviesan la salida de la columna y llegan al espectrómetro de masas, donde un impacto electrónico las ioniza y fragmenta en pedazos más pequeños. Estos fragmentos se miden según su relación masa-carga m/z , generando un espectro de masas único que se puede comparar con bases de datos como la NIST para identificar los compuestos presentes en la muestra (Cáceres, 2021).

Estudios recientes pusieron a prueba la técnica al encontrar α -pineno junto a un reparto diverso de monoterpenos en aceites de *Pinus oocarpa*. La aproximación analítica permitió rastrear fragmentos volátiles y medir su relación masa/carga m/z para delinear un espectro inequívoco. Estos hallazgos han reforzado la confianza en los perfiles químicos obtenidos y han validado la presencia de estos compuestos, lo que a su vez ha mejorado la calidad de los análisis (Sarria Villa et al., 2021). Asimismo, en el estudio de Catani et al. (2021), se utilizó una columna DB-5MS y un programa de temperatura ajustado para optimizar la separación de los compuestos, logrando identificar 24 componentes químicos, con el apiol como principal constituyente en los aceites esenciales analizados.

3.10 Métodos de evaluación antioxidante

Los métodos de evaluación antioxidante determinan la capacidad de un compuesto para neutralizar radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS), proporcionando así, información clave sobre su potencial aplicación en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética (Cortés, 2016).

Estas técnicas *in vitro* se clasifican en dos categorías principales: los métodos basados en la transferencia de electrones (*Electron Transfer*, ET), que evalúan la capacidad del antioxidante para ceder electrones a un agente oxidante, y los métodos basados en la transferencia de hidrógeno (*Hydrogen Atom Transfer*, HAT), que miden su capacidad para donar un átomo de hidrógeno y neutralizar los radicales libres. Entre los ensayos más utilizados se encuentran DPPH, ABTS, FRAP y ORAC, los cuales han sido ampliamente aplicados en estudios recientes sobre la actividad antioxidante de aceites esenciales (Campo-Banguero & Ramírez-Navas, 2021).

3.10.1 Ensayo de Captura del Radical DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)

El método DPPH es uno de los más utilizados para evaluar la capacidad antioxidante de compuestos naturales debido a su simplicidad y reproducibilidad (Jiménez Monreal, 2012).

El radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) es un compuesto estable que absorbe luz en la región visible del espectro, presentando un color violeta intenso. Cuando un antioxidante cede un electrón o un átomo de hidrógeno al DPPH, este se reduce a DPPH-H, lo que provoca una disminución en la absorbancia a 517 nm. La magnitud de esta disminución es directamente proporcional a la capacidad antioxidante del compuesto, lo que permite medir de manera sencilla y efectiva la capacidad protectora de cada sustancia (Campo-Banguero & Ramírez-Navas, 2021).

En un protocolo reciente desarrollado con el método DPPH se sometieron aceites esenciales procedentes de múltiples especies vegetales a medición espectrofotométrica bajo lectura a 517 nm, enriquecidas con flavonoides y ácidos fenólicos, provocaron descensos de absorbancia más pronunciados y acelerados que el resto, esa dinámica de cambio rápido evidenció una capacidad antioxidante elevada. El estudio detalló que la cantidad de compuestos fenólicos funciona como motor de esa actividad al comparar perfiles químicos y resultados de reducción del radical libre (Durand, 2021).

3.10.2 Ensayo ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico))

El método ABTS se basa en la reducción del radical catiónico ABTS⁺, generado por la reacción del ABTS con un agente oxidante, como el persulfato de potasio. Cuando un antioxidante cede electrones, el radical pierde su coloración azul-verdosa, lo que permite evaluar su actividad antioxidante mediante espectrofotometría a 734 nm (Alvis et al., 2012).

Melo-Guerrero et al. (2020), indicó que la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla fue evaluada mediante este método, observándose que el proceso de extracción influye significativamente en su capacidad antioxidante. Se encontró que el arrastre con vapor produjo el aceite con mayor actividad antioxidante (27,56 μmol de trolox/mL), seguido de la maceración (23,62 μmol de trolox/mL) y la destilación-extracción simultánea (19,24 μmol de trolox/mL).

3.10.3 Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power)

El ensayo FRAP mide la capacidad de un antioxidante para reducir el ion férrico (Fe^{3+}) a su forma ferrosa (Fe^{2+}) en presencia del reactivo TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina). Tras producirse la reducción, se forma un complejo de color azul cuya intensidad se cuantifica espectrofotométricamente a 593 nm, este método es particularmente útil para evaluar la actividad reductora de polifenoles y flavonoides presentes en los aceites esenciales (Campo-Banguero & Ramírez-Navas, 2021).

En estudios recientes, el ensayo FRAP ha sido empleado para comparar la actividad antioxidante de extractos vegetales obtenidos mediante distintos métodos de extracción. Los resultados han mostrado que los extractos con un alto contenido de flavonoides y compuestos fenólicos presentan una mayor capacidad reductora, lo que confirma la relación entre la estructura química y la actividad antioxidante (Durand, 2021).

3.10.4 Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno (ORAC - Oxygen Radical Absorbance Capacity)

El método ORAC, por sus siglas en inglés "Oxygen Radical Absorbance Capacity" se basa en la fluorescencia que mide la capacidad antioxidante de un compuesto frente al radical peroxilo (ROO). Para ello, se emplea fluoresceína como sonda fluorescente, cuya señal se atenúa en presencia de radicales libres. La adición de un antioxidante ralentiza esta disminución de fluorescencia, lo que permite calcular la capacidad antioxidante de la muestra en términos de equivalentes de trolox (Litescu et al., 2014).

Este método es ampliamente utilizado en la industria alimentaria para evaluar la actividad antioxidante de aceites esenciales y extractos vegetales (Campo-Banguero & Ramírez-Navas, 2021).

Estudios como el de, Durand (2021), indico que al evaluar la capacidad antioxidante de distintos aceites esenciales mediante ORAC, han encontrado que aquellos con un alto contenido de monoterpenos oxigenados y compuestos fenólicos presentaban la mayor actividad antioxidante. Asimismo, se demostró que factores como la temperatura y el tiempo de extracción influyen en la estabilidad de los compuestos antioxidantes, afectando su capacidad para neutralizar radicales libres.

3.11 Otros Métodos de Evaluación Antioxidante

Además de los métodos previamente mencionados, existen otras técnicas utilizadas para evaluar la actividad antioxidante, cada una con enfoques y aplicaciones específicas.

En primer lugar, se encuentra el denominado Ensayo de Capacidad Antioxidante Total (TAA), este mide la capacidad de un antioxidante para inhibir la oxidación de lípidos, proteínas o ADN en sistemas biológicos, proporcionando una evaluación integral de su acción protectora en matrices complejas (Acevedo, 2007).

Por otra parte, el Ensayo de Peroxidación Lipídica (TBARS) es un método de laboratorio que mide cuánto se reduce la degradación oxidativa de las grasas (especialmente en aceites esenciales y compuestos naturales). Esto se logra cuantificando los productos secundarios dañinos (como el malondialdehído) que se generan cuando los lípidos reaccionan con el oxígeno (Montalván Ruilova et al., 2023).

Asimismo, el Ensayo de Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC), similar al método ABTS, utiliza el estándar Trolox como referencia, permitiendo comparar con precisión la actividad antioxidante de diferentes muestras en función de su equivalencia con este compuesto (Campo-Banguero & Ramírez-Navas, 2021).

Los métodos antes descritos, si bien son herramientas fundamentales para evaluar la capacidad antioxidante de los aceites esenciales, cada uno también posee una serie de ventajas y limitaciones según el mecanismo de acción de los antioxidantes presentes en la muestra. Estudios recientes han demostrado que la técnica de extracción influye significativamente en esta actividad, como se observó en el caso del aceite de manzanilla analizado mediante el método ABTS (Melo-Guerrero et al., 2020). Los estudios también han señalado la relevancia de elegir el método de evaluación más apropiado según la composición química del material analizado y su potencial aplicación industria (Durand, 2021).

3.12 Actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla

La evaluación antioxidante de la manzanilla ha sido ampliamente estudiada mediante distintos métodos *in vitro*, los cuales permiten cuantificar su capacidad para neutralizar radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS). Entre las técnicas más empleadas destacan los ensayos DPPH, ABTS y FRAP, aplicados tanto a extractos como a aceites esenciales de manzanilla (Acevedo, 2007).

Estudios también han evidenciado como los extractos metanólicos de manzanilla mostraron una actividad antioxidante superior en la prueba de DPPH en comparación con los aceites esenciales, lo que sugiere que la fracción fenólica hidrofílica contribuye en mayor medida a esta propiedad (El Mihyaoui et al., 2022).

Además, se observó una relación directa entre el contenido fenólico y la capacidad antioxidante, con valores de IC₅₀ que oscilan entre 7.3 y 16.8 µg/mL en ABTS y entre 10 y 45 µg/mL en DPPH, lo que indica una alta eficiencia de los compuestos presentes en la manzanilla (El Mihyaoui et al., 2022).

Por otro lado, un estudio de, Montalván Ruilova et al. (2023), reportó que la infusión de manzanilla presentó una notable actividad captadora de radicales libres, con un porcentaje de inhibición del 96.28% en ABTS y del 79.24% en DPPH a una concentración de 12.8 µg/mL.

Los hallazgos apuntan a la manzanilla como fuente de antioxidantes naturales y flavonoides, como apigenina y quercetina. Sin embargo, luego se vio que la capacidad antioxidante no es inmutable, ya que depende de cómo se extraiga el aceite. La hidrodestilación y el arrastre de vapor son los métodos que mejor rescatan los compuestos activos, en comparación con otras técnicas. Así, la actividad varía de forma notable. Este hallazgo subraya la relevancia de escoger el proceso adecuado para aprovechar al máximo el poder protector de la manzanilla (Melo-Guerrero et al., 2020).

4. Materiales y metodología

4.1 *Propagación in vitro*

4.1.1 Fase de preparación de material y medios de cultivo

La selección del material a utilizar de *Matricaria chamomilla* consistió en semillas, las cuales presentaban una alta tasa de germinación con un tiempo estimado de entre 10 y 14 días, tienen la característica que son muy pequeñas, con diámetros de aproximadamente 0,5 milímetros, de color marrón claro y forma alargada. Además, son fotoblásticas, es decir, requieren luz para germinar (Singh et al., 2011).

Para garantizar condiciones asépticas durante el procedimiento *in vitro*, todo el material utilizado fue sometido a un proceso de esterilización empleando los insumos y procedimientos que se detallan a continuación. Se emplearon tarrinas de ½ litro como recipientes principales para el medio de cultivo. Seguidamente, se realizó el pesaje detallado de cada insumo para la preparación del medio de cultivo, siguiendo una formulación específica para 1 litro de solución, como se describe en la Tabla 1:

Tabla 1. Detalle de los insumos y sus cantidades para un litro de los materiales usados en el medio de cultivo.

INSUMO	CANTIDAD PARA UN LITRO
Agar	6 gramos/litro
Carbón activado	500 mg/litro
Ms (519) 50 % (4.43)	2.21 gramo /litro
Azúcar	20 gramos / litro
Ácido cítrico	0.050 gramos/litro

Figura 1. Imagen de los materiales usados en el medio de cultivo



Se planificó la preparación de dos litros de solución de todo el medio, lo que permitió un manejo eficiente de los reactivos y garantizó la homogeneidad en la preparación del medio. Así, el procedimiento contempló la distribución de 80 mililitros de medio de cultivo en cada una de las 25 tarrinas utilizadas para el experimento, volumen que se determinó tras una evaluación de los requerimientos experimentales, asegurando una cobertura adecuada para el experimento, tal como se puede ver en la siguiente imagen.

Figura 2. Detalle de las dos botellas contenedoras del medio de cultivo.



Una vez obtenido todo el material pesado, se procedió a la dilución integral mediante la adición de 1 litro de agua destilada, siguiendo protocolos estandarizados de preparación de medios de cultivo in vitro. Y a partir de ello, se efectuó la determinación del potencial hidrógeno (pH) obteniéndose un rango de 5.6 a 5.7, valor que resulta crítico para garantizar las condiciones óptimas de desarrollo de la *Matricaria chamomilla*. El intervalo de pH registrado se considera idóneo para cultivos vegetales. Y, una vez confirmado el pH dentro del rango establecido, se procedió inmediatamente al proceso de esterilización, etapa fundamental para eliminar cualquier posible agente contaminante durante el experimento.

Luego de concluido el proceso de esterilización del medio nutritivo, se procedió a su distribución en las tarrinas previamente acondicionadas, ejecutando esta fase dentro de una cámara de flujo laminar para garantizar las condiciones de asepsia controlada, la manipulación estéril del material vegetal y el medio de cultivo, y así minimizar los riesgos de contaminación microbiológica durante la transferencia y distribución de la solución nutritiva.

Posteriormente, se distribuyó 80 ml de medio nutritivo en cada tarrina. Se realizó el sellado hermético mediante la tapa correspondiente y, adicionalmente, se puso una capa de papel para film. Cada uno de los recipientes fue rotulado detallando la fecha de preparación del medio, para luego ser ubicados en la cámara de flujo laminar donde fueron expuestos a radiación ultravioleta durante un período de 15 minutos.

Finalmente, se dispusieron las 25 tarrinas con medio de cultivo en el área vegetal, manteniéndolas en observación durante un período de 8 días, con el propósito de identificar potenciales alteraciones o signos de contaminación que pudieran comprometer la integridad del experimento.

Figura 3. Imagen detalle de las 25 tarrinas



4.1.2 Fase de desinfección e introducción

El protocolo de desinfección se realizó de la siguiente manera: se procedió a la preparación de la cámara de flujo laminar para ejecutar el protocolo de desinfección de semillas de *Matricaria chamomilla* L. Previamente, se realizó la exposición a radiación ultravioleta (UV) de todo el material a utilizar durante 15 minutos, con excepción de las semillas. Los materiales se detallan en la Tabla 2:

Tabla 2. Tabla de inventario de insumos

INSUMOS	CANTIDAD
Tarrinas	25 UNIDADES
Semillas <i>Manzanilla chamomilla</i> L.	1 FUNDA
Mecheros	2 UNIDADES
Frascos de mermelada	4 UNIDADES
Cajas petri	2 UNIDADES
Gasa	1 UNIDAD
Alcohol 70%	1 UNIDAD
Cloro 50%	1 UNIDAD
Tween	1 UNIDAD
Jabón líquido	1 UNIDAD
Agua destilada	2 UNIDADES
Fósforos	1 UNIDAD
Papel parafilm	1 UNIDAD
Tela	1 UNIDA
Kit de pinzas	1 CAJA

Figura 4. Detalle de los materiales en la cámara de flujo laminar



Luego se llevó a cabo el protocolo de desinfección de semillas de *Matricaria chamomilla L.* siguiendo el procedimiento que se describe a continuación:

Preparación Inicial: las semillas fueron puestas en una gasa, la cual se cerró con una tela, debido al reducido tamaño de las semillas, se optó por este procedimiento para prevenir su dispersión durante el proceso de desinfección.

Lavado con jabón: Las semillas en la gasa se pusieron en un frasco de mermelada con agua y jabón líquido y se realizaron movimientos de lavado continuos durante 5 minutos.

Primer enjuague con agua destilada: Posterior al lavado con jabón, se llevó a cabo un enjuague exhaustivo con agua destilada, para eliminar todos los residuos de jabón que pudieron quedar en las semillas.

Primer enjuague: Las semillas fueron sumergidas en alcohol al 70% durante un período de 1 minuto para realizar una desinfección más profunda.

Segundo enjuague: Se realizó un nuevo enjuague con agua destilada para eliminar los residuos de alcohol de las semillas.

Tratamiento final con cloro: Se colocaron las semillas en una solución de cloro al 50% adicionando 1 ml de Tween, y se mantuvieron en esta solución durante 10 minutos para una desinfección profunda.

Reposo final: Las semillas se dejaron reposar en agua destilada durante 30 minutos, finalizando el procedimiento de desinfección Figura 5.

Figura 5. Imagen detalle del proceso de desinfección de las semillas



A continuación, se llevó a cabo el procedimiento de siembra de las semillas, también siguiendo un proceso estructurado, tal como se detalla a continuación, y siempre implementando normas de bioseguridad personal, fundamentales para garantizar la integridad de todo este proceso:

Distribución de semillas: Se colocaron 20 semillas en cada tarrina utilizando pinzas estériles y así prevenir cualquier posible contaminación.

Sellado y rotulación: Luego de la distribución de las semillas en cada recipiente este fue sellado herméticamente para así ser rotulado con los datos necesarios para el control y seguimiento.

Periodo de observación: Se estableció un período de observación de 8 días posteriores a la siembra con el objetivo de monitorear el desarrollo inicial de las semillas.

Condiciones de incubación: Las tarrinas se ubicaron en el área de vegetal, manteniéndolas a una temperatura controlada entre 20 y 26 grados centígrados, condiciones óptimas para la germinación y desarrollo de las plántulas.

Figura 6. Imagen detalle del proceso de siembra de las semillas



A los 8 días de haber sembrado las semillas se pudo observar el proceso inicial de germinación. Como se observa en la Figura 7, el medio de cultivo presentó múltiples plántulas en crecimiento inicial. También se puede ver también que el ambiente interno del recipiente presenta signos de condensación de agua, evidencias de un medio estable de humedad y temperatura para el desarrollo de las plántulas.

Figura 7. Imagen detalle del proceso de siembra con resultados a los 8 días posteriores.



La revisión de estos resultados sobre el proceso de germinación se evidenció patrones relevantes, a los 8 días, en promedio, 4.32 semillas por tarrina, mostraron las primeras señas de turgencia.

En promedio, aproximadamente 2 semillas por tarrina no evidenciaron signos aparentes de desarrollo. 2.88 semillas lograron desarrollar la radícula, indicando el inicio de su proceso de crecimiento, y 2.56 semillas avanzaron hasta un estado de desarrollo que incluyó la presencia de cotiledón y radícula a la vez.

Finalmente, un valor relevante fue el promedio de 8.20 plántulas completamente desarrolladas por tarrina, cifra que refleja una alta eficiencia del protocolo de cultivo in vitro, con una variabilidad mínima de 1.09, lo que sugiere condiciones de cultivo altamente controladas para el desarrollo de *Matricaria chamomilla L.*

Tabla 3. Desarrollo de los diferentes parámetros medidos desde la siembra hasta 8 días posteriores

PARÁMETRO	VALOR PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
Turgencia (N° de semillas 1-20)	4.32	1.085
Germinación (Sin germinación/N° de semillas)	2	0.74
Germinación (Solo presencia de radícula/N° de semillas)	2.88	1.24
Germinación (Presencia de cotiledón + radícula/N° de semillas)	2.56	1.09
Germinación (Plántula establecida /N° de semillas)	8.2	1.09

Los datos en la Tabla 4, revelaron también una incidencia del 8% de contaminación bacteriana (2 tarrinas afectadas) y del 16% de contaminación fúngica (4 tarrinas), lo que indica que el protocolo de desinfección fue efectivo en general, pero con mayor susceptibilidad a hongos.

Tabla 4. Desarrollo de los diferentes parámetros medidos desde la siembra hasta 8 días posteriores.

PARÁMETRO	NÚMERO DE TARRINAS AFECTADAS	PORCENTAJE
Contaminación bacteriana	2	8%
Contaminación fúngica	4	16%

4.1.3. Fase de multiplicación

En la fase de multiplicación se evaluó el efecto de nanopartículas de óxido de zinc en el crecimiento in vitro de *Matricaria chamomilla L.*, utilizando concentraciones progresivas (0, 10, 20 y 30 ppm) como indica en la Tabla 5:

Tabla 5. Tratamiento y concentración de nanopartículas de óxido de zinc

TRATAMIENTO	CONCENTRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC
T0	0
T1	10 ppm (1ML)
T2	20 ppm (2ML)
T3	30 ppm (3ML)

Estas nanopartículas fueron seleccionadas por su capacidad para estimular procesos fisiológicos clave en cultivos vegetales, particularmente en la germinación y desarrollo radicular, como reportan estudios previos de García et al. (2023).

Los tratamientos se prepararon mediante diluciones seriadas aplicando la fórmula de concentración-volumen: $C1.V1 = C2.V2$

Se realizó un procedimiento similar al descrito anteriormente, es decir, utilizando el mismo medio del cultivo preparado, con la diferencia de que se añadieron las nanopartículas de zinc y se utilizaron vasos de 1 litro tal como se puede ver en la Figura 8.

Figura 8. Detalle de los cultivos con la adición de las nanopartículas de Zinc



Posterior a ello, se traspasaron las plantas obtenidas en la primera siembra a cada tratamiento adicional, obteniendo así 6 repeticiones de cada tratamiento. Estas fueron mantenidas alrededor de 21 días en el área de vegetal a una temperatura de 22°C a 28°C, dado que este rango de temperatura favorece la germinación, crecimiento y multiplicación de brotes, así como la producción de metabolitos secundarios tales como los aceites esenciales.

Figura 9. Detalle del proceso de traspaso



Durante la fase de introducción, las plántulas de *Matricaria chamomilla* L. se mantuvieron durante un período de 21 días en condiciones controladas de cultivo in vitro. En este lapso, se realizaron mediciones morfométricas integrales que incluyeron la planta y el tallo, y colocando 5 plántulas en cada medio de cultivo.

Como se puede ver en la Figura 10, a simple vista y tras una inspección visual a los 21 días, las plantas presentaron un aumento en el número de brotes y un crecimiento más vigoroso en términos de tamaño.

Figura 10.Detalle de las plántulas y su crecimiento



Las mediciones realizadas a estas plantas arrojaron los resultados que se evidencian en la tabla 6. Los datos obtenidos revelan diferencias en el desarrollo de las plantas según la concentración de nanopartículas de óxido de zinc aplicada. El tratamiento T2 (20 ppm) mostró el mejor desempeño, alcanzando una longitud promedio de 5.2 cm, aunque con una mayor variabilidad en los resultados (desviación estándar de 1.1 cm).

Tabla 6. Detalle de los tratamientos y las medidas de su medición.

Tratamiento	Longitud Promedio (cm)	Desviación Estándar
T0 (Control)	4.7	0.9
T1 (10 ppm)	4.6	0.8
T2 (20 ppm)	5.2	1.1
T3 (30 ppm)	4.9	0.7

Las vitroplantas producidas serán adaptadas a sustrato, manteniendo los mismos tratamientos de la tabla 5.

4.2. Evaluación de la actividad antioxidante

4.2.1. Métodos espectrofotométricos DPPH y ABTS

Las técnicas de DPPH (difencil-2-picrilhidrazilo) y ABTS [ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) sal de diamonio] son las más utilizadas para evaluar la capacidad de los aceites esenciales en la captura de radicales libres.

Para el ensayo DPPH, se siguió según el protocolo propuesto por Noriega et al. (2016), utilizando muestras variables de aceite esencial de *Matricaria chamomilla* (manzanilla), las cuales se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) en un volumen determinado. Posteriormente, se añadió el reactivo DPPH y la medición de la absorbancia se llevó a cabo a 517 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. En el ensayo ABTS, cada muestra disuelta en DMSO se mezcló con una solución de ABTS

previamente rad La absorbancia se midió a 734 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. La actividad anti radical de cada muestra se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\%DPPH \text{ o } ABTS = \frac{Ab - Aa}{Ab} \times 100$$

Aa y Ab representan las absorbancias de los blancos y las muestras, respectivamente, medidas tras 30 minutos en el ensayo DPPH y 1 minuto en el ensayo ABTS.

Se evaluó la capacidad antioxidante del aceite esencial mediante el cálculo de la IC_{50} , que representa la concentración que inhibe el 50% de la oxidación de DPPH y ABTS. Este valor se obtuvo a partir de gráficos que relacionan la concentración con el porcentaje de inhibición. Para comparar los resultados, se utilizaron como referencia el aceite esencial de *Thymus vulgaris* y el hidroxianisol butilado (BHA) (Noriega et al., 2020).

4.3 Análisis estadístico

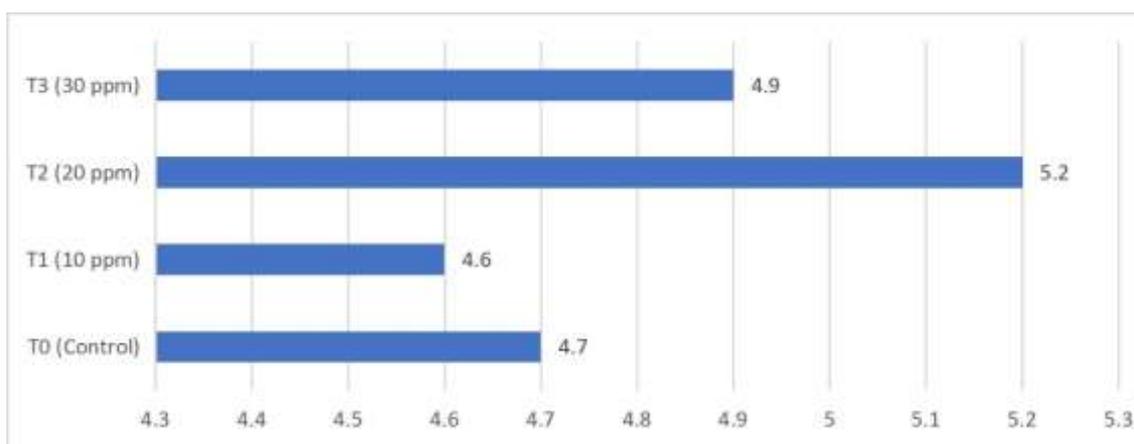
Los datos obtenidos se analizaron mediante una estadística descriptiva, utilizando como medida de tendencia central la media aritmética, los datos fueron elaborados en Microsoft Excel, lo que permitió visualizar la relación entre las variables de actividad vs concentración.

4.4. Operacionalización de las variables

Variable	Definición	Indicadores	Método de Medición
Cultivo In Vitro (Independiente)	Proceso de cultivo de <i>Matricaria chamomilla</i> en condiciones controladas	- Tipo de medio de cultivo	Observación y registro
		- Condiciones ambientales (luz, temperatura)	Monitoreo de condiciones
		- Tratamientos (T0, T1, T2, T3)	Aplicación y comparación de tratamientos
Producción de Aceites Esenciales y Actividad Antioxidante (Dependiente)	Rendimiento de aceites esenciales y capacidad antioxidante	- Rendimiento de aceite esencial	Destilación y análisis volumétrico
		- Porcentaje de inhibición de DPPH	Métodos espectrofotométricos
		- IC50 (concentración que inhibe el 50%)	Cálculo a partir de datos de absorbancia

5. Resultados y discusión

Figura 11. Gráfico de longitud promedio de las plántulas tras la aplicación nanopartículas de Zinc en diferentes concentraciones



Los tratamientos T0 y T1 presentaron resultados muy similares, con longitudes promedio de 4.7 cm y 4.6 cm respectivamente, lo que indica que la concentración más baja de nanopartículas no generó un efecto significativo en el crecimiento de las plántulas en comparación con el grupo control.

El tratamiento T3 fue también de un desarrollo intermedio, con una longitud promedio de 4.9 cm y la menor variabilidad entre todos los tratamientos (desviación estándar de 0.7 cm).

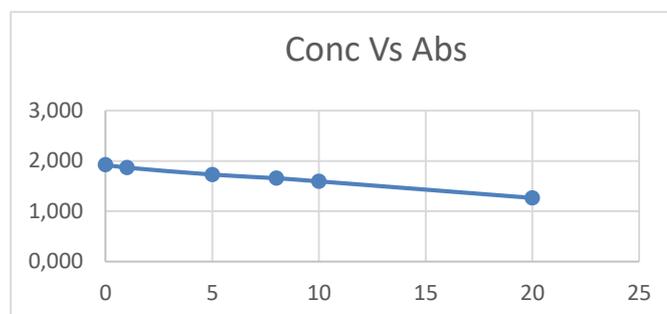
El tratamiento T2 (20 ppm) mostró el mejor desempeño, alcanzando una longitud promedio de 5.2 cm, aunque con una mayor variabilidad en los resultados (desviación estándar de 1.1 cm).

Tratamiento 0

Tabla 7. Datos de Concentración y Absorbancia para el Tratamiento T0

Conc.	Abs.
0	1,928
1	1,870
5	1,732
8	1,660
10	1,597
20	1,268

Gráfico 1. Concentración y absorbancia



La Tabla 7 y el Gráfico 1 muestran la relación entre la concentración (Conc.) de un factor experimental y la absorbancia (Abs.) medida en el tratamiento T0 del cultivo *in vitro* de *Matricaria chamomilla* L.

Se observa una clara tendencia inversa entre la concentración y la absorbancia. A medida que la concentración del factor experimental aumenta, la absorbancia de la muestra tiende a disminuir.

La disminución de la absorbancia no es lineal, pero muestra una tendencia progresiva a la baja con el incremento de la concentración. La mayor caída en la absorbancia se observa en el rango de concentración de 0 a 5 unidades.

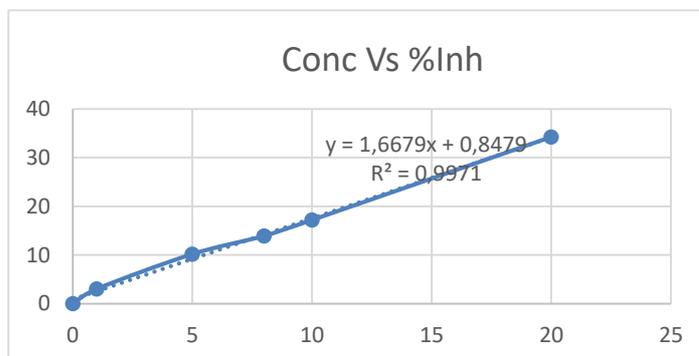
En la concentración más baja (0), la absorbancia registra el valor más alto (1.928). Esto representa la absorbancia basal o de control para el tratamiento T0.

Al aumentar la concentración hasta 20 unidades, la absorbancia disminuye significativamente hasta 1.268, lo que sugiere que el factor cuya concentración está variando tiene un impacto en la propiedad que se está midiendo a través de la absorbancia.

Tabla 8. Datos de Concentración e % inhibición

Conc.	Inhi.
1	3,00829876
5	10,1659751
8	13,9004149
10	17,1680498
20	34,2323651

Gráfico 2. Concentración y % de inhibición



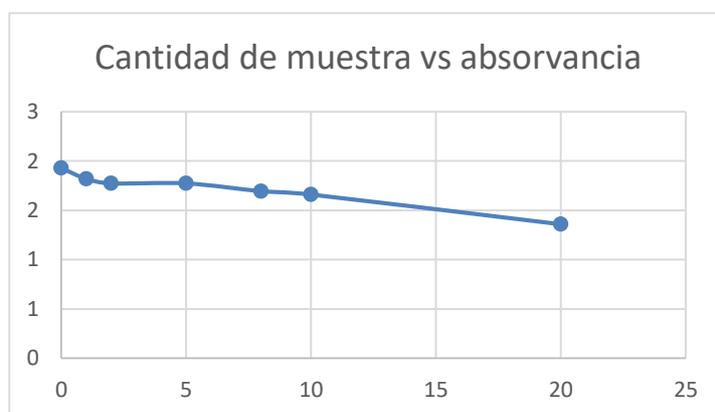
El Gráfico 2 y la Tabla 8 presentan la relación entre la concentración del extracto/compuesto evaluado y el porcentaje de inhibición de la actividad antioxidante. Se observa una fuerte correlación lineal positiva ($R^2 = 0.9971$), donde el aumento en la concentración se traduce en un incremento significativo en la inhibición, como se describe por la ecuación de la recta $y=1.6679x+0.8479$.

A partir de estos datos, se determinó el valor de la Concentración Inhibitoria Media (IC_{50}), que representa la concentración necesaria para inhibir la actividad antioxidante en un 50%. El IC_{50} calculado para este tratamiento es de **29.47 mg/mL**. Este valor indica la potencia del extracto/compuesto como inhibidor de la actividad radicalaria; un valor más bajo de IC_{50} señalaría una mayor potencia.

Tabla 9. Cantidad de muestra y Absorbancia para el Tratamiento T0

0	2
1	1,819
2	1,773
5	1,773
8	1,694
10	1,660
20	1,359

Gráfico 3. Cant. de muestra y absorbancia



En la absorbancia del Gráfico 3 y la Tabla 9 muestra un comportamiento decreciente y parece estabilizarse a medida que se incrementa la cantidad de muestra. Por ejemplo, la absorbancia pasa de 2 a 1.773 al aumentar de 0 a 2 g, y de 1.694 a 1.359 al aumentar de 10 a 20 g.

Esto podría indicar que después de cierto punto, aumentar más la cantidad de muestra no tiene un impacto significativo en la absorbancia.

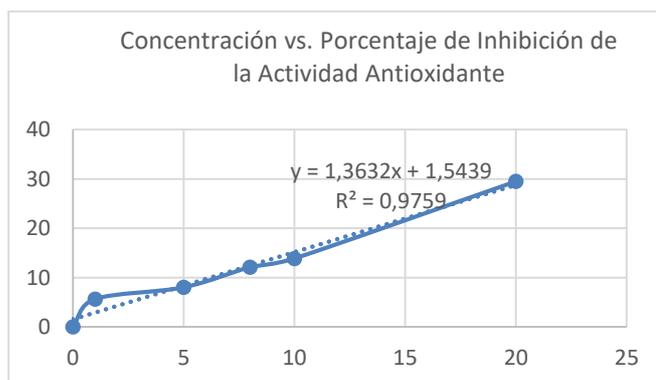
La relación observada sugiere que el tratamiento T0 es efectivo en la disminución de la absorbancia con el aumento de la cantidad de muestra, lo que puede ser útil en la optimización de condiciones experimentales.

Para un análisis más profundo, podría ser beneficioso evaluar la relación matemática entre la cantidad de muestra y la absorbancia, utilizando regresión lineal o modelos de ajuste para determinar la relación exacta.

Tabla 10. Concentración vs inhibición actividad antioxidante

Con.	Inhibición de la actividad antioxidante
1	5,65352697
5	8,03941909
8	12,1369295
10	13,9004149
20	29,5124481

Gráfico 4. Conc. Vs inhibición de la actividad antioxidante



El Gráfico 4 muestra una tendencia positiva, lo que indica que a medida que la concentración de la Tabla 10 del extracto o compuesto aumenta, el porcentaje de inhibición de la actividad (presumiblemente antioxidante) también se incrementa.

La relación parece ser aproximadamente lineal, especialmente en el rango de concentraciones más altas, como lo sugiere el valor de R^2 (0.9759) de la línea de regresión lineal ajustada a los datos.

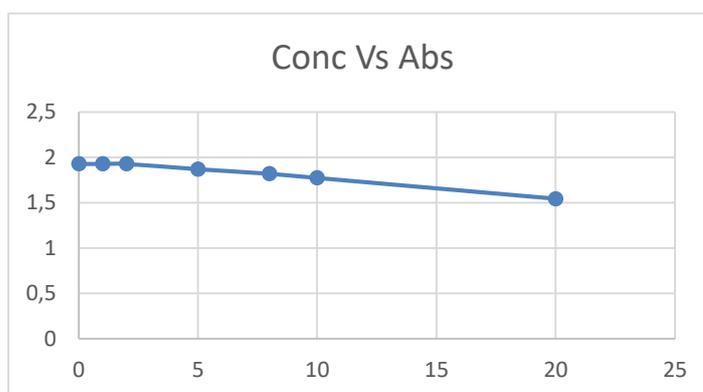
La ecuación de la recta de regresión es $y=1.3632x+1.5439$. Esto sugiere que, por cada unidad de aumento en la concentración, se espera un incremento de aproximadamente 1.36 unidades en el porcentaje de inhibición. El intercepto de 1.5439 indica un pequeño porcentaje de inhibición extrapolado a una concentración de cero, aunque el dato experimental en concentración 0 es 0% de inhibición.

Tratamiento 1

Tabla 11. Datos de Concentración y Absorbancia para el Tratamiento T1

0	1,928
1	1,928
2	1,928
5	1,87
8	1,819
10	1,773
20	1,543

Gráfico 5. Concentración y absorbancia



El Gráfico 5 y la Tabla 11 muestran la relación entre la concentración y la absorbancia en el Tratamiento 1. Inicialmente, la absorbancia se mantiene constante en 1.928 a concentraciones de 0, 1 y 2. A partir de una concentración de 5, la absorbancia comienza a disminuir progresivamente hasta alcanzar 1.543 en la concentración de 20.

A diferencia del Tratamiento 0, la absorbancia en el Tratamiento 1 no cambia a bajas concentraciones.

A concentraciones más altas (≥ 5), se observa una disminución de la absorbancia similar a la del Tratamiento 0, aunque con valores ligeramente superiores.

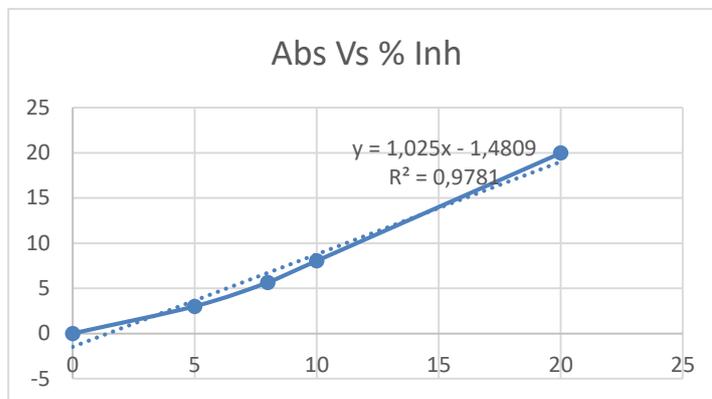
El Tratamiento 1 parece inducir una respuesta diferente a bajas concentraciones en comparación con el Tratamiento 0, manteniendo la absorbancia estable antes de que comience a disminuir con el aumento de la concentración. La disminución final de la

absorbancia sugiere un efecto similar al del Tratamiento 0 a concentraciones elevadas, aunque quizás atenuado.

Tabla 12. Datos de Concentración y % de inhibición

Conc.	Inhi.
0	0
5	3,00829876
8	5,65352697
10	8,03941909
20	19,9688797

Gráfico 6. Concentración y % de inhibición



El Gráfico 6 y la Tabla 12, muestran una tendencia positiva donde el porcentaje de inhibición aumenta con la concentración. La relación parece aproximadamente lineal, con un R^2 de 0.9781 para la línea de regresión ($y=1.025x-1.4809$).

A medida que la concentración se incrementa de 0 a 20 unidades, el porcentaje de inhibición aumenta de 0% a aproximadamente 20%.

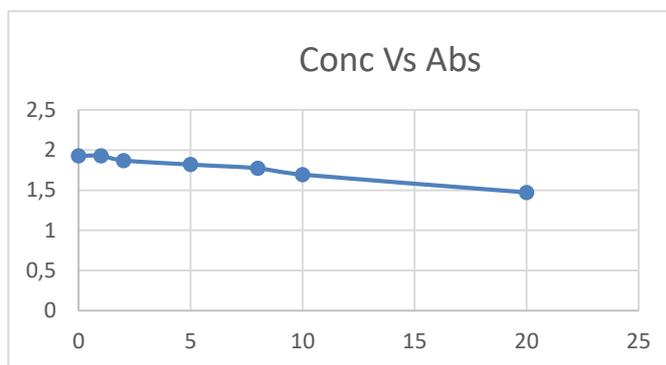
IC₅₀: El IC₅₀ para el Tratamiento 1 es de 50.23 mg/mL. Esta es la concentración necesaria para inhibir la actividad en un 50%.

Comparado con el Tratamiento 0 (IC₅₀ ≈ 32.51 mg/mL), el Tratamiento 1 presenta un IC₅₀ más alto, lo que sugiere una **menor potencia inhibitoria** en las condiciones de este tratamiento para alcanzar la misma inhibición. Se necesita una mayor concentración del extracto o compuesto en el Tratamiento 1 para lograr el 50% de inhibición de la actividad evaluada.

Tabla 13. Concentración y Absorbancia para el Tratamiento T1

0	1,928
1	1,928
2	1,87
5	1,819
8	1,773
10	1,694
20	1,472

Gráfico 7. Concentración y absorbancia

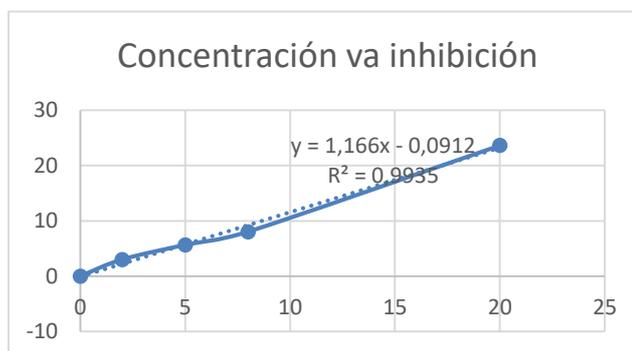


En el Tratamiento 1, en la Tabla 13 se observa que la absorbancia tiende a disminuir a medida que aumenta la concentración en el Gráfico 7, sugiriendo una relación inversa entre estas dos variables. La ligera disminución inicial podría indicar una menor sensibilidad a bajas concentraciones en comparación con el Tratamiento 0 (si observamos el gráfico de cantidad de muestra vs. absorbancia de T0). La disminución general sugiere un efecto de la concentración en la lectura de absorbancia, cuya naturaleza dependerá del ensayo específico que se esté realizando.

Tabla 14. Concentración vs inhibición actividad antioxidante T1

Con.	Inhibición de la actividad antioxidante
0	0
2	3,00829876
5	5,65352697
8	8,03941909
20	23,6514523

Gráfico 8. Conc. Vs inhibición de la actividad antioxidante



En el Grafico 8, se observa un aumento en la inhibición de la actividad antioxidante a medida que la concentración como se puede observar en la Tabla 14 incrementa.

La relación muestra una tendencia lineal con un R^2 de 0.9935 para la línea de regresión ($y=1.166x-0.0912$), indicando un buen ajuste de los datos a la línea recta.

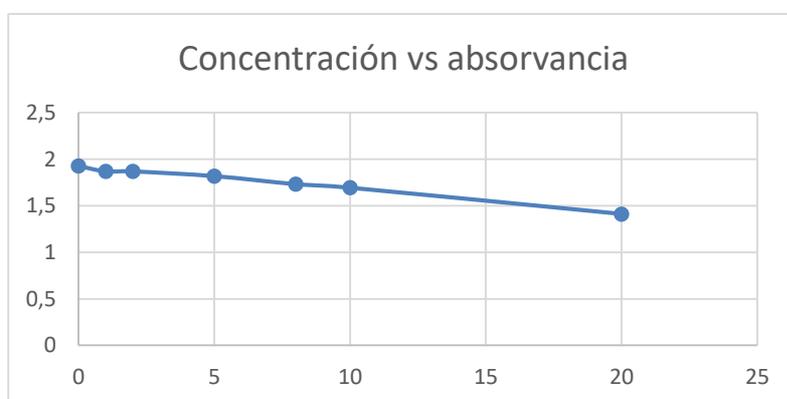
El IC_{50} promedio para el Tratamiento 1 es de 46.59 mg/mL.

Tratamiento 2.

Tabla 15. Datos de Concentración y Absorbancia para el Tratamiento T2

0	1,928
1	1,870
2	1,870
5	1,819
8	1,732
10	1,694
20	1,411

Gráfico 9. Concentración y



La absorbancia disminuye gradualmente a medida que la concentración aumenta a lo largo del rango estudiado, como se observa en la Tabla 15 y Grafico 9 correspondiente.

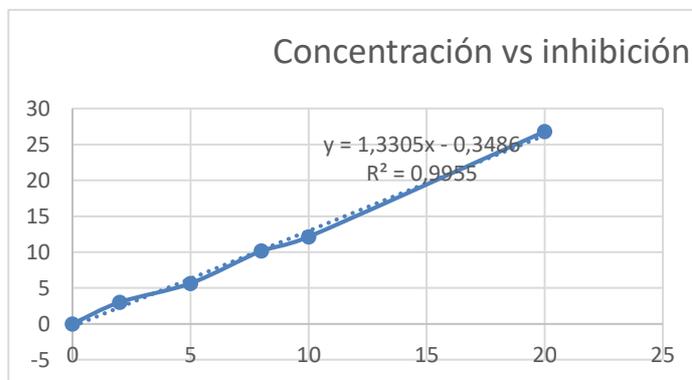
La disminución total de la absorbancia desde la concentración 0 (1.928) hasta la concentración 20 (1.411) es moderada.

En el Tratamiento 2, el aumento en la concentración parece tener un efecto inhibitorio gradual en la absorbancia medida. La disminución constante sugiere una respuesta más uniforme a los cambios en la concentración en comparación con el Tratamiento 1, donde la absorbancia se mantuvo más estable a bajas concentraciones. La magnitud del cambio en la absorbancia a la concentración máxima también difiere entre los tratamientos.

Tabla 16. Datos de Concentración y inhibición

Conc.	Inhi.
0	0
2	3,00829876
5	5,65352697
8	10,1659751
10	12,1369295

Gráfico 10. Concentración y % de inhibición T2



Se observa en el Gráfico 10, un aumento pronunciado en el porcentaje de inhibición a medida que la concentración en la Tabla 16 se incrementa. La relación lineal es fuerte, con un R^2 de 0.9955 para la línea de regresión ($y=1.3305x-0.3486$).

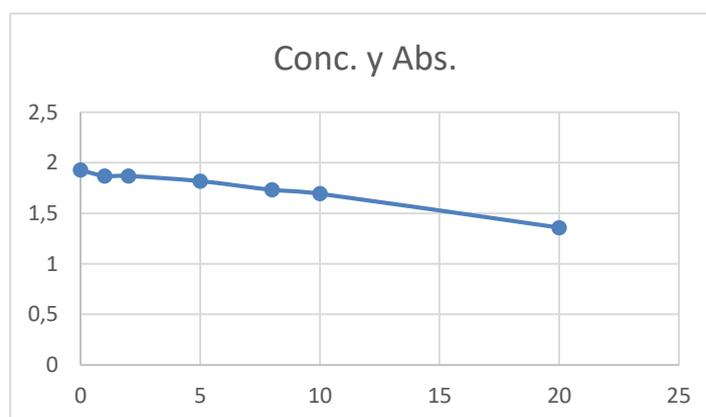
IC₅₀: El IC₅₀ para el Tratamiento 2 es de 37.84 mg/mL.

El Tratamiento 2 una actividad inhibitoria que depende fuertemente de la concentración, comparado con el Tratamiento 0 (IC₅₀ ≈ 32.51 mg/mL), muestra una **menor potencia inhibitoria**, requiriendo una concentración ligeramente mayor para alcanzar el 50% de inhibición. Sin embargo, la pendiente de la curva de inhibición es mayor en el Tratamiento 2 (1.3305) que en el Tratamiento 1 (1.166), lo que sugiere una respuesta más pronunciada al aumento de la concentración dentro del rango estudiado.

Tabla 17. Concentración y Absorbancia para el Tratamiento T2

0	1,928
1	1,87
2	1,87
5	1,819
8	1,732
10	1,694
20	1,358

Gráfico 11. Concentración y absorbancia



La absorbancia disminuye gradualmente en el Gráfico 11 a medida que la concentración aumenta a lo largo del rango estudiado, como se observan los valores en la Tabla 17.

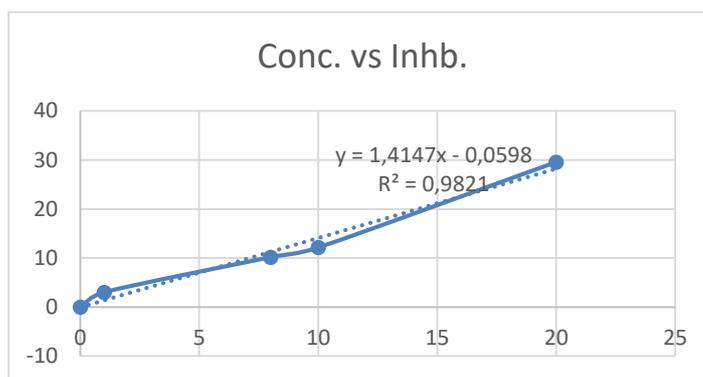
La disminución total de la absorbancia desde la concentración 0 (1.928) hasta la concentración 20 (1.358) es moderada.

Al igual que en el análisis anterior del Tratamiento 2 (Concentración vs. Absorbancia), se observa un efecto inhibitorio gradual de la concentración sobre la absorbancia medida. La ligera diferencia en el valor final de absorbancia (1.411 vs 1.358) podría deberse a pequeñas variaciones experimentales o redondeo. La tendencia general de disminución gradual se mantiene.

Tabla 18. Concentración vs inhibición actividad antioxidante T2

Con.	Inhibición de la actividad antioxidante
0	0
1	3,00829876
8	10,1659751
10	12,1369295
20	29,5643154

Gráfico 12. Conc. Vs inhibición de la actividad antioxidante



El Gráfico 12 y la Tabla 18 muestran la relación entre la concentración y la inhibición de la actividad antioxidante para el Tratamiento 2.

Se observa un aumento significativo en la inhibición de la actividad antioxidante a medida que la concentración se incrementa. La relación lineal es fuerte, con un R^2 de 0.9821 para la línea de regresión ($y=1.4147x-0.0598$).

IC₅₀: El IC₅₀ para el Tratamiento 2 es de 35.39 mg/mL.

El Tratamiento 2 demuestra una actividad antioxidante dependiente de la concentración. Comparado con el Tratamiento 0 (IC₅₀ ≈ 32.51 mg/mL), el Tratamiento 2 muestra una potencia ligeramente menor, requiriendo una concentración un poco más

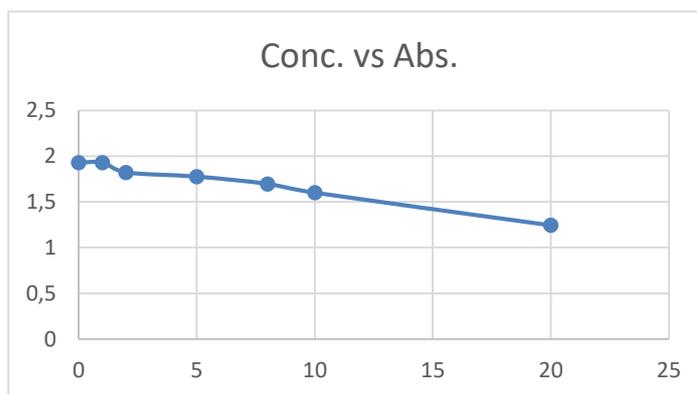
alta para alcanzar el 50% de inhibición. Sin embargo, parece ser más potente que el Tratamiento 1 ($IC_{50} \approx 46.59 \text{ mg/mL}$). La pendiente de la curva de inhibición (1.4147) es la más alta entre los tratamientos analizados, lo que sugiere el aumento más pronunciado en la inhibición al aumentar la concentración dentro del rango probado.

Tratamiento 3.

Tabla 19. Datos de Concentración y Absorbancia para el Tratamiento T3

0	1,928
1	1,931
2	1,822
5	1,776
8	1,697
10	1,6
20	1,244

Gráfico 13. Concentración y absorbancia



Se observa en el Gráfico 13, una tendencia general a la disminución de la absorbancia a medida que la concentración aumenta en los datos de la Tabla 19.

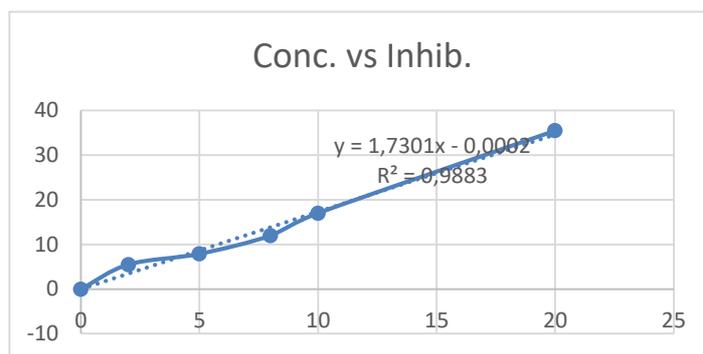
Hay un ligero aumento en la absorbancia de la concentración 0 (1.928) a la concentración 1 (1.931) antes de comenzar a disminuir.

A partir de la concentración 1, la absorbancia disminuye progresivamente hasta alcanzar 1.244 a la concentración de 20.

El Tratamiento 3 presenta un comportamiento ligeramente diferente a los tratamientos anteriores en cuanto a la relación concentración-absorbancia. El pequeño aumento inicial en la absorbancia a baja concentración podría indicar una interacción compleja en esa etapa. Sin embargo, la tendencia dominante es una disminución de la absorbancia con el aumento de la concentración, similar a lo observado en los otros tratamientos, aunque con valores específicos distintos.

Tabla 20. Datos de Concentración y % de inhibición T3

Conc.	Inhi.
0	0
2	5,49792531
5	7,88381743
8	11,9813278

Gráfico 14. Concentración y % de inhibición

El Gráfico 14 y la Tabla 20 muestran la relación entre la concentración y la inhibición de la actividad antioxidante para el Tratamiento 3.

Puntos Clave:

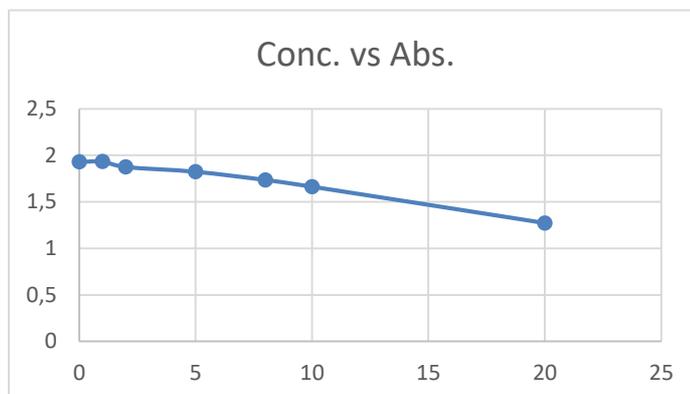
- Fuerte Tendencia Positiva: Se observa un aumento significativo en la inhibición con el incremento de la concentración. La relación lineal es fuerte, con un R^2 de 0.9883 para la línea de regresión ($y=1.7301x-0.0002$).
- IC_{50} : El IC_{50} para el Tratamiento 3 es de 28.90 mg/mL.

El Tratamiento 3 revela una potente actividad antioxidante dependiente de la concentración. El IC_{50} de 28.90 mg/mL es el más bajo que hemos observado hasta ahora en comparación con los Tratamientos 0 y 1, lo que indica que se requiere una menor concentración del extracto o compuesto en el Tratamiento 3 para alcanzar el 50% de inhibición de la actividad antioxidante. La pendiente de la curva de inhibición (1.7301) también es la más alta, sugiriendo una respuesta muy eficiente al aumento de la concentración en términos de incremento de la actividad antioxidante. Esto sugiere que el Tratamiento 3 podría ser el más efectivo para potenciar la actividad antioxidante entre los tratamientos analizados hasta el momento.

Tabla 21. Concentración y Absorbancia para el Tratamiento T3

0	1,928
1	1,931
2	1,873
5	1,822
8	1,734
10	1,662
20	1,271

Gráfico 15. Concentración y absorbancia



El Gráfico 15 y la Tabla 21 muestran la relación entre la concentración y la absorbancia para el Tratamiento 3.

Al igual que en el análisis anterior del Tratamiento 3 (Concentración vs. Absorbancia), se observa un ligero aumento en la absorbancia de la concentración 0 (1.928) a la concentración 1 (1.931).

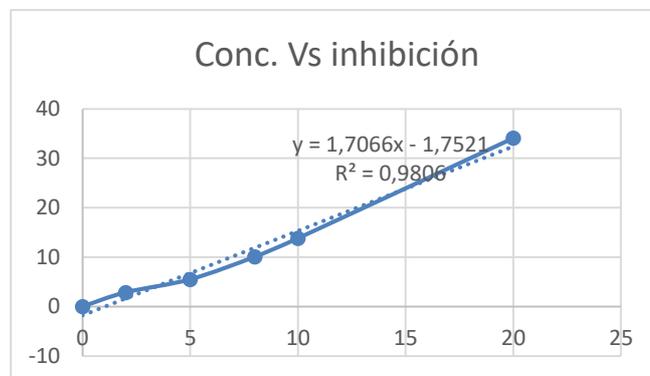
A partir de la concentración 1, la absorbancia disminuye de manera constante a medida que la concentración aumenta, alcanzando un valor de 1.271 a la concentración de 20.

El Tratamiento 3 presenta una respuesta inicial peculiar con un leve aumento en la absorbancia a baja concentración. Sin embargo, la tendencia general es una disminución de la absorbancia con el aumento de la concentración, similar a lo observado en los otros tratamientos. La magnitud de la disminución total de la absorbancia en el Tratamiento 3 es considerable, sugiriendo un efecto marcado de la concentración en la propiedad medida por la absorbancia.

Tabla 22. Concentración vs inhibición actividad antioxidante T3

Con.	Inhibición de la actividad antioxidante
0	0
2	2,8526971
5	5,49792531
8	10,0622407
10	13,7966805

Gráfico 16. Conc. Vs inhibición de la actividad antioxidante



El Gráfico 16 y la Tabla 22 muestran la relación entre la concentración y la inhibición de la actividad antioxidante para el Tratamiento 3.

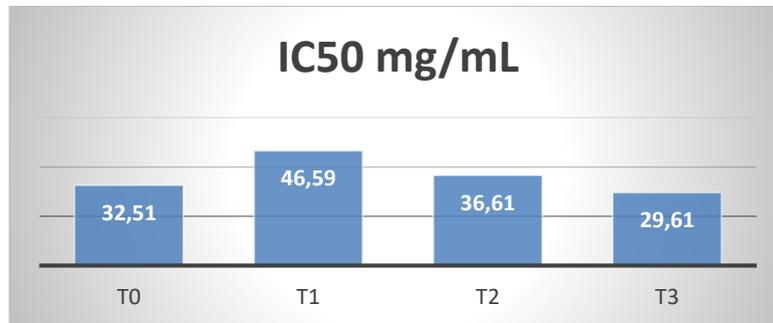
Se observa un aumento significativo en la inhibición con el incremento de la concentración. La relación lineal es fuerte, con un R^2 de 0.9806 para la línea de regresión ($y=1.7066x-1.7521$).

IC₅₀: El IC₅₀ para el Tratamiento 3 es de 30.32 mg/mL.

El Tratamiento 3 confirma una potente actividad antioxidante dependiente de la concentración. El IC₅₀ de 30.32 mg/mL indica que se requiere una concentración menor que en los Tratamientos 1 y 2 para alcanzar el 50% de inhibición, sugiriendo una mayor potencia antioxidante. La pendiente de la curva de inhibición (1.7066) también es alta, indicando una buena eficiencia en el aumento de la actividad antioxidante con la concentración. Este valor de IC₅₀ sugiere que el Tratamiento 3 podría ser el más efectivo para potenciar la actividad antioxidante entre los tratamientos analizados hasta el momento.

Gráfico 17

El gráfico 17 representan los valores de IC_{50} (mg/mL) para los diferentes tratamientos evaluados.



Los resultados muestran que el tratamiento T0 tiene un IC_{50} de 32,51 mg/mL, mientras que el tratamiento T1 registra el valor más alto con 46,59 mg/mL. Por otro lado, el tratamiento T2 presenta un IC_{50} de 36,61 mg/mL, y el tratamiento T3 muestra el valor más bajo con 29,61 mg/mL. Estos datos sugieren variaciones significativas en la eficacia de los tratamientos analizados.

6. Conclusiones

El cultivo *in vitro* de *Matricaria chamomilla* L. ha mostrado ser una técnica efectiva para el crecimiento controlado de plántulas, aunque estas, al estar en una fase inicial de desarrollo, aún no han generado metabolitos secundarios detectables como el bisabolol o aceites esenciales. Esto indica que es necesario continuar el cultivo hasta alcanzar un estado más avanzado para evaluar plenamente su potencial.

En relación con la capacidad antioxidante, se observaron diferencias significativas en la actividad de los aceites esenciales según los tratamientos aplicados. Los tratamientos T3 (30 ppm), T0 (control) y T2 (20 ppm) presentaron los valores de IC50 más bajos, lo que indica una mayor actividad antioxidante. En contraste, el tratamiento T1 (10 ppm) mostró la menor actividad, lo que sugiere que la concentración de nanopartículas de óxido de zinc influye en la producción de compuestos bioactivos.

El cultivo *in vitro* representa un método prometedor para incrementar la producción de antioxidantes y aceites esenciales en *Matricaria Chamomilla*. Con condiciones de cultivo adecuadas y un monitoreo continuo, se espera que las plántulas en fases más avanzadas puedan generar un mayor contenido de metabolitos secundarios, aumentando así su valor como fuente de compuestos bioactivos.

7. Recomendaciones

Se recomienda continuar el cultivo hasta alcanzar etapas más avanzadas de desarrollo, implementando condiciones ambientales adecuadas que fomenten el crecimiento robusto de las plántulas. Esto permitirá una evaluación más completa del potencial de la planta para la producción de metabolitos secundarios.

Se sugiere realizar estudios adicionales que exploren diferentes concentraciones de nanopartículas de óxido de zinc y otros factores de crecimiento, para determinar las combinaciones óptimas que maximicen la actividad antioxidante de los aceites esenciales.

Es recomendable establecer un protocolo de monitoreo continuo del crecimiento y desarrollo de las plántulas, así como de la acumulación de metabolitos secundarios. Esto permitirá identificar el momento óptimo para la cosecha y el procesamiento de los aceites esenciales, aumentando así su viabilidad comercial como fuente de antioxidantes.

8. Referencias

- Acevedo, A. M. . C. M. L. . B. K. M. . C. C. Y. . R. J. A. . K. V. V. . y S. E. E. (2007). Composición y capacidad antioxidante de especies aromáticas y medicinales con alto contenido de TIMOL Y CARVACROL. *Scientia Et Technica, XIII(33)*, 125-128.
- Akram, W., Ahmed, S., Rihan, M., Arora, S., Khalid, M., Ahmad, S., Ahmad, F., Haque, S., & Vashishth, R. (2024). An updated comprehensive review of the therapeutic properties of Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *International Journal of Food Properties, 27(1)*, 133-164.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2293661>
- Alarcón, F. . B. R. . F. N. . G. P. . & R. S. (2023). *Aceites Esenciales. In Organización de Estados Iberoamericanos (Ed.)*. 140-145.
- Alvis, A., Martínez, W., & Arrazola, G. (2012). Obtención de Extractos Hidro-Alcohólicos de Limoncillo (*Cymbopogon citratus*) como Antioxidante Natural. *Información tecnológica, 23(2)*, 3-10. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642012000200002>
- Ardisana, E. . P. S. . L. D. . M. B. . M. R. . T. A. . M. M. . Z. E. . & F. C. (2021). *Biotecnología Vegetal. Ediciones UTM- Universidad Técnica de Manabí*.
- Aziz, Z. A. A., Ahmad, A., Setapar, S. H. M., Karakucuk, A., Azim, M. M., Lokhat, D., Rafatullah, M., Ganash, M., Kamal, M. A., & Ashraf, G. M. (2018). Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. *Current Drug Metabolism, 19(13)*, 1100-1110.
<https://doi.org/10.2174/1389200219666180723144850>
- Benavides Calvache, O. L. . V. J. M. . y M. T. D. (2010). CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL PRESENTE EN LAS HOJAS DE *Phyla nodiflora* (L.) Greene (OROZUL). *Universidad y Salud, , 57-64*.
- Benavides, K., Sánchez-Kopper, A., Jiménez-Quesada, K., Perez, R., & Garro-Monge, G. (2023). Evaluation of Salicylic Acid and Methyl Jasmonate as Elicitors in *Phyllanthus acuminatus* Hairy Roots by Non-Targeted Analysis Using High-Resolution Mass Spectrometry. *Molecules, 29(1)*, 80.
<https://doi.org/10.3390/molecules29010080>
- Cáceres, M. B. . R. V. F. . & D. V. G. E. (2021). QUALITY STUDY OF OREGANO, THYME

- AND ROSEMARY ESSENTIAL OILS CULTIVATED IN SEVERINO (EL CARMEN, JUJUY) COLLECTED DURING WINTER AND SPRING. *SPRING. Revista Científica FCA*, , 7-18.
- Camacho-Escobar, M. A., Ramos-Ramos, D. A., Ávila-Serrano, N. Y., Sánchez-Bernal, E. I., & López-Garrido, S. J. (2020). The physico-chemical plant defenses and its effect on ruminant feeding. *Terra Latinoamericana*, *38*(2), 443-453.
<https://doi.org/10.28940/TERRA.V38I2.629>
- Campo-Banguero, L. M., & Ramírez-Navas, J. S. (2021). Capacidad antioxidante en helados y derivados lácteos. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, *8*(1), 23-41. <https://doi.org/10.23850/24220582.3982>
- Cartaya Ríos, S. J., Anchundia Betancuort, C. E., & Mantuano Eduarte, R. A. (2016). DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA POTENCIAL DE LA ESPECIE CUNICULUS PACA (Guanta) EN EL OCCIDENTE DE ECUADOR. *La Granja*, *24*(2).
<https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.09>
- Catani, M. V., Rinaldi, F., Tullio, V., Gasperi, V., & Savini, I. (2021). Comparative Analysis of Phenolic Composition of Six Commercially Available Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) Extracts: Potential Biological Implications. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(19), 10601. <https://doi.org/10.3390/ijms221910601>
- Chauhan, R., Singh, S., Kumar, V., Kumar, A., Kumari, A., Rathore, S., Kumar, R., & Singh, S. (2021). A Comprehensive Review on Biology, Genetic Improvement, Agro and Process Technology of German Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Plants*, *11*(1), 29. <https://doi.org/10.3390/plants11010029>
- Coral Moreno, J. Y., Zapata Rogel, C. Y., Quinatoa Lozada, E. F., Chusin Millingalli, V. R., & Macias Pettao, R. K. (2025). Propagación in vitro de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en diferentes concentraciones de inositol, mediante explantes apicales. *Revista Científica Kosmos*, *4*(1), 145-159.
<https://doi.org/10.62943/rck.v4n1.2025.170>
- Cortés, J. E. R. . M. J. C. L. . G. M. Á. V. . y C. Y. A. (2016). EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ANÁLOGOS DEL BHT. JÓVENES EN LA CIENCIA, . *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 10-21.
- Díaz-Cama, A. E., Bautista-Espinosa, M. V., Quispe-Barrantes, P., & Flores-Arizaca, J. M. (2023). Aceites Esenciales de Zingiber Officinale: extracción por pulsos de vapor en cascada. *Revista Biodiversidad Amazónica*, *2*(2), 38-53.

<https://doi.org/10.55873/rba.v2i2.230>

- Durand, A. (2021). Aplicación del diseño experimental de Doehlert en la optimización de variables experimentales en mezclas de manzanilla común (*Matricaria chamomilla* L.), hojas de moringa (*Moringa oleífera*) y stevia (*Stevia rebaudiana*) para maximizar su aceptabilidad y capacidad antioxidante .
<https://repositorio.unsa.edu.pe/server/api/core/bitstreams/5424f9e5-9217-4557-96f8-3c3a72420cbd/content>.
- El Mihaoui, A., Esteves da Silva, J. C. G., Charfi, S., Candela Castillo, M. E., Lamarti, A., & Arnao, M. B. (2022). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): A Review of Ethnomedicinal Use, Phytochemistry and Pharmacological Uses. *Life*, 12(4), 479.
<https://doi.org/10.3390/life12040479>
- Gupta, V., Mittal, P., Bansal, P., Khokra, S. L., & Kaushik, D. (2010). PHARMACOLOGICAL POTENTIAL OF MATRICARIA RECUTITA-A REVIEW. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 12-16.
<https://doi.org/10.25004/IJPSDR.2010.020102>
- Hamed Ghavimi. (2012). Chamomile: An ancient pain remedy and a modern gout relief - A hypothesis. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(8).
<https://doi.org/10.5897/AJPP10.197>
- Jiménez Monreal, A. M. . S. M. M. . y M. T. M. M. (2012). Optimización del método captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) para evaluar actividad antioxidante en bebida de café. . *Canales de veterinaria de Murcia*, 67-78.
- Kandoudi, W., & Németh-Zámboriné, É. (2022). Stimulating secondary compound accumulation by elicitation: Is it a realistic tool in medicinal plants in vivo? *Phytochemistry Reviews*, 21(6), 2007-2025. <https://doi.org/10.1007/s11101-022-09822-3>
- Koshovyi, O., Sepp, J., Jakštas, V., Žvikas, V., Kireyev, I., Karpun, Y., Odyntsova, V., Heinämäki, J., & Raal, A. (2024). German Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) Flower Extract, Its Amino Acid Preparations and 3D-Printed Dosage Forms: Phytochemical, Pharmacological, Technological, and Molecular Docking Study. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(15), 8292.
<https://doi.org/10.3390/ijms25158292>
- Litescu, S. C., Eremia, S. A. V., Tache, A., Vasilescu, I., & Radu, G.-L. (2014). The Use of

- Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) Assays in the Assessment of Beverages' Antioxidant Properties. En *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages* (pp. 245-251). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404738-9.00025-8>
- Marcos, E. (2023). Intervención farmacéutica para mejorar la calidad de vida de las mujeres con problemas de sueño, en la etapa de la menopausia . [*Universidad Complutense de Madrid*], 30-35.
- Marković, M., Pljevljakušić, D., Kojičić, K., & Cupara, S. (2020). Ethnopharmacological application of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) in the Pirot County of Southeastern Serbia. *Arhiv za farmaciju*, 70(4), 238-247. <https://doi.org/10.5937/arhfarm2004238M>
- Melo-Guerrero, M. M., Ortiz-Jurado, D. E., & Hurtado-Benavides, A. M. (2020). Comparación de la composición y de la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos y otras técnicas verdes. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 44(172), 845-856. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.862>
- Meza Peter, L., & Dicovski Riobóo, L. M. (2020). Uso potencial de la manzanilla matricaria chamomilla l. y experiencias en Nicaragua. *Revista Ciencia y Tecnología El Higo*, 10(1), 1-8. <https://doi.org/10.5377/elhigo.v10i1.9927>
- Miettinen, I., Kuittinen, S., Paasikallio, V., Mäkinen, M., Pappinen, A., & Jänis, J. (2017). Characterization of fast pyrolysis oil from short-rotation willow by high-resolution Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Fuel*, 207, 189-197. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.06.053>
- Montalván Ruilova, M., Malagón Áviles, O., Cumbicus Torres, N., Tinitana Imaicela, F., & Gilardoni, G. (2023). Análisis químico de aceites esenciales amazónicos de una comunidad Shuar ecuatoriana. *La Granja*, 38(2), 33-45. <https://doi.org/10.17163/lgr.n38.2023.03>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Noriega, P., Ballesteros, J., De la Cruz, A., & Veloz, T. (2020). Chemical Composition and

- Preliminary Antimicrobial Activity of the Hydroxylated Sesquiterpenes in the Essential Oil from *Piper barbatum* Kunth Leaves. *Plants*, 9(2), 211.
<https://doi.org/10.3390/plants9020211>
- Orellana Carrión, M. A., Calderón Carvajal, D., & Torres, M. de L. (2024). El cultivo in vitro de plantas y su aporte en la agricultura local. *Esferas*, 5.
<https://doi.org/10.18272/esferas.v5i1.3137>
- Qasem, A., Assaggaf, H., Montesano, D., Khalil, Z., Al-Mijalli, S. H., Baaboua, A. EL, El Omari, N., El Menyiy, N., Bakrim, S., Sheikh, R. A., Alshahrani, M. M., Awadh, A. A. Al, Zengin, G., Bouyahya, A., & Mrabti, H. N. (2022). Determination of Chemical Compounds and Investigation of Biological Properties of *Matricaria chamomilla* Essential Oils, Honey, and Their Mixture. *Molecules*, 27(18), 5850.
<https://doi.org/10.3390/molecules27185850>
- Raja, A., Singh, G. P., Fadil, S. A., Elhady, S. S., Youssef, F. S., & Ashour, M. L. (2022). Prophylactic Anti-Osteoporotic Effect of *Matricaria chamomilla* L. Flower Using Steroid-Induced Osteoporosis in Rat Model and Molecular Modelling Approaches. *Antioxidants*, 11(7), 1316. <https://doi.org/10.3390/antiox11071316>
- Sah, A., Naseef, P. P., Kuruniyan, M. S., Jain, G. K., Zakir, F., & Aggarwal, G. (2022). A Comprehensive Study of Therapeutic Applications of Chamomile. *Pharmaceuticals*, 15(10), 1284. <https://doi.org/10.3390/ph15101284>
- Salamonbr, I., & Khazaei, M. (2010). Chamomile biodiversity and essential oil qualitative-quantitative
characteristics in Egyptian production and Iranian landraces. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 22(1), 59.
<https://doi.org/10.9755/ejfa.v22i1.4907>
- Sarria Villa, R. A., Gallo Corredor, J. A., & Urbano, F. (2021). Caracterización de los Aceites Esenciales del *Pinus oocarpa* por Cromatografía de Gases-Espectrometría De Masas (Gc-Ms) Aceites Esenciales by Gc-Ms. *Revista EIA*, 18(35).
<https://doi.org/10.24050/reia.v18i35.1341>
- Sepp, J., Koshovyi, O., Jakstas, V., Žvikas, V., Botsula, I., Kireyev, I., Tsemenko, K., Kukhtenko, O., Kogermann, K., Heinämäki, J., & Raal, A. (2024). Phytochemical, Technological, and Pharmacological Study on the Galenic Dry Extracts Prepared from German Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) Flowers. *Plants*, 13(3), 350.
<https://doi.org/10.3390/plants13030350>

- Shahrajabian, M. H., & Sun, W. (2023). Five Important Seeds in Traditional Medicine, and Pharmacological Benefits. *Seeds*, 2(3), 290-308.
<https://doi.org/10.3390/seeds2030022>
- Singh, O., Khanam, Z., Misra, N., & Srivastava, M. (2011). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. *Pharmacognosy Reviews*, 5(9), 82.
<https://doi.org/10.4103/0973-7847.79103>
- Sosnowski, J., Truba, M., & Vasileva, V. (2023). The Impact of Auxin and Cytokinin on the Growth and Development of Selected Crops. *Agriculture*, 13(3), 724.
<https://doi.org/10.3390/agriculture13030724>
- Tropicos. (2025). *Matricaria chamomilla* L.
- Wang, W., Wang, Y., Zou, J., Jia, Y., Wang, Y., Li, J., Wang, C., Sun, J., Guo, D., Wang, F., Wu, Z., Yang, M., Wu, L., Zhang, X., & Shi, Y. (2021). The Mechanism Action of German Chamomile (*Matricaria recutita* L.) in the Treatment of Eczema: Based on Dose–Effect Weight Coefficient Network Pharmacology. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.706836>
- Xue, S. (2023). Effects of natural antioxidants on oxidation stability and application in food. En S. Sukumaran (Ed.), *International Conference on Modern Medicine and Global Health (ICMMGH 2023)* (p. 116). SPIE. <https://doi.org/10.1117/12.3000134>

9. Anexos

Anexo 1. Datos de eficacia de tratamientos en diferentes volúmenes y diluciones

		ABSORVANCIA
CONTROL		2.928

	REPETICION NUMERO 1		
TRATAMIENTOS	MUESTRA	DPPH	ABSORVANCIA
TO	10µl	990µl	2.870
TO	20µl	980µl	2.773
TO	50µl	950µl	2.732
TO	80µl	920µl	2.660
TO	100µl	900µl	2.597
TO	200µl	800µl	2.268
T1	10µl	990µl	2.928
T1	20µl	980µl	2.928
T1	50µl	950µl	2.870
T1	80µl	920µl	2.819
T1	100µl	900µl	2.773
T1	200µl	800µl	2.543
T2	10µl	990µl	2.870
T2	20µl	980µl	2.870
T2	50µl	950µl	2.819
T2	80µl	920µl	2.732
T2	100µl	900µl	2.694
T2	200µl	800µl	2.411
T3	10µl	990µl	2.931
T3	20µl	980µl	2.822
T3	50µl	950µl	2.776
T3	80µl	920µl	2.697
T3	100µl	900µl	2.600
T3	200µl	800µl	2.244

REPETICION NUMERO 2			
TRATAMIENTOS	MUESTRA	DPPH	ABSORVANCIA
TO	10µl	990µl	2.819
TO	20µl	980µl	2.773
TO	50µl	950µl	2.773
TO	80µl	920µl	2.694
TO	100µl	900µl	2.660
TO	200µl	800µl	2.359
T1	10µl	990µl	2.928
T1	20µl	980µl	2.870
T1	50µl	950µl	2.819
T1	80µl	920µl	2.773
T1	100µl	900µl	2.694
T1	200µl	800µl	2.472
T2	10µl	990µl	2.870
T2	20µl	980µl	2.870
T2	50µl	950µl	2.819
T2	80µl	920µl	2.732
T2	100µl	900µl	2.694
T2	200µl	800µl	2.358
T3	10µl	990µl	2.931
T3	20µl	980µl	2.873
T3	50µl	950µl	2.822
T3	80µl	920µl	2.734
T3	100µl	900µl	2.662
T3	200µl	800µl	2.271