

**CALIDAD Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTOS FOLIARES DE
Calendula officinalis L. CULTIVADA CON AGUA TRATADA MAGNÉTICAMENTE**

**QUALITY AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN FOLIAR EXTRACTS OF *Calendula
officinalis* L. GROWN WITH MAGNETICALLY TREATED WATER**

Yanaisy Pérez-Quintero^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-3197-2809>

Yisel Díaz-Sarmiento² <https://orcid.org/0000-0002-3317-6817>

Yilan Fung-Boix¹ <https://orcid.org/0000-0002-1600-5231>

Ania Ochoa-Pacheco³ <https://orcid.org/0000-0002-1028-6626>

Elizabeth Isaac-Alemán¹ <https://orcid.org/0000-0001-8457-6194>

¹Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA). Universidad de Oriente, Cuba

²Facultad de Ingeniería Química y Agronomía. Universidad de Oriente. Cuba

³Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad de Oriente, Cuba

* **Autor para la correspondencia:** yanaisy.perez@uo.edu.cu

Recibido: 23 de marzo de 2024

Aprobado: 20 de junio de 2024

RESUMEN

Calendula officinalis L., es cultivada y utilizada en Cuba por sus propiedades medicinales. Su uso ha disminuido por la poca disponibilidad y problemas en su propagación. Se emplea el riego con agua tratada magnéticamente (ATM) por su efecto positivo en el crecimiento y desarrollo de especies vegetales. Se propone evaluar el efecto del riego con ATM en parámetros de calidad y capacidad antioxidante *in vitro* de extractos foliares en agua y en etanol, para su uso como fitomedicamento. Se emplearon plantas control y cultivadas con ATM en un rango de inducción de 100-150 mT. El tratamiento favoreció parámetros de calidad y no afectó la presencia cualitativa de metabolitos. Estimuló el incremento de compuestos fenólicos, flavonoides, la actividad secuestradora del radical DPPH•, poder reductor y capacidad antioxidante total, con los mayores valores para el extracto en etanol. Estos cambios favorecen la calidad de los extractos para su futuro uso como fitomedicamento.

Palabras clave: caléndula; agua tratada magnéticamente; extractos; metabolitos; capacidad antioxidante *in vitro*.

ABSTRACT

Calendula officinalis L., is cultivated and used in Cuba for its medicinal properties. Its use has decreased due to its limited availability and propagation problems. Irrigation with magnetically treated water (MTW) is used for its positive effect on the growth and development of plant species. It is proposed to evaluate the effect of irrigation with MTW on quality parameters and *in vitro* antioxidant activity of foliar extracts in water and ethanol, for use as phytomedicine. Control plants and plants grown with MTW at an induction range of 100-150 mT were used. The treatment favored quality parameters and did not affect the qualitative presence of metabolites. It stimulated the increase of phenolic compounds, flavonoids, DPPH• radical scavenging activity, reducing power and total antioxidant capacity, with the highest values for the ethanol extract. These changes favor the quality of the extracts for future use as phytomedicine.

Keywords: marigold; magnetically treated water; extracts; metabolites; antioxidant capacity *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

El uso de plantas medicinales con interés terapéutico es una alternativa que genera la reducción de efectos secundarios durante la terapia, así como la disminución en el consumo de fármacos, a partir de la sustitución de estos por productos naturales. Sin embargo, para diversas especies vegetales, su disponibilidad como materia prima para la industria de los fitomedicamentos está amenazada. La recolección excesiva para su comercialización y el uso intensivo de agrotóxicos, son algunos factores que afectan el cultivo sustentable de plantas medicinales con principios activos de interés farmacológico.⁽¹⁾ La familia *Asteraceae*, posee un gran número de plantas medicinales, muy utilizadas en la protección de la salud humana. En especial, *Calendula officinalis* L., se utiliza en la regeneración de las células epidérmicas y enfermedades relacionadas al estrés oxidativo.

En Cuba, su uso se extiende a la industria alimenticia y farmacéutica. Su cultivo es de interés para la elaboración de fitomedicamentos y es una de las especies incluidas en el "Formulario Nacional de Fitofármacos y Apifármacos".⁽²⁾ Su extracto fluido, crema al 10 % y jarabe al 10 % son las formulaciones que se elaboran a partir de sus flores, y se comercializan en el país.

Las propiedades cicatrizantes, antimicrobianas, antiinflamatorias y antivirales, permiten su indicación en el tratamiento de dermatosis, forúnculos, eczemas, procesos inflamatorios, trastornos circulatorios, inmunodepresión y herpes.⁽²⁾ Estudios etnobotánicos documentan su uso frecuente y la demanda de formulaciones derivadas de los extractos de la planta, las que no se garantizan por su poca disponibilidad.⁽³⁾ Esto demuestra el interés en su materia prima para la industria farmacéutica y la necesidad de garantizar su cultivo.

Algunos compuestos bioactivos de interés son las saponinas triterpénicas (calendulósidos A, D, F y D₂) y alcoholes triterpénicos (α y β -amirina, taraxasterol, arnidiol y faradiol); así como flavonoides (3-O-glicósidos de isoramnetina y quercetina) y ácidos fenólicos (cumárico, vainílico, cafeico, ferúlico, p-hidroxibenzoico, clorogénico y o-cumárico). Contiene de 0,2 a 0,3 % de aceites esenciales, en su mayoría conformados por terpenos.⁽⁴⁾ Las partes más utilizadas de la planta en la obtención de compuestos bioactivos son las flores y hojas, frescas o secas para la preparación de infusiones y ungüentos.

Para mejorar la disponibilidad de la caléndula, se han empleado suelos enriquecidos con compost y biofertilizantes, como algunos de los métodos convencionales de producción orgánica.⁽¹⁾ Entre los métodos no convencionales que se utilizan para mejorar las variables de crecimiento, se encuentra el riego con agua tratada magnéticamente (ATM), tecnología implementada a partir de la exposición del agua de riego a un campo magnético.⁽⁵⁾ Este tratamiento produce cambios físico-químicos y moleculares en el agua; como en los puntos de solidificación y de ebullición, en la tensión superficial, viscosidad, tasa de evaporación, constante dieléctrica e índice de refracción.⁽⁶⁾

Estas variaciones, generalmente, son pequeñas, sin embargo, los efectos biológicos son muy significativos. La implementación de esta tecnología es una alternativa agroecológica para mejorar la eficiencia del cultivo, ya que se ha demostrado que no genera contaminantes, protege el suelo y ahorra el recurso agua. También contribuye a la sustentabilidad de la producción de plantas medicinales y a aumentar en calidad los compuestos bioactivos.⁽⁷⁾

Se describen evidencias científicas de los efectos positivos de la aplicación del ATM en la farmacoergasia de las plantas medicinales. En *Origanum mejorana* (mejorana), se incrementó la concentración de sólidos totales, fenoles y flavonoides.⁽⁸⁾ En *Rosmarinus officinalis* L. (romero) el tratamiento promovió el crecimiento de la planta, el número de tricomas y el aumento en las concentraciones de metabolitos secundarios antioxidantes,⁽⁷⁾ con inducciones que oscilan entre 100-150 mT. En *Cosmos bipinnatus* (girasol morado),⁽⁹⁾ se obtuvieron resultados positivos, como aumentos en la altura y número de hojas por planta, el contenido de clorofila, la superficie foliar y el rendimiento, con inducciones entre 3,5-136 mT para el tratamiento del agua.

Sin embargo, no se han encontrado reportes en la literatura acerca del cultivo de *Calendula officinalis* L., cultivada con ATM con dosis de inducción de 100-150 mT y sus efectos en parámetros de calidad de los extractos foliares; lo que contribuiría a su aplicación farmacéutica.

Por todo lo anterior, el objetivo es evaluar el efecto del riego con ATM en parámetros físicos y químicos, y la capacidad antioxidante *in vitro* de extractos foliares de *Calendula officinalis* L., que justifique su futuro uso como fitomedicamento.

MATERIALES Y MÉTODOS

El cultivo se realizó de febrero a abril, en la UBPC de Plantas Medicinales “La Rosita”, ubicada en Sabana Ingenio, Santiago de Cuba (latitud 20,0557° o 20° 3' 21" norte y -75,786° o 75° 47' 10" longitud oeste). Los experimentos se desarrollaron en el Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA), Santiago de Cuba.

Se emplearon 200 plantas de *Calendula officinalis* L., y se escogieron al azar ejemplares de las hojas. La especie se registró con el código de identificación BSC 218238, en el Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO) de Santiago de Cuba, Cuba. Los reactivos y disolventes empleados fueron de calidad “puros” o “analíticos” y provienen de las firmas Merck y Sigma-Aldrich.

Descripción del tratamiento magnético al agua de riego

Se emplearon dos tratamientos:

Tratamiento I (control): plantas cultivadas con agua sin tratamiento magnético.

Tratamiento II: plantas cultivadas con ATM.

Para el tratamiento magnético, se utilizó un dispositivo magnético exterior de imanes permanentes, diseñado, construido y caracterizado en el CNEA. El tiempo de exposición (30 min) y la inducción magnética de 100-150 mT, medido con un gaussímetro (error relativo de 0,01 G).⁽¹⁰⁾ Esta se seleccionó a partir de estudios previos, que demuestran los efectos positivos de esta dosis en el cultivo de plantas medicinales, en especial en la mejora en los procesos de absorción del agua y la síntesis de polifenoles.⁽¹¹⁾

Preparación de extractos de la hoja de *Calendula officinalis* L.

Las hojas recolectadas de la especie vegetal cultivada con agua, sin y con tratamiento magnético, fueron secadas a 40 °C en estufa (MWL- 200, VEB, Alemania), por tres días, y empleadas para producir los extractos.

Extractos en etanol de la hoja sin y con tratamiento magnético

El polvo seco de hojas (10 g), se mezcló con 100 mL de etanol al 96 %. La mezcla se mantuvo tapada y bajo agitación constante, con la ayuda de un agitador orbital (Wise Shake, Korea) durante 24 h.⁽¹²⁾

Extractos en agua de la hoja sin y con tratamiento magnético

Se obtuvieron por la decocción de 10 g de polvo seco de hojas, en 100 mL de agua destilada, y se prepararon previamente a su uso.⁽¹³⁾

Los extractos se centrifugaron en una centrífuga refrigerada (SIGMA 3- 16 kL, Alemania) y se dejaron en la oscuridad durante 72 h. Se conservaron en refrigeración en frascos de vidrio de color ámbar de 250 mL.

Parámetros físicos de los extractos de la hoja de *Calendula officinalis* L.

Características organolépticas

Se determinaron las características organolépticas: color, olor y sabor, a partir de pruebas sensoriales descriptivas, según la Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) 312.⁽¹⁴⁾

Rendimiento de los extractos de la hoja

El rendimiento porcentual de los extractos,⁽¹⁵⁾ se calculó a partir de la ecuación (1):

$$\% R = \frac{w_i - w_f}{w_i} \cdot 100 \quad (1)$$

donde:

% R: porcentaje de rendimiento.

w_i : peso inicial del material vegetal a extraer.

w_f : peso obtenido después de la extracción.

Determinación del porcentaje de sólidos totales

Se determinaron según la NRSP 312.⁽¹⁴⁾ Los sólidos totales se calcularon a través de la ecuación (2). El ensayo se realizó por triplicado.

$$St = (Pr - P) / V \cdot 100 \quad (2)$$

donde:

Pr: masa de la cápsula más el residuo (g).

P: masa de la cápsula vacía (g).

V: volumen de la porción de ensayo (mL).

100: factor matemático.

Determinación del pH

Se determinó según se establece en la NRSP 312.⁽¹⁴⁾

Se utilizó un medidor multiparamétrico (Mettler Toledo, China). El ensayo se realizó por triplicado.

Parámetros químicos de los extractos de la hoja de *Calendula officinalis* L.

Composición química cualitativa

La determinación de la composición química cualitativa se realizó en el laboratorio del departamento de Farmacia, Universidad de Oriente; mediante la técnica del tamizaje fitoquímico.⁽¹⁶⁾

Cuantificación de fenoles

Se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu.⁽¹⁷⁾

Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 760 nm en un espectrofotómetro (1650PC: UV-visible, Shimadzu, China). Los resultados se expresaron como miligramos de ácido gálico, equivalentes por gramo de masa seca (mgAGE.g⁻¹ extractos). El ensayo se realizó por triplicado.

Cuantificación de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales se determinó mediante el ensayo colorimétrico con cloruro de aluminio III (AlCl₃).⁽¹⁸⁾ Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 425 nm, en un espectrofotómetro (1650PC: UV-visible, Shimadzu, China). Los resultados se expresaron como miligramos de quercetina equivalentes por gramo de masa seca (mgQUE.g⁻¹ extractos). El ensayo se realizó por triplicado.

Determinación de la capacidad antioxidante *in vitro* Evaluación de la actividad secuestradora del radical libre DPPH•

El radical 2,2-di-fenil-1-picrilhidracilo (DPPH•),⁽¹⁹⁾ se preparó a una concentración de 0,5 mg/mL en etanol absoluto, y como patrón la quercetina (1 mg/mL). Las muestras se incubaron en la oscuridad, a temperatura ambiente, por 30 min, y luego se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro (1650PC: UV-visible, Shimadzu, China). El experimento se realizó por triplicado. La reducción del DPPH• se calculó a través de la ecuación (3):

$$\%R = ((A_0 - A_1)/A_0) \cdot 100 \quad (3)$$

donde:

%R: porcentaje de reducción del radical DPPH•

A₀: absorbancia del blanco.

A₁: absorbancia de la muestra.

La propiedad antiradical se expresó, finalmente, en términos de concentración efectiva de extracto requerido para inhibir el radical DPPH• al 50 % (CE₅₀).

Evaluación del poder reductor del hierro (FRAP) y la capacidad antioxidante total (CAT)

Se evaluó la capacidad de los extractos para reducir el hierro férrico (Fe³⁺) a hierro ferroso (Fe²⁺) mediante el método FRAP.⁽²⁰⁾ Se utilizó como antioxidante estándar (ácido ascórbico), y se midió la absorbancia de los extractos a 700 nm. El poder reductor del hierro en los extractos en agua y etanol se calcula de acuerdo con la ecuación (4):

$$\text{Poder reductor} = \frac{\text{Abs.de FeCl}_3 - \text{Abs.de FeCl}_3 (\text{extr. o est.})}{\text{Abs.de FeCl}_3} \cdot 100 \quad (4)$$

La determinación de la capacidad antioxidante total (CAT) de los extractos en agua y en etanol, se realizó mediante el ensayo de fosfomolibdeno,⁽²¹⁾ utilizando el ácido ascórbico como patrón. Se midió la absorbancia a 695 nm, en un espectrofotómetro (1650PC: UV-visible, Shimadzu, China). Para calcular la CAT de los extractos, se utilizó una curva de calibración de ácido ascórbico. Se prepararon estándares de ácido ascórbico a concentraciones de 20, 40, 60, 80, 100 y 120 mg/L. La CAT se expresó en miligramos de equivalentes de ácido ascórbico (mg de ácido ascórbico/g de muestra seca). Los ensayos se realizaron por triplicado.

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos, se utilizó el *software* estadístico Statgraphics 15.0. Se empleó un diseño completamente aleatorizado con un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA) y la prueba de Tukey, para una probabilidad del 95 %. Los valores obtenidos se expresaron como la media ± desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros físicos de los extractos de hojas de *Calendula officinalis* L.

En la tabla 1 se recogen los parámetros físicos evaluados en los extractos, para ambos tratamientos. Los cuatro extractos, presentaron una tonalidad ámbar, con aspecto traslúcido. En el extracto en etanol, para ambos tratamientos, se observó una tonalidad más oscura con respecto a los dos extractos en agua. El olor identificado fue agradable y característico a las hojas de caléndula, presentando una ligera modificación en su aroma en el caso de los dos extractos en etanol. Esto puede deberse a que el solvente utilizado (etanol 96 %), extrae mejor los aceites esenciales y le brinda mayor intensidad a su aroma.

Tabla 1- Parámetros físicos evaluados en los extractos de las hojas

Tratamientos	Extractos en etanol		Extractos en agua	
	(Control)	(Tratado) (Control)	(Tratado)	(Tratado)
Características organolépticas	Color: ámbar oscuro Olor: característico levemente modificado Sabor: ligeramente amargo		Color: ámbar Olor: característico Sabor: ligeramente amargo	
Rendimiento del extracto (%) \pm DS	54,76 \pm 0,02 ^b	76,85 \pm 0,03 ^c	48,6 \pm 0,01 ^a	52,30 \pm 0,02 ^a
Sólidos totales (g/100 ml) \pm DS)	1,75 \pm 0,01 ^a	3,01 \pm 0,03 ^c	1,58 \pm 0,02 ^a	2,28 \pm 0,03 ^b
pH \pm DS	4,62 \pm 0,01 ^a	4,53 \pm 0,02 ^a	5,36 \pm 0,02 ^b	5,1 \pm 0,00 ^b

Leyenda: Valores medios \pm DS (Desviación estándar).

Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), para la prueba de Tukey.

Para todos los extractos, el sabor fue identificado como ligeramente amargo, lo que puede estar relacionado a la presencia de sustancias amargas. Estas pudieran ser los alcaloides metabolitos sintetizados con funciones defensivas contra herbívoros en las plantas, lo que se ratifica por el tamizaje fitoquímico mostrado en la tabla 2.

Metabolitos secundarios y aceites esenciales presentes en hojas de la caléndula, le atribuyen las propiedades aromáticas y su olor característico.⁽¹²⁾ De forma general, no se identificaron diferencias en las características organolépticas entre los extractos control y tratado, de ambos solventes.

Los extractos (en agua y etanol) de plantas tratadas, tuvieron un mejor rendimiento con respecto a sus controles. No obstante, los extractos en etanol mostraron los mayores valores en rendimiento, con respecto a los extractos en agua; con diferencias estadísticamente significativas, para una probabilidad de $p < 0,05$ (tabla 1).

En el rendimiento de los extractos vegetales influye, en gran medida, el solvente utilizado, permitiendo o no la correcta extracción de los compuestos bioactivos, teniendo en cuenta la polaridad y naturaleza de estos.⁽¹⁵⁾ En *Calendula officinalis* L., se han obtenido rendimientos superiores al 50 % utilizando el solvente etanol, siendo de los más efectivos en la extracción de metabolitos.⁽¹²⁾

El extracto en etanol de plantas cultivadas con ATM, mostró el mayor porcentaje de rendimiento (76,85 %). Este incremento pudiera ser uno de los efectos del riego con ATM. Se considera, que el tratamiento puede incrementar la concentración de metabolitos extraíbles, así como de la biomasa de las hojas, lo que favorece el proceso de extracción.⁽⁵⁾

En cuanto al porcentaje de sólidos totales, se observó un incremento de este parámetro en los extractos de las plantas tratadas para ambos solventes, con

diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con respecto a sus controles. De todos los tratamientos, el mayor porcentaje se obtuvo en el extracto en etanol de la planta tratada, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con respecto al extracto en agua de la planta tratada.

El riego con ATM favoreció la extracción de sólidos totales en los extractos, lo que pudiera relacionarse con un probable incremento en las concentraciones de compuestos bioactivos en la hoja de la caléndula, principalmente de naturaleza polar. Este resultado, permite estimar la eficacia del proceso de extracción; así como la influencia positiva del ATM en la concentración de metabolitos secundarios y en la formación de material vegetal.

Los valores de pH analizados se encontraron en el rango de 4,5-5,5, similares a los establecidos (no superior a 5,5)⁽²⁾ en Cuba, para el extracto fluido a partir de la flor seca. Los extractos en agua presentaron valores de pH superiores a los extractos en etanol, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), lo que evidencia la mayor influencia del tipo de solvente en este parámetro. El cultivo con ATM, no influyó en las características ligeramente ácidas de ambos extractos; no existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) con respecto al control.

En la literatura científica, se pueden encontrar reportes de los efectos del ATM en el incremento o decrecimiento del pH, en dependencia de las dosis de inducción empleadas y las condiciones ambientales. Para *Cosmos bipinnatus* (Asteraceae), cultivado con ATM con dosis entre 3,5-136 mT, se observó una disminución en el pH de las plantas tratadas, con respecto al control.⁽⁹⁾

Parámetros químicos de los extractos de hojas de *Calendula officinalis* L.

Composición química cualitativa

En la tabla 2 se recogen los resultados de la composición química cualitativa de los extractos en etanol y en agua para ambos tratamientos. Se

identificaron metabolitos de interés, como alcaloides, saponinas, fenoles, taninos y flavonoides; de los que existen reportes en la literatura.⁽²²⁾ Se corroboró la presencia de aceites esenciales y sustancias grasas en los extractos en etanol y en los extractos en agua, se identificaron principios amargos y astringentes.

Tabla 2- Composición química cualitativa en los extractos en etanol y en agua

Metabolitos	Ensayos	Evidencias	Extracto en etanol		Extracto en agua	
			Control	Tratado	Control	Tratado
Alcaloides	Dragendorff	Sin evidencias	-	-	-	-
	Mayer	Turbidez definida	++	++	++	++
	Wagner	Precipitado carmelita	+++	+++	+++	+++
Triterpenos y esteroides	Solkowski	Coloración amarillo-rojiza	+	+	+	+
	Lieberman-Burchard	Coloración amarilla	-	-	-	-
	Rosemheim	Sin evidencias	-	-	-	-
Saponinas	Espuma	Espuma persistente	+	+	+	+
Aceites esenciales y sustancias grasas	Sudán III	Gotas oleosas rojas	+	+	No procede	
Fenoles y Taninos	Cloruro férrico	Coloración verde intensa	+	+	+	+
Flavonoides	Shinoda	Coloración amarilla	+	+	+	+
	Álcalis	Coloración amarilla a naranja	+	+	+	+
	Ácido sulfúrico	Coloración amarilla intensa	+	+	+	+
	Rosemheim	Coloración marrón	+	+	+	+
Principios amargos y astringentes	Sabor	Sabor característico	No procede		+	+

Leyenda. (Control): plantas cultivadas sin ATM, (Tratado): plantas cultivadas con ATM, (+): evidencia positiva, (-): evidencia negativa, (++) : turbidez definida, (+++): precipitado.

Los alcaloides, son de las familias químicas más abundantes encontradas en *Calendula officinalis* L. con un 41,5 % de su composición química. Se reportan los alcaloides pirrolizidínicos de tipo platinecina, compuestos que pueden ser tóxicos, sin embargo confieren a la planta propiedades terapéuticas. Especialmente los extractos de hojas de caléndula, han sido evaluados con una citotoxicidad inferior al 10 %, y se considera seguro su uso como fuente de medicina herbal.⁽²³⁾

Las saponinas también han sido reportadas en la caléndula. Le confieren propiedades emulsionantes, expectorantes, diuréticas y tónico-venosas. Además, son de los metabolitos responsables del sabor amargo y astringente de la planta,⁽²⁴⁾ lo que coincide con las características organolépticas evaluadas en los extractos.

Los aceites esenciales y sustancias grasas han sido reportados en varias investigaciones, constituidos por α -cadinol, T-cadinol, α -cadineno, limoneno, 1,8-cineol, entre otros compuestos. Estas sustancias volátiles le confieren a la planta propiedades

aromáticas, antiséptica, hepatoprotectora, antioxidante, antiinflamatoria y cicatrizante.

La coloración verde intensa obtenida en el ensayo de cloruro férrico, para fenoles y taninos; indica la posible presencia de taninos pirocatecólicos. Estos compuestos han sido cuantificados en extractos en agua y en metanol de flores y hojas de caléndula,⁽²⁵⁾ y se les atribuye un potente efecto como secuestrador de radicales y antioxidante, despertando gran interés en la comunidad científica para la elaboración de formulaciones farmacéuticas.

Las coloraciones obtenidas en los cuatro ensayos para flavonoides, indican la posible presencia de flavonas, flavonoles, isoflavonas, flavanonas y leucoantocianidinas; compuestos que han sido reportados en flores y hojas de *Calendula officinalis* L., como es el caso de la quercetina, rutina, el calendoflavosido, calendoflasido, entre otros.⁽²²⁾

El uso del riego con ATM en la planta no modificó la presencia cualitativa de los metabolitos determinados en los extractos analizados, aunque no se puede descartar para otros que pudieran estar presentes. Se

evidenció que el uso del agua tratada magnéticamente en una inducción de 100-150 mT, no excluye o elimina la presencia de los compuestos bioactivos determinados.

Los aceites esenciales, polifenoles, flavonoides y taninos en la hoja de esta especie vegetal le confieren un efecto antioxidante,⁽⁴⁾ lo cual explica la utilidad atribuida a esta especie vegetal y sus aplicaciones en la Medicina Natural y Tradicional.

Cuantificación de fenoles y flavonoides totales

El contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en extractos de hojas de *Calendula officinalis* L. se muestran en la tabla 3.

Tabla 3- Contenido de compuestos fenólicos y flavonoides totales en extractos de la hoja

		Control	Tratado
Fenoles Totales (mg de AGE⁻¹ extractos ± DS)	Extracto en agua	1679,34 ± 0,87 ^b	2136,41 ± 0,63 ^a
	Extracto en etanol	1915,96 ± 0,04 ^b	2291,64 ± 0,05 ^a
Flavonoides Totales (mg de QUE⁻¹ extractos ± DS)	Extracto en agua	83,25 ± 2,51 ^a	87,21 ± 0,06 ^a
	Extracto en etanol	126,61 ± 1,84 ^b	263,167 ± 4,5 ^a

Leyenda: (Control): plantas cultivadas sin ATM, (Tratado): plantas cultivadas con ATM. AGE: Ácido Gálico Equivalente. QUE: Quercetina Equivalente Valores medios ± DS (Desviación estándar). Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$, para la prueba de Tukey)

Los resultados arrojaron, de forma general, que existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos, en cada uno de los extractos evaluados, con un nivel de confianza del 95 % (Tabla 3). Los extractos en etanol presentan las mayores concentraciones de fenoles y flavonoides totales con respecto al extracto en agua, lo que coincide con el rendimiento de los extractos.

La concentración de compuestos fenólicos en los extractos en agua y en etanol procedentes de plantas cultivadas con ATM, presentó los valores más altos, con un incremento del 21,3 % y 16,3 %, respectivamente. En *Origanum majorana* L., los valores superiores lo exhibió el grupo cultivado con ATM en el mismo rango de inducción magnética (100-150 mT), siendo estos hallazgos semejantes a los resultados obtenidos en esta investigación.⁽⁸⁾

Un comportamiento similar se pudo observar en el contenido de flavonoides totales. En el extracto en etanol elaborado de plantas tratadas, se cuantificó la mayor concentración de estos metabolitos (263,167 ± 4,5 mg de QUE⁻¹ extractos) coincidiendo con

investigaciones realizadas en *Triticuma estivum* L., con resultados positivos en el aumento de los fenoles totales y flavonoides,⁽²⁶⁾ en plantas regadas con ATM.

Determinación de la capacidad antioxidante *in vitro*

Evaluación de la capacidad secuestradora del radical DPPH•

En *Calendula officinalis* L. se ha estudiado el potencial antioxidante. Las inflorescencias, son de los órganos con mayor concentración de metabolitos y aceites esenciales. Sin embargo, las hojas pueden ser recolectadas durante todo el crecimiento y desarrollo y también son fuentes de compuestos antioxidantes. Proporcionan mayores volúmenes de materia vegetal para la extracción de metabolitos, siendo una alternativa en el uso de la planta para la elaboración de formulaciones farmacéuticas.

La propiedad secuestradora de extractos foliares de esta especie vegetal se muestra en la tabla 4. Los extractos se compararon con la actividad secuestradora del radical libre DPPH• de la quercetina (CE₅₀ de 2,43 µg/ml), antioxidante natural.

Los extractos evaluados fueron menos eficaces que la quercetina (99 % de pureza), al inhibir el radical DPPH• al 50 %, pues cuanto más bajo sea el CE₅₀, más eficaz es como secuestrador de radicales libres. Tanto el extracto en agua como en etanol tuvieron actividad secuestradora del radical DPPH• con valores menores a los controles, mostrando diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). El extracto en etanol de la hoja de caléndula tratada con ATM redujo el radical DPPH• (52,09 %), con la menor CE₅₀ (29,92 µg/ml); por tanto, resultó ser mejor secuestrador del radical con relación a los otros extractos analizados.

Tabla 4- Propiedad secuestradora del radical libre DPPH• de extractos de hojas

Muestras	% Reducción (\bar{x})	CE ₅₀ DPPH• (µg/ml)
Quercetina (Patrón)	75,14 ± 0,01 ^a	2,43 ± 0,10 ^a
Extracto en agua (Control)	50,77 ± 0,02 ^b	51,91 ± 0,77 ^c
Extracto en agua (Tratado)	51,80 ± 0,06 ^b	45,34 ± 0,93 ^d
Extracto en etanol (Control)	48,81 ± 0,03 ^b	45,84 ± 0,09 ^d
Extracto en etanol (Tratado)	52,09 ± 0,01 ^b	29,92 ± 0,05 ^b

Leyenda: (Control): plantas cultivadas sin ATM, (Tratado): plantas cultivadas con ATM. CE₅₀: Concentración efectiva de extracto requerido para inhibir el radical DPPH• al 50 %. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$, para la prueba de Tukey).

Las marcadas diferencias de las CE_{50} entre el extracto en etanol y en agua para las plantas cultivadas con ATM, podrían deberse al mayor contenido de compuestos fenólicos presentes en el extracto en etanol, lo que repercute en su porcentaje de reducción del radical DPPH•. Además, se debe tener en cuenta que el ensayo con este radical tiene la limitación de ser aplicable solo a antioxidantes hidrófobos; los que estarían presentes principalmente en el extracto en etanol, debido a su naturaleza de mediana polaridad.⁽²⁷⁾

Existen reportes sobre la propiedad antioxidante de compuestos fenólicos que contiene la caléndula. Mubashar Sabir,⁽²⁸⁾ identificó el ácido clorogénico en elevada concentración en las hojas. Evaluó la propiedad secuestradora del radical DPPH•, siendo superior en las flores ($CE_{50}= 184,16 \mu\text{g/mL}$), con respecto a las hojas ($CE_{50}= 319,7 \mu\text{g/mL}$). Sin embargo, al comparar con estos hallazgos, los extractos de las hojas de caléndula evaluados resultaron más eficaces en el secuestro del radical DPPH•. En *Anthemis gilanica* (*Asteraceae*), se estudió el efecto del tratamiento magnético en el crecimiento de la especie y la propiedad antioxidante. El tratamiento aumentó el contenido total de fenoles, flavonoides, antocianinas, y promovió la actividad de barrido del DPPH•,⁽²⁹⁾ coincidiendo con los resultados descritos en este trabajo.

Evaluación del poder reductor del hierro (FRAP) y capacidad antioxidante total (CAT)

Teniendo en cuenta el método propuesto (FRAP), los extractos presentaron valores antioxidantes como se muestra en la tabla 5, con diferencias estadísticamente significativas entre estos ($p < 0,05$), para un nivel de confianza del 95 %.

En el ensayo, el poder reductor está relacionado, generalmente, a la presencia de reductonas (principalmente polifenoles), que donan electrones, característica de la capacidad antioxidante. Se ha demostrado que el poder reductor de los compuestos bioactivos está correlacionado con el potencial antioxidante.⁽²⁰⁾

Los extractos en agua presentaron menor poder reductor y capacidad antioxidante total con respecto a los extractos en etanol. En los extractos de plantas cultivadas con ATM, se observó un incremento de estas propiedades, coincidiendo con el ensayo de secuestro del radical DPPH•.

La capacidad antioxidante de los cuatro extractos estuvo en el rango de 0,05-0,30 mMEq. ácido ascórbico, y el extracto en etanol tratado presentó la mayor capacidad antioxidante total. En extractos de

flores y hojas de *Calendula officinalis* L. se ha reportado la capacidad antioxidante, revelando una relación positiva entre el contenido de compuestos fenólicos, el poder reductor y la actividad antioxidante; lo que resalta su potencial como antioxidante natural.

Tabla 5- Poder reductor y capacidad antioxidante total de extractos de la hoja

	Control	Tratado	
Poder Reductor (mMEq. Ácido Ascórbico± DS)	Extracto en agua	1,86 ±0,25 ^c	3,06 ±1,67 ^b
	Extracto en etanol	3,52 ±0,16 ^b	4,82 ±0,01 ^a
Capacidad Antioxidante Total (mMEq. Ácido Ascórbico± DS)	Extracto en agua	0,06 ±0,62 ^c	0,11 ±0,06 ^b
	Extracto en etanol	0,13 ±0,05 ^b	0,30 ±0,05 ^a

Leyenda: mMEq. Ácido ascórbico ± DS: *Equivalentes de ácido ascórbico (mM) por mL de extracto. Letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$, para la prueba de Tukey).

Las diferencias entre los grupos control y tratado, en cuanto a su eficacia en el secuestro del radical DPPH••, poder reductor y capacidad antioxidante total, podrían relacionarse a variaciones en la composición química del extracto. Para ambos métodos, los extractos de *Calendula officinalis* L. con mayor contenido fenoles y flavonoides, fueron más eficientes como antioxidantes, destacando el extracto en etanol tratado con ATM.

En los extractos tratados, se observó el incremento del contenido de fenoles y flavonoides totales, sustancias antioxidantes que están correlacionadas al potencial antioxidante de las plantas. Estos resultados sugieren que el cultivo con ATM pudiera favorecer el contenido de fenoles y flavonoides y con ello la capacidad antioxidante de la planta.

La exposición al ATM se expresa como estrés abiótico, que puede influir en las funciones biológicas de las plantas, como el transporte de iones, la síntesis de metabolitos secundarios y enzimas. Aún no existen reportes de un mecanismo de acción que logre explicar detalladamente, cómo el agua es transformada por el campo magnético.

En la literatura, se describen mecanismos que intentan detallar este fenómeno: la inducción magnética, el efecto magneto-mecánico y la formación de pares radicales.⁽¹¹⁾ Estos posibles mecanismos de acción se relacionan con las propiedades magnéticas de átomos y moléculas que pueden ejercer efectos en los sistemas biológicos.

Las plantas, al absorber el agua con características físico-químicas diferentes, pueden sufrir perturbaciones (estrés), que generan cambios a nivel molecular, en las concentraciones iónicas y la regulación del transporte por ósmosis, y por tanto, provocan modificaciones en su fisiología. Por ejemplo, el aumento de la concentración de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), y mayor capacidad antioxidante.⁽³⁰⁾

La tendencia a la mejora de la capacidad antioxidante del extracto en etanol tratado con respecto al control, puede estar relacionado con el incremento del contenido de los fenoles y flavonoides totales, en las plantas cultivadas con ATM, y la posible potenciación de los efectos terapéuticos

CONCLUSIONES

El agua de riego tratada magnéticamente con inducción magnética entre 100-150 mT, favoreció el rendimiento y sólidos totales de los extractos; así como parámetros de calidad químicos y la capacidad antioxidante *in vitro* de los extractos en etanol y en agua de la hoja de *Calendula officinalis* L. La utilización del ATM en los sistemas de riego es una alternativa que permite mejorar parámetros de calidad y actividad biológica en los extractos de la hoja de *Calendula officinalis* L., lo que contribuye a la mejora de la especie, como una prometedora fuente natural de posibles antioxidantes, en la prevención de enfermedades mediadas por radicales libres.

AGRADECIMIENTOS

A la UBPC de Plantas Medicinales "La Rosita", a su director Fernando Oncor; a Guillermo Asanza Kindelán; la Lic. Cynthia Ramos Frómeta y Dr. Javier Almenares Rosales del CNEA, por su apoyo en la realización de los ensayos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACOSTA DE LA LUZ, L. *et al.* "Instructivo técnico de *Calendula officinalis* L." *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 2001, **6**(1), 23-27. ISSN 1028-4796.
2. CRUZ ARZOLA, D. *Formulario Nacional de Fitofármacos y Apifármacos*. Segunda Edición La Habana: Editorial Ciencias Médicas, 2017. 219, p. ISBN 978-959-313-296-1.
3. YERO, R. B. *et al.* "Usos etnofarmacológicos de plantas en el tratamiento de enfermedades crónicas no

transmisibles en Santiago de Cuba". *Orange Journal*, 2020, **2**(4), 4-22. <https://doi.org/10.46502/issn.2710-995X/2020.4.01>

4. JODH, R. *et al.* "A Review on *Calendula officinalis*". *Research Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2023, **15**(1), 5-10. <https://doi.org/10.52711/0975-4385.2023.00002>
5. BOIX, Y. F. *et al.* "Magnetically Treated Water in *Phaseolus vulgaris* L.: An Alternative to Develop Organic Farming in Cuba". *Plants*, 2023, **12**(2), 340. <https://doi.org/10.3390/plants12020340>
6. HASAANI, A. S. *et al.* "Experimental study of the interaction of magnetic fields with flowing water". *International Journal of Basic and Applied Science*, 2015, **3**(3), 1-8. <https://www.researchgate.net/publication/299498337>
7. BOIX, Y. F. *et al.* "Magnetically treated water on phytochemical compounds of *Rosmarinus officinalis* L." *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 2018, **3**(1), 239067.
8. RODRÍGUEZ FERREIRO, A. O. *et al.* "Parámetros físicos, físicos-químicos y químicos de extractos de *Origanum majorana* L. cultivado utilizando agua magnetizada". *Revista Cubana de Química*, 2018, **30**(3), 454-469. ISSN: 2224-5421.
9. ALKASSAB, A. *et al.* "Response of Mexican aster *Cosmos bipinnatus* and field mustard *Sinapis arvensis* to irrigation with magnetically treated water (MTW)". *Biological agriculture*, 2014, **30**(1), 62-72. <https://doi.org/10.1080/01448765.2013.849208>
10. GILART, F. *et al.* "High flow capacity devices for anti-scale magnetic treatment of water". *Chemical Engineering Processing: Process Intensification*, 2013, **70**, 211-216. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2013.04.001>
11. DOBRÁNSZKI, J. "From mystery to reality: Magnetized water to tackle the challenges of climate change and for cleaner agricultural production". *Journal of Cleaner Production*, 2023, **425**(1), 139077. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.139077>
12. LÓPEZ VALLEJOS, M. J. *et al.* "Caracterización fitoquímica de extractos de *Caléndula officinalis*". *Revista ION*, 2023, **36**(1), 91-99. <https://doi.org/10.18273/revion.v36n1-2023007>
13. HARBORNE, A. *Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Third Edition: Springer science & business media, 1998. 1-26 p. ISBN 0-412-5270-2 19.
14. MINSAP. *Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) 312. Extractos fluidos y Tinturas. Métodos de ensayos*. In., 1991.

15. BENÍTEZ BENÍTEZ, R. *et al.* “Obtención y rendimiento del extracto etanólico de dos plantas medicinales”. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 2019, **15**(1), 31-40. <https://doi.org/10.18359/rfcb.3597>
16. MARTÍNEZ, M. M. *et al.* *Farmacognosia y Química de los Productos Naturales*. Segunda Edición La Habana: Editorial Félix Varela, 2001. ISBN 978-959-07-1794-9.
17. MUÑOZ JÁUREGUI, A. M. *et al.* “Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales”. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 2014, **80**(4), 287-297. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v80n4/a08v80n4.pdf>
18. ASTUTIK, L.; Fitri Yanti, E.. “The Effect of Pumpkin Fruit Ripeness (*Cucurbita moschata*. D) on Total Flavonoid Levels and Antioxidant Activity”. *Biology, Medicine...*, 2023, **12**(1), 17-23. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2023.121.17-23>
19. BRAND WILLIAMS, W. *et al.* “Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity”. *Food Science and Technology*, 1995, **28**(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
20. MOUNA, D. *et al.* “FTIR analysis and study of some physicochemical parameters and antioxidant activity of *Opuntia ficus indica* seed oil from Tebessa region, Algeria”. *Notulae Scientia Biologicae*, 2023, **15**(1), 11345-11345. <https://doi.org/10.15835/nsb151113475>
21. ELSHERIF, K. M. *et al.* “Phytochemical Screening, Antioxidant Capacity Measurement, and Mineral Content Determination of *Thymus vulgaris* L. Extracts”. *Walisongo Journal of Chemistry*, 2023, **6**(2), 168-180. <https://doi.org/10.14421/biomedich.2023.121.17-23>
22. DHINGRA, G. *et al.* “Review on phytochemical constituents and pharmacological activities of plant *Calendula officinalis* Linn”. *Biological Sciences*, 2022, **2**(2), 216-228. <https://doi.org/10.55006/biolsciences.2022.2205>
23. ALI, S. “Phytochemical, antioxidant and cytotoxicity studies of *Calendula officinalis* (Pot marigold) leaves extracts”. *Oxidation Communications*, 2017, **40**(1-I), 120-130.
24. SINGH, B. *et al.* “Saponins in pulses and their health promoting activities: A review”. *Food Chemistry*, 2017, **233**, 540-549. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.161>
25. RIGANE, G. *et al.* “Investigation into the biological activities and chemical composition of *Calendula officinalis* L. growing in Tunisia”. *International Food Research Journal*, 2013, **20**(6), 3001. <https://www.proquest.com/scholarly-journals/investigation-into-biological-activities-chemical/docview/1491100601/se-2>
26. HOZAYN, M. *et al.* “Magnetic water application for improving wheat (*Triticum aestivum* L.) crop production”. *Agriculture Biology Journal of North America*, 2010, **1**(4), 677-682. ISSN: 2151-7525 <http://scihub.org/ABJNA/PDF/2010/4/1-4-677-682.pdf>
27. SIRIVIBULKOVIT, K. *et al.* “Based DPPH• assay for antioxidant activity analysis”. *J Analytical sciences*, 2018, **34**(7), 795-800. <https://doi.org/10.2116/analsci.18P014>
28. MUBASHAR SABIR, S. *et al.* “Phenolic profile, antioxidant activities and genotoxic evaluations of *Calendula officinalis*”. *Journal of Food Biochemistry*, 2015, **39**(3), 316-324. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12132>
29. NASIRI, M. *et al.* “Impact of static magnetic field on the callogenesis, phytochemical production and antioxidant enzymes in *Anthemis gilanic*”. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2022, **69**(4), 77. <https://doi.org/10.1134/S1021443722040124>
30. ALGHABARI, F. “Evaluation of the Effects of Magnetically Treated Saline Water on Physiological, Antioxidant and Agronomic Traits of Jojoba” *Sustainability*, 2021, **13**(23), 13199. <https://doi.org/10.1007/s10811-023-02994-1>

DECLARACIÓN CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Yanaisy Pérez Quintero: concepción; experimentos; análisis estadísticos; interpretación y discusión de los resultados. Escritura del manuscrito.

Yisel Díaz Sarmiento: realización de experimentos.

Yilan Fung Boix: concepción; revisión y edición del manuscrito.

Ochoa Pacheco: metodología; revisión y edición del manuscrito.

Elizabeth Isaac Alemán: revisión y edición del manuscrito.