UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO DIVISIÓN DE INGENIERÍA



"Caracterización fisicoquímica y funcional de sangre de drago (*Jatropha dioica*) de diferentes localidades"

Por: EVER TRINIDAD ASTORGA ARZOLA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México Diciembre 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO DIVISIÓN DE INGENIERÍA



"Caracterización fisicoquímica y funcional de sangre de drago (*Jatropha dioica*) de diferentes localidades"

Por: EVER TRINIDAD ASTORGA ARZOLA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

DR. JULIO CÉSAR TAFOLLA ARELLANO Asesor Principal UAAAN DR. ROMEO ROJAS MOLINA

Asesor Principal Externo

Saltillo, Coahuila, México Diciembre 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO DIVISIÓN DE INGENIERÍA

"Caracterización fisicoquímica y funcional de sangre de drago (*Jatropha dioica*) de diferentes localidades"

Por:

EVER TRINIDAD ASTORGA ARZOLA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

La cual fue revisada y aprobada por:

EL COMITÉ DE ASESORÍA

DR. JULIO CÉSAR

TAFOLLA ARELLANO

Asesor Principal

DR ROMEO ROJAS

MOLINA

Asesor Principal Externo

Q.F.B. MARÍA DEL CARMEN

JULIA GARCÍA

DR. GUILLERMO CRISTIAN

GUADALUPE MARTÍNEZ ÁVILA

Asesor

M.¢. SERGIO SÁNCHEZ MARTÍNEZ

Coordinador de la División de Ingeniería

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, diciembre 2021

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a **Dios** por haberme dado salud, oportunidad y fortaleza para poder llevar a cabo todo este proceso, al igual que por haber cuidado de mi familia cuando me encontraba lejos de casa. Así mismo a mi familia ya que sin ellos nada de esto sería posible, siempre me dieron fuerzas para seguir avanzando en los momentos más difíciles ya que con una sola palabra me otorgaban confianza y paz. Me gustaría agradecer todos mis amigos que siempre estuvieron para lo que se me necesitara, siempre dándome toda la confianza y apoyo necesario, llenado todos estos años de grandes recuerdos que siempre estarán en mi memoria.

Al **Dr. JULIO CESAR TAFOLLA ARELLANO** por todo su apoyo para lograr concluir este trabajo, ya que durante todo el trayecto me brindo su confianza y me alentó a hacer bien las cosas, gracias por su apoyo incondicional. Excelente consejero, sin embargo, más que nada un enorme amigo.

Al **Dr. Romeo ROJAS** por otorgarme la asesoría y la ayuda, que en cada instante estuvo allí para apoyarme, además de brindarme las instalaciones para lograr hacer este análisis.

A la **Q.F.B. MARÍA DEL CARMEN JULIA GARCÍA** por toda la asesoría durante el transcurso de mis estudios en la universidad y toda la ayuda brindada al momento de realizar este trabajo.

Al **Dr. GUILLERMO CRISTIAN GUADALUPE MARTÍNEZ ÁVILA** por aportarnos de su entendimiento para realizarlo de la mejor manera este trabajo y estar una vez que lo requerimos le agradezco todo su apoyo.

A mi **Alma Terra Mater**, la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, al mismo tiempo al Departamento de Ciencias Básicas, por todos los conocimientos que adquirí estando en sus instalaciones. Agradezco la formación profesional que me brindaron durante todos estos años.

Al FONDO SECTORIAL PARA LA INVESTIGACIÓN, EL DESARROLLO Y LA INNOVACIÓN TECNOLÓGICA FORESTAL CONACYT-CONAFOR por la beca tesis asignada del proyecto B-S-65769 "Estandarización de proceso de extracción de aceites esenciales de especies aromáticas: diseño y construcción de equipo microindustrial".

A todos los compañeros del **LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR**, por siempre trabajar en conjunto, darnos apoyo en todo, pero más que nada por su amistad.

A todos mis profesores que siempre se esforzaron para poder brindarme las enseñanzas correctas a lo largo de la carrea, lo cual es parte fundamental para poder tener una formación de calidad.

DEDICATORIA

A mis padres **EVER ASTORGA DUARTE** y **ROSA ARZOLA LUNA** por apoyarme en todo momento, por ser unos excelentes padres, por brindarme todo lo necesario para realizar mis sueños, siempre han estado en las buenas y en las malas y lo único que les puedo decir es que le doy gracias a Dios que me hayan tocado ustedes como mis padres.

A **SOFÍA LAVREDA** por estar conmigo durante todo el trayecto, dándome apoyo en clases al igual que apoyo moral, en verdad infinitas gracias, sé que siempre podré contar contigo.

A mis dos hermanas **EVELYN ASTORGA** y **DANIELA ASTORGA**, por todas la buenas vibras que siempre me han dado y todos los lindos mementos que hemos pasado juntos.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	IV
DEDICATORIA	VI
ÍNDICE	VII
ÍNDICE DE CUADROS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	X
RESUMEN	XI
1. INTRODUCCIÓN	12
1.2 Objetivo General	13
1.3 Objetivos Específicos	13
2. REVISIÓN DE LITERATURA	14
2.1 Generalidades de Sangre de Drago	14
2.1.1 Antecedentes de la planta	14
2.1.2 Taxonomía de la planta	14
2.1.3 Descripción morfológica de la planta	14
2.1.4 Germinación	15
2.1.5 Características del fruto	15
2.1.6 Propiedades fitoquímicas	15
2.2 Hábitat y distribución	16
2.3 Usos de sangre de drago	16
2.4 Análisis químico proximal	17
2.4.1 Humedad	17
2.4.2 Cenizas	17
2.4.3 Extracto etéreo	18
2.4.4 Proteína cruda	18
2.4.5 Fibra cruda	18
2.4.6 Extracto libre de nitrógeno (ELN)	18
2.5 Propiedades antioxidantes	18
2.5.1 Métodos empleados en la determinación de actividad antioxidante	19
2.5.1.1 Determinación de inhibición de radicales (ABTS*+)	20
2.5.1.2 Capacidad de eliminación de radicales DPPH*	20
2.5.1.3 Determinación del poder de reducción de hierro (FRAP)	

	2.6 Análisis mediante a Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTII	R) 21
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	21
	3.1 Material vegetal	21
	3.2 Reactivos químicos	22
	3.3 Métodos para el análisis químico proximal	22
	3.3.1 Determinación de Materia Seca Total	22
	3.3.2 Determinación de Cenizas	23
	3.3.3 Determinación de Proteína Cruda	23
	3.3.4 Determinación de Extracto etéreo o grasa	24
	3.3.5 Determinación de Fibra cruda	24
	3.3.6 Determinación de Extracto libre de nitrógeno (ELN)	24
	3.4 Extracción y purificación de polifenoles	25
	3.5 Evaluación de la actividad antioxidante	25
	3.5.1 Ensayo ABTS*+	25
	3.5.2 Ensayo DPPH'	26
	3.5.3 Ensayo FRAP	27
	3.6 Análisis Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	28
	3.7 Análisis estadístico	28
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
	4.1Resultados del análisis químico proximal	29
	4.2 Rendimiento del proceso de extracción de Polifenoles	31
	4.3 Análisis de la actividad antioxidante	31
	4.3.1 Análisis de la capacidad de eliminación de radicales DPPH*	32
	4.3.2 Análisis de la capacidad de la técnica de Determinación de inhibición de	
	radicales ABTS*+	
	4.3.3 Análisis de la capacidad de la técnica de Determinación del poder de reducci de Hierro (FRAP)	
	4.4 Análisis mediante a Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (F.	
5.	CONCLUSIONES	
6.	REFERENCIAS	
7	ANEXOS	12

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Ubicación geográfica de las colectas de los 3 ejidos evaluados	22
Cuadro 2. Curva de calibración de Trolox.	25
Cuadro 3. Curva de calibración de ácido gálico.	26
Cuadro 4. Curva de calibración de ácido gálico.	27
Cuadro 5. Análisis químico proximal de Jatropha dioica	29
Cuadro 6. Rendimiento de extracción de polifenoles	31
Cuadro 7. Evaluación de actividad antioxidante	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta sangre de drago	15
Figura 2. Distribución de Jatropha dioica en México	16
Figura 3. Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de sangre de drago	37

RESUMEN

Sangre de drago (Jatropha dioica) es una planta que se encuentra en zonas áridas y semiáridas del noreste de México y al sur de Texas, EE.UU. Es un arbusto con un color moreno-rojizo, una altura aproximada a 150 cm, cuenta con un particular jugo incoloro que al exponerse con el aire obtiene un color obscuro. Su principal uso es para tratar caída del cabello y dar firmeza a los dientes "flojos", aunque llega a ser usado para tratar infecciones por bacterias e incluso de virus. Sin embargo, existen pocos estudios sobre esta planta en regiones del noreste de México, ya que se desconocen aspectos fisicoquímicos y funcionales, entre otros. El objetivo fue caracterizar fisicoquímica y funcionalmente los compuestos polifenólicos obtenidos de la planta sangre de drago (Jatropha dioica) de tres comunidades diferentes: Ejido San Jerónimo, Melchor Ocampo, Zacatecas; Ejido Estanque de León, Cuatrociénegas y Tortuga, Ramos Arizpe, Coahuila donde se realizó la colecta del material vegetal. Se realizó un análisis químico proximal de la planta y se determinó la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos. Ejido San Jerónimo obtuvo el mejor rendimiento de compuestos fenólicos con 5.125 mg/g, con esto, se realizaron las técnicas de DPPH*, FRAP y ABTS⁺⁺, donde se obtuvo una mayor actividad antioxidante en el ejido Estanque de León en las tres técnicas, con un IC $_{50}$ de 155.029 μg mL $^{-1}$ en DPPH $^{\bullet}$ y con 24.576 ± 1.015 μg mL $^{-1}$ en ABTS⁺, en FRAP a 50 μg mL⁻¹ se obtuvo un porcentaje de inhibición de 24.55±0.224; las variaciones presentes en los resultados obtenidos podrían estar asociados a la diferencia de localidad, lo que genera diferente condición ambiental y refleja la diferente composición de Jatropha dioica. El análisis mediante FTIR mostró ocho absorbancias diferentes (3250 cm⁻ ¹, 2924 cm⁻¹, 1576 cm⁻¹, 1355 cm⁻¹, 1260 cm⁻¹, 1040 cm⁻¹, 832 cm⁻¹ y 668 cm⁻¹) las cuales se asociaron a la presencia de compuestos aromáticos y alcoholes. demostrando que Jatropha dioica es una fuente potencial de compuestos, los cuales tienen una gran actividad antioxidante.

Palabras clave: Sangre de drago, análisis químico proximal, compuestos fenólicos, actividad antioxidante.

1. INTRODUCCIÓN

En México dentro de su gran cantidad de regiones podemos encontrar las zonas áridas y semiáridas, estas están presentes en el 73.7% del territorio del país (López-Álvarez *et al.*, 2019). Se estima que las zonas áridas están habitadas por más del 40% de toda la población nacional (Briones *et al.*, 2018). Estas condiciones áridas afectan tanto a las personas que viven en dichas zonas y a los organismos nativos debido a la poca humedad en regiones áridas y semiáridas. Dentro de la gran cantidad de especies vegetales en estas zonas, existen algunas con gran potencial para brindarnos productos que favorecen a la economía local, donde se emplean en la industria de la cosmética, cordelería, alimentación, medicina y curtiduría, dentro de esas especies encontramos a *Jatropha dioica* conocida también como "sangre de drago" o "sangre de grado" (Martínez-Calderas *et al.*, 2019).

La planta *J. dioica* es endémica de México, es un arbusto con una altura entre 50 cm a 150 cm y se lo otorgó el nombre común de "sangre de drago" debido a que cuenta con un jugo incoloro, pero que al exponerse con el aire se oxida a un color obscuro. Las ramas cuentan con un color rojizo-negro, sus hojas son más largas que anchas y cuenta con pequeñas flores color rosa. Tiene frutos globosos que miden de largo 1.5 cm y cuentan con una semilla en su interior (Wong-Paz *et al.*, 2010). Durante el crecimiento y desarrollo puede verse afectada por diferentes tipos de estreses tanto biótico como abióticos, debido a esto se pueden producir diferentes compuestos, estos otorgaran una defensa química a las plantas; las defensas químicas las podemos definir como acumulación de metabolitos que producen las plantas sometidas a diversos estreses donde se incluyen diferentes inductores o moléculas de señalización (Gutiérrez-Tlahque *et al.*, 2018). *J. dioica* cuenta con metabolitos secundarios que brindan actividad antimicrobiana y antioxidante, por ejemplo, polifenoles, flavonoides y terpenos, los cuales son los responsables de darle defensa a la planta para microorganismos y artrópodos (estrés biótico) (Wong-Paz *et al.*, 2010).

En esta planta se han detectado aceites esenciales a través de la prueba en papel blanco (Figueroa *et al.*, 2014). Sin embargo, existen muy pocos estudios sobre esta planta, ya que se desconocen aspectos fisicoquímicos, funcionales y biológicos; además, no se conoce el

panorama sobre la intensidad de su uso, su distribución y abundancia (Martínez-Calderas *et al.*, 2019; Wong-Paz *et al.*, 2010).

1.1 Hipótesis

La planta sangre de drago (*Jatropha dioica*), es una fuente potencial de compuestos polifenólicos con actividad antioxidante.

1.2 Objetivo General

Caracterizar fisicoquímica y funcionalmente los compuestos polifenólicos obtenidos de la planta sangre de drago (*Jatropha dioica*) de tres comunidades diferentes: Ejido San Jerónimo, Melchor Ocampo, Zacatecas; Ejido Estanque de León, Cuatrocienegas y Tortuga, Ramos Arizpe, Coahuila.

1.3 Objetivos Específicos

- 1. Realizar la caracterización proximal de la planta sangre de drago de tres diferentes comunidades: Ejido San Jerónimo, Melchor Ocampo, Zacatecas; Ejido Estanque de León, Cuatrocienegas, Coahuila y Tortuga, Ramos Arizpe, Coahuila, México.
- 2. Extraer y purificar los compuestos polifenólicos de las diferentes muestras de sangre de drago.
- 3. Determinar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos por ABTS^{•+}, DPPH•, y FRAP.
- 4. Identificar grupos funcionales mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) de los polifenoles de sangre de drago.

2. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1 Generalidades de Sangre de Drago

2.1.1 Antecedentes de la planta

En 1753 Carlos Linneo describió el género Jatropha (Pérez-Pérez et al., 2020), este

pertenece a la familia Euphorbiaceae, dentro de este género existen 175 especies, de las

cuales 45 las podemos encontrar en México y se estima que endémicas son el 77%

(Rodríguez Acosta et al., 2009). Etimológicamente Jatropha es una palabra que proviene

del griego, su significado se deriva de dos partes "iatros" = médico, la otra parte es "trophe" =

comida, todo esto debido a que las semillas, la raíz, hojas y el jugo al consumirse servían

como medicamento (Niño-García et al., 2012). Dentro del género Jatropha contamos con

Jatropha dioica, la cual es nativa de México y América Central esto indicado por estudios

moleculares (Pérez-Pérez et al., 2020). La especie Jatropha dioica cuenta con muy pocos

estudios, pero se han identificado compuestos que le otorgan una gran importancia, tales

como, diterpenos, riolosatriona, fenoles, saponinas, taninos, entre otros (Quezada Cárdenas,

2020).

2.1.2 Taxonomía de la planta

Su clasificación taxonómica es la siguiente:

Dominio: Eukarya

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Dicotiledoneae

Orden: *Euphorbiales*

Familia: *Euphorbiaceae*

Género: *Jatropha*

Especie: dioica

2.1.3 Descripción morfológica de la planta

Sangre de drago (Figura 1) es un arbusto que cuenta con tallos carnosos que tienen un color

14

moreno rojizo, en altura puede llegar a medir 1.5 m, de 2 a 4 cm son las medidas de las hojas que encuentran presentes en épocas de lluvias, estas tienen una punta redonda y están presentes de forma agrupada en los nudos, cuenta con flores que tienen un color rosa claro y suelen ser pequeñas. Contiene con una savia incolora, cuando al tener contacto con el aire obtiene un color rojizo (Pérez-Pérez *et al.*, 2020).



Figura 1. Planta sangre de drago (Medina, 2020).

2.1.4 Germinación

Nos referimos a germinación al momento donde a la semilla entra agua y termina al inicio de la elongación radical (Villamil & García, 1998). La germinación de sangre de drago se estima que dura un mes (Quezada Cárdenas, 2020).

2.1.5 Características del fruto

Tiene un fruto carnoso con forma de globo (globoso) y cuenta únicamente con una semilla la cual tiene un pericarpio sólido y denso (Pérez-Pérez *et al.*, 2020). Se ocupa de suelos rocosos, agua en cantidades moderadas y que el lugar sea soleado o semi soleado (Quezada Cárdenas, 2020).

2.1.6 Propiedades fitoquímicas

Los fitoquímicos son compuestos que mayormente no son tóxicos, suelen tener eficiencia dependiendo de su uso y no generan un impacto negativo al planeta. Se ha implementado el uso de los fitoquímicos en la industria alimentaria ya que retrasan la degradación producida por la oxidación de lípidos, la calidad de los alimentos se ve mejorada así como el valor

nutrimental y ayudan a evitar el deterioro microbiano (Wong-Paz *et al.*, 2015). Otro enfoque para el uso de fitoquímico es el área médica, ya que tienen actividad antiinflamatoria, fotoprotectora, hipoglucemiante, entre otras (Hernández *et al.*, 2015). De forma natural las plantas producen metabolitos secundarios, estos pueden ser utilizados como mecanismo natural contra artrópodos, insectos y microrganismos. Los metabolitos secundarios están distribuidos en la planta, y no necesariamente se encuentran todos en una misma parte, por ejemplo, en la raíz de *Jatropha dioica* están presentes aceites esenciales, saponinas, resina, ácido oxálico, los tallos son ricos en fenoles (Jiménez *et al.*, 2003).

2.2 Hábitat y distribución

Sangre de drago se encuentra principalmente en las zonas áridas y semiáridas, los estados donde está presente en México (Figura 2) son: Aguascalientes, Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Ciudad de México, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Veracruz y Zacatecas, también se encuentra al sur de Texas en Estados Unidos.

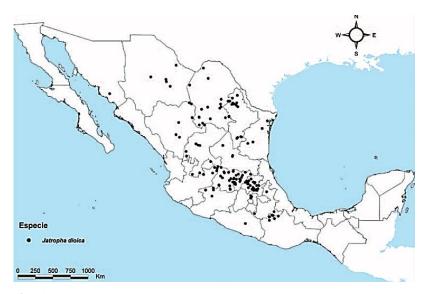


Figura 2. Distribución de *Jatropha dioica* en México (Pérez-Vazquez *et al.*, 2015)

2.3 Usos de sangre de drago

Debido a sus propiedades tiene una gran cantidad de usos, como en la industria de la cosmética, cordelería, alimentación, medicina y curtiduría (Martínez-Calderas *et al.*, 2019), gracias a esto sirve como actividad económica para algunas localidades rurales en México, sin embargo, no se conoce el impacto económico que genera, pero se sabe que si favorece a las personas de estas localidades. Un campo donde se está explorando esta planta es para la producción de biodiesel (Pérez-Pérez *et al.*, 2020).

Jatropha dioica se emplea en el área agrícola, con el fin de brindar protección a diversos cultivos, otro uso que se le da es para teñir el cabello a un tono obscuro, además, sirve para evitar la caída de este. También, se ha utilizado para dar firmeza a los dientes cuando se encuentran flojos, para esto se mastica la raíz y tallo (Quezada Cárdenas, 2020). Además, se ha reportado que puede tratar vaginitis, blenorrágica, uretritis, gastroenteritis, nefritis, estomatitis, congestión renal, conjuntivitis, amigdalitis, como antiséptico local y para la debilidad (Martínez-Calderas *et al.*, 2019), incluso se estima que puede llegar a tratar el cáncer (Gutiérrez-Tlahque *et al.*, 2019).

2.4 Análisis químico proximal

El análisis químico proximal se basa en determinar el contenido de un alimento, tal como, materia seca, humedad, ceniza, extracto etéreo, proteína cruda, fibra cruda y extracto libre de nitrógeno. Se emplea en procesos de control de calidad y en determinar si un producto cumple con los estándares establecidos para poder ser utilizado por los consumidores y productores (Ortiz Prudencio, 2006).

2.4.1 Humedad

Es la cantidad de agua que contiene un alimento. Es un factor importante cuando se habla de la descomposición de alimentos, otro punto, es la hidrólisis, la cual llega a afectar a los nutrientes presentes en los alimentos (Ortiz Prudencio, 2006).

2.4.2 Cenizas

Se conoce como cenizas a todo lo restante tras la combustión total de una muestra de un alimento. Las cenizas se forman a partir de sustancias minerales. Su forma de obtener es

someter una muestra a temperaturas entre 500 a 600 °C (Sosa Blas, 2013).

2.4.3 Extracto etéreo

El extracto etéreo en los alimentos está formado por lípidos, como, grasas neutras y ácidos grasos libres. Para la extracción del extracto etéreo es necesario un disolvente, un ejemplo es el éter etílico. Es importante señalar que también se incluyen en el extracto etéreo alcoholes, ácidos orgánicos, ceras y pigmentos (Ortiz Prudencio, 2006).

2.4.4 Proteína cruda

Cuando se determina la proteína cruda, se incluye toda la fracción nitrogenada. El método Kjeldahl es el más utilizado y consiste en digerir la muestra con el fin de reducir el contendido de nitrógeno orgánico hasta convertirlo en amoniaco, el cual se alcaliza, se destila y finalmente se titula para así obtener el porcentaje de proteína (Sosa Blas, 2013).

2.4.5 Fibra cruda

En la determinación de fibra cruda, se simula una digestión realizada por el ser humano, donde lo resultante principalmente es lignina y polisacáridos (celulosa y hemicelulosa). Para su determinación se emplea varias digestiones con ácidos y bases (Sosa Blas, 2013).

2.4.6 Extracto libre de nitrógeno (ELN)

Dentro del ELN encontramos una mezcla de diversas sustancias orgánicas, una característica es que ninguna cuenta con contenido de nitrógeno, por lo tanto, el ELN está conformado por almidones y azúcares de una muestras, también se incluye la celulosa, hemicelulosa y lignina, en algunas ocasiones puede llegar a tener vitaminas hidrosolubles (Reyes & Mendieta, 2000).

2.5 Propiedades antioxidantes

Podemos definir a los antioxidantes como aquellas sustancias que cuando se encuentren presentes en concentraciones bajas a comparación de una molécula susceptible a oxidarse

(biomolécula), postergue la oxidación del sustrato, por lo tanto, un antioxidante es una sustancia que tiene una afinidad de interacción con un radical libre mayor que toda otra molécula. Los antioxidantes al encontrar un radical libre dona un electrón, así, se verá debilitada su acción, pero no todas actúan de esta manera, (Bacallao *et al.*, 2002). Los radicales libres son aquellos que cuentan con uno o más electrones no apareados en su estructura (Coronado H. *et al.*, 2015).

Diversos estudios han comprobado que comer frutas, hierbas y verduras crea una asociación para protección de trastornos virales, anticancerígenos, bactericidas, etc., gracias a las actividades antioxidantes. Se han comprobado varias acciones biológicas de diferentes compuestos, pero se reportado que los compuestos con la más alta actividad antioxidante son los fenólicos (Wong-Paz *et al.*, 2015).

2.5.1 Métodos empleados en la determinación de actividad antioxidante

Para poder hacer una evaluación de la actividad antioxidante existen diversos métodos, estos pueden ser *in vitro* o *in vivo*, es importante señalar que la determinación de la actividad antioxidante de forma *in vitro* nos da un modelo aproximado de lo que realmente ocurre *in vivo* (Asuero & Troncoso, 2005), la diferencia entre *in vitro* e *in vivo* es que diversas condiciones pueden realizar transformaciones metabólicas, por lo tanto se verá reflejada la actividad antioxidante modificada (Fernández-Pachón *et al.*, 2006).

La actividad antioxidante no está dada únicamente por la actividad antioxidante de sus componentes; el microambiente donde está presente el compuesto también influye. Algunas interacciones de los componentes pueden llegar a producir algún efecto de inhibición (Asuero & Troncoso, 2005). Los métodos para determinar la capacidad antioxidante consisten en comprobar cómo es que un sustrato oxidable puede llegar a sufrir daño oxidativo inducido por un agente oxidante. Existen varios métodos donde la diferencia es el agente oxidante, que se empleara en el sustrato, en la medida del punto final, las técnicas instrumentales y la interacción con el medio (Fernández-Pachón *et al.*, 2006).

ABTS^{*+} y DPPH^{*} son los métodos que se utilizan con mayor frecuencia, los dos cuentan con una gran estabilidad en diversas condiciones, aunque ambas tienen diferencias. Por ejemplo,

DPPH' no necesita preparación previa, ya que, al momento de preparar el reactivo está listo para usarse, mientras que ABTS" se tiene que preparar con anterioridad (12 a 16 h), en ABTS" podemos medir la absorbancia a 414, 654, 754 y 812 nm y DPPH' solo a 517 nm (Asuero & Troncoso, 2005).

2.5.1.1 Determinación de inhibición de radicales (ABTS⁺)

El método ABTS^{*+}, consiste en la decoloración que puede ser utilizable en antioxidantes, gracias a interacciones donde se cede un hidrógeno o electrón, ya sean lipófilos o hidrófilos, aquí incluimos a antioxidantes plasmáticos, los carotenoides, flavonoides e hidroxicinamatos (Re *et al.*, 1999). El ABTS^{*+} es un radical formado por la reacción 2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico) junto a persulfato potásico, donde a condiciones ambiente y por 16 horas se deja incubando (Kuskoski *et al.*, 2004). El método ABTS^{*+} se ve como el indicado de compuestos coloreados, debido a su absorción máxima, esta se encuentra en la región infrarroja a 734 nm, ayudando a prevenir interferencias por compuestos coloreados, aunque también se puede medir a 414, 645 y 815 nm.

2.5.1.2 Capacidad de eliminación de radicales DPPH

El 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH') cuenta con un electrón de valencia que no está apareado con un átomo del puente de nitrógeno, por lo tanto, podemos decir que es un radical libre estable. El ensayo antioxidante DPPH' consiste en la eliminar el radical libre DPPH' (Sharma & Bhat, 2009). El radical DPPH' es capaz de reaccionar con compuestos antioxidantes, todo esto por un proceso donde existe una cesión por parte del agente antioxidante de un átomo de hidrógeno, en soluciones etanólicas el ensayo de DPPH' suele brindar una coloración violeta. Si la solución de DPPH' tiene contacto con una sustancia con la capacidad de donar un átomo de hidrogeno o con otro tipo de radical (R) obtenemos DPPH-H o DPPH-R que son formas reducidas de DPPH', de forma que habrá perdidas en el color lo que a su vez es pérdida de la absorbancia (Guija-Poma *et al.*, 2015; Muñoz Juárez & Gutiérrez, 2010).

2.5.1.3 Determinación del poder de reducción de hierro (FRAP)

El ensayo FRAP puede ser utilizado con el fin de determinar cuanta reducción de hierro se produce en soluciones acuosas de compuestos puros, así como en fluidos biológicos. Este método no solo se limita a extractos de alimentos y bebidas, ya que puede medir la actividad antioxidante de sustancias puras, con resultados competitivos en comparación a metodologías más complejas (Rufino *et al.*, 2006). El ensayo FRAP es un método espectrofotométrico que se fundamenta en la reducción de TPTZ (2, 4, 6-tripiridil-s-triazina), y hierro férrico (Fe⁺³) que son incoloros y pasa a tener una forma ferrosa (Fe⁺²); cuando está presente un medio ácido y antioxidantes en la solución se puede observar que esta toma un color azul verdoso. Se mide el aumento de la absorbancia a una longitud de onda que va desde 590 a 595 nm (Mesa-Vanegas *et al.*, 2015).

2.6 Análisis mediante a Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La técnica de espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) se emplea como una técnica analítica, que nos da como ventaja que ocupa poca cantidad de muestra o una mínima preparación de esta, además se le agrega que es relativamente fácil de usar, reproducible y no destructiva (Movasaghi *et al.*, 2008). Su fundamento es que debido a que absorbe una onda infrarroja conforme a los enlaces químicos y estructurales, nos proporciona información sobre moléculas y biomoléculas que están presentes en una muestra. Una parte de la radiación infrarroja se absorbe por la muestra y la otra parte se trasmite, el espectro resultante crea una huella molecular de la muestra, esto debido a que dos estructuras moleculares únicas no producirán el mismo espectro infrarrojo (Mata-Miranda *et al.*, 2017; Scientific, 2013).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal

El material fue colectado en tres diferentes ejidos (Cuadro 2). Una vez recolectadas las muestras vegetales fueron transportadas al Laboratorio e Biotecnología y Biología Molecular

en el departamento de Ciencias Básicas de la UAAAN, se secaron a 50°C/24 h en una estufa Novatech, y se redujo el tamaño de partícula en un molino Homend, HC-500 a 600 µm (malla No. 30). Se almacenaron en bolsas negras hasta los análisis.

Cuadro 1. Ubicación geográfica de las colectas de los 3 ejidos evaluados. 1

Especie	Municipio	Ejido	Latitud	Longitud	Altitud
Jatropha dioica	Melchor	San	22°39'11.95"	102°29'24.32"	2275
	Ocampo,	Jerónimo			
	Zacatecas				
Jatropha dioica	Cuatro	Estanque	25°42'35.55"	103°18'02.27"	1115
	Ciénegas,	de León			
	Coahuila				
Jatropha dioica	Ramos Arizpe,	Tortuga	25°51'39.77"	101°16'30.53"	984
	Coahuila				

3.2 Reactivos químicos

Etanol, acido gálico, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH*), presulfato de potasio ($K_2S_2O_8$), Fosfato de potasio dibásico (K_2HPO4) 1 M, Fosfato de potasio monobásico (K_2PO_4) 1 M, Ferrocianuro de potasio ($C_6N_6FeK_4$), Ácido tricloroacetico (CCl_3COOH), Cloruro férrico ($FeCl_3$), reactivos como Amberlita XAD-16, solventes metanol, H_2O destilada.

3.3 Métodos para el análisis químico proximal

3.3.1 Determinación de Materia Seca Total

Los materiales y equipos empleados fueron: una estufa a 50°C, crisol de porcelana, desecador, pinzas para crisol, espátula de acero inoxidable, mechero, balanza analítica. La muestra seca se colocó en una estufa, a 50 °C/24 h hasta peso constante. Se pasó a un

desecador por 30 min y se pesó. Se pesó 1 g de muestra y se colocó dentro del crisol. Los análisis se realizaron por triplicado. El porcentaje de materia seca total se calculó con la siguiente ecuación:

$$\%$$
 MST = $\frac{Peso\ del\ crisol + Muestra\ seca - Peso\ de\ crisol\ vac\cute{100}}{Gramos\ de\ muestra} imes 100$

% MST = % Materia Seca Total.

3.3.2 Determinación de Cenizas

Los materiales y equipos empleados fueron Mufla modelo BF518282C, crisoles de porcelana, desecador, pinzas y balanza analítica. Se pesaron los crisoles vacíos, se agregó un gramo de muestra a los crisoles, se pre incineró en un mechero cada una de las muestras contenidas en el crisol hasta que se quemó. Los crisoles se colocaron dentro de la mufla a 500°C/24 h. Posteriormente, se colocaron en un desecador por 30 minutos. Finalmente se pesó. El porcentaje de cenizas se obtiene con la siguiente ecuación:

% Ceniza =
$$\frac{Peso\ del\ crisol + ceniza - Peso\ de\ crisol\ vac\cute{10}}{Gramos\ de\ muestra} \times 100$$

3.3.3 Determinación de Proteína Cruda

Los materiales y equipos empleados fueron matraz Kjeldahl de 800 ml, aparato de digestión y destilación Kjeldahl, matraz Erlenmeyer de 500 ml, bureta, ácido sulfúrico 0.1 N, hidróxido de sodio 45%, ácido bórico 4%, indicador mixto, agua destilada, mezcla de selenio, perlas de vidrio, ácido sulfúrico concentrado siguiendo el protocolo de la AOAC, 1980. Las fórmulas para poder obtener el porcentaje de proteína son las siguientes:

$$\% \ N = \frac{(ml \ de \ H2SO4 \ gastados \ en \ muestra - ml \ de \ H2SO4 \ gastados \ en \ blanco)(normalidad \ del \ ácido)(0.014) \times 100}{gr \ de \ muestra}$$

% Proteína Cruda =
$$\%N \times 6.25$$

3.3.4 Determinación de Extracto etéreo o grasa

Los materiales y equipo empleados fueron aparato extractor tipo Soxhlet, dedales de asbesto, matraces bola fondo plano y boca esmerilada, estufa pinzas balanza analítica, 28 desecador, hexano o éter anhídrido, perlas de vidrio, papel filtro, algodón siguiendo el protocolo de la AOAC, 1980. La fórmula para determinar el extracto libre de nitrógeno es la siguiente.

%
$$EE = \frac{peso\ de\ matraz + grasa - peso\ de\ matraz\ vac\(io \times 100\)}{gr\ de\ muestra}$$

% EE = porcentaje de extracto etéreo.

3.3.5 Determinación de Fibra cruda

El material y equipo que se utiliza es un digestor Labconco, vasos de Berzelius de 600 ml, ácido sulfúrico 0.255N, hidróxido de sodio 0.313 N, agua destilada, filtros de tela, embudos de vidrio Se utilizaron 2 g de muestra desengrasada siguiendo el protocolo de la AOAC, 1980. La fórmula empleada para calcular el porcentaje de fibra cruda fue la siguiente:

%
$$FC = \frac{peso\ del\ crisol+muestra\ seca-peso\ del\ crisol+cenizas}{gr\ de\ muesyta\ desengrasada} \times 100$$

%FC = porcentaje de fibra cruda.

3.3.6 Determinación de Extracto libre de nitrógeno (ELN)

El ELN se calcula por diferencia, que corresponde a los azúcares, el almidón y gran parte del material clasificado como hemicelulosa. El ELN es necesario para realizar el cálculo total de nutrientes digestibles (TND). Se obtuvo con la siguiente fórmula: % de E.L.N. = % cenizas + <math>% extracto etéreo + % proteína cruda + % fibra cruda — 100

% de E.L.N. = porcentaje de extracto libre de nitrógeno.

3.4 Extracción y purificación de polifenoles

De acuerdo con lo reportado por Ascacio-Valdés et al. (2010), se pesaron 20 g de muestra deshidratada (50°C/24 h) y pulverizada (tamiz No. 30) Se colocaron en un vaso de precipitado con 100 mL de agua (relación 1:20). La extracción se llevó a cabo a 60 °C/30 min. Después, el extracto se filtró con papel Whatman #41 para eliminar las partículas de gran tamaño. Una columna cromatográfica con Amberlita XAD-16 fue usada para purificar el extracto; primero, se usó agua como eluyente para descartar compuestos indeseables, y después, se usó etanol como eluyente para recuperar la fracción rica en polifenoles. El solvente (EtOH) fue eliminado por evaporación y los compuestos fenólicos fueron recuperados como un polvo fino. La muestra fue guardada en recipientes ámbar y conservada en refrigeración hasta su uso.

3.5 Evaluación de la actividad antioxidante

Las pruebas de ABTS^{*+}, DPPH^{*} y FRAP se prepararon soluciones madre (1000 mg L⁻¹), posteriormente se realizaron diferentes diluciones para obtener el valor de IC₅₀ (concentración necesaria para alcanzar el 50% de la inhibición del radical) en las técnicas de DPPH^{*} y ABTS^{*+}.

3.5.1 Ensavo ABTS^{*+}

Se preparó una solución *stock* de Trolox a una concentración de 200 µg y realizar la siguiente curva de calibración.

Cuadro 2. Curva de calibración de Trolox.

	Curva de calibración de Trolox				
[µg]	μl de solución stock	μl de H ₂ O	Volumen final		
0	0	2000	2 mL		
20	200	1800	2 mL		
40	400	1600	2 mL		
60	600	1400	2 mL		
80	800	1200	2 mL		

100 1000 1000 2 mL

Se generó el catión radical ABTS^{*+} por medio de una solución acuosa de ABTS^{*+} (7 mM) con persulfato de potasio (2.45 mM); se mezclaron estos compuestos en la oscuridad a temperatura ambiente doce horas posteriores a su uso. Se ajustó la solución en etanol a 0.700±0.002 nm de absorbancia. Se añadió un volumen de muestra de 50 μL para reaccionar con 950 μL de la solución de ABTS^{*+}; después de 1 minuto de reposo de la reacción, se midió la absorbancia a 734 nm. La capacidad de inhibición se calculó por medio de la siguiente ecuación:

% de Inhibición =
$$\left[\frac{Acontrol - Amuestra}{Acontrol}\right] \times 100$$

Donde $A_{control}$ representa el valor de la absorbancia del control y Amuestra representa el valor de la absorbancia que se obtuvo de cada una de las muestras. El resultado se expresó como el valor IC_{50} .

3.5.2 Ensayo DPPH'

Se preparó una solución *stock* de ácido gálico a una concentración de 200 µg y realizó la siguiente curva de calibración.

Cuadro 3. Curva de calibración de ácido gálico.

Curva de calibración de ácido gálico				
[µg]	μl de solución stock	μl de H ₂ O	Volumen final	
0	0	1000	1 ml	
20	100	900	1 ml	
50	250	750	1 ml	
70	350	650	1 ml	
90	450	550	1 ml	
110	550	450	1 ml	
150	750	250	1 ml	

Para determinar la capacidad de eliminación de radicales libres de la muestra empleada, se

empleó una solución de radical DPPH*, se utilizó metanol como disolvente (60 mM). Se añadió un volumen de 2950 μL de radical DPPH* a cada uno de los tubos de ensayo por cada 50 μL de muestra y en su caso, de curva estándar (ácido gálico). Se incubó en oscuridad por 30 minutos. Se registró la absorbancia de cada una de las muestras a una longitud de onda de 517 nm. El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente ecuación:

% Inhibición =
$$\left[\frac{Acontrol - Amuestra}{Acontrol}\right] \times 100$$

Donde $A_{control}$ representa el valor de la absorbancia del control y Amuestra representa el valor de la absorbancia que se obtuvo de cada una de las muestras. El resultado obtenido se expresó por el valor IC_{50} .

3.5.3 Ensayo FRAP

Se preparó una solución *stock* de Trolox a una concentración de 200 µg y se realizó la siguiente curva de calibración.

Cuadro 4. Curva de calibración de ácido gálico.

Curva de calibración de ácido gálico				
[μg] μl de solución stock μl de H ₂ O Volumen				
0	0	1000	1 ml	
20	100	900	1 ml	
50	250	750	1 ml	
70	350	650	1 ml	
90	450	550	1 ml	
110	550	450	1 ml	
150	750	250	1 ml	

Un volumen de 500 μL de muestra se mezcló con 120 μL de buffer de fosfato (pH 7), que fue preparado mediante una mezcla de fosfato de potasio dibásico (61.5 mL, 1M), fosfato de potasio monobásico (38.1 mL, 1M) y se aforó la mezcla a 1000 mL. Después, se agregaron 220 μL de ferrocianuro de potasio al 1% (C₆FeK₄N₆) a la mezcla de reacción, esta se homogeneizó y se incubó a 50°C durante veinte minutos. Posteriormente, se añadieron 12

 μL de ácido tricloroacético al 10%, 45 μL de agua destilada y 10 μL de cloruro férrico al 0.1%. La absorbancia fue registrada a una longitud de onda de 734 nm. Los resultados fueron reportados como μg de ácido gálico equivalente por mililitro basados en la curva de calibración con el mismo estándar.

3.6 Análisis Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).

El análisis se realizó utilizando un FTIR Agilent Cary 630 acoplado a un cristal de seleniuro de zinc (ZnSe) ATR. El extracto fenólico seco purificado se depositó sobre toda la superficie del lector y se aseguró mediante la prensa equipada. La lectura se realizó mediante el programa de PC MicroLab en el rango espectral de 4000 a 650 cm⁻¹, con un ciclo de 32 barridos con una resolución de 2 cm⁻¹. El análisis del espectro y los grupos funcionales detectados se realizó con el programa MicroLab Expert y la gráfica se construyó con el programa OriginPro 8.

3.7 Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se reportaron como medias ajustadas. Los datos se analizaron mediante pruebas de Tukey con significancia de p<0.05. Se realizó análisis estadístico utilizando el software Statistica (version 10, Statsoft, Poland) y para los análisis de varinza SAS (versión 9.4. SAS Institute, Cary, NC).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados del análisis químico proximal

Cuadro 5. Análisis químico proximal de Jatropha dioica.

Análisis químico proximal				
Análisis	San Jerónimo	Tortuga	Estanque de	
			León	
Materia seca total (%)	$38.81 \pm 2.04 \; \mathbf{a}$	$39.38 \pm 1.38 \mathbf{a}$	40.12 ± 1.68 a	
Humedad (%)	$61.19 \pm 2.04 \mathbf{a}$	$60.62 \pm 1.38 \; \mathbf{a}$	$59.88 \pm 1.68 \; \mathbf{a}$	
Ceniza (%)	9.266 ± 0.078 a	$7.356 \pm 0.04 \ \mathbf{b}$	$8.87 \pm 0.306 \; \mathbf{a}$	
Proteína cruda (%)	12.7±0.22 a	9.81±0.65 b	$8.049 \pm 0.08 \; \mathbf{b}$	
Extracto etéreo-grasa (%)	$1.99 \pm 0.177 \; \mathbf{b}$	3.64 ± 0.283 a	$2.042 \pm 0.167 \ \mathbf{b}$	
Fibra cruda (%)	$19.2 \pm 2.27 \ \mathbf{b}$	$26.083 \pm 0.22 \; \mathbf{a}$	$28.15 \pm 0.3 \; \mathbf{a}$	
Extracto libre de nitrógeno (%)	56.85±1.92 a	$53.107 \pm 0.90 \; \mathbf{b}$	$52.90 \pm 0.56 \ \mathbf{b}$	

Los valores mostrados son los promedios dado que cada análisis fue realizado en triplicado. Prueba de Tukey medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se observa que sangre de drago en el Ejido Estanque de León, cuenta con la media mayor de **materia seca**, con un total de $40-12 \pm 1.689$, seguido por el Ejido San Jerónimo con un porcentaje total de 38.81 ± 2.043 , finalmente se encuentra el Ejido La Tortuga con 39.38 ± 1.387 , aunque no se observa diferencia significativa. El porcentaje de materia seca obtenido cuenta con una diferencia con el trabajo de Gallina-Tesaro (2019) quien reporto un porcentaje de materia seca de 25.85%.

Los resultados, nos indican que la media del Ejido San Jerónimo cuenta con mayor **porcentaje humedad**, teniendo un total de 61.19 ± 2.043 , este ejido no tiene una diferencia significativa con el Ejido La Tortuga debido a que este cuenta con 60.62 ± 1.387 de humedad, y el Ejido Estanque de León, ya que cuenta con 59.88 ± 1.689 , de humedad, estos resultados podrían estar relacionados con la disponibilidad de agua de la planta en cada localidad.

Los resultados nos muestran que el Ejido San Jerónimo fue quien más reportó **ceniza**, teniendo un 9.266 ± 0.078 , lo que nos indica una diferencia significativa con el resultado del

Ejido León (8.87 ± 0.306), y el Ejido Tortuga (7.356 ± 0.04) los cuales no tienen diferencia significativa entre sí. Gallina-Tessaro (2019) reportó que *Jatropha dioica* presentaba 8.10% de ceniza, si se comparan con el resultado obtenido en el presente trabajo, refleja una gran similitud. Una explicación a estas diferencias podría ser la cantidad de minerales que se encuentren presentes en el suelo de cada ejido.

Los resultados de **proteína cruda** señalan una diferencia significativa en la media obtenida en el Ejido San Jerónimo (12.7 \pm 0.22), en comparación al Ejido Tortuga (9.81 \pm 0.65) y Ejido Estanque de León (8.049 \pm 0.08), donde no existe diferencia significativa. En este sentido, Gallina-Tessaro (2019) reportó resultados de 8.75% de proteína cruda en sangre de grado con localidad de Mapimí, Durango, México, teniendo resultados similares al presente estudio, aunque existe una diferencia significativa en comparación a Calderón (2018) quien reportó un porcentaje de 25.38 \pm 0.9. La variación en los resultados se atribuye a que en el trabajo de Calderón (2018) se analizaron las semillas de *Jatropha dioica*, mientras que en el presente trabajo se utilizó principalmente raíz y tallo.

La localidad que contó con mayor porcentaje de **extracto etéreo** es el Ejido Tortuga con una media 3.64 ± 0.283 el cual tiene una diferencia significativa, el Ejido Estanque de León y Estanque San Jerónimo tuvieron resultados más similares, 2.042 ± 0.167 y 1.99 ± 0.177 , respectivamente, por lo cual no existe una diferencia significativa entre estos dos ejidos. Existe una diferencia significativa con lo reportado por Gallina-Tesaro (2019) ya que reportó 10.57% de extracto etéreo en semilla.

El Ejido Estanque de León fue donde se obtuvo más contenido de **fibra cruda**, teniendo 28.15 ± 0.3 , 26.083 ± 0.225 aunque es importante señalar que no cuenta con diferencia significativa con el Ejido Tortuga (26.083 ± 0.22), finalmente el Ejido San Jerónimo contó con 19.2 ± 2.27 , el cual tiene una diferencia significativa con las dos localidades mencionadas anteriormente. El Ejido Estanque de León tiene una gran similitud con los resultados de Gallina-Tesaro (2019), quien obtuvo 21.42% de fibra cruda.

El **extracto libre de nitrógeno** es el que está presente a mayor escala en las tres localidades, Ejido San Jerónimo= 56.85±1.92 teniendo una diferencia significativa, Ejido Tortuga= 53.107± 0.90 y Ejido Estanque de León= 52.90± 0.56, los cuales no cuentan con diferencia significativa. Los resultados obtenidos son similares a lo que se reporta en la literatura, que, aunque no se muestren los valores exactos, mencionan que *J*atropha *dioica* cuenta con más de 55% de extracto libre de nitrógeno, esto directamente relacionado con su alto contenido de lignina y hemicelulosa (Gallina-Tessaro, 2019; Guerrero Cervantes, 2008).

4.2 Rendimiento del proceso de extracción de Polifenoles

El cuadro 3 muestra las cantidades de polifenoles en mg g⁻¹, obtenidos de la extracción de los 20 gramos de muestra.

Cuadro 6. Rendimiento de extracción de polifenoles.

Localidad	Muestra utilizada (g)	Gramos obtenidos	Mg/g
San Jerónimo	20	0.1025±0.001	5.125±0.07 a
La Tortuga	20	0.0954 ± 0.003	4.77±0.13 b
Estanque de León	20	0.0831 ± 0.003	4.155±0.13 c

Los valores mostrados son los promedios dado que cada análisis fue realizado en triplicado. Prueba de Tukey medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

Wong-Paz *et al.*, 2015, menciona que se encontraron polifenoles en *Jatropha dioica*, en su trabajo se reportó 2.1 ± 0.30 mg GAE/g de polifenoles, para el análisis emplearon la metodología reportada por Makkari, la cual se conoce como método Folin-Ciocalteu, con algunas modificaciones. Es importante señalar que en su trabajo se realizó medición del contenido total de fenoles (TPC), sin embargo, no se señala que se hayan extraído y purificado los polifenoles.

En el trabajo realizado el ejido con mayor cantidad de polifenoles fue San Jerónimo, seguido por Tortuga y finalmente Estanque de León, tal como se observa en el cuadro 3.

4.3 Análisis de la actividad antioxidante

Se analizó la actividad antioxidante de los ejidos San Jerónimo, Tortuga y Estanque de León, donde se obtuvo el IC₅₀ (cantidad de compuestos necesarios para inhibir en 50 % una reacción de oxidación) mediante el análisis de la capacidad de eliminación de radicales DPPH* y el análisis de la capacidad de la técnica de determinación de inhibición de radicales ABTS*+, a

la par, se midió la actividad antioxidantes a dos concentraciones (25 μg mL^{-1 y} 50 μg mL⁻¹) con el análisis de la capacidad de la técnica de determinación del poder de reducción de Hierro (FRAP), los datos obtenidos se muestran en el cuadro 4.

Cuadro 7. Evaluación de actividad antioxidante.

Análisis de Actividad antioxidante					
	DPPH'	ABTS*+	FR	AP	
Localidad	(IC mI -1)	$(IC_{50}, \mu g mL^{-1})$ $(IC_{50}, \mu g mL^{-1})$	mE Ácid	o Gálico	
	(IC50, μg IIIL)		$25 \mu g mL^{-1}$	50 μg mL ⁻¹	
San Jerónimo	244.074±1.98 b	37.876±1.272 b	19.99±0.34 a	21.12±0.39 b	
Tortuga	668.253±1.671 a	108.784±0.632 a	19.5±0.255 a	21.27±0.29 b	
Estanque de León	155.029±2.261 c	24.576±1.015 c	20.529±1.26 a	24.55±0.22 a	

Los valores mostrados son los promedios dado que cada análisis fue realizado en triplicado. Prueba de Tukey medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05).

4.3.1 Análisis de la capacidad de eliminación de radicales DPPH'

Wong-Paz *et al* 2015, obtuvo un porcentaje de inhibición de 15.40 ± 1.88 , donde menciona que era un 70% más bajo que otras especies comparadas. Este resultado es similar en el Ejido Tortuga a una concentración de 300 μ g mL⁻¹, en el Ejido Estanque de León se encuentra en una concentración entre 50 y 100 μ g mL⁻¹, mientras que en el Ejido San Jerónimo está en una concentración por debajo de 150 μ g mL⁻¹ (anexo 7.5), se desconoce la concentración (μ g) que se utilizó en dicho trabajo, ya que esto no se reportó.

Los resultados que se obtuvieron demostraron diferencia significativa entre sí. Se demostró que la secuencia de las localidades con más actividad de eliminación de DPPH*, siguiendo el orden de Ejido Estanque de León, San Jerónimo y por último Tortuga.

4.3.2 Análisis de la capacidad de la técnica de Determinación de inhibición de radicales ABTS*+

En este análisis se llegó a tener una mayor similitud a los trabajos de Wong-Paz *et al* 2015, donde se presenta un resultado estimado entre el 20 al 25 % de inhibición, muy semejante a lo que se obtuvo en el Ejido San Jerónimo a una concentración de 20 µg mL⁻¹, en el Ejido Estanque de León se encuentra entre 10 y 20 µg mL⁻¹ (anexo 7.6), en el Ejido Tortuga este

porcentaje de inhibición es muy similar al obtenido en 50 μg mL⁻¹ (23.03±0.63), se desconoce la concentración (μg mL⁻¹) que se utilizó en dicho trabajo, ya que esto no se reportó.

4.3.3 Análisis de la capacidad de la técnica de Determinación del poder de reducción de Hierro (FRAP)

El análisis FRAP fue donde se obtuvo mayor capacidad antioxidante. Al igual que en los tres análisis el Ejido Estanque de León resultó con una más alta capacidad antioxidante en ambos resultados (25 y 50 μg mL⁻¹) como se puede observar en el cuadro 4. Algo interesante es que no hubo un cambio notorio en la diferencia de ppm en el Ejido San Jerónimo, ya que como se observa su aumento es mínimo, por el contrario, donde se ve un cambio más amplio es en el Ejido La Tortuga, donde de ser el que tenía menor capacidad antioxidante paso a ser el segundo con mayor actividad antioxidante superando a el Ejido San Jerónimo.

Debido a la poca información relacionada a *J. dioica*, el presente trabajo reporta por primera vez que el análisis de la capacidad de la técnica de Determinación del poder de reducción de Hierro (FRAP).

4.4 Análisis mediante a Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

Debido al análisis FTIR realizado a las muestras de las tres localidades, se pudieron conocer ocho señales de absorbancia, identificando los grupos funcionales (Figura 3).

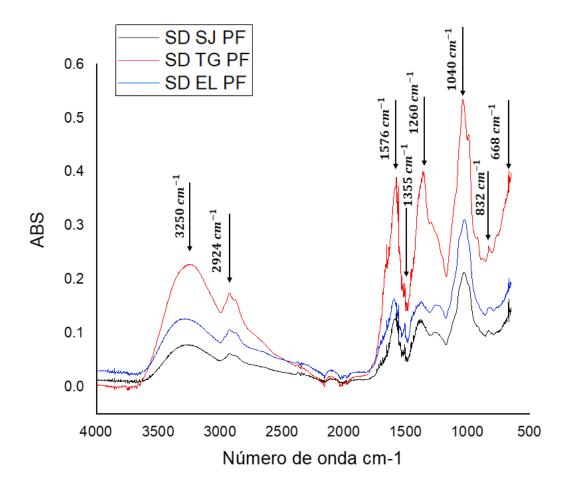


Figura 3. Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de sangre de drago. San Jerónimo (SD SJ PF), Tortuga (SD TG PF) y Estanque de León (SD EL PF).

Alrededor de 3,300 a 3000 cm⁻¹ se ha reportado la presencia del grupo funcional OH, esto en compuestos fenólicos alcohólicos, aromáticos hidrogenados y alifáticos (Bautista-Hernández *et al.*, 2021). Existe literatura que menciona el estiramiento de C-H a 2924 cm⁻¹ lo cual se atribuye a los grupos CH₃ y CH₂ en compuestos aromáticos (Hamizi *et al.*, 2010). También, se ha reportado que la señal de absorbancia 1576 cm⁻¹ no es sencillo de interpretar, pero se asocia principalmente a dos variables, una es la vibración de estiramiento del anillo aromático con la presencia de C=C, mientras que la segunda variable corresponde a un anillo aromático relacionado a amidas aromáticas o aminas debido a la presencia del grupo N-H. La vibración de flexión en C-O puede rondar entre 1500 a 1200 cm⁻¹, en compuestos fenólicos alcohólicos se han reportado principalmente alrededor de 1350 y 1410 cm⁻¹ al cual se le atribuye la señal de absorbancia 1355 cm⁻¹ (Lee *et al.*, 1995). La señal de absorbancia 1260 cm⁻¹ se le relacionó

con posibles estructuras de polisacáridos ya que información reportada menciona que el CH₃ se dobla fuera del plano entre 1377 a 1035 cm⁻¹. Se ha indicado que el grupo funcional C-O-H de los alcoholes se encuentra dentro de 1100 y 1000 cm⁻¹ done se localiza la señal de absorbancia 1040 cm⁻¹ (Rincón-López *et al.*, 2021). Las señales de absorbancia 832 y 668 cm⁻¹ indican una flexión de C-H fuera del plano, esto con base en Ahmed *et al.*, 2009 el cual menciona la flexión de este grupo en un rango de 900 a 600 cm⁻¹, lo cual se asocia con compuestos aromáticos. Estos resultados muestran una gran similitud con lo reportado por Villanueva *et al.*, (2018) en su análisis de FTIR sobre *Jatropha dioica*.

5. CONCLUSIONES

La planta sangre de drago (Jatropha dioica), es una fuente potencial de compuestos polifenólicos con actividad antioxidante, el ejido con la más alta cantidad de materia seca y fibra cruda fue Estanque de León con 40.12% ±1.68 y 28.15% ±0.3, en extracto etéreo los valores más altos fueron de Tortuga teniendo 3.64% ±0.283 y 3.64% ± 0.283, finalmente San Jerónimo obtuvo los porcentajes más altos en humedad, ceniza, proteína cruda y extracto libre de nitrógeno, 61.19±2.04, 9.266%±0.078, 12.7%±0.22 y 56.85% ±19.2, respectivamente. Se obtuvieron compuestos polifenólicos de manera exitosa, no existió diferencia significativa sobre los compuestos extraídos de cada localidad, el Ejido San Jerónimo obtuvo el mayor rendimiento con 0.1025±0.0015 g (5.125 mg/g). La presencia de estos compuestos es algo de mucho interés ya que se espera que puedan emplearse para diferentes usos dentro de lo cual tenemos actividad antioxidante. El análisis ABTS⁺⁺ demostró ser una gran técnica para medir la capacidad antioxidante en sangre de drago, debido a que es muy sencillo su uso y su resultado es muy confiable, en el presente trabajo el Ejido Estanque de León obtuvo el IC₅₀ a 24.576±1.015 μg mL⁻¹, siendo el que necesito menor concentración para llegar a la concentración inhibitoria máxima media. En este trabajo el Ejido Estanque de León conto con la mayor capacidad antioxidante con esta técnica y en algunas concentraciones fue muy similar a otros trabajos realizados. Mediante la técnica DPPH se observó la necesidad de mayor concentración para alcanzar la concentración inhibitoria máxima media, donde la más alta actividad antioxidante fue demostrada por el Ejido Estanque León a 155.029±2.261 µg mL⁻¹. En el análisis FRAP, no se necesitaron altas concentraciones para demostrar alta actividad antioxidante, ya que con concentraciones de 25 µg mL⁻¹ y 50 µg mL⁻¹ se llegó a tener un porcentaje de 24.55 ± 0.22 en el Ejido Estanque de León. El análisis FTIR mostró ocho diferentes señales de absorbancia (3250 cm⁻¹, 2924 cm⁻¹, 1576 cm⁻¹, 1355 cm⁻¹, 1260 cm⁻¹, 1040 cm⁻¹, 832 cm⁻¹ v 668 cm⁻¹) los cuales se atribuyen a diferentes grupos funcionales principalmente aromáticos y alcoholes, los cuales se asocian con compuestos polifenólicos.

6. REFERENCIAS

- Ahmed, G. S., Gilbert, M., Mainprize, S., & Rogerson, M. (2009). FTIR analysis of silane grafted high density polyethylene. *Plastics, Rubber and Composites*, 38(1), 13-20.
- Ascacio-Valdés, J. A., Aguilera-Carbó, A., Martínez-Hernández, J. L., RodríguezHerrera, R., & Aguilar, C. N. (2010). Euphorbia antisyphilitica residues as a new source of ellagic acid. *Chemical Papers*, 64(4), 528–532.
- Asuero, A., & Troncoso, A. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Revista de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 26(2), 25–26.
- Bacallao, L. G., Domínguez, D. M. R., Gómez, L. V. G., & Ángel, M. H. (2002). Plantas con propiedades antioxidantes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*, 21(3), 214–216.
- Bautista-Hernández, I., Aranda-Ledesma, N. E., Rojas, R., Tafolla-Arellano, J. C., & Martínez-Ávila, G. C. (2021). Antioxidant activity of polyphenolic compounds obtained from Euphorbia antisyphilitica by-products. *Heliyon*, 7(4), e06734.
- Briones, O., Búrquez, A., Martínez-Yrízar, A., Pavón, N., & Perroni, Y. (2018). Biomass and productivity in mexican arid lands. *Madera y Bosques*, 24(Special Issue). https://doi.org/10.21829/myb.2018.2401898
- Coronado H., M., Vega Y León, S., Gutiérrez T., R., Marcela, V. F., & Radilla V., C. (2015). Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutricion*, 42(2), 206–212. https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014
- Fernández-Pachón, M. S., Villaño, D., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. C. (2006). Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo. In *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* (Vol. 56, pp. 110–122). scielon .
- Figueroa, A., Almaguer, G., Vázquez-Alvarado, P., Martínez, N., Zúñiga, C., & Hernández-Ceruelos, A. (2014). Análisis fitoquímico de Jatropha dioica y determinación de su efecto antioxidante y quimioprotector sobre el potencial genotóxico de ciclofosfamida, daunorrubicina y metilmetanosulfonato evaluado mediante el ensayo cometa. *Boletin Latinoamericano y Del Caribe de Plantas*

- Medicinales y Aromaticas, 13(5), 437–457.
- Gallina-Tessaro, S. (2019). *Ecology and Conservation of Tropical Ungulates in Latin America*. Springer.
- Guerrero Cervantes, M. (2008). *Valor nutricional de forrajes nativos del norte de México*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Guija-Poma, E., Inocente-Camones, M. Á., Ponce-Pardo, J., & Zarzosa-Norabuena, E. (2015). Evaluación de la técnica 2, 2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horizonte Médico (Lima)*, *15*(1), 57–60.
- Gutiérrez-Tlahque, J., Aguirre-Mancilla, C. L., López-Palestina, C., Sánchez-Fernández, R. E., Hernández-Fuentes, A. D., & Martín Torres-Valencia, J. (2019). Constituents, antioxidant and antifungal properties of jatropha dioica var. dioica. *Natural Product Communications*, *14*(5), 1–5. https://doi.org/10.1177/1934578X19852433
- Gutiérrez-Tlahque, J., Aguirre-Mancilla, C. L., Raya-Pérez, J. C., Ramírez-Pimentel, J. G., Jiménez-Alvarado, R., & Hernández-Fuentes, A. D. (2018). Effect of climate conditions on total phenolic content and antioxidant activity of Jatropha dioica Cerv. var. dioica. *Ciencia e Investigacion Agraria*, 45(1), 70–81. https://doi.org/10.7764/rcia.v45i1.1832
- Hamizi, N. A., & Johan, M. R. (2010, January). Optical and FTIR studies of CdSe quantum dots. *In 2010 3rd International Nanoelectronics Conference* (INEC) (pp. 887-887). IEEE.
- Hernández, T., García-Bores, A. M., Serrano, R., Ávila, G., Dávila, P., Cervantes, H.,
 Peñalosa, I., Flores-Ortiz, C. M., & Lira, R. (2015). Fitoquímica Y Actividades
 Biológicas De Plantas De Importancia En La Medicina Tradicional Del Valle De
 Tehuacán-Cuicatlán. *Tip*, 18(2), 116–121. https://doi.org/10.1016/j.recqb.2015.09.003
- Jiménez, G. S., Ducoing, H. P., & Sosa, M. R. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista mexicana de fitopatología*, 21(3), 355-363.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., García-Parilla, M. C., Troncoso, A. M., & Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos . In *Food Science and Technology* (Vol. 24, pp. 691–693). scielo.
- Lee, D. H., & Condrate Sr, R. A. (1995). An FTIR spectral investigation of the structural

- species found on alumina surfaces. *Materials Letters*, 23(4-6), 241-246.
- López-Álvarez, B., Rizo-Fernández, Z., Ramos-Leal, J. A., Morán-Ramírez, J., & Almanza-Tovar, Ó. G. (2019). WATER POVERTY INDEX IN ARID ZONES: THE BARRIL AQUIFER, SANTO DOMINGO, SAN LUIS POTOSÍ, MEXICO . In *Revista internacional de contaminación ambiental* (Vol. 35, pp. 35–46). scielomx .
- Martínez-Calderas, J. M., Palacio-Núñez, J., Martínez-Montoya, J. F., Olmos-Oropeza, G., Clemente-Sánchez, F., & Sánchez-Rojas, G. (2019). DISTRIBUCIÓN Y ABUNDANCIA DE Jatropha dioica EN EL CENTRO-NORTE DE MÉXICO DISTRIBUTION AND ABUNDANCE OF Jatropha dioica IN THE NORTHERN CENTER OF MEXICO. *Agrociencias*, 53, 433–446.
- Mata-Miranda, M. M., Guerrero-Robles, C. I., Rojas-López, M., Delgado-Macuil, R. J., González-Díaz, C. A., Sánchez-Monroy, V., Pérez-Ishiwara, D. G., & Vázquez-Zapién, G. J. (2017). Principal components by FTIR spectroscopy as innovative characterization technique during differentiation of pluripotent stem cells to pancreatic cells. Rev. Mex. Ing. Bioméd, 38(1), 225–234. https://doi.org/10.17488/RMIB.38.1.17
- Mesa-Vanegas, A. M., Zapata-Uribe, S., Arana, L. M., Zapata, I. C., Monsalve, Z., & Rojano, B. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de Ageratum conyzoides L. Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 14(1), 1–10.
- Movasaghi, Z., Rehman, S., & ur Rehman, D. I. (2008). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134–179. https://doi.org/10.1080/05704920701829043
- Muñoz Juárez, M. A., & Gutiérrez, D. M. (2010). Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol Nicotiana glauca. *Facultad de Química*.
- Niño-García, N., Sánchez-Ramos, G., Mora-Olivo, A., & Pérez-Ouilantán, L. M. (2012). Controversia en la producción de biodiésel. Caso: Jatropha en Tamaulipas. *CienciaUAT*, 7(1), 6–13.
- Ortiz Prudencio, S. del A. (2006). Determinación de la composición química proximal y fibra dietaria de 43 variedades criollas de maíz de 7 municipios del sureste del Estado de Hidalgo.
- Pérez-Pérez, J., Reyes-Trejo, B., Guerra-Ramírez, D., & Cuevas-Sánchez, J. (2020). Seed

- oil Jatropha dioica Sesee as a biodiesel potencial resource. *Revista Bio Ciencias*, 7(595), 1–13. https://doi.org/10.15741/revbio.07.e728
- Pérez-Vazquez, A. P.-, Colmenero, A. Z., Lorca, J. A. R., Vázquez, A. P., Sánchez, O. M. S., & Martínez, J. (2015). *DIAGNOSTICO Y PLAN ESTRATEGICO DE JATROPHA SPP . EN MEXICO DIAGNOSIS AND STRATEGIC PLAN JATROPHA SPP . IN MEXICO Autores : Leobigildo Córdova Téllez , Edgardo Bautista Ramírez ,* (Issue July 2016).
- Quezada Cárdenas, K. (2020). Caracterización biodirigida de compuestos antioxidantes y antimicrobianos de Jatropha dioica originaria de Durango. Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Medicina y Nutrición.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999).

 Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.

 Free Radical Biology and Medicine, 26(9–10), 1231–1237.
- Reyes, N., & Mendieta, B. (2000). Determinación del valor nutritivo de los alimentos.

 Facultad de Ciencia Animal. Departamento de Sistemas Integrales de Producción

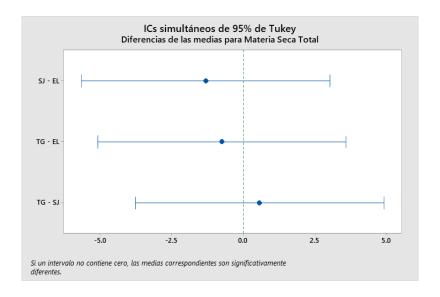
 Animal Universidad Nacional Agraria, 17–36.
- Rincón-López, L. B., Flores-Naveda, A., Buenrostro-Figueroa, J., Valdés, M. H. R., Martínez-Ávila, G. C., Rojas, R., & Tafolla-Arellano, J. C. (2021). Ftir Analysis Reveals Chemical Response during Sorghum (Sorghum bicolor)-Sugarcane Aphid, Melanaphis sacchari1, *Interaction. Southwestern Entomologist*, 46(3), 693-700.
- Rodríguez Acosta, M., Vega Flores, K., De Gante Cabrera, V., & Jiménez Ramírez, J. (2009). Distribución del genero Jatropha L. (Euphorbiaceae) en el estado de Puebla, México. *Polibotánica*, 28, 37–48.
- Rufino, M., ALVES, R. E., De Brito, E. S., De Morais, S. M., Sampaio, C. de G., PÉREZ-JIMÉNEZ, J., & SAURA-CALIXTO, F. D. (2006). Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). *Embrapa Agroindústria Tropical-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)*.
- Scientific, T. (2013). Introduction to Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Thermo Fisher Sci. Inc., Madison, WI, USA, Tech. Rep. BR50555_E, 10.*
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*,

- 113(4), 1202-1205.
- Sosa Blas, H. R. (2013). Evaluación de la calidad nutricional de la harina de lombriz (eisenia foetida) para la alimentación de cuyes (cavia porcellus).
- Villamil, J. M. P., & García, F. P. (1998). Germinación de semillas. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- Villanueva, M., González, R., Camargo, V., Olvera, P., Martínez Pérez, A. I., Cárdenas, E., & Marco Antonio, F.-G. (2018). Microstructural Characterization of Biosynthesized ZnO Nanostructures Using Jatropha dioica Aqueous Extract. *Microscopy and Microanalysis*, 24, 1422–1423. https://doi.org/10.1017/S1431927618007596
- Wong-Paz, J. E., Castillo-Inungara, M. L., López-López, L. I., Contreras-Esquivel, J. C., Nevárez-Moorillon, G. V., & Aguilar, C. N. (2010). Jatropha dioica: FUENTE POTENCIAL DE AGENTES ANTIMICROBIANOS. Aqm Revista Científica de La Universidad Autónoma de Coahuila, 2(4), 1–5. file:///J:/arboles/Usos arboles de Mexico/Referencias/Nacional/Jatropha dioica agentes antimicrobianos.pdf
- Wong-Paz, J. E., Contreras-Esquivel, J. C., Rodríguez-Herrera, R., Carrillo-Inungaray, M. L., López, L. I., Nevárez-Moorillón, G. V., & Aguilar, C. N. (2015). Total phenolic content, in vitro antioxidant activity and chemical composition of plant extracts from semiarid Mexican region. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(2), 104–111. https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60299-6

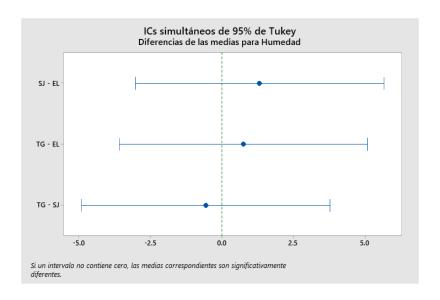
7. ANEXOS

7.1 Prueba de Tukey Análisis Químico-Proximal.

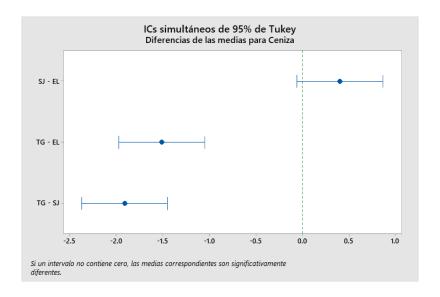
7.1.1 Materia seca total.



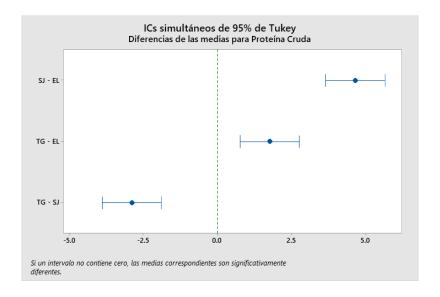
7.1.2 Humedad.



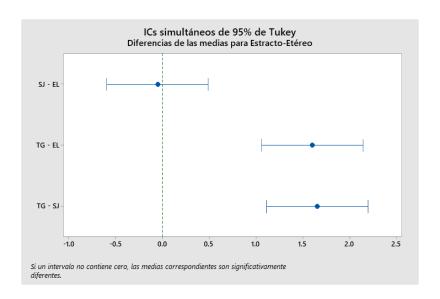
7.1.3 Ceniza.



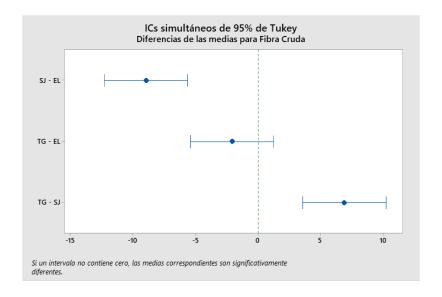
7.1.4 Proteína Cruda.



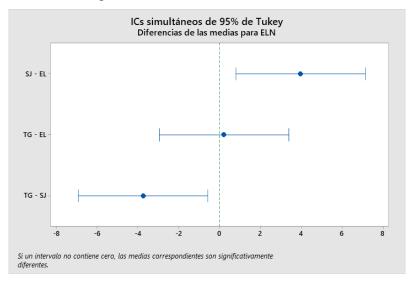
7.1.5 Extracto Etéreo.



7.1.6 Fibra Cruda.



7.1.7 Extracto Libre de Nitrógeno.



7.2 Prueba de Tukey IC50 ABTS $^{-1}$

Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

	Diferencia				
Diferencia	de las	EE de	IC de	Valor	Valor p
de niveles	medias	diferencia	95%	T	ajustado
SJ - EL	13.065	0.394	(11.857,	33.19	0.000
			14.273)		
TG - EL	83.973	0.394	(82.765,	213.31	0.000
			85.181)		
TG - SJ	70.908	0.394	(69.700,	180.12	0.000
			72.116)		

Nivel de confianza individual = 97.80%

7.3 Prueba de Tukey IC₅₀ DPPH

Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

D	iferencia				
Diferencia	de las	EE de	IC de	Valor	Valor p
de niveles	medias di	ferencia	95%	T	ajustado

SJ - EL	88.86	6.60 (68.60,	13.46	0.000
		109.11)		
TG - EL	503.22	6.60 (482.97,	76.25	0.000
		523.48)		
TG - SJ	414.37	6.60 (394.11,	62.78	0.000
		434.62)		

Nivel de confianza individual = 97.80%

7.4 Prueba de Tukey mE Ácido Gálico en FRAP

Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias

Diferencia Diferencia IC de Valor Valor p de las EE de de niveles medias diferencia 95% T ajustado SJ - EL -3.431 0.253 (-4.208, -0.00013.56 2.655) TG - EL -3.284 0.253 (-4.061, -0.0002.507) 12.97 0.253 (-0.630, TG - SJ 0.147 0.58 0.835 0.924)

Nivel de confianza individual = 97.80%

7.5 Anexo: Evaluación de capacidad de eliminación de radicales DPPH.

				DPPH⁺				
	Estanque de León	ņ		Tortuga			San Jerónimo	
Tw/än	%Inhibición	E I	Tw/bn	%Inhibición	mE	Tw/än	%Inhibición	mE
0	0.000±1.7	4.806±3.6	0	0.000±0.19	-11.11±0.42	0	0.000±1.68	4.806±3.6
20	9.518±0.01	25.209±0.01	300	17.674±1.8	26.920±3.88	150	31.335±0.47	71.976±1.0
100	29.172±0.85	67.339±1.82	200	36.850±2.96	68.185±6.38	700	42.274±3.17	95.426±6.8
150	49.506±1.21	110.927±2.58	750	59.607±0.73	117.157±1.56	250	54.079±1.8	120.731±3.86
700	66.564±7.56	147.493±16.2	1000	74.471±2.66	149.141±5.74	300	61.7432±0.47	137.159±4.9

7.6 Anexo: Evaluación de la técnica de Determinación de inhibición de radicales ABTS∙+*.

				ABTS•+*				
	Estanque de León	ón		Tortuga			San Jerónimo	
Tm/gn	%Inhibición	mE	Tw/än	%Inhibición	mE	Tm/än	%Inhibición	mE
0	0.000±1.77	0.232±1.67	0	0.000±1.77	0.232±1.67	0	0.000±1.77	0.232±1.67
10	19.817±0.76	18.868±0.72	08	38.449±0.56	36.389±0.53	10	16.694±1.78	15.931±1.67
70	38.341±0.97	36.288±0.91	100	47.6040.57	44.998±0.53	70	26.817±1.0	25.451±0.95
30	63.974±0.43	60.392±0.4	120	55.1430.5	52.087±0.46	30	45.988±1.21	43.479±1.14
40	79.160±1.13	74.673±1.06	140	60.9590.19	57.556±0.17	20	61.712±0.58	58.265±0.55