

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA



“Caracterización fisicoquímica y funcional de la planta de candelilla
(*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) en diferentes localidades”

Por:

DAMASO BERRUM AGUILAR

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Saltillo, Coahuila,

México Junio 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA



“Caracterización fisicoquímica y funcional de la planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) en diferentes localidades”

Por:
DAMASO BERRUM AGUILAR

TESIS
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

DR. JULIO CÉSAR TAFOLLA
ARELLANO
Asesor Principal UAAAN

DR. GUILLERMO CRISTIAN
GUADALUPE MARTÍNEZ ÁVILA
Asesor Principal Externo

Saltillo, Coahuila, México Junio 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

“Caracterización fisicoquímica y funcional de la planta de candelilla (*Euphorbia
antisyphilitica* Zucc) en diferentes localidades”

Por:

DAMASO BERRUM AGUILAR

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

La cual fue revisada y aprobada por:

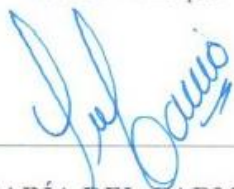
POR EL COMITÉ DE ASESORÍA



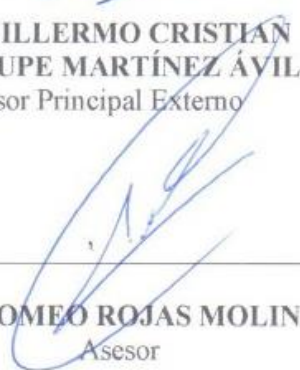
**DR. JULIO CÉSAR TAFOLLA
ARELLANO**
Asesor Principal



**DR. GUILLERMO CRISTIAN
GUADALUPE MARTÍNEZ ÁVILA**
Asesor Principal Externo



**QFB. MARÍA DEL CARMEN JULIA
GARCÍA**
Asesor



DR. ROMEO ROJAS MOLINA
Asesor



MC. SERGIO SÁNCHEZ MARTÍNEZ
Coordinador de la División de Ingeniería

Buenavista, Saltillo Coahuila, México, Junio 2021

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por otorgarme la vida y darme salud a mí y a mi familia, porque sin ellos nada de esto sería posible, gracias familia porque jamás me dejaron de apoyar ni en los momentos más difíciles, su apoyo fue incondicional, ustedes fueron mi inspiración para poder concluir con éxito esta etapa en mi vida.

Al **Dr. JULIO CÉSAR TAFOLLA ARELLANO** por todo su apoyo para poder concluir este trabajo porque siempre me brindó su confianza y me alentó a hacer bien las cosas, gracias por su apoyo incondicional. Excelente asesor, pero sobre todo un gran amigo.

Al **Dr. GUILLERMO CRISTIAN GUADALUPE MARTÍNEZ ÁVILA** por brindarme la asesoría y el apoyo, que en cada momento estuvo ahí para apoyarme, además de brindarme las instalaciones para poder realizar este estudio.

Al **Dr. ROMEO ROJAS** que gracias a usted se me dio la oportunidad de realizar este trabajo, por aportarnos de su conocimiento para hacerlo mejor posible y siempre estar cuando lo necesitamos le agradezco todo su apoyo.

A la Maestra **MARÍA DEL CARMEN JULIA GARCÍA** por las facilidades brindadas en el laboratorio de ciencias básicas, así como por su ayuda brindada y siempre mostrar disponibilidad.

Al MC. **SERGIO SÁNCHEZ MARTÍNEZ** por su apoyo durante mi estancia en la universidad y por las facilidades brindadas.

AI FONDO SECTORIAL PARA LA INVESTIGACIÓN, EL DESARROLLO Y LA INNOVACIÓN TECNOLÓGICA FORESTAL CONACYT-CONAFOR por la beca tesis asignada del proyecto B-S-131466 “Diseño y construcción de equipo semiautomático para la extracción de cera de candelilla orgánica”.

A mi **ALMA TERRA MATER, LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO** y al Departamento de Ciencias Básicas por la oportunidad y por la formación profesional e integral que me brindaron.

A mis compañeros del **LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR**, por todo su apoyo y aportaciones que me brindaron y más que nada por su amistad y cariño.

A cada uno de mis profesores que me aportaron de sus conocimientos, lo cual fue parte fundamental de mi educación como estudiante y gracias a ello he cumplido una meta importante en mi vida.

DEDICATORIA

A mis padres **DAMASO BERRUM URIOSTEGUI y ESTHER AGUILAR OLEA** por ser unas maravillosas personas y que gracias a sus enseñanzas pude lograr lo que hasta ahora, porque más que consejos, siempre conté con su apoyo incondicional en las buenas y malas. Infinitamente gracias.

A mis hermanos **Leo, Daniel, Perla, Isabel y Lupita** les agradezco el apoyo que cada uno de ustedes me brindo, porque a pesar de que nunca hemos estado todos reunidos somos una gran familia.

A cada uno de mis amistades y familiares que creyeron en mí y siempre me apoyaron muchas gracias.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	ix
DEDICATORIA	xi
ÍNDICE	xii
ÍNDICE DE TABLAS	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xv
RESUMEN.....	xvi
i. INTRODUCCIÓN.....	17
1.1 Hipótesis.....	18
1.2 Objetivo General	18
1.3 Objetivos específicos	18
ii. REVISIÓN DE LITERATURA	20
2.1 Generalidades de la Candelilla.....	20
2.1.1 Botánica.....	21
2.1.2 Descripción morfológica de la planta	22
2.1.3 Características de la semilla.....	24
2.1.4 Características de la raíz.....	24
2.1.5 Características de la flor.....	24
2.1.6 Características del fruto.....	25
2.1.7 Germinación.....	25
2.1.8 Hábitat y distribución.....	25
2.1.9 Usos de la candelilla.....	26
2.2 Propiedades antioxidantes.....	27
2.2.1 Métodos utilizados para determinar capacidad antioxidante	28
2.2.1.1 Capacidad de eliminación de radicales DPPH [•]	28
2.2.1.2 Determinación del poder de reducción de hierro (FRAP)	29
2.2.1.3 Determinación de inhibición de radicales (ABTS ^{•+}).....	29
2.3 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).....	30
iii. MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1 Material vegetal.....	31

3.2	Reactivos químicos	31
3.3	Métodos para el análisis químico proximal	32
3.3.1	Determinación de Cenizas	32
3.3.2	Determinación de Proteína Cruda	32
3.3.3	Determinación de Extracto etéreo o grasa	32
3.3.4	Determinación de Fibra cruda.....	33
3.3.5	Determinación de Extracto libre de nitrógeno (ELN).....	33
3.4	Extracción de Polifenoles.....	34
3.4.1	Extracción y purificación de la muestra.....	34
3.5	Evaluación de la actividad antioxidante.....	34
3.5.1	Preparación de las muestras para analizar.....	34
3.5.2	Ensayo DPPH'	34
3.5.3	Ensayo FRAP.....	35
3.5.4	Ensayo ABTS ^{•+}	36
3.6	Análisis Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	37
3.7	Análisis estadístico.....	38
iv.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	39
4.1	Análisis químico proximal	39
4.2	Rendimiento de proceso de extracción de polifenoles.....	41
4.3	Análisis de la actividad antioxidante	42
4.4	Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).....	44
v.	CONCLUSIÓN	46
vi.	REFERENCIAS	47
Vii.	ANEXOS	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ubicación geográfica de las colectas de los 3 ejidos evaluados.	31
Tabla 2. Curva de calibración de ácido gálico	35
Tabla 3. Curva de calibración de ácido gálico	36
Tabla 4. Curva de calibración de Trolox.....	37
Tabla 5. Análisis químico proximal de <i>Euphorbia antisyphilitica</i> (g 100g ⁻¹)	40
Tabla 6. Rendimiento del proceso de extracción de polifenoles.....	42
Tabla 7. Evaluación de la capacidad antioxidante.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de Candelilla	23
Figura 2. Características del tallo de la planta de candelilla.	23
Figura 3. Floración de Candelilla.....	25
Figura 4. Desierto Chihuahuense y distribución de Candelilla en México.....	26
Figura 5. Productos derivados de la cera de candelilla.	27
Figura 6. Resultado de cenizas de cada una de las localidades.....	40
Figura 8. Resultado de extracción de grasa.....	41
Figura 9. Obtención de fibra cruda.	41
Figura 10. Resultado de polifenoles de una extracción.....	41
Figura 11. Lectura de Ensayo ABTS*+	42
Figura 12. Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de candelilla	44

RESUMEN

La candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) es una planta endémica que crece en el noreste de México y sureste de Texas, la cual es utilizada principalmente para la extracción de su cera, sin embargo, se ha demostrado que la planta de candelilla también contiene una cantidad importante de compuestos polifenólicos que han sido poco estudiados. El objetivo de esta investigación fue caracterizar fisicoquímica y funcionalmente los compuestos polifenólicos obtenidos de la planta candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) de tres diferentes comunidades; San Jerónimo (SJ) en Zacatecas, Estanque de León (EL) y Tortuga (T) en Coahuila. Los mejores resultados obtenidos en el análisis químico proximal para la variable de cenizas se obtuvieron en SJ con $11.70 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, el mejor resultado de proteína cruda se obtuvo en EL con $4.26 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, en SJ se obtuvo el resultado de $5.93 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ en la variable de extracto etéreo-grasa, para la variable de fibra cruda el mejor resultado fue para la localidad de SJ con $33.26 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ y para la variable de Extracto libre de nitrógeno en SJ con $63.20 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$. Se realizó la extracción y purificación de compuestos fenólicos y determinación de la capacidad antioxidante mediante compuestos fenólicos. El mejor rendimiento de polifenoles purificados se obtuvo en la localidad de T con 10.5 mg/g^{-1} . Las técnicas realizadas de DPPH[•], FRAP y ABTS^{•+}, T obtuvo mejores resultados en comparación a las otras localidades; la determinación de IC₅₀ por DPPH[•] fue $39.52 (\pm 3.84) \mu\text{g m L}^{-1}$, en ABTS^{•+} de $34.75 (\pm 0.21) \mu\text{g m L}^{-1}$ y en FRAP a una concentración de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ obteniendo un porcentaje de inhibición de $41.73 (\pm 4.21)$. Con base en el análisis FTIR las tres localidades presentaron en la longitud de onda de $1025 \text{ (cm}^{-1}\text{)}$ un pico sobresaliente que refiere al grupo funcional C – O – H de alcoholes. El presente estudio demostró que la candelilla tiene compuestos de fuerte actividad antioxidante, que puede ser útil en productos alimenticios y farmacéuticos.

i. INTRODUCCIÓN

En México la producción de candelilla abarca regiones del norte de México, como el ejido San Jerónimo, Zacatecas, México, en el cual se han aprovechado más de 124 mil kilogramos de candelilla extraídas de un área de 4,903 hectáreas en el periodo de 2014 a 2018 (CONAFOR, 2016). Los recursos agrícolas de la zona norte del país comprenden especies de plantas no maderables como lo son el orégano, el laurel, la damiana, candelilla, entre otros. Este último mencionado, es una especie endémica de regiones semidesérticas, que se puede encontrar en estados como Chihuahua, Coahuila, Durango, Hidalgo, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas. Esta especie suele ser un arbusto pequeño, muy ramificado, sin hojas y es capaz de reproducirse mediante brotes ya sea de tallos aéreos o subterráneos, esto hace ver a la planta mucho más vistosa (Instituto de la Candelilla, 2013).

Esta planta de candelilla crece principalmente en laderas y tienen una gran capacidad de adaptación bajo condiciones de sequía; además, ha sido capaz de desarrollar mecanismos fisiológicos para tolerar las temperaturas extremas, debido a que cubre de cera sus tallos y esto le permite conservar la humedad que capta del suelo, preservar la clorofila y protegerse del exceso de calor (Instituto de la Candelilla, 2013).

La cera de candelilla es reconocida como una sustancia natural segura para su aplicación en la industria alimenticia, además, se ha utilizado en la industria cosmética y la electrónica. Algunos de los productos generados comprenden los que son maquillaje, abrillantadores, pinturas, circuitos integrados, aislantes eléctricos, biopelículas alimentarias, entre otros (SEMARNAT, 2016). También se han reportado algunos otros usos como biocombustible con características parecidas al del biodiesel comercial (Torres Castro *et al*; 2015). Sin embargo, se ha demostrado que la planta de candelilla también contiene una cantidad importante de compuestos polifenólicos los cuales son reconocidos por su capacidad antioxidante (Aguilera-Carbó *et al*. 2008; Ascacio-Valdés *et al*. 2010; 2013).

Los antioxidantes son compuestos que inhiben y retardan la oxidación de otras moléculas y se dividen principalmente en dos categorías: sintéticos y naturales (Muñoz Juárez & Gutiérrez, 2010). Se ha demostrado que los radicales libres causan afectaciones en la salud debido a las actividades oxidativas que estos generan, como son, daños cerebrales, fallos cardiacos, cataratas, entre otros (Youngson, 2003). Los medios antioxidantes presentes en plantas son de gran ayuda al evitar los procesos oxidativos. De acuerdo a Marwah *et al.* (2007) antioxidantes como flavonoides, antocianinas, taninos, ligninas, ácidos fenólicos presentes en plantas pueden reducir los daños generados por los radicales libres. A pesar que la candelilla se ha utilizado principalmente para la extracción de su cera, se ha reportado que la planta de candelilla también contiene una cantidad importante de compuestos polifenólicos que han sido poco estudiados. Es por lo anterior que el presente trabajo fue desarrollado para explorar la planta de candelilla como fuente potencial de compuestos antioxidantes.

1.1 Hipótesis

La planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) 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 candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) de tres diferentes comunidades.

1.3 Objetivos específicos

1.3.1 Realizar el análisis químico proximal de la planta de candelilla de diferentes comunidades del Norte de México.

1.3.2 Extraer los compuestos polifenólicos de la candelilla.

1.3.3 Determinar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos por DPPH[•], ABTS^{•+}, y FRAP.

1.3.4 Analizar e identificar grupos funcionales mediante espectroscopía infrarroja por

transformada de Fourier (FTIR).

ii. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades de la Candelilla

La candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) presenta tallos largos y erectos de color verde grisáceos, con la particularidad de que en su parte externa producen un material ceroso (Rojas-Molina *et al.*, 2011). La presencia de cera es una respuesta adaptativa de *Euphorbia antisyphilitica* a las condiciones ambientales extremas de las regiones áridas donde se desarrolla. Este material ceroso, en plantas es comúnmente llamado cutícula y cubre completamente las partes aéreas de las plantas superiores; la cual es sintetizada por las células epidérmicas y cumple la función de aislar y proteger del medio externo que les rodea (Tafolla-Arellano *et al.*, 2013). Además, tiene una gran importancia ecológica debido a que cumple funciones importantes en los ecosistemas desérticos como la retención de humedad y partículas del suelo debido al crecimiento de sus macollos,, lo cual favorece el establecimiento de otras especies, esta función es particularmente importante al considerar que se trata de una especie altamente resistente a la sequía, además, protege al suelo de la radiación solar y del efecto del viento, evitando la erosión, particularmente en sitios con pendiente (Zamora-Martínez *et al.*, 2013).

La candelilla constituye uno de los 10 productos forestales no maderables de mayor importancia económica en México, pues su recolecta es una actividad económicamente muy relevante para los productores forestales de las zonas áridas, por su extensa aplicación en la industria de transformación (Zamora-Martínez *et al.*, 2013). Se estima la existencia de aproximadamente 3 500 pequeños productores, distribuidos en 230 ejidos de 33 municipios ubicados en el noreste de México. Su recolección para la obtención de su cera se realiza mayormente en el noreste del país, en la denominada región candelillera (Rojas-Molina *et al.*, 2011).

La cera de candelilla es un producto usado en la industria, desde la cosmética hasta la electrónica por sus características únicas como: color amarillo transparente, dureza, brillo, incluyendo fácil digestión sin ser tóxica; de acuerdo a la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica es una sustancia

generalmente reconocida como segura (Rojas-Molina *et al.*, 2013). Se ha demostrado la alta eficiencia de recubrimientos comestibles a base de cera de candelilla que prolongan la vida de anaquel de frutos frescos cortados (Saucedo-Pompa *et al.*, 2007) y de frutos como el aguacate (Saucedo-Pompa *et al.*, 2009), manzana (Ochoa *et al.*, 2011), papaya (Telles-Pichardo *et al.*, 2013) y pimientos (Ochoa-Reyes *et al.*, 2013), entre otros. Además, se ha desarrollado un método de extracción de cera de candelilla que incluye el uso de ácidos orgánicos no agresivos para el ser humano, dicho proceso se encuentra en proceso de solicitud de patente (León-Zapata *et al.*, 2010; MX/a/2010/002764).

Sin embargo, a pesar de su gran importancia económica, industrial, ecológica y biotecnológica no se han realizado los suficientes estudios fisiológicos, bioquímicos, funcionales que nos permitan comprender el potencial de los compuestos bioactivos.

La candelilla es considerada como una fuente de compuestos bioactivos de aplicación biotecnológica, y de hecho se ha logrado aislar e identificar compuestos bioactivos como elagitaninos con capacidad antifúngica ante cepas fitopatógenas como *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporoides* y *Rhizoctnia solani* (Ascacio-Valdés *et al.*, 2013). Sin embargo, la investigación en esta área es poca y representa una oportunidad para la generación de conocimiento innovador en este tema.

2.1.1 Botánica

Euphorbia antisyphilitica, fue descrita por Zuccarini, (1832) en la que se resaltan sus propiedades medicinales debido a los extractos de la planta. Por su parte Alcocer & Sanders (1910) renombró a la planta como *Euphorbia cerífera*, resaltando la capacidad de la planta y su producción de cera, la cual demostró ser eficiente en la retención de humedad. La cera producida por la planta es un mecanismo eficiente en la resistencia a altas temperaturas (Saucedo-Pompa *et al.*, 2007 & Instituto de Candelilla, 2008).

Su clasificación taxonómica es la siguiente:

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Dicotyledoneae*

Orden: *Euphorbiales*

Familia: *Euphorbiaceae*

Género: *Euphorbia*

Especie: *antisyphilitica*

2.1.2 Descripción morfológica de la planta

La candelilla es una planta de color verde blanquecino, este color blanquecino se debe a la cera que produce, siendo parte de su adaptación a las condiciones ambientales extremas (Esquivel, 1979).

Los tallos aéreos son rectos y sin ramificaciones, teniendo una longitud de 5-10 cm cuando son jóvenes, en plantas adultas su altura media oscila entre 45-70 cm. El diámetro medio va entre los 3 a 5 mm. En algunas ocasiones suelen verse colores de la planta un tanto más oscuros a otros, esto es debido al crecimiento de la planta, cuando es una planta adulta el color es más oscuro y en tallos jóvenes son de color verde blanquecino, como se muestra en la **Figura 1**. La cera comienza a formarse pequeños puntos, después se convierten en una especie de escamas y así hasta cubrir totalmente el tallo cuando la planta es adulta como se muestra en la **Figura 2**.

La cera del tallo se desprende en forma de laminillas, al realizar cortes del tallo se puede apreciar el látex de aspecto lechoso. Las hojas son sésiles, es decir, que no tienen órgano de soporte y presentan dos estipulas, una a cada lado de la base, pueden lograr medir de 6-10 mm de largo y 1 mm de ancho. En los tallos tiernos las hojas son poco visibles debido a que su tamaño es demasiado pequeño, mientras que en los tallos adultos son caducas, es decir, solo permanecen entre 15 a 20 días (Esquivel, 1979).



Figura 1. Planta de Candelilla

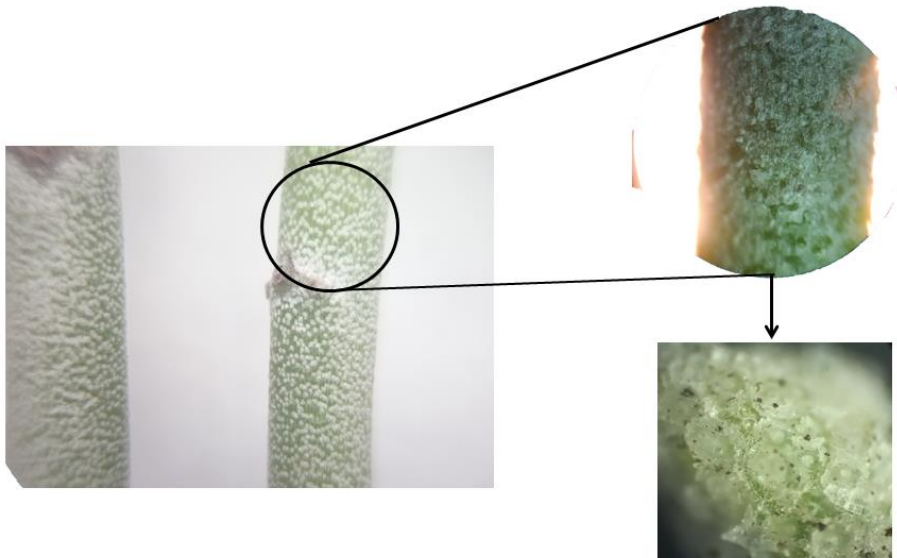


Figura 2. Características del tallo de la planta de candelilla.

2.1.3 Características de la semilla

La semilla es un órgano de gran importancia para la planta ya que cumple las funciones de dispersión, protección y reproducción de la especie. La estructura externa e interna de la semilla puede variar, estas variaciones pueden ser del tamaño y posición del endospermo y el embrión, textura, estructura y color de la cubierta de la semilla, la forma y sus dimensiones de tamaño (Flores Vindas, 1994).

2.1.4 Características de la raíz

Las raíces de esta planta son adventicias, muy numerosas y de color café muy claro. Estas nacen sobre la parte inferior del rizoma en una forma circular. En algunos casos las raíces presentan ramificaciones y están cubiertas por una cutícula fácil de desprender (Canales & Zamarron, 2005).

2.1.5 Características de la flor

La inflorescencia aparece en la parte superior del tallo en forma de espigas; las flores se diferencian en masculinas y femeninas sobre el mismo tallo; la sincronía en la inflorescencia puede no generar la fecundación de los embriones. El androceo presenta múltiples estambres de la misma longitud y arqueados con dos anteras y el gineceo se presenta en menor longitud. El ovario es tricarpelar antes de la fecundación se alarga el estilo, llevando el fruto a la punta, el cual queda separado del resto de los verticilos con una distancia de hasta 8 mm. (Alifíe Rojas, 2001)



Figura 3. Floración de Candelilla

2.1.6 Características del fruto

El fruto en forma de capsula contiene 3 semillas, con una longitud de 5mm y siendo de color café. Las semillas de igual forma suelen ser de color café claro, esto debido a que la cera la cubre totalmente (Alifíe Rojas, 2001).

2.1.7 Germinación

Para poder llevar a cabo la germinación es necesario hidratar las semillas, debido a que las células en estado latente requieren de este proceso para la expansión de la radícula y generación de una nueva planta. Existen tres maneras por las cuales las semillas absorben agua: imbibición, germinación sensu stricto y desarrollo del embrión (Flores Vindas, 1994).

2.1.8 Hábitat y distribución

La planta de candelilla se desarrolla casi únicamente en una región semiárida del norte de México, a esta zona se le conoce con el nombre de “El Desierto de Chihuahua”.

Esta zona tiene una extensión de más de 450,000 km², y abarca estados como Coahuila, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango y Chihuahua en territorio mexicano, y parte de Arizona, nuevo México y el sur de Texas en territorio estadounidense (Instituto de la Candelilla, 2008) (Figura 4).

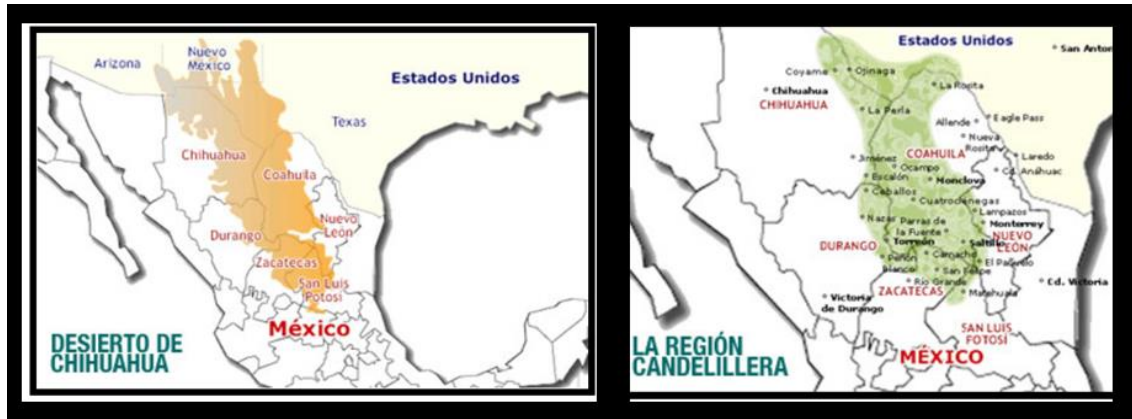


Figura 4. Desierto Chihuahuense y distribución de Candelilla en México
*obtenido de (Instituto de la Candelilla, 2008)

La sierra madre occidental y la sierra madre oriental son la causa de las condiciones desérticas del desierto de chihuahua, ya que bordean los límites de este y evitan la corriente de humedad del golfo de México y del océano pacífico.

La elevación de este territorio va desde los 300 m hasta los 1500 m, la mayor parte de su extensión está entre los 1000 m y 1500 m de altura. Las temperaturas van de los 13 a los 50 °C, en enero se encuentran las temperaturas más frías (13 °C) y en junio las más calientes (50 °C). Las lluvias son muy pocas, teniendo una precipitación pluvial anual menor a los 350 mm, con 8 hasta 12 meses secos (Instituto de la candelilla, 2008).

2.1.9 Usos de la candelilla

Debido a las características físicas como su dureza, brillo, y el color amarillo transparente, han permitido que al ser un producto de origen natural tenga un amplio uso en la industria cosmética y electrónica. El uso de biopelículas ha sido reconocido por la *Food and Drugs Administration* (FDA) debido a que no es tóxica y tiene una fácil digestión. En 2006, México tuvo una producción de 349 toneladas de cera con un valor superior a \$7, 677,582 pesos. La cera de candelilla ha sido exportada a países como: España, Alemania, China, Italia, Japón y Estados Unidos.

La producción de cera de candelilla es producto de más de 3,500 productores (Instituto de la Candelilla, 2008 & Canales y Zamarrón., 2006).

Cada vez es mayor el número de aplicaciones que tiene la cera de candelilla, como lo indica la **Figura 5** destacan la fabricación de cosméticos, pinturas, goma de mascar, ceras para calzado, ungüentos, jabones, envases desechables y productos para pulir y dar brillo a automóviles (Hagenmaier, 2000; Cervantes, 2002; Barsch, 2004).



Figura 5. Productos derivados de la cera de candelilla.

2.2 Propiedades antioxidantes

Los subproductos de candelilla fueron evaluados por Burboa *et al.* 2014. Los autores reportaron que los extractos etanólicos son capaces de inhibir más del 88% de los radicales DPPH' según la metodología utilizada para este análisis, que se relaciona con la presencia de compuestos fenólicos en estos extractos. Sin embargo, independientemente del alto contenido de compuestos fenólicos, la evaluación y explotación de las propiedades antioxidantes de los extractos de plantas de candelilla son muy poco explorados.

2.2.1 Métodos utilizados para determinar capacidad antioxidante

La determinación de la actividad antioxidantes se fundamenta en verificar si un agente oxidante genera reacciones oxidativas en un sustrato oxidable. Esto se comprueba en la inhibición y/o reducción ante un radical oxidante.

La inhibición generada se basa en los compuestos de la muestra mediante el radical oxidante. Otros experimentos cuantifican la oxidación ante los procesos oxidativos. (Fernández-Pachón *et al.*, 2006).

Se han realizado diferentes métodos los cuales difieren en aspectos tales como: la técnica utilizada, el sustrato, el agente oxidante, entre otras. Además, de que cada uno de los métodos tiene objetivos diferentes. Entre ellos señalamos la medida de la resistencia de un alimento a la oxidación, la evaluación cuantitativa del aporte en sustancias antioxidantes o la evaluación de la actividad antioxidante del plasma una vez ingerido el alimento (Frankel N & Meyer AS 2000; Arnao, *et al* 1999).

Para calcular la actividad antioxidante de muestras de alimentos son utilizados los métodos *in vitro*. Teniendo resultados limitados desde el punto de vista nutricional, ya que no reproducen la situación fisiológica. Para lograr una mayor aproximación algunos ensayos incluyen radicales relevantes en los sistemas biológicos (O_2 , H_2O_2 , ROO, OH) (Wayner, *et al* 1985).

2.2.1.1 Capacidad de eliminación de radicales DPPH'

Los radicales libres son producidos en los sistemas biológicos, estos radicales pueden causar diversos trastornos degenerativos, como mutagénesis, carcinogénesis, trastornos cardiovasculares y envejecimiento (Singh y Singh 2008).

El proceso oxidativo comprende tres pasos principales mediado por radicales libres: el inicio, la propagación y la terminación, los antioxidantes combaten los radicales libres interviniendo en cualquiera de estos tres pasos.

El DPPH' es un radical nitrogenado orgánico y estable de un intenso color púrpura, compuesto de moléculas estables de radicales libres.

Este método es utilizado para determinar la capacidad antioxidante con base en la disminución de color, medida a 517 nm, por acción de un compuesto antioxidante. Este método fue informado por primera vez por Brand-Williams *et al.* (1995).

El DPPH[•] muestra una banda de absorción fuerte a 517 nm debido a su electrón desapareado y la solución aparece de un color violeta intenso, la absorción desaparece cuando el electrón se aparea. La decoloración resultante es estequiometría con respecto al número de electrones absorbidos.

2.2.1.2 Determinación del poder de reducción de hierro (FRAP)

El fundamento del método FRAP se basa en la reducción del hierro férrico (Fe^{+3}) presente en el reactivo de FRAP hasta la forma ferrosa (Fe^{+2}) por presencia de antioxidantes.

La metodología usada en esta técnica consiste en medir el incremento en la absorbancia a 593 nm que se genera cuando el complejo TPTZ- Fe^{+3} se reduce a TPTZ- Fe^{+2} (Benzie y Strain, 1996). De esta forma, la capacidad antioxidante que presentan los extractos de diferentes frutas y vegetales se mide como la capacidad reductora del extracto (Rioja-Antezana *et al.*, 2018).

Es una técnica espectrofotométrica simple y barata. Sin embargo, la relevancia de este ensayo es un tanto incierta, debido a que la reacción del ensayo se produce por transferencia de electrones, que no imita situaciones fisiológicas. Además, no todos los antioxidantes son capaces de reducir Fe.

2.2.1.3 Determinación de inhibición de radicales (ABTS^{•+})

Este método permite la medición de la actividad antioxidante de mezclas de sustancias y por lo tanto ayuda a distinguir entre efectos aditivos y sinérgicos. Su fundamento se basa en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS^{•+}, debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones. Las mediciones se realizan a una longitud de onda de 734 nm (Re *et al.*, 1999).

Los resultados se expresaron como valores TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*) mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante TROLOX (A. Mesa-Venegas, *et al*, 2015).

2.3 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una técnica analítica que se aplica a la caracterización de biomateriales. Es relativamente simple, reproducible, no destructiva, y sólo se necesitan pequeñas cantidades de material (microgramos a nanogramos) con una preparación mínima de la muestra. Además, esta técnica también proporciona información a nivel molecular que permite la investigación de grupos funcionales, tipos de enlaces y conformaciones moleculares. Las bandas espectrales en los espectros vibracionales son específicas de la molécula y proporcionan información directa sobre la composición bioquímica (Movasaghi *et al.*, 2008).

iii. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal

El material fue colectado en tres diferentes ejidos (**Tabla 1**). Una vez recolectadas las muestras vegetales fueron transportadas al Laboratorio de 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.

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

Especie	Municipio	Ejido	Latitud	Longitud	Altitud
<i>Euphorbia antisyphilitica</i>	Melchor Ocampo (Zac)	San Jerónimo	22°39'11.95"	102°29'24.32"	2275
<i>Euphorbia antisyphilitica</i>	Cuatro Ciénegas (Coah)	Estanque de León	25°42'35.55"	103°18'02.27"	1115
<i>Euphorbia antisyphilitica</i>	Ramos Arizpe (Coah)	Tortuga	25°51'39.77"	101°16'30.53"	984

*Zacatecas (Zac), Coahuila (Coah).

3.2 Reactivos químicos

Etanol, ácido gálico, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]), ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS^{•+}), persulfato de potasio (K₂S₂O₈), fosfato de potasio dibásico (K₂HPO₄) 1 M, fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄) 1 M, ferrocianuro de potasio (C₆N₆FeK₄), ácido tricloroacético (CCl₃COOH), cloruro férrico (FeCl₃), reactivos como Amberlita XAD-16, solventes metanol, H₂O destilada.

3.3 Métodos para el análisis químico proximal

3.3.1 Determinación de Cenizas

Los materiales y equipos empleados fueron 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:

$$\% \text{ Ceniza} = \frac{\text{Peso del crisol} + \text{ceniza} - \text{Peso de crisol vacío}}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

3.3.2 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:

$$\% N = \frac{(\text{ml de H}_2\text{SO}_4 \text{ gastados en muestra} - \text{ml de H}_2\text{SO}_4 \text{ gastados en blanco})(\text{normalidad del ácido})(0.014) \times 100}{\text{gr de muestra}}$$

$$\% \text{ Proteína Cruda} = \% N \times 6.25$$

3.3.3 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,

dsecador, 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.

$$\%EE = \frac{\text{peso de matraz} + \text{grasa} - \text{peso de matraz vacío} \times 100}{\text{gr de muestra}}$$

% EE = porcentaje de extracto etéreo.

3.3.4 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:

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

%FC = porcentaje de fibra cruda.

3.3.5 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:

$$\begin{aligned} \% \text{ de E.L.N.} \\ &= \% \text{ cenizas} + \% \text{ extracto etéreo} + \% \text{ proteína cruda} \\ &+ \% \text{ fibra cruda} - 100 \end{aligned}$$

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

3.4 Extracción de Polifenoles

3.4.1 Extracción y purificación de la muestra

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

3.5.1 Preparación de las muestras para analizar

Para las pruebas de DPPH[•], FRAP y ABTS^{*+} 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^{*+}.

3.5.2 Ensayo DPPH[•]

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

Tabla 2. Curva de calibración de ácido gálico

[ppm]	μl de solución <i>stock</i>	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:

$$\% \text{ Inhibición} = \left[\frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \right] \times 100$$

Donde A_{control} representa el valor de la absorbancia del control y A_{muestra} 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 madre de ácido gálico a una concentración de 200 ppm y realizar la siguiente curva de calibración.

Tabla 3. Curva de calibración de ácido gálico

[ppm]	μl de solución <i>stock</i>	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

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% ($\text{C}_6\text{FeK}_4\text{N}_6$) 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.

3.5.4 Ensayo ABTS^{•+}

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

Tabla 4. Curva de calibración de Trolox

[ppm]	μl de solución <i>stock</i>	μl de H_2O	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:

$$\% \text{ de Inhibición} = \left[\frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \right] \times 100$$

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

3.6 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 trama 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 varianza SAS (versión 9.4. SAS Institute, Cary, NC).

iv. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis químico proximal

El análisis proximal comprende las determinaciones que se realizan más frecuentemente para conocer la composición de los macro componentes presentes en los alimentos y tejidos vegetales e incluyen la determinación de humedad, cenizas, extracto etéreo (grasa cruda), proteína cruda, fibra bruta y carbohidratos asimilables (Vásquez, & Fernández, 2020).

En la **Tabla 5** se muestran los resultados de análisis realizados para la variable de ceniza (**Figura 6**) no mostraron diferencia estadística entre las localidades de Estanque de León y Tortuga; sin embargo, la localidad de San Jerónimo sí mostró diferencia estadística con un valor de $11.70 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ de planta seca. Estos resultados son similares con los reportados por Rojas *et al.* (2013) con valores de $10.9 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ de contenido de ceniza. Para el contenido de proteína (**Figura 7**), Gallina, & González, (2007) han reportado valores promedios de $4.0 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ en tallos de candelilla, los cuales son similares y no existen diferencias estadísticas en las localidades evaluadas. Sin embargo, estos valores obtenidos son superiores a los reportados por Rojas *et al.* (2013), con valores de $2.3 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ de proteína cruda. Para el contenido de grasa (**Figura 8**) las localidades Estanque de León y Tortuga no mostraron diferencia estadística, siendo la localidad de San Jerónimo la que mostró diferencia estadística con un valor de $5.93 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ en tallos de candelilla. En este sentido, Gallina, & González, (2007) y Rojas *et al.* (2013) reportan valores superiores con un total de 10 y $15.9 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ en tallos de candelilla, respectivamente. Para fibra cruda (**Figura 9**) las tres localidades analizadas muestran diferencias estadísticas con valores entre $23.30\text{-}33.26 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ en tallos de candelilla. En este sentido Rojas *et al.* (2013) reportaron valores inferiores a de $9.0 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ en tallos de candelilla. Se ha reportado que esto puede variar en las plantas debido a su etapa de desarrollo, ya que a menor edad se presentan mayores concentraciones de fibra cruda (Cevallos *et al.*, 2008). Los resultados de ELN obtenidos no mostraron diferencias estadísticas entre las localidades Estanque de León y Tortuga, siendo San Jerónimo la única que fue diferente estadísticamente con un valor de $63.20 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ en tallos de candelilla.

La composición química de las plantas está fuertemente influenciada por algunos factores como las condiciones climáticas, estaciones del año, la variabilidad genética, etapa de desarrollo, entre otras.

Tabla 5. Análisis químico proximal de *Euphorbia antisiphilitica* (g 100g⁻¹)

LOCALIDAD	CENIZA	PROTEÍNA	GRASA	FIBRA	EXTRACTO L. N.
Tortuga	8.56 a	4.12 a	3.82 a	23.30 a	53.68 a
Estanque de León	8.96 a	4.26 a	3.84 a	27.03 b	54.66 a
San Jerónimo	11.70 b	4.18 a	5.93 b	33.26 c	63.20 b

*Letras iguales significan que no hay diferencia estadística. Las pruebas fueron realizadas con una significancia a ($p < 0,05$).



Figura 6. Resultado de cenizas de cada una de las localidades.



Figura 7. Proceso de digestión para determinar proteína cruda.



Figura 8. Resultado de extracción de grasa.



Figura 9. Obtención de fibra cruda.

4.2 Rendimiento de proceso de extracción de polifenoles

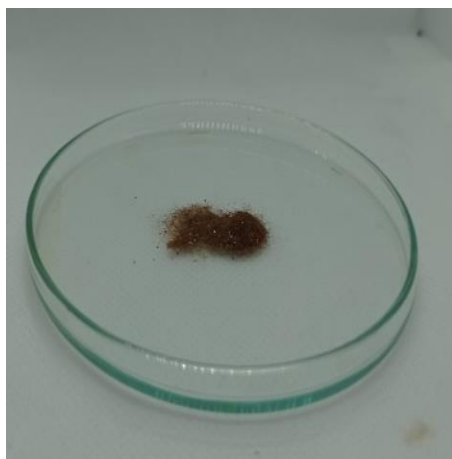


Figura 10. Resultado de polifenoles de una extracción.

Tabla 6. Rendimiento del proceso de extracción de polifenoles.

Localidad	Muestra utilizada (g)	Gramos obtenidos	Rendimiento (mg/g ⁻¹)
San Jerónimo	20	0.14±0.03	7 a
Ejido Tortuga	20	0.21±0.02	10.5 b
Estanque de León	20	0.17±0.03	8.5 a

En la **Tabla 6**, podemos observar los rendimientos en la extracción de polifenoles (mg/g⁻¹). Las plantas obtenidas de localidades San Jerónimo y Estanque de León no mostraron diferencias estadísticas, El ejido Tortuga fue del que se obtuvo mayor cantidad de polifenoles con 10.5 mg/g⁻¹ (**Figura 10**). En este sentido, Télles-Pichardo *et al* (2013) en un análisis para cubiertas comestibles, reportaron que su rendimiento de polifenoles fue de 7.41 mg/g, mismo que es similar a los resultados obtenidos en un estudio realizado por Ascasio-Valdés *et al* (2010), quienes reportaron la misma técnica de extracción.

4.3 Análisis de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los diferentes compuestos se mide en función del grado de decoloración que causan en la solución del radical monocatiónico ABTS^{•+} o del radical DPPH[•]. El ensayo de decoloración se basa en la capacidad que tiene la sustancia a prueba de capturar el electrón desapareado del radical o de liberar un protón (Aguirre, *et al*, 2015).



Figura 11. Lectura de Ensayo ABTS^{•+}

Tabla 7. Evaluación de la capacidad antioxidante.

Localidad	DPPH [•] IC ₅₀ Eq. ác. gálico (µg mL ⁻¹)		ABTS ^{•+} IC ₅₀ Eq. Trolox (µg mL ⁻¹)		FRAP mE ácido gálico			
					25 (µg mL ⁻¹)		50 (µg mL ⁻¹)	
San Jerónimo	54.67	a	60.34	b	16.51	a	27.71	a
Estanque de León	54.33	a	61.72	b	16.89	a	31.61	a
Tortuga	39.52	b	34.75	a	14.75	a	41.73	b

* (Eq. ac. gálico mg/L) equivalente ácido gálico, * (Eq. Trolox mg/L) equivalente Trolox. * (%inh) porcentaje de inhibición. La prueba realizada fue con una significancia de (p<0.05). Letras iguales denotan que no existe diferencia estadística.

El análisis de la capacidad antioxidante DPPH[•] (**Tabla 7**) mostró que la muestra de la localidad de Tortuga fue la única con diferencias significativas con un IC₅₀ de 39.52 Eq. ac. gálico (µg mL⁻¹), seguido de las muestras obtenidas de las comunidades de Estanque de León y San Jerónimo.

Para el análisis de la capacidad antioxidante ABTS^{•+} las localidades de Estanque de León y San Jerónimo no mostraron diferencias significativas, siendo Tortuga la que mostró diferencia significativa con un IC₅₀ de 34.75 Eq. Trolox (µg mL⁻¹).

En el análisis de FRAP se obtuvieron resultados con mayor capacidad antioxidante en las pruebas realizadas a 50 µg m L⁻¹, siendo Tortuga quien mostró diferencia significativa con un valor de 41.73 mE de ácido gálico. Para el caso de la concentración de 25 µg m L⁻¹ no se encontraron diferencias significativas entre localidades. Se ha reportado que diferentes especies de *Euphorbia* de regiones semiáridas han mostrado una actividad antioxidante y actividades antiinflamatorias como *Euphorbia thymifolia* linn en extractos etanólicos (Garipelli *et al.*, 2012).

Bautista-Hernández *et al.*, (2021) realizaron un estudio similar con subproductos de la candelilla, en el cual reportaron diferencia significativa en el ensayo DPPH[•] con valores de 319.2 a 388.6 µg m L⁻¹. Para el analisis de ABTS^{•+} reportaron valores similares a los de nuestro estudio en candelilla que habia sido tratada con ácido sulfúrico en la extracción de cera. La actividad antioxidante manifestada en las muestras es atribuida

al contenido de polifenoles presentes en el material vegetal evaluado, tal es el caso de la localidad de Tortuga que muestra mayor rendimiento de polifenoles así como mayor capacidad antioxidante.

Algunos de los compuestos fenólicos que se han logrado identificar en candelilla y subproductos son ácido elágico, ácido gálico, taninos condensados e hidrolizables, candelitaninos y catequina. De los cuales se ha reportado actividad antimicrobiana, antioxidante, antitumoral, antifúngica y antiviral, entre otras (Rojas *et al.*, 2021).

4.4 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

En este análisis se pueden observar diferentes lecturas de absorbancias de cada una de las tres localidades.

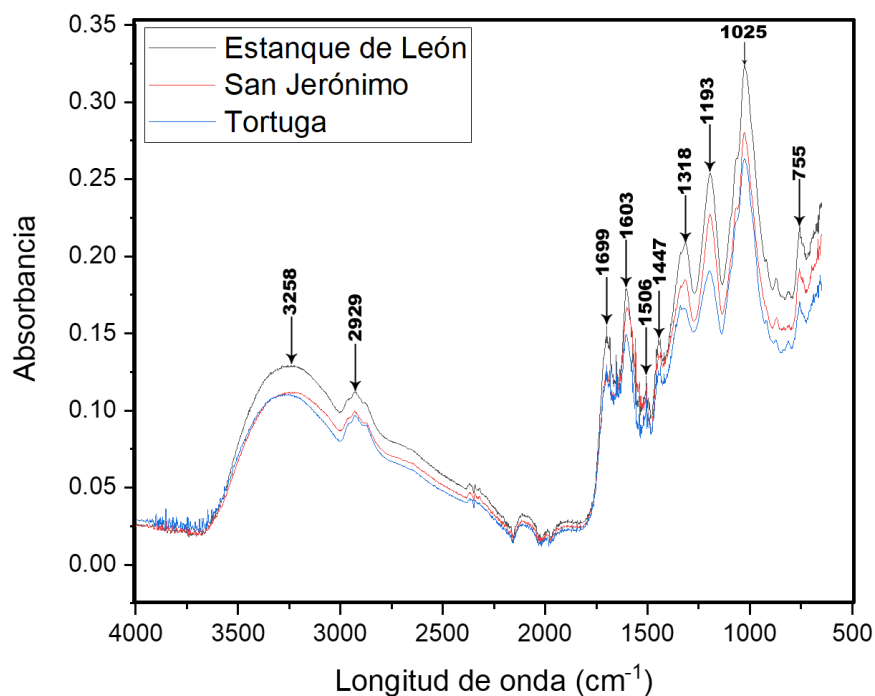


Figura 12. Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de candelilla
**La longitud de onda está dada en cm⁻¹

Se ha reportado que el rango de los 3300 a 3000 cm⁻¹ indica la presencia del grupo funcional OH este grupo se puede encontrar en compuestos alcohólicos aromáticos, alifáticos y fenólicos hidrogenados. Entre la señal de 2920 y 2850 cm⁻¹, se observa la presencia de C – H esto debido a que los grupos metilo y metileno que están presentes en los compuestos aromáticos. El pico mostrado en los rangos de 1700 y 1600 cm⁻¹ se

observa la presencia del grupo N – H, esto indica la presencia de compuestos con un anillo aromático que puede corresponder a amidas aromáticas o aminas. Las señales entre 1500 y 1400 cm^{-1} se deben al alargamiento de los grupos carbonilo, mientras que los picos en la región de 1350 y 1300 cm^{-1} indican la deformación de los enlaces C=C del anillo aromático.

La señal en la banda de absorción de 1200 cm^{-1} es atribuible a O – H en la deformación de polifenoles, mientras que entre 1150 y 1000 cm^{-1} indica la presencia del grupo funcional C – O – H de alcoholes, finalmente, en la banda de 750 cm^{-1} , se observó la presencia del grupo C – H, lo que indica la presencia de ácidos carboxílicos aromáticos.

Los estudios polifenólicos que realizó Bautista-Hernández *et al* (2021) fundamentan los resultados obtenidos en este análisis, ya que estos resultados no muestran diferencia significativa con los picos mostrados en la lectura de absorbancia que reportan en su investigación, cabe señalar que algunas de las muestras de candelilla que ellos analizan se analizaron en el presente estudio. Algunos otros análisis anteriores informaron espectros de IR similares; por ejemplo, Aguirre-Joya y col (2009) analizaron cubiertas y películas comestibles basadas en candelilla y polifenoles; sin embargo, Oliveria *et al* (2016) indicó que el pico a 1645 cm^{-1} (C=O) se debe a la presencia de flavonoides. Al contrario de lo obtenido dentro de la región entre 1700 y 1600 cm^{-1} , la presencia del grupo N – H, que señala la presencia de compuestos con un anillo aromático que puede corresponder a amidas o aminas aromáticas, coincide con los hallazgos reportados por (Ay *et al.*, 2012) en muestras de *Punica granatum* L.

v. CONCLUSIÓN

El presente estudio demostró el potencial que tiene la planta de candelilla como fuente de compuestos polifenólicos con capacidad antioxidante que pueden tener aplicaciones biotecnológicas, alimentarias o farmacéuticas. La extracción de polifenoles mostró a la localidad de Tortuga con mayor rendimiento, con un total de 10.5 mg/g^{-1} , seguido de la localidad Estanque de León y por último el de menor rendimiento fue la localidad de San Jerónimo. La candelilla del ejido Tortuga mostró la mayor capacidad antioxidante alcanzando el IC_{50} a $39.52 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ (DPPH \cdot) y a $34.75 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ (ABTS $^{+\cdot}$), respectivamente. El análisis de FTIR se logró identificar a los diferentes grupos funcionales que se encuentran en la planta de candelilla. En las tres localidades se observó el pico más alto a una longitud de onda de $1025 \text{ (cm}^{-1}\text{)}$ en el cual se encuentra el grupo funcional C–O–H de alcoholes.

vi. REFERENCIAS

- Aguirre, O. E. R., Andrade, W., & López, F. E. D. (2015). Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L.(Papaveraceae). *Revista de Tecnología*, 14(2), 21–36.
- Aguirre-Joya, J. A., Cerqueira, M. A., Ventura-Sobrevilla, J., Aguilar-Gonzalez, M. A., Carbó-Argibay, E., Castro, L. P., & Aguilar, C. N. (2019). Candelilla wax-based coatings and films: Functional and physicochemical characterization. *Food and Bioprocess Technology*, 12(10), 1787–1797.
- Alcocer G., S. J. M. (1910). *Euphorbia cerifera*. *Anales Del Instituto Medico Nacional Mexico*.
- Álvarez, R. T., & Sugiyama, M. E. I. (2010). Experiencias de vida y en servicios de salud de pacientes con lesión medular traumática. *Psicología y Salud*, 20(2), 189–194.
- A.O.A.C. Official Methods of Analysis, 13th ed.1980. Association of Official Analytical Chemists. Washington D.C.
- Aponte, H., Segura, C., & Francia, J. C. (2013). Análisis químico proximal de *Limnobium laevigatum* y su potencial para su uso como forraje. *Científica*, 10(2), 158–167.
- Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. (1999). Methods to measure the antioxidant activity in plant material. A comparative discussion. *Free Radical Research*, 31(sup1), 89–96.
- Ascacio-Valdés, J. A., Aguilera-Carbó, A., Martínez-Hernández, J. L., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2010). *Euphorbia antisiphilitica* residues as a new source of ellagic acid. *Chemical Papers*, 64(4), 528–532.
- Ascacio-Valdés, J., Burboa, E., Aguilera-Carbo, A. F., Aparicio, M., Pérez-Schmidt, R., Rodríguez, R., & Aguilar, C. N. (2013). Antifungal ellagitannin isolated from *Euphorbia antisiphilitica* Zucc. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(1), 41–46.
- Ay, Ç. Ö., Özcan, A. S., Erdoğan, Y., & Özcan, A. (2012). Characterization of *Punica granatum* L. peels and quantitatively determination of its biosorption behavior towards lead (II) ions and Acid Blue 40. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 100, 197–204.
- Ay, Ç. Ö., Özcan, A. S., Erdoğan, Y., & Özcan, A. (2012). Characterization of *Punica granatum* L. peels and quantitatively determination of its biosorption behavior

- towards lead (II) ions and Acid Blue 40. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 100, 197–204.
- Barsch, F. (2004). Candelilla (*Euphorbia antisiphilitica*): utilization in Mexico and international trade. *Medicinal Plant Conservation*, 9(10), 46–50.
- Bautista-Hernández, I., Aranda-Ledesma, N. E., Rojas, R., Tafolla-Arellano, J. C., & Martínez-Ávila, G. C. G. (2021). Antioxidant activity of polyphenolic compounds obtained from *Euphorbia antisiphilitica* by-products. *Heliyon*, 7(4), e06734.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.
- Burboa, E. A., Ascacio-Valdés, J. A., Zugasti-Cruz, A., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2014). Capacidad antioxidante y antibacteriana de extractos de residuos de candelilla. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 45(1), 51–56.
- Bustos, B. C. V. (2006). Habilidad del cuidador y funcionalidad de la persona cuidada. *Aquichan*, 6(1), 137–147.
- Canales, E. C. V. y Z. E. M. (2005). *La riqueza de los bosques mexicanos más allá de la madera. In Candelilla: gotas de cera del desierto mexicano alrededor del mundo.* (S. C. y G. S. López C. (ed.)).
- Canales, G. E., Canales-Martínez, V., & Zamarrón-Rodríguez, E. M. (2006). Candelilla del desierto mexicano hacia el mundo. *Biodiversitas*, 69(1), 1–5.
- Cano P, A.; Berlanga R., C.A.; Castillo Q., D; Martínez B., O.U y Zárata L., A. (2005). *Análisis Dimensional y tablas de producción de sotol.*
- Cervantes Ramírez, M. C. (2002). *Plantas de importancia económica en las zonas áridas y semiáridas de México.*
- Cevallos, J. H. A., Guerrero, F. C., Zamora, G. Q., Murillo, R. L., Valdez, O. D. M., Guerra, I. E., Montes, S. Z., Garaicoa, D. R., Ruiz, J. V., & Mendoza, E. P. (2008). Comportamiento agronómico y composición química de tres variedades de *Brachiaria* en diferentes edades de cosecha. *Revista Ciencia y Tecnología*, 1(2), 87–94.
- CONAFOR. (2016). *CONAFOR.*
- Duran, R. M., & Padilla, R. B. (1993). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. *Grasas y Aceites*, 44(2), 101–106.

- Esquivel, M. (1979). Candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) Estudio monográfico. *Tesina Biólogo. Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de Los Garza, Nuevo León, México.*
- Fernández-Pachón, M., Villaño, D., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. (2006). Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 56(2), 110–122.
- Flores Vindas, E. M. (1994). *La planta: estructura y función* (Issue 581.1 F634p2). Cartago, CR: Tecnológica de CR.
- Frankel, E. N., & Meyer, A. S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1925–1941.
- Gallina, S., García Feria, L., & González-Trápaga, R. (2007). Ocotillo flowers as food resource for the mule deer during the dry season. *Therya* [online]. 2017, vol. 8, n. 2. *ISSN, 3364*, 185–188.
- Garipelli, N., Runja, C., Potnuri, N., & Pigili, R. K. (2012). Anti-inflammatory and antioxidant activities of ethanolic extract of *Euphorbia thymifolia* linn whole plant. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 4(3), 516–519.
- Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F., & Scaccini, C. (2000). Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radical Biology and Medicine*, 29(11), 1106–1114.
- Guillen Paredes, R. (1998). *Estudio botánico, bromatológico y fotoquímico preliminar de euphorbia neriifolia (“tirabuzón”)*. Universidad de El Salvador.
- Hagenmaier, R. D. (2000). Evaluation of a polyethylene–candelilla coating for ‘Valencia’ oranges. *Postharvest Biology and Technology*, 19(2), 147–154.
- Instituto de la Candelilla. (2013). *Planta de Candelilla*. Candelilla.Org. https://www.candelilla.org/?page_id=528&lang=es
- Iris FF Benzie. (2003). Evolución de los antioxidantes dietéticos. In *Fisiología molecular e integrativa* (pp. 113–126).
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412–422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>

- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), 726–732.
- Londoño Londoño, J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. In *Desarrollo y transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia*. Corporación Universitaria Lasallista.
- López Vanegas, M. A., Caicedo Roa, M., & Gualteros Chávez, D. M. (n.d.). Propuesta de plan de egreso para pacientes con enfermedad crónica y sus cuidadores tratados en el Instituto de Ortopedia Infantil Roosevelt/Exit plan proposed for chronic disease patients and their caregivers in treated Infantile Orthopedic Institute of R. *Carrera de Enfermería*.
- López, E. T., Leonel, A. A., Ávila, M. Á. C., & Castolo, E. M. C. (2014). El plan de alta de enfermería y su impacto en la disminución de reingresos hospitalarios. *Revista de Enfermería Neurológica*, 13(1), 12–18.
- Mahomoodally, M. F., Dall'Acqua, S., Sinan, K. I., Sut, S., Ferrarese, I., Etienne, O. K., Sadeer, N. B., Ak, G., & Zengin, G. (2020). Phenolic compounds analysis of three Euphorbia species by LC-DAD-MSn and their biological properties. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 189, 113477.
- Marwah, R. G., Fatope, M. O., Mahrooqi, R. Al, Varma, G. B., Abadi, H. Al, & Al-Burtamani, S. K. S. (2007). Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman. *Food Chemistry*, 101(2), 465–470.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.001>
- 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>
- Ochoa, E., Saucedo-Pompa, S., Rojas-Molina, R., Garza, H. de la, Charles-Rodríguez, A. V., & Aguilar, C. N. (2011). Evaluation of a candelilla wax-based edible coating to prolong the shelf-life quality and safety of apples. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(1), 92–98.
<https://doi.org/10.3844/ajabssp.2011.92.98>
- Ochoa-Reyes, E., Martínez-Vazquez, G., Saucedo-Pompa, S., Montañez, J., Rojas-Molina, R., Leon-Zapata, M. A. de, Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2021). Improvement of shelf life quality of green bell peppers using edible coating

- formulations. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021, 2448–2451.
- PASTENE, E. R. (2009). Estado actual de la búsqueda de plantas con actividad antioxidante. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(6), 449–455.
- Puntunet, B. M., López, F. L., Domínguez, B. A., Cadena, J. C., Ruíz, A. C., & Teniza, N. D. (2010). Diseño y validación de un formato general para documentar el plan de alta en la persona con alteración cardiovascular. *Revista Mexicana de Enfermería Cardiológica*, 18(1–2), 18–22.
- 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.
- Rioja Antezana, A. P., Vizaluque, B. E., Aliaga-Rossel, E., Tejeda, L., Book, O., Mollinedo, P., & Peñarrieta, J. M. (2018). Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de chenopodium quinoa. *Revista Boliviana de Química*, 35(5), 168–176.
- Rojas Molina, R., Saucedo Pompa, S., De León Zapata, M. A., Jasso Cantú, D., & Aguilar, C. N. (2011). Pasado, presente y futuro de la candelilla. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 2(6), 7–18.
- Rojas-Molina, R., De León-Zapata, M. A., Saucedo-Pompa, S., Aguilar-Gonzalez, M. A., & Aguilar, C. N. (2013). Chemical and structural characterization of Candelilla (*Euphorbia antisiphilitica* Zucc.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(12), 702–705.
- Rojas, R., Tafolla-Arellano, J. C., & Martínez-Ávila, G. C. G. (2021). *Euphorbia antisiphilitica* Zucc: A Source of Phytochemicals with Potential Applications in Industry. *Plants*, 10(1), 8.
- Saucedo-Pompa, S., Rojas-Molina, R., Aguilera-Carbó, A. F., Saenz-Galindo, A., de La Garza, H., Jasso-Cantú, D., & Aguilar, C. N. (2009). Edible film based on candelilla wax to improve the shelf life and quality of avocado. *Food Research International*, 42(4), 511–515.
- Singh S, S. R. (2008). In vitro métodos de ensayo de antioxidantes. *In Vitro Métodos de Ensayo de Antioxidantes*, 392–415.
- Tafolla-Arellano, J. C., González-León, A., Tiznado-Hernández, M. E., Zacarías García, L., & Báez-Sañudo, R. (2013). Composición, fisiología y biosíntesis de la cutícula en plantas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(1), 3–12.

- Télles-Pichardo, R., Cruz-Aldaco, K., Ochoa-Reyes, E., Aguilar, C. N., & Rojas, R. (2013). Cubiertas Comestibles de Cera y Polifenoles de Candelilla: Una Alternativa de Conservación d Conservación de Papaya (e Papaya (Carica papaya L.) Edible Coatings of Wax and Polyphenols f Edible Coatings of Wax and Polyphenols from Candelilla: An Al rom Can. *Revista Científica de La Universidad Autónoma de Coahuila*, 5(10).
- Then, M. (2003). Examination on antioxidant activity in the greater celandine (Chelidonium majus L.) extracts by FRAP method. *Acta Biologica Szegediensis*, 47(1-4), 115-117.
- Tixtha López, E., Alba Leonel, A., Córdoba Ávila, M. Á., & Campos Castolo, E. M. (2014). El plan de alta de enfermería y su impacto en la disminución de reingresos hospitalario. *Rev. Enferm. Neurol*, 12-18.
- Torres Castro, A., Garza Navarro, M. A., Ortiz Méndez, U., & González González, V. A. (2015). Candelilla del semidesierto mexicano como fuente de biocombustible. *Ingenierías*, 18(69), 22-29.
- Vásquez, F. M. F. F., & Fernández, H. Z. (2020). Análisis proximal en alimentos Fundamentos teóricos y técnicas experimentales. *Biblioteca Colloquium*.
- Viera, V. B., Piovesan, N., Rodrigues, J. B., de O Mello, R., Prestes, R. C., dos Santos, R. C. V, de A Vaucher, R., Hautrive, T. P., & Kubota, E. H. (2017). Extraction of phenolic compounds and evaluation of the antioxidant and antimicrobial capacity of red onion skin (*Allium cepa* L.). *International Food Research Journal*, 24(3).
- Vindas, E. F. (2013). *La planta: estructura y función*. Instituto Tecnológico de Costa Rica.
- Wayner, D. D. M., Burton, G. W., Ingold, K. U., & Locke, S. (1985). Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation: The important contribution made by plasma proteins. *FEBS Letters*, 187(1), 33-37.
- Youngson, R. (2003). *Antioxidantes y radicales libres* (Vol. 132). Edaf.
- Zamora Martínez, M. C., Méndez Espinoza, C., Pérez Miranda, R., & Cortés Barrera, E. N. (2013). *Euphorbia antisiphilitica* Zucc.: recurso forestal no maderable de alto valor económico.
- Zapata, K., Cortes, F. B., & Rojano, B. A. (2013). Polifenoles y actividad antioxidante del fruto de guayaba agria (*Psidium araca*). *Información Tecnológica*, 24(5), 103-112.

Zuccarini, J. G. (1832). Description of *Euphorbia antisiphilitica* Zuccar. *Adhandlungen Der Mathematisch-Physikalischen Classe Der Koeniglich Bayerischen Akademie Der Wissenschaften*, 1, 35–36.

Vii. ANEXOS

Resultados de Análisis estadístico Comparación de medias de los análisis químicos proximales Correlación entre variables

	CEN	PRO	GRA	FIB	ELN
CEN	1.0000	0.0328	0.9499	-.2517	-.3010
PRO		1.0000	0.1366	-.1471	0.0881
GRA			1.0000	-.0984	-.4432
FIB				1.0000	-.8447
ELN					1.0000

*significancia de la correlación al ($p < 0,05$). Cenizas CEN, proteína PRO, grasa GRA, fibra FIB y extracto libre de nitrógeno ELN.

Análisis de varianza de las técnicas DPPH^{*} y ABTS^{**}

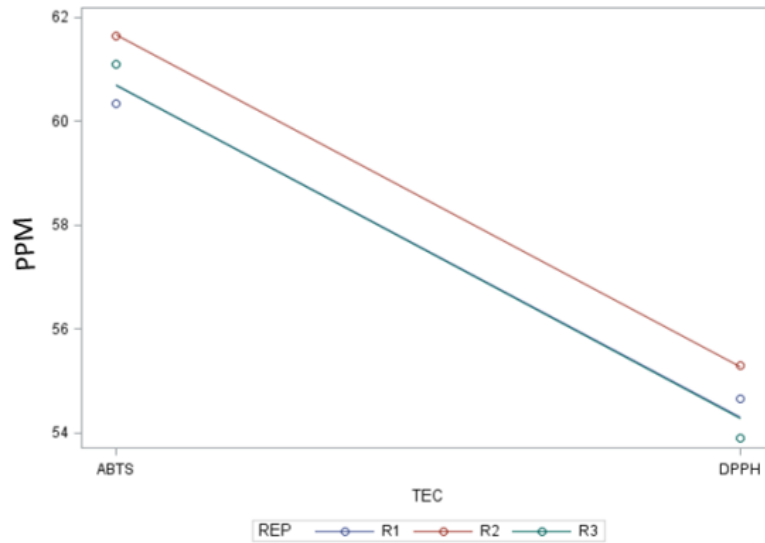
Análisis de varianza de la localidad San Jerónimo

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	62.82270000	20.94090000	72.31	0.0137
Error	2	0.57923333	0.28961667		
Total corregido	5	63.40193333			

*Grados de libertad DF.

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TEC	1	61.56806667	61.56806667	212.58	0.0047
REP	2	1.25463333	0.62731667	2.17	0.3159

*Grados de libertad DF, suma de cuadrados SS.



Variación de las concentraciones de la localidad San Jerónimo
*partes por millón PPM, técnica TEC.

Análisis de varianza de la localidad Estanque de León

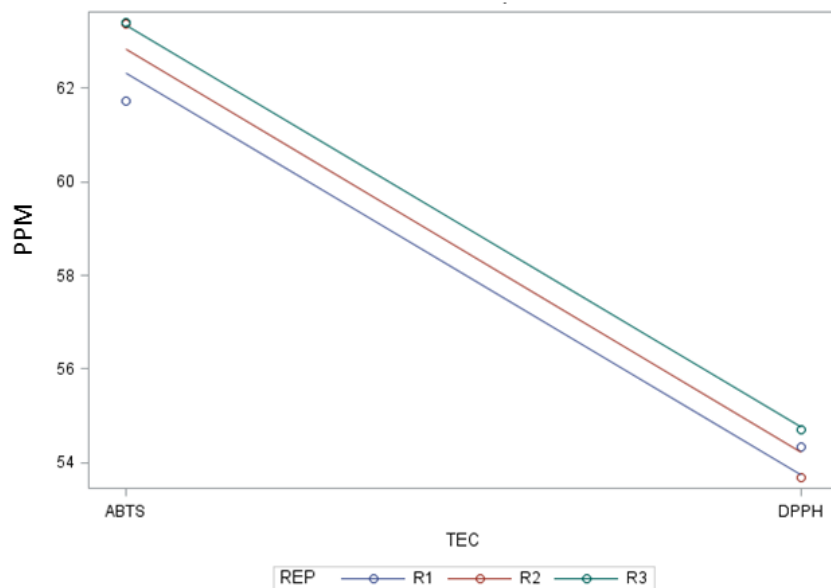
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	111.7228500	37.2409500	55.46	0.0178
Error	2	1.3431000	0.6715500		
Total corregido	5	113.0659500			

*Grados de libertad DF.

Valores cuadrados y probabilidad F de la localidad Estanque de León

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TEC	1	110.6821500	110.6821500	164.82	0.0060
REP	2	1.0407000	0.5203500	0.77	0.5634

*Grados de libertad DF, suma de cuadrados SS.



Variación de las concentraciones de la localidad Estanque de León
*partes por millón PPM, técnica TEC.

Análisis de varianza de la localidad Tortuga

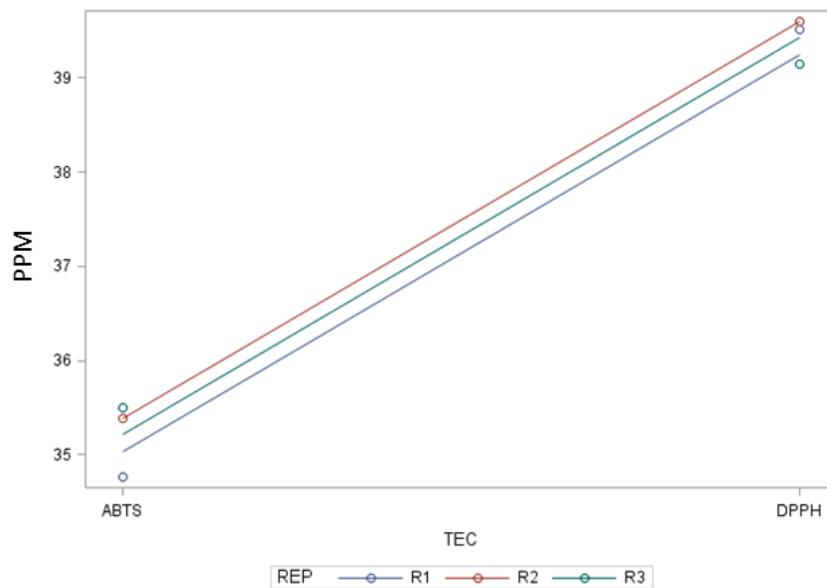
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	26.70878333	8.90292778	57.79	0.0171
Error	2	0.30810000	0.15405000		
Total corregido	5	27.01688333			

*Grados de libertad DF.

Valores cuadrados y probabilidad F de la localidad Tortuga

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
TEC	1	26.58615000	26.58615000	172.58	0.0057
REP	2	0.12263333	0.06131667	0.40	0.7153

*Grados de libertad DF, suma de cuadrados SS.



Variación de las concentraciones de la localidad Tortuga
*partes por millón PPM, técnica TEC.

Coeficiente de variación y medias de las localidades

Localidad	CoefVar	Media
San Jerónimo	0.93	57.82
Estanque de León	1.39	58.53
Tortuga	1.05	37.31

*Coeficiente de variación CoefVar

Comparación de medias de técnicas DPPH^{*} y ABTS⁺⁺ por Tukey

Técnica	San Jeronimo		Estanque de León		Tortuga	
DPPH [*]	54.62	a	54.24	a	39.42	b
ABTS ⁺⁺	61.03	b	62.83	b	35.21	a

*Letras iguales significan que no hay diferencia estadística. Las pruebas fueron realizadas con una significancia a ($p < 0,05$)

Análisis de varianza de la técnica FRAP

Análisis de varianza de la localidad San Jerónimo

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	318.6807816	106.2269272	27.07	0.0358

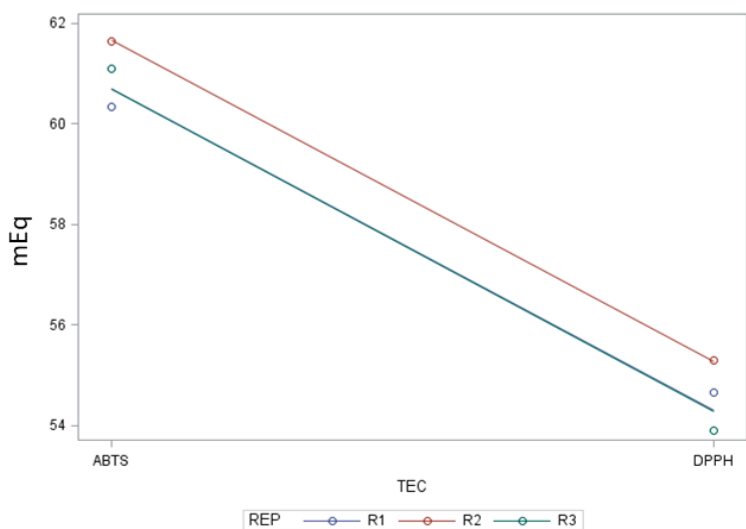
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Error	2	7.8491087	3.9245543		
Total corregido	5	326.5298903			

*Grados de libertad DF.

Valores cuadrados y probabilidad F de la localidad San Jerónimo

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
PPM	1	290.6636706	290.6636706	74.06	0.0132
REP	2	28.0171110	14.0085555	3.57	0.2188

*Grados de libertad DF, suma de cuadrados SS.



Variación de las concentraciones de la localidad San Jerónimo
*miliequivalentes mEq, técnica TEC.

Análisis de varianza de la localidad Estanque de León

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	399.1291219	133.0430406	116.18	0.0085
Error	2	2.2902575	1.1451287		
Total corregido	5	401.4193794			

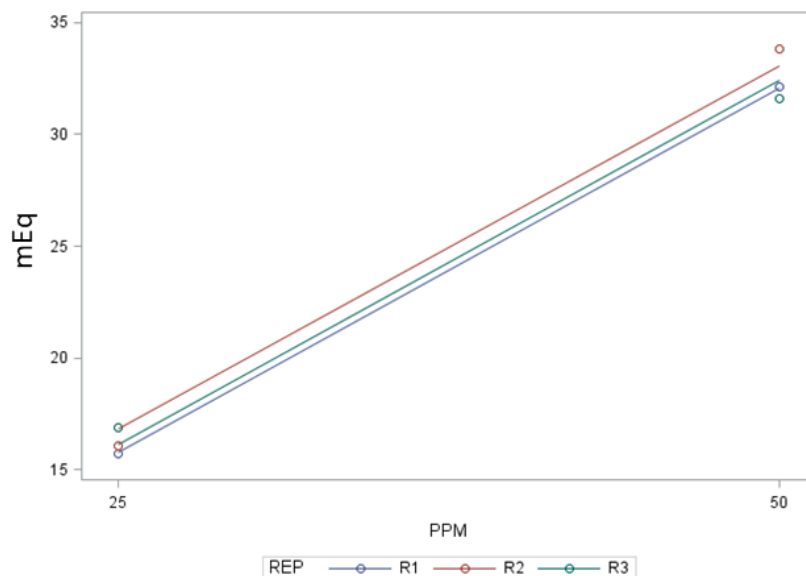
*Grados de libertad DF.

Valores cuadrados y probabilidad F de la localidad Estanque de León

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
--------	----	-------------	----------------------	---------	--------

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
PPM	1	398.0123411	398.0123411	347.57	0.0029
REP	2	1.1167807	0.5583904	0.49	0.6722

*Grados de libertad DF, suma de cuadrados SS.



Variación de las concentraciones de la localidad EL
*miliequivalentes mEq, técnica TEC.

Análisis de varianza de la localidad Tortuga

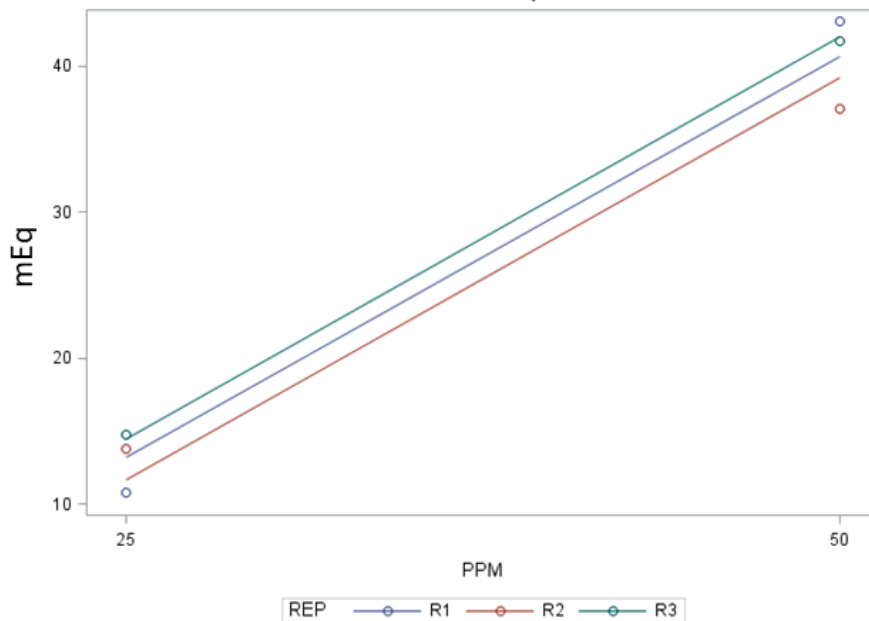
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	1141.100036	380.366679	36.76	0.0266
Error	2	20.695384	10.347692		
Total corregido	5	1161.795420			

*Grados de libertad DF.

Valores cuadrados y probabilidad F de la localidad Tortuga

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
PPM	1	1133.078201	1133.078201	109.50	0.0090
REP	2	8.021835	4.010917	0.39	0.7207

*Grados de libertad DF, suma de cuadrados SS.



Variación de las concentraciones de la localidad Tortuga
*miliequivalentes mEq, técnica TEC.

Coefficiente de variación y medias de las localidades

Localidad	CoefVar	Media
San Jerónimo	8.88	22.3
Estanque de León	4.39	24.36
Tortuga	11.97	26.86

*coeficiente de variación CoefVar

Comparación de medias para la prueba de FRAP

PPM	San Jerónimo	Estanque de León	Tortuga
25	15.34172	a 16.22222	a 13.11950
50	29.26205	b 32.51153	b 40.60377

*Letras iguales significan que no hay diferencia estadística. Las pruebas fueron realizadas con una significancia α ($p < 0,05$)