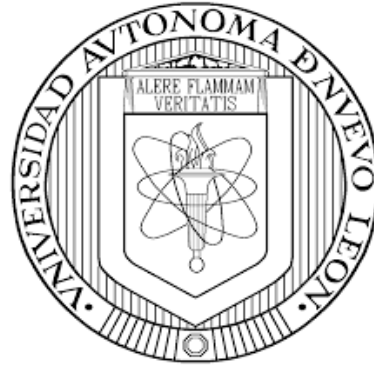


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**CARACTERIZACIÓN AVANZADA DE CANDELILLA Y
OTRAS PLANTAS DEL SEMI-DESIERTO MEXICANO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

PRESENTA

NÉSTOR EVERARDO ARANDA LEDESMA

GENERAL ESCOBEDO, N.L.

FEBRERO 2022

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**CARACTERIZACIÓN AVANZADA DE CANDELILLA Y
OTRAS PLANTAS DEL SEMI-DESIERTO MEXICANO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

PRESENTA

NÉSTOR EVERARDO ARANDA LEDESMA

GENERAL ESCOBEDO, N.L.

FEBRERO 2022

ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL
COMITÉ PARTICULAR COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA


COMITÉ PARTICULAR



Dr. Guillermo Cristian Guadalupe Martínez Ávila
Director



Dr. Romeo Rojas Molina
Codirector



Dr. Víctor E. Aguirre Arzola

Asesor



Dra. Nancy del Pilar Medina Herrera

Asesor

Ph.D. Juan Antonio Vidales Contreras
Subdirector de Estudios de Posgrado

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Agronomía UANL por la aceptación al programa de Maestría en Ciencias en Producción Agrícola.

Al CONACYT por el otorgamiento de la Beca Nacional de Posgrado.

Al Fondo Sectorial para la Investigación, el Desarrollo y la Innovación Tecnológica Forestal por el financiamiento del proyecto enmarcado en el Convenio UANL/CONAFOR/CONACYT con clave B-S-131466.

DEDICATORIA

A mi familia:

Por su apoyo incondicional a lo largo de estos dos años a pesar de las dificultades que hemos pasado. Por respetar y alentar mis decisiones y por enseñarme una de las lecciones más importantes, a nunca a darme por vencido a pesar de las circunstancias.

Al Dr. Guillermo Cristian Guadalupe Martínez Ávila:

Por abrirme las puertas de su laboratorio y darme la confianza desde el comienzo de la investigación, así como las facilidades brindadas y la motivación constante para siempre dar más, pero sobre todo por su apoyo moral en los momentos complicados.

Al Dr. Romeo Rojas Molina:

Por permitirme desarrollarme en su equipo de trabajo e investigación y por las facilidades brindadas a lo largo del desarrollo de la investigación

A mis compañeros de laboratorio; Tere, Angelica, Lolis, Karen y Michelle:

Por los buenos momentos que pasamos en el laboratorio, ese apoyo mutuo que nos dimos unos a otros y por el simple hecho de estar ahí poniendo buen ambiente durante las horas de trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN.....	1
2	JUSTIFICACIÓN.....	4
3	HIPÓTESIS.....	4
4	OBJETIVOS.....	5
4.1	Objetivo general.....	5
4.2	Objetivos específicos.....	5
5	REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
5.1	Importancia de los productos forestales no maderables para las comunidades rurales.....	6
5.2	Especies vegetales.....	6
5.2.1	<i>Euphorbia antisyphilitica</i> Zucc.....	6
5.2.2	<i>Larrea tridentata</i>	7
5.2.3	<i>Lippia graveolens</i>	8
5.2.4	<i>Flourensia cernua</i>	9
5.2.5	<i>Jatropha dioica</i>	9
5.3	Química verde.....	10
5.3.1	Compuestos polifenólicos.....	11
5.3.2	Aceites esenciales.....	12
5.3.3	Extracción de cera de candelilla.....	14
6	MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
6.1	Colecta de material vegetal.....	15
6.1.1	Material Vegetal.....	16
6.2	Análisis químico proximal.....	16
6.2.1	Cenizas.....	16
6.2.2	Extracto etéreo.....	17
6.2.3	Proteína cruda.....	17
6.2.4	Fibra cruda.....	18
6.2.5	Extracto libre de nitrógeno (E.L.N).....	19
6.3	Extracción de aceites esenciales mediante arrastre de vapor.....	20
6.3.1	Rendimiento de proceso de extracción de aceites esenciales.....	21
6.4	Extracción de cera de candelilla por el método alternativo.....	21

6.4.1	Rendimiento de extracción de cera por el método alternativo	21
6.5	Extracción de polifenoles.....	22
6.5.1	Purificación.....	22
6.5.2	Rendimiento del proceso	22
6.6	Evaluación de la actividad antioxidante	23
6.6.1	Captación de radicales ABTS**	23
6.6.2	Poder reductor férrico (FRAP).....	24
6.6.3	Inhibición de la lipoperoxidación (LPO).....	24
6.7	Ensayos enzimáticos	25
6.7.1	Inhibición de la α -glucosidasa.....	25
6.7.2	Inhibición de la α -amilasa	25
6.8	Determinación de propiedades fisicoquímicas de ceras obtenidas por el método tradicional y alternativos	26
6.8.1	Punto de fusión	26
6.8.2	Saponificación	27
6.8.3	Valor de acidez.....	27
6.8.4	Número de absorción de yodo.....	28
6.9	Caracterización de grupos funcionales por medio de FTIR-ATR.....	29
6.10	Análisis de aceites esenciales por cromatografía de gases acoplado a masas (GC/MS)	29
6.10.1	Método cromatografía de gases.....	29
7	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
7.1	Análisis químico-proximal.....	31
7.2	Rendimiento de extracción de aceites esenciales.....	33
7.3	Rendimiento de cera obtenida por el método alternativo.....	35
7.4	Rendimientos del proceso de extracción de compuestos fenólicos	36
7.5	Actividad antioxidante.....	38
7.5.1	Compuestos polifenólicos	38
7.5.2	Aceites esenciales	43
7.6	Inhibición enzimática.....	46
7.6.1	Compuestos polifenólicos	46
7.6.2	Aceites esenciales	49
7.7	Análisis de grupos funcionales por medio de FTIR-ATR.....	51

7.7.1	Compuestos polifenólicos	51
7.7.2	Aceites esenciales	56
7.7.3	Cera de candelilla.....	58
7.8	Propiedades fisicoquímicas de cera de candelilla obtenidas por el método tradicional y alternativo.	60
7.9	Identificación de compuestos de aceites esenciales por cromatografía de gases acoplado a masas (CG/MS).....	61
8	CONCLUSIONES	67
9	PERSPECTIVAS	68
10	PRINCIPALES LOGROS DE LA INVESTIGACIÓN.....	69
11	LITERATURA CONSULTADA	71

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Ubicación geográfica de los ejidos/comunidades seleccionadas para la recolección del material vegetal.....	15
Cuadro 2. Resultados obtenidos del análisis químico-proximal de las diferentes especies analizadas en las tres comunidades.	31
Cuadro 3. Resultados de la evaluación de actividad antioxidante de compuestos polifenólicos.	39
Cuadro 4. Evaluación antioxidante de aceites esenciales.....	43
Cuadro 5. Inhibición enzimática de compuestos polifenólicos	46
Cuadro 6. Inhibición enzimática de aceites esenciales.....	49
Cuadro 7. Parámetros fisicoquímicos evaluados en ceras de candelilla obtenidos por el método tradicional y alternativo.	60
Cuadro 8. Compuestos identificados de aceite esencial de hojásén	61
Cuadro 9. Compuestos identificados del aceite esencial de orégano.....	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapeo de los ejidos seleccionados para la colección de material vegetal.	15
Figura 2. Sistema de extracción por arrastre de vapor	20
Figura 3. Rendimientos de aceite esencial de orégano y hojásén de las diferentes comunidades.	33
Figura 4. Rendimientos de cera de candelilla obtenidos por el método alternativo....	35
Figura 5. Rendimientos de compuestos polifenólicos obtenidos de las cinco especies analizadas.....	36
Figura 6. Espectro IR de compuestos polifenólicos de orégano	51
Figura 7. Espectro IR de compuestos polifenólicos de hojásén	51
Figura 8. Espectro IR de compuestos polifenólicos de gobernadora	52
Figura 9. Espectro IR de compuestos polifenólicos de sangre de drago	52
Figura 10. Espectro IR de compuestos polifenólicos de candelilla verde	54
Figura 11. Espectro IR de compuestos polifenólicos de candelilla residuos	54
Figura 12. Espectro IR del aceite esencial de orégano	56
Figura 13. Espectro IR del aceite esencial de hojásén	57
Figura 14. Espectro IR de cera de candelilla obtenidas por el método alternativo....	58

RESUMEN

El semi-desierto mexicano alberga a numerosas especies forestales no maderables destacando, la planta de candelilla, gobernadora, hojasén, orégano mexicano y sangre de drago, las cuales han sido utilizadas desde la antigüedad en la medicina tradicional y algunas de ellas cuentan con diversas aplicaciones dentro de industria; sin embargo, aún se desconoce gran parte de su composición química y la funcionalidad de los compuestos bioactivos que contienen. En este sentido, en el presente proyecto, se realizó un análisis proximal para conocer la composición química, así como la extracción de compuestos polifenólicos de todas las especies antes mencionadas los cuales fueron purificados y la extracción de aceites esenciales para el caso de orégano y hojasén. Tanto a los compuestos polifenólicos y aceites esenciales se les fue evaluado su potencial antioxidante por medio de los ensayos; captación de radicales (ABTS^{•+}, poder reductor férrico (FRAP) e inhibición de la lipoperoxidación (LPO), de igual manera por medio de ensayos enzimáticos; inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa). En el caso de candelilla se realizó además la extracción de cera por el método alternativo y comparándolo con el método tradicional, así como la determinación de propiedades fisicoquímicas a ceras obtenidas por ambos métodos. Además, se realizó la caracterización de grupos funcionales por espectroscopia Infrarrojo con transformada de Fourier con Reflexión Total Atenuada (FTIR-ATR) de todos los metabolitos obtenidos. Finalmente, exclusivamente para los aceites esenciales se realizó la identificación de compuestos por CG/MS. Los resultados obtenidos muestran que todas las especies contienen altos niveles de extracto libre de nitrógeno (E.L.N.) y fibra cruda, además todas las especies presentaron actividad

antioxidante e inhibición enzimática en todos los ensayos evaluados, lo que indica que representan una alternativa para su aplicación como agentes antioxidantes e hipoglucemiantes. Por otra parte, las propiedades fisicoquímicas de ceras obtenidas por el método tradicional y alterno indican que las propiedades son similares por lo cual el método alternativo representa una opción para sustituir el tradicional. La caracterización FTIR permitió identificar los grupos funcionales característicos de los compuestos polifenólicos, aceites esenciales y ceras. Finalmente, la identificación de aceites esenciales por CG/MS permitió identificar compuestos como el timol y carvacrol en el caso de orégano y eudesmol, cariofileno y ledol en el caso de hojásén.

1 INTRODUCCIÓN

Los productos forestales no maderables, han sido empleados en la medicina tradicional, como fuente de alimento y como materias primas para artesanías, por lo que representan una importante fuente de ingresos en medios rurales (Meinhold y Darr, 2019). En México, los ecosistemas semiáridos abarcan 70.79 millones de hectáreas, los cuales se caracterizan por su alta vulnerabilidad a la desertificación y la presencia de población rural que aprovechan los recursos forestales no maderables de diversas especies (Villavicencio-Gutiérrez *et al.*, 2021), de las cuales se describen algunas a continuación.

Por su parte, *Larrea tridentata* o comúnmente llamada gobernadora, es un arbusto perenne xerófito siempre verde, ampliamente distribuida en zonas desérticas (Saldívar, 2003a). Sus hojas contienen una espesa resina que se comporta como un antitranspirante (Saldívar *et al.*, 2003b); siendo el ácido nordihidroguaiarético (NDGA) (un lignano) el que se encuentra en mayor proporción y representa aproximadamente el 10% del peso seco de las hojas (Peralta *et al.*, 2018; Floriano-Sanchez *et al.*, 2006).

El orégano mexicano (*Lippia graveolens*), es una planta herbácea, perenne y aromática (Mata-González y Meléndez-González, 2005). Las infusiones de orégano mexicano se han usado tradicionalmente para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la inflamación. Su valor comercial radica en sus características como especia y condimento. Los estudios sobre *L. graveolens* se centran en el análisis del aceite esencial, que se caracteriza por la extracción de los compuestos volátiles del material vegetal (flores, brotes, semillas, hojas y otros) (Ait-Ouazzou *et al.*, 2011).

Además, ha reportado que esta planta contiene altas cantidades de monoterpenos oxigenados, principalmente carvacrol y timol (Rivero-Cruz *et al.*, 2011).

La hojásén (*Flourensia cernua*) es una especie endémica que crece en zonas semiáridas de México. Dentro de la medicina tradicional, ha sido empleada en infusiones para tratar el reumatismo, enfermedades venéreas, herpes, bronquitis, varicela y resfriado común (Ventura *et al.*, 2009). Cuentan con diversas aplicaciones, biológicas ecológicas debido a la presencia de compuestos polifenólicos (lactonas, benzofuranos y benzopiranos) (de Rodríguez *et al.*, 2012).

Jatropha dioica conocida también como sangre de drago, es un subarbusto o arbusto perenne escasamente leñoso (Manzanero-Medina *et al.*, 2009). Los estudios sobre *J. dioica* son escasos y algunos relativamente antiguos. Villarreal *et al.* (1988) reportaron la presencia de cuatro diterpenos; el β -sitosterol, jatrofolona B, la citlalitriona y riolosatriona. En análisis cualitativos se ha detectado la presencia de alcaloides, triterpenos y esteroides, cumarinas, flavonoides; así como saponinas, fenoles y taninos en menores cantidades (Martínez *et al.*, 2014).

La planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.), es un arbusto perenne con tallos cilíndricos (Rojas-Molina *et al.*, 2011) y que, como respuesta de adaptación a condiciones de sequía extrema, produce cera que se deposita en la superficie de estos (Saucedo-Pompa., 2007). La cera de candelilla posee un gran número de aplicaciones industriales y domésticas, que han aumentado en los últimos años. Destacan la manufactura de cosméticos, pinturas, recubrimientos para frutos, revestimientos, aisladores, entre otros (Barsch, 2004).

Por otra parte, la extracción tradicional de la cera de candelilla se lleva a cabo utilizando ácido sulfúrico que es muy corrosivo y contaminante, representando un peligro tanto para el personal que se encarga de realizar esta actividad como al medio ambiente (Ochoa-Reyes *et al.*, 2010). También para la extracción de los compuestos bioactivos, el uso de solventes orgánicos tales como el metanol, hexano, benceno entre otros, contribuye fuertemente al flujo de desechos (Häckl y Kunz, 2018). Así pues, la búsqueda de soluciones alternativas con base a solventes amigables con el ambiente continúa siendo un área importante de estudio de la química verde (Leitner, 2007). Los alcoholes simples tales como el etanol y agua, así como la mezcla de estos son solventes ambientalmente preferibles; además, han demostrado resultados favorables para la obtención de diversos compuestos bioactivos a partir de materiales vegetales, promoviendo así su empleo en diversos sectores agroindustriales (Capello *et al.*, 2010).

Tomando en cuenta la aplicación de este concepto el cual constituye una parte fundamental en las metodologías y procesos a implementar, aunado a la limitada información acerca de los compuestos bioactivos de las especies antes mencionadas. Esto debido a que los estudios de análisis y evaluaciones se han centrado solo en ciertos metabolitos secundarios por lo que el aprovechamiento de los componentes vegetales (hojas, tallos) es mínimo.

2 JUSTIFICACIÓN

La evaluación química y funcional de los metabolitos secundarios y otros constituyentes de algunas de las principales especies vegetales del semi-desierto mexicano es limitada, por lo que el presente trabajo de investigación surge como una oportunidad para ampliar la información en cuanto a la caracterización químico-funcional avanzada de estos componentes, los cuales se caracterizan por su aplicación en diversos procesos agroindustriales.

3 HIPÓTESIS

El estudio en la caracterización químico-funcional avanzada de los compuestos bioactivos y otros constituyentes presentes en plantas del semi-desierto mexicano presentan potencial para su aplicación en diversos procesos agroindustriales.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Desarrollar un estudio de caracterización químico-funcional de algunas de las principales especies vegetales del semi-desierto mexicano.

4.2 Objetivos específicos

- a) Realizar análisis proximal de algunas de algunas de las principales especies vegetales (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc., *Larrea tridentata*, *Lippia graveolens*, *Flourensia cernua* y *Jatropha dioica*) del semi-desierto mexicano
- b) Obtener y caracterizar químicamente los compuestos bioactivos de las plantas seleccionadas.
- c) Determinar las propiedades funcionales de los fitoquímicos obtenidos.

5 REVISIÓN DE LITERATURA

5.1 Importancia de los productos forestales no maderables para las comunidades rurales.

Actualmente la mayoría de las personas de escasos recursos habitan en sistemas rurales, cuyos planes de vida laborales están determinadas por actividades relacionadas con la tierra; como lo es la agricultura, la ganadería y la recolección y explotación de recursos forestales no maderables (FAO, 2003) y a pesar de que para estas comunidades representa en muchos casos la fuente de ingresos, la explotación de dichos recursos continua siendo una economía de poca relevancia para los sistemas gubernamentales por lo que se raramente se contemplan en las estrategias nacionales para combatir la pobreza (Shackleton *et al.*, 2014), aunado a esto la poca información sobre la composición química así como la evaluación biológica de los componentes bioactivos de estas especies continúa siendo escasa.

5.2 Especies vegetales

5.2.1 *Euphorbia antisiphilitica* Zucc.

La planta de candelilla es una especie nativa del desierto de Chihuahua en México (Johari y Kumar, 2013). Sus tallos producen cera, la cual es segregada para protegerla contra las condiciones extremas de su hábitat y está compuesto principalmente por cadenas de hidrocarburos (Turner, 2009).

E. antisiphilitica Zucc. es una de las especies más importantes en la economía de diversas regiones del norte de México, debido a la explotación de cera el principal fin de esta planta, siendo utilizada de modo tradicional en ornamentos y aplicaciones terapéuticos, así como en diferentes ramas de la industria alimentaria (Ascacio-Valdés

et al., 2010). Si bien es una especie que actualmente es explotada por la importancia de su cera, hay algunos reportes acerca del potencial biológico de los compuestos bioactivos presentes en los tallos, siendo el ácido gálico (De León-Zapata *et al.*, 2010), el ácido egálico y la catequina (Rojas-Molina *et al.*, 2013) algunos de los compuestos identificados.

5.2.2 *Larrea tridentata*

L. tridentata también conocida como gobernadora, es una planta arbustiva perteneciente a la familia *Zygophyllaceae* que domina algunas zonas desérticas del norte de México y suroeste de Estados Unidos, así como en algunas zonas desérticas de Argentina. Las aplicaciones en la medicina tradicional a base de infusiones de hojas de *L. tridentata* se ha utilizado para tratar trastornos digestivos, reumatismo, enfermedades venéreas, llagas, bronquitis, varicela y el resfriado común (Sinnott *et al.*, 1998).

Esta especie ha sido destacada por una gran cantidad de compuestos bioactivos que constituyen el 50 % de las hojas (peso seco) como material extraíble (Arteaga *et al.*, 2005). Entre los diversos compuestos bioactivos se encuentra el ácido nordihidroguayarético (ANDG). Dicho compuesto es en el que se han centrado la mayoría de los estudios ya que se le atribuyen actividades biológicas de gran interés en el área de la salud, con propiedades antivirales, antimicrobianas y antitumorales (Hwu *et al.*, 2008).

5.2.3 *Lippia graveolens*

El orégano mexicano (*L. graveolens*) es una planta herbácea-arbustiva y es reconocida como uno de los dos géneros económicamente relevantes de la familia *Verbenaceae* (Calvo-Irabién *et al.*, 2014), es originaria de la región norte de México y representa una importante fuente de ingresos para las comunidades marginadas de dicha región, y su importancia alcanza hasta el 50% de los ingresos salariales de estas comunidades (Castillo *et al.*, 2017). Esta especie es típicamente conocida por sus aplicaciones en el ámbito culinario (Arcila *et al.*, 2004), además, se le han adjudicado diversas propiedades medicinales destacando su potencial antipirético, analgésico, antiespasmódica, antiinflamatoria, para el tratamiento de trastornos menstruales, sífilis, gonorrea y diabetes (Pérez *et al.*, 2014)

Las plantas del género *Lippia* poseen una gran cantidad de aceites esenciales, que se han empleado ampliamente en el sector farmacéutico como medicina alternativa para tratar parásitos, controlar el asma, contra el dolor de estómago, así como la regulación del periodo menstrual (Granados-Sánchez *et al.*, 2013). Si bien los estudios en *L. graveolens* se han centrado en la caracterización y aplicaciones del aceite esencial. La información acerca de los compuestos polifenólicos presentes en dicha especie, así como la evaluación de su actividad biológica continúa siendo limitada (Leyva-López *et al.*, 2017). A pesar de que en estudios recientes se han asociado a los flavonoides y los ácidos fenólicos con múltiples efectos positivos y aptos como auxiliares en contra de algunas enfermedades crónicas tales como la hipertensión y diabetes entre otras (Chen *et al.*, 2019).

5.2.4 *Flourensia cernua*

F.cernua es un arbusto perenne común que se encuentra distribuida en el desierto Chihuahuense y se extiende desde el centro-norte de México hasta el suroeste de Estados Unidos (Valencia-Diaz *et al.*, 2005). Actualmente es una de las especies menos estudiadas, en ensayos *in vitro* se ha comprobado que los extractos tienen una fuerte actividad antifúngica contra patógenos de importancia agrícola en poscosecha (De León-Zapata *et al.*, 2016). Recientemente se ha detectado la presencia de compuestos con potencial biológico, entre los que destacan la luteolina 7-O-rutinósido y 6-C-glucosil-8-C-arabinosil apigenina (Álvarez-Pérez *et al.*, 2019).

El género *Flourensia* es conocido por la producción de aceites esenciales debido al fuerte olor que se desprenden de sus partes aéreas. Sin embargo, sólo *F. oolepis*, *F. thurifera*, *F. campestris* y *F. cernua* han sido exploradas en este sentido (Estell *et al.*, 2013). De dichas especies se han identificado un total de 175 compuestos volátiles (Ríos *et al.*, 2015) sin embargo el estudio sobre el potencial biológico y aplicaciones de dichos componentes es prácticamente nulo.

5.2.5 *Jatropha dioica*

J. dioica es una planta de origen mexicano, es un subarbusto o arbusto perenne escasamente leñoso que va desde los 30 hasta los 150 centímetros de altura. La principal característica de sus tallos es que al ser cortados segrega un látex incoloro que en contacto con el aire se torna rojizo semejante a la sangre, de ahí el nombre común de sangre de drago (Manzanero-Medina *et al.*, 2009). El uso medicinal principal que se le atribuye es para el tratamiento de la alopecia, para lo cual la planta entera

es cocida o bien solo los tallos o la raíz, se tritura formando una cataplasma que se aplica en la zona a tratar, mientras que el agua resultante de este proceso se ha utilizado para tratar las infecciones por golpes, heridas y granos (Wong-Paz *et al.*, 2010)

Se han detectado la presencia de alcaloides, triterpenos y esteroides, cumarinas, flavonoides; así como saponinas, fenoles y taninos en menores cantidades (Martínez *et al.*, 2014). Asimismo, se ha reportado la presencia de polifenoles en extractos de tallo y raíz a concentraciones de hasta 44.03 µg/mL, siendo mayor la presencia a nivel de raíz (Moreno *et al.*, 2016). En estudios recientes se ha determinado el contenido de antioxidante (Wong-Paz *et al.*, 2015) y su evaluación sobre hongos fitopatógenos (Gutiérrez-Tlahque *et al.*, 2019) por lo que presenta un potencial para ser utilizado en la industria agrobiotecnológica.

Los metabolitos secundarios (compuestos polifenólicos y aceites esenciales) resultan de gran interés debido a sus propiedades las cuales han sido estudiadas en los últimos años. Sin embargo, uno de los primeros pasos para la obtención de dichos compuestos son los procesos de extracción. En este sentido se plantea un término, que si bien fue establecido hace más de 30 años, aún resulta desconocido y es conocido como “química verde” que marca las pautas para el correcto uso de solventes y otras sustancias utilizada en este tipo de procesos.

5.3 Química verde

El concepto de química es definido como "diseño de productos y procesos químicos para reducir o eliminar el uso y la generación de sustancias peligrosas". (Anastas y Warner, 1998). Si bien el concepto de química verde cubre 12 importantes puntos, el

tema de los solventes es el área de investigación más activa, ya que el uso de solventes aplicados en la síntesis de diversos productos daña severamente el medio ambiente, mediante un proceso de volatilización especialmente en el caso de los compuestos orgánicos volátiles (COV). Las nuevas soluciones de síntesis apuntan a la eliminación por completo de los disolventes o a la sustitución de los compuestos pertenecientes a los COV por medios tecnológicos baratos, inofensivos para las personas y el medio ambiente (Wardencki *et al.*, 2005).

Tomando en cuenta lo anterior, actualmente los procesos de extracción de compuestos bioactivos de las plantas se han ido modificando con la finalidad de emplear metodologías amigables con el ambiente, la presente investigación se centra en tres tipos de procesos de extracción; compuestos polifenólicos, aceites esenciales y cera de candelilla.

5.3.1 Compuestos polifenólicos

Durante las últimas décadas se ha puesto gran interés sobre los compuestos antioxidantes de origen natural (Olszowy y Dawidowicz, 2016). Entre los compuestos antioxidantes más populares destacan los compuestos polifenólicos cuya característica principal es la presencia de uno o más grupos hidroxilo en su estructura (Cheynier *et al.*, 2013).

Su potencial biológico se atribuye principalmente a la capacidad de dichos metabolitos de secuestrar o inhibir especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, inhibición de radicales libres mediante la transferencia de electrones, activación de enzimas antioxidantes, representando una opción viable y prometedora en la prevención de

diversas enfermedades como la diabetes, obesidad, cáncer, enfermedades cardiovasculares, osteoporosis y enfermedades neurodegenerativas (de Paulo *et al.*, 2020).

5.3.1.1 Extracción de compuestos polifenólicos

Para la extracción de compuestos polifenólicos se pueden aplicar varias técnicas de extracción y la selección del método se basa principalmente en el rendimiento de extracción, disponibilidad y costo de producción de éste (Živković *et al.*, 2018).

Dentro de las técnicas empleadas se destacan: la extracción asistida por ultrasonido (Živković *et al.*, 2018), la extracción con agua subcrítica (Luo *et al.*, 2018), la extracción asistida por microondas (Jesús *et al.*, 2019) y la extracción asistida por enzimas (Gligor *et al.*, 2019). Otros parámetros que influyen directamente con los rendimientos y calidad de los compuestos bioactivos obtenidos son: el tiempo de extracción, la temperatura, la relación sólido-solvente y el tamaño de partículas (Živković *et al.*, 2018).

5.3.2 Aceites esenciales

Los aceites esenciales forman parte del metabolismo secundario y son sintetizados por las plantas para protegerse de las plagas y los microorganismos, para atraer a los insectos polinizadores y para procesos de señalización (Basser, 2009). Estos compuestos pueden aislarse de distintas partes anatómicas de las plantas principalmente extraídos por técnicas de destilación y prensado (Patel y Gogna, 2015).

Los aceites esenciales se producen en pequeñas cantidades dependiendo de la planta y las condiciones tanto ambientales como genéticas, el rendimiento de extracción

puede variar del 0.5 a 6 %. Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos muy variables entre 60 y 200 compuestos diferentes. Dichas mezclas pertenecen en su mayoría al grupo de los terpenos y en menor medida, al grupo de los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano (Ordaz *et al.*, 2011). Estos compuestos ejercen diferentes acciones biológicas sobre los seres humanos, los animales y otras plantas (Baser *et al.*, 2010), destacando su aplicación en formulaciones de anticonceptivos, anticancerígenos, antiinflamatorios, repelentes de insectos, antivirales y antioxidantes (Adorjan y Buchbauer *et al.*, 2010).

5.3.2.1 Extracción de aceites esenciales

En la extracción de aceites esenciales, el método de hidrodestilación es quizá la técnica estándar más empleada aun cuando los lapsos de tiempo requeridos para la extracción pueden ser algo extensos (Fan *et al.*, 2018). Recientemente, se han comenzado a emplear otros sistemas de extracción: la extracción asistida por microondas ultrasónica sin solventes, extracción asistida por microondas convencional y la extracción asistida por ultrasonidos (Wang *et al.*, 2018) y la extracción por explosión de vapor (Golmohammadi *et al.*, 2018). La mayoría de los procedimientos de extracción de aceites esenciales emplean agua como solvente, ya que es considerada como un solvente amigable con el ambiente. Sin embargo, las principales diferencias entre estos procedimientos se basan en el ahorro de tiempo y energía (Gavahian *et al.*, 2019), ya que es un factor importante de un desarrollo sostenible. Pero como se mencionó anteriormente el proceso seleccionado deberá ser elegido conforme a las necesidades y recursos necesarios de cada investigador.

5.3.3 Extracción de cera de candelilla

El proceso tradicional de extracción de cera de candelilla consiste en colocar la planta en calderos de hierro llamados "pailas", con una solución de ácido sulfúrico a una concentración aproximada del 0.3%. La carga de planta inmersa en la solución agua-ácido se calienta a fuego directo hasta el punto de ebullición de la solución, lo que permite la fusión de la cera y que se desprenda de la planta (De León-Zapata, 2008). El ácido sulfúrico evita que la cera se adhiera a las impurezas y forme una emulsión. Mediante esta técnica, la cera de candelilla fundida flota en la superficie del agua como espuma, enseguida se retira de la "paila" con utensilios que presentan orificios, denominados "espumaderas" (Rojas-Molina *et al.*, 2011). A pesar de que el método tradicional permite obtener rendimientos entre el 2 y 6% (Rojas-Molina *et al.*, 2011), los riesgos a la salud y el medio ambiente propician la implementación de un método más amigable con el ambiente y con esto surge la opción de implementar un nuevo método con el uso de una solución orgánica (ácido cítrico) que ha permitido obtener rendimientos mayores al 2.8% (León-Zapata *et al.*, 2010).

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Colecta de material vegetal

En la **Figura 1** y **Cuadro 1** se observa la región geográfica y comunidades seleccionadas para la colecta del material vegetal. Fue realizada en la región semi-desértica del norte de México durante el mes de septiembre del año 2020 y consistió la selección de hojas completas (orégano, hojásén y gobernadora) y tallos (sangre de drago y candelilla)

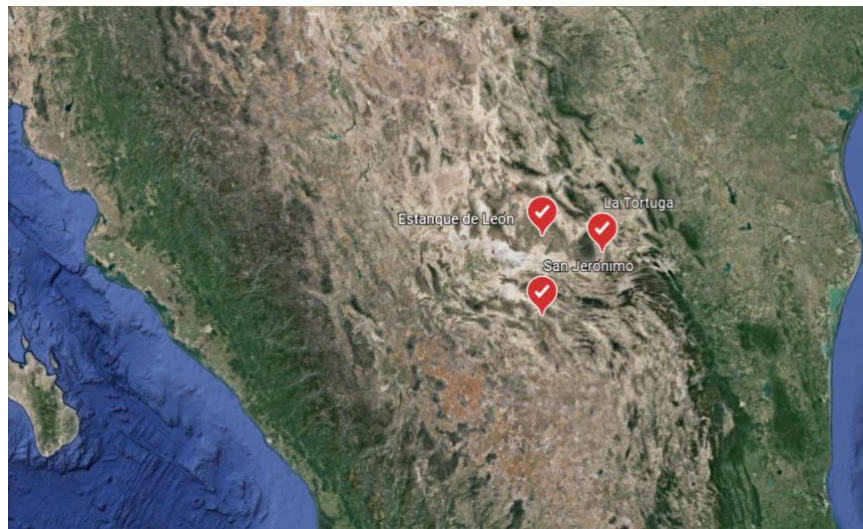


Figura 1. Mapeo de los ejidos seleccionados para la colección de material vegetal

Cuadro 1. Ubicación geográfica de los ejidos/comunidades seleccionadas para la recolección del material vegetal.

Ejido	Municipio	Estado	Latitud	Longitud	Altitud
San Jerónimo	Melchor Ocampo	Zacatecas	24°59'42"	102°13'7"	1420
Estanque de León	Cuatrociénegas	Coahuila de Zaragoza	25°51'33"	101°15'58"	990
La Tortuga	Ramos Arizpe	Coahuila de Zaragoza	26°5'32"	102°13'21"	1280

6.1.1 Material Vegetal.

La especie fueron trasladada al laboratorio en donde as ramas fueron deshojadas y los tallos fueron cortados de manera manual, se realizó un lavado con agua destilada y posteriormente un secado en estufa a 55°C por 24 h en el caso de hojas y para tallos un periodo de una semana, el material seco fue almacenado en bolsas de plástico hermética selladas al vacío y en oscuridad a temperatura ambiente hasta su uso.

6.2 Análisis químico proximal

La determinación de la composición química fue realizada con base a las metodologías establecidas por la AOAC (1984).

6.2.1 Cenizas

En un crisol de porcelana previamente secado y pesado, se colocó 2.5 a 5 g de muestra vegetal seca, posteriormente se colocó el crisol en una mufla a 550°C por 12 horas, se dejó enfriar y fue depositado en un desecador, finalmente se pesó nuevamente el crisol conteniendo la ceniza.

Se determino el porcentaje de cenizas aplicando la siguiente formula:

$$\text{Contenido de ceniza (\%)} = \left[\frac{(A - B)}{C} \right] \times 100$$

Donde:

A = Peso del crisol con muestra (g)

B = Peso del crisol con ceniza (g)

C = Peso de la muestra (g)

6.2.2 Extracto etéreo

Se utilizaron matraces de extracción previamente secados y pesados. En un dedal de extracción manejado se pesaron de 3 a 5 g de la muestra seca y fue colocado en la unidad de extracción. Se conectó al extractor un matraz conteniendo éter de petróleo a 2/3 del volumen total. Se llevó a ebullición y se ajustó el calentamiento a 10 reflujos por hora. Posteriormente se evaporó el éter por destilación. El matraz fue colocado en un horno durante una hora y media para eliminar el éter. Finalmente se enfrió el matraz en un desecador y fueron pesados nuevamente.

$$\text{Contenido de extracto etéreo (\%)} = \left[\frac{(B - A)}{C} \right] \times 100$$

Donde:

A = Peso del matraz limpio y seco (g)

B = Peso del matraz con grasa (g)

C = Peso de la muestra (g)

La muestra desengrasada se empleó para la determinación de fibra cruda.

6.2.3 Proteína cruda

Se pesó 1g de muestra y se colocó en un matraz Kjeldahl; se agregaron 10g de sulfato de potasio, 0.7g de óxido de mercurio y 20 mL de ácido sulfúrico concentrado. El matraz fue colocado en el digestor en un ángulo inclinado y se calentó a ebullición hasta que la solución se aclaró y se continuó calentando por media hora más. Se dejó enfriar; durante el enfriamiento se adicionó poco a poco 90 mL de agua destilada. Una vez frío se agregaron 25 mL sulfato de sodio. Se agregó una perla de ebullición y 80

mL de hidróxido de sodio al 40 % manteniendo la inclinación del matraz, hasta observar la formación de dos capas. Posteriormente se conectó el matraz a la unidad de destilación hasta coleccionar 50 mL del destilado. Finalmente se tituló con la solución estándar de ácido clorhídrico.

El contenido de proteína cruda (%) se determinó empleando las siguientes formulas:

$$\textit{Nitrogeno en la muestra} (\%) = \left[\frac{A \times B}{C} \times 0.014 \right] \times 100$$

$$\textit{Contenido de proteina cruda} (\%) = \textit{Nitrogeno en la muestra} \times 6.25$$

Donde:

A = Ácido clorhídrico usado en la titulación (mL)

B = Normalidad del ácido estándar

C = Peso de la muestra (g)

6.2.4 Fibra cruda

Se pesaron 2 a 3 gramos de la muestra desengrasada y seca y fue colocada en un matraz y se adicionaron 200 mL de la solución de ácido sulfúrico en ebullición. Se colocó en el condensador y se llevó a ebullición se mantuvo así exactamente por 30 min, manteniendo constante el volumen con agua destilada. Al término del tiempo de ebullición, se retiró el matraz, se dejó enfriar durante un minuto y se procedió a filtrar utilizando un embudo Buchner y empleando una bomba de vacío. Posteriormente se transfirió el residuo al matraz con ayuda de una piceta conteniendo 200 mL de solución utilizando un crisol de filtración precalentado se realizó el filtrado cuidadosamente después de dejar reposar el hidrolizado por 1 min. Posteriormente el residuo fue lavado con agua destilada hirviendo, seguido de una solución de HCl y nuevamente con agua

hirviendo, finalmente se realizó tres lavados con éter de petróleo. Se colocó el crisol en un horno a 105°C por 12 horas, se transfirió a un desecador para enfriar. Finalmente se pesaron los crisoles con el residuo y colocados en una mufla a 550°C por 3 horas, se dejó enfriar nuevamente y se pesó.

El contenido de fibra cruda fue determinado empleando la siguiente formula:

$$\text{Contenido de fibra cruda (\%)} = \left[\frac{(A - B)}{C} \right] \times 100$$

Donde:

A = Peso del crisol con el residuo seco (g)

B = Peso del crisol con la ceniza (g)

C = Peso de la muestra (g)

6.2.5 Extracto libre de nitrógeno (E.L.N)

Dentro de este concepto se agrupan todos los nutrientes no evaluados con los métodos señalados anteriormente dentro del análisis proximal. Está constituido principalmente por carbohidratos digeribles, así como también vitaminas y demás compuestos orgánicos solubles no nitrogenados. Se reporta como el valor resultante de restar a 100 los porcentos calculados para cada parámetro evaluado.

$$\text{Extracto libre de nutrogeno (\%)} = 100 - (A + B + C + D)$$

Donde:

A= Cenizas

B = Extracto etéreo

C = proteína cruda

D = Fibra cruda

6.3 Extracción de aceites esenciales mediante arrastre de vapor

Para la extracción de aceites esenciales se empleó un sistema de arrastre de vapor (**Figura 2**) está constituido por 3 secciones. La primera sección consistió en la generación de vapor de agua, que se llevó a cabo colocando un litro de agua destilada en un matraz de bola fondo plano, la aplicación de calor se realizó mediante llama directa; la segunda consiste en el empleo de un matraz bola de tres ángulos en donde fue colocada 100 gr de muestra de hoja o tallo según fuera el caso, en esta sección el vapor de agua incide directamente en la muestra arrastrando los compuestos, el vapor fluyo mediante un conector hacia un condensador tipo Liebig (40 cm) conectado a un enfriador marca Heidolph utilizando etilenglicol como refrigerante en contracorriente a 4°C. Finalmente el condensado es depositado en un embudo de separación, para realizar una separación por decantación. La duración del proceso fue de 1 h por muestra una vez que se observó la condensación del refrigerante. El aceite obtenido es almacenado en un congelador a 4°C en oscuridad hasta su análisis.



Figura 2. Sistema de extracción por arrastre de vapor

6.3.1 Rendimiento de proceso de extracción de aceites esenciales

El rendimiento de extracción del proceso fue determinado mediante la relación de la masa material vegetal utilizada (100 g) y la masa del aceite esencial obtenido del proceso de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento \% (p/v)} = \frac{\text{Volumen final de aceite obtenido}}{\text{Peso inicial total de la muestra}} \times 100$$

6.4 Extracción de cera de candelilla por el método alternativo

El proceso constó de dos etapas; la primera consistió en cortar los tallos de la candelilla y posteriormente fueron sometidos por inmersión en una solución ácido cítrico al 1% a 80°C en un vaso de precipitado, se recuperó el cerote que flota en la superficie del vaso. La segunda etapa consistió en un refinamiento del cerote el cual es sometido por inmersión nuevamente en una solución de ácido cítrico al 1 % a 80°C, logrando de esta manera que las impurezas se separaran de la cera y precipitaran permitiendo obtener una cera pura la cual fue retirada con ayuda de una cuchara y almacenada a temperatura ambiente hasta su análisis.

6.4.1 Rendimiento de extracción de cera por el método alternativo

El rendimiento de extracción del proceso fue determinado mediante la relación de la masa material vegetal utilizada (100 g) y la masa de cera obtenida del proceso de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento \% } \left(\frac{p}{p} \right) = \frac{\text{Peso final de cera obtenida}}{\text{Peso inicial total de la muestra}} \times 100$$

6.5 Extracción de polifenoles

La extracción de compuestos fenólicos se realizó mediante la metodología propuesta por Ascacio-Valdés *et al.*, (2010). Cada muestra (20 g) fue extraída al agregar 100 mL de agua previamente calentada. Todas las extracciones fueron realizadas en frascos de reactivo color café oscuro y fueron sumergidos durante 30 min a 60°C en un baño metabólico. Posteriormente, los extractos obtenidos fueron filtrados implementado papel filtro Whatman #41.

6.5.1 Purificación

Se usó una columna cromatográfica con Amberlita XAD-16 (fase estacionaria) y agua y etanol como fase móvil. Primero, el agua fue usada como eluyente para descartar compuestos no deseados y luego, se usó etanol como eluyente para obtener la fracción rica en polifenoles (Seeram *et al.*, 2005). El solvente fue evaporado (50°C por 48 h) y los polifenoles fueron recuperados como polvo fino. La fase estacionaria fue activada añadiendo 60 mL de metanol absoluto a 30 g de resina, se colocó en agitación por 30 min.

6.5.2 Rendimiento del proceso

El rendimiento de extracción del proceso fue determinado mediante la consideración de la masa del material vegetal depositado en los frascos para la extracción y la masa resultante del proceso de purificación de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento \%} = \left(\frac{p}{p}\right) \frac{\text{Peso final del povl rico en polifenoles}}{\text{Peso inicial total de la muestra}} \times 100$$

6.6 Evaluación de la actividad antioxidante

Considerando que las reacciones de carácter antioxidantes son complejas, el análisis por un único método no satisface una evaluación solida (Viera *et al.*, 2017). Por ende, la evaluación de la actividad antioxidante fue analizada mediante tres métodos según lo establecido por Martínez-Ávila *et al.* (2011) con el objetivo de obtener un panorama amplio de análisis y resultados más confiables. Dichos análisis son: Captación de radicales de ABTS^{•+}, Poder reductor férrico (FRAP) y ensayo de inhibición de la lipoperoxidación (LPO).

6.6.1 Captación de radicales ABTS^{•+}

Para ABTS^{•+} se formó el radical usando 12.5 mL de 2.45 mM de persulfato de potasio mezclando con 25 mL de 7 mM de solución de ABTS^{•+} y la mezcla se estandarizo de 12 a 16 h en un cuarto oscuro a temperatura ambiente. La absorbancia fue medida a 734 nm y la solución de ABTS^{•+} fue diluida en etanol hasta obtener un valor de absorbancia de 0.700 ± 0.02 . Se usaron 950 μ L de ABTS^{•+} ajustado y se adicionaron 50 μ L del extracto, la absorbancia fue determinada inmediatamente.

$$Inhibicion (\%) = \left[\frac{(A_{control} - A_{muestra})}{A_{control}} \right] \times 100$$

En donde $A_{control}$ representa el valor de la absorbancia del reactivo ABTS^{•+} y $A_{muestra}$ el valor de reacción acorde a cada muestra.

6.6.2 Poder reductor férrico (FRAP)

El poder reductor férrico se determinó según la metodología propuesta por Celik *et al.* (2010) con algunas modificaciones. Las muestras (500 µL) se mezclaron con 120 µL de tampón de fosfatos (pH 7), preparado mezclando fosfato de potasio dibásico (61.5 mL, 1 M), fosfato de potasio monobásico (38.1 mL, 1 M) y aforando a 1 L. con agua destilada. Posteriormente se agregaron 220 µL de ferricianuro de potasio al 1% a la mezcla de reacción, se homogeneizó y se incubó a 50°C durante 20 min. A continuación, se añadieron 120 µL de ácido tricloroacético al 10 %, 450 µL de agua destilada y 100 µL de cloruro férrico al 0.1 % . La absorbancia se registró a 734 nm.

6.6.3 Inhibición de la lipoperoxidación (LPO)

Se llevó a cabo usando ácido linoleico como fuente lipídica. La solución se preparó diluyendo 0.56 g de ácido linoleico y 1.5 g de Tween 20 en 8 mL de etanol al 96%. El extracto (50 µL) se mezcló con 100 µL de solución de ácido linoleico y 1.5 mL de 0.02 M de buffer acetatos, pH 4. Los controles contenían 50 µL de agua destilada. La emulsión fue incubada a 37 °C, después de 1 min 750 µL de solución de FeCl₂ 5 M para inducir la oxidación. Después de 24 h se adicionó 1 mL de 0.1 M NaOH en etanol al 10% en 250 µL para detener el proceso de oxidación. Después de mezclar, 2.5 mL de etanol al 10% fueron adicionados y se leyó la absorbancia a 232 nm.

El porcentaje de inhibición de la oxidación del ácido linoleico se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibicion (\%)} = \frac{A - B}{B} \times 100$$

Donde A es la diferencia entre la absorbancia del control (agua destilada) (24 h y 0 h), y B es la diferencia entre la absorbancia de cada muestra (24 h y 0 h) de incubación.

6.7 Ensayos enzimáticos

6.7.1 Inhibición de la α -glucosidasa

El efecto de los extractos de plantas sobre la actividad α -glucosidasa se determinó según el método descrito por Kim *et al.* (2005). Utilizando α -glucosidasa de *Saccharomyces cerevisiae* en buffer de fosfatos 20 mM. Un total de 100 μ L de α -glucosidasa (1.0 U/mL) y 50 μ L de muestra fueron incubados a 37°C durante 10 min. Posteriormente se agregó 50 μ L del sustrato p-nitrofenil glucopiranosido (pNPG) 3.0 mM disuelto en buffer de fosfatos 20 mM (pH 6.9) para iniciar la reacción y se incubó nuevamente a 37 ° C durante 20 min. La reacción se detuvo agregando 500 μ L de carbonato de sodio y se leyó la absorbancia a 405 nm.

$$Inhibicion (\%) = \left[\frac{(A_{control} - A_{muestra})}{A_{control}} \right] \times 100$$

En donde $A_{control}$ representa el valor de la absorbancia del reactivo control y $A_{muestra}$ el valor de reacción acorde a cada muestra.

6.7.2 Inhibición de la α -amilasa

Este ensayo se llevó a cabo utilizando un procedimiento modificado de McCue y Shetty (2004). Un total de 250 μ L de muestra y 250 μ L de enzima α -amilasa pancreática porcina (0.5mg/mL) en buffer de fosfatos 20 mM (pH 6.9) fueron incubadas a 25°C durante 10 min, después se agregaron 250 μ L de una solución de almidón al 1 % en buffer de fosfatos 20 mM (pH 6.9) y fueron incubados nuevamente a 25°C durante 10

min. Finalmente, la reacción se detuvo agregando 500 µL una solución de ácido dinitrosalicílico (DNS). A continuación, los tubos fueron colocados baño maría a 90°C durante 5 min y se enfriaron a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con 5 mL de agua destilada y la absorbancia se midió a 540 nm.

$$Inhibicion (\%) = \left[\frac{(A_{control} - A_{muestra})}{A_{control}} \right] \times 100$$

En donde $A_{control}$ representa el valor de la absorbancia del reactivo control y $A_{muestra}$ el valor de reacción acorde a cada muestra.

6.8 Determinación de propiedades fisicoquímicas de ceras obtenidas por el método tradicional y alternativos

La determinación de propiedades fisicoquímicas se realizó empleando las metodologías reportadas por Bernal *et al.*, (2005) con algunas modificaciones. Se evaluaron ceras obtenidas por el método tradicional (nivel laboratorio) y por el método alternativo (nivel comercial).

6.8.1 Punto de fusión

Este índice se determinó siguiendo el método de tubo capilar. La cera derretida fue introducida en un tubo capilar de pared fina de 10 cm x 2 mm de diámetro interno del tubo, hasta alcanzar una altura de aproximadamente 1 cm. Una vez que la cera se solidificó, el tubo se mantuvo a temperatura ambiente por 24 h. Después el tubo capilar que contuvo la cera fue introducido en un baño de agua que fue se calentó progresivamente aumentando la temperatura a 1 — 2 °C/min. La temperatura de fusión se tomó a la que la cera estaba completamente fundida.

6.8.2 Saponificación

Se pesó una cantidad de 0.300 ± 0.001 g de cera en un vaso de precipitados 10 mL luego se añadió 4 mL de una solución de NaOH 4 M. Los vasos fueron llevados a una estufa para llevar a cabo la saponificación a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1 h. Posteriormente, la fase acuosa se vertió en un segundo vaso de precipitado; además se realizó un lavado (primer vaso) con 5 mL agua destilada, que también fue vertida en el segundo vaso. La solución, aún caliente, fue titulada con una solución de HCl de 0.5 M, añadiendo dos gotas de fenolftaleína como indicador en agitación constante. En los blancos, se empleó agua destilada en sustitución de la muestra de cera. El índice de saponificación es expresado en mg NaOH/g muestra, y es calculado aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de saponificación} = 39.997 M \frac{V - V''}{m}$$

En donde:

M = molaridad del HCl

V = volumen en mL de HCl consumidos por el blanco

V'' = volumen en mL de HCl consumidos por la muestra

m = masa en g de muestra utilizada

6.8.3 Valor de acidez

Una cantidad de 0.200 ± 0.01 g de cera se disolvió en 10 mL de cloroformo con la ayuda de un equipo de ultrasonido (10 min). Posteriormente se añadieron dos gotas de fenolftaleína y se tituló la solución de NaOH 0.05 M en metanol en agitación constante. El blanco consistió en agua destilada en sustitución de la muestra de cera.

El índice de acidez es expresado en mg NaOH/g, y es calculado aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Valor de acidez} = 39.997 M \frac{V - V''}{m}$$

Donde:

M = molaridad del NaOH

V = volumen en mL consumidas por la muestra

V'' = volumen en mL consumidas por el blanco

m = masa en g de muestra utilizada

6.8.4 Número de absorción de yodo

Este parámetro fue determinado por el método de Hanus. Se disolvió una cantidad de 0.300 ± 0.005 g de muestra en 10 mL de cloroformo, con ayuda de un equipo de ultrasonido (10 min). Posteriormente, se añadieron 5 mL de reactivo Hanus (solución preparada disolviendo 2 g de monobromuro de yodo en 100 mL de ácido acético). La mezcla se agitó ligeramente durante 30 s y se llevó a oscuridad a temperatura ambiente durante 1 h para completar la adición de I_2 a los dobles enlaces. Finalmente se añadieron 5 mL de una solución de yoduro de potasio al 8 %, y se tituló con una solución de tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$) 0.1 M, con agitación constante y añadiendo dos gotas de almidón al 1 % como indicador. Los blancos consistieron en agua destilada en sustitución de la muestra. El número de absorción de yodo es expresado en g I/100 g de muestra, y es calculado aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Numero de absorcion de yodo} = 1.269 \frac{V - V''}{m}$$

Donde:

V es el volumen en mL de tiosulfato de sodio consumidos por el blanco
 V'' es el volumen en mL de tiosulfato de sodio consumidos por la muestra
 m es la masa en g de muestra utilizada

6.9 Caracterización de grupos funcionales por medio de FTIR-ATR

Los análisis se realizaron utilizando un FTIR Agilent modelo Cary 630 acoplado con el accesorio ATR con cristal de seleniuro de zinc (ZnSe). Las muestras fueron colocadas sobre el cristal, asegurándose que cubriera toda la superficie de este, posteriormente fue prensada y analizada utilizando el programa MicroLab PC en un rango espectral de 4000 a 650 cm^{-1} , con un ciclo de 32 escaneos y una resolución de 2 cm^{-1} . Finalmente, la prensa fue abierta y la muestra fue retirada, el cristal fue limpiado entre cada muestra con etanol y algodón con la precaución de no dejar rastros de muestra sobre el lector. El análisis del espectro y los grupos funcionales detectados se llevó a cabo utilizando el programa MicroLab Expert y la construcción del gráfico por medio del programa OriginPro 8. Todas las muestras fueron analizadas en estado sólido o líquido según su naturaleza sin ningún pretratamiento.

6.10 Análisis de aceites esenciales por cromatografía de gases acoplado a masas (GC/MS)

6.10.1 Método cromatografía de gases

Los análisis se realizaron en colaboración con el Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica, Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional, Reynosa, México.

En el análisis GC/MS se empleó la metodología descrita por Sethi *et al.* (2013) con ligeras modificaciones. Se realizó en utilizando un equipo Agilent 7890B con detector

selectivo de masas de triple eje 5975C, se utilizó nitrógeno como gas portador. Se inyectaron 2 μ L de cada muestra, en donde la temperatura del inyector y la temperatura de la fuente de iones fueron de 250°C y 220°C respectivamente. La temperatura del horno se mantuvo inicialmente a 70°C durante 3 minutos y luego se aumentó a 170°C, la tasa de aumento fue de 10°C/min y esta temperatura se mantuvo durante 10 minutos y, finalmente, la temperatura aumentó a 250°C durante 20 minutos. El espectro de masas se registró a 70 eV con un intervalo de barrido de 0.5 segundos y un rango de masas de 50-650 uma.

La comparación de los espectros MS obtenidos se realizó utilizando base de datos propia del equipo Agilent 7890B.

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Análisis químico-proximal

El análisis químico-proximal representa una herramienta útil para identificar los componentes químicos y propiedades que los alimentos o especies vegetales de interés puedan presentar, permitiendo identificar la presencia de macroelementos y de esta forma garantizar que puedan ser aplicados de forma segura, con propiedades nutritivas y deseables (Vázquez y Fernández., 2020), en el caso de la presente investigación, para una posible aplicación en diversas ramas de procesos agroindustriales.

Cuadro 2. Resultados obtenidos del análisis químico-proximal de las diferentes especies analizadas en las tres comunidades.

Especie	Comunidad	Cenizas %	Extracto etéreo %	Proteína cruda %	Fibra cruda %	E.L.N %
Orégano	León	8.903 (± 0.26) ^{bc}	3.599 (± 0.30) ^{cd}	2.099 (± 0.04) ^d	9.291 (± 4.84) ^b	76.105 (± 4.78) ^a
	San Jerónimo	9.639 (± 0.11) ^c	3.83 (± 0.41) ^d	1.481 (± 0.04) ^e	14.366 (± 0.67) ^b	72.761 (± 0.59) ^a
	Tortuga	10.161 (± 0.03) ^c	3.49 (± 0.38) ^d	1.643 (± 0.03) ^e	11.638 (± 0.86) ^b	73.066 (± 1.09) ^a
Hojasén	León	14.133 (± 0.11) ^b	8.666 (± 0.47) ^d	2.114 (± 0.04) ^e	11 (± 0.35) ^c	64.085 (± 0.55) ^a
	San Jerónimo	13 (± 0.17) ^b	6.4 (± 2.16) ^c	1.98 (± 0.04) ^d	11.233 (± 0.62) ^b	67.386 (± 2.88) ^a
	Tortuga	14.533 (± 0.15) ^{bc}	8.6 (± 0.72) ^{bc}	2.123 (± 0.02) ^c	23.333 (± 17.33) ^a	51.41 (± 16.78) ^b
Sangre de Drago	León	8.866 (± 0.35) ^f	2.042 (± 0.16) ^h	1.287 (± 0.10) ^h	28.15 (± 0.3) ^c	59.13 (± 0.35) ^b
	San Jerónimo	9.265 (± 0.07) ^f	1.991 (± 0.17) ^h	2.03 (± 0.03) ^h	19.2 (± 2.26) ^e	67.511 (± 2.09) ^a
	Tortuga	7.355 (± 0.04) ^{fg}	3.644 (± 0.28) ^g	1.569 (± 0.01) ^h	26.083 (± 0.22) ^d	61.346 (± 0.52) ^b
Gobernadora	León					
	San Jerónimo					
	Tortuga					
Candelilla verde	León	11.233 (± 0.36) ^c	10.422 (± 0.36) ^c	0.53 (± 0.05) ^d	35.033 (± 0.73) ^b	42.78 (± 0.95) ^a
	San Jerónimo	11.1 (± 0.12) ^c	6.1 (± 0.18) ^d	0.678 (± 0.18) ^e	35.083 (± 3.40) ^b	47.038 (± 3.56) ^a
	Tortuga	9.966 (± 0.94) ^d	13.888 (± 0.94) ^c	0.49 (± 0.06) ^e	31.85 (± 1.79) ^b	43.801 (± 0.90) ^a
Candelilla residuos	León	8.91 (± 0.15) ^c	0.683 (± 0.05) ^e	3.844 (± 0.08) ^d	23.3 (± 0.87) ^b	63.27 (± 1.04) ^a
	San Jerónimo	11.7 (± 0.34) ^c	0.669 (± 0.04) ^e	5.933 (± 0.12) ^d	27.033 (± 0.72) ^b	54.66 (± 0.54) ^a
	Tortuga	8.57 (± 0.11) ^c	0.66 (± 0.04) ^e	3.822 (± 0.58) ^d	33.266 (± 1.31) ^b	53.68 (± 2.03) ^a

Letras diferentes muestran diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$)

En el **Cuadro 2** se observan los resultados del análisis químico-proximal, en los cuales se observa diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$) entre especies y comunidades. La mayor composición para todas las especies fue el contenido de E.L.N., lo que corresponde al contenido de azúcares, almidón y algunas hemicelulosas, seguido del

contenido de fibra cruda. En el contenido nutricional de orégano, los resultados obtenidos difieren a los reportado por Negrea *et al.*, (2018) ya que en análisis de *Origanum vulgare* reportaron los siguientes valores: cenizas 5.3 %, proteínas 7.9 %, lípidos 0.67 % y carbohidratos 70.89 %. Por otra parte, los resultados obtenidos en planta de candelilla (verde y residuos), si bien se observa una diferencia entre la composición de la planta verde y los residuos resultantes del proceso de extracción de cera, dichos resultados difieren a lo reportado por Rojas-Molina *et al.* (2013) quienes obtuvieron los siguientes valores: proteína (2.3 %), cenizas (10.9 %), lípidos (15.9 %), carbohidratos (0.27 %) y azúcares reducidos (0.16 %). Es importante considerar que aunque se observa una disminución en cuanto a la composición química de los residuos, lo cual se puede deber al proceso de extracción de cera al cual es sometida la planta, los residuos presentan una composición nutricional considerable, representando una oportunidad para ser implementados en otras ramas agrícolas como fuente de nutrientes, con el fin de disminuir la cantidad de desechos, ya que según Ascacio-Valdés *et al.*, (2013) se generan aproximadamente 140 toneladas de desechos resultantes de la extracción de cera de candelilla.

En el caso de hojásén y sangre de drago, actualmente los reportes sobre su composición química continúan siendo escasos. Es importante considerar para todas las especies y los rendimientos obtenidos en este proyecto, que la producción tanto cualitativa y cuantitativa metabolitos (primarios y secundarios) están directamente relacionados con su fenología y que los productos obtenidos variarán según los factores ambientales o limitantes ecológicos como lo son: suelo, el clima, latitud,

longitud, la altitud sobre el nivel del mar y precipitación, entre otros Quezada Cárdenas, (2020).

7.2 Rendimiento de extracción de aceites esenciales

En el proceso de extracción de aceites esenciales, las cinco especies de interés fueron sometidas al proceso, sin embargo, solo se obtuvieron aceites esenciales de dos especies.

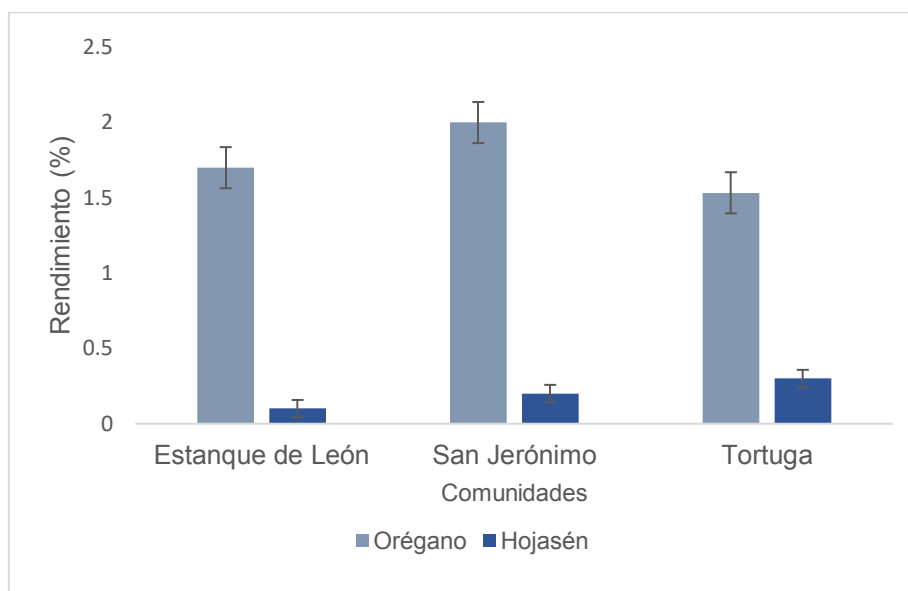


Figura 3. Rendimientos de aceite esencial de orégano y hojasén de las diferentes comunidades.

Los rendimientos de registrados de orégano (**Figura 3**) en el proceso presentan diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$) entre localidades y se presenta el siguiente orden descendente San Jerónimo > Tortuga > Estanque de León, siendo la comunidad de San Jerónimo la que mayor rendimiento presentó (2 %). El porcentaje de recuperación de aceites esenciales de orégano se encuentra por debajo, pero relativamente cercano a lo obtenido por Salgueiro *et al.* (2003), quienes realizaron extracción de aceite esencial de las partes aéreas de *Lippia graveolens* obteniendo

rendimientos (p/v) de 3.0 – 3.5 %. Otros autores reportaron rendimientos de aceites esencial de hojas de *Origanum vulgare* L. de 1.5 %, mientras que para hojas de *Lippia graveolens*, fue de 0.47 % (Miller *et al.*, 2015). Mientras que Ozdemir *et al.* (2018) reportan rendimientos de 1.15 % en planta húmeda y 1.40 % en planta secada en estufa de *Origanum onites* L. Por lo que, los rendimientos obtenidos en las muestras analizadas están dentro de los intervalos reportados y por lo tanto son comparables tanto para la misma especie, así como con especies extranjeras.

En cuanto a los rendimientos registrados de hojasén (**Figura 3**) en el proceso no se presentó diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$) entre las localidades y se presentó el siguiente orden descendente; Tortuga > San Jerónimo > Estanque de León, siendo la comunidad de Tortuga quien presentó mayor rendimiento (0.3 %). Con base a la recuperación de aceite esencial de Hojasén, los reportes acerca de extracción y rendimientos de aceite esencial de *Flourensia cernua* son prácticamente nulos y los existentes son relativamente antiguos. Sin embargo, se ha demostrado que las especies del género *Flourensia* son ricas en aceites esenciales (Priotti *et al.*, 1997), aun tomando esto en cuenta los estudios se han limitado a las especies *Flourensia oolepis* S.L. Blake, *F. thurifera*, *F. campestris* y *F. cernua* (Ríos, 2015).

Téllez *et al.* (1997) reportaron rendimientos de aceite esencial de *F. cernua* de 0.28 – 0.34 % en hoja fresca y 0.84 – 1.01 % en hoja seca. Por otro lado, Piazza *et al.* (2018) obtuvieron rendimientos del 0.78 % (hojas secas, primavera de 2007), 0.24 % (hojas frescas, verano de 2014), y 0.88 % (hojas secas, verano 2014) de *F. campestris* dichos reportes presentan similitud con lo obtenido con las muestras y son comparables con especies pertenecientes al mismo género. Las variaciones en los rendimientos de

aceite obtenidos en este trabajo y los publicados anteriormente se pueden atribuir a factores genéticos y ambientales (Rajabi *et al.*, 2014), que influyen directamente en el estado de estrés de la planta y por lo tanto en la producción de dichos metabolitos secundarios.

7.3 Rendimiento de cera obtenida por el método alternativo

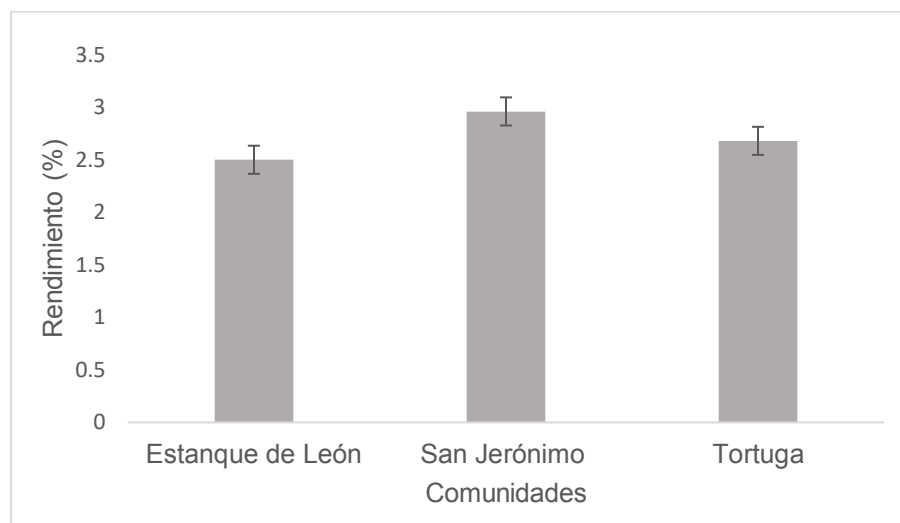


Figura 4. Rendimientos de cera de candelilla obtenidos por el método alternativo.

Los rendimientos de registrados de cera de candelilla (**Figura 4**) no presentan diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$) entre las localidades, los valores se obtuvieron en el siguiente orden San Jerónimo > Tortuga > Estanque de León, siendo la comunidad de San Jerónimo la que mayor rendimiento presentó (2.96 %).

El porcentaje de recuperación de cera de candelilla se encuentra dentro de los parámetros reportados por De León-Zapata *et al.* (2010), quienes indican que con el método alternativo se pueden obtener rendimientos iguales o mayores a 2.8 %.

Si bien el método tradicional (ácido sulfúrico) puede generar rendimientos entre 2 y 6 % (Rojas Molina *et al.*, 2011), hay que considerar que el proceso es arcaico y

representa un mayor nivel de riesgo tanto para quienes realizan la práctica, así como para el ambiente, por lo que los rendimientos obtenidos en la presente investigación tienen el potencial para competir con el método tradicional.

7.4 Rendimientos del proceso de extracción de compuestos fenólicos

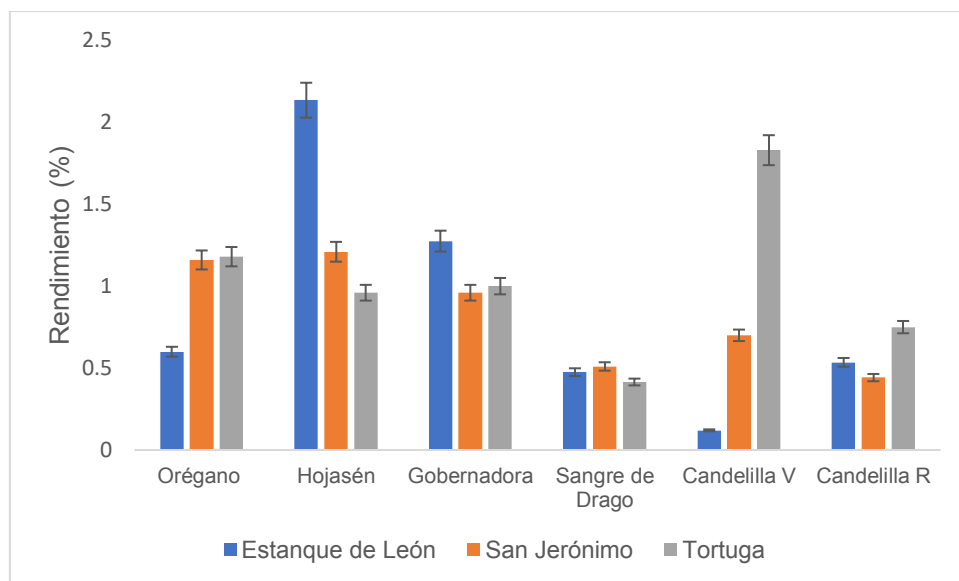


Figura 5. Rendimientos de compuestos polifenólicos obtenidos de las cinco especies analizadas.

En la **Figura 5**, se observan los rendimientos de compuestos polifenólicos obtenidos para cada una de las especies y las comunidades analizadas. De los cuales la planta de hojasén fue la que presentó los mayores rendimientos, seguido de gobernadora y orégano.

Los rendimientos polifenoles de orégano registrados en el proceso, no presentan diferencia significativa ($\alpha = 0.05$), presentando el siguiente orden descendente: Tortuga > San Jerónimo > Estanque de León siendo la comunidad de Tortuga en donde se obtuvieron mayor rendimiento con de 1.2 %. Rodríguez-Meizoso *et al.* (2006) obtuvieron de *Origanum vulgare* L. un rendimiento de 9.0 % al utilizar agua a una

temperatura de 50°C, los cuales son muy superiores a los obtenidos en la presente investigación.

Por otra parte, los rendimientos de polifenoles en hojasén registrados en el proceso, presentan diferencia significativa ($\alpha = 0.05$) y se presentó el siguiente orden descendente: Estanque de León > San Jerónimo > Tortuga, siendo la comunidad de Estanque de León la que mayor rendimiento presentó (2.18 %). Los rendimientos obtenidos se encuentran cercanos a lo reportado por Álvarez-Pérez *et al.* (2020) con un rendimiento de 2.27 % sin embargo, Zavala *et al.* (2010) reportaron rendimientos mayores al 10 %, pero es necesario tomar en cuenta que este proceso no se llevó a cabo la purificación del extracto para la obtención de los polifenoles.

Por su parte, sangre de drago cuyos rendimientos de las diferentes comunidades no presentaron diferencia significativa ($\alpha = 0.05$), aun así, presentan el siguiente orden descendente: San Jerónimo > Estanque de León > Tortuga siendo la comunidad de San Jerónimo la que presentó mayor rendimiento con 0.65 %. Wong-Paz *et al.* (2015) reportaron rendimientos de 9.98%, los cuales son mayores a lo obtenido en las muestras analizadas en este estudio, pero hay que comentar que los autores en cuestión no realizaron el proceso de purificación.

En cuanto a los rendimientos de compuestos polifenólicos obtenidos de la planta de gobernadora, se aprecia una diferencia significativa ($\alpha = 0.05$) entre comunidades, con el siguiente orden descendente: Estanque de León > Tortuga > San Jerónimo, siendo la comunidad de Estanque de León la que presentó mayor rendimiento con 1.35%. Dichos valores se encuentran muy por debajo de lo reportado por Skouta *et al.* (2018) quienes reportaron rendimientos con valores entre 14.11 – 24.65 % empleando diferentes solventes y sin proceso de purificación.

En rendimientos obtenidos de planta de candelilla verde, así como de los residuos de las diferentes comunidades, se encontró diferencia significativa ($\alpha < 0.05$), siendo la comunidad de Tortuga en ambos casos la que presentó mayor rendimiento de compuestos polifenólicos con valores de 1.83 % (planta verde) y 0.75 % (residuos), por lo cual se puede establecer que el proceso de extracción alternativo de cera de candelilla sí afecta negativa el contenido cuantitativo de compuestos polifenólicos. Es importante considerar que para todas las especies evaluadas los rendimientos pueden variar según el método de extracción aplicado, el solvente utilizado, el tiempo, las temperaturas del proceso, entre otros factores (Zavala *et al.*, 2010).

7.5 Actividad antioxidante

Debido a las diferencias entre el amplio número de ensayos disponibles para medir la actividad antioxidante, los resultados de un solo ensayo sólo pueden dar un panorama limitado de las propiedades antioxidantes de los extractos de plantas (Martínez *et al.*, 2011). Debido a esto, en la presente investigación se realizó tres ensayos con fundamentos diferentes, con la finalidad de tener un panorama más amplio acerca del potencial antioxidante de las especies en cuestión.

7.5.1 Compuestos polifenólicos

En el **Cuadro 3** se muestran los resultados para los valores de IC_{50} obtenidos de las pruebas de captación del radical $ABTS^{•+}$ y poder reductor férrico (FRAP) e inhibición de la lipoperoxidación (LPO).

Cuadro 3. Resultados de la evaluación de actividad antioxidante de compuestos polifenólicos.

Especie	Comunidad	ABTS ^{•+} IC ₅₀ (mg/L)	FRAP IC ₅₀ (mg/L)	LPO (%)
Orégano	León	672.1 (±9.01) ^c	855.16 (±20.09) ^c	77.17 (±8.95) ^{ab}
	San Jerónimo	658.36 (±4.06) ^c	792.03 (±30.07) ^c	54.40 (±8.82) ^{defq}
	Tortuga	663.89 (±5.39) ^c	1171.97 (±11.57) ^b	32.16 (±6.42) ^{hij}
Hojasén	León	622.25 (±1.06) ^c	1898.37 (±1.35) ^{ab}	51.55 (±4.64) ^{efg}
	San Jerónimo	1683.99 (±11.33) ^a	2819.35 (±3.39) ^a	60.31 (±2.43) ^{def}
	Tortuga	1064.66 (±0.27) ^a	2963.55 (±0.58) ^a	62.38 (±6.43) ^{de}
Gobernadora	León	921.59 (±3.38) ^b	391.017 (±14.31) ^d	65.49 (±11.17) ^{bcd}
	San Jerónimo	940.09 (±4.08) ^b	495.61 (±1.40) ^d	76.26 (±8.60) ^{abc}
	Tortuga	918.60 (±2.91) ^b	306.55 (±4.00) ^{de}	80.41 (±7.52) ^a
Sangre de Drago	León	636.99 (±7.72) ^c	1226.4 (±6.87) ^b	41.15 (±11.79) ^{hij}
	San Jerónimo	552.14 (±11.93) ^{bc}	1109.83 (±9.96) ^b	22.19 (±11.69) ^j
	Tortuga	315.26 (±8.80) ^d	887.08 (±3.96) ^c	31.27 (±4.69) ^{ij}
Candelilla Verde	León	147.13 (±6.94) ^e	165.14 (±14.19) ^e	60.05 (±16.09) ^{def}
	San Jerónimo	129.73 (±17.18) ^e	177.71(±1.89) ^e	35.99 (±2.16) ^{ij}
	Tortuga	110.92 (±5.19) ^e	101.80 (±9.96) ^{ef}	63.87 (±11.27) ^{cde}
Candelilla Residuos	León	70.799 (±13.08) ^f	163.86 (±3.84) ^e	53.72 (±4.01) ^{defg}
	San Jerónimo	115.321 (±1.35) ^e	174.82 (±10.18) ^e	32.47 (±9.65) ^{hij}
	Tortuga	113.07 (±5.86) ^e	206.83 (±8.31) ^e	49.10 (±1.02) ^{fg}

Letras diferentes muestran diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$)

7.5.1.1 Captación de radicales ABTS^{•+}

En el análisis de la captación de radicales ABTS^{•+} y la determinación de IC₅₀, se presentó diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$) entre las diferentes especies, en el siguiente orden descendente: Candelilla residuos > Candelilla verde > Sangre de Drago > Orégano > Gobernadora > Hojasén, siendo la candelilla residuos quien presentó la que presentó mejores valores de IC₅₀ con rangos entre 70.79 –115.32 (mg/L).

Respecto a la sangre de drago, Huang *et al.* (2020) reportan valores de IC₅₀ para *J. curcas* entre 6.75 – 329.71 ($\mu\text{g/mL}$). Con base en lo reportado por Balili *et al.* (2011) valores de IC₅₀ en ABTS^{•+} de extractos de *Origanum compactum* con diferentes solventes reportaron valores entre 1.9 – 17.4 (mg/L), los cuales se encuentran muy por

debajo de los obtenidos en las muestras analizadas. Mientras que para gobernadora los valores obtenidos se encuentran muy por encima por lo reportado por Skouta *et al.* (2018) quienes utilizaron diferentes solventes y reportan valores de IC₅₀ en un rango de 6.82 – 35.84 (µg/mL). Actualmente el estudio sobre el potencial antioxidante de hojasén es de los más escasos; sin embargo, Rodríguez *et al.* (2019) reportan en extractos etanólicos una inhibición en ABTS^{•+} de 32.5 %. Por otra parte, reportes del potencial inhibitorio de radicales por parte de la planta de candelilla son prácticamente nulos. Sin embargo, previamente el equipo de investigación reportó valores de IC₅₀ con valores entre 46.78 – 69.01 (µg/mL) evaluando residuos de planta de candelilla resultantes del proceso de extracción tradicional y alternativo (Bautista-Hernández *et al.*, 2021).

7.5.1.2 Poder reductor férrico (FRAP)

En el análisis del poder reductor FRAP y la determinación de IC₅₀, presentó diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$) entre las diferentes especies, presentando el siguiente orden descendente: Candelilla verde > Candelilla residuos > Gobernadora > Orégano > Sangre de Drago > Hojasén, siendo los compuestos polifenólicos de candelilla verde los que presentaron mejores valores de IC₅₀ con rangos entre 101.80 – 177.71 (mg/mL.)

Los valores obtenidos en FRAP, no suelen ser reportado en valores de IC₅₀, tomando esto en cuenta, se han reportado valores para gobernadora 0.44 y 1.035 (250 µg/mL) Skouta *et al.* (2018). Mientras que, para orégano, Teixeira *et al.* (2013) reportan en extractos de *Origanum vulgare* con diferentes solventes valores entre 0.0126 – 0.037 (mM Fe²⁺/g). Para sangre de drago se han reportado valores de 0.41 (mM ET/g)

(Bejarano *et al.*, 2021). Para hojasén se han reportado valores de valores de 1.2 (mM Fe^{2+}/L). En el caso de candelilla, previamente reportado por Bautista-Hernández *et al.* (2021), se obtuvieron valores en FRAP en rango de 46.382 – 135.07 a concentraciones de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$, mientras que en la presente investigación los valores de IC_{50} fluctúan en concentraciones entre 101.80 – 177.71 (mg/L) en planta verde y 163.86 – 206.83 (mg/L) en los residuos, un punto importante a considerar es la diferencia entre los valores de IC_{50} obtenidos en dos estados de la planta de candelilla (verde y residuos), en donde se observa un valor menor de IC_{50} en la planta verde respecto a los residuos, esto se puede deber a las condiciones a las cuales es sometida la planta durante el proceso de extracción de cera.

7.5.1.3 Inhibición de la lipoperoxidación (LPO)

En el ensayo de la inhibición de la lipoperoxidación de los compuestos polifenólicos, en los cuales se observa una diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$), es importante mencionar que en dicho ensayo se presentó una significancia de cuatro niveles lo que nos indica una gran variabilidad en la respuesta inhibitoria de los compuestos polifenólicos sobre el proceso de la lipoperoxidación aun tratándose de la misma especie, pero en diferentes comunidades. Tomando en cuenta esto, presentó el siguiente orden descendente; Gobernadora > Hojasén > Orégano > Candelilla verde > Candelilla residuos > Sangre de Drago, por lo que los compuestos polifenólicos obtenidos de gobernadora presentaron el mayor potencial inhibitorio, con valores entre 65.49 – 80.41 %.

Dichos valores antes mencionados se encuentran por encima de lo reportado por Aguirre-Joya *et al.* (2018), quienes reportaron una inhibición de 57 %. En el caso de

hojasén, los valores obtenidos se encuentran por debajo, pero muy cercano a lo obtenido por Wong-Paz *et al.* (2015), quienes reportaron una inhibición aproximada del 75%. En cuanto a los polifenoles de candelilla verde (con cera) y residuos (sin cera), se observa un mayor poder de inhibición en los compuestos polifenólicos de la planta verde con valores entre (35.99 – 63.87%), lo cual se puede a un cambio en la estructura de dichos metabolitos secundarios, después de que la planta es sometida al proceso de extracción de cera; sin embargo, los resultados obtenidos en ambos estados de la planta coinciden a lo reportado previamente por el equipo de investigación Bautista-Hernández *et al.* (2021). Finalmente, los valores obtenidos en sangre de drago (22.19 – 41.25 %) se encuentran cercanos a lo reportado por Wong-Paz *et al.* (2015), que reportaron una inhibición aproximada del 25 %; además, también fue la especie con menor potencial inhibitorio respecto a las otras muestras evaluadas en la presente investigación. Si bien la sangre de drago presentó el potencial inhibitorio de la lipoperoxidación más bajo respecto a otras especies, la combinación de estos metabolitos con los de otra especie podrían generar un efecto sinérgico (Zhang *et al.*, 2020) dando como resultado un efecto potenciado de sus propiedades ideales para el diseño de alimentos funcionales.

Tomando en cuenta las variaciones entre los resultados obtenidos y lo reportado previamente por otros autores, es importante recalcar la relevancia de los compuestos antioxidantes. Dichos metabolitos se han utilizado ampliamente como aditivos alimentarios para evitar la degradación de los alimentos. Además de cumplir un papel importante en la prevención de una variedad de enfermedades relacionadas con el estilo de vida y el envejecimiento porque están estrechamente relacionados la

presencia de especies reactivas de oxígeno y la oxidación lipídica (Noguchi *et al.*, 2019).

7.5.2 Aceites esenciales

Como ya se mencionó anteriormente, la evaluación antioxidante de metabolitos secundarios por un solo método o con fundamentos iguales no proporciona un panorama completo acerca del potencial biológico. En este sentido los aceites esenciales representan un área de interés debido a la presencia de fenoles con propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Jerbi *et al.*, 2016). Por esta razón los aceites esenciales obtenidos fueron evaluados por tres ensayos antioxidantes con diferente fundamento para ampliar el panorama del potencial antioxidante.

En el **Cuadro 4** se muestran los resultados obtenidos de las pruebas antioxidantes de captación del radical ABTS^{•+} y poder reductor férrico (FRAP) e inhibición de la lipoperoxidación (LPO) de aceites esenciales.

Cuadro 4. Evaluación antioxidante de aceites esenciales.

	Comunidades	ABTS ^{•+} IC ₅₀ (mg/L)	FRAP IC ₅₀ (mg/L)	LPO (%)
Orégano	León	859.68 (±11.31) ^c	3018.125 (±5.42) ^c	75.80(±4.22) ^a
	San Jerónimo	647.72 (±4.23) ^c	1033.03 (±7.86) ^d	48.42 (±10.42) ^b
	Tortuga	158.12 (±14.85) ^d	548.98 (±5.49) ^e	44.87 (±14.36) ^{bc}
Hojasén	León	16564.22 (±3.18) ^a	6496.36 (±13.96) ^{bc}	31.32 (±6.23) ^{cd}
	San Jerónimo	14593.09 (±21.27) ^a	10202.33 (±0.38) ^b	47.16 (±6.93) ^{bc}
	Tortuga	7560.3 (±11.96) ^b	19178.84 (±7.33) ^a	25.09 (±11.88) ^d

Letras diferentes muestran diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$)

7.5.2.1 Captación de radicales ABTS^{•+}

En el ensayo de captación de radicales ABTS^{•+}, se encontró diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$), siendo los aceites esenciales de orégano los que presentaron valores menores de IC₅₀ en sus tres comunidades con rangos entre 647.72 – 859.68 (mg/L), indicando que se requiere menor cantidad de aceites esenciales para inhibir el 50 % de radicales libres presentes en la reacción. Babili *et al.* (2011) reportaron valores de IC₅₀ en ABTS^{•+} de aceite esencial de *Origanum compactum* de 2.0 (mg/L), cuyos valores se encuentran muy por debajo a los obtenidos en las muestras analizadas. Por otra parte, actualmente no hay ningún reporte acerca de la actividad antioxidante de los aceites esenciales de hojasén; sin embargo, Hajib *et al.* (2020) reportaron valores en ABTS^{•+} en aceite esenciales de comino (*Cuminum cyminum* L.) de 8.56 (mg TE/g) y *Ammodaucus leucotrichus* L. con valores de 3.12 (mg TE/g).

7.5.2.2 Poder reductor férrico (FRAP)

En el ensayo de poder reductor férrico (FRAP), se encontró diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$), siendo los aceites esenciales de orégano los que presentaron valores más bajos de IC₅₀ en sus tres comunidades valores entre 548.98 – 3018.12 (mg/L), lo que indica que se requiere una mejor cantidad para inhibir el 50 % de la reacción. En cuanto al orégano, Teixeira *et al.* (2013) reportan en aceite esencial de *Origanum vulgare* valores 38.5 ($\mu\text{mol Fe}^{2+} \text{ g}^{-1}$), valores que se encuentran muy por debajo de los obtenidos en las muestras evaluadas. Como ya se mencionó anteriormente, no hay reportes acerca del poder reductor férrico (FRAP) del aceite esencial de hojasén, Hajib *et al.* (2020) reportaron valores en FRAP en aceite esenciales de comino (*Cuminum*

cyninum L.) de 7.47 (mg TE/g) y *Ammodaucus leucotrichus* L. con valores de 2.49 (mg TE/g).

7.5.2.3 Inhibición de la lipoperoxidación (LPO)

Finalmente, en el poder inhibitorio de la lipoperoxidación (LPO) se encontró diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$), siendo los aceites esenciales de orégano los que presentaron mayores porcentajes de inhibición en sus tres comunidades con rangos entre 44.87– 77.80 %. dichos resultados se encuentran por encima a lo reportado por Laothaweerungsawat *et al.* (2020), en aceites esenciales de *Origanum vulgare* con valores de inhibición entre 10 – 40 %. Respecto al hojásén, no cuenta con reportes hasta el momento, Rosaliti *et al.* (2020) reportaron valores de inhibición de la lipoperoxidación en romero (*Rosmarinus officinalis* L.) del 75 % a concentraciones de (1 μ L/mL), concentraciones muy por debajo de las utilizadas en la presente investigación. Comparando los resultados obtenidos con la literatura, se pueden definir dos extremos, por una parte, se encuentra el aceite esencial de orégano el cual cuenta con diversos estudios y por otro lado el aceite esencial de hojásén que hasta el momento no cuenta con ningún reporte sobre su potencial antioxidante, lo cual abre una oportunidad para la exploración de estos metabolitos. A pesar de las variaciones que se muestran en la evaluación antioxidante de los aceites esenciales se ha reportado que los componentes fenólicos presentes en dichos aceites actúan eficazmente como permeabilizadores de membranas, esto debido a los cambios estructurales en los ácidos grasos de la membrana y la inhibición de la fuerza motriz de protones, por lo que resultan ideal para su aplicación en la industria alimentaria como agentes antimicrobianos (Bhavaniramya *et al.*, 2019).

7.6 Inhibición enzimática

Los altos niveles de azúcares en sangre debido a la hidrólisis de almidón y otros azúcares debido a la acción de la enzima pancreática α -amilasa y la enzima digestiva α -glucosidasa, pueden desencadenar enfermedades como la diabetes (Nyambe-Silavwe *et al.*, 2015). En este sentido, en años recientes los polifenoles han sido estudiados como una alternativa para la inhibición o retardamiento de la acción de dichas enzimas para nivelar el contenido de azúcar en la sangre.

7.6.1 Compuestos polifenólicos

Cuadro 5. Inhibición enzimática de compuestos polifenólicos

Especie	Comunidad	Inhibición (%)	
		α -amilasa	α -glucosidasa
Orégano	León	15.07 (\pm 9.28) ^{cd}	39.08 (\pm 11.45) ^{cd}
	San Jerónimo	15.19 (\pm 4.41) ^{cd}	51.88 (\pm 11.08) ^{bc}
	Tortuga	11.21 (\pm 3.95) ^{cd}	33.84 (\pm 11.16) ^{cd}
Hojasén	León	44.93 (\pm 8.58) ^a	4.41 (\pm 4.61) ^e
	San Jerónimo	15.87 (\pm 9.70) ^{cd}	9.12 (\pm 3.04) ^{de}
	Tortuga	10.14 (\pm 3.38) ^{cd}	4.47 (\pm 4.25) ^e
Gobernadora	León	32.66 (\pm 5.88) ^{ab}	89.03 (\pm 5.98) ^a
	San Jerónimo	30.59 (\pm 15.09) ^b	74.23 (\pm 11.60) ^{ab}
	Tortuga	14.90 (\pm 5.91) ^{cd}	67.09 (\pm 2.64) ^{abc}
Sangre de Drago	León	4.00 (\pm 4.76) ^c	70.40 (\pm 5.96) ^{ab}
	San Jerónimo	3.01 (\pm 2.10) ^d	56.18 (\pm 15.83) ^{bc}
	Tortuga	7.77 (\pm 4.72) ^{cd}	60.55 (\pm 3.24) ^{abc}
Candelilla Verde	León	10.33 (\pm 1.52) ^{cd}	74.40 (\pm 6.30) ^{ab}
	San Jerónimo	6.23 (\pm 5.25) ^{cd}	63.85 (\pm 7.54) ^{abc}
	Tortuga	15.49 (\pm 2.97) ^c	75.93 (\pm 5.84) ^{ab}
Candelilla Residuos	León	15.70 (\pm 11.82) ^c	81.54 (\pm 14.46) ^{ab}
	San Jerónimo	31.25 (\pm 12.77) ^b	65.68 (\pm 10.94) ^{abc}
	Tortuga	33.89 (\pm 2.52) ^{ab}	78.00 (\pm 10.85) ^{ab}

Letras diferentes muestran diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$)

7.6.1.1 Inhibición de la α -amilasa

En el caso de la inhibición de la α -amilasa, se presentó diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$) con el siguiente orden descendente: Gobernadora > Candelilla residuos > Hojasén > Orégano > Candelilla verde > Sangre de Drago, siendo los compuestos polifenólicos de gobernadora los que presentaron mayores porcentajes de inhibición con porcentajes de inhibición entre 14.90 – 32.66 %.

El poder inhibitorio enzimático de las especies antes mencionadas ha sido poco estudiado; sin embargo, Picos-Salas *et al.* (2021) reportaron en extractos de *Lippia graveolens*, porcentajes de inhibición entre 54.20–72.40 %, dichos valores se encuentran por encima a lo obtenido en todas las muestras analizadas.

El mecanismo de inhibición de la α -amilasa por los polifenoles se ha propuesto como el resultado de las interacciones de unión entre los polifenoles y el sitio activo de la enzima (inhibición competitiva) que son inducidas por enlaces de hidrógeno y fuerzas hidrofóbicas (Xiao *et al.*, 2013). En reportes anteriores se ha reportado que la luteolina y la quercetina inhibieron competitivamente la α -amilasa salival humana con IC_{50} de 18.4 y 21.4 M respectivamente, similares a los obtenidos en este estudio cuando se utilizó amilosa como sustrato (Lo Piparo *et al.*, 2008). Tal es el caso de los flavonoides, cuya intensidad de unión a la α -amilasa aumenta dependiendo a la cantidad de grupos hidroxilos en la estructura molecular (Lo Piparo *et al.*, 2008).

7.6.1.2 Inhibición de la α -glucosidasa

Mientras que en la inhibición de la α -glucosidasa el orden descendente fue: Gobernadora > Candelilla residuos > Candelilla verde > Sangre de Drago > Orégano > Hojasén. En ambos ensayos los compuestos polifenólicos de gobernadora fueron los que presentaron mayor actividad inhibitoria en sus tres comunidades. A este respecto, Picos-Salas *et al.* (2021) reportaron en extractos de *Lippia graveolens* porcentajes de inhibición de la α -glucosidasa en rangos 32.90 – 84.47 %, parámetros en los cuales coinciden la mayoría de las muestras analizadas. Adicionalmente, se ha reportado que compuestos fenólicos como el galato de epigallocatequina inhiben fuertemente la enzima, uniéndose a ella de manera espontánea a través de enlaces hidrogeno e interacciones hidrofóbicas (Dai *et al.*, 2020). También se ha reportado que ocurre de manera no competitiva y los estudios de modelos moleculares sugieren que los compuestos polifenólicos se unen a un sitio alostérico de la enzima (Özgünseven *et al.*, 2021). Además del potencial inhibitorio sobre dichas enzimas se ha reportado que los compuestos polifenólicos facilitan la absorción de glucosa con rendimientos comparables con la metformina y tiazolodinediona (Prabhakar y Doble 2009).

A pesar de las variaciones en los porcentajes de inhibición de las dos enzimas por parte de las especies evaluadas, todos los compuestos polifenólicos mostraron actividad inhibitoria. Tomando en cuenta esto y aunado a los pocos reportes con los que se cuentan en la actualidad sobre dichas especies semidesérticas, dichos resultados obtenidos abren la posibilidad de emplearlos en el área farmacéutica para la sustitución de fármacos sintéticos (acarbosea y voglibosa) aplicados en el tratamiento de la diabetes y las complicaciones derivadas de esta (enfermedades

cardiovasculares, neuropatía, nefropatía y retinopatía) (Yilmazer-Musa *et al.*, 2012, Baharodan *et al.*, 2013)

7.6.2 Aceites esenciales

Cuadro 6. Inhibición enzimática de aceites esenciales.

Especie	Comunidad	Inhibición (%)	
		α -amilasa	α -glucosidasa
Orégano	Estanque de León	21.25 (\pm 4.71) ^b	27.05 (\pm 8.66) ^c
	San Jerónimo	14.84 (\pm 2.91) ^c	77.89 (\pm 5.44) ^b
	Tortuga	38.34 (\pm 4.45) ^a	73.11 (\pm 1.60) ^b
Hojasén	Estanque de León	15.43 (\pm 3.92) ^c	96.64 (\pm 4.30) ^a
	San Jerónimo	8.66 (\pm 3.60) ^d	92.57 (\pm 3.24) ^a
	Tortuga	9.45 (\pm 1.25) ^d	97.05 (\pm 1.60) ^a

Letras diferentes muestran diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$)

7.6.2.1 Inhibición de la α -amilasa

En el **Cuadro 6** se observa el porcentaje de inhibición de la enzima α -amilasa, los cuales presentan diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$). Siendo el aceite esencial de orégano, quien presentó mayor actividad inhibitoria en sus tres comunidades. Mientras que, en la inhibición de la α -amilasa, los valores obtenidos se encuentran muy por debajo de lo reportado por Radünz *et al.* (2021) en aceites de *O. vulgare* con valores de inhibición del 50 %. Por otro lado, en el caso de hojasén, actualmente no hay reportes sobre inhibición enzimática del aceite esencial de dicha especie; sin embargo, los valores obtenidos son similares a los reportados Radünz *et al.* (2021), de aceites esenciales de otras especies tales como la naranja (*Citrus aurantium* var. Dulcis) con porcentajes de inhibición de 37.3 % de inhibición de la α -amilasa.

Actualmente los reportes acerca del poder inhibidor de los componentes de aceites esenciales sobre la α -amilasa son relativamente escasos, sin embargo, Jelenkovic *et al.*, (2014) determinaron que algunos terpenos (β -pineno, mirceno, eucaliptol y

eugenol) característicos de gran parte de los aceites esenciales de diferentes plantas, presentan potencial inhibitorio sobre la actividad de la α -amilasa.

7.6.2.2 Inhibición de la α -glucosidasa

En el **Cuadro 6** se observa el porcentaje de inhibición de la enzima α -glucosidasa, los cuales presentan diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$). Siendo el aceite esencial de hojásén, quien presentó mayor actividad inhibitoria en sus tres comunidades. Respecto al orégano, Salazar *et al.* (2020), reportaron una inhibición mayor al 50 % de la α -glucosidasa con aceite esencial de *O. vulgare*. Por parte del aceite esencial de hojásén, los valores se encuentran cercanos a lo obtenido por Radünz *et al.* (2021), en aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*, L.) con valores de 93.1 % de inhibición de dicha enzima. La inhibición de la α -glucosidasa por aceites esenciales según lo reportado por Ma *et al.*, (2018), puede presentarse de manera competitiva no reversible o bien de manera no competitiva reversible, esto dependerá de la especie y de los componentes propios de la misma; sin embargo, independientemente del tipo de inhibición, reportan que los aceites esenciales de hierbas medicinales presentan un potencial de hasta 180 veces más que la acarbosa (fármaco utilizado en el control de diabetes II). A pesar de las variaciones que se presentaron en los resultados obtenidos en aceites esenciales respecto a la literatura, ambas especies evaluadas presentan potencial para ser aplicados como agentes hipoglucemiantes debido a que algunos inhibidores sintéticos de uso clínico tales como la acarbosa y el miglitol, presentan limitaciones, son inespecíficos, pueden no disminuir las complicaciones diabéticas y tienen varios efectos secundarios (Grover *et al.*, 2002).

7.7 Análisis de grupos funcionales por medio de FTIR-ATR

El estudio de la caracterización de los grupos funcionales tiene importancia ya que, la capacidad de eliminación de radicales libre y las variaciones en el potencial antioxidante está estrechamente relacionada con su estructura molecular intrínseca y grupos funcionales (Zhao *et al.*, 2019) de igual manera la unión entre compuestos bioactivos y enzimas esta dado por la estructura molecular (Miao *et al.*, 2013).

7.7.1 Compuestos polifenólicos

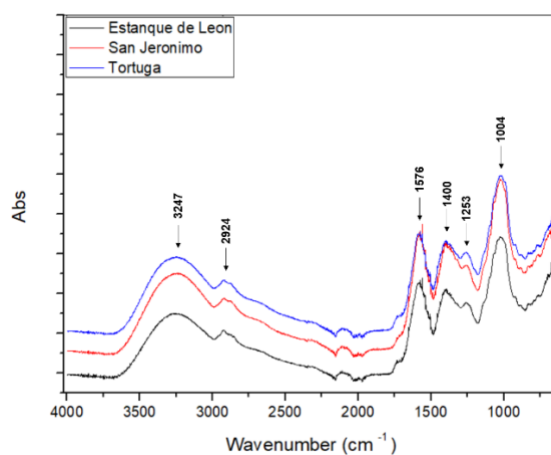


Figura 6. Espectro IR de compuestos polifenólicos de orégano

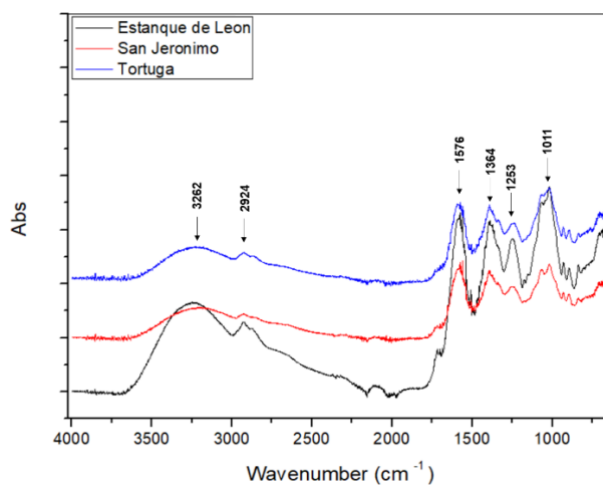


Figura 7. Espectro IR de compuestos polifenólicos de hojásén

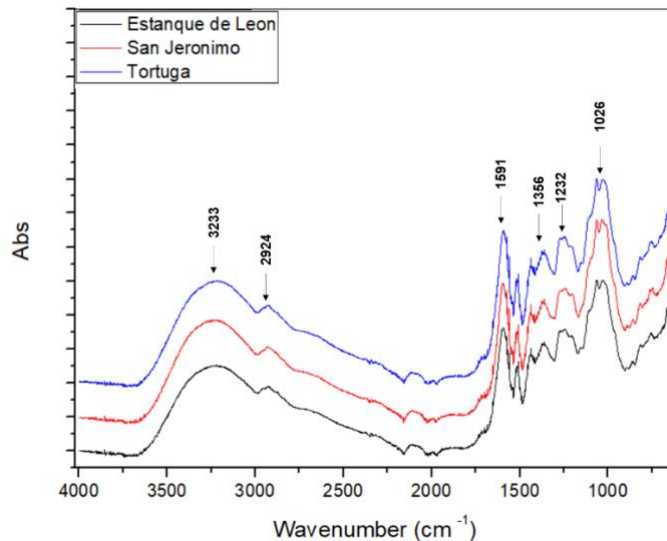


Figura 8. Espectro IR de compuestos polifenólicos de gobernadora

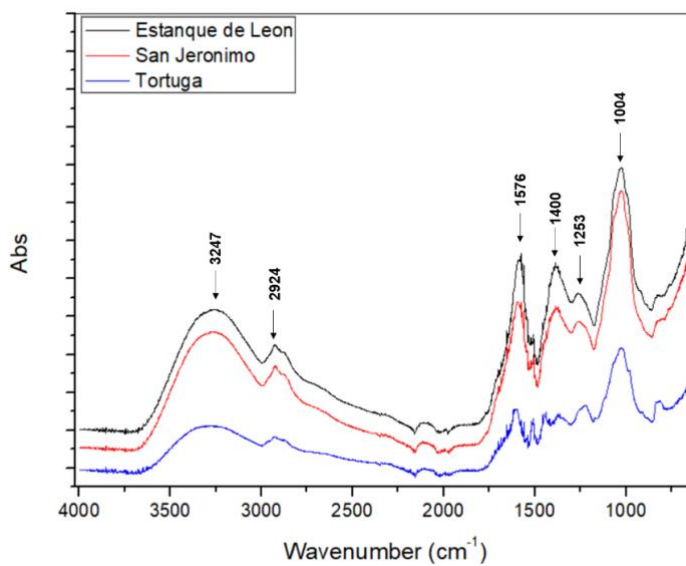


Figura 9. Espectro IR de compuestos polifenólicos de sangre de drago

Las figuras (**Figura 6**), (**Figura 7**), (**Figura 9**) y (**Figura 9**) muestran los espectros IR de orégano, hojásén, gobernadora y sangre de drago respectivamente, los cuales comparten características en cuanto a las señales de sus grupos funcionales.

Los espectros IR muestran un pico a 3233 cm^{-1} relacionado a la presencia de un grupo OH de alcoholes o de anillos aromáticos. Posteriormente a longitud de onda entre $2990 - 2875\text{ cm}^{-1}$ indica la presencia de enlaces C-H de grupos CH_3/CH_2 de compuestos aromáticos. Seguido del pico a 1591 cm^{-1} que indica la presencia de enlaces C=C de anillos aromáticos, mientras que el rango entre $1450\text{-}1350\text{ cm}^{-1}$ indica la flexión de enlaces C-H. El rango $1290 - 1225\text{ cm}^{-1}$ indica la presencia el estiramiento de grupos C-O pertenecientes unido a anillos aromáticos, finalmente la señal a 1011 cm^{-1} muestra interacciones C-O-H correspondiente a la presencia de alcoholes aromáticos.

La presencia de grupos $3500 - 3100\text{ cm}^{-1}$ indicando la presencia de grupos (O-H) es una señal característica de la presencia de compuestos aromáticos, con base en lo reportado por (Fernández y Agosín, 2007). Por otra parte, la presencia de enlaces C-C a longitud de onda entre $1611 - 1444\text{ cm}^{-1}$ y del enlace C-O en $1368 - 1157\text{ cm}^{-1}$ son señales características esenciales de la presencia de estiramiento de anillos aromáticos (Carballo *et al.*, 2014) característicos de compuestos polifenólicos, los cuales puede estar relacionado a la presencia de taninos condensados o taninos hidrolizados (Falcão y Araújo, 2013). Sin embargo, la presencia de enlaces C-O también puede estar relacionada a la presencia de flavonoides (Falcão y Araújo, 2013).

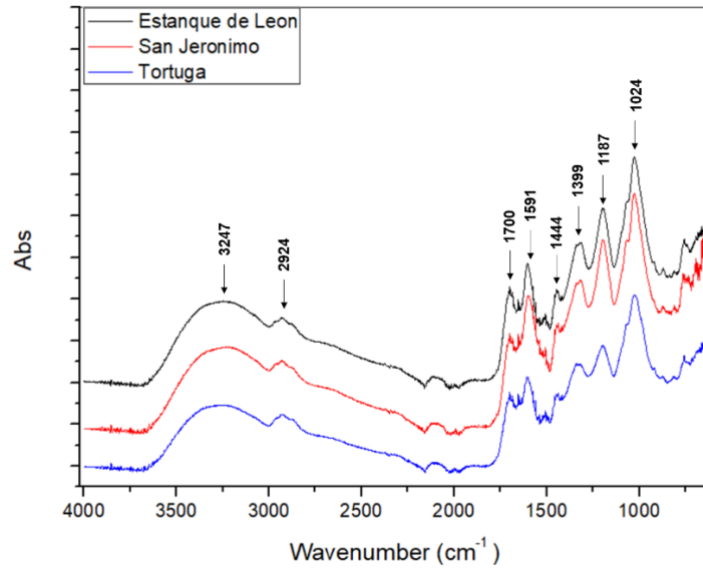


Figura 10. Espectro IR de compuestos polifenólicos de candelilla verde

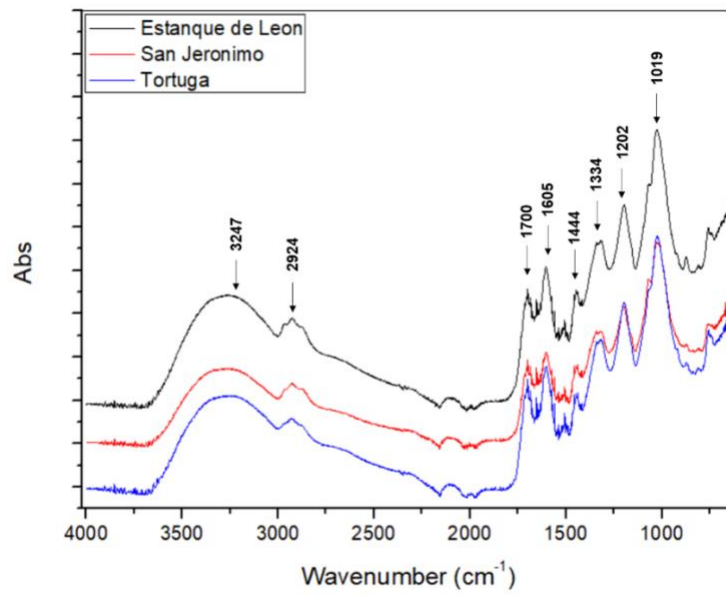


Figura 11. Espectro IR de compuestos polifenólicos de candelilla residuos

Ambos espectros IR (**Figura 10 y 11**), indican que no existe diferencias cualitativas entre la composición de grupos funcionales presentes en la planta verde y los residuos de candelilla. En el rango entre $3300 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ indica la presencia del grupo O-H presentes en compuestos alcohólicos aromáticos, alifáticos y fenólicos hidrogenados. En la región entre $2920 - 2850 \text{ cm}^{-1}$ se observa la presencia del C-H debido al alargamiento de los grupos CH_3 y CH_2 presentes en compuesto aromáticos. En los rangos entre $1700 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ se observa la presencia del grupo N-H, que indica la presencia de compuestos con anillo aromático que puede corresponder a amidas o aminas aromáticas. Señales entre $1500 - 1400 \text{ cm}^{-1}$ corresponden al alargamiento de grupos carbonilos mientras que los picos en la región $1350 - 1300 \text{ cm}^{-1}$ se debe a la deformación de los enlaces C=C del anillo aromático. La señal a 1200 cm^{-1} banda de absorción puede atribuirse a la O-H en la deformación de los polifenoles, mientras que entre $1150 - 1000 \text{ cm}^{-1}$ indican la presencia del grupo funcional C-O-H característicos de los alcoholes. Finalmente, en la banda a 750 cm^{-1} se observa la presencia del grupo C-H indicando la presencia de ácidos carboxílicos aromáticos.

Si bien los espectros IR de la planta de candelilla (verde y residuos) comparten características con los obtenidos de las demás especies, la principal diferencia es la presencia de un enlace N-H en la región entre 1700 y 1600 cm^{-1} . Según a los reportado por Siano *et al.* (2019). La presencia de un enlace C=O a una longitud de onda de 1637 cm^{-1} indica la presencia de amidas, de igual manera las señales a longitud de 1535 cm^{-1} indica la presencia de estiramiento de enlaces C-N, así como la flexión de N-H, dichas señales también se encuentran relacionadas a la presencia de compuestos aromáticos nitrogenados.

7.7.2 Aceites esenciales

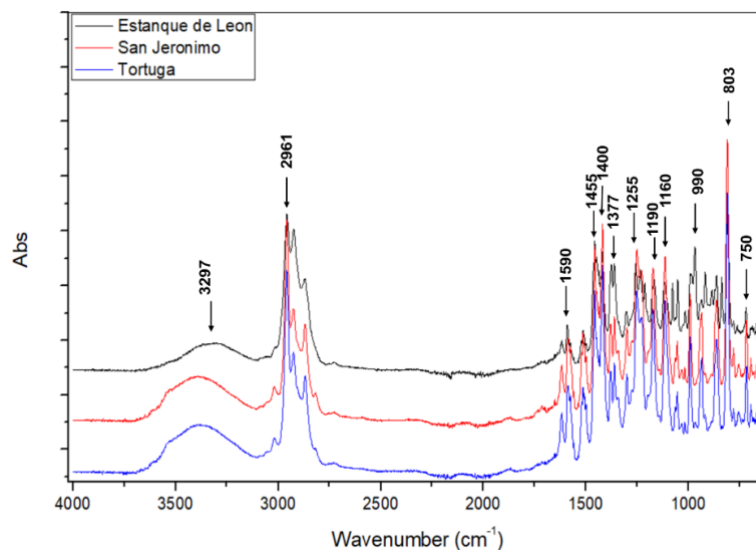


Figura 12. Espectro IR del aceite esencial de orégano.

El espectro IR (**Figura 12**) se puede dividir en dos grandes regiones; la primera comprende en un rango de longitud de onda entre $3750 - 2750 \text{ cm}^{-1}$ dentro de la cual se observa primeramente una señal amplia que corresponde grupo hidroxilo (O-H) pertenecientes a compuestos aromáticos. La señal entre $3150 - 2876 \text{ cm}^{-1}$ indica la presencia de una interacción C-H, de un grupo funcional CH_3 , y CH_2 . La segunda región abarca desde la longitud de onda de $1700 - 600 \text{ cm}^{-1}$ dentro de la cual se observan gran cantidad de señales. El pico $1625 - 1590 \text{ cm}^{-1}$ indican la presencia de enlaces C=C pertenecientes a un anillo aromático. Señales entre $1450 - 1400 \text{ cm}^{-1}$ son indicativos de la presencia de grupos CH_2 y CH_3 que pueden pertenecer a alcoholes aromáticos terciarios. A 1377 cm^{-1} se observa la interacción N-H que puede corresponder a una amina alifática. Finalmente, señales entre $850 - 680 \text{ cm}^{-1}$ indican una flexión C-H de compuestos aromáticos. Según Ferrándiz García et al. (2015), la presencia de un grupo O-H la región entre $3800 - 3100 \text{ cm}^{-1}$, mientras la presencia de

enlaces estiramientos C-H en el rango entre $3100 - 2600 \text{ cm}^{-1}$, en diversas muestras de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. muestran ambas regiones. Según Al-Sheibany *et al.*, (2005) estas bandas se pueden deber a la presencia de timol y carvacrol, los cuales son componentes principales y característicos del aceite esencial de orégano.

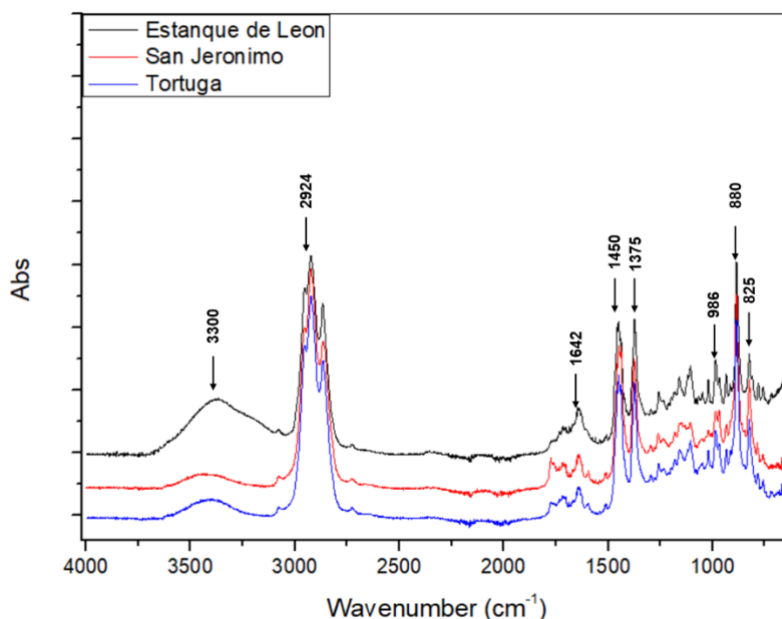


Figura 13. Espectro IR del aceite esencial de hojasén.

El espectro IR (**Figura 13**) muestra a 3300 cm^{-1} la presencia de un grupo hidroxilo (O-H) perteneciente a compuestos aromáticos. La región entre $3000 - 2750 \text{ cm}^{-1}$ se observa la presencia de la tensión C-H de grupos funcionales CH_3 y CH_2 que puede corresponder a compuestos aromáticos. El pico a 1642 cm^{-1} indica la presencia de C=C que puede corresponder a un éter conjugado, mientras que a 1450 cm^{-1} se observa la presencia de C-H de un éter alifático. A 1375 cm^{-1} se observa la presencia una interacción N-H que puede corresponder a la presencia de aminas aromáticas o alifáticas. El pico a 986 cm^{-1} indica la presencia de C-C que puede corresponder a un

hidrocarburo ramificado de con una longitud de más de 4C. Finalmente en la región entre 850 y 826 cm^{-1} se observa la presencia de C-H que puede corresponder un hidrocarburo insaturado cíclico de más de 5C.

Actualmente no hay reportes sobre espectros IR del aceite esencial de *F. cernua*; sin embargo, el espectro obtenido muestra similitud con el de otros aceites esenciales tales como el de *Artemisia absinthium* (Berechet *et al.* 2015), *Artemisia vulgaris* L. (Depciuch *et al.*, 2016), *Pelargonium graveolens* (Al-Jumaili, 2017), en los cuales la presencia de grupos O-H ($3000\text{-}3300 \text{ cm}^{-1}$), grupos CH_2/CH_3 ($3000\text{-}2800 \text{ cm}^{-1}$), interacciones C=C ($1700\text{-}1600 \text{ cm}^{-1}$) permanecen constantes, tomando en cuenta esto se puede establecer que el aceite esencial de hojásén comparte características con otros aceites esenciales.

7.7.3 Cera de candelilla

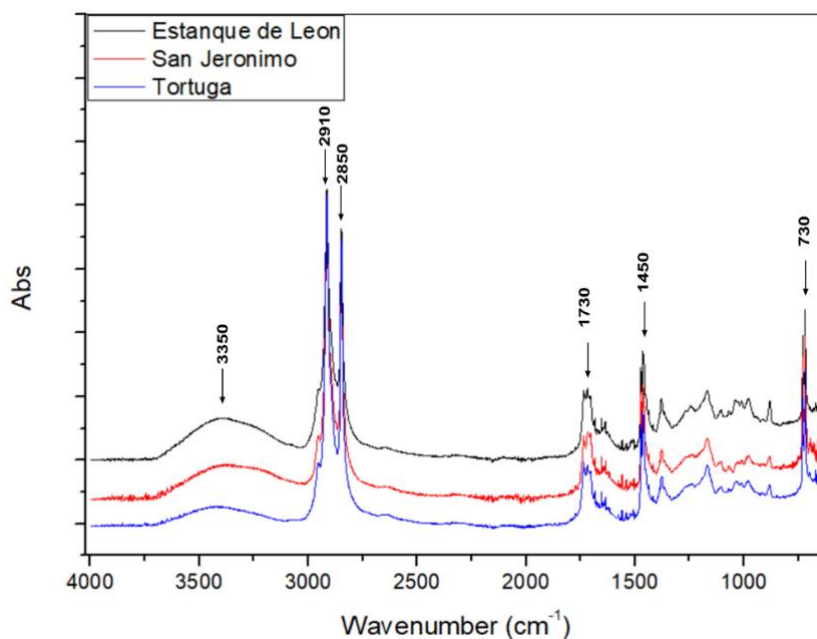


Figura 14. Espectro IR de cera de candelilla obtenidas por el método alternativo.

En el espectro IR (**Figura 14**) se observa la presencia de una banda amplia la presencia de un grupo hidroxilo (O-H) a 3350 cm^{-1} . Posteriormente se aprecia un estiramiento C-H característicos de un carbono saturado e indica la presencia de una cadena de un compuesto alifático con un grupo funcional perteneciente a los alcanos con una cadena larga de más de 4C en la banda 2910 cm^{-1} , mientras a 2850 cm^{-1} se observa una banda C-O indicativo del grupo funcional carbonilo de un éster. En la región entre 1730 y 1690 cm^{-1} se muestra una intensidad fuerte debido al enlace C=O indicando la presencia de un grupo carbonilo, evidenciando la presencia de un compuesto éster conjugado alifático. En la región 1450 cm^{-1} se observa una banda correspondiente a la interacción del grupo funcional O-C-H. Finalmente en la región entre 740 y 720 cm^{-1} se observa la presencia de la interacción C-H indicando la presencia de un compuesto alifático. Según lo reportado por Muscat *et al.* (2014) establece que los picos a una longitud de onda de 2848 cm^{-1} y 1736 cm^{-1} son una característica única de las ceras (abeja, candelilla y carnauba), los resultados obtenidos presentan una ligera variación encontrado estos picos a 2850 cm^{-1} y 1730 cm^{-1} respectivamente.

7.8 Propiedades fisicoquímicas de cera de candelilla obtenidas por el método tradicional y alternativo.

Cuadro 7. Parámetros fisicoquímicos evaluados en ceras de candelilla obtenidos por el método tradicional y alternativo.

Parámetro	Método	Estanque de León	San Jerónimo	Lucio Blanco	San Miguel y anexos
Punto de fusión (°C)	Ácido sulfúrico	79 (±5.21) ^a	75 (±5.00) ^a	72 (±2.51) ^a	79 (±1.00) ^a
	Ácido cítrico	75 (±3.00) ^a	81.33(±3.12) ^a	78.66(±1.52) ^a	76.66 (2.88) ^a
Valor de saponificación (mg NaOH/g)	Ácido sulfúrico	46.64(±10.71) ^c	44.42 (±3.84) ^c	46.64(±10.17) ^c	42.20(±11.54) ^{cd}
	Ácido cítrico	51.08(±16.76) ^b	55.21 (±6.66) ^b	59.97 (±10.17) ^a	55.52(±6.66) ^b
Valor de acidez (mg NaOH/g)	Ácido sulfúrico	19.9 (±2.50) ^b	17.91(±0.57) ^b	16.91 (±0.57) ^{bc}	12.60 (±4.48) ^c
	Ácido cítrico	20.89 (3.58) ^{ab}	18.24 (±1.14) ^b	21.89 (±3.58) ^a	20.56 (±2.87) ^{ab}
Absorción de yodo (g I/100g)	Ácido sulfúrico	18.18 (±1.46) ^a	22.84 (±0.42) ^a	19.31(±1.48) ^a	20.58(±3.79) ^a
	Ácido cítrico	19.31 (±1.11) ^a	20.16 (±0.84) ^a	21.15 (±0.64) ^a	15.36 (±1.35) ^a

Letras diferentes muestran diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$)

En el **Cuadro 7** se resumen los parámetros evaluados en ceras de candelilla obtenidas por el método tradicional (ácido sulfúrico) y el método alternativo (ácido cítrico), en los cuales se observa una diferencia significativa Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos y comunidades en los valores saponificación y valor de acidez, mientras que los valores de punto de fusión y absorción de yodo no presentaron diferencia significativa.

Tomando en cuenta la diferencia significativa en dos de los cuatro parámetros evaluados, todos los valores obtenidos por ambos métodos se encuentran dentro de los rangos establecidos por Pérez-Gago y Rhim (2014), a excepción del valor acidez obtenidos en ceras extraídas por el método alternativo, los cuales se encuentran por encima del rango reportado (12.7-18.1 NaOH/g), lo cual indica una mayor concentración de ácidos grasos libres. La diferencia entre valores de saponificación indica una mayor cantidad de ácidos grasos libres ya que estos absorben una mayor cantidad de analito (NaOH) y por lo tanto presentan valores de saponificación más altos (Chattarjea y Shiende, 2011).

7.9 Identificación de compuestos de aceites esenciales por cromatografía de gases acoplado a masas (CG/MS)

Cuadro 8. Compuestos identificados de aceite esencial de hojasén

	Nº pico	Tiempo de retención (min)	<i>m/z</i> Experimental [M-H] ⁻	<i>m/z</i> Calculado [M-H] ⁻	Asignación tentativa	Formula molecular	MS ² Fragmento de iones
Estanque de León	1	1.605	154.1357	154.25	endo-Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	95
	2	1.195	150.1044		Timol	C ₁₀ H ₁₄ O	91
	3	2.252	204.1878		Ciclohexanona, 2-(2-butilil)-	C ₁₀ H ₁₄ O	135
	4	3.047	204.1878	204.35	Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	93
	5	3.391	204.1878		α-Himachaleno	C ₁₅ H ₂₄	119
	6	3.625	204.1878	204.35	Germacreno D	C ₁₅ H ₂₄	161
	7	3.774	204.1878	204.3511	α-gurjuneno	C ₁₅ H ₂₄	161
	8	4.432	222.198365	222.36	Elemol	C ₁₅ H ₂₆ O	59
	9	4.941	220.182715	220.35	Oxido cariofileno	C ₁₅ H ₂₄ O	79
	10	5.153	22.1983		Ledol	C ₁₅ H ₂₆ O	109
	11	5.685	5.685		8-epi-gama-eudesmol	C ₁₅ H ₂₆ O	161
	12	6.103	222.198365	222.36	β-Selinenol	C ₁₅ H ₂₆ O	59
	13	6.441	222.1983	222.3663	Hidrato de 7-epi-cis-sesquisabineno	C ₁₅ H ₂₆ O	69
San Jerónimo	14	8.3	400.3705		Coprostan-3α-ol	C ₂₈ H ₄₈ O	82
	1	1.147	136.1252	136.23	β-Mirceno	C ₁₀ H ₁₆	93
	2	1.205	136.125	136.234	α-Pineno	C ₁₀ H ₁₆	93
	3	1.239	19.1463	196.286	β-Terpinil acetato	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	68
	5	1.319	370.0939	370.7697	Decametilciclopentasiloxano	C ₁₀ H ₃₀ O ₅ Si ₅	73
	6	1.559	152	152.23	cis-Verbenol	C ₁₀ H ₁₆ O	81
	7	1.634	154.1357	154.25	Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	95
	8	1.88	444.1127	444.92	Dodecametil ciclohexasiloxano	C ₁₂ H ₃₆ O ₆ Si ₆	73
	9	2.229	150.1044	150.22	Carvacrol	C ₁₀ H ₁₄ O	135
	10	2.315	204.1878	204.35	δ-elemento	C ₁₅ H ₂₄	121
	11	2.624		204.35	α-Copaeno	C ₁₅ H ₂₄	119

	12	2.715	204.1878	204.35	β -elemeno	C ₁₅ H ₂₄	93
	13	3.064	204.1878	204.35	Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	93
	14	3.482	204.1878		β -Himachaleno	C ₁₅ H ₂₄	119
	15	3.682	204.1878	204.35	Germacreno D	C ₁₅ H ₂₄	161
	16	3.825	204.1878	204.35	γ -gurjuneno	C ₁₅ H ₂₄	105
	17	3.986	204.1878	204.35	δ -cadineno	C ₁₅ H ₂₄	161
	18	4.1	222.19836	222.36	Cubedol	C ₁₅ H ₂₆ O	93
	19	4.392			Neril (S)-2-metilbutanoato	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	69
	20	4.609	222.198365	222.36	Elemol	C ₁₅ H ₂₆ O	59
	21	4.912	222.1983	222,37	Germacreno D-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	81
	22	5.033	220.182715	220.35	Oxido cariofileno	C ₁₅ H ₂₄ O	79
	23	5.33	222.1983	222,37	Ledol	C ₁₅ H ₂₆ O	109
	24	5.817	222.1983	222.3663	γ -Eudesmol	C ₁₅ H ₂₆ O	161
	25	6.389	222.198365	222.36	β -Eudesmol	C ₁₅ H ₂₆ O	59
	26	6.755	222.1983	222.3663	Hidrato de cis-sesquisabineno	C ₁₅ H ₂₆ O	69
	27	8.746	222.1983	222.37	3-(1,5-Dimetil-hex-4-enilo)-2,2-dimetil-ciclopent-3-enol	C ₁₅ H ₂₆ O	82
Tortuga	1	1.203	136.1252	136.234	β -pineno	C ₁₀ H ₁₆	84
	2	1.306	154.1357	154.25	Eucaliptol	C ₁₀ H ₁₈ O	93
	3	1.689	154.1357	154.25	Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	95
	4	2.364	204.1878	204.35	γ -Elemeno	C ₁₅ H ₂₄	84
	5	2.77	204.1878	204.35	β -Elemeno	C ₁₅ H ₂₄	81
	6	3.108	204.1878	204.35	Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	93
	7	3.48	204.1878	204.3511	β -Himachaleno	C ₁₅ H ₂₄	119
	8	3.686	204.1878	204.35	Germacreno D	C ₁₅ H ₂₄	161
	9	3.852	204.1878	204.3511	γ -Gurjuneno	C ₁₅ H ₂₄	161
	10	4.596	222.198365	222.36	Elemol	C ₁₅ H ₂₆ O	59
	11	5.317	22.1983	222.3663	Ledol	C ₁₅ H ₂₆ O	106
	12	6.307	222.198365	222.36	β -Selinenol	C ₁₅ H ₂₆ O	59

Cuadro 9. Compuestos identificados del aceite esencial de orégano

	Nº pico	Tiempo de retención (min)	<i>m/z</i> Experimental [M-H] ⁻	<i>m/z</i> Calculado [M-H] ⁻	Asignación tentativa	Formula molecular	MS ² Fragmento de iones
Estanque de León	1	1.004	136.1252		β-pineno	C ₁₀ H ₁₆	93
	2	1.101	154.1357	154.25	Eucaliptol	C ₁₀ H ₁₈ O	119
	3	1.186	140.120115	140.22	1,8-Nonadieno-3-ol	C ₉ H ₁₆ O	57
	4	1.204	154.1357	154.25	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	71
	5	1.256	154.13576	154.25	Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	71
	6	1.319	154.1357	154.25	trans-4- (isopropil) -1-metilciclohex-2-en-1-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	85
	7	1.365	154.1357	154.2493	cis-4- (isopropil) -1-metilciclohex-2-en-1-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	69
	8	1.49	154.1357	154.2493	Isoborneol	C ₁₀ H ₁₈ O	95
	9	1.542	154.1357	154.25	α-Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	59
	10	2.005	150.1044	150.2176	Timol	C ₁₀ H ₁₄ O	135
	11	2.091	150.1044	150.22	Carvacrol	C ₁₀ H ₁₄ O	135
	12	2.383	150.1044		Durenol	C ₁₀ H ₁₄ O	135
	13	2.583	204.1878	204.35	β-elemeno	C ₁₅ H ₂₄	81
	14	2.915	204.1878	204.35	Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	93
	15	3.236	204.1878	204.35	Humuleno	C ₁₅ H ₂₄	93
	16	3.608	180.1514		Ciclopropano, 1-metoxi-2,3-dimetil-metoxi-2,3-dimetilciclopropano	C ₁₂ H ₂₀ O	165
San Jerónimo	17	3.831	204.1878	204.35	δ-cadineno	C ₁₅ H ₂₄	161
	18	4.866	220.182715	220.35	Oxido cariofileno	C ₁₅ H ₂₄ O	79
	19	5.25	220.182715	220.35	Humuleno epóxido II	C ₁₅ H ₂₄ O	67
	1	1.228	134.10955	134.22	o-Cimeno	C ₁₀ H ₁₄	119
	2	1.434	170.1306		1,1'-Biciclopentil-1,1'-diol	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	84
	3	1.606	154.1357	154.25	Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	84

	4	2.132	150.1044	150.2176	Timol	C ₁₀ H ₁₄ O	135
	5	2.229	150.1044	150.22	Carvacrol	C ₁₀ H ₁₄ O	135
	6	3.025	204.1878	204.35	Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	93
	7	3.351	204.1878	204.35	Humuleno	C ₁₅ H ₂₄	93
	8	3.763	180.1514		Ciclopropano, 1-metoxi-2,3-dimetil-metoxi-2,3-dimetilciclopropano	C ₁₂ H ₂₀ O	165
Tortuga	9	4.964	220.182715	220.35	Oxido cariofileno	C ₁₅ H ₂₄ O	79
	1	1.629	154.1357	154.25	Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	71
	2	1.143	136.1252	136.23	β-pineno	C ₁₀ H ₁₆	93
	3	1.235	134.1095	134.22	β-cimeno	C ₁₀ H ₁₄	119
	4	1.343	154.1357	154.25	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	71
	5	1.395	154.13576	154.25	Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	71
	6	1.458	152.1201	152.23	2-metil-6-metilenoceta-2,7-dien-4-ol	C ₁₀ H ₁₆ O	85
	7	1.744	164.1201	164.24	Anisol	C ₁₁ H ₁₆ O	149
	8	2.23	150.1044	150.22	Carvacrol	C ₁₀ H ₁₄ O	135
	9	2.539	192.115		Durenol	C ₁₀ H ₁₄ O	135
	10	3.049	204.1878	204.35	Cariofileno	C ₁₅ H ₂₄	93
	11	3.363	204.1878	204.35	Humuleno	C ₁₅ H ₂₄	93
	12	3.747	180.115	180.24	Fenol, 2- (1,1-dimetiletil) -4-metoxi-5-metil-	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	165
	13	4.977	220.182715	220.35	Oxido cariofileno	C ₁₅ H ₂₄ O	79
	14	5.366	220.182715	220.35	Humuleno epóxido II	C ₁₅ H ₂₄ O	67
15	5.852	220.182715	220.35	epóxido de trans-Z-α-Bisaboleno	C ₁₅ H ₂₄ O	135	

En el **Cuadro 7** se muestran los compuestos identificados del aceite esencial de hojasén, del cual fueron identificados un total de 53 compuestos, Siendo la comunidad de San Jerónimo la que presentó un mayor número de compuestos detectados (27), seguido de Estanque de León (14) y finalmente Tortuga (12).

Se identificó la presencia de 8-epi-gama-eudesmol (Estanque de León), γ -Eudesmol y β -Eudesmol (San Jerónimo) y Borneol (Tortuga), que, según lo reportado por Téllez *et al.*, (1997) dichos compuestos son algunos de los que se encuentran en mayor proporción También en el aceite esencial de hojasén. También se detectó la presencia de Germacreno D en las tres comunidades el cual según el mismo autor representa hasta un 2.3 % de la composición del aceite.

Por otra parte, también se identificaron compuestos tales como; cariofileno, óxido de cariofileno y borneol, que según a lo reportado por Estell *et al.* (1994), dichos metabolitos secundarios forman parte principal del tejido foliar de *F.cernua*, así mismo establecieron que existe una gran variabilidad en la presencia de este tipo de metabolitos entre planta y planta, lo cual podría justificar la diversidad entre la composición obtenida entre cada una de las muestras.

En el **Cuadro 8** se muestran los compuestos identificados del aceite esencial de orégano, del cual fueron identificados un total de 43 compuestos. Siendo la comunidad de Estanque de León la que presentó un mayor número de compuestos (19), seguido de Tortuga (15) y finalmente San Jerónimo (9).

Se identificó la presencia de carvacrol (Estanque de León, San Jerónimo y Tortuga) y timol (Estanque de León y San Jerónimo), si bien ambos compuestos son

característicos del aceite esencial de esta planta (Barbieri *et al.*, 2018), la ausencia de timol en la comunidad de Tortuga se pudo deber a diversos factores, los cuales abarcan variaciones fisiológicas, variaciones ambientales y geográficas, así como factores genéticos y evolutivos. Además, fueron identificados otros compuestos tales como el eucaliptol, cariofileno, oxido cariofileno y humuleno, coincidiendo con lo reportado por Barbieri *et al.* (2018) y Rivero-Cruz *et al.* (2011).

En ambos casos se puede establecer que el potencial biológico determinado en los ensayos previos se debe a la presencia de los compuestos antes mencionados. La presencia de los diferentes compuestos identificados abre la posibilidad para un gran número de aplicaciones, ya que se ha informado que las matrices de aceites esenciales que contienen timol y carvacrol pueden ser aplicados en la industria alimentaria para alargar la vida de anaquel, además de tener impacto positivo en la salud humana, además de ser considerados seguros para el consumo (Rathod *et al.*, 2021). Además, que las matrices que contienen β -Eudesmol representa una alternativa para su aplicación en la medicina por su actividad antitumoral y su capacidad para mejorar la función neuronal (Acharya *et al.*, 2021).

8 CONCLUSIONES

- Todas las especies analizadas mostraron altos contenidos de almidón, azúcares y hemicelulosas (E.L.N) y fibra cruda.
- Los compuestos polifenólicos y aceites esenciales de todas las especies mostraron actividad antioxidante, lo que representa una alternativa para su aplicación para combatir los efectos por radicales libres y la oxidación de lípidos.
- Los compuestos polifenólicos y aceites esenciales de todas las especies mostraron potencial inhibitorio de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa, representando una alternativa natural para el control de enfermedades como la diabetes II debido al efecto hipoglucemiante comprobado en el presente trabajo.
- La caracterización por FTIR-ATR, permitió identificar grupos funcionales característicos de la cera de candelilla, compuestos polifenólicos y aceites esenciales.
- Las propiedades fisicoquímicas de cera de candelilla obtenidas por el método tradicional y el método alternativo presentaron similitudes por lo que el método alternativo representa una opción viable para la sustitución del método tradicional.
- El análisis de los aceites esenciales por CG/MS permitió identificar compuestos clave como el timol y carvacrol en orégano y cariofileno, ledol y eudesmol en hojasén, a los cuales se les atribuye la actividad biológica evaluada a lo largo de la investigación.

9 PERSPECTIVAS

- Una vez comprobado el potencial antioxidante de los metabolitos secundarios obtenidos de especies del semi-desierto mexicano, se propone la evaluación del potencial antimicrobiano contra bacterias y hongos fitopatógenos de interés agrícola, con el fin de proporcionar alternativas de origen natural para combatir los efectos que causan dichos patógenos sobre frutos en estadio de poscosecha.
- Por otra parte, es fundamental la identificación de compuestos por medio de UPLC/Q-TOF, esto con la finalidad de conocer la identidad de los metabolitos secundarios presentes en las matrices de los compuestos polifenólicos obtenidos y a los cuales se les atribuye el potencial antioxidante y de inhibición enzimática evaluada en la presente investigación.

10 PRINCIPALES LOGROS DE LA INVESTIGACIÓN

Los resultados obtenidos a lo largo de la presente investigación fueron presentados y reportados en diferentes formatos, los cuales se mencionan a continuación:

- Publicación del artículo “*Antioxidant activity of polyphenolic compounds obtained from Euphorbia antisyphilitica Zucc. by-products*”.
- Participación en el *E-Congress of Food Biotechnology and Engineering* con el tema “*Phytochemicals in plants from northern of Mexico*”.
- Participación en el simposio Jardines etnobiológicos, sustentabilidad y trascendencia social con el tema “El orégano, su importancia para los habitantes de las comunidades rurales”.
- Participación en el simposio Jardines etnobiológicos, sustentabilidad y trascendencia social con el tema “Transferencia de tecnología al medio rural para un aprovechamiento integral del orégano”.
- Participación en el simposio Jardines etnobiológicos, sustentabilidad y trascendencia social con el tema “Perspectivas en el aprovechamiento integral de la planta de candelilla”.
- Participación en el XV Congreso Mexicano de Recursos Forestales con el tema “Actividad antioxidante de aceites esenciales de plantas aromáticas del norte de México”.
- Participación en el XV Congreso Mexicano de Recursos Forestales con el tema “Extracción y caracterización de aceites esenciales de orégano, poleo, damiana y laurel a nivel micro industrial”.

- Participación en el XV Congreso Mexicano de Recursos Forestales con el tema “Plantas del semi-desierto mexicano como una fuente de compuestos bioactivos antioxidantes”.

11 LITERATURA CONSULTADA

Acharya, B., Chaijaroenkul, W., & Na-Bangchang, K. (2021). Therapeutic potential and pharmacological activities of β -eudesmol. *Chemical Biology & Drug Design*, 97(4), 984-996. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13823>

Adorjan, B., & Buchbauer, G. (2010). Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(6), 407-426. <https://doi.org/10.1002/ffj.2024>

Aguilar, CN, Aguilera-Carbo, A., Robledo, A., Ventura, J., Belmares, R., Martinez, D., y Contreras, J. (2008). Producción de nutraceuticos antioxidantes mediante cultivos en estado sólido de cáscara de granada (*Punica granatum*) y hojas de arbusto de creosota (*Larrea tridentata*). *Tecnología alimentaria y biotecnología* , 46 (2), 218.

Aguirre-Joya, J. A., Pastrana-Castro, L., Nieto-Oropeza, D., Ventura-Sobrevilla, J., Rojas-Molina, R., & Aguilar, C. N. (2018). The physicochemical, antifungal and antioxidant properties of a mixed polyphenol based bioactive film. *Heliyon*, 4(12), e00942. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00942>

Ait-Ouazzou, A., Cherrat, L., Espina, L., Lorán, S., Rota, C. y Pagán, R. (2011). La actividad antimicrobiana de los constituyentes de los aceites esenciales hidrófobos actuando solos o en procesos combinados de conservación de alimentos. *Ciencia de los alimentos innovadores y tecnologías emergentes* , 12 (3), 320-329.

Al-Jumaili, A., Alancherry, S., Bazaka, K., & Jacob, M. V. (2017). The electrical properties of plasma-deposited thin films derived from *Pelargonium graveolens*. *Electronics*, 6(4), 86. <https://doi.org/10.3390/electronics6040086>

Alvarez-Pérez, O. B., Torres-León, C., Diaz-Herrera, R., Gomes-Araujo, R., Aguirre-Joya, J. A., Ventura-Sobrevilla, J. M., & Cristóbal, N. A. (2019). Packaging Biodegradability. *Food Packaging: Innovations and Shelf-Life*; da Cruz, RMS, Ed, 32.

Alvarez-Perez, O. B., Ventura-Sobrevilla, J. M., Ascacio-Valdés, J. A., Rojas, R., Verma, D. K., & Aguilar, C. N. (2020). Valorization of *Flourensia cernua* DC as source of antioxidants and antifungal bioactives. *Industrial Crops and Products*, 152, 112422. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112422>

Anastas, P. T., & Warner, J. C. (1998). *Química Verde: Teoría y práctica. Prensa de la Universidad de Oxford*, 11.

Arcila-Lozano, C. C., Loarca-Piña, G., Lecona-Urbe, S., & González de Mejía, E. (2004). El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Archivos Latinoamericanos de nutrición*, 54(1), 100-111. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000406222004000100015&lng=es&nrm=iso

Arteaga, S., Andrade-Cetto, A., & Cárdenas, R. (2005). *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. *Journal of ethnopharmacology*, 98(3), 231-239. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.002>

Ascacio-Valdés, J., Aguilera-Carbó, A., Martínez-Hernández, J., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. (2010). *Euphorbia antisiphilitica* residues as a new source of ellagic acid. *Chemical Papers*, 64(4), 528-532. <https://doi.org/10.2478/s11696-010-0034-6>

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.

Association of Official Analytical Chemists, & Association of Official Agricultural Chemists (US). (1984). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (Vol. 2). The Association.

ATR-FTIR analysis of seeds, oil and flour of the edible fedora cultivar hemp (*Cannabis*

Babili, F. E., Bouajila, J., Souchard, J. P., Bertrand, C., Bellvert, F., Fouraste, I., ... & Valentin, A. (2011). Oregano: chemical analysis and evaluation of its antimalarial, antioxidant, and cytotoxic activities. *Journal of food science*, 76(3), C512-C518.
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02109.x>

Bahadoran, Z., Mirmiran, P., & Azizi, F. (2013). Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. *Journal of diabetes & metabolic disorders*, 12(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/2251-6581-12-43>

Barbieri, N., Sanchez-Contreras, A., Canto, A., Cauich-Rodriguez, J. V., Vargas-Coronado, R., & Calvo-Irabién, L. M. (2018). Effect of cyclodextrins and Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) chemotypes on the microencapsulation of essential oil. *Industrial crops and products*, 121, 114-123.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.081>

Barsch, F. (2004). Candelilla (*Euphorbia antisiphilitica*): utilization in Mexico and international trade. *Medicinal Plant Conservation*, 9(10), 46-50.

Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2009). *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC press. <https://doi.org/10.1201/9781420063165>

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.

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06734>

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.

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06734>

Bejarano, M. L., Martínez, M. M., Domínguez, C. C. M., Mendoza, R. A. T., & Juárez, L. Á. M. (2021). Identificación y Actividad Antioxidante de los Compuestos Fenólicos de *Jatropha cardiophylla* (Torr.) Müll. Arg. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 24(1), 1-9.

Berechet, M. D., Stelescu, M. D., Manaila, E., & Craciun, G. (2015). Chemical composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* from Romania. *Rev Chim*, 66, 1814-1818.

Bernal, J. L., Jiménez, J. J., del Nozal, M. J., Toribio, L., & Martín, M. T. (2005). Physico-chemical parameters for the characterization of pure beeswax and detection of adulterations. *European journal of lipid science and technology*, 107(3), 158-166.

<https://doi.org/10.1002/ejlt.200401105>

Bhavaniramy, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M. S., Vijayakumar, R., & Baskaran, D. (2019). Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & oil science and technology*, 2(2), 49-55.
<https://doi.org/10.1016/j.gaost.2019.03.001>

Calvo-Irabién, L. M., Parra-Tabla, V., Acosta-Arriola, V., Escalante-Erosa, F., Díaz-Vera, L., Dzib, G. R., & Peña-Rodríguez, L. M. (2014). Phytochemical Diversity of the Essential Oils of Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) Populations along an Edapho-Climatic Gradient. *Chemistry & biodiversity*, 11(7), 1010-1021.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.201300389>

Carballo-Meilan, A., Goodman, A. M., Baron, M. G., & Gonzalez-Rodriguez, J. (2014). A specific case in the classification of woods by FTIR and chemometric: discrimination of Fagales from Malpighiales. *Cellulose*, 21(1), 261-273.
<https://doi.org/10.1007/s10570-013-0093-2>

Castillo, I. O., Almazán, A. J. S., Arellano, J. D. J. E., & Vázquez, C. (2017). Recoleccion Y Comercializacion Del Oregano (*Lippia* spp) En El Semi-Desierto Mexicano, Un Caso De Estudio: Reserva Ecologica Municipal Sierra Y Cañon De Jimulco, Mexico. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 41, 684-695.

Çelik, S. E., Özyürek, M., Güçlü, K., & Apak, R. (2010). Solvent effects on the antioxidant capacity of lipophilic and hydrophilic antioxidants measured by CUPRAC, ABTS/persulphate and FRAP methods. *Talanta*, 81(4-5), 1300-1309.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.02.025>

Chatterjea, M. N., & Shinde, R. (2011). *Textbook of medical biochemistry*. Wife Goes On. aypee Brothers Medical Publishers. Eighth Edition, 54-55.

Chen, M., Wang, K., Zhang, Y., Zhang, M., Ma, Y., Sun, H., & Sun, H. (2019). New insights into the biological activities of *Chrysanthemum morifolium*: Natural flavonoids alleviate diabetes by targeting α -glucosidase and the PTP-1B signaling pathway. *European journal of medicinal chemistry*, 178, 108-115. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.05.083>

Cheyrier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., & Martens, S. (2013). Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant physiology and biochemistry*, 72, 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.009>

Dai, T., Li, T., He, X., Li, X., Liu, C., Chen, J., & McClements, D. J. (2020). Analysis of inhibitory interaction between epigallocatechin gallate and alpha-glucosidase: A spectroscopy and molecular simulation study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 230, 118023. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.118023>

De León-Zapata, M. A. (2008). Mejoras tecnológicas al proceso de extracción de cera de candelilla. *Profesional thesis, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coah, México.*

De León-Zapata, M. A., Pastrana-Castro, L., Rua-Rodríguez, M. L., Alvarez-Pérez, O. B., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2016). Experimental protocol for the recovery and evaluation of bioactive compounds of tarbush against postharvest fruit fungi. *Food chemistry*, 198, 62-67. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.034>

De León-Zapata, M. A., Rojas, R., Saucedo-Pompa, S., Ochoa-Reyes, E., Garza, H. de la, Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2010). Proceso de extracción de cera de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.). (U. A. de Coahuila, Ed.), Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. México: MX/a/2010/002764.

De Leon-Zapata, M. A., Saucedo-Pompa, S., Contreras-Esquivel, J. C., Jasso-Cantú, D., Sáenz-Galindo, A., & Rodríguez, R. (2010). Technological improvements for candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) wax extraction. *Soto-Cruz O, Peggi MA, Gellejos-Infante A, Rodríguez-Herrera R, (edirs.) Advances in food science and food biotechnology in developing countries. New Delhi: Asiatech Publishers Inc, 272-280.*

de Paulo Farias, D., Neri-Numa, I. A., de Araujo, F. F., & Pastore, G. M. (2020). A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. *Food chemistry, 306, 125630.*
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125630>

de Rodríguez, D. J., Hernández-Castillo, F. D., Solís-Gaona, S., Rodríguez-García, R., & Rodríguez-Jasso, R. M. (2012). *Flourensia cernua* DC: a plant from Mexican semiarid regions with a broad spectrum of action for disease control. *Integrated Pest Management and Pest Control, Current and Future Tactics, InTech, Rijeka, 639-650.*

Depciuch, J., Kasprzyk, I., Roga, E., & Parlinska-Wojtan, M. (2016). Analysis of morphological and molecular composition changes in allergenic *Artemisia vulgaris* L. pollen under traffic pollution using SEM and FTIR spectroscopy. *Environmental Science and Pollution Research, 23(22), 23203-23214.*
<https://doi.org/10.1007/s11356-016-7554-8>

Estell, R. E., Havstad, K. M., Fredrickson, E. L., & Gardea-Torresdey, J. L. (1994). Secondary chemistry of the leaf surface of *Flourensia cernua*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 22(1), 73-77. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(94\)90116-3](https://doi.org/10.1016/0305-1978(94)90116-3)

Estell, R. E., James, D. K., Fredrickson, E. L., & Anderson, D. M. (2013). Within-plant distribution of volatile compounds on the leaf surface of *Flourensia cernua*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 48, 144-150. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.11.020>

Falcão, L., & Araújo, M. E. M. (2013). Tannins characterization in historic leathers by complementary analytical techniques ATR-FTIR, UV-Vis and chemical tests. *Journal of cultural heritage*, 14(6), 499-508. <https://doi.org/10.1016/j.culher.2012.11.003>

Fernández, K., & Agosin, E. (2007). Quantitative analysis of red wine tannins using Fourier-transform mid-infrared spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(18), 7294-7300. <https://doi.org/10.1021/jf071193d>

Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance journal*, 23(4), 213-226. <https://doi.org/10.1002/ffj.1875>

Floriano-Sánchez, E., Floriano-Sánchez, E., Villanueva, C., Noel Medina-Campos, O. & Pedraza-Chaverrí, J. (2006). Nordihydroguaiaretic acid is a potent in vitro scavenger of peroxynitrite, singlet oxygen, hydroxyl radical, superoxide anion and hypochlorous acid and prevents in vivo ozone-induced tyrosine nitration in lungs. *Free radical research*, 40(5), 523-533. <https://doi.org/10.1080/10715760500419365>

Gavahian, M., Chu, Y. H., & Mousavi Khaneghah, A. (2019). Recent advances in orange oil extraction: An opportunity for the valorisation of orange peel waste a review.

International Journal of Food Science & Technology, 54(4), 925-932.

<https://doi.org/10.1111/ijfs.13987>

Gligor, O., Mocan, A., Moldovan, C., Locatelli, M., Crişan, G., & Ferreira, I. C. (2019). Enzyme-assisted extractions of polyphenols—A comprehensive review. *Trends in food science & technology*, 88, 302-315. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.029>

Golmohammadi, M., Borghei, A., Zenouzi, A., Ashrafi, N., & Taherzadeh, M. J. (2018). Optimization of essential oil extraction from orange peels using steam explosion. *Heliyon*, 4(11), e00893. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00893>

Granados-Sánchez, D., Martínez-Salvador, M., López-Ríos, G. F., & Rodríguez-Yam, G. A. (2013). Ecología, aprovechamiento y comercialización del orégano (*Lippia graveolens* HBK) en Mapimí, Durango. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 19(2), 305-322. <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchscfa.2012.05.035>.

Grover, J. K., Yadav, S., & Vats, V. (2002). Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of ethnopharmacology*, 81(1), 81-100. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00059-4](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00059-4)

Häckl, K., & Kunz, W. (2018). Some aspects of green solvents. *Comptes Rendus Chimie*, 21(6), 572-580. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2018.03.010>

Hajib, A., Nounah, I., Oubihi, A., Harhar, H., Gharby, S., Kartah, B., & Charrouf, Z. (2020). Chemical composition and biological activities of essential oils from the fruits of *Cuminum cyminum* L. and *Ammodaucus leucotrichus* L.(Apiaceae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(3), 474-483. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2020.1790427>

- Huang, S. L., Wang, W. H., Zhong, X. Y., Lin, C. T., Lin, W. S., Chang, M. Y., & Lin, Y. S. (2020). Antioxidant properties of *Jatropha curcas* L. seed shell and kernel Extracts. *Applied Sciences*, 10(9), 3279. <https://doi.org/10.3390/app10093279>
- Huerta, C. (1997). Orégano mexicano: oro vegetal. *Biodiversitas*, 15(1), 8-13.
- Hwu, J. R., Hsu, M. H., & Huang, R. C. C. (2008). New nordihydroguaiaretic acid derivatives as anti-HIV agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 18(6), 1884-1888. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.02.018>
- Jelenkovic, L., Jovanovic, V. S., Palic, I., Mitic, V., & Radulovic, M. (2014). In vitro screening of α -amylase inhibition by selected terpenes from essential oils. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(9), 1421-1428. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v13i9.7>
- Jesus, M. S., Genisheva, Z., Romani, A., Pereira, R. N., Teixeira, J. A., & Domingues, L. (2019). Bioactive compounds recovery optimization from vine pruning residues using conventional heating and microwave-assisted extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 132, 99-110. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.070>
- Johari, S., & Kumar, A. (2013). *Euphorbia antisiphilitica*: Effect of growth regulators in improving growth and productivity of hydrocarbon yielding plant. *International Journal of Life Science & Pharma Research*, 3, 25-28.
- Kim, Y. M., Jeong, Y. K., Wang, M. H., Lee, W. Y., & Rhee, H. I. (2005). Inhibitory effect of pine extract on α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition*, 21(6), 756-761. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2004.10.014>

- Laothaweerungsawat, N., Sirithunyalug, J., & Chaiyana, W. (2020). Chemical compositions and anti-skin-ageing activities of *Origanum vulgare* L. essential oil from tropical and mediterranean region. *Molecules*, 25(5), 1101. <https://doi.org/10.3390/molecules25051101>
- Leitner, W. (2007). Green solvents for processes. *Green Chem*, 9(923), 923. <https://doi.org/10.1039/B712156N>
- Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. (2017). Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. *Molecules*, 22(6), 989. <https://doi.org/10.3390/molecules22060989>
- Lo Piparo, E., Scheib, H., Frei, N., Williamson, G., Grigorov, M., & Chou, C. J. (2008). Flavonoids for controlling starch digestion: structural requirements for inhibiting human α -amylase. *Journal of medicinal chemistry*, 51(12), 3555-3561. <https://doi.org/10.1021/jm800115x>
- Luo, X., Cui, J., Zhang, H., & Duan, Y. (2018). Subcritical water extraction of polyphenolic compounds from sorghum (*Sorghum bicolor* L.) bran and their biological activities. *Food chemistry*, 262, 14-20. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.019>
- Ma, L., Lin, Q., Lei, D., Liu, S., Wang, X., & Zhao, Y. (2018). Alpha-glucosidase inhibitory activities of essential oils extracted from three chinese herbal medicines. *Chemical Engineering Transactions*, 64, 61-66. <https://doi.org/10.3303/CET1864011>

Manzanero-Medina, G. I., Flores-Martínez, A., Sandoval-Zapotitla, E., & Bye-Boettler, R. (2009). Etnobotánica de siete raíces medicinales en el Mercado de Sonora de la ciudad de México. *Polibotánica*, (27), 191-228.

Martínez, N., Almaguer, G., Vázquez-Alvarado, P., Figueroa, A., 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. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 13(5), 437-457.

Mata-González, R., & Meléndez-González, R. (2005). Growth characteristics of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) under salt stress. *The southwestern naturalist*, 1-6. <http://www.jstor.org/stable/3672632>.

McCue, P. P., & Shetty, K. (2004). Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase in vitro. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13(1).

Meinhold, K., & Darr, D. (2019). The processing of non-timber forest products through small and medium enterprises—a review of enabling and constraining factors. *Forests*, 10(11), 1026. <https://doi.org/10.3390/f10111026>

Miao, M., Jiang, B., Cui, S. W., Zhang, T., & Jin, Z. (2015). Slowly digestible starch—A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(12), 1642-1657. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.704434>

Miller, A. B., Cates, R. G., Lawrence, M., Soria, J. A. F., Espinoza, L. V., Martinez, J. V., & Arbizú, D. A. (2015). The antibacterial and antifungal activity of essential oils

extracted from Guatemalan medicinal plants. *Pharmaceutical biology*, 53(4), 548-554.

<https://doi.org/10.3109/13880209.2014.932391>

Moreno, A. R., Gallardo, L. B. S., Ledezma, L. E. B. L. B., Escorza, M. A. Q., Pérez-Vertti, R. D. A., & Guzmán, D. D. (2016). Determinación de los compuestos polifenólicos en extractos de *Jatropha dioica* y su capacidad antioxidante. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 47(4), 42-48.

Muscat, D., Tobin, M. J., Guo, Q., & Adhikari, B. (2014). Understanding the distribution of natural wax in starch–wax films using synchrotron-based FTIR (S-FTIR). *Carbohydrate polymers*, 102, 125-135.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.11.004>

Negrea, M., Alexa, E., Sumalan, R., Popescu, S., & Radulov, I. (2018). CHEMICAL COMPOSITION AND IN VITRO ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ORIGANUM VULGARE PLANTS AND ESSENTIAL OIL FROM WEST SIDE OF ROMANIA. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM*, 18(6.2), 97-104.

<https://10.5593/sgem2018/6.2/S25.013>

Noguchi, N., & Niki, E. (2019). Chemistry of active oxygen species and antioxidants. In *Antioxidant status, diet, nutrition, and health* (pp. 1-20). CRC Press.

Nyambe-Silavwe, H., Villa-Rodriguez, J. A., Ifie, I., Holmes, M., Aydin, E., Jensen, J. M., & Williamson, G. (2015). Inhibition of human α -amylase by dietary polyphenols. *Journal of Functional Foods*, 19, 723-

732. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.003>

Ochoa-Reyes, E., Saucedo-Pompa, S., De la Garza, D. G., & Rodríguez, R. (2010). Aguilar, C González. Extracción tradicional de cera de candelilla *Euphorbiaantysiphilitica*. *Revista Acta Química de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 2(3).

Olszowy, M., & Dawidowicz, A. L. (2016). Essential oils as antioxidants: their evaluation by DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, and β -carotene bleaching methods. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 147(12), 2083-2091. <https://doi.org/10.1007/s00706-016-1837-0>

Ozdemir, N., Ozgen, Y., Kiralan, M., Bayrak, A., Arslan, N., & Ramadan, M. F. (2018). Effect of different drying methods on the essential oil yield, composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* L. and *Origanum onites* L. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(2), 820-825. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9696-x>

Özgünseven, A., Barut, B., Şoral, M., Sari, S., Akaydın, G., Özel, A., & Şöhretoğlu, D. (2021). Alpha-glucosidase and tyrosinase inhibition of polyphenols isolated from *Potentilla speciosa* var. *speciosa*: In vitro and in silico perspectives. *Industrial Crops and Products*, 170, 113806. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113806>

Peralta, I., Marrassini, C., Filip, R., Alonso, M. R., & Anesini, C. (2018). Food preservation by *Larrea divaricata* extract: participation of polyphenols. *Food science & nutrition*, 6(5), 1269-1275. <https://doi.org/10.1002/fsn3.640>

Piazza, L. A., López, D., Silva, M. P., Lopez Rivilli, M. J., Tourn, M. G., Cantero, J. J., & Scopel, A. L. (2018). Volatiles and nonvolatiles in *Flourensia campestris*

Griseb.(Asteraceae), how much do capitate glandular trichomes matter?. *Chemistry & biodiversity*, 15(3), e1700511. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201700511>

Picos-Salas, M. A., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Valdez-Torres, B., Angulo-Escalante, M. A., López-Martínez, L. X., Delgado-Vargas, F., & Heredia, J. B. (2021). Supercritical CO₂ extraction of oregano (*Lippia graveolens*) phenolic compounds with antioxidant, α -amylase and α -glucosidase inhibitory capacity. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-00928-4>

Prabhakar, P. K., & Doble, M. (2009). Synergistic effect of phytochemicals in combination with hypoglycemic drugs on glucose uptake in myotubes. *Phytomedicine*, 16(12), 1119-1126. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.05.021>

Priotti, Z. E., Zygodlo, J. A., & Ariza-Espinar, L. (1997). Essential oils of *Flourensia oolepis* SL Blake. *Journal of Essential Oil Research*, 9(3), 345-347. <https://doi.org/10.1080/10412905.1997.10554257>

Quezada Cárdenas, K. (2020). *Caracterización biodirigida de compuestos antioxidantes y antimicrobianos de Jatropha dioica originaria de Durango* (Doctoral dissertation, Universidad Juárez del Estado de Durango. Facultad de Medicina y Nutrición.).

Rajabi, Z., Ebrahimi, M., Farajpour, M., Mirza, M., & Ramshini, H. (2014). Compositions and yield variation of essential oils among and within nine *Salvia* species from various areas of Iran. *Industrial Crops and Products*, 61, 233-239. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.038>

Rios, M. Y. (2015). Chemistry and biology of the genus *Flourensia* (Asteraceae). *Chemistry & biodiversity*, 12(11), 1595-1634.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.201400220>

Rios, M. Y. (2015). Chemistry and biology of the genus *Flourensia* (Asteraceae). *Chemistry & biodiversity*, 12(11), 1595-1634.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.201400220>

Risaliti, L., Kehagia, A., Daoultzi, E., Lazari, D., Bergonzi, M. C., Vergkizi-Nikolakaki, S., ... & Bilia, A. R. (2019). Liposomes loaded with *Salvia triloba* and *Rosmarinus officinalis* essential oils: In vitro assessment of antioxidant, antiinflammatory and antibacterial activities. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 51, 493-498.
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.03.034>

Rivero-Cruz, I., Duarte, G., Navarrete, A., Bye, R., Linares, E., & Mata, R. (2011). Chemical composition and antimicrobial and spasmolytic properties of *Poliomintha longiflora* and *Lippia graveolens* essential oils. *Journal of food science*, 76(2), C309-C317. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02022.x>

Rivero-Cruz, I., Duarte, G., Navarrete, A., Bye, R., Linares, E., & Mata, R. (2011). Chemical composition and antimicrobial and spasmolytic properties of *Poliomintha longiflora* and *Lippia graveolens* essential oils. *Journal of food science*, 76(2), C309-C317. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02022.x>

Rodríguez-Meizoso, I., Marin, F. R., Herrero, M., Señorans, F. J., Reglero, G., Cifuentes, A., & Ibáñez, E. (2006). Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. *Journal of*

pharmaceutical and biomedical analysis, 41(5), 1560-1565.

<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.01.018>

Rojas-Molina, R., Saucedo-Pompa, S., León-Zapata, M. Á. de, Jasso-Cantú, D., & Aguilar-González, C. N. (2011). Ensayo: Pasado, presente y futuro de la candelilla.

Revista Mexicana de Ciencias Forestales, 2(6), 7–18.

<https://doi.org/10.29298/rmcf.v2i6.571>

Salazar, M. O., Osella, M. I., Arcusin, D. E., Lescano, L. E., & Furlan, R. L. (2020). New α -glucosidase inhibitors from a chemically engineered essential oil of *Origanum vulgare*

L. Industrial Crops and Products, 156, 112855.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112855>

Saldívar, R. H. L. (2003a). Estado actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora [*Larrea tridentata* (DC) Coville]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(2), 214-222.

Saldívar, R. H. L., García, G. F. B., Castillo, F. D. H., Alvarado, R. G., de Rodríguez, D. J., & Díaz, F. J. (2003b). Evaluation of resin content and the antifungal effect of *Larrea tridentata* (Sesse and Moc. Ex DC) Coville extracts from two mexican deserts against *Pythium* sp. Pringsh. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(2), 97-101.

Salgueiro, L. R., Cavaleiro, C., Gonçalves, M. J., & da Cunha, A. P. (2003). Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta médica*, 69(01), 80-83. <https://10.1055/s-2003-37032>

sativa L.). *Molecules*, 24(1), 83. <https://doi.org/10.3390/molecules24010083>

Saucedo-Pompa, S. (2007). *Desarrollo de películas comestibles a partir de cera de candelilla y activos antioxidantes* (Doctoral dissertation, Tesis profesional. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coah. México).

Seeram, N., Lee, R., Hardy, M., & Heber, D. (2005). Rapid large scale purification of ellagitannins from pomegranate husk, a by-product of the commercial juice industry. *Separation and purification technology*, 41(1), 49-55.
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2004.04.003>

Siano, F., Moccia, S., Picariello, G., Russo, G. L., Sorrentino, G., Di Stasio, M.,

Sinnott, R. A., Clark, D. W., & De Boer, K. F. (1998). Non-toxic therapeutic extract of *Larrea tridentata*. *PCT Int. Appl. WO*, 97-4518103.

Skouta, R., Morán-Santibañez, K., Valenzuela, C. A., Vasquez, A. H., & Fenelon, K. (2018). Assessing the antioxidant properties of *Larrea tridentata* extract as a potential molecular therapy against oxidative stress. *Molecules*, 23(7), 1826.
<https://doi.org/10.3390/molecules23071826>

Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., ... & Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(11), 2707-2714. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6089>

Tellez, M. R., Estell, R. E., Fredrickson, E. L., & Havstad, K. M. (1997). Essential Oil of *Flourensia cernua* DC. *Journal of Essential Oil Research*, 9(6), 619-624.
<https://doi.org/10.1080/10412905.1997.9700799>

Turner, M. W. (2009). *Remarkable plants of Texas: Uncommon accounts of our common natives* (Vol. 62). University of Texas Press.

Valencia-Díaz, S., & Montaña, C. (2005). Temporal variability in the maternal environment and its effect on seed size and seed quality in *Flourensia cernua* DC.(Asteraceae). *Journal of arid environments*, 63(4), 686-695.
<https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.03.024>

Ventura, J., Gutiérrez-Sánchez, G., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2009). Fungal cultures of tar bush and creosote bush for production of two phenolic antioxidants (pyrocatechol and gallic acid). *Folia Microbiologica*, 54(3), 199-203.
<https://doi.org/10.1007/s12223-009-0031-8>

Villavicencio-Gutiérrez, E. E., Castillo-Quiroz, D., Hernández-Ramos, A., & Martínez-Burciaga, O. U. (2021). Manejo forestal sustentable de los recursos no maderables en el semidesierto del norte de México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, (Especial-1).

Volpe, M. G. (2019). Comparative study of chemical, biochemical characteristic and

Wardencki, W., Curyło, J., & Namiesńnik, J. (2005). Green Chemistry--Current and Future Issues. *Polish Journal of Environmental Studies*, 14(4).

Wong-Paz JE, Contreras-Esquivel JC, Rodríguez-Herrera R, CarrilloInungaray ML, López KI, Nevárez-Moorillón GV, Aguilar CN (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](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60299-6)

Wong-Paz, J. E., Castillo-Inungaray, 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. *Revista Científica de la universidad Autónoma de Coahuila*, 2(4).

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.

Xiao, J., Mao, F., Yang, F., Zhao, Y., Zhang, C., & Yamamoto, K. (2011). Interaction of dietary polyphenols with bovine milk proteins: Molecular structure–affinity relationship and influencing bioactivity aspects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(11), 1637-1645. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100280>

Yilmazer-Musa, M., Griffith, A. M., Michels, A. J., Schneider, E., & Frei, B. (2012). Grape seed and tea extracts and catechin 3-gallates are potent inhibitors of α -amylase and α -glucosidase activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(36), 8924-8929. <https://doi.org/10.1021/jf301147n>

Zavala, D., Carrillo, M. L., Alvarado, B., & Ch, A. O. S. (2010). Evaluación de la toxicidad aguda de un extracto alcohólico de hojas de hojásén (*Flourensia cernua*). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41(3), 50-54. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57916078007>

Zhao, L., Wang, Y., & Li, Y. (2019). Antioxidant activity of graphene quantum dots prepared in different electrolyte environments. *Nanomaterials*, 9(12), 1708. <https://doi.org/10.3390/nano9121708>

Živković, J., Šavikin, K., Janković, T., Čujić, N., & Menković, N. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from pomegranate peel using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 194, 40-47.