

La planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) como fuente potencial de antioxidantes: análisis químico y funcional

Candelilla plant (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) as a potential source of antioxidants: chemical and functional analysis.

Damaso Berrum-Aguilar¹, María del Carmen Julia García¹, Romeo Rojas², Guillermo C. G. Martínez-Ávila^{2*}, Julio César Tafolla-Arellano^{1*}

¹Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro CP 1923, Saltillo, Coahuila, México.

²Laboratorio de Química y Bioquímica, Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León, General Escobedo, CP 66050, Nuevo León, México.

*Autor para correspondencia: jtafare@uaan.edu.mx; guillermo.martinezavl@uan.edu.mx

Resumen

La planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) es utilizada principalmente para la extracción de su cera. Sin embargo, se ha demostrado que también contiene compuestos antioxidantes que han sido poco estudiados. El objetivo de esta investigación fue caracterizar químicamente la planta candelilla de tres diferentes comunidades, San Jerónimo (SJ) en Zacatecas; Estanque de León (EL) y Tortuga (T) en Coahuila. Además, se determinó el rendimiento de los extractos ricos en compuestos polifenólicos (ERCP) y su actividad antioxidante. El análisis químico mostró diferencia significativa para SJ en las variables de ceniza, grasa y extracto libre de nitrógeno con valores de 11.70 g, 5.93 g y 63.20 g por cada 100 g de muestra, respectivamente. El mejor rendimiento del ERCP se obtuvo en las muestras de localidad de T con 10.5 mg g⁻¹. Respecto a la actividad antioxidante (DPPH[•], FRAP y ABTS^{•+}), T obtuvo mejores resultados en comparación a las otras localidades; la determinación de IC₅₀ por DPPH[•] fue 39.52 ± 3.84 µg mL⁻¹, en ABTS^{•+} de 34.75 ± 0.21 µg mL⁻¹ y en FRAP a una concentración de 50 µg mL⁻¹, se obtuvo un porcentaje de inhibición de 41.73 ± 4.21. Con base en el análisis FTIR, las tres localidades presentaron una señal sobresaliente en la longitud de onda de 1025 (cm⁻¹), el cual refiere al grupo funcional C – O – H característico de los compuestos polifenólicos. El presente estudio demostró que la planta de candelilla de estas comunidades analizadas tiene compuestos con fuerte actividad antioxidante, que pueden tener aplicaciones biotecnológicas, alimentarias o farmacéuticas.

Palabras clave: Análisis proximal, compuestos fenólicos, actividad antioxidante.

Abstract

The candelilla plant (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc) is mainly used for wax extraction. However, it contains antioxidant compounds which have been poorly studied. The objective of this research was to characterize chemically the candelilla plant obtained from three different localities, San Jerónimo (SJ) in Zacatecas; Estanque de León (EL) and Tortuga (T) in Coahuila. In addition, the yield of the phenolic rich extract and its antioxidant activity was determined. The chemical analysis for SJ showed a significant difference for ash and fat content, as well as for free nitrogen extract with values of 11.70 g, 5.93 g and 63.20 g per 100 g of sample, respectively. In terms of yield, the locality of T showed the higher content of the ERCP (10.5 mg g⁻¹). Likewise, for antioxidant activity (DPPH[•], FRAP and ABTS^{•+}), the locality of T obtained the best results compared to the other localities with values for IC₅₀ determination by DPPH[•] of 39.52 ± 3.84 µg mL⁻¹ and ABTS^{•+} 34.75±0.21 µg mL⁻¹; together with FRAP assay 41.73 ± 4.21 µg mL⁻¹ at 50 µg mL⁻¹. Based on the FTIR analysis, the three localities presented an outstanding peak at the wavelength of 1025 (cm⁻¹) which refers to the functional group C – O – H characteristic of the phenolic compounds. The present study showed that candelilla plant from these localities can be used as source of molecules with strong antioxidant activity, for biotechnological, food or pharmaceutical applications.

Keywords: Proximate analysis, phenolic compounds, antioxidant activity

INTRODUCCIÓN

Los recursos agrícolas de la zona norte del país comprenden especies de plantas no maderables como el orégano, el laurel, la damiana, y la candelilla, entre otros. La planta de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc), es una especie endémica de regiones semidesérticas, que puede encontrar en estados como Chihuahua, Coahuila, Durango, Hidalgo, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro,



San Luis Potosí, Tamaulipas y Zacatecas. Esta especie es un arbusto bajo y muy ramificado, sin hojas, capaz de reproducirse mediante brotes, ya sea de tallos aéreos o subterráneos (Instituto de la Candelilla 2013). La candelilla presenta tallos largos y erectos de color verde grisáceos, con la particularidad de que en su parte externa producen un material ceroso (Rojas-Molina et al. 2011).

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

La cera de candelilla es un producto usado en la industria, desde la cosmética hasta la electrónica por sus características únicas como: color amarillo transparente, dureza, brillo, incluyendo fácil digestión sin ser tóxica; de acuerdo con la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica es una sustancia generalmente reconocida como segura (Rojas-Molina et al. 2013). Por otra parte, se ha demostrado la alta eficiencia de recubrimientos comestibles a base de cera de candelilla que prolongan la vida de anaquel de frutos frescos cortados como el aguacate (Saucedo-Pompa et al. 2009) y la manzana (Ochoa et al. 2011).

La candelilla es considerada como una fuente de compuestos bioactivos de aplicación biotecnológica, de hecho, se ha logrado aislar e identificar compuestos bioactivos como elagitaninos con capacidad antifúngica ante cepas fitopatógenas como *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporoides* y *Rhizoctonia solani* (Ascacio-Valdés et al. 2013). Sin embargo, a pesar de su gran importancia económica, industrial, ecológica y biotecnológica no se han realizado los suficientes estudios fisiológicos, bioquímicos y funcionales que nos permitan comprender el potencial de los compuestos bioactivos. Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue caracterizar químicamente, la planta candelilla de tres diferentes comunidades del noreste de México. Además, se determinó el rendimiento de los ERCP obtenidos, sus grupos funcionales y la actividad antioxidante de los mismos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El material se colectó en tres diferentes ejidos (Cuadro 1). Una vez recolectadas las muestras se secaron a 50 °C por 24 h en una estufa Novatech y se redujo el tamaño de partícula en un molino Homend, HC-500 a 600 µm (malla No. 30).

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

Especie	Municipio	Ejido	Latitud	Longitud	Altitud ³
<i>Euphorbia antisiphilitica</i>	Melchor Ocampo ¹	San Jerónimo	22°39'11.95"	102°29'24.32"	2275
	Cuatro Ciénegas ²	Estanque de León	25°42'35.55"	103°18'02.27"	1115
	Ramos Arizpe ²	Tortuga	25°51'39.77"	101°16'30.53"	984

¹Zacatecas, ²Coahuila, ³m s.n.m.

Análisis químico proximal

Se realizaron las determinaciones de cenizas, proteína cruda, extracto etéreo (EE), fibra cruda (FC) y extracto libre de nitrógeno (ELN) siguiendo los protocolos establecidos por la AOAC (1980).

Obtención del ERCP

La extracción se realizó de acuerdo con lo reportado por Ascacio-Valdés et al. (2010), se utilizaron 20 g de muestra deshidratada (50 °C/24 h) y pulverizada (tamiz núm. 30). Se colocaron en un vaso de precipitado con 100 mL de agua (relación 1:20). La extracción se llevó a cabo a 60 °C durante 30 min. Después, el extracto se filtró con papel Whatman #41 para eliminar las partículas de mayor tamaño. Se utilizó fase estacionaria (Amberlita XAD-16) para purificar el extracto y agua como eluyente para descartar compuestos indeseables, y después, etanol como eluyente para recuperar la fracción rica en polifenoles. El solvente (EtOH) fue eliminado por evaporación (50 °C durante 48 h) y los compuestos fenólicos fueron recuperados como un polvo fino.

Evaluación de la actividad antioxidante

Para las pruebas de DPPH[•], FRAP y ABTS^{•+} se prepararon soluciones madre de cada una de las muestras (1000 mg L⁻¹), posteriormente se realizaron diferentes



diluciones para obtener el valor de IC_{50} (concentración necesaria para alcanzar el 50% de la inhibición del radical) en las técnicas de DPPH \cdot y ABTS \cdot^+ .

Ensayo DPPH \cdot

Se evaluó la capacidad de captación de inhibición de radicales libres DPPH \cdot , usando metanol como solvente (60 mM) siguiendo el protocolo propuesto por Bautista-Hernández et al. (2021). Se registró la absorbancia de cada una de las muestras a una longitud de onda de 517 nm. El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente ecuación:

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

Donde:

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

Ensayo FRAP

El poder antioxidante reductor férrico se determinó acorde a la metodología propuesta por Bautista-Hernández et al. (2021). Se prepararon curvas de calibración a una concentración de 0, 20, 50, 70, 90, 110 y 150 ppm de cada una de las muestras. La absorbancia fue registrada a una longitud de onda de 734 nm. Los resultados fueron reportados como equivalentes de ácido gálico en μg por mililitro ($EAG \mu\text{g mL}^{-1}$) basados en la curva de calibración con el mismo estándar.

Ensayo ABTS \cdot^+

La inhibición del radical ABTS \cdot^+ se evaluó acorde a la metodología propuesta por Bautista-Hernández et al. (2021). Se generó el catión radical ABTS \cdot^+ por medio de una solución acuosa de ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (2.45 mM); se mezclaron estos compuestos en la oscuridad a temperatura ambiente doce horas antes de su uso. Se ajustó la solución en etanol a 0.700 ± 0.002 nm de absorbancia. Se añadió un volumen de muestra de 50 μL para reaccionar con 950 μL de la solución de ABTS \cdot^+ ; después de 1 min de reposo de la reacción, se midió la absorbancia a 734 nm. La capacidad de inhibición se calculó por medio de la siguiente ecuación:

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

Donde:

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

Análisis mediante espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR)

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

Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se reportaron como medias \pm desviación estándar (DE). Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA), bajo un diseño completamente al azar seguido de una prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando el programa SAS (versión 9.4. SAS Institute, Cary, NC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis químico proximal

En el Cuadro 2 se muestran los resultados del análisis químico proximal, para la variable de ceniza, los resultados no mostraron diferencia significativa entre las localidades de Estanque de León y Tortuga; sin embargo, la localidad de San Jerónimo sí mostró diferencia con un valor de 11.70 $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ de planta seca. Estos resultados son similares con los reportados por Rojas et al. (2013) quienes reportaron valores de 10.9 $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ de contenido de ceniza. Para el contenido de proteína los valores obtenidos son superiores a los reportados por Rojas et al. (2013), quienes reportaron valores de 2.3 $\text{g } 100\text{g}^{-1}$ de proteína cruda en plantas de candelilla. Para el contenido de grasa las localidades Estanque de León y Tortuga no mostraron diferencia significativa, siendo la localidad de San Jerónimo la que



mostró diferencia registrando un valor de 5.93 g 100g⁻¹ de planta seca. En este sentido, Rojas et al. (2013) reportaron valores superiores con un total de 10 y 15.9 g 100g⁻¹ en tallos de candelilla, respectivamente. Para fibra cruda, las tres localidades analizadas muestran diferencias significativas con valores entre 23.30-33.26 g 100g⁻¹ de planta seca. Por otro lado, Rojas et al. (2013) reportaron valores inferiores a de 9.0 g 100g⁻¹ en tallos de candelilla. Se ha reportado que esto puede variar en las plantas debido a su etapa de desarrollo, ya que a menor edad se presentan mayores concentraciones de fibra cruda (Anupam et al. 2016). Los resultados de ELN obtenidos no mostraron diferencias estadísticas entre las localidades Estanque de León y Tortuga, siendo San Jerónimo la única que fue diferente estadísticamente con un valor de 63.20 g 100g⁻¹ en tallos de candelilla. La composición química de las plantas está fuertemente influenciada por algunos factores como las condiciones climáticas, estaciones del año, la variabilidad genética, etapa de desarrollo, entre otras (Wielgolaski 2001).

Cuadro 2. Análisis químico proximal de *Euphorbia antisyphilitica* (g 100g⁻¹), se muestran los promedios de cada valor ya que se llevaron a cabo tres repeticiones.

Localidad	Ceniza	Proteína	Grasa	Fibra	Extracto L. N.
Tortuga	8.56 a	4.12 a	3.82 a	23.30 a	53.68 a
Estanque de León	8.96 a	4.26 a	3.84 a	27.03 b	54.66 a
San Jerónimo	11.70 b	4.18 a	5.93 a	33.26 c	63.20 b

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

Rendimiento del ERCP

Las plantas obtenidas de las localidades San Jerónimo y Estanque de León no mostraron diferencia significativa en los rendimientos de los ERCP con valores de 7 y 8.5 mg g⁻¹, respectivamente. Las plantas del ejido Tortuga fueron en las que se observó el mayor rendimiento de ERCP (10.5 mg g⁻¹). En este sentido, Téllez-Pichardo et al. (2013), reportaron que su rendimiento de polifenoles fue de 7.41 mg g⁻¹, mismo que es similar a los resultados obtenidos en un estudio realizado por Ascasio-Valdés et al. (2010), quienes reportaron la misma técnica de extracción.

Evaluación de la actividad antioxidante

Como se observa en el Cuadro 3, el análisis de la capacidad de inhibición del radical DPPH[•], reveló que la muestra de la localidad de Tortuga fue la única con

diferencia significativa con un IC_{50} de $39.52 \mu\text{g mL}^{-1}$, seguido de las muestras obtenidas de las comunidades de Estanque de León y San Jerónimo.

Para el análisis de la capacidad antioxidante $ABTS^{+}$ las localidades de Estanque de León y San Jerónimo no mostraron diferencias significativas, siendo Tortuga la que mostró diferencia significativa con un IC_{50} de $34.75 \mu\text{g mL}^{-1}$.

En el análisis de FRAP se obtuvieron resultados con mayor capacidad antioxidante en las pruebas realizadas a $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, siendo Tortuga quien mostró diferencia significativa con un valor de $41.73 \text{ EAG} (\mu\text{g mL}^{-1})$. Se ha reportado que diferentes especies de *Euphorbia* de regiones semiáridas han mostrado actividad antioxidante y actividades antiinflamatorias como *Euphorbia thymifolia* L. en extractos etanólicos (Garipelli et al. 2012).

Cuadro 3. Evaluación de la capacidad antioxidante del ERCP			
LOCALIDAD	DPPH [•] IC_{50} Eq. ác. gálico ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	$ABTS^{+}$ IC_{50} Eq. ác. Trolox ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	FRAP 50 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
San Jerónimo	54.67 ± 7.11 a	60.34 ± 0.85 b	27.71 ± 5.27 b
Estanque de León	54.33 ± 4.53 a	61.72 ± 5.36 b	31.61 ± 2.49 b
Tortuga	39.52 ± 3.84 b	34.75 ± 0.21 a	41.73 ± 4.21 b

Eq. ác.= equivalente ácido gálico; Eq. Trolox= equivalente Trolox; %inh= porcentaje de inhibición. La prueba realizada fue con una significancia de ($p < 0.05$). Letras iguales entre columnas denotan que no existe diferencia estadística entre técnicas antioxidantes.

Bautista-Hernández et al. (2021) realizaron un estudio similar con subproductos de la candelilla, en el cual reportaron diferencia significativa en el ensayo DPPH[•] con valores de 319.2 a $388.6 \mu\text{g mL}^{-1}$. Para el análisis de $ABTS^{+}$ reportaron valores similares a los encontrados en este estudio a partir de residuos de candelilla. Esto es interesante, dado que en este estudio se utilizó planta sin el proceso de extracción de cera. La planta de la localidad de Tortuga muestra mayor rendimiento de polifenoles, así como mayor capacidad antioxidante para el caso de inhibición de los radicales DPPH[•] y $ABTS^{+}$. Algunos de los compuestos fenólicos que se han logrado identificar en candelilla y subproductos son ácido elágico, ácido gálico, taninos condensados e hidrolizables, candelitaninos y catequina, todos ellos con actividad antimicrobiana, antioxidante, antitumoral, antifúngica y antiviral, entre otras (Rojas et al. 2021), los cuales podrían ser los responsables de los resultados obtenidos en presente estudio.

Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

En la Figura 1 se pueden observar los espectros de IR de cada una de las muestras obtenidas de las plantas de las tres localidades analizadas.



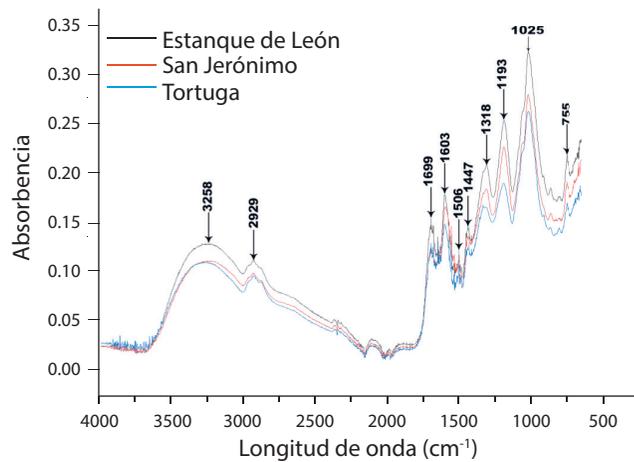


Figura 1. Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de candelilla . **La longitud de onda está dada en cm^{-1}

Bautista et al. (2021) reportaron que el rango de los 3300 a 3000 cm^{-1} indica la presencia del grupo funcional OH este grupo se puede encontrar en compuestos alcohólicos aromáticos, alifáticos y fenólicos hidrogenados. Entre la señal de 2920 y 2850 cm^{-1} , se observa la presencia de C – H esto debido a que los grupos metilo y metileno que están presentes en los compuestos aromáticos. El pico mostrado en los rangos de 1700 y 1600 cm^{-1} se observa la presencia del grupo N – H, esto indica la presencia de compuestos con un anillo aromático que puede corresponder a amidas aromáticas o aminas. Las señales entre 1500 y 1400 cm^{-1} se deben al alargamiento de los grupos carbonilo, mientras que los picos en la región de 1350 y 1300 cm^{-1} indican la deformación de los enlaces C=C del anillo aromático. La diferencia entre la intensidad de las señales observadas podrían ser atribuidas a la presencia de diferentes compuestos polifenólicos presentes en las diferentes muestras (como los flavonoides), lo cual podría interferir en el momento dipolar de los grupos funcionales presentes en ellos, afectando así la intensidad de la señal detectada.

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

El análisis de compuestos polifenólicos realizado por Bautista-Hernández et al. (2021), fundamentan los resultados obtenidos en este análisis, ya que estos resultados mostraron las mismas señales de absorbancia que las que reportan en su investigación dichos autores, las cuales son características de los compuestos polifenólicos. Dentro de la región entre 1700 y 1600 cm^{-1} , la presencia del grupo

N – H, indica la presencia de compuestos con un anillo aromático que puede corresponder a amidas o aminas aromáticas (Bautista et al. (2021). El presente estudio demostró el potencial que tiene la planta de candelilla como fuente de compuestos polifenólicos con capacidad antioxidante que pueden tener aplicaciones biotecnológicas, alimentarias o farmacéuticas, entre otras.

AGRADECIMIENTOS

Al fondo sectorial para la investigación, el desarrollo y la innovación tecnológica forestal Conacyt-Conafor por el financiamiento del Proyecto B-S-131466 “Diseño y construcción de equipo semiautomático para la extracción de cera de candelilla orgánica”. A la dirección de investigación de la UAAAN por las facilidades otorgadas en esta investigación.

LITERATURA CITADA

- AOAC 1980. Official Methods of Analysis. 13th ed. Association of Official Analytical.
- Aguirre-Joya J.A., Cerqueira M.A., Ventura-Sobrevilla J., Aguilar-Gonzalez M.A., Carbó-Argibay E., Castro L.P., y Aguilar C.N., 2019. Candelilla wax-based coatings and films: Functional and physicochemical characterization. *Food and Bioprocess Technology*. 12(10): 1787-1797.
- Anupam K., Sharma A.K., Lal P.S., Bist V. (2016). Physicochemical, Morphological, and Anatomical Properties of Plant Fibers Used for Pulp and Papermaking. In: Ramawat, K., Ahuja, M. (eds) *Fiber Plants. Sustainable Development and Biodiversity*, vol 13. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-44570-0_12
- Ascacio-Valdés J., Burboa E., Aguilera-Carbo A.F., Aparicio M., Pérez-Schmidt R., Rodríguez R., y Aguilar C.N., 2013. Antifungal ellagitannin isolated from *Euphorbia antisiphilitica* Zucc. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 3(1): 41-46.
- Ascacio-Valdés J.A., Aguilera-Carbó A., Martínez-Hernández J.L., Rodríguez-Herrera R., y Aguilar C.N., 2010. *Euphorbia antisiphilitica* residues as a new source of ellagic acid. *Chemical Papers*. 64(4): 528-532.
- Bautista-Hernández I., Aranda-Ledesma N.E., Rojas R., Tafolla-Arellano J.C., y Martínez-Ávila G.C.G., 2021. Antioxidant activity of polyphenolic compounds obtained from *Euphorbia antisiphilitica* by-products. *Heliyon*. 7(4): e06734. Chemists. Washington, D.C.
- Garipelli N., Runja C., Potnuri N., y Pigili R.K., 2012. Anti-inflammatory and anti-oxidant activities of ethanolic extract of *Euphorbia thymifolia* linn whole plant. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*. 4(3): 516-519.



- Instituto de la Candelilla. 2013. Planta de Candelilla. In: https://www.candelilla.org/?page_id=528&lang=es (Fecha de consulta: 17 de mayo de 2021).
- Ochoa E., Saucedo-Pompa S., Rojas-Molina R., Garza H., Charles-Rodríguez A.V., y Aguilar C.N., 2011. Evaluation of a candelilla wax-based edible coating to prolong the shelf-life quality and safety of apples. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. 6(1): 92-98. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2011.92.98>
- Rojas Molina R., Saucedo Pompa S., De León Zapata M.A., Jasso Cantú D., y Aguilar C.N. 2011. Pasado, presente y futuro de la candelilla. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. 2(6): 7-18.
- Rojas-Molina R., De León-Zapata M.A., Saucedo-Pompa S., Aguilar-Gonzalez M.A., y Aguilar C.N. 2013. Chemical and structural characterization of Candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.). *Journal of Medicinal Plants Research*. 7(12): 702-705.
- Saucedo-Pompa S., Rojas-Molina R., Aguilera-Carbó A.F., Saenz-Galindo A., de La Garza H., Jasso-Cantú D., y Aguilar C.N., 2009. Edible film based on candelilla wax to improve the shelf life and quality of avocado. *Food Research International*. 42(4): 511-515.
- Télles-Pichardo R., Cruz-Aldaco K., Ochoa-Reyes E., Aguilar C.N., y Rojas R. 2013. Cubiertas Comestibles de Cera y Polifenoles de Candelilla: Una Alternativa de Conservación de Papaya (*Carica papaya* L.). *Acta Química Mexicana. Revista Científica de La Universidad Autónoma de Coahuila*. 5(10).
- Wielgolaski F., 2001. Phenological modifications in plants by various edaphic factors. *Int J Biometeorol* 45. 196-202. <https://doi.org/10.1007/s004840100100>
- Zamora Martínez M.C., Méndez Espinoza C., Pérez Miranda R., y Cortés Barrera E.N., 2013. *Euphorbia antisyphilitica* Zucc.: recurso forestal no maderable de alto valor económico.