

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA



"Caracterización Físicoquímica y Funcional de Hojasén (*Flourensia cernua*) de Diferentes Localidades"

Por:

ALONDRA POLET SIFUENTES GÓMEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre, 2022.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA



"Caracterización Fisicoquímica y Funcional de Hojasén (*Flourensia cernua*) de Diferentes Localidades"

Por:

ALONDRA POLET SIFUENTES GÓMEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

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

DR. ROMEO ROJAS MOLINA
Asesor Principal Externo

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre, 2022.

DERECHO DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA

“Caracterización Físicoquímica y Funcional del Hojasén (*Flourensia cernua*) de Diferentes Localidades”

Por:

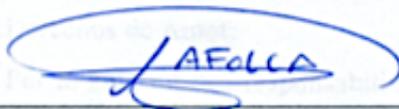
ALONDRA POLET SIFUENTES GÓMEZ

TESIS

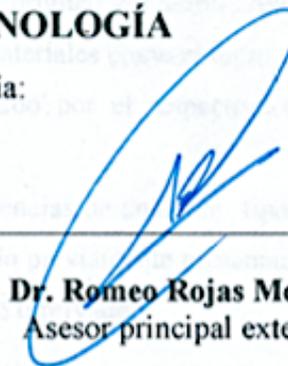
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

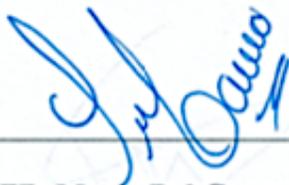
Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Julio César Tafolla Arellano
Asesor Principal



Dr. Romeo Rojas Molina
Asesor principal externo



QFB. María Del Carmen Julia García
Asesor



**Dr. Guillermo Cristian Guadalupe
Martínez Ávila**
Asesor



MC. Sergio Sánchez Martínez
Coordinador de la División de
Ingeniería

Buenavista, Saltillo Coahuila, México.
Diciembre, 2022.

DERECHO DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

Todo material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es el responsable directo y jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente. Así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.



Alondra Polet Sifuentes Gómez
Autor principal

A t e n t a m e n t e.

Alma Terra Mater



Dr. Julio César Tafolla Arellano
Asesor Principal

DEDICATORIA

A mis padres **ARNULFO SIFUENTES IBARRA y EDELMIRA GOMEZ RUIZ** por darme la vida, el amor, la confianza, los valores y la oportunidad de realizar mis sueños. Gracias por todos sus consejos y su apoyo incondicional en cada paso de mi vida. Simplemente gracias por todo.

A mi abuela (mamá) **PETRA RUIZ GONZALEZ** por su amor puro, por sus consejos y por siempre cuidar de mí en cada momento, gracias por siempre mantenerme en sus oraciones y protegerme.

A mis hermanos **PALOMA SIFUENTES GÓMEZ Y PAVEL SIFUENTES GÓMEZ** por su apoyo y su amor incondicional que siempre me han brindado, gracias por siempre protegerme y estar a mi lado siempre.

A mi sobrina **ETHEL MARIAND HERNANDEZ SIFUENTES** por llegar a iluminar vida con su alegría y amor.

A mi **Familia Gómez, Primos, Tíos y Seres queridos** por siempre alentarme a seguir y por sus muestras de cariño constante que recibía a la distancia, gracias por la confianza que siempre me tuvieron.

Los amo a todos.

AGRADECIMIENTOS

A **DIOS** por haberme conducido en este camino con salud, bendiciones y sabiduría, por siempre cuidar de mí y estar a mi lado en cada momento, por bendecirme con una familia con la que siempre me otorgo su apoyo incondicional.

Al **Dr. JULIO CESAR TAFOLLA ARELLANO** por todo su apoyo, su confianza que siempre me brindo y me alentó a ser mejor y nunca rendirme, por sus aprendizajes para que este proyecto se concretara con éxito, por siempre impulsarme a ser una mejor estudiante, y por darme las herramientas para ser una profesionista.

Al **Dr. ROMEO ROJAS MOLINA** por brindarme la asesoría y la oportunidad de realizar este proyecto y que concluyera con éxito, gracias por compartir todo su conocimiento para guiarme por un buen camino.

Al **Dr. GUILLERMO CRISTIAN GUADALUPE MARTÍNEZ ÁVILA** por darme la asesoría en todo momento y oportunidad de realizar este proyecto y guiarme en cada paso del proyecto.

A la maestra **MARIA DEL CARMEN JULIA GARCIA** por brindarnos en todo momento la mejor disponibilidad, confianza y su apoyo.

Al **FONDO SECTORIAL PARA LA INVESTIGACION, EL DESARROLLO Y LA INNOVACION TECNOLOGICA FORESTAL CONACYT-CONAFOR** por el apoyo económico del proyecto 2018-1-B-S-65769 “Estandarización de proceso de extracción de aceites esenciales de especies aromáticas: diseño y construcción de equipo microindustrial”.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** y al **Departamento de Ciencias Básicas** por otorgarme la oportunidad de pertenecer en esta gran institución y brindarme las herramientas para ser una profesionista.

A mis compañeros del **LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR**, por apoyarme en cada momento, por su amistad que siempre brindaron en todo momento y por todas sus enseñanzas.

A cada uno de mis profesores que me brindaron sus conocimientos que fueron la parte más importante de mi formación.

A mis amigas Diana Paula, Sofía, Sonia, Gabriela, Nallely, Brisa, Elizabeth y Zareth por siempre alentarme, inspirarme y confiar en mí para concluir esta etapa maravillosa de mi vida.

ÍNDICE GENERAL DEL CONTENIDO

DERECHO DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO	IV
DEDICATORIA	V
AGRADECIMIENTOS	V
ÍNDICE DE CUADROS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	X
RESUMEN	XI
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Hipótesis	2
1.2 Objetivo General	2
1.3 Objetivos específicos	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Generalidades del Hojasén.	3
2.1.1 Botánica	3
2.1.2 Descripción morfológica de la planta	4
2.1.3 Características químicas.	5
2.1.4 Características del tronco.	6
2.1.5 Características de la hoja.	7
2.1.6 Características de la flor.	7
2.1.7 Distribución Geográfica.	8
2.1.8 Usos del Hojasén.	9
2.2 Análisis Físico – Químico Proximal	10
2.2.1 Materia Seca Total	10
2.2.2 Humedad	10
2.2.3 Ceniza	10
2.2.4 Proteína Cruda	11
2.2.5 Extracto Etéreo - Grasa	11
2.2.6 Fibra Cruda	11
2.2.7 Extracto Libre de Nitrógeno	11
2.3 Actividad antioxidante	11
2.4 Métodos empleados en la determinación de actividad antioxidante.	12
2.4.1 FRAP	12
2.4.2 DPPH	12
2.4.3 ABTS	13
2.5 Espectroscopia por Transformada de Fourier (FTIR)	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1 Material vegetal	14

3.2	Reactivos químicos.....	14
3.3	Métodos para análisis físico-químico proximal.....	14
3.3.1	Determinación de Materia Seca Total (%)	14
3.3.2	Determinación de Cenizas (%).....	15
3.3.3	Determinación de Proteína Cruda.....	15
3.2.4	Determinación de Extracto etéreo o grasa.	16
3.2.5	Determinación de Fibra Cruda.....	16
3.3.6	Extracto libre de nitrógeno (ELN).....	16
3.4.	Extracción de Polifenoles	17
3.5	Evaluación de la actividad antioxidante	17
3.5.1	Preparación de las muestras para analizar	17
3.5.2	Ensayo DPPH•.....	17
3.5.3	Ensayo FRAP	18
3.5.4	Ensayo ABTS•+	19
3.6	Análisis de Espectroscopia Infrarroja Transformada de Fourier (FTIR)	20
3.7	Análisis estadístico	20
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
4.1	Análisis químico proximal.....	21
4.1.1	Materia Seca Total (%).....	23
4.1.2	Determinación de Humedad (%)	23
4.1.3	Determinación de Ceniza (%).....	24
4.1.4	Determinación de Proteína Cruda (%).....	24
4.1.5	Extracto Etéreo-Grasa (%).....	25
	26
4.1.6	Determinación de Fibra Cruda (%).....	26
4.1.6	Determinación de Extracto Libre de Nitrógeno (%)	27
4.2	Rendimiento del Proceso de extracción de Polifenoles	27
4.3	Análisis de la Capacidad Antioxidante.	28
4.3.1	Análisis de la capacidad de eliminación de radicales DPPH.....	29
4.3.2	Análisis de la capacidad de la técnica de Determinación de inhibición de radicales ABTS.	29
4.3.2	Análisis de la capacidad de la técnica de Determinación del poder de reducción de Hierro (FRAP).....	29
4.4	Análisis por espectroscopia Infrarroja Transformada de Fourier.....	30
	30
V.	CONCLUSIONES	32
VI.	LITERATURA CITADA.....	33

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Ubicación geográfica de las colectas de las 3 localidades evaluadas.	14
Cuadro 2	Curva de calibración de ácido gálico DPPH [•] .	17
Cuadro 3	Curva de calibración de ácido gálico para FRAP.	18
Cuadro 4	Curva de calibración de Trolox.	19
Cuadro 5	Análisis químico proximal de Hojasén (<i>Flourensia cernua</i>).	22
Cuadro 6	Rendimiento del proceso de extracción de polifenoles.	27
Cuadro 7	Análisis de la actividad antioxidante de hojasén (<i>Flourensia cernua</i>).	29
Cuadro 8	Identificación de señales en la espectroscopia infrarrojo de polifenoles purificados de Hojasén (<i>Flourensia cernua</i>).	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Arbusto de hojasén	4
Figura 2	Características de la planta hojasén	5
Figura 3	Ramificaciones de la planta <i>Flourensia cernua</i> .	7
Figura 4	Hoja y flor de <i>Flourensia cernua</i> .	8
Figura 5	Distribución geográfica de <i>Flourensia cernua</i> .	9
Figura 6	Proceso de análisis de Materia Seca	23
Figura 7	Proceso de análisis de Ceniza	24
Figura 8	Proceso de análisis de Proteína Cruda	25
Figura 9	Proceso de análisis de Extracto Etéreo-Grasa	26
Figura 10	Proceso de análisis de Fibra Cruda	27
Figura 11	Polifenoles purificados.	28
Figura 12	Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de Hojasén (<i>Flourensia cernua</i>).	30

RESUMEN

El hojásén (*Flourensia cernua*) de regiones semidesérticas de México y del sur de Estados Unidos, es una planta catalogada como árbol-arbusto de 1-2 metros de altura, gracias a sus ramificaciones y a sus tallos resinosos es una especie de hábitat de climas cálidos donde se carece de agua y en desiertos con climas extremos. Se han reportado diferentes propiedades como medicinales, antimicrobianas, entre otras debido a su alto contenido de polifenoles. Esta planta es bebida como infusión de té para los distintos malestares gastrointestinales, así como la capacidad del control y manejo de hongos y bacterias muy específicos de los cuales provocan enfermedades que causan unas grandes pérdidas en la industria agrícola. La extensa cantidad de metabolitos secundarios que llega a poseer ha cobrado relevancia. Existe una limitación de los estudios relacionados a aspectos fisicoquímicos y funcionales de esta planta ubicada en el noreste de México. En este trabajo caracterizó físico-químicamente y se evaluó la capacidad antioxidante de tres diferentes localidades (San Jerónimo, Estanque de León y Tortuga).

Para lo cual se extrajeron compuestos fenólicos de la planta obteniendo 21.35 mg/g^{-1} de rendimiento en el ejido de Estanque de León. Se analizó su capacidad antioxidante (DPPH[•], FRAP y ABTS^{•+}), obteniendo como resultados del análisis de FRAP a San Jerónimo como la mejor localidad con capacidad antioxidante con 24.64 ± 0.25 ($50 \mu\text{g} / \text{mL}^{-1}$) y 20.52 ± 0.38 ($25 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$) del ejido de San Jerónimo, en el análisis de DPPH[•] la planta de la localidad Estanque de León presentó los mejores valores con 349.16 ± 0.66 ($\text{IC}_{50}, \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$) y en el ensayo de ABTS^{•+} la planta de la localidad de San Jerónimo destaca con una mayor capacidad antioxidante con 139.50 ± 0.45 ($\text{IC}_{50}, \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$). Las variaciones en los resultados obtenidos pueden deberse a la diferencia de localidades, lo que proporciona diferentes condiciones ambientales y reflejan diferentes composiciones.

Se analizó el análisis mediante espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FTIR) en la cual se obtuvieron once señales de absorbancia en total de las tres localidades, las señales que destacan más son $3,300 \text{ cm}^{-1}$ perteneciente a un grupo hidroxilo (OH), $2,929 \text{ cm}^{-1}$ relacionada con la presencia de compuestos aromáticos, al igual que la presencia de fenoles alcohólicos.

Palabras clave: Hojásén, análisis físico-químico proximal, compuestos fenólicos, actividad antioxidante

I. INTRODUCCIÓN

El hojásén (*Flourensia cernua*) especie que se distribuye en las distintas regiones de nuestro país y del sur de Estados Unidos. Esta especie predomina en las zonas semiáridas de ciertos estados de nuestro país como lo son: en los desiertos de Chihuahua y Sonora, al igual que en los estados de Chihuahua, Coahuila, Sonora, Zacatecas y San Luis Potosí (de Rodríguez *et al.* 2012) debido a la zona donde el hojásén crece carece de agua por lo cual la planta morfológicamente tiene la adaptación para sobrevivir a este tipo de hábitat.

Son arbustos que tienen un rango de medición de 1 a 2 metros de altura estos arbustos son resinosos y ramificados con un color café oscuro, hojas verdes opaco ovaladas en su mayoría con unas medidas de 10 a 25 mm de largo y 4 a 15 mm de ancho, su flor es un amarillo brillante. *Florensia cernua* es conocida por sus diversos tratamientos medicinales gastrointestinales es usada como una infusión para aliviar y controlar diversos tipos de dolores gastrointestinales, indigestión, diarrea entre otros, también lo emplean como laxante y antirreumático. Uno de los usos más importantes de *Florensia cernua* se ha distinguido por su capacidad de controlar hongos y bacterias los cuales son causantes de enfermedades de grandes pérdidas de postcosecha en cultivos con alto nivel comercial como: la fresa, el tomate, la papa, la zarzamora, la papaya, la manzana, etc. Estudios realizados sobre su actividad antimicrobiana con extractos de *Flourensia cernua* se ha reportado un efecto bactericida en las cepas de *Mycobacterium tuberculosis*, como también una actividad fungicida (Zavala *et al.* 2010)

Flourensia cernua es una especie de suma importancia dado que contiene metabolitos secundarios los cuales son los compuestos fenólicos, terpenos y otros; estos son usados en aplicaciones biológicas, ecológicas, médicas y por sus extractos los cuales son para el control de hongos y bacterias en específico (Estell *et al.*, 1996). Sin embargo, existen pocos estudios sobre esta planta en regiones del noreste de México, ya que se desconocen aspectos fisicoquímicos y funcionales, entre otros.

1.1 Hipótesis

La planta Hojasén (*Flourensia cernua*), es una fuente potencial de compuestos polifenólicos con actividad antioxidante.

1.2 Objetivo General

Caracterizar fisicoquímica y funcionalmente los compuestos polifenólicos obtenidos de la planta Hojasén (*Flourensia cernua*) de tres diferentes comunidades.

1.3 Objetivos específicos

1.3.1 Realizar la caracterización proximal de la planta Hojasén (*Flourensia Cernua*) de tres diferentes comunidades, localidad de San Jerónimo, Melchor Ocampo, Zacatecas; Localidad Estanque de León, Cuatro Ciénegas, Coahuila y Tortuga, Ramos Arizpe, Coahuila, México.

1.3.2 Extraer y purificar los compuestos polifenólicos de las diferentes muestras de Hojasén (*Flourensia cernua*).

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

1.3.4 Identificar los grupos funcionales mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades del Hojasén.

Existen más de 40 especies de subarbustos que pertenecen al género de *Flourensia* la cual pertenece a la subfamilia asteroideae y tribu helianthae (Olanda Rios, 2015) son unos arbustos aromáticos y resinosos, una de sus principales características es su flor amarilla.

La planta *Flourensia cernua* tienen un aroma a alquitrán, se encuentra en el desierto de Chihuahua, en hábitats áridos y en regiones subtropicales de América, como en Perú, Chile, Argentina, Estados Unidos, México, donde este último es donde se distribuyen 13 de esta especie, 7 de estas especies se localizan en el estado de Coahuila: *Flourensia ilicifolia*, *Flourensia dentata*, *Flourensia pringlei*, *Flourensia laurifolia*, *Flourensia retinophylla*, *Flourensia microphylla*, *Flourensia colludes*, *Flourensia solitaria*, *Flourensia monticola*, *Flourensia resinosa*, *Flourensia glutinosa*, *Flourensia pulcherrima*, *Flourensia cernua* (de Rodríguez *et al.*, 2012).

Flourensia cernua se le conoce por distintos nombres en Estados Unidos de América se le nombra: hojase, tarbush, tarbush americano, pincel de barniz, hojasen y pincel negro (Kingston *et al.* 1975). En México se le nombra tarbush, hojasen, black-bursh (de Rodríguez *et al.* 2012).

2.1.1 Botánica

Su clasificación taxonómica:

Nombre científico: *Flourensia cernua*.

Clase: *Magnoliopsida*.

Orden: *Asterales*.

Familia: *Asteraceae*.

Género: *Flourensia*.

(Olanda Ríos *et al.* 2015)

2.1.2 Descripción morfológica de la planta

El hojásén (*Flourensia cernua*) arbusto de 1 a 2 metros de altitud, son tallos ramificados, aromáticos, resinosos y de un color café casi negro, son arbustos frondosos con hojas ovaladas de color verde opaco su medida es de 10-25 mm por 4-15 mm (Figura 1), puntiagudas, con un margen ondulado, con flores color amarillo brillante sus cabezas son de 1 cm de largo, (Figura 2). Se encuentra muy a menudo en el desierto de chihuahua (Wong-Paz *et al.* 2015)



Figura 1. Arbusto de hojásén (Encyclopedia of Life. 2006).



Figura 2. Características de la planta hojasén (Guerrero-Rodríguez *et al.* 2007).

2.1.3 Características químicas.

Debido a su gran cantidad de metabolitos secundarios estos son usados para las aplicaciones ecológicas y biológicas. *Flourensia ceruna* contiene el mayor número de químicos con potencial económico comparado con nueve especies de *Flourensia* de la misma familia. (Proksch, Aregullin, and Rodríguez 1983). Se relacionó la presencia de benzopiranos y benzofuranos con actividad biológica. Estos metabolitos secundarios no se encuentran presentes en las demás especies, lo cual llevó a la relación entre la distribución geográfica y una probable adaptación química al medio.

La especie de *Flourensia cernua* y sus estudios son de suma importancia por su uso potencial para el control de bacterias y hongos, el contenido de metabolitos secundarios que contiene es hojas y tallos la hacen que su uso sea potencial, además, se ha estudiado el grado tóxico para su uso. Se han identificado y aislado cinco 6.8-di, C-glicosilflavonas y dos flavonoles metoxilados (Kingston *et al.* 1975); al igual que los compuestos fitotóxicos flourensadiol, orselinato de metilo, y ácido dihidroflourensico. También, se han reportado el aislamiento de dos flavonoides, hispidulina y cirsimartina (Kingston *et al.* 1975). Además, se identificó la presencia de compuestos fenólicos de (+)-catequina, ácido elagico, ácido 2-hidroxicinámico y quercetina en los extractos etanólicos (Ruiz-Martínez *et al.* 2011). Por otro lado, se han identificado terpenos

borneol y globulol en la superficie de las hojas (Richard E Estell *et al.* 1994). Se ha logrado identificar 88 compuestos en el aceite esencial de *Flourensia cernua*, entre ellos: flourensiol, limoneno, β -eudesmol, mirceno, viridiflorol, borneol, α -eudesmol y alcohol artimicia (Tellez *et al.* 1997).

Todos los perfiles de metabolitos secundarios y concentraciones varían dependiendo de las plantas (Barnola *et al.*, 1997), los factores que alteran los perfiles químicos pueden ser factores abióticos, bióticos y de estrés (ejemplos: longitud de onda, nutrientes, intensidad de luz, humedad del suelo, daños mecánicos, etc.). Los factores que más llegan a afectar el potencial químico en esta especie es la ubicación dentro de la planta, dado que las hojas inmaduras contienen unos altos niveles de concentraciones de compuestos de defensa los cuales son los fenoles totales y los terpenos, la edad de la hoja es otro de los factores de suma importancia para el potencial químico (Rick E Estell *et al.* 2013).

2.1.4 Características del tronco.

Son troncos muy ramificados de color café oscuro, resinosos, gracias a las variadas ramificaciones de su tronco el arbusto obtiene captura de agua con una buena efectividad cuando llueve, esto se debe al variado escurrimiento de agua a lo largo del tronco, esto hace que el arbusto sobreviva en un habitat con lluvias escasas y así mantiene los lugares de crecimiento con la humedad necesaria (Figura 3) (Kidron and Gutschick 2013).



Figura 3. Ramificaciones de la planta *Flourensia cernua* (Kidron and Gutschick 2013) .

2.1.5 Características de la hoja.

Las ramificaciones están cubiertas de hojas ovaladas o elípticas de 10 a 25 mm de largo por 4-15mm de ancho, su margen es ondulado y puntiagudo (Ferrer *et al.*, 2004), las hojas de esta planta contienen tanto propiedades antioxidantes como medicinales (de Rodríguez *et al.*, 2012). (Figura 4)

2.1.6 Características de la flor.

Son unas cabezas de 1 cm de largo, con tallo corto, con filamentos envolventes en forma de campana, puntas extendidas en series de 3, puntas extendidas y de un color amarillo brillante. Esta planta florece en el mes de noviembre y sus frutos los da a partir de diciembre hasta febrero, dispersa las semillas durante febrero y el mes de marzo, y su germinación se lleva a cabo durante el verano (Figura 4) (Ferrer *et al.*, 2004)



Figura 4. Hoja y flor de *Flourensia cernua* (de Rodríguez *et al.* 2012).

2.1.7 Distribución Geográfica.

Esta especie distribuida en el norte y parte del sur de México dominante en los desiertos de Chihuahua y Sonora (Tellez *et al.* 1997), así como en el sur de Estados Unidos de América se localiza en Texas, Arizona y sur de Nuevo México. *Flourensia cernua* se localiza en altitudes que varían desde los 1000 a los 2000 msnm. En México se encuentra en una altitud predominante para esta especie la cual es de 1900 msnm y en pendientes de 1 a 6 % (Olanda Ríos *et al.* 2015), en Coahuila se localizó en altitudes de 300 a 400 al noroeste (Figura 5) (Granados López *et al.* 2014)

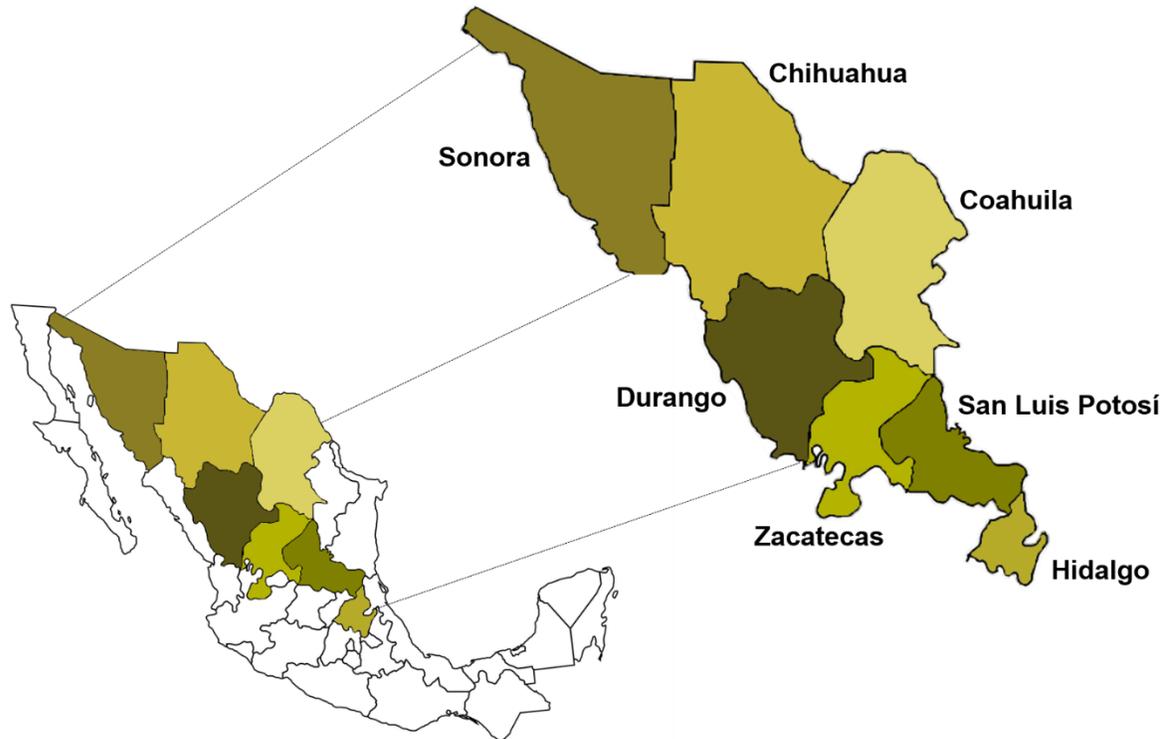


Figura 5. Distribución geográfica de *Flourensia cernua*.

2.1.8 Usos del Hojasén.

La planta de hojasén ha sido utilizada por muchos años como un remedio medicinal. Las hojas se beben como infusión para el tratamiento de diversas enfermedades gastrointestinales como dolencias, disentería, indigestión y diarrea (Bachiller Rodríguez *et al.* 2004), también, ha sido usada como laxante, expectorante y remedio reumático (Molina-Salinas *et al.* 2006). Uno de los usos más importantes de *Flourensia cernua* es la actividad fungicida, bactericida e insecticida en las plantas.

Se ha demostrado su capacidad antioxidante, antimicrobiano, antitumoral, enzima inhibidor y anti hiperglucemico y temperaturas óptimas para llevar a cabo su desarrollo (Guerrero-Rodríguez *et al.* 2007) las hojas de *Flourensia cernua* son las que tienen unos altos niveles de compuestos polifenólicos, los cuales proporcionan las propiedades digestivas tanto como fungicidas (Molina-Salinas *et al.* 2006). Los taninos son metabolitos secundarios que se encuentran en *Flourensia cernua* los cuales combaten como defensa de animales y microbios.

Se ha reportado que el extracto de hexano, etanol, éter y metanol-cloroformo (de Rodríguez *et al.* 2012) de la planta *Flourensia cernua* inhiben en distintas concentraciones a bacterias como

son las *Pseudomonas cichorii*, *Pectobacterium caratovora* y *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli* (Molina-Salinas *et al.* 2006).

2.2 Análisis Físico – Químico Proximal

El análisis químico proximal es el encargado de indicar los elementos nutritivos que contiene un producto, así como hacer evaluaciones de controles de calidad, con fin de evaluar los requerimientos y especificaciones establecidos por el mercado. Este análisis nos indica los contenidos de grasa, humedad, fibra cruda, proteína cruda, extracto libre de nitrógeno y ceniza en la muestra (Castro *et al.* 2018).

2.2.1 Materia Seca Total

El método de materia seca se basa en la eliminación de agua libre, en este proceso se hace por medio de la circulación de aire caliente por un periodo de tiempo a bajas temperaturas (Rivera Hernández.), esto con el objetivo de evitar que los nutrientes volátiles de la muestra se pierdan y así el contenido de humedad sea de bajas concentraciones, esto con el fin de facilitar la cuantificación de nutrientes en la muestra de alimento.

2.2.2 Humedad

El método de determinación de humedad es llevado a cabo indirectamente por medio del método de materia seca, dado que la temperatura del aire del horno de secado y el tiempo de la exposición de la muestra son regulados para alcanzar un secado y pérdidas mínimas de las sustancias volátiles (Castro *et al.* 2018).

2.2.3 Ceniza

Es la incineración de la muestra a 500° C que se considera como residuo inorgánico (Castro *et al.* 2018), el cual es determinado con el propósito de analizar la cantidad de mineral, total de nutrimentos que son digeribles y minerales.

2.2.4 Proteína Cruda

Es la multiplicación del contenido de nitrógeno definido en el procedimiento del factor de transformación de nitrógeno el cual es determinado en la transformación de nitrógeno sobre la proteína (Rivera Hernández, 2017).

2.2.5 Extracto Etéreo - Grasa

Este análisis se encarga de reconocer materia apta de disolverse en solventes orgánicos, eficiente para la grasa (Castro *et al.* 2018). Existen métodos los cuales son empleados por calor, este a su vez hace que pierda una parte de grasa debido a la evaporación, dado eso se usan sustancias las cuales separan al mismo tiempo la grasa bruta.

2.2.6 Fibra Cruda

La degradación de una muestra a la interacción con el ácido sulfúrico y el hidróxido de sodio en una condición controlada (Castro *et al.* 2018), da como resultado el análisis de fibra cruda, el resultante de esta interacción es una muestra la cual está conformada por cutina, lignina y celulosa.

2.2.7 Extracto Libre de Nitrógeno

Se encarga de cuantificar la concentración de carbohidratos en el contenido celular, los carbohidratos cuantificados son no estructurales los cuales son disacáridos, trisacáridos, almidones y monosacáridos (Rivera Hernández, 2017).

2.3 Actividad antioxidante.

Durante más de una década se han implementado ciertos métodos de determinación de antioxidantes de los cuales DPPH^{*}, FRAP, ABTS⁺⁺ son los más usados para el estudio de antioxidantes en la planta *Flourensia cernua*.

2.4 Métodos empleados en la determinación de actividad antioxidante.

La determinación de la actividad antioxidante esta empleada por diversos tipos de métodos, ya puede ser *in vivo* o *in vitro*. Los métodos *in vitro* son usados para comparar la actividad antioxidante de diferentes muestras vegetales o de alimentos. Los resultados son limitados desde el punto de vista nutricional, esto debido no reproducen la situación fisiológica. Para lograr un mayor alcance algunos ensayos incluyen radicales relevantes en los sistemas biológicos (O_2 , H_2O_2 , ROO, OH) (Fernández-Pachón *et al.* 2006).

Los métodos *in vivo* son utilizados para reflejar las interacciones de los distintos componentes de la especie. Existen numerosos aspectos que aún no se conocen en las medidas *in vivo*, uno de ellos el modo de encuentro de los radicales adentro de los compartimentos celulares y si los compuestos antioxidantes se trasladan al interior de los mismos (Fernández-Pachón *et al.* 2006).

2.4.1 FRAP

FRAP es el ensayo en el que el Fe^{2+} formado en reacciones redox del ensayo FRAP puede reaccionar con H_2O_2 para formar OH, se considera el radical libre más perjudicial encontrado *in vivo*. (Fernández-Pachón *et al.* 2006). Se puede utilizar para medir la capacidad reductora total de los antioxidantes (Guo *et al.* 2003). Es una forma de cuantificar la actividad antioxidante, el porcentaje de inhibición a un tiempo fijo con el handicap de que distintos antioxidantes pueden tener un mismo porcentaje a un tiempo dado pero diferente a otro tiempo definido (Fernández-Pachón *et al.* 2006).

2.4.2 DPPH'

Los métodos para medir la actividad antioxidante no utilizan una especie de radical con un significado biológico, son radicales ajenos al organismo el DPPH' (Wong-Paz *et al.* 2015).

En el DPPH' método de radicales libres, la eficacia se mide a temperatura ambiente y, lo que, elimina el riesgo de degradación térmica a las moléculas probadas. El mecanismo reacciona entre el antioxidante y el DPPH' depende de la composición estructural del antioxidante (Bondet, Brand-Williams, and Berset 1997).

2.4.3 ABTS^{•+}

Este método de ABTS^{•+} con ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) basado en la captación de radicales libres (Biskup *et al.* 2013). Este ensayo puede adaptarse para medir antioxidantes lipofílicos (Fernández-Pachón *et al.* 2006). El método está basado en la capacidad de diferentes componentes para eliminar el catión radical ABTS^{•+} (ABTS^{•+}) en comparación a un antioxidante estándar (ácido ascórbico o Trolox) en una dosis \pm curva de respuesta (Arnao *et al.*, 2001).

2.5 Espectroscopia por Transformada de Fourier (FT-IR)

La espectroscopia infrarroja y la espectroscopia diferenciada de FT-IR identifica las propiedades vibratorias de los cofactores y aminoácidos, los cuales son los sensibles a pequeños cambios estructurales, esta técnica nos permite sondear las propiedades vibratorias de la mayoría de los cofactores, moléculas de agua y las cadenas laterales de los aminoácidos.(Berthomieu and Hienerwadel 2009). La espectroscopia infrarroja (IR) cuenta con una precisión para los análisis cuantitativo y cualitativo de los grupos funcionales que se encuentran presentes en el material, según (Salimi and Yousefi 2003) la IR está basada en la posibilidad que tienen las moléculas de rotar y de vibrar a diferentes frecuencias.

El infrarrojo transformado de Fourier (FT-IR) ha tenido un desarrollo como una técnica la cual es usada para la determinación simultanea de componentes orgánicos, contenido orgánico y enlaces químicos. Esta técnica analítica de suma importancia ayuda a la caracterización de muestras en forma de soluciones, pastas, líquidos, grasas, películas, fibras y polvos (Nandiyanto, Oktiani, and Ragadhita 2019). El método para llevar a cabo dicha técnica es relativamente rápido, sensible y con precisión, las muestras se ponen en contacto con la radiación infrarroja (IR). La radiación infrarroja (IR) obtenida se somete a impactos en las vibraciones atómicas de la molécula en la muestra, este paso lleva a al resultado de la transmisión o absorción de la energía específica (Salimi and Yousefi 2003) , los grupos funcionales se relacionan con bandas de absorción infrarrojas las cuales contienen las características estas son las correspondientes a las vibraciones de los grupos funcionales correspondientes.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal

El material fue colectado en tres diferentes ejidos (Cuadro 1). Una vez recolectadas las muestras vegetales fueron transportadas al Laboratorio e Biotecnología y Biología Molecular en el Departamento de Ciencias Básicas de la UAAAN, se secaron a 50°C/24 h en una estufa Novatech, y se redujo el tamaño de partícula en un molino Homend, HC-500 a 600 µm (malla No. 30). Se almacenaron en bolsas negras hasta los análisis.

Cuadro 1. Ubicación geográfica de las colectas de las 3 localidades evaluadas.

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

*Zacatecas (Zac), Coahuila (Coah).

3.2 Reactivos químicos

Etanol, ácido gálico, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH^{*}), presulfato de potasio (K₂S₂O₈), Fosfato de potasio dibásico (K₂HPO₄) 1 M, Fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄) 1 M, Ferrocianuro de potasio (C₆N₆FeK₄), Ácido tricloroacético (CCl₃COOH), Cloruro férrico (FeCl₃), reactivos como Amberlita XAD-16, solventes metanol, H₂O destilada.

3.3 Métodos para análisis Químico proximal

3.3.1 Determinación de Materia Seca Total (%)

Los materiales y equipos empleados fueron: una estufa a 50°C, crisol de porcelana, desecador, pinzas para crisol, espátula de acero inoxidable, mechero, balanza analítica. La muestra seca se colocó en una estufa, a 50 °C/24 h hasta peso constante. Se pasó a un desecador por 30 min y se

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

$$\% MTS = \frac{\text{Peso del crisol} + \text{Muestra seca} - \text{Peso de crisol vacío}}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

% MTS = % Materia Seca Total.

3.3.2 Determinación de Cenizas (%)

Los materiales y equipos empleados fueron crisoles de porcelana, desecador, pinzas y balanza analítica. Se pesaron los crisoles vacíos, se agregó un gramo de muestra, se pre incineró en un mechero cada una de las muestras contenidas en el crisol hasta su combustión. Los crisoles se colocaron dentro de la mufla a 500°C/24 h. Posteriormente, se colocaron en un desecador por 30 minutos. Finalmente se pesó.

El porcentaje de cenizas se obtuvo con la siguiente ecuación:

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

3.3.3 Determinación de Proteína Cruda

Los materiales y equipos empleados fueron los siguientes, matraz Kjeldhal de 800 ml, aparato de digestión y destilación Kjeldhal, matraz Erlenmeyer de 500 ml, bureta, ácido sulfúrico 0.1 N, hidróxido de sodio 45%, ácido bórico 4%, indicador mixto, agua destilada, mezcla de selenio, perlas de vidrio, ácido sulfúrico concentrado siguiendo el protocolo de la AOAC, 1980.

Las fórmulas para obtener el porcentaje de proteína son las siguientes:

$$\% N = \frac{(\text{ml } H_2SO_4 \text{ gastado en muestra} - \text{ml } H_2SO_4 \text{ gastados en blanco})(\text{normalidad del ácido})(0.014) \times 100}{\text{gr de muestra}}$$

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

3.2.4 Determinación de Extracto etéreo o grasa.

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

La fórmula para determinar el extracto etéreo es la siguiente:

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

3.2.5 Determinación de Fibra Cruda.

El material y equipo que se utilizó fue un digestor Labconco, vasos de Berzelius de 600 ml, ácido sulfúrico 0.255N, hidróxido de sodio 0.313 N, agua destilada, filtros de tela, embudos de vidrio Se utilizaron 2 g de muestra desengrasada siguiendo el protocolo de la AOAC, 1980.

La fórmula empleada para calcular el porcentaje de fibra cruda fue la siguiente:

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

3.3.6 Extracto libre de nitrógeno (ELN)

El ELN se calcula por diferencia, que corresponde a los azúcares, el almidón y gran parte del material clasificado como hemicelulosa. El ELN es necesario para realizar el cálculo total de nutrientes digestibles (TND).

Se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de E. L. N.} = 100\% - (\text{cenizas} + \% \text{ extracto etéreo} + \% \text{ proteína cruda} + \% \text{ fibra cruda})$$

3.4. Extracción de Polifenoles

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

3.5 Evaluación de la actividad antioxidante

3.5.1 Preparación de las muestras para analizar

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

3.5.2 Ensayo DPPH[•]

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

Curva de calibración de ácido gálico			
[ppm]	μL de solución stock	μL de H₂O	Volumen final
0	0	1000	1 mL
20	100	900	1 mL
50	250	750	1 mL
70	350	650	1 mL
90	450	550	1 mL
110	550	450	1 mL

Cuadro 2. Curva de calibración de ácido gálico DPPH^{*}.

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

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

Donde A_{control} representa el valor de la absorbancia del control y A_{muestra} representa el valor de la absorbancia que se obtuvo de cada una de las muestras. El resultado obtenido se expresó por el valor IC_{50} , el cual se refiere a la concentración necesaria para alcanzar el 50% de inhibición del radical.

3.5.3 Ensayo FRAP

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

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

Cuadro 3. Curva de calibración de ácido gálico para FRAP.

Un volumen de 500 μL de muestra se mezcló con 120 μL de buffer de fosfato (pH 7), que fue preparado mediante una mezcla de fosfato de potasio dibásico (61.5 mL, 1M), fosfato de potasio monobásico (38.1 mL, 1M) y se aforó la mezcla a 1000 mL. Después, se agregaron 220 μL de ferrocianuro de potasio al 1% ($\text{C}_6\text{FeK}_4\text{N}_6$) a la mezcla de reacción, esta se homogeneizó y se incubó a 50°C durante veinte minutos. Posteriormente, se añadieron 12 μL de ácido tricloroacético al 10%, 45 μL de agua destilada y 10 μL de cloruro férrico al 0.1%. La absorbancia fue registrada a una longitud de onda de 734 nm. Los resultados fueron reportados como μg de ácido gálico equivalente por mililitro basados en la curva de calibración con el mismo estándar.

3.5.4 Ensayo ABTS^{•+}

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

Curva de calibración de Trolox			
[ppm]	μL de solución stock	μL de H_2O	Volumen final
0	0	2000	2 mL
20	200	1800	2 mL
40	400	1600	2 mL
60	600	1400	2 mL
80	800	1200	2 mL
100	1000	1000	2 mL

Cuadro 4. Curva de calibración de Trolox

Se generó el catión radical ABTS^{•+} por medio de una solución acuosa de ABTS^{•+} (7mM) con persulfato de potasio (2.45 mM); se mezclaron estos compuestos en la oscuridad a temperatura ambiente doce horas posteriores a su uso. Se ajustó la solución en etanol a 0.700 \pm 0.002 nm de absorbancia. Se añadió un volumen de muestra de 50 μL para reaccionar con 950 μL de la

solución de ABTS^{•+}; después de 1 minuto de reposo de la reacción, se midió la absorbancia a 734 nm. La capacidad de inhibición se calculó por medio de la siguiente ecuación:

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

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

3.6 Análisis de 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 extracto fenólico seco purificado se depositó sobre toda la superficie del lector y se aseguró mediante la prensa equipada. La lectura se realizó mediante el programa de PC MicroLab en el rango espectral de 4000 a 650 cm^{-1} , con un ciclo de 32 barridos con una resolución de 2 cm^{-1} . El análisis del espectro y los grupos funcionales detectados se realizó con el programa MicroLab Expert y el gráfico se construyó con el programa OriginPro 8.

3.7 Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se reportaron como medias ajustadas. Los datos se analizaron mediante pruebas de Tukey con significancia de $p < 0.05$. Se realizó análisis estadístico utilizando el software InfoStat (versión 2017).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis químico proximal

El análisis químico proximal determina la composición de los macro componentes en los alimentos o en las especies vegetales, estos abarcan la determinación de fibra cruda, proteína cruda, extracto etéreo-grasa, humedad, ceniza y materia seca total. Dependiendo del propósito del tipo de análisis los de las determinaciones relacionadas con la caracterización de algún grupo de nutrientes en particular (Vásquez and Fernández 2020).

Se ha investigado la composición química de sus aceites con la finalidad de buscar principios antioxidantes.

Cuadro 5. Análisis químico proximal de Hojasén (*Flourensia cernua*) muestra los promedios de cada valor (cada localidad se le realizó análisis por triplicado) (g 100g⁻¹)

Análisis Químico Proximal							
Localidad	%MST	%H	%C	%PC	%EE	%FC	%ELN
SJ	98.50±0.2 b	1.50±0.2 b	13.00±0.173 b	1.98±0.049 a	6.40±2.614 a	11.23±0.629 a	67.38±2.884 b
EL	97.10±0.360 a	2.90±0.360 a	14.13±0.115 a	2.11±0.048 ab	8.60±0.470 a	11.00±0.350 a	64.08±0.552 a
T	96.23±0.305 a	3.76±0.305 a	14.53±0.152 a	2.12±0.028 b	8.66±0.721 a	13.33±0.665 b	51.41±16.789 a

San Jerónimo (SJ), Estanque de León (EL), Tortuga (T), % MST (Materia seca total), %H (Humedad), %PC (Proteína Cruda), %C (Cenizas), %EE (Extracto Etéreo – Grasas), %FC (Fibra Cruda), %ELN (Extracto Libre de Nitrógeno). *Letras iguales significan que no hay diferencia estadística. Las pruebas fueron realizadas con una significancia a (p<0,05). *Letras iguales significan que no hay diferencia estadística. Las pruebas fueron realizadas con una significancia a (p<0,05).

4.1.1 Materia Seca Total (%)

Los resultados obtenidos en (Cuadro 5) muestran que la planta de localidad de San Jerónimo se obtuvo una mayor cantidad de MST 98.5 ± 0.2 mientras tanto en la localidad de Estanque de León contiene 97.1 ± 0.360 de MST y por último se encuentra el ejido de Tortuga el cual obtuvo el porcentaje más bajo de MST con 96.2 ± 0.305 .



Figura 6. Proceso de análisis de Materia Seca

4.1.2 Determinación de Humedad (%)

Se observa en el cuadro 5 que la planta con mayor porcentaje de humedad es el Ejido de Tortuga con 3.7 ± 0.305 , seguido de Estanque de León con 2.9 ± 0.360 y por último San Jerónimo 1.5 ± 0.2 . Las diferencias en cuanto al contenido de humedad se deben a factores como precipitaciones, tipo de suelo, así como al clima cálido que se presenta en San Jerónimo y en Tortuga y Estanque de León es un clima más templado-cálido (Guerrero-Rodríguez *et al.* 2007).

4.1.3 Determinación de Ceniza (%)

Como se muestra en el cuadro 5 el porcentaje más alto de cenizas se obtuvo en planta del Ejido de Tortuga con 14.5 ± 0.152 , seguido de Estanque de León con 14.1 ± 0.115 y finalmente San Jerónimo con 13 ± 0.173 . Estas variaciones se deben principalmente al estado de madurez de la planta y al contenido diferente de minerales presentes en las plantas debido a la naturaleza del suelo donde crecen (Gallina-Tesaro, 2019). Resultados similares fueron reportados por Estell *et al.* (1996) con valores de entre 11.8 a 13.7 %.



Figura 7. Proceso de análisis de Ceniza

4.1.4 Determinación de Proteína Cruda (%)

De acuerdo con el cuadro 5 se observa que el contenido más alto lo tiene la planta del Ejido Tortuga con 2.12 ± 0.028 , seguido de Estanque de León con 2.11 ± 0.048 y por último San Jerónimo con 1.98 ± 0.049 .

Olivas-Sánchez *et al.* (2015) reportaron valores de 5.2 % (temporada cálida) y hasta 5.9 % (clima templado-seco) en *Flourensia cernua* del estado de Chihuahua. Los presentes resultados muestran variaciones de hasta 3 %, esto se debe al clima, altura, precipitaciones, entre muchos

otros factores.



Figura 8. Proceso de análisis de Proteína Cruda

4.1.5 Extracto Etéreo-Grasa (%)

En el cuadro 5 los resultados mostraron que la planta del Ejido Tortuga obtuvo valores de 8.6 ± 0.721 y el Estanque de León de 8.6 ± 0.470 , mientras que San Jerónimo tiene un porcentaje de 6.4 ± 2.614 .

En el 2007 Guerrero Rodríguez reportó un contenido de extracto etéreo-grasa de 5.8 % de plantas que se expusieron a patógenos de postcosecha, de acuerdo con las diferencias de los resultados obtenidos están relacionadas con el desarrollo de la planta y los factores climáticos como lo son los climas cálidos, secos, precipitaciones, altura entre otros.



Figura 9. Proceso de análisis de Extracto Etéreo-Grasa

4.1.6 Determinación de Fibra Cruda (%)

En el **cuadro 5** se muestran los resultados en porcentaje de fibra cruda en los cuales se observan variaciones significativas como es el resultado de la planta del Ejido Tortuga con un porcentaje de 23.3 ± 17.334 de fibra cruda mientras que San Jerónimo reportó un valor de 11.23 ± 0.629 y Estanque de León con 11 ± 0.35 .

Olivas-Sánchez (2015) menciona que los porcentajes de fibra cruda son constantemente variados dependiendo de las distintas situaciones (falta de agua, temperatura, cambios climáticos, etc.) en las que la planta se encuentre. No se logró encontrar algún número en específico que nos indique un aproximado de fibra cruda que *Flourensia cernua* logre poseer (Wong-Paz *et al.* 2015)



Figura 10. Proceso de análisis de Fibra Cruda

4.1.6 Determinación de Extracto Libre de Nitrógeno (%)

Cuadro 5 muestra los resultados obtenidos en E.L.N donde San Jerónimo destaca con el porcentaje más alto con 67.38 ± 2.884 , seguido de Estanque de León con 64.08 ± 0.552 y finalmente con Ejido Tortuga con 51.41 ± 16.789 .

No se encontró datos relacionados con la determinación del extracto libre de nitrógeno, sin embargo, la variación de nuestros resultados es atribuida a los diferentes climas, alturas, precipitaciones, suelos en los que las plantas se desarrollan dado que cada especie proviene de un tipo de clima diferente.

4.2 Rendimiento del Proceso de extracción de Polifenoles

Localidad	Muestra (g)	Rendimiento (mg/g ⁻¹)	
San Jerónimo	20	12.1	a
Ejido Tortuga	20	9.67	a
Estanque de León	20	21.35	b

Cuadro 6. Rendimiento del proceso de extracción de polifenoles. Muestra la cantidad de polifenoles mg/g^{-1} que se obtuvieron de la extracción por los 20 gramos de la muestra que se utilizó. *Letras iguales significan que no hay diferencia estadística. Las pruebas fueron realizadas con una significancia a ($p < 0.05$).

Otros autores han reportado niveles más bajos de extracción (2.09 mg/g^{-1}). Sin embargo, esto se debe a múltiples factores como tamaño de partícula, método de extracción, solvente, relación masa: solvente, tiempo, temperatura, edad de la planta, época del año, altura, entre muchos otros factores (Wong-Paz *et al.* 2015).



Figura 11. Polifenoles purificados.

4.3 Análisis de la Actividad Antioxidante

Para evaluar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de *Flourensia cernua* se usaron 3 metodologías (DPPH \cdot , FRAP y ABTS $^{+\cdot}$). La actividad antioxidante se mide en función del grado de decoloración que causan en la solución del radical monocatiónico ABTS $^{+\cdot}$ o del radical DPPH \cdot . La reducción de radicales libres de extractos de plantas se debe principalmente a compuestos fenólicos. Dado que, al aumentar las concentraciones de compuestos fenólicos, el número de grupos hidroxilo que se encuentran en el medio de reacción aumenta, y la posibilidad de la donación de hidrógeno a los radicales libres es más elevada (Aranda-Ledesma *et al.* 2022). Los resultados para DPPH \cdot y ABTS $^{+\cdot}$ se realizaron a IC_{50} , $\mu\text{g/mL}^{-1}$, mientras que FRAP se realizó a $25 \mu\text{g/mL}^{-1}$ y $50 \mu\text{g/mL}^{-1}$ como se muestra en el cuadro 7.

Análisis de actividad antioxidante				
Localidad	DPPH'	ABTS ^{•+}	FRAP	
	(IC ₅₀ , µg/mL ⁻¹)	(IC ₅₀ , µg/mL ⁻¹)	mE Ácido Gálico	
			25 µg/mL ⁻¹	50 µg/mL ⁻¹
San Jerónimo	325.76±1.040 b	139.50±0.452 b	20.52±0.389 a	24.64±0.254 a
Ejido Tortuga	288.81±0.859 a	112.48±0.428 a	18.07±0.694 b	20.48±0.254 b
Estanque de León	349.16±0.667 c	137.69±0.563 a	19.54±0.084 a	20.97±0.516 a

Cuadro 7. Análisis de la actividad antioxidante de hojásén (*Flourensia cernua*). *Letras iguales significan que no hay diferencia estadística. Las pruebas fueron realizadas con una significancia a ($p < 0.05$).

4.3.1 Análisis de la capacidad de reducción de radicales DPPH'

La capacidad antioxidante fue de 288.81 ± 0.859 , 325.76 ± 1.040 y 349.16 ± 0.667 µg/mL⁻¹ (Tortuga, San Jerónimo y Estanque de León, respectivamente). Existe diferencia significativa entre los tres ejidos, esto se debe a que pueden existir variaciones debido a que la señal de intensidad del DPPH' está relacionada con el tiempo de reacción y con la concentración de antioxidante.

4.3.2 Inhibición de radicales ABTS^{•+}

La actividad antioxidante mostrada en el cuadro 7 de acuerdo a el ensayo de ABTS^{•+} existe una diferencia entre las tres localidades que varía entre 112.48 ± 0.428 (San Jerónimo), 137.69 ± 0.563 (Estanque de León) y 139.50 ± 0.452 (Ejido Tortuga) µg/mL⁻¹ en donde San Jerónimo presento la mayor actividad antioxidante. De acuerdo con (Aranda-Ledesma *et al.* 2022) el análisis de ABTS^{•+} arrojó como resultado valores de 105.34 y 124.39 ETµg ml⁻¹ en donde se encontró una divergencia entre las tres comunidades, en donde Estanque de León presento una mayor actividad de la captación de radicales con 124.39 ETµg ml⁻¹, nuestra investigación presenta una mayor actividad antioxidante respecto a cada una de las tres localidades comparadas con Aranda-Ledesma (2022).

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

En análisis del poder del reductor férrico (FRAP) se obtuvo mediante dos lecturas de diferentes unidades (25 µg/mL⁻¹ y 50 µg/mL⁻¹) en donde los valores oscilaron entre 18.07 ± 0.694 a

24.64±0.254 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ en donde la localidad de San Jerónimo (24.64±0.254 $\mu\text{g/mL}^{-1}$) obtuvo el resultado más alto seguido de Estanque de León (20.97±0.516 $\mu\text{g/mL}^{-1}$) y Ejido Tortuga (20.48±0.254 $\mu\text{g/mL}^{-1}$), el análisis estadístico mostró que no existe una diferencia significativa. (Aranda-Ledesma *et al.* 2022) reportó valores entre 82.07 y 94.33 EGA $\mu\text{g ml}^{-1}$ y muestran una diferencia significativa con los valores que se obtuvieron, las distintas variaciones en los resultados obtenidos se atribuyen a que la intensidad del color producido en la técnica de FRAP es proporcional a la concentración de los antioxidantes existentes.

4.4 Análisis mediante espectroscopia Infrarroja Transformada de Fourier.

El análisis de espectroscopia Infrarroja Transformada de Fourier (FT-IR) mostró los datos de 11 señales de absorbancias de las tres localidades a analizar señalados en la Figura 12, se identificaron los grupos funcionales de las señales obtenidas.

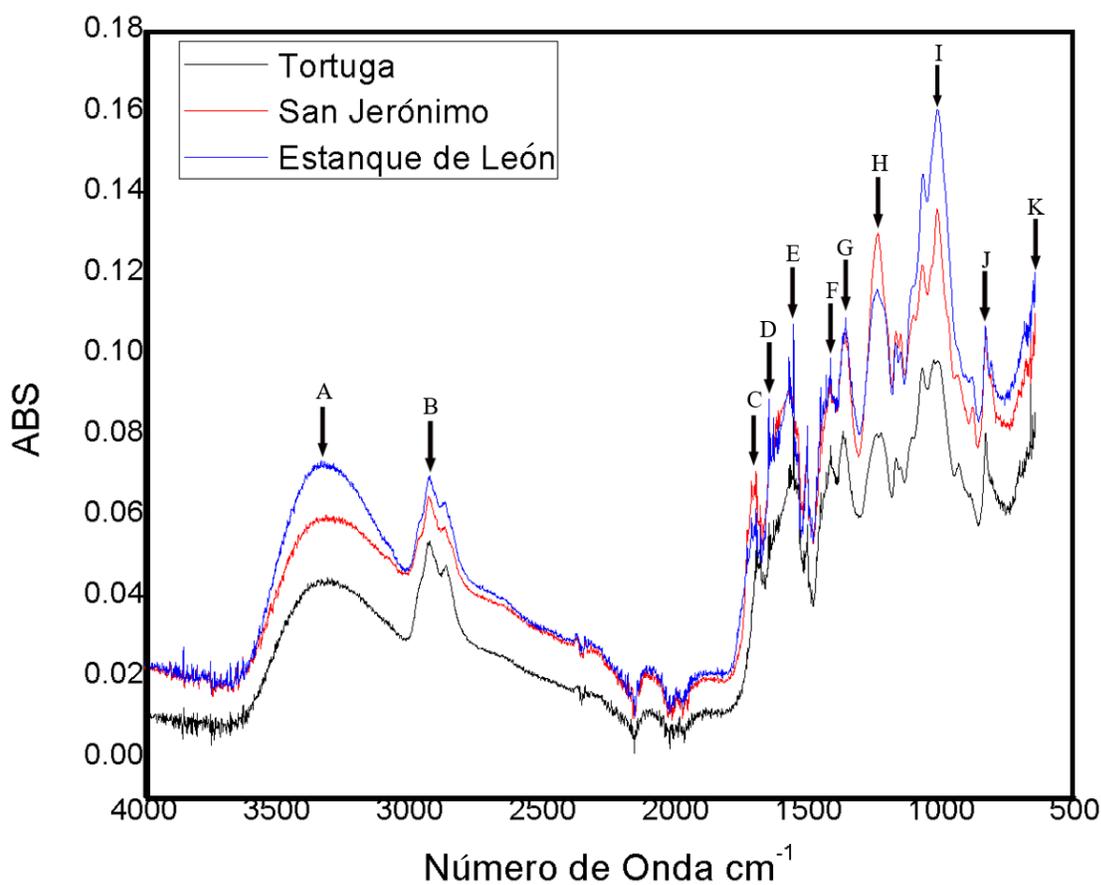


Figura 12. Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de Hojasén (*Flourensia cernua*). *La longitud de onda está dada en cm^{-1}

En la figura 12 se muestra el estiramiento de un grupo N-H con una longitud de onda de 3338 cm^{-1} (A), este grupo está relacionado con amida alifática primaria y relacionada con amidas aromáticas, se ha reportado que longitud de onda de 3300 cm^{-1} tiene la presencia de un grupo hidroxilo (OH), la señal subsiguiente 2929 cm^{-1} (B) muestra la actividad de un enlace CH el cual es un grupo funcional detectado en compuestos aromáticos (Aranda-Ledesma *et al.* 2022). En la señal C donde la longitud de onda es de 1702 cm^{-1} se asocia con aldehídos conjugados, las señales D (1652 cm^{-1}), E (1559 cm^{-1}), J (837 cm^{-1}) y K (660 cm^{-1}) se han asociado con la presencia de C=C, la cual indica características de los anillos aromáticos. Los datos obtenidos de F (1421 cm^{-1}) y G (1374 cm^{-1}) se detecta la presencia de alcoholes y de ácido carboxílico, la presencia de compuestos fenoles alcohólicos los cuales rondan en 1200 a 1500 cm^{-1} en el cual la señal H da como lectura una longitud de onda de 1243 cm^{-1} .

FT-IR		
Clave	cm^{-1}	Grupos Funcionales
A	3338 cm^{-1}	N-H Stretching
B	2929 cm^{-1}	C-H Stretching
C	1702 cm^{-1}	C=O Stretching
D	1652 cm^{-1}	C=C Stretching
E	1559 cm^{-1}	C=C Stretching
F	1421 cm^{-1}	O-H Bending
G	1374 cm^{-1}	O-H Bending
H	1243 cm^{-1}	C-O Stretching
I	1017 cm^{-1}	C-N Stretching
J	837 cm^{-1}	C=C Bending
K	660 cm^{-1}	C=C Bending

Cuadro 8. Identificación de señales en la espectroscopia infrarrojo de polifenoles purificados de Hojasén (*Flourensia cernua*). *La longitud de onda está dada en cm^{-1}

V. CONCLUSIONES

La presente investigación demostró que la planta Hojasén (*Flourensia cernua*) es una fuente rica en compuestos polifenólicos con una actividad antioxidante, que puede tener diferentes aplicaciones biotecnológicas, fúngicas, alimentarias, entre otras.

La localidad con mayor porcentaje de polifenoles obtenidos fue Estanque de León con un rendimiento de 21.35 mg/g^{-1} .

Los análisis de actividad antioxidantes de *Flourensia cernua* mostró valores destacables en la planta de la localidad de San Jerónimo, dado que en los análisis de ABTS^{•+} obtuvo valores de $\text{IC}_{50} 139.50 \pm 0.452 \text{ } \mu\text{g/mL}^{-1}$ y en FRAP $20.52 \pm 0.389 (25 \text{ } \mu\text{g/mL}^{-1})$ y $24.64 \pm 0.254 (50 \text{ } \mu\text{g/mL}^{-1})$, mientras que en la técnica de DPPH[•] la localidad de Estanque de León obtuvo el mayor porcentaje de capacidad antioxidante con $\text{IC}_{50} 349.161 \pm 0.667 \text{ } \mu\text{g/mL}^{-1}$.

El análisis de espectroscopia Infrarroja Transformada de Fourier (FTIR) se obtuvieron los resultados de once señales en las cuales se resaltan diversos grupos de compuestos como N-H relacionado con amida alifática primaria y relacionada con amidas aromáticas, grupo hidroxilo (OH), grupos C=C características de los anillos aromáticos, se detecta la presencia de alcoholes y de ácido carboxílico, la presencia de compuestos fenoles alcohólicos.

VI. LITERATURA CITADA

- Alvarez-Pérez, 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. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112422>
- Aranda-Ledesma, N. E., González-Hernández, M. D., Rojas, R., Paz-González, A. D., Rivera, G., Luna-Sosa, B., & Martínez-Ávila, G. C. G. (2022). Essential Oil and Polyphenolic Compounds of *Flourensia cernua* Leaves: Chemical Profiling and Functional Properties. *Agronomy*, 12(10), 2274. <https://doi.org/10.3390/agronomy12102274>
- Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. (2001). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73(2), 239–244. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00324-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00324-1)
- Bachiller Rodríguez, L., Figueroa Marín, H., Morales Segura, M., Díaz, J., & Barrientos, C. (2004). El uso del sen durante el embarazo y la lactancia. *Revista de Fitoterapia*, 4(1), 41.
- Barnola, L. F., Cedeño, A., & Hasegawa, M. (1997). Intraindividual variations of volatile terpene contents in *Pinus caribaea* needles and its possible relationship to *Atta laevigata* herbivory. *Biochemical Systematics and Ecology*, 25(8), 707–716.
- Berthomieu, C., & Hienerwadel, R. (2009). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. In *Photosynthesis Research* (Vol. 101, Issues 2–3, pp. 157–170). <https://doi.org/10.1007/s11120-009-9439-x>
- Biskup, I., Golonka, I., Gamian, A., & Sroka, Z. (2013). Antioxidant activity of selected phenols estimated by ABTS and FRAP methods. *Advances in Hygiene & Experimental Medicine/Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*, 67.
- Blando, J. L., & Leonides, M. (2005). Determinacion Ambiental de la UMA Agua Nueva, Municipio San Juan de Guadalupe, Dgo. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 4(2), 31–36.
- Bondet, V., Brand-Williams, W., & Berset, C. (1997). Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH.Free Radical Method. *LWT - Food Science and Technology*, 30(6), 609–615. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0240>
- Castro Peña, Y. L. (2018). *Análisis Bromatológico del Alpiste (Phalaris)*.

- de Rodriguez, D. J., Daniel, F., Sols-Gaona, S., Rodriguez-, R., & M., R. (2012). *Flourensia cernua* DC: A Plant from Mexican Semiarid Regions with a Broad. *Integrated Pest Management and Pest Control - Current and Future Tactics*. <https://doi.org/10.5772/31783>
- Encyclopedia of Life. (2006). *Flourensia cernua* DC. SERNEC.
- Estell, R. E., Fredrickson, E. L., & Havstad, K. M. (1996a). Chemical composition of *Flourensia cernua* at four growth stages. *Grass and Forage Science*, *51*(4), 434–441. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1996.tb02078.x>
- Estell, R. E., Fredrickson, E. L., & Havstad, K. M. (1996b). *Chemical composition of Flourensia cernua at four growth stages* (Vol. 51).
- Estell, R. E., Havstad, K. M., Fredrickson, E. L., & Gardea-Torresdeyt, J. L. (1994). Secondary Chemistry of the Leaf Surface of *Flourensia cernua*. In *Biochemical Systematics and Ecology* (Vol. 22, Issue 1).
- 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>
- Fernández-Pachón, M., Villaño, D., Troncoso, A. M., & García-Parrilla, M. (2006). Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* del vino y valoración de sus efectos *in vivo*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, *56*(2), 110–122.
- Ferrer, M. M., Eguiarte, L. E., & Montaña, C. (2004). Genetic structure and outcrossing rates in *Flourensia cernua* (Asteraceae) growing at different densities in the South-western Chihuahuan Desert. *Annals of Botany*, *94*(3), 419–426. <https://doi.org/10.1093/aob/mch159>
- Guerrero-Rodríguez, E., Solís-Gaona, S., Hernández-Castillo, F. D., Flores-Olivas, A., Sandoval-López, V., & Jasso-Cantú, D. (2007). Actividad Biológica *in vitro* de Extractos de *Flourensia cernua* DC en Patógenos de Postcosecha: *Alternaria alternata* (Fr.: Fr.) Keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. y *Penicillium digitatum* (Pers.: Fr.) Sacc. *Revista Mexicana de Fitopatología*, *25*(1), 48–53.
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, *23*(12), 1719–1726. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2003.08.005>
- Kidron, G. J., & Gutschick, V. P. (2013). Soil moisture correlates with shrub-grass association in the chihuahuan desert. *Catena*, *107*, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2013.02.001>

- Kingston, D. G. I., Rao, M. M., Spittler, T. D., Pettersen, R. C., & Cullen, D. L. (1975). *Sesquiterpenes From Flourensia Cernua* (Vol. 14). Pergamon Press.
- Molina-Salinas, G. M., Ramos-Guerra, M. C., Vargas-Villarreal, J., Mata-Cárdenas, B. D., Becerril-Montes, P., & Said-Fernández, S. (2006). Bactericidal activity of organic extracts from *Flourensia cernua* DC against strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Archives of Medical Research*, 37(1), 45–49. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.04.010>
- Nandiyanoto, A. B. D., Oktiani, R., & Ragadhita, R. (2019). How to read and interpret ftir spectroscopy of organic material. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 4(1), 97–118. <https://doi.org/10.17509/ijost.v4i1.15806>
- Olanda Rios, M. (2015). *Chemistry and Biology of the Genus Flourensia (Asteraceae)*.
- Olivas-Sánchez, M. P., Vital-García, C., Flores-Márquez, J. P., Quiñonez-Martínez, M., & Clemente-Sánchez, F. (2015). Cambios Estacionales en la Dieta del Venado Bura (*Odocoileus hemionus Crooki*) en Matorral Desértico Chihuahuense. *Agroproductividad*, 8(6).
- Proksch, P., Aregullin, M., & Rodríguez, E. (1983). *A New Benzopyranbenzofuran Dimer from Encelia ventorum* (Vol. 47).
- Rivera Hernández, G. (n.d.). *Reporte Final de Estadía*.
- Ruiz-Martínez, J., Ascacio, J. A., Rodríguez, R., Morales, D., & Aguilar, C. N. (2011). Phytochemical screening of extracts from some Mexican plants used in traditional medicine. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(13), 2791–2797.
- Salimi, A., & Yousefi, A. A. (2003). FTIR studies of β -phase crystal formation in stretched PVDF films. *Polymer Testing*, 22(6), 699–704. [https://doi.org/10.1016/S0142-9418\(03\)00003-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9418(03)00003-5)
- Tellez, M., Estell, R., Fredrickson, E., & Havstad, K. (1997). Essential Oil of *Flourensia cernua* DC. *Journal of Essential Oil Research - J ESSENT OIL RES*, 9, 619–624. <https://doi.org/10.1080/10412905.1997.9700799>
- Vásquez, F. M. F. F., & Fernández, H. Z. (2020). Análisis proximal en alimentos Fundamentos teóricos y técnicas experimentales. *Biblioteca Colloquium*.
- Wong-Paz, J. E., Contreras-Esquivel, J. C., Rodríguez-Herrera, R., Carrillo-Inungaray, M. L., López, L. I., Nevárez-Moorillón, G. v., & Aguilar, C. N. (2015). Total phenolic content, in vitro antioxidant activity and chemical composition of plant extracts from semiarid Mexican region. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(2), 104–111. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60299-6](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60299-6)

Zavala C, D., Carrillo I, M. L., Alvarado S, B., & Sanches Ch, A. O. (2010). Evaluación de la toxicidad aguda de un extracto alcohólico de hojas de hojásén (*Flourensia cernua*) Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41(Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C.), 50–54.