

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS



**Caracterización Proximal Y Capacidad Antioxidante De Extractos Fenólicos
Extraídos De *Larrea tridentata*.**

Por:

GILBERTO ROBLERO MORALES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre, 2023.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Caracterización Proximal Y Capacidad Antioxidante De Extractos Fenólicos
Extraídos De *Larrea tridentata*.**

POR:

GILBERTO ROBLERO MORALES

TESIS

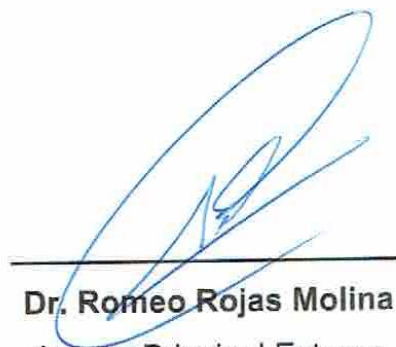
Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

La cual fue revisada y aprobada por:



Dr. Julio César Tafolla Arellano
Asesor Principal UAAAN



Dr. Romeo Rojas Molina
Asesor Principal Externo

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre, 2023.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

PROGRAMA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Caracterización Proximal Y Capacidad Antioxidante De Extractos Fenólicos
Extraídos De *Larrea tridentata*.**

POR:

GILBERTO ROBLERO MORALES

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

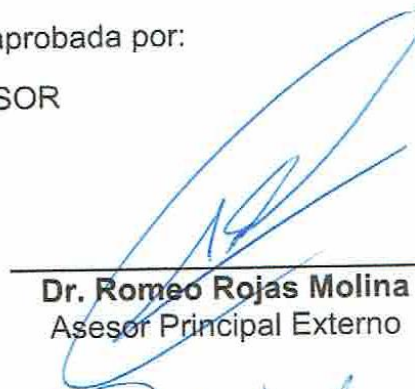
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

La cual fue revisada y aprobada por:

COMITÉ ASESOR



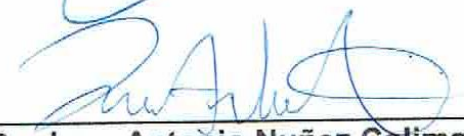
Dr. Julio César Tafolla Arellano
Asesor Principal UAAAN



Dr. Romeo Rojas Molina
Asesor Principal Externo



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



Dr. Juan Antonio Nuñez Colima
Coasesor



M.C. Pedro Carrillo López
Coordinador de la División de Ciencia Animal

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre, 2023.

DERECHOS 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 decir la verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar o autor original (cortar 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, graficas, 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. Adjuntamos reporte del análisis de plagio mediante Ithenticate.



Gilberto Roblero Morales
Autor Principal



Dr. Julio César Tafolla Arellano
Asesor Principal UAAAN

AGRADECIMIENTOS

Fueron muchos los momentos vividos a lo largo de este trayecto, pero afortunadamente hoy se presta la oportunidad y me puedo sentar a escribir la parte más importante y personal de este trabajo: los agradecimientos a todos aquellos quienes de una manera u otra me ayudaron a alcanzar esta meta.

En primer lugar, a **Dios**, por haberme regalado la vida, por permitirme salir adelante a pesar de todos los obstáculos que se presentaron, por acompañarme siempre en los momentos más difíciles de mi vida y por permitirme terminar otra etapa más de mis estudios y cumplir uno más de mis sueños y el de mi familia.

A mi querida “**Alma Mater**”, la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por haberme dado algo tan valioso en la vida que fue la sabiduría, fueron tantos los momentos vividos a lo largo de este gran camino lleno de tropiezos y triunfos en esta magnífica casa de estudios que me hicieron formarme como persona y profesionalista de lo cual le estaré eternamente agradecido.

Quiero expresar mi agradecimiento a la **Dr. Julio César Tafolla Arellano, Dr. Romeo Rojas Molina, Dr. Guillermo Cristian Guadalupe Martínez Ávila y Dr. Juan Antonio Nuñez Colima** por haberme permitido trabajar con este proyecto el cual me siento muy orgulloso de haber formado parte, agradezco infinitamente sus enseñanzas, sus experiencias, sus consejos, su disposición, su paciencia, su confianza y sobre todo su amistad, gracias por sus conocimientos brindados.

Al **FONDO SECTORIA PARA LA INVESTIGACIÓN, EL DESARROLLO Y LA INNOVACIÓN TECNOLÓGICA FORESTAL CONACYT-CONAFORT** por la beca tesis asignada del proyecto B-S-65769 “Estandarización de procesos de extracción de aceites esenciales de especies aromáticas: diseño y construcción de equipos microindustria”.

A la **Q.F.B. María Del Carmen Julia García**, por el apoyo brindado con gran entusiasmo, sus conocimientos, consejos y sobre todo por ser esa gran persona que siempre estuvo dispuesta a ayudarme, a la **L.C.N. Graciela Martinez** por formar parte de mi formación y ser una gran amiga.

A mi madre, **Tavita Morales**, gracias por apoyarme en todo. Por estar siempre allí al pendiente de mí, por tus constantes llamadas, por preocuparte por mí, por todo tu cariño y comprensión, Gracias por estar aquí al final de esta etapa. Y a mi familia por estar en las buenas en las

malas y por siempre brindarme su apoyo incondicional, que hoy puedo decir satisfactoriamente muchas gracias los amo. A mi padre **Abimael Roblero**, por los momentos felices que compartimos. A mis padres adoptivos, **María Catalina Quintero** y **José Isabel Mireles**, gracias por haberme brindado su confianza, por cada consejo brindado, por estar allí cuando más lo necesitaba y sobretodo haberme formado parte de su familia, gracias por todo Familia **Mireles Quintero** estaré eternamente agradecido.

De igual forma mi agradecimiento a mis maestros del **DCTA** y a las personas de diversos departamentos que gustosamente me brindaron sus conocimientos y haberme formado profesionalmente. A mis compañeros del **Laboratorio de Biología Molecular** y a los integrantes del **Departamento de Ciencias Básicas** quienes me han apoyado en la realización de este trabajo **Ing. Gustavo Hernández, M.C. Bernardo Rincón, Q.F.B. Carlos Olvera.**

Para todos aquellos que contribuyeron a que mi estancia académica en España fuera posible con su apoyo, un consejo o un favor, me desborda tanto cariño que he recibido para estar donde estoy. Gracias infinitas por confiar en mí.

A mi novia, **Berenice Patlán García**, por ser mi más grande apoyo, tu confianza, tu amor, tus palabras de aliento, por estar siempre a mi lado ayudándome a superar cada obstáculo, por darle esa chispa de alegría a mi vida, y por no dejarme caer nunca, tenerte en mi vida ha sido una bendición.

Gracias a ti **Guadalupe Linor Pech** por estar allí, por enseñarme que en esta vida está permitido seguir soñando y poder cumplir nuestras metas, gracias porque me ayúdate en todo momento sin dudar.

Y como olvidarme de las personas que aun sin conocerlas te brindan cariño, comprensión, ayuda mutua y sobre todo su amistad incondicional a mis amigos **Rosy, Sanjuana, Gisselle, Maryana, Alev, Edgar**, entre otros; a los amigos que en la distancia se convirtieron en familia **Rodrigo, Dulce, Horiana, Briseida** y en especial a la **M.C. Rosa María Paredes** por los conocimientos brindados y el apoyo incondicional.

Definitivamente hay personas que llegan a nuestras vidas, nos dejan huella y se marchan, pero hay otras que se quedan con nosotros eternamente.

Infinitas gracias, hoy puedo decir:

¡LO LOGRAMOS!

DEDICATORIAS

Gracias **Dios** por prestarme la vida y una buena salud, gracias por colmarme de bendiciones, por tu inmenso amor, hoy termino esta etapa de mi vida y te la dedico ya que sin ti no hubiera logrado terminar.

Con todo amor, cariño y admiración:

A mi madre **Tavita Morales Velasquez**, por haberme dado la vida, quien con su ejemplo me ha enseñado a esforzarme y exigirme para ser una persona de bien. Gracias por tus oraciones, sacrificios y atención, soy afortunado al ser tu hijo. A mis padres adoptivos que me enseñaron que la familia no siempre es de sangre, la familia es aquellos que te quieren en la suya, aquellos que harían cualquier cosa por verte sonreír y aquellos que te aman sin importar nada, a ustedes **María Catalina Quintero** y **José Isabel Mireles**.

A mis hermanos **Daniel Alejandro Roblero, Jesús Eduardo Roblero** y **Ana Marisol Roblero**; a ustedes por ser el motivo e inspiración de mis esfuerzos. Son lo más preciado que la vida me ha dado, le pido a Dios que lleguen tan lejos como se lo propongan.

A mi novia, **Berenice Patlán García**, que con tus palabras me dijiste: Quien te dijo que tu no podías no te conoce (demuéstrale de lo que eres capaz), te admiro y amo quien eres.

“La posibilidad de realizar un sueño es lo que hace que la vida sea interesante”.

Paulo Coelho,

Escritor brasileño

ÍNDICE

RESUMEN	XI
ABSTRACT	XII
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Hipótesis	3
1.2 Objetivos	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 La gobernadora.....	4
2.2 Antioxidantes	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1 Material vegetal.....	14
3.2 Reactivos químicos.....	14
3.3 Método para el análisis químico proximal	15
3.4 Extracción de Polifenoles.....	15
3.5 Evaluación de la actividad antiradicalaria	18
3.6 Análisis Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) ...	21
3.7 Análisis estadístico	21
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
4.1 Análisis químico proximal	22
4.2 Rendimiento de proceso de extracción de polifenoles	25
4.3 Análisis de la actividad antiradicalaria	27
4.4 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	31
V. CONCLUSIONES	36
VI. LITERATURA CITADA	37
VII. ANEXOS	45

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.- Compuestos fenólicos identificados mediante extracto de <i>L. tridentata</i> por HPLC.....	9
Cuadro 2.- Ubicación geográfica de las colectas de los 2 ejidos evaluados.	14
Cuadro 3.- Curva de calibración método: DPPH •.....	18
Cuadro 4.- Curva de calibración método: FRAP.....	19
Cuadro 5.- Curva de calibración método: ABTS *+.....	20
Cuadro 6.- Análisis químico proximal de <i>Larrea tridentata</i>	22
Cuadro 7.- Rendimientos de proceso de extracción de polifenoles.....	26
Cuadro 8.- Evaluación de la capacidad antiradicalaria: Método DPPH•.....	28
Cuadro 9.- Evaluación de la capacidad antiradicalaria: Método ABTS•+.	29
Cuadro 10.- Evaluación de la capacidad reductora de metales: Método FRAP.	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Gobernadora (<i>Larrea tridentata</i>).	4
Figura 2.- Morfología de <i>Larrea tridentata</i>	6
Figura 3.- Distribución geográfica donde prevalece <i>Larrea tridentata</i>	7
Figura 4.- Estructura química del ácido nordihidroguaiaretico (ANDG).	8
Figura 5.- Extracción de polifenoles en un baño CO-Z DIFITAL ULTRASONIC CLEANER.	16
Figura 6.- Extracción de polifenoles por calentamiento óhmico.....	17
Figura 7.- Polifenoles extraídos de <i>Larrea tridentata</i>	25
Figura 8.- Análisis de DPPH• de polifenoles de <i>Larrea tridentata</i>	28
Figura 9.- Análisis de ABTS•+, de polifenoles de <i>Larrea tridentata</i>	29
Figura 10.- Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de <i>Larrea tridentata</i> correspondiente a San Jerónimo, comparado con los 3 métodos de extracción.....	32
Figura 11.- Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de <i>Larrea tridentata</i> correspondiente a Estanque de León, comparado con los 3 métodos de extracción.	33

RESUMEN

Larrea tridentata es una planta con varias aplicaciones debido a los metabolitos secundarios generados en el proceso fisiológico, estos tienen la capacidad de actuar como antimicrobianos, antifúngicos, antiradicales, antialérgicos, entre otros. Se ha reportado que la composición y cantidad de estos metabolitos presentan diferencias acorde a la zona de recolección, época del año, etapa de desarrollo, entre otras. El objetivo de esta investigación fue analizar proximalmente y evaluar la actividad antiradicalaria de extractos polifenólicos extraídos de *Larrea tridentata* por diferentes métodos y de dos comunidades diferentes; San Jerónimo (SJ) en Zacatecas y Estanque de León (EL) en Coahuila. La extracción se realizó mediante ultrasonido, calentamiento Óhmico y fase estacionaria; Se obtuvo un rendimiento de 54.58 mg/g para la localidad de SJ y de 43.50 mg/g para la localidad de EL mediante la extracción asistida por ultrasonido la cual se obtuvo el mayor rendimiento entre métodos. De acuerdo al análisis DPPH^{*} la extracción obtenida mediante calentamiento óhmico mostró el mayor porcentaje de inhibición (75%), la capacidad antiradicalaria por medio de la técnica ABTS^{**} obtuvo mejores resultados para los polifenoles extraídos de EL por la fase estacionaria con un 43.39 % y el método FRAP mostró actividad reductora más alta implementando una extracción por fase estacionaria con un valor de 59.01 Eq ácido gálico mg/L para EL, mientras que SJ no presentó diferencias. Sus grupos funcionales fueron identificados por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) denotando la presencia de estiramiento de O-H en polifenoles, C-O en alcoholes y C-H de ácidos carboxílicos aromáticos. El presente estudio demostró que *Larrea tridentata* tiene compuestos con capacidad antiradicalaria y su potencial está influenciado en los cambios ocurridos en el proceso de extracción y zona de recolección.

Palabras clave: *Larrea tridentata*, ultrasonido, calentamiento óhmico, compuestos fenólicos, actividad antioxidante, FTIR.

ABSTRACT

Larrea tridentata is a plant with several applications due to the secondary metabolites produced in the physiological process, they can act as antimicrobial, antifungal, antiradical, antiallergic, among others. It has been reported that the composition and quantity of these metabolites present differences according to the collection area, time of year, stage of development, among others. The objective of this research was to proximately analyze and evaluate the antiradical activity of polyphenolic extracts of *Larrea tridentata* by different methods and from two different communities: San Jerónimo (SJ) in Zacatecas and Estanque de León (EL) in Coahuila. The extraction was carried out using ultrasound, Ohmic heating and stationary phase. A yield of 54.58 mg/g was obtained for the SJ locality and 43.50 mg/g for the EL locality through ultrasound-assisted extraction, which obtained the highest yield among methods. According to the DPPH• analysis, the extraction obtained by ohmic heating showed the highest percentage of inhibition (75%), the antiradical capacity through the ABTS•+ obtained better results for the polyphenols extracted from EL by the stationary phase with a 43.39 % and the FRAP method showed higher reducing activity implementing a stationary phase extraction with a value of 59.01 Eq gallic acid mg/L for EL, while SJ did not present differences. Their functional groups were identified by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) denoting the presence of O-H stretching in polyphenols, C-O in alcohols and C-H of aromatic carboxylic acids. The present study demonstrated that *Larrea tridentata* has compounds with antiradical capacity and its potential is influenced by the changes that occurred in the extraction process and collection area.

Key words: *Larrea tridentata*, ultrasound, ohmic heating, phenolic compounds, antioxidant activity, FTIR.

I. INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes son moléculas con la capacidad de retardar o prevenir la oxidación en otras moléculas. Se originan en las plantas, la principal función es prevenir las reacciones de oxidación en las células donde se desarrollan los radicales libres (Llacuna & Mach, 2012). Se ha observado que los antioxidantes son una defensa para el organismo, se ha evaluado la actividad de los antioxidantes concluyendo la importancia de ingerir diversos tipos para lograr este efecto (Vilaplana, 2007).

La gobernadora (*Larrea tridentata*), también conocida como Larrea, chaparral o arbusto de creosota (Abou Gazar *et al.*, 2004), es una planta predominante en zonas del desierto donde las condiciones son favorables para su crecimiento, ya que ha desarrollado diversas adaptaciones a tolerar sequias y altas temperaturas. (Hernández Zamudio *et al.*, 2017).

La gobernadora es una planta con varias aplicaciones debido a los metabolitos secundarios generados en el proceso fisiológico, estos tienen la capacidad de actuar como agentes antimicrobianos, antifúngicos, antiradicalaria, antialérgicas, entre otros; en los últimos años se ha comprobado la efectividad de los antioxidantes de *Larrea tridentata* en el tratamiento de enfermedades, principalmente por el contenido del ácido nordihidroguaiaretico (ANDG) que es el compuesto más prevalente y biológicamente activo (Gong *et al.*, 2008), sin embargo, se ha demostrado que esta especie también contienen una serie de lignanos, flavonoides, taninos condensados, saponinas triterpénicas, aceites esenciales y cera (Palacio *et al.*, 2012).

La importancia de estudiar y conocer estas moléculas presentes en las plantas, radica en encontrar compuestos fenólicos (Valencia Aviles *et al.*, 2017), dado que los subproductos de *Larrea tridentata* puede ser una fuente rica de compuestos bioactivos con aplicaciones prometedoras se han implementado métodos para analizar su extracción, teniendo como resultado procesos largos, laboriosos y en ocasiones tóxicos (Martins *et al.*, 2012), es por esto que las investigaciones se han

centrado en la búsqueda de métodos eficientes al momento de extraer los compuestos de interés y así evaluar la estabilidad de los compuestos, efecto sobre la salud y la seguridad para futuras investigaciones (Arana Torres, 2021), implementando tecnologías emergentes conocidas como la extracción asistida por Ultrasonido y Calentamiento Óhmico en la recuperación de compuestos de interés, ofreciendo grandes beneficios en comparación a los métodos tradicionales.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue analizar proximalmente y evaluar la actividad antiradicalaria de extractos polifenólicos extraídos de *Larrea tridentata* por diferentes métodos, como lo son Fase estacionaria, Ultrasonido y Calentamiento Óhmico.

1.1 Hipótesis

Los extractos de *Larrea tridentata* presentan diferencias en su capacidad antiradicalaria (DPPH[•], ABTS^{•+} y FRAP) debido a la influencia del método de extracción y zona de recolección.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Analizar proximalmente y evaluar la actividad antiradicalaria de extractos polifenólicos extraídos de *Larrea tridentata* por diferentes métodos.

1.2.2 Objetivos Específicos

1.2.2.1 Caracterizar proximalmente a la planta gobernadora de dos comunidades del Norte de México.

1.2.2.2 Extraer y purificar los compuestos polifenólicos de la gobernadora en fase estacionaria, ultrasonido y calentamiento óhmico.

1.2.2.3 Determinar la capacidad antiradicalaria de los compuestos fenólicos mediante DPPH[•], ABTS^{•+} y FRAP.

1.2.2.4 Analizar e identificar grupos funcionales mediante espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 La gobernadora

La gobernadora (*Larrea tridentata*), también conocida como *Larrea*, chaparral o arbusto de creosota, es una planta perteneciente a la familia *Zygophyllaceae* (**Figura 1**). La cual ha desarrollado diversas adaptaciones para tolerar las sequías y altas temperaturas (Abou Gazar *et al.*, 2004), es usada tradicionalmente en la medicina tradicional mexicana, ya que gracias a sus diversas características posee una gran cantidad de propiedades curativas (Alvarado Vázquez *et al.*, 2015).



Figura 1.- Gobernadora (*Larrea tridentata*).

2.1.2 Botánica

El nombre común es gobernadora, “se aplica principalmente a la especie *L. tridentata*, que crece en el norte de México y suroeste de Estados Unidos”. Su clasificación taxonómica es la siguiente (System Integrated Taxonomic Information, 2021):

- **Reino:** Plantae
- **Phylum:** Magnoliophyta
- **Clase:** Magnoliopsida.
- **Orden:** Sapindale.
- **Familia:** *Zygophyllaceae*.
- **Género:** *Larrea*.
- **Especie:** *Larrea tridentata*.

2.1.3 Descripción morfológica de la planta

Las condiciones climáticas son un elemento importante para el desarrollo de esta planta, la altura puede variar entre 0.5 a 4.0 metros, de acuerdo a la edad de la planta, las condiciones ambientales del hábitat, así como la cantidad y distribución de agua, otro factor importante que contribuye al desarrollo es el material genético que posee (Lira Saldívar, 2003).

La gobernadora es una planta muy resistente a la sequía y a las altas temperaturas (Holmgren *et al.*, 2019), las hojas están formadas por 2 folíolos connados entre sí en la base y unidos por medio del raquis, de 4 a 10 mm de largo y 3 a 6 mm de ancho (Rzedowski & Calderón, 1994), de un color verde oscuro a un tono amarillento con cutículas gruesas y una cubierta resinosa (Arteaga *et al.*, 2005).

Después de la lluvia es común ver como brotan flores sobre *L. tridentata*, con un diámetro de aproximadamente 2.5 cm y cinco pétalos de color amarillo fuerte (**Figura 2**); comúnmente brotan al final del invierno; los frutos van de 4 a 7 mm de

diámetro con una cubierta vellosa y cinco semillas en su interior (Lira Saldívar, 2003).

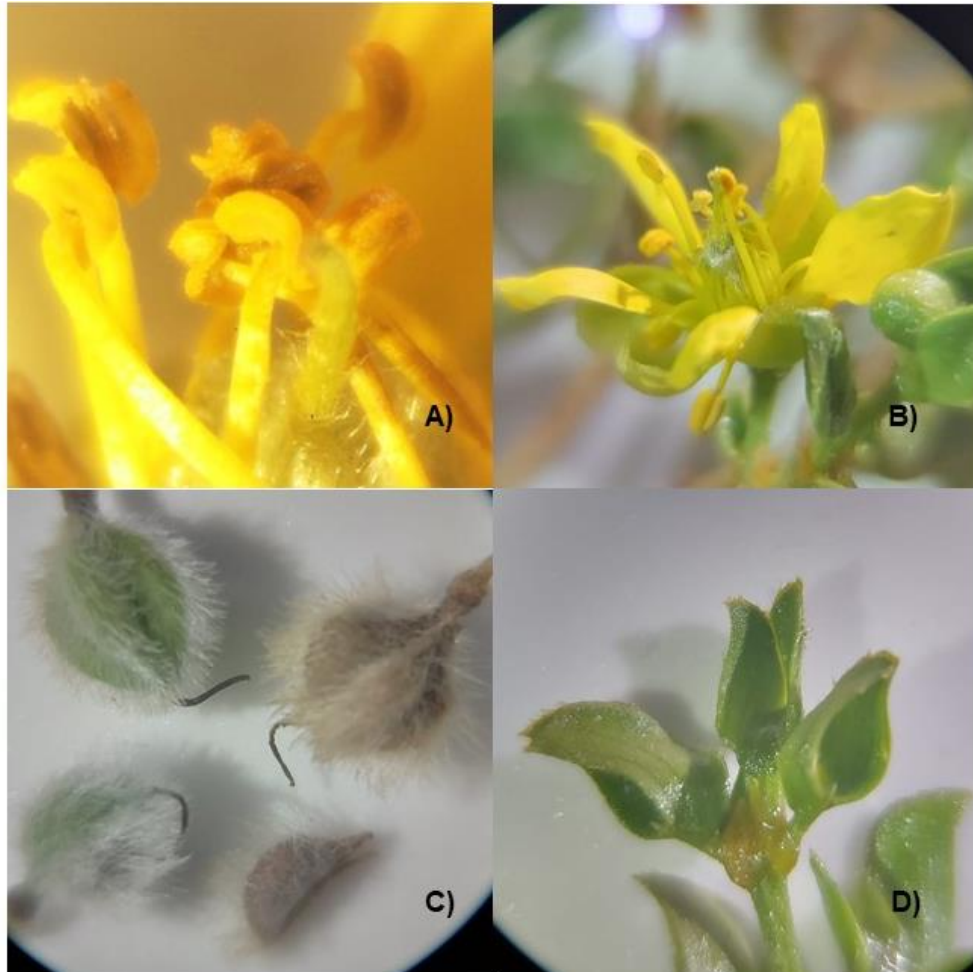


Figura 2.- Morfología de *Larrea tridentata*.

*A) Pistilo; B) Flor; C) Fruto; D) Par de hojas con estipulas.

2.1.4 Distribución geográfica

De acuerdo a las condiciones fisiológicas de *Larrea tridentata* su distribución geográfica se centra en el desierto del norte de México (**Figura 3**), se distribuye abundantemente en los estados de Baja California, Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Durango, San Luis Potosí, Sonora y Zacatecas, asimismo en el suroeste de los Estados Unidos de America en Arizona, California, Nevada, Texas y Nuevo México (Hernández Zamudio *et al.*, 2017).

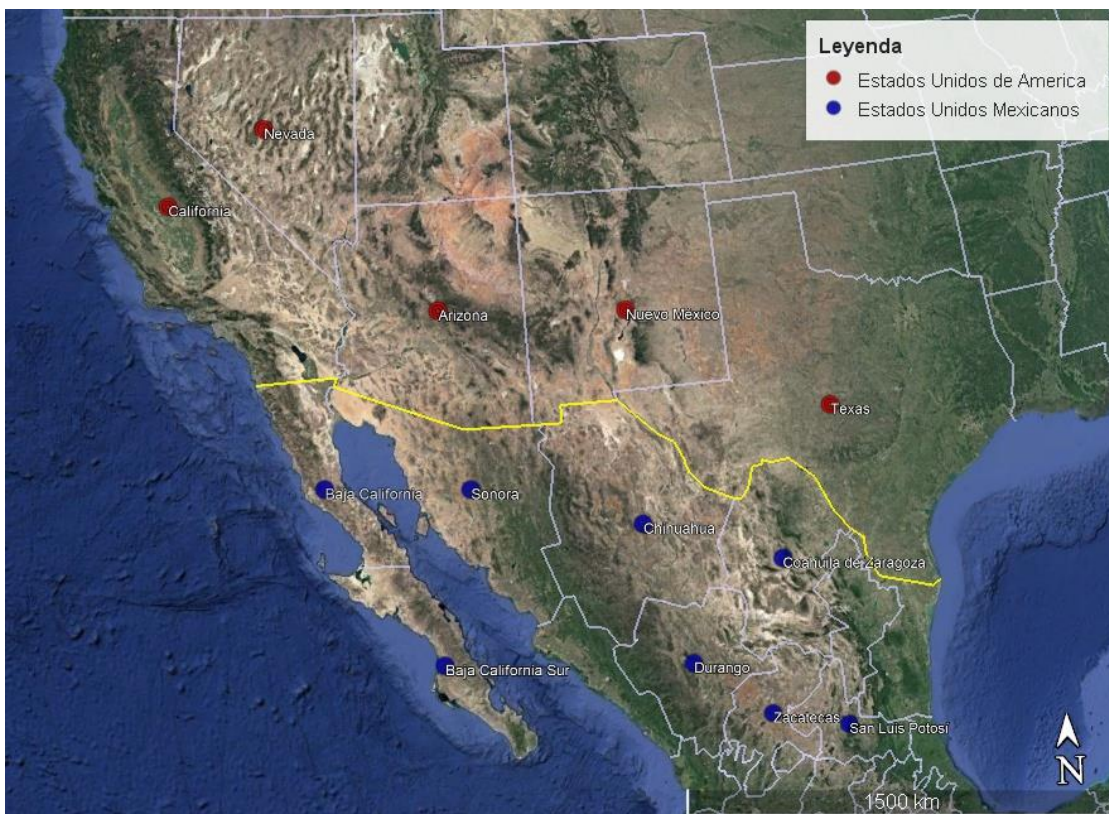


Figura 3.- Distribución geográfica donde prevalece *Larrea tridentata*.

Basado en: Hernández Zamudio *et al.* (2017).

2.1.5 Aplicaciones de la gobernadora

Larrea tridentata ha tenido un gran interés para los investigadores por sus beneficios, principalmente la producción de metabolitos secundarios ya que son compuestos antimicrobianos de defensa natural contra el ataque de animales depredadores, insectos y otros microorganismos (Lira Saldívar, 2003). El ácido nordihidroguaiaretico (ANDG) (**Figura 4**) es el compuesto más prevalente y biológicamente activo presente en la superficie externa de las hojas (Gong *et al.*, 2008), sin embargo, se ha demostrado que esta especie también contienen una serie de lignanos, flavonoides, taninos condensados, saponinas triterpénicas, aceites esenciales y ceras (Palacio *et al.*, 2012). Es por esta razón que se han enfocado en la extracción de compuestos fenólicos y su caracterización, en el **Cuadro 1** se puede observar compuestos identificados mediante el análisis de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), estos fitoquímicos fueron extraídos mediante diversos métodos: acuoso (Aguirre Joya *et al.*, 2018), metanólico (Sagaste *et al.*, 2019), etanólico (Skouta *et al.*, 2018) y H₂O:Metanol (García *et al.*, 2018), al compararlos podemos apreciar la variación de fitoquímicos encontrados en cada extracto, esto debido a los factores de extracción y características fisiológicas de *Larrea tridentata*.

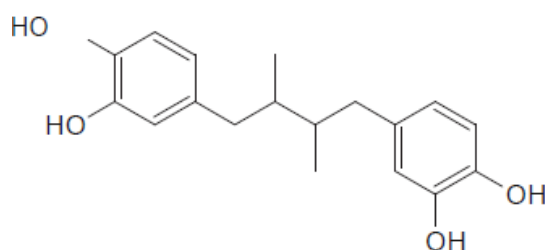


Figura 4.- Estructura química del ácido nordihidroguaiaretico (ANDG).

Obtenido de: Martins *et al.* (2012).

Cuadro 1.- Compuestos fenólicos identificados mediante extracto de *L. tridentata* por HPLC.

Extracto	Compuesto	Fórmula molecular	Peso Molecular g/mol	
Acuoso	Ácido nordihidroguaiarético	C ₁₈ H ₂₂ O ₄	302.4	
	Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.24	
	Quercetina	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302.236	
Metanólico	Ácido clorogénico	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.09	
	Ácido cafeico	C ₁₇ H ₁₆ O ₄	284.31	
	Ácido p-cumárico	C ₉ H ₈ O ₃	164.16	
	Ácido ferúlico	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194.18	
	Catequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.27	
	Epicatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290.27	
Etanólico	Juglanina	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀	418.3	
	Tiramina	C ₈ H ₁₁ NO	137.18	
	Justicidina B	C ₂₁ H ₁₆ O ₆	364.3	
	Crimidina	C ₇ H ₁₀ CIN ₃	171.63	
	Eleutherol	C ₁₄ H ₁₂ O ₄	244.24	
	Liquiritina	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	418.4	
	Podofilotoxina	C ₂₂ H ₂₂ O ₈	414.4	
	Beta-peltain	C ₂₂ H ₂₂ O ₈	414.4	
	H2O:Metanol	Sesamina	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	354.4
		Galocatechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	306.27
Peonidina 3-O rutinósido		C ₂₈ H ₃₃ O ₁₅₊	609.6	
Methyl galangin		C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.26	
Epigallocatechin 7-O-glucuronide		---	---	
Epigallocatechin		---	---	

Por otro lado, se ha estudiado el efecto que tiene los compuestos antioxidantes de *Larrea tridentata* en células cancerígenas (Lambert *et al.*, 2005), en alguno de los casos se ha utilizado para tratar las siguientes enfermedades: anemia, enfermedades virales, diabetes, hemorroides, dolor de cabeza, diarrea, parásitos, varicela, acné, etcétera (Alvarado Vázquez *et al.*, 2015). Así mismo, se ha reportado su uso en trastornos del tracto urinario, como cálculos renales, problemas ginecológicos, fiebre, paludismo, granos, golpes, promueve la cicatrización, actividad antibacteriana entre otros (SEMARNAT, 2009).

Se ha implementado el uso de extractos de *Larrea tridentata* como desinfectante sobre *Salmonella typhimurium* en instalaciones avícolas, concluyendo que los extractos acuosos son una excelente alternativa de desinfección, ya que son más efectivos en paredes, techos y cortinas que el detergente de uso regular al 5% (López Aguirre *et al.*, 2020). También se implementó su uso como antioxidante verde para biodiesel, como una alternativa verde natural a los antioxidantes sintéticos, obteniendo valores de 10.14 TEAC/ g, 172.1 TEAC/ g y 211.18 GAE/ g en la determinación de la actividad antiradicalaria implementando las metodologías de DPPH*, FRAP y Fenoles totales respectivamente. (Sagaste *et al.*, 2019).

2.2 Antioxidantes

Se le considera antioxidante a una molécula que tiene la capacidad de retardar y prevenir la oxidación en otras moléculas. Se encargan de detener reacciones de oxidación efectuadas en las células, evitando la producción de radicales libres (Llacuna & Mach, 2012).

Existen diferentes maneras en las que un antioxidante puede comportarse como por ejemplo: disminuir la cantidad de agentes oxidantes, evitar la iniciación de una reacción en cadena cuando la reactividad química que presenta es alta, impedir la formación de especies reactivas uniéndose a iones metálicos, convirtiendo los peróxidos en productos con menor reactividad y frenando la propagación de radicales libres así como su incremento (Aguilar Paredes *et al.*, 2018).

2.2.1 Beneficios de los antioxidantes.

Los antioxidantes son componentes naturales o artificiales que tienen la capacidad de contrarrestar los efectos dañinos de la oxidación celular, prolongando el deterioro de las células, obtenido como beneficios que exista una barrera contra los procesos de envejecimiento y enfermedades como: cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares y pulmonares, entre otros. En la actualidad se ha concluido, que para lograr un efecto positivo es necesario consumir antioxidantes de forma variada y no solamente uno en específico (Vilaplana, 2007).

2.2.2 Método utilizado para determinar capacidad antioxidante.

Debido al alto interés que existe por los beneficios que pueden proporcionar los antioxidantes, se ha logrado un aumento en la elaboración de métodos para establecer la capacidad antioxidante. Esta determinación se fundamenta en verificar si un agente oxidante genera reacciones oxidativas en un sustrato oxidable. Esto se comprueba en la inhibición y/o reducción ante un radical oxidante. La inhibición

generada se basa en los compuestos de la muestra mediante el radical oxidante. Otros experimentos cuantifican la oxidación ante los procesos oxidativos (Fernández Pachón *et al.*, 2006). El proceso oxidativo comprende tres pasos principales mediado por radicales libres: el inicio, la propagación y la terminación, los antioxidantes combaten los radicales libres interviniendo en cualquiera de estos tres pasos.

2.2.2.1 Capacidad de eliminación de radicales DPPH[•]

El radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH[•]) es un radical nitrogenado orgánico y estable (cromógeno) con un profundo color púrpura (Brand Williams *et al.*, 1995), este método es utilizado para determinar la capacidad antioxidante con base en la disminución de color, basado en la donación de electrones de antioxidantes para neutralizar el radical DPPH[•] que se mide a 517 nm, por acción de un compuesto antioxidante; la reacción efectuada genera una decoloración el cual funciona como un indicador para la eficacia del antioxidante (Zhong & Shahidi, 2015).

2.2.2.2 Determinación del poder de reducción de hierro (FRAP)

De acuerdo con el método FRAP los antioxidantes son sustancias que tienen la capacidad de disminuir los iones férricos a su estado ferroso; de tal manera que los iones forman un complejo coloreado con el compuesto 2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine (TPTZ) (Suktham *et al.*, 2019). Por tanto, este método evalúa la capacidad de reducción por transferencia de electrones (Mercado Mercado *et al.*, 2013). El color azul resultante se mide espectrofotométricamente a 593 nm y se considera que está relacionado linealmente con el poder reductor del antioxidante donador de electrones. Una de las principales desventajas de este método es que no todos los antioxidantes son capaces de disminuir el hierro y no se detectan antioxidantes que funcionan por transferencia de átomos de hidrogeno (Frankel, 2012).

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

El método se basa en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS^{•+} (ácido 2´2-Azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) bajo la acción de los antioxidantes, el radical catiónico ABTS^{•+} es un cromóforo verde-azul y se genera una reacción de oxidación en conjunto con el persulfato de potasio (K₂S₂O₈) (Rioja Atezana *et al.*, 2018). Las mediciones se realizan espectrofotométricamente a una longitud de onda de 734 nm, técnica que puede medir la actividad de compuestos hidrofílicos y lipofílicos (Kuskoski *et al.*, 2005).

2.2.2.4 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), es un método de evaluación de grupos funcionales presentes en la estructura molecular de sustancias inorgánicas y orgánicas, permitiendo la identificación y caracterización de los materiales (Zojaji *et al.*, 2021); Se ha convertido en una técnica poderosa ya que ocupa poca cantidad de muestra o una mínima preparación de esta , reproducible, fácil de usar y no destructiva (Bouyanfif *et al.*, 2018). Las bandas espectrales en los espectros vibracionales son específicas de la molécula y proporcionan información directa sobre la composición bioquímica (Movasaghi *et al.*, 2008); proporcionando información a nivel molecular que permite la investigación de grupos funcionales, tipos de enlaces y conformaciones moleculares de biomoléculas como lípidos, proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos, entre otros (Mata Miranda *et al.*, 2017): esta técnica se han empleado ampliamente para la autenticación de la calidad de los alimentos (Belchior *et al.*, 2022).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal

El material fue colectado en dos diferentes ejidos **Cuadro 2**. Una vez recolectadas las muestras vegetales fueron transportadas al Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular en el departamento de Ciencias Básicas de la UAAAN, se secaron a 50 °C /24 h en una estufa de secado, y se redujo el tamaño de partícula en un molino Homend, y posteriormente se pasó por un tamiz No. 30 (600 µm). Se almacenaron en bolsas hasta su análisis.

Cuadro 2.- Ubicación geográfica de las colectas de los 2 ejidos evaluados.

Espece	Municipio	Ejido	Latitud	Longitud	Altitud
<i>Larrea tridentata</i>	Melchor Ocampo (Zacatecas)	San Jerónimo	22°39'11.95"	102°29'24.32"	2275
<i>Larrea tridentata</i>	Cuatro Ciénegas (Coahuila)	Estanque de León	25°42'35.55"	103°18'02.27"	1115

3.2 Reactivos químicos

Etanol, ácido gálico, 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH^{*}), ácido 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS ^{**}), persulfato de potasio (K₂S₂O₈), fosfato de potasio dibásico (K₂HPO₄) 1 M, fosfato de potasio monobásico (KH₂PO₄) 1 M, ferrocianuro de potasio (C₆N₆FeK₄), ácido tricloroacético (CCl₃COOH), cloruro férrico (FeCl₃), reactivos como Amberlite XAD-16N, solventes metanol, H₂O destilada.

3.3 Método para el análisis químico proximal

La caracterización de la gobernadora consistió en determinar el contenido de humedad, cenizas, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda y el extracto libre de nitrógeno, de acuerdo a lo descrito por la A.O.A.C. Todos los análisis se realizaron por triplicado, reportando el promedio \pm la desviación estándar.

3.4 Extracción de Polifenoles

3.4.1 Extracción por fase estacionaria

De acuerdo con lo reportado por Ascacio-Valdés *et al.* (2010), se utilizó 20 g de muestra deshidratada en 100 mL agua. La extracción se llevó a cabo a 60 °C por 30 min. Transcurrido el tiempo, el extracto se filtró al vacío con papel Whatman #41 para eliminar las partículas de gran tamaño. Finalmente, la muestra fue purificada para la obtención de polifenoles (Ascacio Valdés *et al.*, 2010).

3.4.2 Extracción por ultrasonido

Se utilizó 5 g de muestra deshidratada y se adicionó 60 mL de una solución de etanol: agua 35:65 (v/v) a temperatura ambiente, las cuales se incubaron en un baño ultrasónico (CO-Z DIFITAL ULTRASONIC CLEANER) **Figura 5** por 40 min a temperatura de 25 °C, a una potencia de 40 KHz. Posteriormente los extractos se centrifugaron a 3500 rpm durante 15 min a 4 °C para eliminar los sólidos, de la recolección del sobrenadante se eliminó el solvente por evaporación a 50 °C por 24 h, posterior a esto se resuspendió en 40 mL de agua destilada para la purificación de la muestra (Bautista Hernández *et al.*, 2021).



Figura 5.- Extracción de polifenoles en un baño CO-Z DIGITAL ULTRASONIC CLEANER.

3.4.3 Extracción por calentamiento óhmico

La metodología empleada fue tomada Valderrama Gutiérrez (2018); con algunas modificaciones. Se utilizaron 5 g de muestra deshidratada y se adicionó 60 mL de una solución de etanol: agua 35:65 (v/v) a temperatura ambiente, posteriormente se colocaron dos electrodos de cobre y se dejó pasar corriente eléctrica a 70 voltios, en un tiempo de 15 min (**Figura 6**). Posteriormente los extractos se centrifugaron a 3500 rpm durante 15 min a 4°C para eliminar los sólidos, de la recolección del sobrenadante se eliminó el solvente por evaporación a 50 °C por 24 h, posterior a esto se resuspendió en 40 mL de agua destilada para la purificación de la muestra (Valderrama Gutiérrez, 2018).



Figura 6.- Extracción de polifenoles por calentamiento óhmico.

3.4.4 Purificación de compuestos polifenólicos

Previo a la purificación de polifenoles se activó la Amberlite XAD-16N en una solución de metanol en relación 1:2 respectivamente. Se llevó a agitación a 130 rpm por un tiempo de 30 minutos.

En una columna de purificación se colocó un tapón de algodón que actúa como un filtro y posteriormente se agregó la Amberlite XAD-16N previamente activada hasta la mitad de la columna evitando que este no quede sin hidratarse y puso un segundo tapón de algodón a modo de filtro en la parte media de la columna; para la utilización de la columna esta recibirá 3 enjuagues con etanol en base a su volumen total y recolectando en un vaso de precipitado, posteriormente un enjuague con agua destilada (hasta que el fluido recolectado no tenga una apariencia blanca semi lechosa).

Una vez lista la columna para su uso se dejó pasar la muestra rica en polifenoles recorriendo toda la columna y recolectada en un vaso de precipitado, cuando el total de la muestra haya pasado por la columna se adiciono el doble de agua destilada. Después, se usó etanol como eluyente para recuperar la fracción rica en polifenoles (solución de color café claro) recolectando en un tubo nuevo, la extracción termina cuando se presenta un color cristalino en la boquilla de la columna. Llevar a una

estufa de secado a 50 °C la muestra recolectada sobre una caja Petri previamente tarada y medida la solución obtenida, los compuestos fenólicos fueron recuperados como un polvo fino. La muestra fue guardada en recipientes ámbar y conservada en refrigeración hasta su uso (Bautista Hernández *et al.*, 2021).

3.5 Evaluación de la actividad antiradicalaria

3.5.1 Preparación de la muestra para analizar

Para las pruebas de DPPH^{*}, FRAP y ABTS^{**} se prepararon soluciones madre 25000 mg L⁻¹, 142 mg L⁻¹ y 1000 mg L⁻¹ respectivamente.

3.5.2 Ensayo DPPH^{**}

Se preparó una solución de ácido gálico a una concentración de 200 ppm y se realizó una curva de calibración **Cuadro 3**.

Cuadro 3.- Curva de calibración método: DPPH •.

PPM	μL de Ác. Gálico	μL de H ₂ O destilada
0	0	1000
20	100	900
50	250	750
70	350	650
90	450	550
110	550	450
150	750	250

*Partes por millón PPM, Micro litros μL, Ácido Ác.

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

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

Donde Acontrol representa el valor de la absorbancia del control y Amuestra representa el valor de la absorbancia que se obtuvo de cada una de las muestras.

3.5.3 Ensayo FRAP

Se preparó una solución de ácido gálico a una concentración de 200 ppm y se realizó una curva de calibración de acuerdo al **Cuadro 4**.

Cuadro 4.- Curva de calibración método: FRAP.

PPM	µL de Ác. Gálico	µL de H ₂ O destilada
0	0	1000
20	100	900
50	250	750
70	350	650
90	450	550
110	550	450
150	750	250

*Partes por millón PPM, Micro litros µL, Ácido Ác.

Un volumen de 500 µL de muestra se mezcló con 120 µL de buffer de fosfatos (pH 7), que fue preparado mediante una mezcla de fosfato de potasio dibásico (61.5 mL, 1M), fosfato de potasio monobásico (38.1 mL, 1M) y se aforó la mezcla a 1000 mL. Después, se agregaron 220 µL de ferrocianuro de potasio al 1% (C₆FeK₄N₆) a la mezcla de reacción, esta se homogenizó 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 basado en la curva de calibración con el mismo estándar.

3.5.4 Ensayo ABTS ^{•+}

Se preparó una solución de Trolox a una concentración de 200 ppm y se realizó una curva de calibración de acuerdo al **Cuadro 5**.

Cuadro 5.- Curva de calibración método: ABTS ^{•+}.

PPM	µL de trolox	µL de H ₂ O destilada
0	0	2000
20	200	1800
40	400	1600
60	600	1400
80	800	1200
100	1000	1000

*Partes por millón PPM, Micro litros µL

Se generó el catión radical ABTS ^{•+} por medio de una solución acuosa de ABTS ^{•+} (7mM) con presulfato 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 con etanol a 0.700±0.002 nm de absorbancia. Se añadió un volumen de

muestra de 50 μL para reaccionar con 950 μL de la solución de ABTS $^{*+}$; después de 1 minuto de reposo de la reacción, se midió la absorbancia a 734 nm. La capacidad de inhibición se calculó por medio de la siguiente ecuación:

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

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.

3.6 Análisis Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

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

El análisis del espectro y los grupos funcionales detectados se realizó con el programa MicroLab Expert y la gráfica se construyó con el programa OriginPro 8.

3.7 Análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se reportaron como medias ajustadas. Los datos se analizaron mediante pruebas de Tukey con significancia de $p < 0.05$. Se realizó análisis estadístico utilizando el software Minitab 2019.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis químico proximal

En el **cuadro 6** se muestran los resultados obtenidos de materia seca total, humedad, ceniza, proteína cruda, extracto etéreo y extracto libre de nitrógeno, correspondientes a *L. tridentata* utilizando los métodos de la A.O.A.C. (1990).

Cuadro 6.- Análisis químico proximal de *Larrea tridentata*.

Localidad	San Jerónimo (g 100g ⁻¹)	Estanque de León (g 100g ⁻¹)
Materia seca total	97.238 ± 0.072 a	97.359 ± 0.212 a
Humedad	2.761 ± 0.072 a	2.782 ± 0.158 a
Cenizas	7.204 ± 0.092 a	6.914 ± 0.105 b
Proteína	12.311 ± 0.496 a	12.360 ± 0.382 a
Grasa	5.509 ± 0.474 a	3.734 ± 0.438 b
Fibra cruda	12.750 ± 0.054 b	16.612 ± 0.736 a
Extracto libre de Nitrógeno	62.225 ± 0.059 a	60.379 ± 0.469 b

*Letras iguales significan que no hay diferencia estadística. Las pruebas fueron realizadas con una significancia a ($p < 0.05$).

4.1.1 Determinación de Humedad

Los datos obtenidos del análisis realizado a la gobernadora: nos indican que no existe una diferencia significativa en el contenido de humedad para la localidad de San Jerónimo y Estanque de León con un valor de 2.761 g 100g⁻¹ y 2.782 g 100g⁻¹ respectivamente **Cuadro 6**. De acuerdo a Treviño y colaboradores (2007), reportan un valor de 5.0 g 100g⁻¹ de humedad, mayor con respecto a los resultados obtenidos en las localidades de San Jerónimo y Estanque de León (Treviño Cueto *et al.*, 2007).

4.1.2 Determinación de Cenizas

En el **Cuadro 6** se muestran los resultados de análisis realizados de ceniza mostrando una diferencia estadística entre las localidades; San Jerónimo presenta el 7.204g 100g⁻¹ mientras que Estanque de León ocupa el segundo lugar con el 6.914 g 100g⁻¹. De acuerdo a lo descrito por Castillo (2012), el contenido mineral para *Larrea tridentata* corresponde al 9.5 g 100g⁻¹ (Castillo Garcia, 2012), así mismo Hernández y colaboradores en el 2019 reportan un contenido de 10.0 g 100g⁻¹ (Hernández Baez *et al.*, 2019), siendo estos datos mayores a lo obtenido en las localidades analizadas, así mismo, se ha reportado la presencia de Calcio, Fosforo, Magnesio, Sodio, Potasio, Cobre, Hierro, Manganeso y Zinc (Guerrero-Cervantes *et al.*, 2012).

4.1.3 Determinación de Proteína

Los resultados obtenidos para el contenido de proteína cruda presente en las muestras en general no mostraron diferencias estadísticamente significativas para las localidades San Jerónimo y Estanque de León, ya que presentan un 12.311 g 100g⁻¹ y 12.360 g 100g⁻¹ respectivamente. El contenido de este nutriente en comparación a lo reportado por Hernández y colaboradores (2019) es más alto ya que indican la presencia de 12 g 100g⁻¹ de proteína cruda en *Larrea tridentata* (Hernández Baez *et al.*, 2019); sin embargo, de acuerdo a lo descrito por García (2012) la proteína de *Larrea tridentata* se encuentra en un 14.5 g 100g⁻¹ siendo este dato mayor a lo obtenido para las localidades analizadas.

4.1.4 Determinación de Extracto Etéreo

En la evaluación de la fase lipídica, se encontró que existe diferencia significativa. La mayor cantidad de extracto etéreo lo presentó la localidad de San Jerónimo con 5.509 g 100g⁻¹ y en menor cantidad Estanque de León con 3.734 g 100g⁻¹; Hernández Baez y colaboradores (2019), así como García (2012) reportan un contenido total de 18 g 100g⁻¹ de extracto etéreo comparándolos con los resultados

obtenidos muestran una mayor diferencia. Sin embargo, Treviño y colaboradores (2007) obtuvieron $3.4 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ de extracto etéreo dato similar a lo obtenido en la localidad de Estanque de León.

4.1.5 Determinación de Fibra Cruda

Se puede determinar que existe una diferencia significativa en el análisis de fibra cruda, siendo mayor en la muestra perteneciente a la localidad de Estanque de León con $16.612 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, en seguida el ejido San Jerónimo con $12.750 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$. Hernández Baez y colaboradores (2019) reportan que *Larrea tridentata* cuenta con $13.4 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ de fibra cruda, datos similares a los obtenidos para la localidad de Estanque de León y San Jerónimo. Así mismo, Treviño y colaboradores (2007) reportaron $12.3 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ de fibra cruda lo cual es un valor menor a lo obtenido para las localidades analizadas.

4.1.6 Determinación de Extracto Libre de Nitrógeno

Los resultados de ELN obtenidos, mostraron diferencias estadísticas entre las localidades, se observó una mayor cantidad en la muestra proveniente del ejido San Jerónimo con un valor de $62.225 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$, posteriormente el ejido Estanque de León con $60.379 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$. García (2012) reportó un total de $44.4 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ extracto libre de nitrógeno.

En general, se observan diferencias fisicoquímicas entre las localidades, esto podría deberse principalmente a algunos factores variables entre las zonas donde han sido recolectadas las muestras analizadas en en este estudio y los previos, se ha reportado que esto puede afectar la composición fisicoquímica de las plantas, además de los nutrientes, ambiente, suelo, agua pluvial, entre otros (Aguirre Joya *et al.*, 2018).

4.2 Rendimiento de proceso de extracción de polifenoles

En el **Cuadro 7** se puede observar los rendimientos en la extracción de polifenoles (mg/ g); los cuales se recuperaron como un polvo fino de color marrón, como se muestra en la **Figura 7**, empleando tres métodos de extracción: Fase estacionaria, Ultrasonido y Calentamiento Óhmico.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la comparación de medias, el mejor rendimiento para la localidad de San Jerónimo (SJ) se presentó en la extracción asistida por ultrasonido (54.580 mg/g), seguido del calentamiento Óhmico (42.271 mg/g) y posteriormente la fase estacionaria (24.409 mg/g); para la localidad de Estanque de León (EL) la extracción asistida por Ultrasonido (43.508 mg/g) y Calentamiento Óhmico (36.755 mg/g) no presentaron diferencias estadísticamente significativas $p < 0.05$.



Figura 7.- Polifenoles extraídos de *Larrea tridentata*.

Cuadro 7.- Rendimientos de proceso de extracción de polifenoles.

Localidad	Fase Estacionaria (mg/g)	Ultrasonido (mg/g)	Calentamiento Óhmico (mg/g)
San Jerónimo	24.409 ± 1.155 c	54.58 ± 2.090 a	42.271 ± 1.376 b
Estanque de León	24.720 ± 3.740 b	43.508 ± 0.428 a	36.756 ± 1.303 a

*Letras iguales significan que no hay diferencia estadística. Las pruebas fueron realizadas con una significancia a ($p < 0.05$).

Aguirre *et al.* (2018), recolectaron muestras en la comunidad Lucio Blanco (LB), en Cuatro Ciénegas de Carranza, Coahuila, México; reportando 0.348 ± 0.02 g de polifenoles de *Larrea tridentata* en 12 g de muestra seca luego de una purificación parcial a través de una columna de Amberlite XAD-16N, la cual corresponde a 29 mg/g de polifenoles (Aguirre Joya *et al.*, 2018), que al compararse con los datos obtenidos en esta investigación nos muestra un mayor rendimiento implementando la extracción asistida por ultrasonido (SJ: 54.58 mg/g > EL: 43.508 mg/g > LB: 29 mg/g), esto podría atribuirse al fenómeno llamado cavitación acústica causado por la propagación de ondas de presión de ultrasonido, que tiene la capacidad de provocar el colapso violento de la pared y la membrana celular de las plantas (Muñiz Márquez *et al.*, 2013); además, algunos efectos positivos como la corriente de circulación del líquido y la turbulencia producida por la cavitación, hacen que los solventes penetren más fácilmente en los materiales celulares y promover la mejora del rendimiento de extracción (Liao *et al.*, 2021). Por lo tanto, la implementación de tecnologías emergentes en la recuperación de polifenoles, es una alternativa con mayores ventajas en comparación con los procesos convencionales.

4.3 Análisis de la actividad antiradicalaria

La capacidad antiradicalaria depende de la naturaleza y concentración de los antioxidantes presentes; el hecho de que los alimentos difieran en su capacidad antioxidante explica por qué también difieran en su capacidad para prevenir enfermedades crónico degenerativas asociadas al estrés oxidativo (Morillas Ruiz & Delgado Alarcón, 2012). Los polifenoles recuperados de *Larrea tridentata* demostraron actividad antiradicalaria en los tres métodos analizados DPPH*, ABTS** Y FRAP.

El análisis de DPPH* se basa en la eliminación de un radical orgánico como lo es el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH*), con base en la reducción de color **Figura 8**, este método reveló que no existe diferencias significativas entre los compuestos polifenólicos purificados analizados por cada método de extracción ($p < 0.05$) correspondiente a la localidad de San Jerónimo **Cuadro 8**. Respecto, a la evaluación de polifenoles extraídos de *Larrea tridentata* perteneciente a la localidad Estanque de León mediante el calentamiento óhmico alcanzó valores de 75 % de inhibición, las muestras obtenidas por una fase estacionaria y ultrasonido no presentaron diferencias estadísticamente significativas. Los resultados obtenidos se encuentran por debajo a lo reportado por Aguirre Joya *et al.* (2018), quienes obtuvieron un porcentaje de inhibición del 92% (Aguirre Joya *et al.*, 2018). En comparación, otro estudio ha demostrado la propiedad antiradicalaria mediante este ensayo obteniendo valores entre el 94 % de inhibición, quienes consiguieron extractos mediante diferentes solventes en diferentes concentraciones, sin tener diferencias en la eliminación del radical DPPH*, así mismo evaluaron el contenido de proteínas presentes en el extracto oscilando entre 5.79 y 131.84 mg/g de peso seco (Martins *et al.*, 2012). Las proteínas en combinación con polifenoles puede interferir en la capacidad antiradicalaria dando falsos positivos esto de acuerdo a Pérez y Saura (2006).

Cuadro 8.- Evaluación de la capacidad antiradicalaria: Método DPPH•.

Localidad	Fase Estacionaria % Inhibición	Ultrasonido % Inhibición	Calentamiento Óhmico % Inhibición
San Jerónimo	73.07 ± 1.87 a	73.048 ± 0.804 a	72.51 ± 1.74 a
Estanque de León	73.704 ± 0.717 a b	72.01 ± 2.23 b	75.681 ± 0.608 a

*Letras iguales significan que no hay diferencia estadística. Las pruebas fueron realizadas con una significancia a ($p < 0.05$).

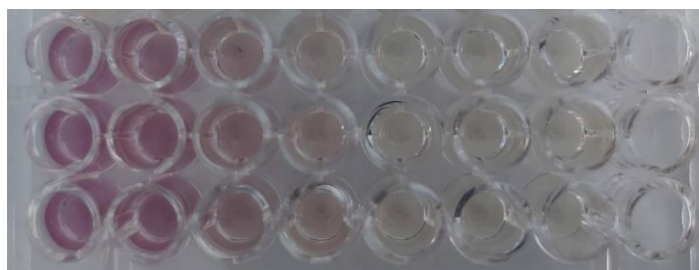


Figura 8.- Análisis de DPPH• de polifenoles de *Larrea tridentata*.

La determinación mediante el radical ABTS** se basa en la cuantificación de la de la decoloración del radical bajo la acción de los antioxidantes **Figura 9**. La aplicación de este radical ofrece grandes beneficios, debido a que implica un radical más drástico, produciéndose químicamente y tiene la capacidad de detectar antioxidantes complejos debido a su aplicabilidad tanto en la fase acuosa como lipídica (Skouta *et al.*, 2018).

De acuerdo a el análisis de varianza (ANVA) se encontraron diferencias estadísticas significativas en lo que respecta a la capacidad antiradicalaria a través de la técnica ABTS**, en el **Cuadro 9** se muestra el resultado de la capacidad antiradicalaria de compuestos polifenólicos de *Larrea tridentata*, en donde se puede observar que la muestra de la localidad Estanque de León extraída por la fase estacionaria fue la

única con mayor capacidad **antiradicalaria** con un 43.392 %, la extracción por ultrasonido y calentamiento óhmico no presentaron diferencias significativas; la capacidad antioxidante de los polifenoles de San Jerónimo no mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$). Investigaciones recientes han demostrado la capacidad antiradicalaria contra ABTS^{•+} inhibiendo el radical en un 97 %, el alto poder de inhibición puede variar debido a que se utilizó únicamente las hojas de *Larrea tridentata*, en comparación con el estudio realizado, en el cual se utilizaron tallos y hojas (Aguirre Joya *et al.*, 2018), teniendo como resultado una variación en la cantidad de grupos hidroxilo (OH) los cuales son responsables de conferir poder antiradicalaria de los polifenoles (Bautista Hernández *et al.*, 2021).

Cuadro 9.- Evaluación de la capacidad antiradicalaria: Método ABTS^{•+}.

Localidad	Fase Estacionaria % Inhibición	Ultrasonido % Inhibición	Calentamiento Óhmico % Inhibición
San Jerónimo	35.89 ± 2.75 a	40.06 ± 1.81 a	36.104 ± 1.598 a
Estanque de León	43.392 ± 0.78 a	28.5 ± 7.99 b	29.762 ± 1.516 b

*Letras iguales significan que no hay diferencia estadística. Las pruebas fueron realizadas con una significancia a ($p < 0.05$).

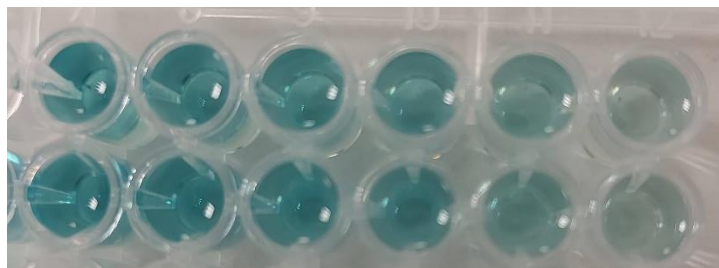


Figura 9.- Análisis de ABTS^{•+}, de polifenoles de *Larrea tridentata*.

El poder reductor férrico (FRAP) es un indicador del potencial de los polifenoles, sustentado en la capacidad de reducir metales de Fe³⁺ a Fe²⁺, el análisis estadístico no mostró una diferencia significativa entre lo obtenido por la localidad de San Jerónimo **Cuadro 10**, sin embargo, la localidad de Estanque de León mostró actividad reductora de más alta implementando una extracción por fase estacionaria con un valor de 59.01 Eq ácido gálico mg/L, ultrasonido y calentamiento óhmico presentaron un valor de 58.93 Eq ácido gálico mg/L y 56.33 Eq ácido gálico mg/L respectivamente.

Aguirre Joya y colaboradores (2018) implementaron el método FRAP en extractos de *Larrea tridentata*, demostrando tener actividad antiradicalaria obtenido un valor de 0.73 mM Fe(II)/g de peso seco. De acuerdo a Martins *et al.* (2012) otra manera de demostrar capacidad antiradicalaria por el método FRAP es aplicando metanol en el proceso de extracción obteniendo valores de 2.55 y 2.73 mM Fe(II)/g de peso seco de la planta, sin embargo, hay que tener en cuenta que debido a la toxicidad del solvente no es viable el uso de los polifenoles recuperados para su aplicación posterior.

Cuadro 10.- Evaluación de la capacidad reductora de metales: Método FRAP.

Localidad	Fase Estacionaria <i>Eq ácido gálico mg/L</i>	Ultrasonido <i>Eq ácido gálico mg/L</i>	Calentamiento Óhmico <i>Eq ácido gálico mg/L</i>
San Jerónimo	45.86 ± 4.44 a	49.08 ± 2.80 a	49.44 ± 2.02 a
Estanque de León	59.01 ± 4.63 a	58.93 ± 5.11 a	56.33 ± 4.63 a

*Letras iguales significan que no hay diferencia estadística. Las pruebas fueron realizadas con una significancia a (p<0.05).

4.4 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

El espectro FTIR se utiliza para identificar grupos funcionales en los componentes activos en función a la absorbancia máxima detectada en la radiación infrarroja, permitiendo que los enlaces químicos se puedan estirar, contraer o doblar con la radiación infrarroja aplicada (Owen, 2000). Esta es una técnica potente y versátil que puede utilizarse para analizar gases, líquidos y sólidos (Agilent Technologies, 2016). Para las biomoléculas, los espectros FTIR se representan principalmente en la región espectral del infrarrojo medio (IR medio), es decir, alrededor de 400-4000 cm^{-1} (Govindan *et al.*, 2021).

Los polifenoles extraídos de *Larrea tridentata* se evaluaron mediante Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier, las bandas principales se identificaron en la **Figura 10** para la localidad de San Jerónimo (SJ) comparado los 3 métodos de extracción (Fase estacionaria “FE”, Ultrasonido “UL” y Calentamiento Óhmico “CO”); la **Figura 11** presenta espectros de absorción FTIR representativos para la localidad Estanque de León (L) con respecto a los métodos de extracción.

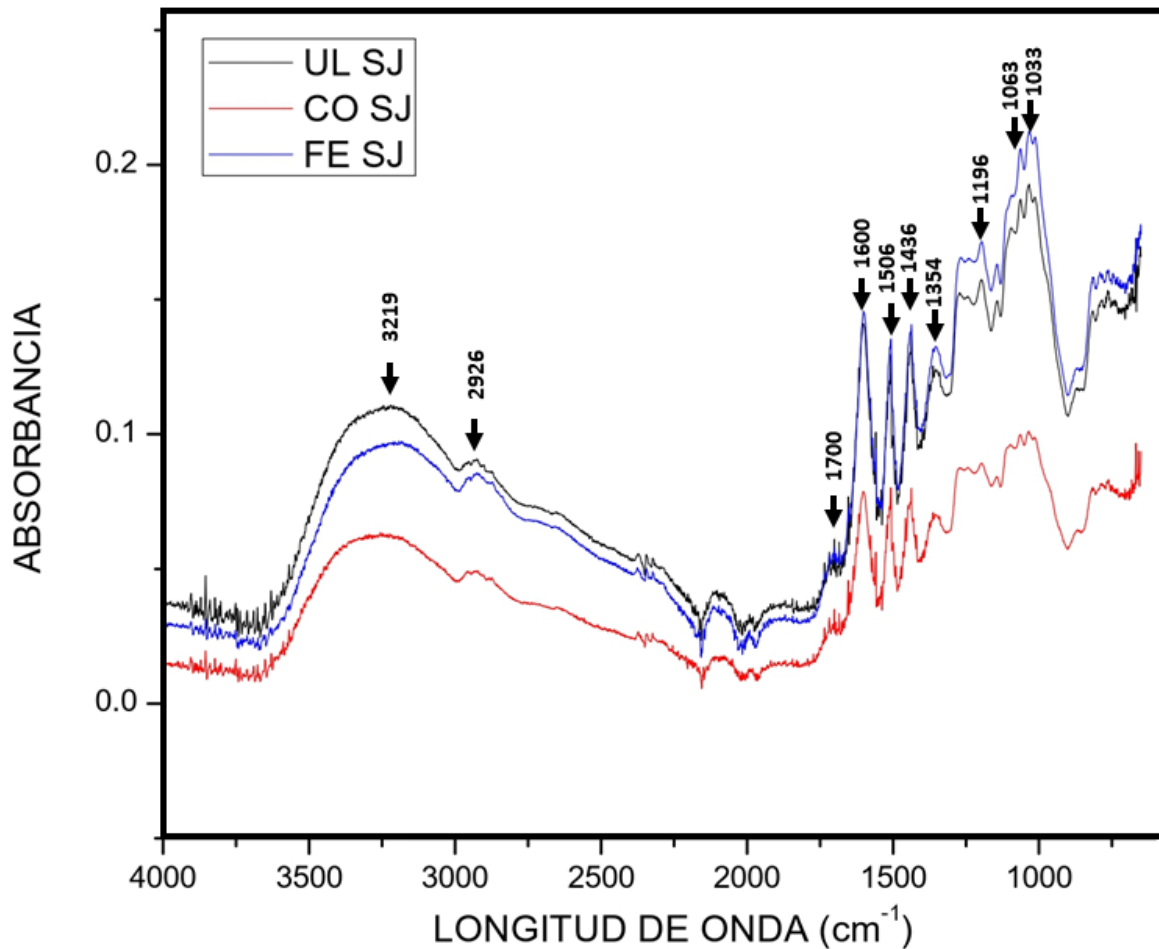


Figura 10.- Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de *Larrea tridentata* correspondiente a San Jerónimo, comparado con los 3 métodos de extracción.

**La longitud de onda está dada en cm^{-1} . FE SJ (extracción por fase estacionaria localidad San jerónimo); UL SJ (extracción por ultrasonido localidad San jerónimo); CO SJ (extracción por calentamiento óhmico localidad San jerónimo).

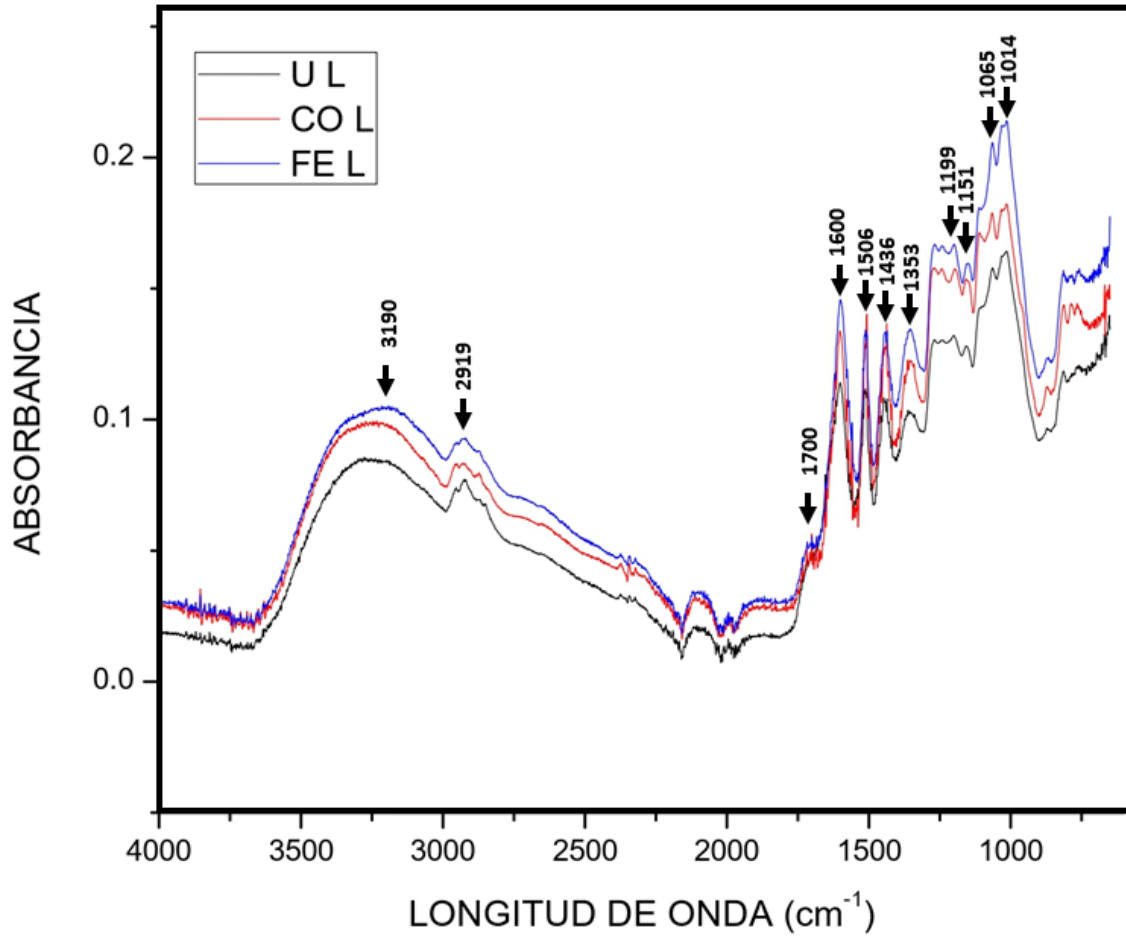


Figura 11.- Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de Larrea tridentata correspondiente a Estanque de León, comparado con los 3 métodos de extracción.

**La longitud de onda está dada en cm^{-1} . FE L (extracción por fase estacionaria localidad Estanque de León); UL L (extracción por ultrasonido localidad Estanque de León); CO L (extracción por calentamiento óhmico localidad Estanque de León);

En el área de absorción de los 3500 a 3000 cm^{-1} indica la presencia de grupo funcional OH en compuestos alcohólicos aromáticos, alifáticos y fenólicos hidrogenados; y el estiramiento de los enlaces N-H en el grupo amino (amina primaria, primaria alifática y amina secundaria) (Sun *et al.*, 2017). En este intervalo se identificaron vibraciones a 3219 cm^{-1} y 3190 cm^{-1} para la localidad de San Jerónimo y Estanque de León respectivamente, el poder antioxidante para los polifenoles obtenidos de *Larrea tridentata* puede explicarse por la vibración en este intervalo, debido a que la cantidad de grupos hidroxilo (OH) en una estructura química, son responsables de conferir dicha capacidad.

Para la localidad de San Jerónimo y Estanque de León se presentó vibración a 2926 y 2919 cm^{-1} respectivamente, en este intervalo se puede observar las vibraciones de estiramiento C-H debido al alargamiento de los grupos metilo y metileno presentes en los compuestos aromáticos (Dos Santos Grasel *et al.*, 2016).

En la región de 1700 y 1600 cm^{-1} se pueden ver la presencia del grupo N-H, ¹ pertenece al estiramiento de compuestos con un anillo aromático que puede corresponder a amidas o aminas aromáticas; la banda de absorción vibratoria en 1506 cm^{-1} se presenta una fuerte absorción del grupo N-O que corresponde a compuestos nitrogenados (Bautista Hernández *et al.*, 2021).

La identificación de lípidos y proteínas pertenece a la vibración de flexión del metileno (CH_2) ubicado en la banda de absorción a 1435 cm^{-1} , las muestras de gobernadora presentan una fuerte absorción a 1436 cm^{-1} dado como resultado la presencia de estos compuestos (Christou *et al.*, 2018).

En la longitud de onda entre 1300 a 1000 cm^{-1} , se identificó una absorción en 1196 cm^{-1} , 1063 cm^{-1} y 1033 cm^{-1} para la localidad de San Jerónimo, y para Estanque de León en 1199 cm^{-1} , 1151 cm^{-1} y 1065 cm^{-1} , en esta región se encuentra el estiramiento de O-H en polifenoles, C-O en alcoholes y C-H que indican la presencia de ácidos carboxílicos aromáticos (Stuart, 2004).

De acuerdo con Bañuelos y colaboradores (2018), el análisis FTIR realizado a extractos de *Larrea tridentata* identificaron la presencia de compuestos alcohólicos

aromáticos, alifáticos, fenólicos hidrogenados, compuestos aromáticos, aminas aromáticas, estiramiento de O-H en polifenoles, C-O en alcoholes y C-H de ácidos carboxílicos aromáticos denotando una similitud al espectro realizado para la localidad de San Jerónimo y Estanque de León (Bañuelos Valenzuela *et al.*, 2018).

Yang-Ying *et al.* (2017), hace mención que el análisis FTIR puede ser una herramienta útil para proporcionar información sobre los cambios ocurridos por el proceso de un alimento (Ying *et al.*, 2017); en la **Figura 10** y **11**, el análisis confirmó que la composición de las muestras varía de acuerdo al método de extracción con respecto a la localidad de San Jerónimo y Estanque de León, debido la absorción de las moléculas en el espectro infrarrojo.

V. CONCLUSIONES

Los análisis proxiamles de (*Larrea tridentata*) mostraron mejores resultados para la localidad de San Jerónimo con 7.204 ± 0.092 , 5.509 ± 0.474 g 100g^{-1} y 12.3 g 100g^{-1} para ceniza, grasas y proteína respectivamente destacando el impacto de las condiciones geográficas y climáticas de cultivo.

De los métodos de extracción, se obtuvieron mejores resultados en la extracción asistida por ultrasonido con el 54.58 mg/g para la localidad de SJ y para la localidad de EL (43.50 mg/g), respectivamente. Sin embargo, la actividad antiradicalaria por el método DPPH[•] arrojó mejores resultados evaluando los polifenoles extraídos mediante el calentamiento óhmico alcanzando valores de 75 % de inhibición para EL. Por su parte, el método de fase estacionaria presentó el mayor porcentaje de inhibición con un 43.392 % de inhibición para EL en el método ABTS^{•+}, mientras que FRAP no presentó diferencias (59.01 Eq ácido gálico mg/L para EL).

El análisis FTIR proporcionó información sobre las principales bandas vibratorias, identificando la presencia de grupos funcionales como el grupo hidroxilo (O-H), alcohólicos aromáticos, alifáticos, compuestos aromáticos, aminas aromáticas, C-O en alcoholes y C-H de ácidos carboxílicos aromáticos relacionados a compuestos polifenólicos como el grupo hidroxilo (O-H), alcohólicos aromáticos, alifáticos, compuestos aromáticos, aminas aromáticas, C-O en alcoholes y C-H de ácidos carboxílicos aromáticos. Además, las diferencias en la absorbancia observadas en el espectro IR para las localidades proporcionan información sobre los cambios ocurridos en el proceso de extracción de los polifenoles.

VI. LITERATURA CITADA

- Abou Gazar, H., Bedir, E., Takamatsu, S., Ferreira, D., & A. Khan, I. (2004). Antioxidant lignans from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry*, 65, 2499–2505. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.07.009>
- Agilent Technologies. (2016). *Fundamentos de Espectroscopia Molecular: Hardware*.
- Aguilar Paredes, O. A., Castillo Guevara, C., Díaz Godínez, R., Nieto Camacho, A., & Méndez Iturbide, D. (2018). Antioxidants and inhibition of free radicals: lipoperoxidation and carbonylation. *Mexican Journal of Biotechnology*, 3(1), 60–72. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2018.3.1.60>
- 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), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00942>
- Alvarado Vázquez, M. A., Salcedo Martínez, S. M., & Vargas López, V. R. (2015). Planta. *Planta*, 21, 36–38. http://www.fcb.uanl.mx/nw/images/revistas/planta_rev/planta-no21.pdf
- AOAC, (Association of Official Analytical Chemists). (1990). Official methods of analytical chemist. *Association of Official Analytical Chemists*.
- Arana Torres, N. M. (2021). *Monografía: Una revisión de los beneficios en la salud humana y métodos de extracción de compuestos bioactivos de Vaccinium meridionale*. [http://www.repositorio.unf.edu.pe/bitstream/handle/UNF/100/19.NANCY MARIBEL ARANA TORRES.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://www.repositorio.unf.edu.pe/bitstream/handle/UNF/100/19.NANCY%20MARIBEL%20ARANA%20TORRES.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- 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. A., Aguilera Carbó, A., Martínez Hernández, J. L., Rodríguez Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2010). Euphorbia antisiphilitica residues as a new source of ellagic acid. *Chemical Papers*, 64(4), 528–532. <https://doi.org/10.2478/s11696-010-0034-6>

- Bañuelos Valenzuela, R., Delgadillo Ruiz, L., Echavarría Cháirez, F., Delgadillo Ruiz, O., & Meza López, C. (2018). Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisa ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Agrociencia*, 52, 309–321. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952018000300309
- Bautista Hernández, I., Aranda Ledesma, N. E., Rojas, R., Tafolla Arellano, J. C., & Martínez Ávila, G. C. G. (2021). Antioxidant activity of polyphenolic compounds obtained from *Euphorbia antisiphilitica* by-products. *Heliyon*, 7(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06734>
- Belchior, V., Botelho, B. G., & Franca, A. S. (2022). Comparison of Spectroscopy-Based Methods and Chemometrics to Confirm Classification of Specialty Coffees. *Foods*, 11(11), 1655. <https://doi.org/10.3390/foods11111655>
- Bouyanfif, A., Liyanage, S., Hequet, E., Moustaid-Moussa, N., & Abidi, N. (2018). Review of FTIR microspectroscopy applications to investigate biochemical changes in *C. elegans*. *Vibrational Spectroscopy*, 96, 74–82. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2018.03.001>
- Brand Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Castillo Garcia, B. (2012). *Monografía: Larrea tridentata (Sessé & Mo . ex DC .) Coville.* 28. http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1044/T19598_GARCIA_CASTILLO%2C_BERNARDO_MONOG.62489.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Christou, C., Agapiou, A., & Kokkinofta, R. (2018). Use of FTIR spectroscopy and chemometrics for the classification of carobs origin. *Journal of Advanced Research*, 10, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.12.001>
- Dos Santos Grasel, F., Flores Ferrao, M., & Wolf, C. R. (2016). Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular*

- and *Biomolecular Spectroscopy*, 153, 94–101.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.08.020>
- Fernández Pachón, S., Villaño, D., Troncoso, A., & García Parrilla, C. (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), 1–15.
- Frankel, E. N. (2012). Antioxidant protocols for foods and biological systems. In *Antioxidants in Food and Biology* (pp. 77–104).
<https://doi.org/10.1533/9780857097903.77>
- García, J. E., Gómez, L., Mendoza-de-Gives, P., Rivera-Corona, J. L., Millán-Orozco, J., Ascacio, J. A., Medina, M. A., & Mellado, M. (2018). Anthelmintic efficacy of hydro-methanolic extracts of *Larrea tridentata* against larvae of *Haemonchus contortus*. *Tropical Animal Health and Production*, 50(5), 1099–1105. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1535-5>
- Gong, Y. Z., Ding, W. G., Wu, J., Tsuji, K., Horie, M., & Matsuura, H. (2008). Cinnamyl-3,4-dihydroxy- α -cyanocinnamate and nordihydroguaiaretic acid inhibit human Kv1.5 currents independently of lipoxygenase. *European Journal of Pharmacology*, 600(1–3), 18–25.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.10.010>
- González, M. C., Betancourt, M., & Ortiz, R. (2000). Daño Oxidativo y Antioxidantes. *Bioquímica*, 25(1), 3–9. <https://www.redalyc.org/pdf/576/57611797001.pdf>
- Govindan, R., Banerjee, P., Dhanial, N. K., & Senapati, S. (2021). FTIR based approach to study EnaC mechanosensory functions. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 167(xxxx), 79–86.
<https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2021.07.004>
- Guerrero-Cervantes, M., Ramírez, R. G., González-Rodríguez, H., Cerrillo-Soto, A., & Juárez-Réyes, A. (2012). Mineral content in range forages from north Mexico. *Journal of Applied Animal Research*, 40(2), 102–107.
<https://doi.org/10.1080/09712119.2011.607907>
- Hernández Baez, I., García López, J. C., Espinosa Reyes, G., Lee Rangel, H. A., Faz Colunga, D. Á., & Pinos Rodríguez, J. M. (2019). Creosote bush (*Larrea*

- tridentata) biomass as fodder for sheep. *Revistas Chapingo Serie Zonas Áridas*, 18(2), 1–9. <https://doi.org/10.5154/r.rchsza.2019.09.023>
- Hernández Zamudio, G., Sáenz Mata, J., Moreno Reséndez, A., Castañeda Gaytán, G., Ogaz, A., Carballar Hernández, S., & Hernández Cuevas, L. (2017). Temporal diversity dynamics of the arbuscular mycorrhizal fungi of *Larrea tridentata* (Sesse & Mocino ex DC) Coville in a semi-arid ecosystem. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(3), 301–310. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.07.007>
- Holmgren, C. A., Hunter, K. L., & Betancourt, J. L. (2019). Creosote bush (*Larrea tridentata*) ploidy history along its diploid-tetraploid boundary in southeastern Arizona-southwestern New Mexico, USA. *Journal of Arid Environments*, 164(February), 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2019.02.002>
- Kuskoski, M., Asuero, A., Troncoso, A., & Mancini Filho, J. (2005). Aplicacion de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 25(4), 726–732. <https://doi.org/10.1007/s10877-009-9165-0>
- Lajtha, K. (1987). Nutrient reabsorption efficiency and the response to phosphorus fertilization in the desert shrub *Larrea tridentata* (DC.) Cov. *Biogeochemistry*, 4(3), 265–276. <https://doi.org/10.1007/BF02187370>
- Lambert, J. D., Sang, S., Dougherty, A., Caldwell, C. G., Meyers, R. O., Dorr, R. T., & Timmermann, B. N. (2005). Cytotoxic lignans from *Larrea tridentata*. *Phytochemistry*, 66(7), 811–815. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.02.007>
- Liao, J., Guo, Z., & Yu, G. (2021). Process intensification and kinetic studies of ultrasound-assisted extraction of flavonoids from peanut shells. *Ultrasonics Sonochemistry*, 76, 105661. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105661>
- Lira Saldívar, R. H. (2003). Estado Actual del Conocimiento sobre las Propiedades Biocidas de la Gobernadora [*Larrea tridentata* (D.C.) Coville]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(2), 214–222. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61221217.pdf>
- Llacuna, L., & Mach, N. (2012). Papel de los antioxidantes en la prevención del

- cáncer. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 16(1), 16–24. [https://doi.org/10.1016/S2173-1292\(12\)70067-4](https://doi.org/10.1016/S2173-1292(12)70067-4)
- López Aguirre, S., Pinos Rodríguez, J. M., Álvarez Fuentes, G., García López, J. C., & Méndez Cortes, H. (2020). Uso potencial de extractos de Creosote bush (*Larrea tridentata*) como desinfectante sobre *Salmonella typhimurium* en instalaciones avícolas. *Informacion Tecnica Economica Agraria*, 116, 294–305. <https://doi.org/10.12706/itea.2020.004>
- Martins, S., Aguilar, C. N., Teixeira, J. A., & Mussatto, S. I. (2012). Bioactive compounds (phytoestrogens) recovery from *Larrea tridentata* leaves by solvents extraction. *Separation and Purification Technology*, 88, 163–167. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2011.12.020>
- Mata Miranda, M. M., Guerrero Robles, C. I., Rojas López, M., Delgado Macuil, R. J., González Díaz, C. A., Sánchez Monroy, V., Pérez Ishiwara, D. G., & Vázquez Zapién, G. J. (2017). Principal Components by FTIR Spectroscopy as Innovative Characterization Technique during Differentiation of Pluripotent Stem Cells to Pancreatic Cells. *Revista Mexicana de Ingenieria Biomedica*, 38(1), 225–234. <https://doi.org/10.17488/RMIB.38.1.17>
- Mercado Mercado, G., Carrillo, L. de la R., Wall Medrano, A., López Díaz, J. A., & Álvarez Parrilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutricion Hospitalaria*, 28(1), 36–46. <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6298>
- Morillas Ruiz, J., & Delgado Alarcón, J. (2012). Nutritional analysis of vegetable food with different origins: Evaluation of antioxidant capacity and phenolic total compounds. *Nutr. Clín. Diet. Hosp*, 32(2). www.naturcol.es
- Movasaghi, Z., Rehman, S., & Rehman, I. U. (2008). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134–179. <https://doi.org/10.1080/05704920701829043>
- Muñiz Márquez, D. B., Martínez Ávila, G. C., Wong Paz, J. E., Belmares Cerda, R., Rodríguez Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2013). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1149–1154.

- <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.02.008>
- Owen, T. (2000). Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy. In *Hewlett-Packard Company*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Palacio, L., Cantero, J. J., Cusidó, R. M., & Goleniowski, M. E. (2012). Phenolic compound production in relation to differentiation in cell and tissue cultures of *Larrea divaricata* (Cav.). *Plant Science*, 193–194, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2012.05.007>
- Pérez Jiménez, J., & Saura Calixto, F. (2006). Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International*, 39(7), 791–800. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.02.003>
- Rioja Atezana, A., E. Vizaluque, B., Aliaga Rossel, E., Tejada, L., Book, O., Mollinedo, P., & Peñarrieta, M. (2018). Determination of the total antioxidant capacity, total phenols, and the enzymatic activity in a non-dairy beverage based on grains of chenopodium quinoa. *Revista Boliviana de Química*, 35(5), 168–176. <https://www.redalyc.org/journal/4263/426358213006/html/#:-:text=Las pruebas de actividad antioxidante,de la Capacidad Antioxidante Total>.
- Rzedowski, J., & Calderón, G. (1994). Flora del Bajío y de regiones adyacentes. *Trabajo*, 11–15. <http://www1.ecologia.edu.mx/publicaciones/resumeness/FLOBA/Flora 78.pdf>
- Sagaste, C. A., Montero, G., Coronado, M. A., Ayala, J. R., León, J., García, C., Rojano, B. A., Rosales, S., & Montes, D. G. (2019). Creosote bush (*larrea tridentata*) extract assessment as a green antioxidant for biodiesel. *Molecules*, 24(9), 1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules24091786>
- Sandhu, A. K., & Gu, L. (2013). Adsorption/desorption characteristics and separation of anthocyanins from Muscadine (*Vitis rotundifolia*) juice pomace by use of macroporous adsorbent resins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(7), 1441–1448. <https://doi.org/10.1021/jf3036148>
- SEGOB, (Secretaría de Gobernación). (2011). *MX-F-608-NORMEX-2011 ALIMENTOS-DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS EN ALIMENTOS-MÉTODO DE ENSAYO (PRUEBA) (CANCELA A LA NMX-F-608-NORMEX-2002), CUYA DECLARATORIA DE VIGENCIA FUE PUBLICADA EN EL DIARIO OFICIAL*

DE LA FEDERACIÓN EL 12 DE SEPTIEMBRE DE 2011. 2011.

- SEMARNAT, (Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales). (2009). *Manual que establece los criterios técnicos para el aprovechamiento sustentable de recursos forestales no maderables de clima árido y semiárido*. http://centro.paot.org.mx/documentos/semarnat/Manual_Clima_arido.pdf
- 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), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules23071826>
- Stuart, B. (2004). *Infrared Spectroscopy: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
- Suktham, T., Jones, A., Soliven, A., Dennis, G. R., & Shalliker, R. A. (2019). A comparison of the performance of the cupric reducing antioxidant potential assay and the ferric reducing antioxidant power assay for the analysis of antioxidants using reaction flow chromatography. *Microchemical Journal*, 149, 104046. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104046>
- Sun, L., Sun, J., Chen, L., Niu, P., Yang, X., & Guo, Y. (2017). Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. *Carbohydrate Polymers*, 163(17), 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.016>
- System Integrated Taxonomic Information, (ITIS). (2021). *Larrea tridentata*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=29051#null
- Treviño Cueto, B., Luis, M., Contreras Esquivel, J. C., Rodríguez, R., Aguilera, A., & Aguilar, C. N. (2007). Gallic acid and tannase accumulation during fungal solid state culture of a tannin-rich desert plant (*Larrea tridentata* Cov.). *Bioresource Technology*, 98(3), 721–724. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.02.015>
- Valderrama Gutiérrez, F. (2018). Ohmic heater for extracting essential oils from aromatic plants. *Scientia et Technica*, 23(2), 160–167. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6643331>
- Valencia Aviles, E., Ignacio Figueroa, I. ván, Sosa Martinez, E., Bartolomé

- Camacho, M. C., Martínez Flores, H. E., & García Pérez, M. E. (2017). Polyphenols: antioxidant and toxicological properties. *Revista de La Facultad de Ciencias Químicas*, 16(Octubre), 15–29.
- Vilaplana, M. (2007). Antioxidantes presentes en los alimentos. *Ambito Farmaceutico Nutricion*, 26(10), 79–86. <http://http://zl.elsevier.es>
- Ying, D. Y., Hlaing, M. M., Lerisson, J., Pitts, K., Cheng, L., Sanguansri, L., & Augustin, M. A. (2017). Physical properties and FTIR analysis of rice-oat flour and maize-oat flour based extruded food products containing olive pomace. *Food Research International*, 100, 665–673. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.062>
- Zhong, Y., & Shahidi, F. (2015). Methods for the assessment of antioxidant activity in foods. In *Handbook of Antioxidants for Food Preservation* (Issue 2005). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-089-7.00012-9>
- Zojaji, I., Esfandiarian, A., & Taheri Shakib, J. (2021). Toward molecular characterization of asphaltene from different origins under different conditions by means of FT-IR spectroscopy. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 289, p. 102314). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102314>

VII. ANEXOS

Resultados de Análisis Estadístico

Comparación de medias extracción de polifenoles:

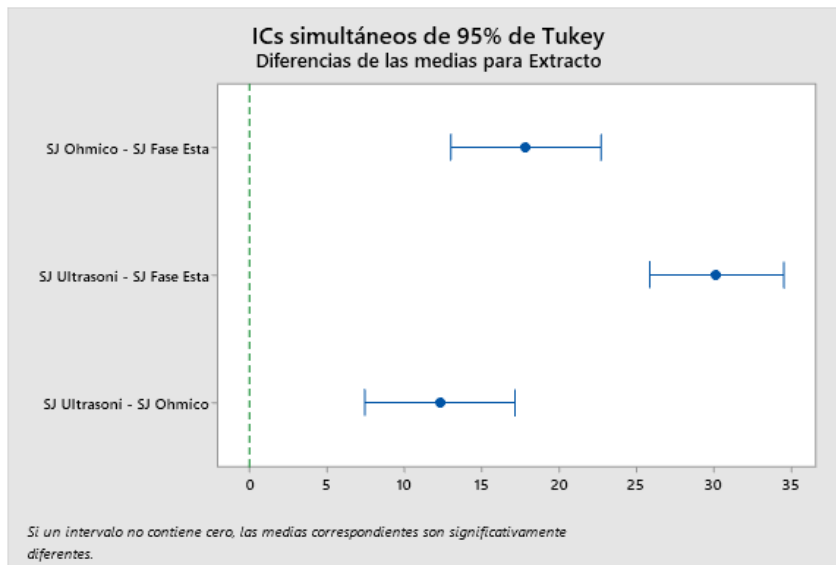
- **San Jerónimo:**

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Localidades	N	Media	Agrupación
SJ Ultrasonido	3	54.58	A
SJ Ohmico	2	42.271	B
SJ Fase Estacionaria	3	24.409	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



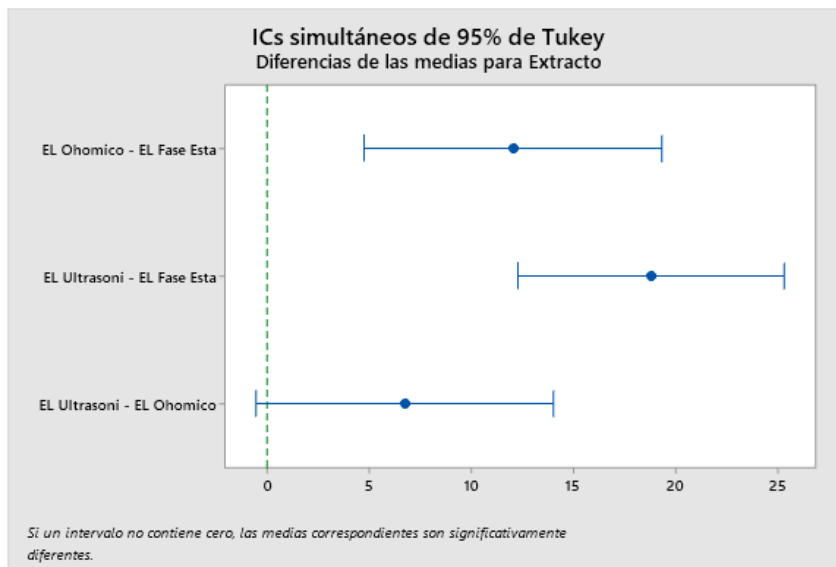
- **Estanque de León:**

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Localidad	N	Media	Agrupación
EL Ultrasonido	3	43.508	A
EL Ohomico	2	36.756	A
EL Fase Estacionaria	3	24.72	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



Comparación de medias extracción de técnicas de antioxidantes:

DPPH:

- **San Jerónimo:**

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

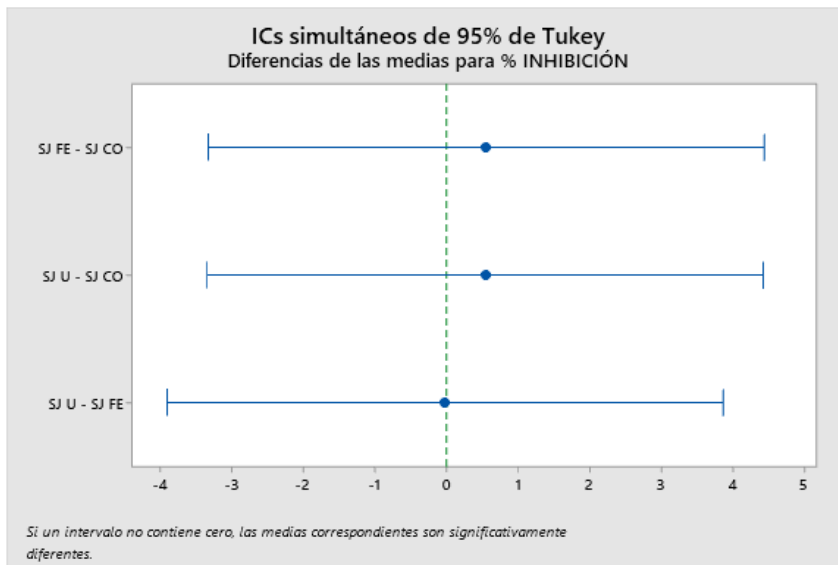
EJIDO N Media Agrupación

SJ FE 3 73.07 A

SJ U 3 73.048 A

SJ CO 3 72.51 A

Las medias que no compartan una letra son significativamente diferentes.



- Estanque de León:

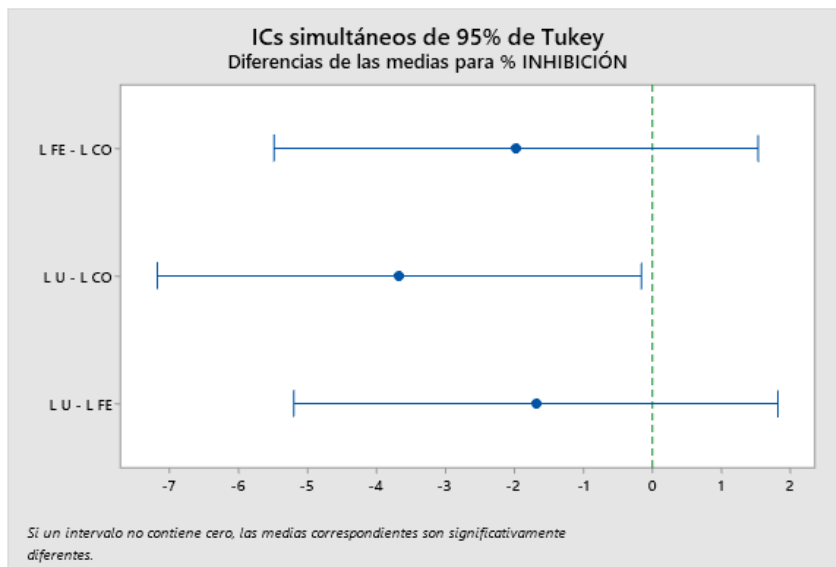
Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

EJIDO N Media Agrupación

L CO	3	75.681	A
L FE	3	73.704	A B
L U	3	72.01	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



ABTS:

- **San Jerónimo:**

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Ejido N Media Agrupación

SJ U 3 40.06 A

SJ CO 3 36.104 A

SJ FE 3 35.89 A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

- **Estanque de León:**

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

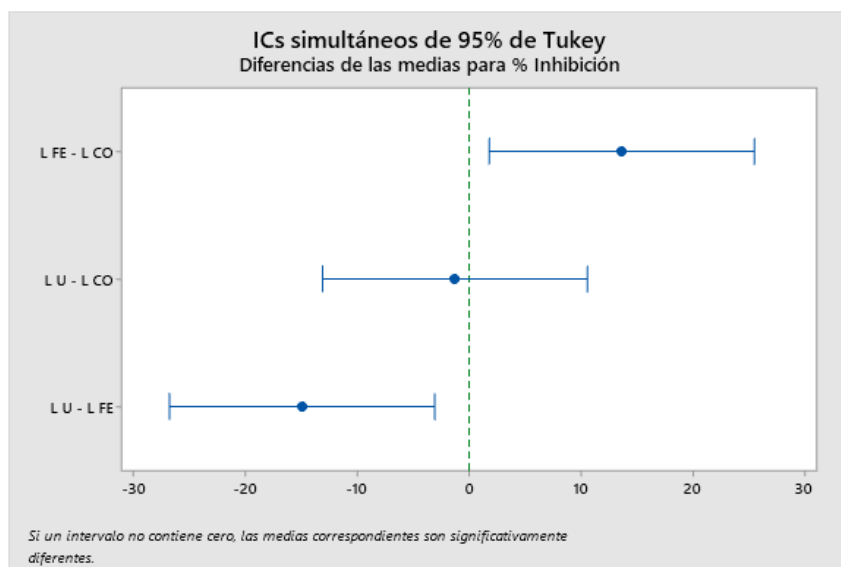
Ejido N Media Agrupación

L FE 3 43.392 A

L CO 3 29.762 B

L U 3 28.50 B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



FRAP:

- **San Jerónimo:**

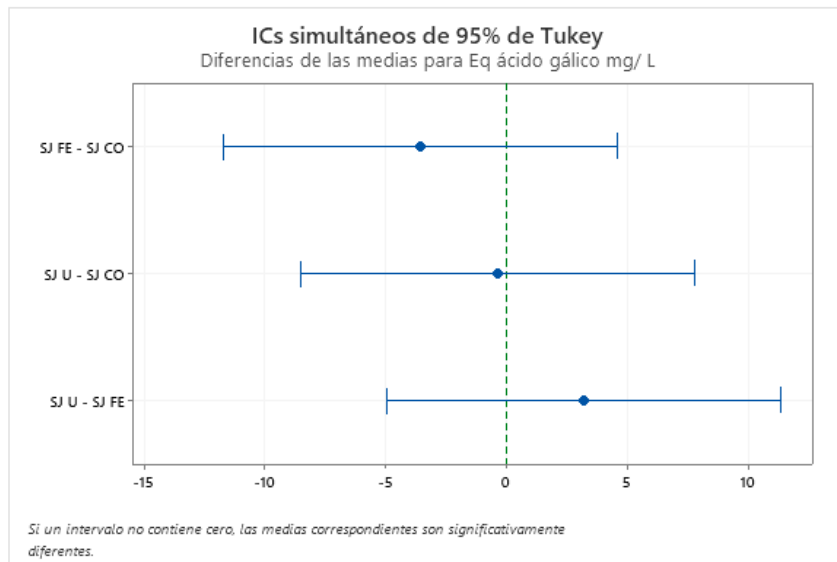
Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

LOCALIDAD N Media Agrupación

SJ CO	3	49.44	A
SJ U	3	49.08	A
SJ FE	3	45.89	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.



- **Estanque de León:**

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

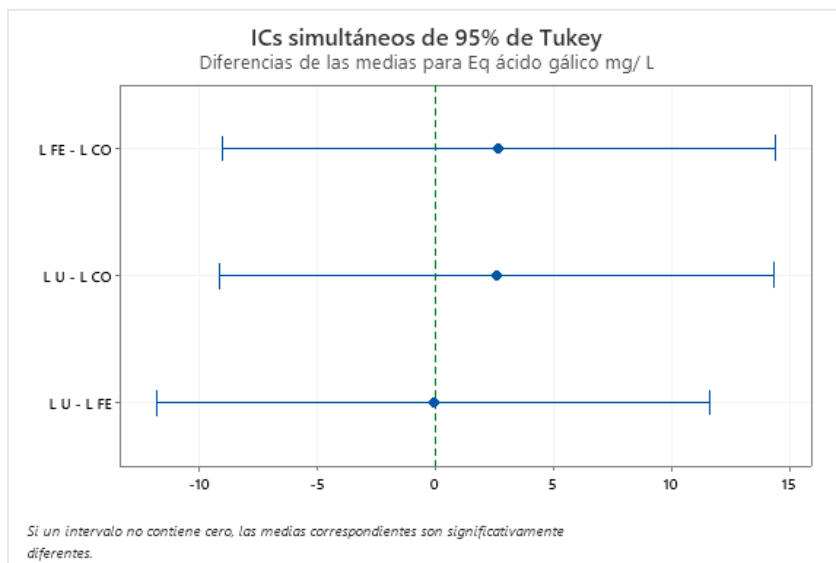
LOCALIDAD N Media Agrupación

L FE 3 59.01 A

L U 3 58.93 A

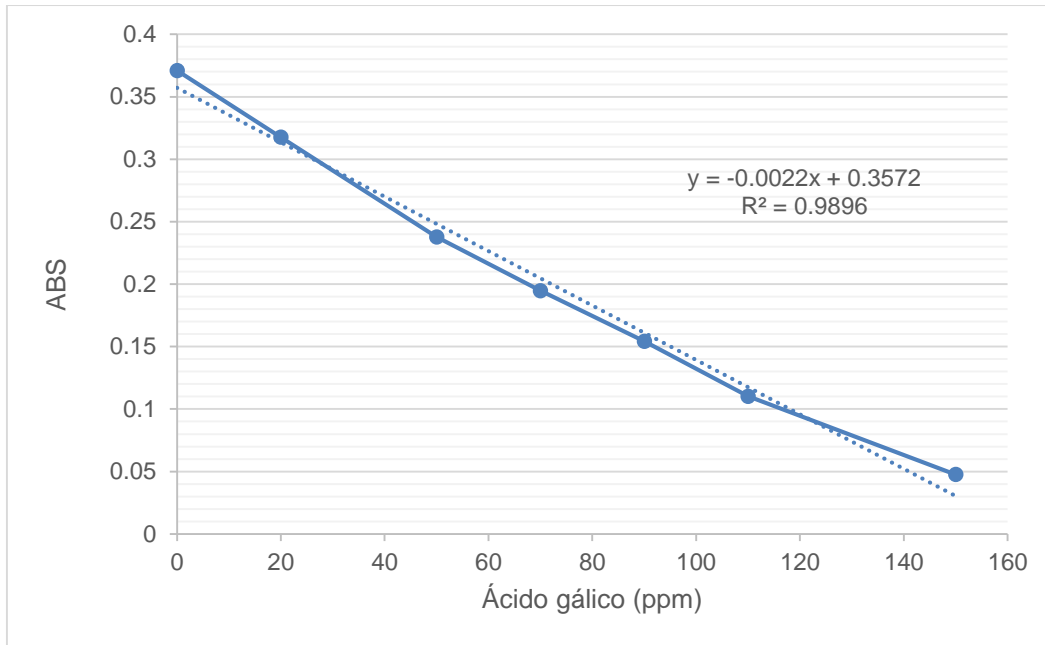
L CO 3 56.33 A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

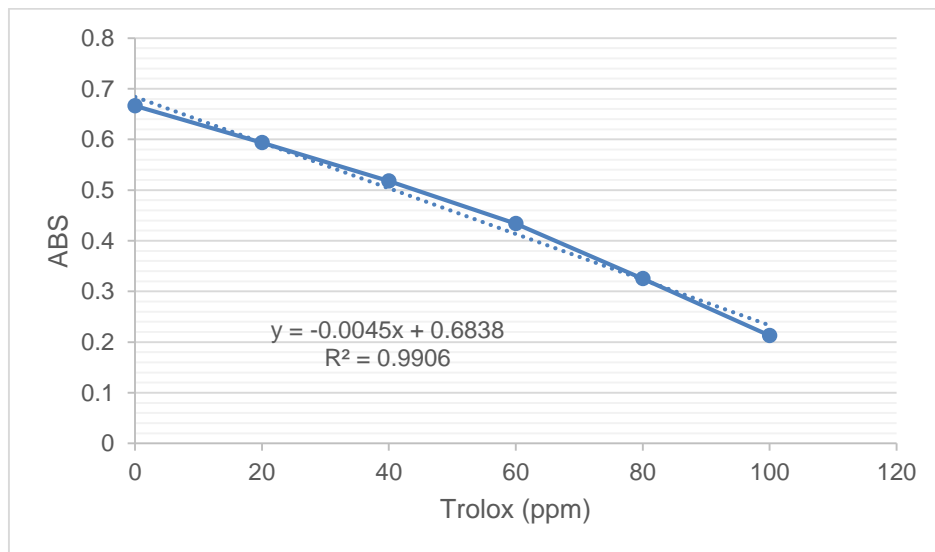


Curvas de Calibración:

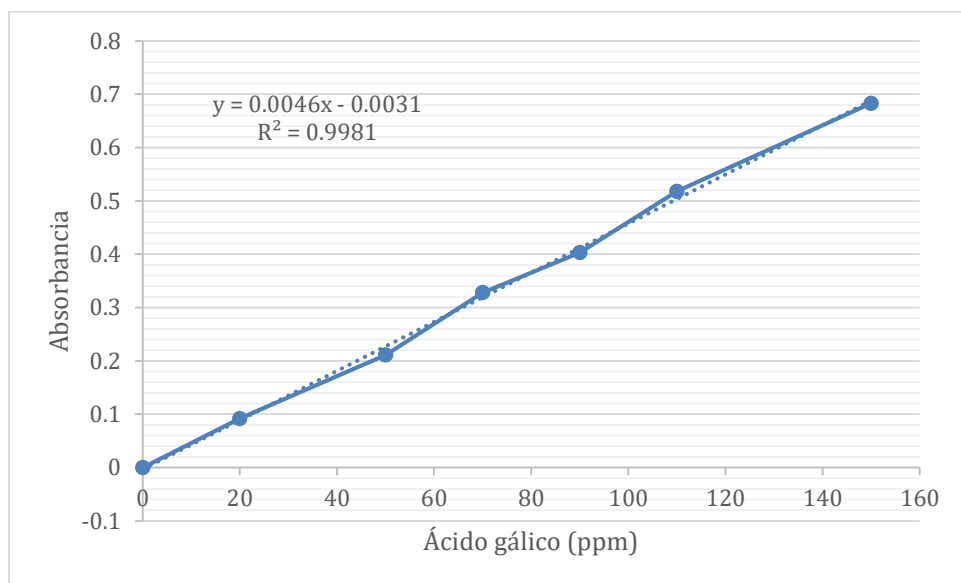
DPPH:



ABTS:

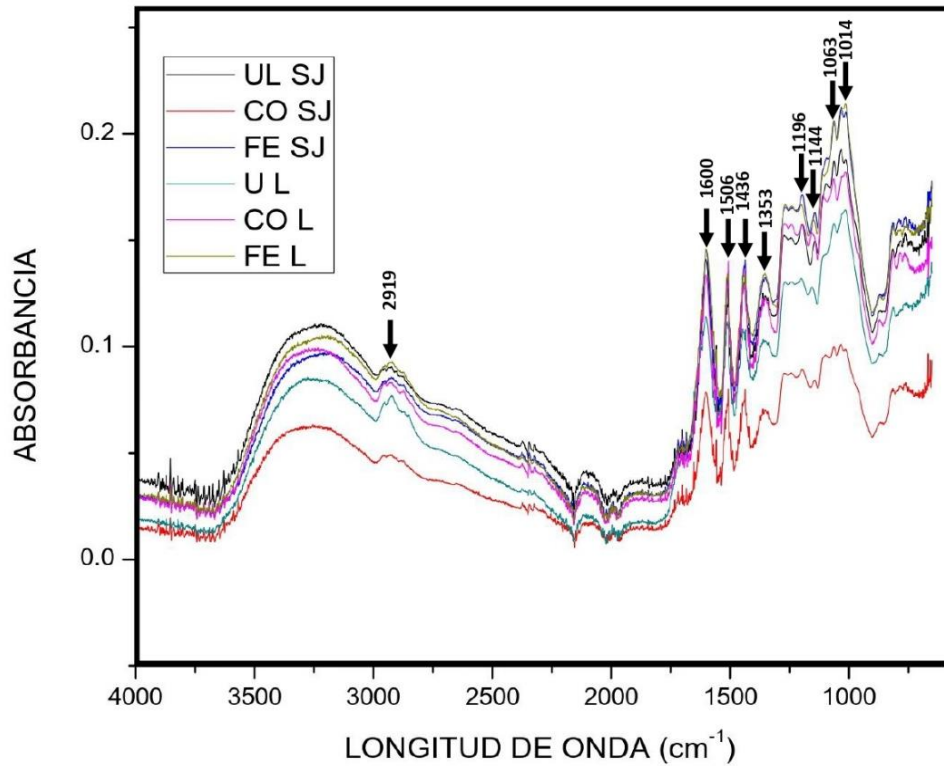


FRAP:



Análisis Infrarrojo transformado de Fourier (FTIR).

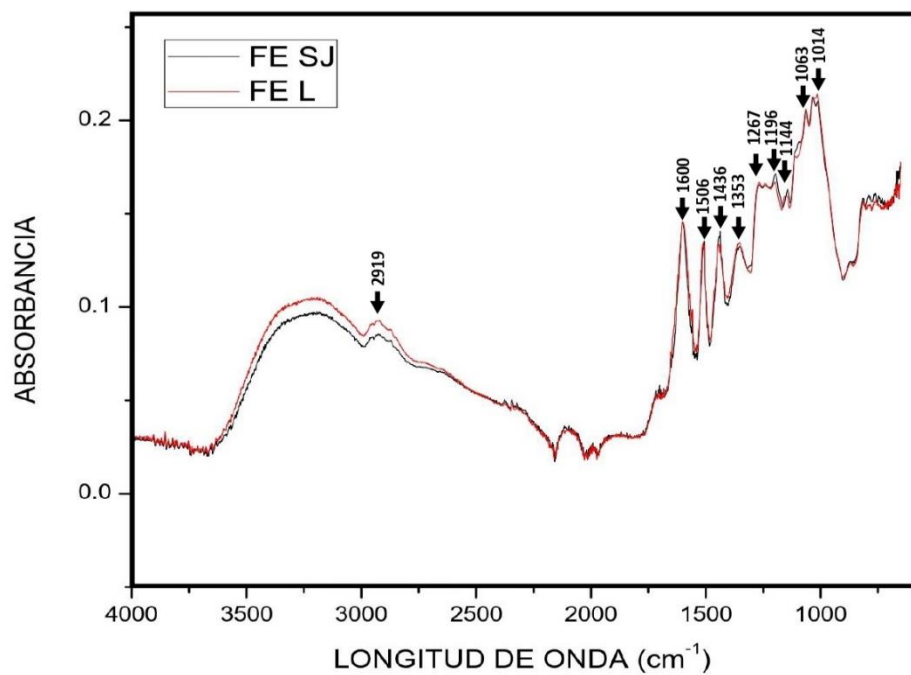
Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de *Larrea tridentata*:



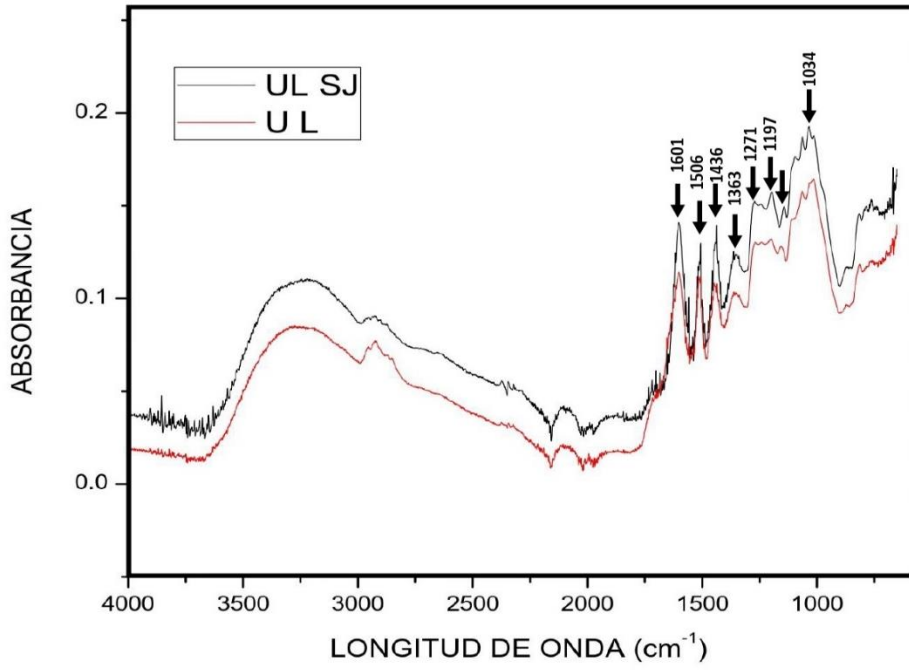
Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de *Larrea tridentata*. Localidades: SJ (San Jerónimo), L (Estanque de León); Método de extracción: FE (Fase estacionaria), UL (ultrasonido) y CO (calentamiento óhmico). **La longitud de onda está dada en cm⁻¹

Comparación por método de extracción:

- Fase estacionaria:



- **Ultrasonido:**



- **Calentamiento óhmico:**

