

Evaluación de la actividad antioxidante de compuestos fenólicos extraídos con microondas de residuos de cáscara de nuez pecanera

K. Cortés-Marín¹, O. Gaspar-Ramírez², E. Salas-Espinoza² y N. Reyes-Vázquez*²

1 Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Pedro de Alba, Niños Héroes, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L. **2** Subsele Noreste. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C. Vía de la Innovación 404. Autopista Mty-Aeropuerto Km 10, Parque PIIT. C.P. 66629. Apodaca, Nuevo León, México. *nreyes@ciatej.mx

RESUMEN

México es un productor de nuez pecanera con 179 mil toneladas en 2019, de la cual 50% es cáscara que resulta una biomasa con gran biodisponibilidad. En este trabajo se utilizó extracción asistida con microondas (EAM) evaluando primeramente temperatura (75 y 95°C), y posteriormente tipo de solvente (Agua y Etanol 50% p/v) y tiempo de extracción (15 y 35min) en cáscaras criolla de Rayones (CR) y Chihuahua (CCh) sobre la obtención de polifenoles totales y actividad antioxidante mediante la remoción del radical DPPH y ABTS. Entre los resultados iniciales destaca que a 75°C CR obtuvo una mayor extracción de bioactivos presentando valores de 274.59 mgGAE/g extracto con 17960 y 2398.86 $\mu\text{molET/g}$ extracto de remoción de DPPH y ABTS que representa 33.64 y 68.53% de inhibición para el primero y segundo respectivamente. Además, se confirmó que a 75°C durante 15min utilizando etanol 50% se obtuvieron resultados adecuados para CR con 470.30 mgGAE/g extracto y 36.77% de inhibición (25650 $\mu\text{molET/g}$ extracto remoción DPPH) y para CCh 442.86 mgGAE/g extracto con 46.87% inhibición (32750 $\mu\text{molET/g}$ extracto remoción DPPH). Por lo que EAM es una tecnología verde prometedora en la obtención de fitocompuestos con actividad antioxidante de la cáscara de nuez pecanera.

Palabras clave: Extracción asistida por microondas, contenido total de polifenoles, DPPH, ABTS, cáscara de nuez, % inhibición.

ABSTRACT

México is a producer of pecan nuts with 179 thousand tons in 2019, of which 50% is shell, resulting in biomass with great bioavailability. In this work, microwave assisted extraction (MAE) was used, first evaluating temperature (75 and 95°C), and then type of solvent (Water and Ethanol 50% w/v) and extraction time (15 and 35min) in Creole shells. de Rayones (CR) and Chihuahua (CCh) on obtaining total polyphenols and antioxidant activity by removing the DPPH and ABTS radicals. Among the initial results, it stands out that at 75°C CR obtained a greater extraction of bioactives, presenting values of 274.59 mgGAE/g extract with 17960 and 2398.86 $\mu\text{molET/g}$ extract of DPPH and ABTS removal, which represents 33.64 and 68.53% inhibition for the first and second respectively. In addition, it was confirmed that at 75°C for 15min using 50% ethanol adequate results were obtained for CR with 470.30 mgGAE/g extract and 36.77% inhibition (25650 $\mu\text{molET/g}$ extract DPPH removal) and for CCh 442.86 mgGAE/g extract with 46.87% inhibition (32750 $\mu\text{molET/g}$ DPPH removal extract). Therefore, EAM is a promising green technology for obtaining phytochemicals with antioxidant activity from pecan nut shells.

Keywords: Microwave assisted extraction, total polyphenol content, DPPH, ABTS, walnut shell, % inhibition.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años México se ha posicionado como un actor importante en el mercado de la nuez pecanera hasta escalar al primer puesto en exportación mundial. El gran potencial de producción de nuez pecanera demostrado por México invita a la reflexión sobre su sostenibilidad y aprovechamiento (Suárez *et al.*, 2015). Toda producción agroindustrial genera residuos. Los desechos agrícolas siguen siendo una fuente ignorada de fitoquímicos de alto valor que pueden contribuir a los objetivos de sustentabilidad (Alexandru *et al.*, 2014) (Das & Singh, 2004).

Actualmente hay mucho interés en los fitoquímicos como componentes bioactivos de los alimentos. Estudios recientes han demostrado que muchos constituyentes polifenólicos de la dieta derivados de plantas son antioxidantes más efectivos (Rice *et al.*, 1997). Un compuesto bioactivo es simplemente una sustancia que tiene una actividad biológica, relacionada con su capacidad para modular uno o más procesos metabólicos, lo que resulta en la promoción de mejores condiciones de salud (Dictionary, 2009) (Aryee & Boye, 2015). En el caso de la nuez pecanera numerosos documentos de investigación indican el potencial de su cáscara en la obtención de fitocompuestos como polifenoles, flavonoides y taninos asociados con diversas actividades biológicas, entre las que destacan: antimicrobianas, anticancerígenas, antidiabéticas y antioxidantes, entre otras (Reyes *et al.*, 2022)

Los antioxidantes son considerados agentes protectores que inactivan las especies reactivas de oxígeno, por lo que previenen el daño oxidativo. Entre las enzimas involucradas en contrarrestar el estrés oxidativo se encuentran el superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, las cuales atenúan las especies reactivas de oxígeno generadas por el metabolismo. Adicionalmente las vitaminas E y C, y los polifenoles presentes en los alimentos también exhiben actividad antioxidante (Reyes *et al.*, 2015)

En la almendra de nuez pecanera cultivada en tres regiones de Chihuahua (De La Rosa *et al.*, 2011) han reportado una fuerte correlación de la actividad antioxidante medida como ORAC ($r^2= 1$), DPPH $^{\cdot-}$ ($r^2= 1$), ABTS $^{\cdot-}$ ($r^2= 0.997$) y HO $^{\cdot}$ ($r^2= 0.997$) y la cantidad de fenoles y flavonoides totales, proantocianidinas, ácido gálico y elagico. Adicionalmente, la localidad del cultivo influyó significativamente sobre la actividad antioxidante, particularmente en la cáscara. Lo que indica que las condiciones ambientales, como la exposición a la luz de la cáscara de nuez en las diferentes localidades influyeron en su actividad antioxidante, relacionada con la fracción polifenólica extraíble, principalmente con taninos condensados. Cabe destacar, que en este estudio la capacidad antioxidante, polifenoles totales y taninos condensados fue de 4.5, 6 y 18 veces mayor en cáscara que en almendra de la nuez (de la Rosa *et al.*, 2011). Sin embargo, estos estudios se han realizado mediante extracciones tradicionales hidroalcohólicas, los cuales utilizan elevadas temperaturas, solventes, pueden potencialmente producir contaminantes, por lo que es necesario implementar nuevas tecnologías amigables con el medio ambiente también llamadas verdes.

La EAM, se puede realizar en pocos minutos con alta reproducibilidad, reduciendo el consumo de solvente, simplificando la manipulación, dando mayor pureza al producto final y consumiendo solo una fracción de la energía que normalmente se necesita para la extracción convencional (Chemat & Cravotto, 2012). Los fundamentos del proceso de extracción por microondas (MAE) son diferentes a los de los métodos convencionales (sólido-líquido o simplemente extracción) porque la extracción se produce como resultado de cambios en la estructura celular provocados por ondas electromagnéticas (Chemat & Cravotto, 2012). La técnica de microondas puede plantear protocolos utilizando un mínimo de solventes o agua (Esquivel *et al.*, 2017).

Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue emplear la extracción asistida por microondas en cáscaras de nuez criolla de dos localidades Rayones, Nuevo León y Jiménez, Chihuahua evaluando el efecto de variedad, tiempo, temperatura y solvente sobre el contenido de polifenoles totales y las dos actividades antioxidantes expresada como actividad secuestrante del radical DPPH y ABTS.

MATERIALES Y MÉTODOS

Equipos

Plataforma de Reacción por Microondas Multiwave 5000 de Anton Paar, Centrifuga MegaFuge 16R, Liofilizadora FreeZone 4.5, Espectro UV-1800, Lector de placas Termo Fisher Multiskan FC, Espectro Genesys 10S UV- Vis

Materiales

Cáscara de Nuez Molida Variedad Criolla Rayones y Variedad Criolla Chihuahua con tamaño de partícula de 1mm, Agua Desionizada, Reactivo Folin & Ciocalteu's 1N, Reactivo 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt de Sigma, reactivo 2,2-Diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl de Sigma.

Obtención de los extractos mediante microondas

En la primera fase experimental, 0.5g de cáscara de nuez criolla de Rayones y Chihuahua se le agregó 5mL de agua desionizada. El tratamiento se realizó en el equipo Multiwave 5000 de Anton Paar a 75 y 95°C por 10 min (rampa) y 75 y 95°C por 15 min (mantenimiento) respectivamente manteniendo agitación alta en el sistema. Las muestras tratadas se centrifugaron a 13000 rpm por 15min a 25°C; se decantaron los extractos y se guardaron a 4°C en tubos de polipropileno. El sólido de las extracciones se re-suspendió con 5mL de agua desionizada para una segunda extracción en microondas bajo las mismas condiciones. Ambos extractos fueron liofilizados por separado en Liofilizadora FreeZone 4.5 por 48 horas a -52°C y presión de 0.66 Pa, para analizarse posteriormente en su contenido de fenoles totales, y actividad antioxidante medida como actividad secuestrante del radical DPPH[•] y ABTS^{•-} respectivamente.

Para la segunda fase experimental, réplicas de 0.5g de cada variedad criolla fueron sometidas a la temperatura seleccionada de 75°C a 10 min (rampa) y 75°C durante 5 y 15 min (mantenimiento) para un total de 15 y 35 min de extracción, utilizando los solventes agua y etanol 50% p/v, manteniendo la agitación alta durante el proceso. Una vez finalizado el tiempo de extracción, el sólido fue sometido a una segunda re-extracción, recuperando y mezclando ambos sobrenadantes para su análisis posterior. Éstos fueron sometidos a centrifugación y liofilización en condiciones similares a las descritas con anterioridad, y conservados en frascos oscuros a 4°C hasta su análisis.

Determinación de Polifenoles Totales

Fueron realizados según Reyes-Vázquez *et al.*, 2012 para lo cual se pesaron 0.0125g de muestra liofilizada, aforándose a 100mL con agua desionizada, posteriormente se tomaron 500µL del extracto, y se añadió 3mL de agua desionizada y 250µL de Folin 1N reposando por 5 min para posteriormente agregarle 750µL de Na₂CO₃ al 20% y 950µL de agua desionizada, agitándose en vórtex y permitiendo el reposo por 30 min. La absorbancia de las muestras se leyó en el espectro Genesys 10S UV- Vis a 765nm. Los compuestos fenólicos totales se calcularon usando una curva estándar de ácido gálico 1mg/mL y se expresaron mgGAE/g extracto BH. La curva estándar tuvo una R² de 0.9976 y la ecuación fue la siguiente $y = 0.0133x - 0.109$.

Actividad Antioxidante determinada por remoción del radical ABTS

El valor de TEAC se determinó según Reyes-Vázquez *et al.*, 2012 con algunas modificaciones, para lo cual se preparó una solución stock pesando 0.0193g de radical ABTS disuelto en 5mL de Buffer de Fosfatos (PBS, pH 7.4 y 0.15M NaCl) y 88µL de persulfato de potasio (0.0378g en 1mL de PBS). La solución se incubó en la oscuridad durante 16h, enseguida se tomó 1 mL de la solución stock y se adicionaron 88 mL de metanol 80%. El radical fue ajustado con metanol al 80% a 0.7 ± 0.02 a 734nm. La reacción se inició añadiendo 2970µL de la solución ABTS y 30µL de muestra o solución estándar de

Trolox en metanol. Se dejó reposar 20min en la oscuridad, y se leyó la absorbancia a 734nm en el Lector de placas Thermo Fisher Multiskan FC.

El porcentaje de remoción de ABTS fue calculado:

$$\%RSA = (\text{control Abs} - \text{muestra Abs} / \text{control Abs}) * 100.$$

Se usó una solución de Trolox (6-400 μM) como estándar, y los resultados se expresaron como micromoles de equivalentes de Trolox (TE) por gramo de extracto BH. La curva estándar tuvo una R^2 de 0.99425 y la ecuación fue la siguiente $y = -0.0014x + 0.6448$.

Actividad antioxidante remoción radical DPPH

La actividad secuestrante del radical DPPH se determinó según Reyes-Vázquez *et al.*, 2012 pesando 2.5mg de radical DPPH con 100mL de metanol puro, se ajustó la absorbancia del radical a 0.7 ± 0.02 a una longitud de onda de 515nm. A tubos de ensayo conteniendo 3900 μL del radical se les agregó 100 μL del extracto o solución estándar Trolox en metanol, dejándose reposar por 30min en la oscuridad, para posteriormente leerse a 515nm en el Espectro UV-1800. El blanco se realizó con metanol al 80%.

El porcentaje de remoción de DPPH fue calculado:

$$\%RSA = (\text{control Abs} - \text{muestra Abs} / \text{control Abs}) * 100.$$

Se usó una solución de Trolox (6-400 μM) como estándar, y los resultados se expresaron como micromoles de equivalentes de Trolox (TE) por gramo de extracto BH. La curva estándar tuvo una R^2 de 0.997 y la ecuación fue la siguiente $y = -0.0041x + 0.701$.

Diseño y Análisis Estadístico.

En los experimentos iniciales para evaluar el efecto de temperatura sobre la cantidad de polifenoles y actividad antioxidante se realizó un diseño experimental de una vía. Posteriormente, se realizó un diseño factorial completo para evaluar el efecto de la cáscara de dos variedades criollas provenientes de cultivos de dos diferentes localidades (Rayones y Chihuahua), utilizando dos tipos de solvente (agua y etanol al 50%) y tiempo de extracción (15 y 35 minutos) sobre las mismas variables de respuesta arriba señaladas. Los datos obtenidos de cada uno de los experimentos fueron procesados estadísticamente. Para el análisis de varianza y comparación de medias mediante la mínima diferencia significativa con la ayuda del programa STATGRAPHICS, versión 18.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se ha reportado consistentemente que la cáscara de nuez pecanera contiene un número importante de metabolitos principalmente compuestos polifenólicos, flavonoides y taninos condensados con alta actividad antioxidante De la Rosa *et al.*, 2012; en este sentido, se ha utilizado fundamentalmente las extracciones por métodos tradicionales como infusiones acuosas e hidroalcohólicas con importantes resultados en los perfiles polifenólicos obtenidos y actividades biológicas como antimicrobiana, anticancerígena, antidiabética y antioxidante Reyes-Vázquez 2022, sin embargo hasta donde se sabe no se han reportado extracciones por tecnologías verdes tales como asistidas por microondas en cáscara de nuez pecanera.

Como se puede observar en la figura 1 (A) se describe el efecto de temperatura de extracción sobre el contenido de polifenoles de la cáscara de dos variedades criollas. En la primera extracción CR75 obtuvo

274.59 mgGAE/g extracto de polifenoles significativamente mayor ($P < 0.05$), con relación a CCH75 que obtuvo la menor cantidad con 140.75 mgGAE/g extracto; mientras que las extracciones para CR95 y CCH95 fueron de 157.89 y 175.94 mgGAE/g extracto respectivamente. Es interesante observar que además de la temperatura, la variedad tuvo un impacto importante en la cantidad de polifenoles extraídos, en ambas extracciones particularmente en la segunda, ya que por ejemplo en la cultivada en Rayones se presentaron las cantidades mayores en la primera extracción disminuyendo significativamente en la segunda extracción. Para el caso de Chihuahua inicialmente la extracción fue menor para luego incrementarse con la segunda extracción. Este comportamiento probablemente indica que la naturaleza del material en cuanto a su composición de hemicelulosa, celulosa y lignina, y por tanto dureza, podría estar jugando un papel fundamental en el proceso de extracción tal como lo señala Rodríguez-Padrón 2020 en cáscara verde de nuez de castilla extraída por microondas.

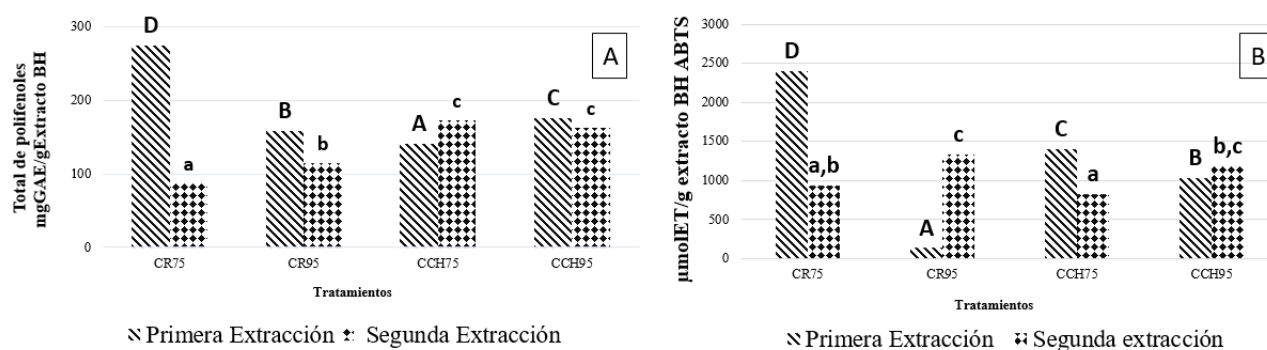


Figura 1. Efecto de la temperatura de extracción sobre A) Contenido total de polifenoles y B) Actividad antioxidante expresada como actividad secuestrante del radical ABTS. Criolla Rayones 75°C (CR75) y 95°C (CR95), Criolla Chihuahua 75°C (CCH75) y 95°C (CCH95). Letras mayúsculas y minúsculas distintas en cada columna indican una diferencia significativa ($P < 0.05$) en la primera y segunda extracción respectivamente.

Estos resultados pueden compararse con lo descrito por Pinto et al., 2021 en el cual obtuvo un valor de 173.89 mg de GAE/g PS con extracción acuosa, utilizando EAM con una temperatura de 75° por 10 min y mantenimiento por 15min haciendo solo una extracción. De igual manera Cacciola *et al.*, 2019 reportó un contenido total de polifenoles de 247.63 mg GAE/g de PS para extractos acuosos de cáscaras de Castaña sativa utilizando tiempos de extracción más prolongados. Sin embargo, podemos destacar, que al realizar dos extracciones tal fue el caso de este protocolo se obtienen mejores valores de fitocompuestos.

La mayor actividad antioxidante figura 1(B) se presentó durante la primera extracción de CR75 la cual mostró 2398.86 $\mu\text{molET/g}$ extracto significativamente mayor ($P < 0.05$) con relación a los otros tratamientos, sugiriendo que a temperaturas 75°C se obtiene una elevada actividad antioxidante, dato que podría estar correlacionado con la cantidad de polifenoles obtenidos y que también favoreció una adecuada extracción de la cáscara de Chihuahua lo que conllevaría a un ahorro de energía y conservación de la actividad biológica.

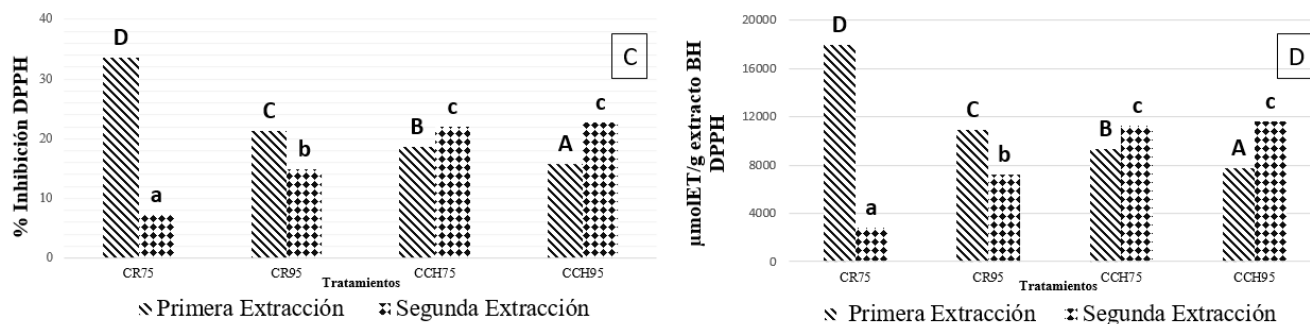


Figura 2. Efecto de la temperatura de extracción sobre actividad antioxidante expresada como C) Porcentaje de inhibición y D) $\mu\text{molET/g}$ extracto remoción radical DPPH. Criolla Rayones 75°C (CR75) y 95°C (CR95), Criolla Chihuahua 75°C (CCH75) y 95°C (CCH95). Letras mayúsculas y minúsculas distintas en cada columna indican una diferencia significativa ($P < 0.05$) en la primera y segunda extracción respectivamente.

En la figura 2 se presenta el efecto de la temperatura sobre la actividad antioxidante del radical DPPH, e igualmente se observó una posible correlación entre la cantidad de polifenoles extraídos y el % de inhibición con 33.64 en el tratamiento CR75 de la primera extracción que representa 17960 $\mu\text{molET/g}$ extracto, mientras que en la segunda extracción disminuyó significativamente hasta 7.24% que representa 2800 $\mu\text{molET/g}$ extracto, sin embargo para Rayones tratada a 95°C no favorece una mejor recuperación de fitocompuestos con actividad antioxidante ni en la primera ni segunda extracción. En el caso de la variedad Chihuahua a 75°C presentó una actividad antioxidante de 18.66% de inhibición, con 9360 $\mu\text{molET/g}$ extracto remoción radical DPPH, mientras que la segunda extracción tuvo 22.01% de inhibición con 11280 $\mu\text{molET/g}$ extracto remoción radical DPPH, sin embargo, el incremento de temperatura a 95°C no mejoró su actividad antioxidante.

Resultados similares utilizando EAM en cáscara de *C. sativa* fueron reportado por Rodríguez – Padrón 2020 utilizando temperaturas mayores a 100°C durante 30 min se obtienen 99.09 mg de GAE/g extracto BH de polifenoles con un 63% de actividad antioxidante. Estos resultados confirman que a 75°C para ambos residuos agroindustriales se obtienen adecuadas cantidades de polifenoles que preservan su actividad antioxidante.

Tabla I. Efecto de variedad, solvente y tiempo de extracción a 75°C sobre la cantidad de polifenoles y actividad antioxidante en cáscaras criolla de nuez pecanera criolla cultivada en Rayones y Chihuahua

Variedad	Solvente	Tiempo	mgGAE/g BH	% inhibición DPPH	$\mu\text{molET/g}$ extracto BH DPPH
CR	Agua	15	368.42	30.58	21300
CR	Agua	35	405.64	32.93	22950
CR	Etanol	15	470.30	36.77	25650
CR	Etanol	35	462.03	34.00	23700
CCH	Agua	15	410.90	42.89	29950
CCH	Agua	35	386.09	39.19	27350
CCH	Etanol	15	442.86	46.87	32750
CCH	Etanol	35	443.98	45.45	31750

Criolla Rayones (CR), Criolla Chihuahua (CCH)

Los resultados de la combinación de las diferentes variables evaluadas se presentan en la tabla 1, la cual nos indica que el solvente etanol al 50% y 15 min de extracción en ambos residuos de cáscara dio como resultado los mejores contenidos de polifenoles y actividad antioxidante cuantificada como porcentaje de remoción del radical DPPH. Para el caso de Rayones fue de 470.30 mgGAE/g BH, 36.77% de inhibición y 25650 $\mu\text{molET/g}$ extracto BH; para Chihuahua 442.86 mgGAE/g BH, 46.87% de inhibición y 32750 $\mu\text{molET/g}$ extracto BH.

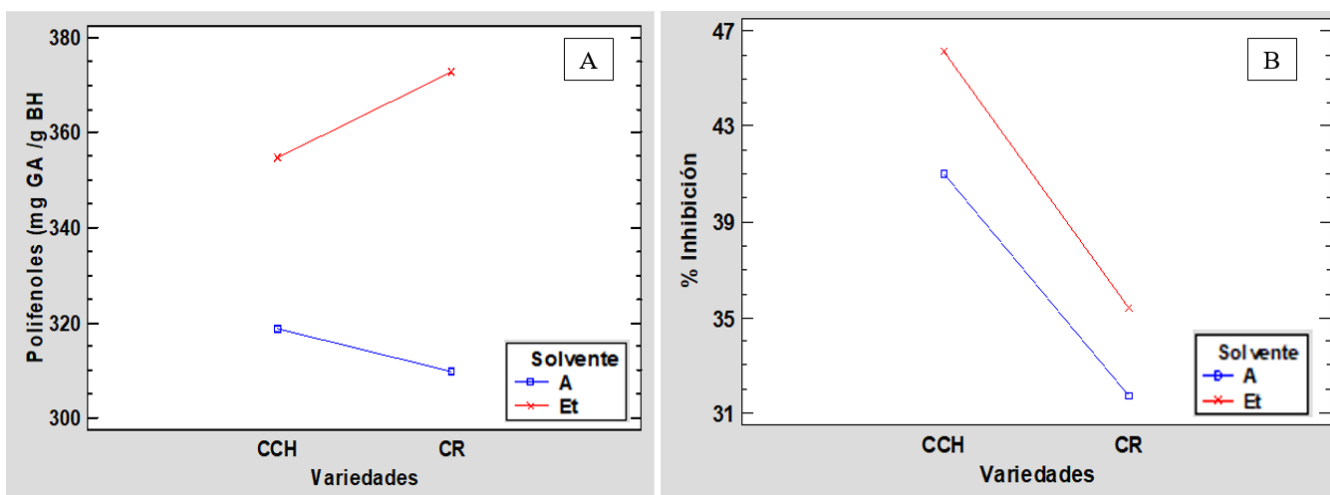


Figura 3. Gráfico de interacción estadística significativo entre A) efecto de solventes sobre los polifenoles obtenidos para ambas variedades, B) efecto de las diferentes variedades sobre el porcentaje de inhibición para ambos solventes.

Con base al diseño experimental de los parámetros de extracción evaluados el tipo de solvente tuvo un efecto significativo en la cantidad de polifenoles obtenido (figura 3 (A)) en donde se puede observar que el etanol al 50% incremento significativamente ($P < 0.05$) la cantidad de polifenoles obtenidos para ambas variedades, mientras que el agua no favoreció la extracción especialmente en la variedad Rayones. Adicionalmente la variedad tuvo un efecto significativo ($P < 0.05$) en el porcentaje de inhibición, y por tanto en los micromoles equivalentes de trolox obtenidos como se muestra en la figura 3 (B), siendo mayor en las cáscaras de nuez de Chihuahua con respecto a la de Rayones particularmente con el tratamiento etanólico.

CONCLUSIÓN

La extracción asistida con microondas es un método verde con amplio potencial de extracción de fitocompuestos con elevadas actividades antioxidantes en cáscara de nuez pecanera. En este trabajo bajo las condiciones evaluadas sugieren que para ambas variedades de nuez criolla un protocolo de extracción con etanol 50% a 75°C durante 15min es la más adecuada en la obtención de polifenoles con actividad antioxidante elevada. Actualmente se están realizando esfuerzos en la extracción enzimática asistida con microondas.

AGRADECIMIENTO

FONDO CONACYT: F0P02-2021/315035

BIBLIOGRAFÍA

- Alexandru, L., Binello, A., Mantegna, S., Boffa, L., Chemat, F., & Cravotto, G. (2014). Efficient green extraction of polyphenols from post-harvested agro-industry vegetal sources in Piedmont. *Comptes Rendus Chimie*, 17(3), 212-217.
- Aryee, A. N., & Boye, J. I. (2015). Current and emerging trends in the formulation and manufacture of nutraceuticals and functional food products. *Nutraceutical and functional food processing technology*, 48.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- Cacciola, N. A., Squillaci, G., D'Apolito, M., Petillo, O., Veraldi, F., La Cara, F., ... & Morana, A. (2019). Castanea sativa Mill. shells aqueous extract exhibits anticancer properties inducing cytotoxic and pro-apoptotic effects. *Molecules*, 24(18), 3401.
- Chemat, F., & Cravotto, G. (Eds.). (2012). *Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice (Vol. 4)*. Springer Science & Business Media.
- Das, H., & Singh, S. K. (2004). Useful byproducts from cellulosic wastes of agriculture and food industry—a critical appraisal. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(2), 77-89.
- de la Rosa, L. A., Alvarez-Parrilla, E., & Shahidi, F. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of kernels and shells of Mexican pecan (*Carya illinoensis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1), 152-162.
- Reyes-Vázquez, N., de la Rosa, L. A., Morales-Landa, J. L., García-Fajardo, J. A., & García-Cruz, M. Á. (2022). Phytochemical content and potential health applications of pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] nutshell. *Current topics in medicinal chemistry*, 22(2), 150-167.
- Dictionary of Food Science and Technology (2nd Ed). International Food Information Service (IFIS Editor); 2009: 47-48.
- Do Prado, A. C. P., a Silva, H. S., da Silveira, S. M., Barreto, P. L. M., Vieira, C. R. W., Maraschin, M., ... Block, J. M. (2014). Effect of the extraction process on the phenolic compounds profile and the antioxidant and antimicrobial activity of extracts of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] shell. *Industrial Crops and Products*, 52, 552–561. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.031>
- Esquivel-Hernández, D. A., Ibarra-Garza, I. P., Rodríguez-Rodríguez, J., Cuéllar-Bermúdez, S. P., Rostro-Alanis, M. D. J., Alemán-Nava, G. S., ... & Parra-Saldívar, R. (2017). Green extraction technologies for high-value metabolites from algae: a review. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 11(1), 215-231.
- Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freire, M. S., Valentão, P., Andrade, P. B., GonzálezÁlvarez, J., & Pereira, J. A. (2013). Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. *Industrial Crops and Products*, 42(November), 126–132. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.05.021>
- Lim, T. K. (2012). *Edible medicinal and non-medicinal plants (Vol. 1, pp. 656-687)*. Dordrecht, The Netherlands:: Springer.
- Pinto, D., Silva, A. M., Freitas, V., Vallverdú-Queralt, A., Delerue-Matos, C., & Rodrigues, F. (2021). Microwave-Assisted Extraction as a Green Technology Approach to Recover Polyphenols from *Castanea sativa* Shells. *ACS Food Science & Technology*, 1(2), 229-241.
- Reyes-Vazquez, N., González-Aguilar, G. A., Moo-Huchin, V., Gonzalez-Martinez, M., Villa, J. A., Palafox-Carlos, H., ... & Rodríguez-Buenfil, I. M. (2012). Antioxidant constituents and chemical properties of 'Tommy atkins' Mango grown in Campeche, México. *Global Research Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 3(4), 313-323.

- Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 2(4), 152-159.
- Rodriguez-Padron, D., Zhao, D., Garin Ortega, R. N., Len, C., Balu, A. M., Garcia, A., & Luque, R. (2020). Characterization and antioxidant activity of microwave-extracted phenolic compounds from biomass residues. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(3), 1513-1519.
- Reyes-Vázquez, N., Suárez, J. A., Obregón, S. E., Urzúa, E., Cervantes, M. J., García, F. J. A., & Urrea, L. R. (2015). Retos y oportunidades para el aprovechamiento de la nuez pecanera en México. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, AC.(CIATEJ).