

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

Compuestos Fenólicos y Actividad Antioxidante del
Endocarpio del Fruto de Dos Cultivares de Nogal
Pecanero [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch]

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el Título de

QUÍMICO EN ALIMENTOS

Presenta:

Daniela Grissel Téllez Escobedo

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



“El saber de mis hijos
hará mi grandeza”



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

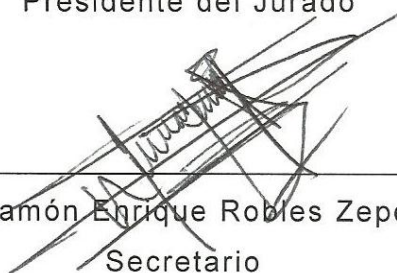
FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del jurado calificador del examen profesional de Daniela Grissel Téllez Escobedo hemos revisado detenidamente su trabajo escrito titulado Compuestos Fenólicos y Actividad Antioxidante del Endocarpio del Fruto de Dos Cultivares de Nogal Pecanero [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] y encontramos que cumple con los requisitos para la presentación de su examen profesional. Por tal motivo recomendamos se acepte dicho trabajo como requisito parcial para la obtención de título de Químico en Alimentos.

Atentamente:



Dra. Nohemí Gámez Meza
Presidente del Jurado



Dr. Ramón Enrique Robles Zepeda
Secretario



M.C. Olivia Jatomea Fino
Vocal



Q.B. César Benjamín Otero León
Suplente

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Sonora.

Al Departamento de Ciencias Químico Biológicas.

Al Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS).

A mi directora de tesis, la Dra. Nohemí Gámez, por darme la oportunidad de alcanzar una meta más en mi vida y guiarme en este camino de enseñanza, superación y retos.

A mis sinodales: Dr. Ramón Robles, M.C. Olivia Jatomea y Q.B. César Otero, por su aportación, apoyo y comprensión durante el desarrollo de mi trabajo.

A la M.C. Dulce Molina, mi nueva gran amiga y compañera, por la confianza, enseñanza y apoyo siempre brindados, pero sobre todo por creer en mí.

A mis compañeros de laboratorio: Claudia Molina, Saraí Agustín, Karina Blanco y Julio Ortiz, por apoyarme, ayudarme y compartir momentos de estrés y presión, pero sobre todo de felicidad.

A Carlos Ballesteros, porque siempre estás ahí para mí, por tu apoyo sobre todo cuando las cosas no salían como las esperaba, por esos pequeños momentos de ocio, simplemente por quererme y creer en mí.

A mi Familia, por todo el apoyo incondicional y el amor que me dan día a día.

Sin más que decir... ¡¡¡GRACIAS!!!

DEDICATORIA

A Dios, por la vida que me regala día a día, por todas las oportunidades que me ofrece y por poner en mi camino a todas esas personitas que han sido, son y serán parte importante a lo largo de mi vida.

A mi madre y padre: Gloria Escobedo y Martín Téllez, no sé qué haría sin usted son un enorme pilar en mi vida, un gran ejemplo a seguir, de lucha y perseverancia, pero sobre todo de amor y pasión por lo que hago y quiero seguir haciendo, por hacer de mí una persona que nunca se deja vencer, y sobre todo, por el amor, cariño y apoyo brindado en todo momento. ¡¡¡LOS AMO!!!

A mis hermanos: Martín y Luis, ustedes son mi fuente de inspiración para darles de mí un ejemplo a seguir, que con el amor y cariño brindado, son parte de esas ganas de seguir adelante en todo lo que me propongo.

A Carlos: porque eres parte de mi vida y de este trabajo, porque tú me diste muchas fuerzas y motivos para seguir adelante, por el amor, cariño, apoyo y comprensión en todo momento.

A mis amigos, compañeros, profesores y todos los que fueron parte de uno de mis grandes logros, los quiero mucho.

A mis perros, sé que pareciera una broma, pero ellos, cuando llego a mi casa, siempre me reciben felizmente; por la lealtad y por un cariño limpio y puro que solo un animal de esa naturaleza puede ofrecer.

CONTENIDO

	Página
FORMA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
DEDICATORIA.....	4
CONTENIDO.....	5
LISTA DE TABLAS.....	7
LISTA DE FIGURAS.....	8
OBJETIVOS.....	9
Objetivo General.....	9
Objetivo Específicos.....	9
RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN.....	11
ANTECEDENTES.....	13
Generalidades del Nogal Pecanero [<i>Carya</i> <i>illinoensis</i> (Wangenh) K. Koch].....	13
Producción de Nuez en el Mundo.....	15
Producción de Nues en México y Sonora.....	16
Cultivares de Nuez [<i>Carya illinoensis</i> (Wangenh) K. Koch].....	18
Western.....	18
Wichita.....	19
El Endocarpio de Algunos Frutos Secos como Residuo Industrial.....	20
Fitoquímicos Presentes en Endocarpio de Nuez	21
Compuestos Fenólicos	22
Flavonoides.....	24
Taninos Condensados.....	25
Capacidad Antioxidante de Fitoquímicos.....	26

MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
Materia Prima.....	28
Preparación de la Muestra.....	28
Extracción de los Compuestos Fenólicos.....	28
Cuantificación de Fenoles Totales.....	30
Cuantificación de Flavonoides Totales.....	31
Cuantificación de Taninos Condensados.....	33
Evaluación de la Capacidad Antioxidante.....	35
Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC). Método ABTS.....	35
Capacidad Antioxidante por Método DPPH.....	36
Extracción de Compuestos Fenólicos para HPLC	39
Extracción Metanólica.....	39
Hidrólisis Ácida de Extractos.....	39
Identificación de los Compuestos Fenólicos por HPLC.....	40
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
Características Generales de los Extractos Metanólicos.....	41
Contenido de Fenoles Totales.....	41
Contenido de Flavonoides Totales.....	45
Contenido de Taninos Condensados.....	47
Evaluación de la Capacidad Antioxidante.....	49
Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC). Método ABTS.....	49
Capacidad Antioxidante por Método DPPH.....	52
Identificación de los Compuestos Fenólicos.....	54
CONCLUSIONES.....	57
RECOMENDACIONES.....	58
BIBLIOGRAFÍA.....	59

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Clasificación taxonómica del nogal pecanero.....	13
2.	Fenoles totales y flavonoides totales en endocarpio de nogal pecanero.....	42
3.	Comparación en contenido de fenoles totales entre los diferentes frutos secos.....	44
4.	Comparación en contenido de flavonoides totales entre los diferentes frutos secos.....	46
5.	Taninos condensados en endocarpio de nogal pecanero...	47
6.	Comparación en contenido de taninos condensados entre los diferentes frutos secos.....	48
7.	Capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC). Métodos ABTS y DPPH en endocarpio de nogal pecanero.....	49
8.	Comparación en actividad antioxidante (ABTS) entre los diferentes frutos secos.....	51
9.	Comparación en actividad antioxidante (DPPH) entre los diferentes frutos secos.....	53
10.	Cuantificación de compuestos fenólicos en endocarpio de nogal pecanero.....	55
11.	Análisis cuantitativo de compuestos fenólicos entre los diferentes frutos secos.....	56

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Taxonomía del fruto del nogal pecanero.....	14
2.	Nuez cultivar Western	19
3.	Nuez cultivar Wichita.....	20
4.	Estructura básica del monofenol y polifenol.....	23
5.	Esqueleto estructural de los flavonoides.....	25
6.	Esqueleto estructural de los taninos.....	26
7.	Diagrama de extracción de los compuestos fenólicos del endocarpio de nuez [<i>C. illinoensis</i> (Wangenh) K. Koch].....	29
8.	Diagrama de cuantificación de fenoles totales del endocarpio de nuez [<i>C. illinoensis</i> (Wangenh) K. Koch].....	31
9.	Diagrama de cuantificación de flavonoides totales del endocarpio de nuez [<i>C. illinoensis</i> (Wangenh) K. Koch].....	32
10.	Diagrama de cuantificación de taninos condensados del endocarpio de nuez [<i>C. illinoensis</i> (Wangenh) K. Koch].....	34
11.	Diagrama de cuantificación de la capacidad antioxidante del endocarpio de nuez [<i>C. illinoensis</i> (Wangenh) K. Koch] por medio del radical ABTS ^{•+}	37
12.	Diagrama de cuantificación de la capacidad antioxidante del endocarpio de nuez [<i>C. illinoensis</i> (Wangenh) K. Koch] por medio del radical DPPH [•]	38

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar el perfil de los compuestos fenólicos presentes en el endocarpio del fruto de dos cultivares de nogal pecanero [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch]; así como su capacidad antioxidante total.

Objetivos Específicos

Determinar el contenido de fenoles y flavonoides totales y taninos condensados presentes en el endocarpio del fruto de dos cultivares de nogal pecanero [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch].

Determinar el perfil de los compuestos fenólicos presentes en el endocarpio del fruto de dos cultivares de nogal pecanero [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch].

Evaluar la capacidad antioxidante total de los compuestos fenólicos presentes en el endocarpio del fruto de dos cultivares de nogal pecanero [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch].

RESUMEN

El árbol de nuez pecanera, es el único nogal de origen americano nativo del norte de México y sur de Estados Unidos. La industria de la conocida nuez pecanera (la semilla de su fruto) genera una cantidad importante (40-50%) de deshechos (cáscara indehisciente o endocarpio leñoso). Estudios muestran que éstos deshechos podrían ser una fuente alternativa de compuestos antioxidantes, debido a la presencia de compuestos polifenólicos. Es por ello que el objetivo del presente trabajo fue estudiar el potencial antioxidante de los compuestos fenólicos de la cáscara del nogal pecanero. Para ello fue necesario determinar el perfil de los compuestos fenólicos y evaluar su actividad antioxidante por dos métodos químicos (DPPH y ABTS) de nuez pecanera (Western y Wichita) de tres temporadas de cosecha (2010, 2011, 2012). Los resultados mostraron que los extractos del endocarpio de ambos cultivares de las temporadas 2010 y 2012 exhibieron un contenido significativamente mayor de fenoles totales (39 y 37 mg GAE/g, respectivamente) que Wichita (2011) y de taninos condensados ambos cultivares de la temporada 2010 (401 mg CE/g para Western y 406 mg CE/g para Wichita). Los contenidos mayores de flavonoides totales fueron exhibidos por los extractos de ambos endocarpios de los cultivares 2011 y 2012. La fracción acidificada de los flavonoides de los extractos del cultivar Wichita, mostró un contenido alto de epicatequina para las temporadas 2010 y 2011, asimismo, la epigalocatequina mostró un contenido significativamente alto para la temporada 2010. En cuanto al ácido gálico, se encontró en mayor concentración en las temporadas de 2010 y 2012. Todos los extractos de los endocarpios de ambos cultivares y de las tres temporadas de estudio mostraron una capacidad antioxidante total mayor que la reportada en la literatura. Sin embargo, los extractos de endocarpio de Western y Wichita (2012) mostraron la mayor capacidad antioxidante medida por ABTS (1 315.63 y 1 354.88 $\mu\text{mol ET/g}$, respectivamente) y por DPPH (1 559.55 y 1 416.98 $\mu\text{mol ET/g}$). Por lo anterior, se puede considerar al desecho agroindustrial de la nuez pecanera (endocarpio) como una fuente de compuestos antioxidantes.

INTRODUCCIÓN

Las frutas y las hortalizas son parte de los alimentos naturales que deben estar presentes en la alimentación, proporcionando las vitaminas y minerales necesarios para el desarrollo saludable del cuerpo humano. El descubrimiento de alimentos con compuestos biológicamente activos y beneficiosos para la salud va más allá de la nutrición básica, abriendo una etapa nueva en la ciencia de la nutrición. El consumo de estos alimentos se ha asociado con una menor incidencia y mortalidad de diferentes enfermedades crónicas (Pineda Alonso y col., 1999; Bonafine y col., 2006).

La protección de los alimentos vegetales brindada contra las enfermedades degenerativas como el cáncer y enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares se ha atribuido a su contenido alto de fitoquímicos con capacidad antioxidante. Los radicales libres (agentes oxidantes) han sido asociados a estas enfermedades por ocasionar daño oxidativo a proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Debido a estos fitoquímicos, los cuales neutralizan la acción de estos radicales libres, realizan una función básica en la prevención de estas enfermedades (Pineda Alonso y col., 1999; Bonafine y col., 2006). Los fitoquímicos no están considerados como nutrientes, ya que no está demostrada que su carencia produzca síntomas patológicos; no obstante, pueden proporcionar ciertas propiedades fisiológicas más allá de las nutricionales (Bonafine y col., 2006).

Los fitoquímicos no solo son encontrados en los tejidos comestibles de plantas; sino también en cantidades variables en las partes no comestibles como los deshechos de los frutos, tales como la cáscara (endocarpio) de granos y semillas (Suárez Diéguez y col., 2011).

En el mundo se producen más de 40 tipos de nueces (semillas), dentro de las que destacan las siguientes: almendra (*Prunus amygdalus*), avellana

(*Corylus avellana*), macadamia (*Macadamia* spp), nuez pecanera (*Carya illinoensis*), nuez de castilla (*Juglans regia*), y pistacho (*Pistachia vera* L.) (Comité Mexicano del Sistema Producto Nuez, A. C., 2012).

El nogal pecanero [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch], pertenece a la familia Juglandaceae, la misma del nogal común (*Juglans regia*). Nativa del sur de los Estados Unidos y el norte de México. La nuez pecanera es considerada una oleaginosa con importancia comercial implementada en México desde los años cuarenta y cincuenta. Actualmente, Estados Unidos y México ocupan el primer y segundo lugar respectivamente como productores mundiales de nuez pecanera. Las principales variedades cultivadas son Western, Wichita y Criollas (Suárez Diéguez y col., 2011).

Se ha documentado que entre los compuestos de mayor actividad antioxidante destacan los ácidos fenólicos, flavonoides y proantocianidinas. En la parte comestible de la nuez pecanera se ha encontrado un contenido mayor de flavonoides y ácidos fenólicos totales en comparación con otras semillas de su familia (Suárez Diéguez y col., 2011). Sin embargo, la literatura sobre la composición de fitoquímicos en el pericarpio (cáscara) de la nuez pecanera es escasa.

Las cantidades generadas a nivel mundial en el 2009 de residuos industriales en la producción de la nuez es de ~ 84 000 a 105 000 ton, mientras que para el año 2011 a nivel nacional fue de ~ 39 500 ton. De esta manera se sabe que a partir del año 2009, el Estado de Sonora se mantiene en la tercera posición a nivel nacional, con una cantidad de ~ 3 537 ton (Ojeda y col., 2009; Reckziegel y col., 2011).

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar el contenido de compuestos fenólicos, y taninos condensados presentes en el endocarpio de dos cultivares (Wester y Wichita) de nuez [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch], así como evaluar su actividad antioxidante.

ANTECEDENTES

Generalidades del Nogal Pecanero (*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch)

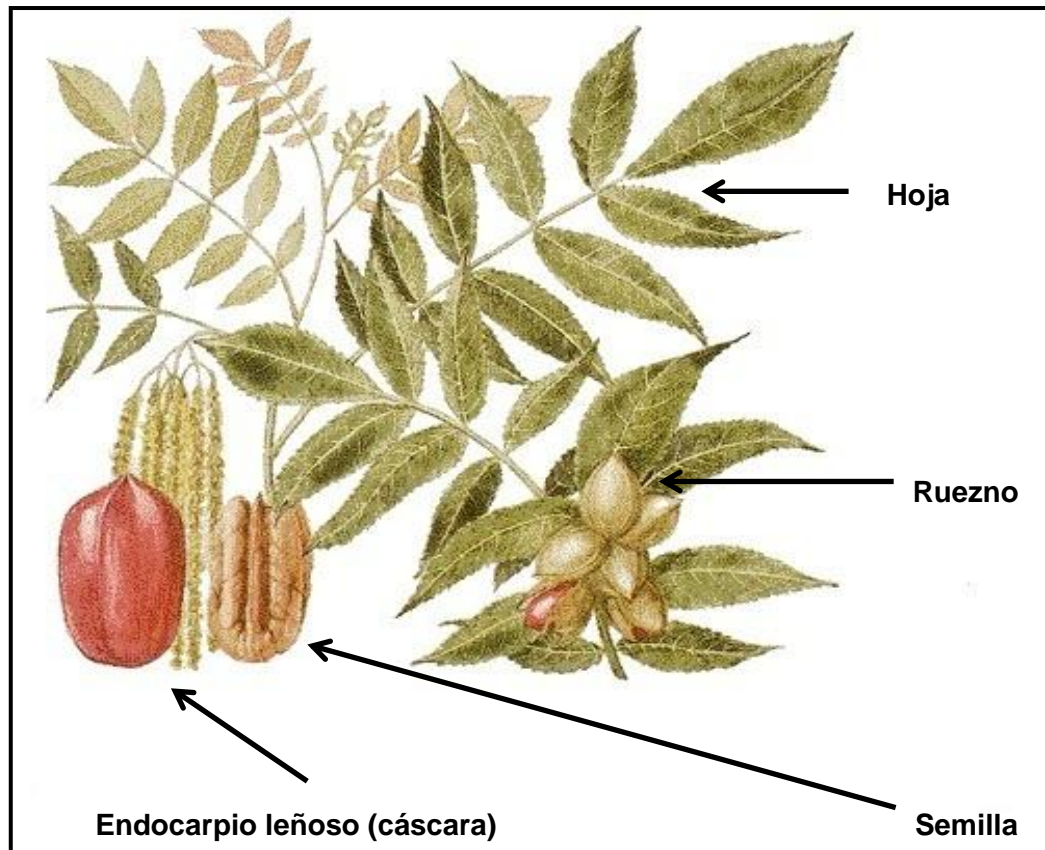
El nogal pecanero es una planta de raíz pivotante con dos hojas embrionarias, es decir, dicotiledónea, esta puede alcanzar alturas de hasta 50 m con un tronco de 2 m de diámetro; el tallo es corto y robusto del cual se ramifican gruesas ramas que muestran formas simpódicas, constituyendo así una copa amplia y frondosa; la corteza es gruesa, además, se encuentra vertical y desordenadamente agrietada, es de color gris oscuro en ramas y tronco, (Tabla 1) (Basurto Sotelo, 2005).

Tabla 1. Clasificación taxonómica del nogal pecanero.

Reino	Vegetal
División	Embrifitas Sifonogamas
Sub-división	Angiospermas
Clase	Dicotiledónea
Orden	Juglandales
Familia	Juglandáceas
Género	<i>Carya</i>
Especie	<i>Illinoensis</i> (Wangenh K. Koch)

Fuente: Basurto Sotelo, 2005.

La drupa, la cual está compuesta de un pericarpio, mesocarpio y semilla o almendra, es considerada como el fruto del nogal pecanero, la cual se encuentra agrupada de uno a cuatro sobre un pedúnculo corto; cada drupa es dehiscente, esto quiere decir que al principio la cubierta es carnosa (pericarpio y mesocarpio o en conjunto llamado ruezno) y al secarse, se va hendiendo en cuatro valvas para dar salida al endocarpio leñoso el cual encierra la semilla (Figura 1), conocida como la parte comestible de la nuez (Basurto Sotelo, 2005).



Fuente: Lloyd-Jones, s.a.

Figura 1. Taxonomía del fruto del nogal pecanero.

El árbol del nogal pecanero es de origen americano, nativo del norte de México y sur de Estados Unidos. La nuez pecanera se distingue de otras nueces por su endocarpio leñoso también nombrado "cáscara delgada" o "cáscara de papel", el cual facilita el proceso de "quebrado", caracterizándose además por un sabor y aroma agradables. Los principales productores mundiales de nuez pecanera son Estados Unidos y México ocupando el primer y segundo lugar respectivamente; el periodo de cosecha de las principales variedades Western, Wichita y Criollas abarca los meses de octubre a diciembre (El Siglo De Durango, 2011).

Producción de Nuez en el Mundo

Para el año de 1772, Estados Unidos plantó (específicamente en el área de Long Island, Nueva York) sus primeros árboles de nogal como cultivo, pero a finales de 1800 principios de 1900 las plantaciones empezaron a explotarse comercialmente en las regiones del Sur y Sureste que comprenden los Estados de Georgia, Texas, Nuevo México, Arizona, Alabama y Mississippi, entre otros, donde la nuez era vendida sin pasar por alguna modificación después de la cosecha, es decir, con cáscara (endocarpio) y generalmente al menudeo (Núñez Barrios, 2007).

La localización a nivel mundial de las áreas productoras de nuez se encuentran principalmente entre los 25° y 35° de latitud norte y entre 25° y 35° latitud sur. Las zonas de origen de este frutal cuentan con numerosas extensiones deformaciones nativas, como un ejemplo, en los Estados Unidos se localizan principalmente en los Estados de Georgia, Kansas, Louisiana, Missouri, Oklahoma y Texas, dichas extensiones están sujetas al aprovechamiento comercial (Ojeda Barrios y col., 2009).

Se estima que la producción mundial de nuez pecanera se encuentra alrededor de las 210 000 toneladas (ton). Los principales productores son Estados Unidos (72%) y México (25%); otros productores menores son Australia, Sudáfrica, Israel, Brasil, Argentina, Perú y Egipto. Estados Unidos, además de ser el principal productor y exportador de nuez pecanera, es el más grande consumidor. Otros importantes países consumidores son: Reino Unido, Alemania, Canadá y Japón (Ojeda Barrios y col., 2009).

A pesar de la exportación e importación de nueces por parte de Estados Unidos, México consigue ser el principal exportador de nuez con cáscara hacia ese país (25 000 ton anualmente). La mayor cantidad de nuez pecanera se

comercializa sin cáscara, es decir, solamente la semilla, la cual constituye alrededor del 50% del peso total de la nuez (Ojeda Barrios y col., 2009).

Producción de Nuez en México y Sonora

La primera introducción de plantaciones comerciales inició en el año de 1904 en el Estado de Nuevo León, México; “nogal” y “nuez” fueron las palabras utilizadas por españoles para bautizar al árbol pecanero y a su fruto (la pecanera), respectivamente. En diferentes regiones del país se le diferencia de otras nueces con el nombre de “nuez cáscara de papel” (Orona Castillo y col., 2013).

El nogal pecanero es un cultivo con gran importancia económica y originario del norte de México y sur de Estados Unidos. En México, los Estados con mayor producción de nuez son Chihuahua con 54 629 ton y un rendimiento de 1.5 ton/hectárea (ha), seguido de Coahuila con una producción de 8 776 ton y un rendimiento de 0.71 ton/ha; Sonora con una producción de 7 075 ton y un rendimiento de 1.06 ton/ha, y finalmente Durango con una producción de 2 783 ton y un rendimiento de 0.78 ton/ha (Ojeda Barrios y col., 2009; López Díaz y col., 2011).

En los Estados de Jalisco, Nuevo León, Aguascalientes, Querétaro, Oaxaca e Hidalgo el nogal se cultiva en menor medida; otros estados poseen superficies sembradas, sin embargo, se encuentran en etapa de desarrollo con un incremento estable de la producción en el país a través de los años (Ojeda Barrios y col., 2009; López Díaz, y col., 2011).

Actualmente, el nogal pecanero es cosechado en el norte del país, usualmente en las áreas de riego. Los principales distritos de riego en el país se encuentran en Chihuahua, Delicias y Río Florido, en el Estado de Chihuahua y en la costa de Hermosillo en el Estado de Sonora (Ojeda Barrios y col., 2009).

En el año de 1956 inició la siembra de nogal en Sonora, al ser introducido principalmente por productores que adoptaron un modelo de cultivo similar al de Estados Unidos. Durante esta etapa no se contaba con una cultura de producción de nogal, por lo que el modelo se adopta sin hacer una selección de la variedad de la planta ni de los terrenos de cultivo. Para el año de 1975 la proporción de siembra para los cultivares Western y Wichita eran de 60% y 20% respectivamente, el resto correspondía a otras variedades (Deschamps Solórzano, 2010).

A nivel nacional, el tercer productor más importante de nuez pecanera es Sonora. Se han registrado incrementos considerables en cuanto a la superficie plantada y la producción de nuez, esto va de 4 000 ha plantadas en el 2005 hasta más de 7 000 ha sembradas para el 2008 además de una producción de 7 075 ton. La producción de nuez sonorense en conjunto con la de Chihuahua, Coahuila, Nuevo León y Durango, representan el 90% del total nacional (Camarena Gómez y col., 2010; Montoya Ballesteros y col., 2010).

La nuez sonorense es considerada de buena calidad, cuenta con gran tamaño y con un porcentaje alto de semilla, además de ser Western y Wichita las principales variedades. Esta nuez es comercializada primordialmente en Estados Unidos y otra proporción en México, por lo tanto, se deduce que la producción primaria tiene el potencial para exportarse fácilmente. No obstante, existe una vulnerabilidad alta en los volúmenes exportados, esto debido a las fluctuaciones económicas mundiales y a la dependencia de insuficientes mercados de destino, causando numerosos altibajos en las cantidades exportadas, además, una comercialización en el mercado nacional y regional de gran parte de la producción (Camarena Gómez y col., 2010; Montoya Ballesteros y col., 2010).

Cultivares de Nuez (*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch)

Western

El cultivar Western, también conocido como Western Schley (esto debido a la semejanza física que presenta con la nuez Schley), se origina en el año de 1924 como consecuencia de una selección de plántulas hecha por E. E. Risien, en San Saba, Texas. Este cultivar puede crecer y dar frutos con una gestión menor que cualquier otro cultivar, es susceptible a la sarna del pecán y a la mancha suave. Se encuentra plantado ampliamente en el oeste de E.U.A. y norte de México (Texas Pecan Board, 2010; Pecan Global, 2013; Viveros Esparza, 2013).

La liberación del polen en arboles Western se da antes de que sus flores femeninas sean receptivas (protándrica), por lo cual, deben ser polinizados por una variedad que libere el polen más tarde (protogínica), como es el caso del cultivar Wichita (Viveros Esparza, 2013).

La morfología típica de la nuez Western es redonda y alargada, con hombros pronunciados en la parte apical y más delgados en su término basal (parte pegada al tallo) que en el ápice, es principalmente de anchura mediana pero se ensancha en algunas temporadas. El endocarpio leñoso es delgado, con rayas moderadamente de color café oscuro (Figura 2). La cantidad de semilla alcanza un promedio de 55 a 60%. Esta nuez es fácilmente adaptable al descascarado mecánico, lo cual origina un porcentaje alto de mitades enteras (Viveros Esparza, 2013).



Fuente: Viveros Esparza, 2013.

Figura 2. Nuez cultivar Western.

Wichita

De origen por cruzamiento controlado (Halbert como Madre y Mahan como Padre), el cultivar Wichita fue hecho por L. D. Romberg, en USDA-Brownwood, Texas, en el año de 1940. Se maneja ampliamente en el oeste de Estados Unidos y norte de México, además es considerado como un cultivar precoz y prolífico en Estados Unidos (Pecan Global, 2013; Viveros Esparza, 2013).

A pesar de los problemas de sarna (en zonas húmedas) y congelación (en el extremo norte) que presenta el árbol, es vigoroso, productivo y comienza a madurar entre los 5 y 7 años. Tiende a ser poco atractivo, de procreación pobre si no hubo buena gestación y se caracteriza por liberar tardíamente el polen (protogínica) además de ser un buen polinizador de variedades protándrica como Western Schley y Pawnee (Texas Pecan Board, 2010; Viveros Esparza, 2013).

En otoño, la retención del follaje en el árbol ayuda a la maduración de la semilla. Este produce en cada racimo de 3 a 5 nueces, sin embargo, también es habitual encontrar 7 o más nueces, esto ocurre usualmente en los años de producción alta. Aunque comúnmente es de gran tamaño, la nuez tiende a ser pequeña en años de producción abundante.

El endocarpio leñoso se caracteriza por ser delgado y tender a llenar el espacio interno (Figura 3), por lo que ocasiona que la semilla se parta

ligeramente al descascararse. Asimismo, la nuez por su tamaño, puede ser vendida para descascararse o bien vender al menudeo con cáscara (Viveros Esparza, 2013).



Fuente: Viveros Esparza, 2013.

Figura 3. Nuez cultivar Wichita.

El Endocarpio de Algunos Frutos Secos como Residuo Industrial

En la actualidad, se utiliza el endocarpio de avellana como combustible, acolchado y como materia prima para furfural en la industria de colorantes, esto debido a la disponibilidad de una enorme cantidad de desecho industrial a bajo costo, además, de no ser utilizado causaría problemas de contaminación ambiental. Como un ejemplo, se tiene el endocarpio del pistacho, el cual constituye aproximadamente el 10% del peso total, y de no ser procesado, se convierte en residuo contaminante (Stévigny y col., 2007; Tomaino y col., 2010).

El endocarpio de la nuez (*Juglans regia* L.) es un residuo sin aprovechamiento. Se conoce que este residuo puede ser un abrasivo suave con uso potencial industrial para limpiar y pulir metales suaves, vidrio, fibra de vidrio, madera, plástico y piedra. Cuenta con una excelente durabilidad, además, se encuentran presentes importantes elementos nutritivos para ser

aprovechados por los organismos vegetales (Romero Arenas y col., 2012; Moreno Barbosa y col., 2013).

Otro ejemplo, es el uso del endocarpio como un medio de filtración para separar petróleo crudo a partir de agua. Algunos subproductos provenientes del nogal se han utilizado en varias aplicaciones: el ruezno de nuez verde como materia prima en la elaboración del tradicional licor de nuez, además, el uso de nueces verdes, cáscaras, semillas, corteza y hojas en la industria farmacéutica y de cosméticos (Fernández Agulló, y col., 2013).

Una gran fuente de antioxidantes naturales (compuestos fenólicos), se encuentran en residuos agrícolas e industrial. Existe la certeza de que los polifenoles juegan un papel en la prevención de enfermedades relacionados a la edad, incluyendo enfermedades cardiovasculares y cáncer. Los frutos secos (pistachos, almendras, nueces, etc.) son una fuente importante de subproductos tales como cáscara (endocarpio) y piel (exocarpio) con potencial antioxidante por la presencia de compuestos fenólicos (Stévigny y col., 2007).

El endocarpio de la nuez pecanera representa una fuente alternativa de compuestos antioxidantes, debido a la gran cantidad de desecho (~40-50%) por procesamiento industrial (Reckziegely col., 2011).

Fitoquímicos Presentes en Endocarpio de Nuez

Una extensa gama de fitoquímicos y compuestos fenólicos poseen los productos derivados de plantas, los cuales pueden exhibir una significativa actividad antioxidante y antiradical (inhiben la generación de especies reactivas de oxígeno dentro del cuerpo humano), efectos anti-carcinogénicos y anti-mutagénicos, y anti-proliferativos. Además, proporcionan protección contra efectos nocivos de los radicales libres, reducen el riesgo de ciertos tipos de cáncer, enfermedades del corazón, enfermedades cardiovasculares, apoplejía,

aterosclerosis, la osteoporosis, la inflamación, y otras enfermedades neurodegenerativas asociadas con el estrés oxidativo (Shahidi y col., 2007).

Se ha asociado la presencia de compuestos fenólicos con el sabor delicado y ligeramente astringente de los frutos de la nuez. Diversos factores ambientales, como también las prácticas culturales y el genotipo de diferentes cultivares, son de gran influencia en el contenido fenólico de los frutos (Colaric y col., 2005).

Se ha estudiado la actividad antioxidante que presentan nueces y subproductos similares a la nuez pecanera, así mismo se demuestra que los subproductos son fuentes ricas en antioxidantes naturales y compuestos fenólicos, que pueden hacer beneficiosas las actividades biológicas y los efectos en la salud (Shahidi y col., 2007).

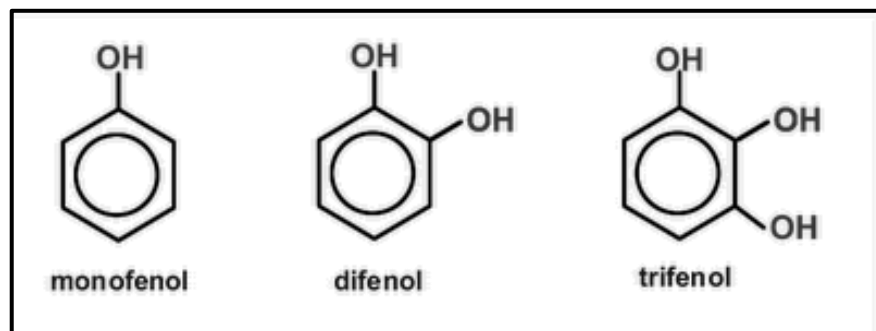
El fruto del nogal pecanero es una rica fuente de fitoquímicos. Estos últimos están constituidos por carotenoides (pigmentos de las frutas), tocoferoles (vitamina E), fitoesteroles, fitoestrógenos, ácidos fenólicos, flavonoides, lignanos, proantocianidinas, entre otros. Estos compuestos en conjunto exhiben una acción nutracéutica. La semilla de la nuez pecanera en comparación con otras semillas de su familia, presenta el mayor contenido de flavonoides y ácidos fenólicos totales, por lo anterior, se estima que la acción antioxidante que presentan los componentes de la nuez recae principalmente en estos compuestos (Suárez Dieguez y col., 2011).

Compuestos Fenólicos

Son conocidos como un amplio grupo de compuestos originados del metabolismo secundario de las plantas que se encuentran abundantemente en la dieta. Además, cumplen con varias funciones, como la protección al ataque de patógenos o herbívoros y son pigmentos que atraen a los polinizadores (Arranz Martínez, 2010).

Se encuentran formados por un anillo aromático unido por lo menos a un grupo oxhidrilo y dobles enlaces conjugados a partir de los cuales ejercen su acción antioxidante. El ácido benzoico es una estructura sencilla, sin embargo, con otros sustituyentes en el anillo se forman ácidos fenólicos como el cafeico, ferúlico, cumárico y cinámico. Se incluyen para este grupo monofenoles, polifenoles, flavonoides y taninos (Figura 4) (Palencia Mendoza, 1999; Bedascarrasbure y col., 2004; Arranz Martínez, 2010).

Los monofenoles se caracterizan por presentar un solo grupo hidroxilo en el anillo aromático de benceno; los polifenoles se definen como un conjunto heterogéneo de moléculas, aquí se incluyen los ácidos fenólicos y flavonoides, conjuntamente presentan actividad antioxidante. Los ácidos fenólicos se identifican por tener un anillo aromático central, asimismo conforman un grupo diverso que incluyen los derivados del ácido hidroxibenzoico y del ácido hidroxicinámico (Palencia Mendoza, 1999; Drago Serrano y col., 2006).



Fuente: Palencia Mendoza, 1999.

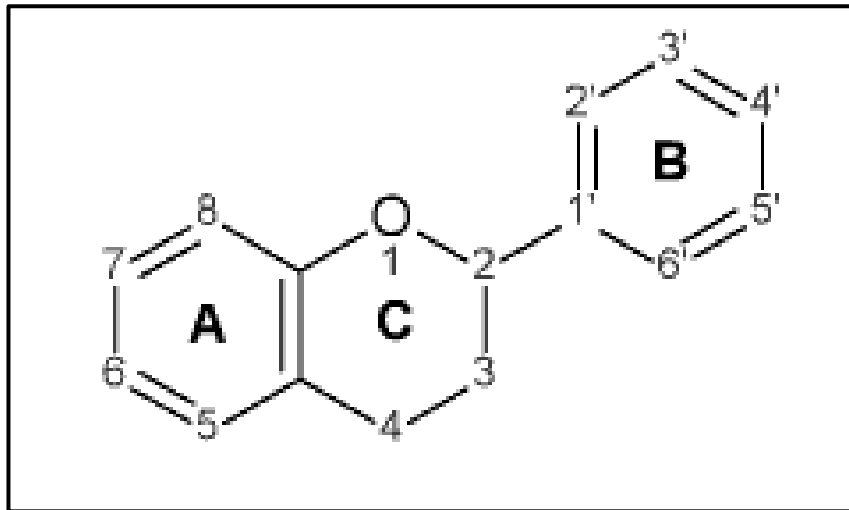
Figura 4. Estructura básica del monofenol y polifenol.

Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos que contienen oxígeno y se encuentran ampliamente distribuidos entre las plantas, siendo los responsables de varios tonos como amarillo, rojo y azul en frutas y hortalizas. Son el grupo más grande de fenoles vegetales y el más estudiado (Palencia Mendoza, 1999; Suárez Dieguez y col., 2011).

Son compuestos con bajo peso molecular generalmente unidos a moléculas de azúcares y están agrupados en antocianinas y antoxantinas. Las antocianinas son moléculas de pigmentos rojos, azules y púrpuras. Las antoxantinas (flavonoles, flavonas, flavanoles, e isoflavonas) son moléculas incoloras o de colores que van desde el blanco al amarillo (Palencia Mendoza, 1999).

Se ha llegado a considerar que la estructura básica de los flavonoides está constituida por 2 anillos bencénicos en sus extremos, unidos por un anillo de 3 átomos de carbono a la que se le pueden adicionar grupos como oxhidrilos, metilos, azúcares, entre otros, de esta manera se forman diferentes tipos de flavonoides como flavonoles, flavanonas, flavonas, catequinas, antocianinas e isoflavonoides (Figura 5) (Bedascarrasbure y col., 2004).



Fuente: Iglesias Neira, 2009

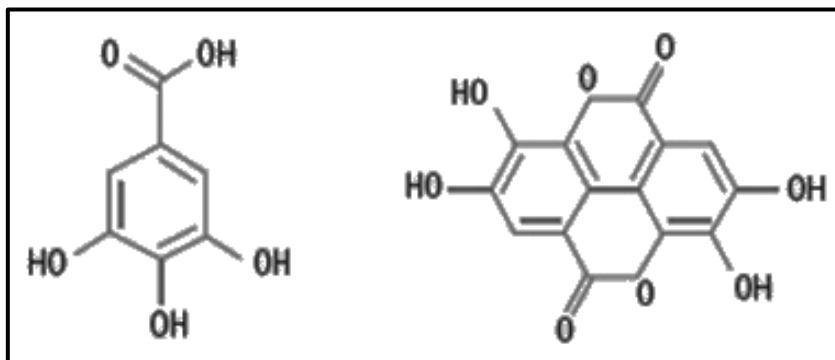
Figura 5. Esqueleto estructural de los flavonoides.

Estos compuestos poseen propiedades antioxidantes que ayudan a minimizar la peroxidación lipídica y el efecto de los radicales libres, contribuyendo a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Bedascarrasbure y col., 2004).

Taninos Condesados

Los taninos son sustancias de peso molecular alto, con estructura polifenólica no nitrogenada. Son solubles en agua, alcohol, acetona, con menor solubilidad en éter, poseen sabor astringente y la propiedad de curtir la piel, haciéndola imputrescible e impermeable, fijándose sobre sus proteínas (distinto del curtido al cromo donde se utiliza alúmina y cromo). Se utilizan como productos naturales en algunas industrias (industria del cuero) Se clasifican en taninos hidrolizables y taninos condensados (Palencia Mendoza, 1999; López Díaz y Herrera Aguirre, 2004).

Los taninos condensados (TC) se forman por unidades poliméricas de flavonoides como el 3-flavonol (catequinas), 3,4-flavonodiol (leucoantocianidinas) o derivados. Estas unidades están unidas por enlaces C-C o C-O-C y se encuentran principalmente en plantas dicotiledóneas (Figura 6); al interactuar con las proteínas forman complejos que precipitan a un pH cercano a su punto isoeléctrico, no se hidrolizan con ácidos minerales diluidos y requieren mayores concentraciones acídicas y tiempos prolongados (García, 2004; Otero e Hidalgo, 2004; Ávalos García y Pérez-Urria Carril, 2009; García Mier, 2009).



Fuente: ErbslöhGeisenheim, 2013.

Figura 6. Esqueleto estructural de los taninos.

Capacidad Antioxidante de Fitoquímicos

Las vitaminas E y C, carotenos, así como diferentes polifenoles proporcionan la actividad antioxidante en frutas y vegetales. La medición individual de los antioxidantes no permite conocer con certeza la actividad antioxidante total de una preparación, compuesto o fluido biológico, por los efectos sinérgicos que puedan establecerse entre los antioxidantes presentes en él (Gutiérrez-Zavala y col., 2007).

Las diversas metodologías desarrolladas para determinar el potencial de la actividad antioxidante son de inhibición. En estas mediciones se usa una especie generadora de radicales libres y una sustancia que estabiliza a estas especies para estimar la actividad antioxidante y disponer de una herramienta de laboratorio para recomendar el consumo de alimentos que muestren una actividad antioxidante aceptable. Al ser añadida la muestra, su actividad antioxidante inhibe la generación de estos radicales (Araya L y col., 2006; Gutiérrez Zavala y col., 2007).

La determinación de la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en los alimentos, se realiza a partir de algunos compuestos cromógenos, como los radicales $ABTS^{\bullet+}$ y $DPPH^{\bullet}$ (Molina-Quijada y col., 2010).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

Los cultivares Western y Wichita de nogal pecanero [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] fueron seleccionados debido a su mayor producción en el Estado de Sonora, para ello, se tomaron muestras de entre 5 a 15 kg de nuez pecanera colectadas en los meses de octubre-noviembre de las temporadas 2010, 2011 y 2012, del campo Don Enrique, a cargo de Grupo Alta, ubicado en la Costa de Hermosillo del Estado de Sonora a 28° 59' 19.69'' N 111° 32' 29.86'' O, con una de elevación 69 m.

Preparación de la Muestra

La muestra de interés (endocarpio), fue extraída manualmente a partir de las nueces colectadas, estas fueron almacenadas en ausencia de luz y a -20°C hasta el momento de su pulverización (30 mesh).

Extracción de los Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos fueron extraídos del endocarpio de cada uno de los cultivares de las nueces en estudio. Se homogenizó 1 gramo de muestra pulverizada con 10 mL de metanol-agua (70:30 v/v) utilizando un vortex (Vari-Whirl MixerVWR Scientific, USA). Posteriormente, el homogenizado fue sometido a movimientos ultrasónicos (Sonicador Branson, modelo 1510) por 30 min y centrifugado a 16 800 g (Thermo electrón LED GmbH D-375220 Osterode)

a 4°C por 15 min. La extracción metanólica se repitió dos veces para asegurar la máxima extracción de los compuestos. Los sobrenadantes fueron mezclados y filtrados en papel filtro (Whatman No. 2). Los extractos metanólicos fueron congelados a -20°C hasta su análisis (Figura 7) (Molina-Quijada y col., 2010).

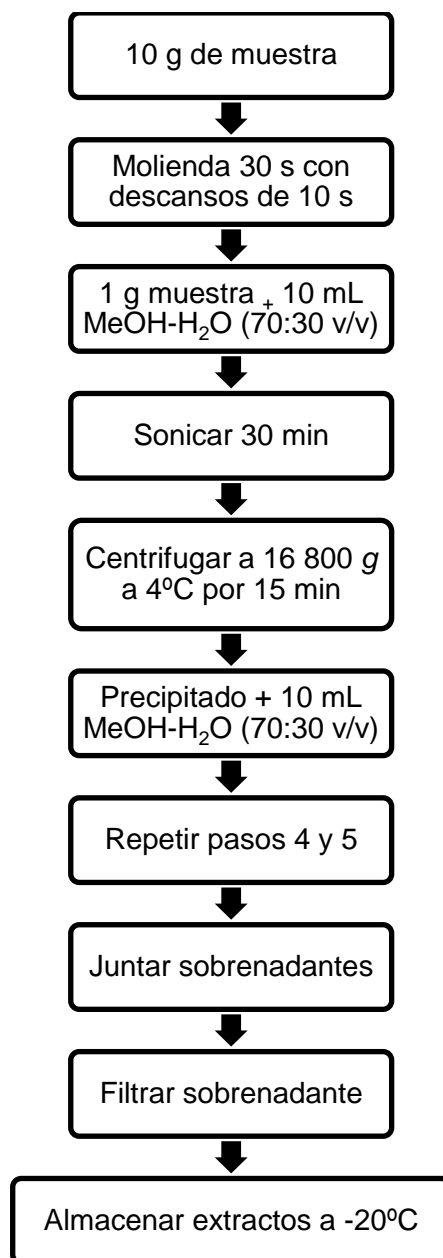


Figura 7. Diagrama de extracción de los compuestos fenólicos del endocarpio de nuez [*C. illinoensis* (Wangenh) K. Koch].

Cuantificación de Fenoles Totales

Las determinaciones se realizaron espectrofotométricamente utilizando el método de Folin-Ciocalteu (Molina-Quijada y col., 2010). Este método está basado en la oxidación de los grupos fenólicos por los ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico, formándose un complejo verde azulado que se mide a 765nm.

Para la determinación del contenido de fenoles totales, se mezclaron 50 μL de cada extracto metanólico con 3 mL de agua desionizada y 250 μL del reactivo de Folin–Ciocalteu 1 N (Merck).

El extracto se oxida por 5 min, después la reacción se neutraliza con 750 μL de Na_2CO_3 al 20% y 950 μL de agua desionizada. Después de 30 minutos, se leyó la absorbancia a 765nm, en un espectrofotómetro UV-VIS (Varian, modelo Cary 100 Bio). Se usó ácido gálico como estándar (Sigma–Aldrich Co., St Louis, MO, USA). El contenido de fenoles totales fue expresado en mg de ácido gálico/g de peso seco de la muestra y fue el resultado de tres repeticiones, con un intervalo de concentración de 0 a 1 mg/mL (Figura 8).

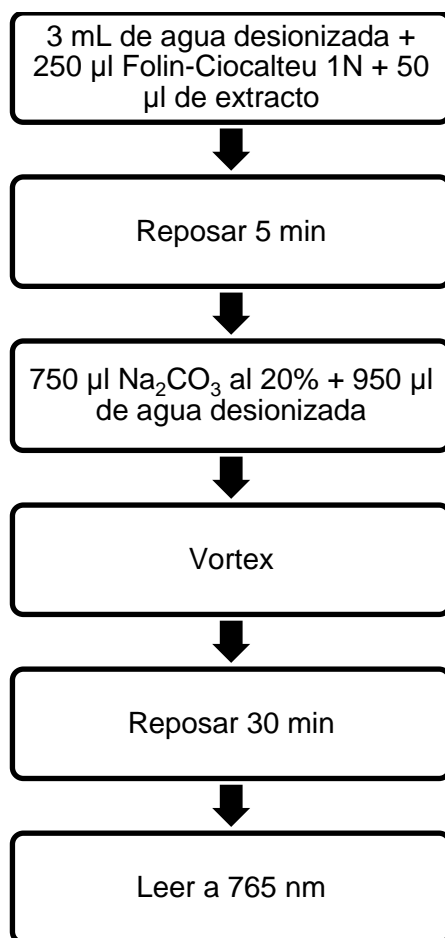


Figura 8. Diagrama de cuantificación de fenoles totales del endocarpio de nuez [*C. illinoensis* (Wangenh) K. Koch].

Cuantificación de Flavonoides Totales

Para la determinación de flavonoides totales se siguió la técnica descrita por Molina-Quijada y col. (2010) a 1 mL de extracto metanólico con 4 mL de agua destilada se le añadieron 0.3 mL de NaNO_2 (5 g/100 mL) y 0.3 mL de una solución de AlCl_3 (10 g/100 mL). Después de agitar suavemente, se dejó reposar por 1 min, se añadieron 2 mL de NaOH 1 M y se aforó a 10 mL con agua destilada. La mezcla se leyó a 498nm en un espectrofotómetro UV-VIS (Varian, modelo Cary 100 Bio). Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de catequina (Sigma–Aldrich Co., St Louis, MO, USA) por cada 100 gramos peso seco (mg CE/100 g ps). Todos los análisis se

realizaron por triplicado (Figura 9). El contenido de flavonoides se calculó en base a la siguiente ecuación lineal:

$$Y = 2.5344x + 0.0348 \quad R=0,9974$$

donde: Y es la absorbancia medida y X es el contenido de flavonoides en mg catequina/g, con una concentración de estándar de 0 a 0.6 mg/mL.

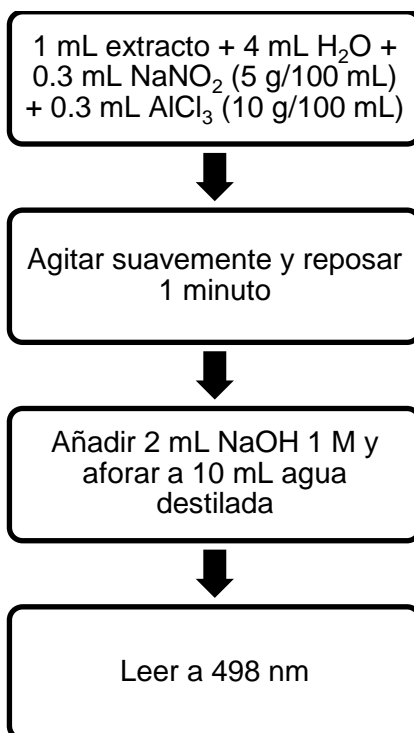


Figura 9. Diagrama de cuantificación de flavonoides totales del endocarpio de nuez [*C. illinoensis* (Wangenh) K. Koch].

Cuantificación de Taninos Condensados

Para la determinación de taninos condensados, se siguió el método descrito por Villarreal y col., (2006). 0.5g de extracto del endocarpio (malla 30 mesh) fueron disueltos en 15 mL en metanol acidificado (HCl 1%, v/v). Después de agitar suavemente, se colocó en un baño de agua a 30°C durante 20 min, con agitación cada 10 minutos. Se procedió a centrifugar a 16 800 g durante 15 minutos a una temperatura de 4°C para posteriormente recolectar el sobrenadante.

A 1 mL de extracto se le añadieron 5 mL de reactivo de vainilina y 1 mL de HCl al 4% se le añadieron 5 mL de reactivo de vainilina (blanco), se dejó reposar por 20 min, posteriormente se centrifugó a 16 800 g durante 15 min a una temperatura de 4°C. La absorbancia del blanco y muestra fueron medidos a 500nm en un espectrofotómetro UV-VIS (Varian, modelo Cary 100 Bio) (Figura 10). Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de catequina (Sigma–Aldrich Co., St Louis, MO, USA) por cada 100 gramos peso seco (mg CE/100 gps).

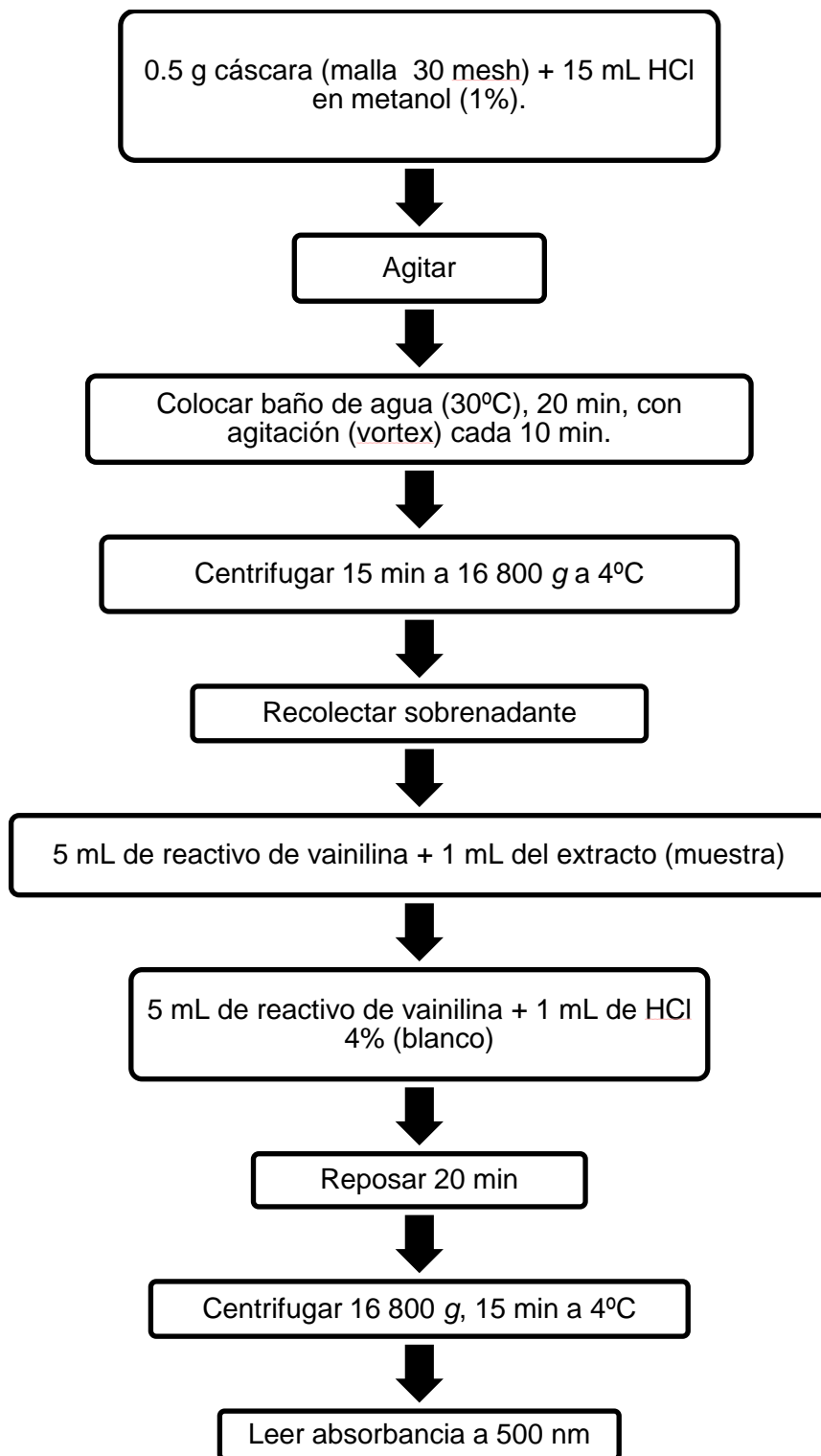


Figura 10. Diagrama de cuantificación de taninos condensados del endocarpio de nuez [*C. illinoensis* (Wangenh) K. Koch].

Evaluación de la Capacidad Antioxidante

Los métodos más utilizados para medir la capacidad antioxidante son los que utilizan al catión radical 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) y al radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH^{\bullet}). Ambos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones (escasa luminosidad y temperatura ambiente) aunque también muestran diferencias en la precisión y la estabilidad ante las especies reactivas de oxígeno (Molina-Quijada y col., 2010).

El DPPH^{\bullet} es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso o persulfato de potasio). Con el radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica e hidrofóbica, mientras que el radical DPPH^{\bullet} solo puede disolverse en medio orgánico (Molina-Quijada y col., 2010).

Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC). Método ABTS

Este método evalúa la capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). Se basa en la reducción de la coloración verde/azul producida por la reacción del radical 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) con el antioxidante presente en la muestra.

Para generar el radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se pesaron 19.2 mg de este catión y se disolvieron en 5 mL de agua destilada. Posteriormente se agregaron 88 mL de una solución de persulfato de potasio (0.0378 mg/mL). La solución se

homogeneizó y se incubó en oscuridad a temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) durante 16 horas. Una vez formado el radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$, éste se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia alrededor de 0.70 ± 0.1 a 754 nm (espectrofotómetro UV-VIS Varian, modelo Cary 100 Bio).

Los extractos metanólicos filtrados (0.1 mL de extracto) se colocaron cada uno en una celda y se mezclaron con 3.9 mL del radical recién generado. Se leyó la absorbancia al inicio (Abs_i) y a cada minuto hasta los 7 minutos de reacción (Abs_f) (Figura 11). El diferencial de absorbancia ($\text{abs}_i - \text{abs}_f$) se transformó a porcentaje de inhibición y se calculó la actividad antioxidante en micromoles equivalentes Trolox ($\mu\text{moles ET}$)/gramo, mediante una curva de calibración (concentración de 0-0.25 mg/mL) de Trolox (Molina-Quijada y col., 2010).

Capacidad Antioxidante por Método DPPH

El radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH^\bullet) se reduce en presencia de antioxidantes manifestándose un cambio de color (de morado a amarillo) en la solución. Para el ensayo fotométrico se mezclaron 3.9 mL del radical DPPH^\bullet (0.025 mg/ 100 mL metanol) con 0.1 mL de cada uno de las diluciones de los extractos metanólicos (concentración 0.05 g/mL).

La reacción se llevó a cabo por 30 min y posteriormente se leyó a 515 nm (Figura 12) en un espectrofotómetro UV-VIS (Varian, modelo Cary 100 Bio), se calculó la actividad antioxidante en micromoles equivalentes Trolox ($\mu\text{moles ET}$)/gramo, mediante una curva de calibración (concentración de 0-0.25 mg/mL) de Trolox (Molina-Quijada y col., 2010).

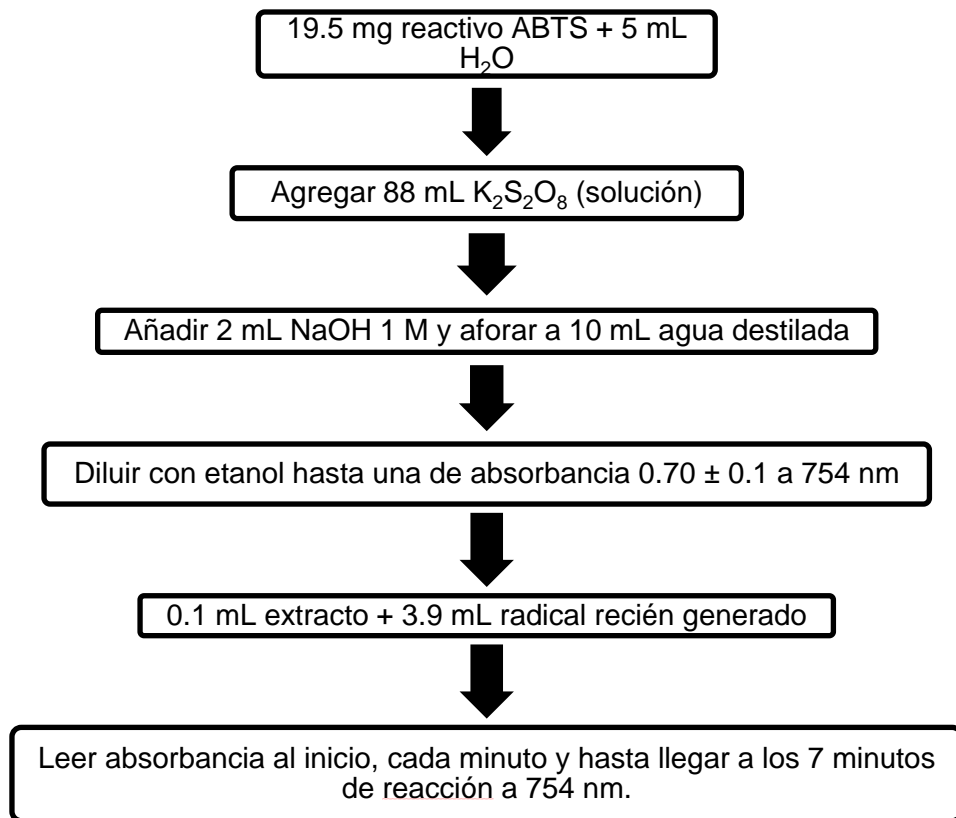


Figura 11. Diagrama de cuantificación de la capacidad antioxidante del endocarpio de nuez [*C. illinoensis* (Wangenh) K. Koch] por medio del radical ABTS^{•+}

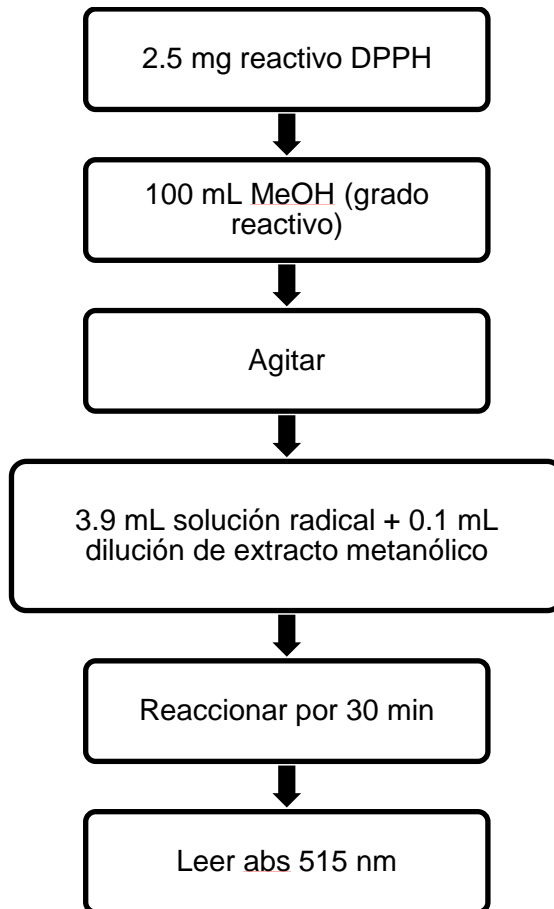


Figura 12. Diagrama de cuantificación de la capacidad antioxidante del endocarpio de nuez [*C. illinoensis* (Wangenh) K. Koch] por medio del radical DPPH[•]

Extracción de Compuestos Fenólicos para HPLC

Extracción Metanólica

Los compuestos fenólicos fueron extraídos del endocarpio pulverizado (30 mesh) de cada uno de los cultivares de las nueces en estudio. Se homogenizó 100 miligramos de muestra con 3 mL de metanol-agua (60:40 v/v) utilizando un vortex (Vari-WhirlMixer VWR Scientific, USA). Posteriormente, el homogenizado fue centrifugado a 8 400 g (Thermo electrón LED GmbH D-375220 Osterode) a 4°C por 5 min y sometido a movimientos ultrasónicos (Sonicador Branson, modelo 1510) por 60 min, por último, fue centrifugado a 16 800 g (Thermo electrón LED GmbH D-375220 Osterode) a 4°C por 15 min. El sobrenadante fue filtrado a través de una membrana nylon de 0.45 µm (Lin y Harnly, 2007).

Hidrólisis Ácida de Extractos

Se tomó 0.5 mL de extracto (filtrado de la extracción metanólica) y se homogenizó con 0.1 mL de HCl al 37 %. Posteriormente, se calentó a 85°C durante 2 horas (Baño Thermo Fisher Cientific Precision, modelo 2870). Después de cumplido el periodo de calentamiento, se adicionó 0.4 mL de MeOH al 100% y fue sometido a movimientos ultrasónicos (Sonicador Branson, modelo 1510) por 10 min, por último, fue filtrado a través de una membrana nylon de 0.2µm (Lin y Harnly, 2007).

Identificación de los Compuestos Fenólicos por HPLC

El procedimiento para la identificación de los compuestos fenólicos se realizó de acuerdo al método descrito por Cantos y col. (2000). Se introdujeron 20 μ L de extracto acidificado (0.1 g de muestra pulverizada / 3 mL de metanol al 100%) a un equipo de cromatografía HPLC (bomba Varian PS-230), equipado con un detector de arreglo de diodos (Agilent modelo G1315D). La elusión se inició con 98% del solvente A (agua más 5% de ácido fórmico) y 2% del solvente B (metanol grado HPLC) hasta alcanzar 32% de B a los 30 min y 40% de B a los 40 min, a un flujo de 1.0 mL/min. Se utilizó una columna Supelcosil TM LC18 (25 x 0.4 cm x 5 μ m tamaño de partícula, Supelco, Bellefonte, PA).

La identificación de los diferentes compuestos fenólicos se llevó a cabo comparándolos con los espectros de absorción de la librería espectral y los tiempos de retención de los estándares correspondientes, los cuales son detectados a 280 nm. Para la cuantificación se elaboraron curvas de calibración para cada uno de los compuestos identificados. El ácido gálico, epicatequina y epigallocatequina fueron cuantificados a 280 nm (longitud de onda a la cual presentan su absorbancia máxima). Los compuestos fenólicos de los extractos fueron analizados por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características Generales de los Extractos Metanólicos

Los extractos metanólicos obtenidos del endocarpio de los dos cultivares (Western y Wichita) de nogal pecanero de las temporadas 2010, 2011 y 2012 fueron de una tonalidad marrón oscuro traslucida.

Contenido de Fenoles Totales

En el presente estudio, se encontró que al comparar los extractos metanólicos de ambos cultivares (Western y Wichita) con respecto a cada una de las temporadas evaluadas, estos exhibieron diferencias significativas ($p < 0.05$), (Tabla 2), presentándose en los extractos metanólicos de ambos cultivares del 2010 y 2012 una concentración significativamente mayor (39 y 37 mg GAE/ g de endocarpio, respectivamente) que la temporada 2011.

Como se ha señalado al principio de este estudio, existe una amplia variedad de frutos secos, entre ellos la nuez pecanera, ricos en compuestos fenólicos a los cuales se les ha atribuido una propiedad antioxidante, por lo anterior, es necesario realizar una comparación entre los resultados encontrados en el presente estudio y los resultados de trabajos efectuados en el endocarpio de ciertos ejemplares similares a la nuez pecanera (Tabla 3).

Tabla 2. Fenoles totales y flavonoides totales en endocarpio de nogal pecanero.

Cultivar/Temporada	Fenoles Totales mg GAE/g	Flavonoides Totales mg CE/g
Western 2010	38.30±1.36 ^c	23.76±4.57 ^a
Western 2011	35.91±1.01 ^{a,b}	26.24±2.04 ^{a,b}
Western 2012	37.96±3.73 ^{b,c}	31.65±3.96 ^b
Wichita 2010	39.82±4.54 ^c	23.62±2.04 ^a
Wichita 2011	31.78±1.95 ^a	29.69±0.99 ^b
Wichita 2012	37.58±1.09 ^{b,c}	26.15±2.43 ^{a,b}

Las diferentes letras en la misma columna significa diferencias significativas entre las muestras (n= 6, P<0.05).

Contini y col., (2008) reportaron 56.6 mg GAE/g de fenoles totales presentes en una especie de avellana. Por otro lado, Kamath y Rajini (2007) encontraron una concentración de 243 mg GAE/g de fenoles totales para una especie de nuez Anacardo; mientras que Akbari y col., (2012) reportaron valores de fenoles totales en un rango de 939 a 3 211 mg GAE/g de nuez *Juglans regia*. Otros valores, con menor concentración (13.40 a 30.10 mg GAE/g) han sido reportados para la nuez (*Juglans regia*) (Jalili y col., 2012). Se puede observar que se han reportado concentraciones de fenoles totales menores y mayores a los del presente estudio (Tabla 3).

Villarreal y col. (2007), al realizar un estudio con 6 cultivares pertenecientes a *Carya illinoensis* (Desirable, Kanza, Kiowa, Nacono, Pawnee, y Shawnee) encontraron un intervalo de contenido de fenoles totales de 290 a 633 mg GAE/g, valores por arriba de los mostrados en el presente estudio. Por otra parte, Pinheiro y col. (2009) reportaron un menor contenido de fenoles totales (117–167 mg GAE/g) en 5 cultivares de nuez pecanera (Barton, Shoshone, Shawnee, Choctaw y Cape Fea) en comparación al estudio de Villarreal pero mayor al del presente estudio (Tabla 3).

De la Rosa y col. (2011) en su estudio con 2 cultivares de nuez (Western y Wichita) presentan valores de fenoles totales mayores (65.3–92.5 mg GAE/g) al del presente estudio (Tabla 3).

Un factor importante a considerar son las diferencias entre valores de fenoles, es la comparación entre varias especies dentro del grupo de los frutos secos. La diferencias entre las cantidades de fenoles del presente estudio y las reportadas para la misma especie por Villarreal y col. (2007) y Pinheiro y col. (2009), se debe a que los cultivares provienen de diferentes áreas geográficas, siendo expuestas a diferentes condiciones climatológicas durante su desarrollo, aun cuando pertenecen a la misma especie y mismos cultivares, especialmente el estudio reportado por De la Rosa y col. (2011). Se ha reportado que la cantidad de horas efectivas de frío a las que son expuestas las plantas son determinantes para la síntesis de metabolitos secundarios (compuestos polifenólicos).

Tabla 3. Comparación en contenido de fenoles totales entre los diferentes frutos secos.

Fruto/Autores	Rango de contenido de compuestos fenólicos en mg GAE/g	
	Mínima	Máxima
Nuez pecanera		
Presente estudio	31.8	39.8
Villarreal y col., (2007)	290	633
Pinheiro y col., (2009)	117	167
De la Rosa y col.,(2011)	65.3	92.5
Nuez (<i>Juglans regia</i>)		
Akbari y col., (2012)	939	3,211
Jalili y col., (2012)	13.4	30.1
Nuez anacardo		
Kamath y Rajini, (2007)		243
Avellana		
Contini y col., (2008)		56.6

Contenido de Flavonoides Totales

Los extractos metanólicos de los endocarpios pertenecientes a los cultivares Western y Wichita, temporadas 2011 y 2012, exhibieron los contenidos mayores de flavonoides totales cubriendo un rango de 26.15 a 31.65 mg CEt/g (Tabla 2).

Los trabajos de Akbari y col. (2012) con nuez (*Juglans regia*) y Tomaino y col. (2010) con pistacho, muestran una concentración mayor de flavonoides totales presentes en los endocarpios en comparación a los del presente estudio (Tabla 4). Sin embargo, De la Rosa y col. (2011) señalan en su estudio valores similares (26.3 – 36.1 mg CE/g) a los del presente estudio, esto puede deberse a que se trata de los mismos cultivares de nuez pecanera.

La diversidad climatológica en las zonas de cultivo (cantidad de horas frío) a las que es sometido el fruto durante su desarrollo es un factor importante para explicar las diferencias entre los valores de los compuestos fenólicos (Núñez Moreno y col., 2010).

Tabla 4. Comparación en contenido de flavonoides totales entre los diferentes frutos secos.

Fruto/Autores	Rango de contenido en flavonoides totales en mg CE/g	
	Mínima	Máxima
Nuez pecanera		
Presente estudio	22.3	31.7
De la Rosa y col., (2011)	26.3	36.1
Nuez (<i>Juglans regia</i>)		
Akbari y col., (2012)	301	811
Pistacho		
Tomaino y col., (2010)		70.3

Contenido de Taninos Condensados

En lo que respecta al contenido de taninos, el intervalo encontrado en los cultivares Western y Wichita de las tres temporadas (2010, 2011 y 2012) fue de 384.39 ± 3.04 a 406.60 ± 0.72 mg CE/g. Siendo los niveles más altos para los cultivares de nuez Western y Wichita (2010) (401.77 ± 1.23 y 406.60 ± 0.72 mg CE/g, respectivamente) (Tabla 5).

Tabla 5. Taninos condensados en endocarpio de nogal pecanero.

Cultivar/Temporada	mg CE/g
Western 2010	401.77 ± 1.23^d
Western 2011	390.79 ± 1.05^b
Western 2012	390.00 ± 3.05^b
Wichita 2010	406.60 ± 0.72^e
Wichita 2011	384.39 ± 3.04^a
Wichita 2012	396.68 ± 1.73^c

Las diferentes letras en la misma columna significa diferencias significativas entre las muestras (n= 6, P<0.05).

Tomaino y col. (2010) en su estudio con endocarpio de pistacho, encontró que el contenido de taninos condensados fue significativamente menor en comparación con los de la nuez pecanera del presente trabajo (Tabla 6), esto debido a las diferencias entre especies dentro del grupo de los frutos secos.

Con respecto a estudios realizados en distintos cultivares pertenecientes a la misma especie del presente trabajo, Villarreal y col. (2007) encontraron un contenido de taninos condensados notablemente mayor (388 – 876 mg CE/g) a Pinheiro y col. (2009). Por otro lado, se puede observar que el contenido de taninos condensados encontrados en este estudio están dentro del rango de valores reportados por De la Rosa y col. (2011), quienes estudiaron cultivares mismos del presente estudio (Tabla 6).

Tabla 6. Comparación en contenido de taninos condensados entre los diferentes frutos secos.

Fruto/Autores	Rango de contenido en taninos condensados en mg CE/g	
	Mínima	Máxima
Nuez pecanera		
Presente estudio	384.39	406.6
Villarreal y col., (2007)	495	876
Pinheiro y col., (2009)	35	48
De la Rosa y col., (2011)	316.1	464.4
Pistacho		
Tomaino y col., (2010)		16.43

Evaluación de la Capacidad Antioxidante

Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC). Método ABTS

En lo que respecta a la capacidad antioxidante por ABTS, los extractos metanólicos de los cultivares Western y Wichita (2012) exhibieron la mayor capacidad con 1 315.63 y 1 354.88 $\mu\text{mol TE/g}$ de endocarpio. Estos endocarpios también presentaron los mayores niveles de fenoles y flavonoides totales. Ambos cultivares presentaron diferencias significativas entre las actividades antioxidantes de las temporadas (2010, 2011) (Tabla 7).

Tabla 7. Capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC). Métodos ABTS y DPPH en endocarpio de nogal pecanero.

Cultivar/Temporada	ABTS $\mu\text{mol TE/g}$	DPPH $\mu\text{mol TE/g}$
Western 2010	1 101.32 \pm 75.20 ^a	943.15 \pm 32.55 ^a
Western 2011	1 272.45 \pm 20.49 ^b	1 219.56 \pm 78.63 ^b
Western 2012	1 315.63 \pm 94.68 ^c	1 559.55 \pm 5.79 ^d
Wichita 2010	1 272.30 \pm 25.84 ^b	1 042.55 \pm 107.34 ^a
Wichita 2011	1 111.95 \pm 57.40 ^a	1000.13 \pm 25.49 ^a
Wichita 2012	1 354.88 \pm 79.07 ^c	1 416.98 \pm 22.00 ^c

Las diferentes letras en la misma columna significa diferencias significativas entre las muestras (n= 6, P<0.05).

En cuanto a estudios realizados en cultivares pertenecientes a la especie *Carya illinoensis*, Pinheiro y col. (2009) encontraron valores de actividad antioxidante que van de 1 112 a 1 763 $\mu\text{mol TEAC/g}$, los cuales presentan una similitud con el rango de valores obtenidos en el presente estudio. No obstante, De la Rosa y col. (2011) reportan una actividad antioxidante baja (518.4-644.2 $\mu\text{mol TE/g}$) aún para la misma muestra en estudio (Tabla 8).

Shahidi y col. (2007) realizaron un estudio de la capacidad antioxidante (ABTS) en extractos de endocarpio de avellana, obteniendo un valor significativamente alto (4 744.95 $\mu\text{mol TE/g}$), asimismo, Xu y col. (2012) encontraron un intervalo de actividad antioxidante en especies de *Corylus avellana* L entre 122.1 (para Yamhill) y 169.7 (para Clark) $\mu\text{mol TE/g}$ (Tabla 8). Por otro lado, Seeram y col. (2006) evaluaron la actividad antioxidante (ABTS) en endocarpio de pistacho, obteniendo valores que van de 173.8 a 952.5 $\mu\text{mol TE/g}$, contrariamente a lo publicado por Siriwardhana y col. (2002) en su estudio con endocarpio de almendra, donde se observa una actividad antioxidante significativamente baja (52.9 $\mu\text{mol TE/g}$) (Tabla 8).

La diferencia entre capacidades antioxidantes de endocarpios de los mismos cultivares, o variedades de frutos secos, se podría deber a la cantidad y diversidad de compuestos hidrofílicos e hidrofóbicos presentes con actividad antioxidante, producidos por el estrés generado en la planta a consecuencia de las horas frío recibidas por las condiciones climatológica en las zonas de cultivo y que son necesarias para el desarrollo del fruto (Sies, 1997; Kukoski y col., 2005; Arranz Martínez, 2010; Núñez Moreno y col., 2010).

Tabla 8. Comparación en actividad antioxidante (ABTS) entre los diferentes frutos secos.

Fruto/Autores	Rango de contenido en actividad antioxidante (ABTS) en $\mu\text{mol TE/g}$	
	Mínima	Máxima
Nuez pecanera		
Presente estudio	1 101.32	1 354.88
Pinheiro y col., (2009)	1 112	1 763
De la Rosa y col., (2011)	518.4	644.2
Avellana		
Shahidi y col., (2007)		4 744.95
Xu y col., (2012)	122.1	169.7
Pistacho		
Seeram y col., (2006)	173.8	952.5
Almendra		
Siriwardhana y col., (2002)		52.9

Capacidad Antioxidante por Método DPPH

En la Tabla 9 se observa que los extractos metanólicos de los cultivares Western y Wichita del 2012, mostraron la mayor inhibición por DPPH (1 559.55 y 1 416.98 μ moles equivalentes Trolox/g), mismos que por DPPH. La menor inhibición la expresaron los cultivares Western temporadas 2010 y 2011 (943.15 y 1 219.56 μ moles equivalentes Trolox/g) y Wichita temporadas 2010 y 2011 (1 042.55 y 1000.13 μ mol TE/g) (Tabla 7).

Villarreal y col. (2007), realizaron un estudio con cultivares pertenecientes a la especie *Carya illinoensis*, encontrando una actividad antioxidante mayor (1 318.47-2, 697.41 μ m TE/g) medida a través de la inhibición del radical DPPH[•]. Asimismo, Pinheiro y col. (2009) reportan valores de inhibición que van de 1 220 a 1 950 μ m TEAC/g. Por el contrario, De la Rosa y col. (2011) muestran valores bajos de inhibición (537.8-720.3 μ mol TE/g) comparados con el presente estudio (Tabla 9).

La capacidad de inhibición del radical DPPH[•] en una muestra de estudio, es debida a la cantidad presente de compuestos hidrofóbicos estabilizadores del radical con propiedad antioxidante, los cuales son sintetizados cuando la planta vegetal es sometida estrés sea por las condiciones climatológicas o hídricas durante su desarrollo en las zonas de cultivo. Esto es una explicación de las diferencias entre las capacidades antioxidantes sea del mismo o diferente cultivar y variedad de los frutos secos (Sies, 1997; Kukoski y col., 2005; Arranz Martínez, 2010; Núñez Moreno y col., 2010).

Tabla 9. Comparación en actividad antioxidante (DPPH) entre los diferentes frutos secos.

Fruto/Autores	Rango de contenido en actividad antioxidante (DPPH) en $\mu\text{mol TE/g}$	
	Mínima	Máxima
Nogal pecanero		
Presente estudio	943.15	1 559.55
Villarreal y col., (2007)	1 318.47	2 697.41
Pinheiro y col., (2009)	1 220	1 950
De la Rosa y col., (2011)	537.8	720.3

Identificación de los Compuestos Fenólicos por HPLC

Con respecto a la identificación de la fracción fenólica ácida del endocarpio del cultivar Wichita de nogal pecanero (*Carya illinoensis*) se logró identificar y cuantificar por HPLC, entre los flavonoides a epicatequina, epigalocatequina y de los ácidos fenólicos al gálico. El contenido mayor de epicatequina lo presentaron las temporadas 2010 y 2011 (382.30 ± 51.49 - 198.20 ± 16.43 $\mu\text{g/g}$); mientras que el de la temporada del 2012 mostró el menor contenido (109.69 ± 2.43 $\mu\text{g/g}$) (Tabla 10).

Por otro parte, para la temporada 2010 se encontró un contenido significativamente mayor de epigalocatequina (30981.27 ± 3049.84 $\mu\text{g/g}$), mostrando, una diferencia significativa con las temporadas 2011 y 2012.

En cuanto al ácido gálico se encontró que las temporadas 2010 y 2012 presentaron los niveles mayores (183 y 198, respectivamente) (Tabla 10).

En trabajos realizados por Tomaino y col. (2010) y John y Shahidi, (2010) en endocarpios de pistacho y nuez de Brasil respectivamente, encontraron un contenido mayor de ácido gálico, mientras que para epicatequina, los valores fueron significativamente menores (104.8 a 10.56 $\mu\text{g/g}$) a los de la nuez pecanera del presente trabajo (Tabla 11).

El contenido de ácido gálico mostrado en este estudio, se encuentra en el rango de valores reportados por De la Rosa y col. (2011), quienes estudiaron los mismos cultivares del presente estudio (Tabla 11).

Se ha observado que el ácido gálico es el compuesto fenólico predominante en el endocarpio de diferentes frutos secos (Tomaino y col., 2010; John y Shahidi, 2010; De la Rosa y col., 2011). Por el contrario, se ha reportado una gran variabilidad en el contenido de flavonoides (epicatequina y epigalocatequina),

esto podría deberse a las diversas condiciones de desarrollo (ambientales) a las que estuvieron expuestos los frutos secos, lo cual provoca una mayor variabilidad en cantidad y tipo de metabolitos secundarios.

Tabla 10. Cuantificación de compuestos fenólicos en endocarpio de nogal pecanero.

Cultivar/ Temporada	GA μg/g	Ecat μg/g	Egcat μg/g
Wichita 2010	183.18±27.16 ^b	832.30±51.49 ^b	30 981.27±3 049.84 ^b
Wichita 2011	69.13±2.02 ^a	713.30±28.49 ^a	12 341. 96±1 653.69 ^a
Wichita 2012	198.20±16.43 ^b	109.69±2.43 ^c	12 875.51±4.389.43 ^a

Las diferentes letras en la misma columna significa diferencias significativas entre las muestras (n= 3, P<0.05); comparación de muestras contra librería espectral= 96-98 % de similitud.

Tabla 11. Análisis cuantitativo de compuestos fenólicos entre los diferentes frutos secos.

Fruto/Autores	GA ($\mu\text{g/g}$)	Ecat ($\mu\text{g/g}$)	Egcat ($\mu\text{g/g}$)
Nuez Pecanera			
Presente estudio	183.18-198.20	109.69-832.30	12 341.96-30 981.27
De la Rosa y col., (2011)	189-274.5		
Pistacho			
Tomaino y col., (2010)	97.631-453.31	104.8-10.56	
Nuez del Brasil			
John y Shahidi, (2010)	294.19		

CONCLUSIONES

Los endocarpios ó cáscara de los dos cultivares de nuez (Western y Wichita) de las tres temporadas (2010, 2011 y 2012) exhibieron contenidos importantes de fenoles y flavonoides totales; asimismo, de taninos condensados.

Los principales compuestos fenólicos encontrados en los endocarpios ó cáscara de los cultivares de nuez (Western y Wichita) de las tres temporadas (2010, 2011 y 2012) fueron ácido gálico, epicatequina y epigallocatequina.

Todos los extractos de los endocarpios de los dos cultivares de nuez y de las tres temporadas de estudio mostraron una capacidad antioxidante total significativamente más alta o similar a las reportadas para esta especie.

Por lo anterior, se puede considerar al desecho agroindustrial de la nuez pecanera (endocarpio) como una fuente importante de compuestos antioxidantes.

RECOMENDACIONES

Deseando una mejora del mismo trabajo se recomienda lo siguiente:

Cuantificar la citotoxicología de los extractos del endocarpio del nogal pecanero.

Sugerir a la industria que maneja productos hechos con antioxidantes, el uso del endocarpio de la nuez pecanera considerando su potencial como fuente de antioxidantes naturales.

BIBLIOGRAFÍA

Akbari V, Jamei R, Heidari R, Esfahlan AJ. 2012. Antiradical activity of different parts of Walnut (*Juglans regia* L.) fruit as a function of genotype. Food Chemistry 135(4):2405-2408.

Araya H, Clavijo C, Herrera C. 2006. Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivadas en Chile. Archivos latinoamericanos de nutrición 56(4):361-365.

Arranz Martínez S. 2010. Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: metodología para su determinación e identificación. Tesis. Universidad Complutense de Madrid. 5p.

Ávalos García A, Pérez-Urria Carril E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal 2(3):136.

Barnes S, Prasain J. 2005. Current progress in the use of traditional medicines and nutraceuticals. Current Opinion in Plant Biology 324-328p.

Basurto Sotelo M. 2005. Evaluación nutricional de la fertilización nitrogenada de otoño en nogal pecanero (*Carya illinoensis* (Wangenh) k. Koch) bajo sistema de aspersión y microaspersión. Tesis. Universidad Autónoma de Chihuahua. 25-27p.

Bedascarrasbure E, Maldonado L, Álvarez A, Rodríguez E. 2004. Contenido de fenoles y flavonoides de propóleos argentinos. Acta Farmarmacéutica Bonaerense 23(3):369.

Bonafine O, Cañizares A, Laverde D. 2006. Importancia de los fitoquímicos en la alimentación. Revista de Difusión Tecnología Agrícola, Pecuaria, Pesquera y Acuícola 0(7):9-12.

Camarena Gómez DM, Núñez Moreno H, Puebla Gutiérrez MA. 2010. La nuez pecanera: características comerciales y de consumo. XI Simposio Internacional de Nogal Pecanero. 169p.

Cantos E, García-Viguera C, De Pascual-Teresa S, Tomás-Barberán FA. 2000. Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of Cv. Napoleon table grapes. Journal Agricultural and Food Chemistry 48(10):4607.

Colaric M, Veberic R, Solar A, Hudina M, Stampar F. 2005. Phenolics acids, syringaldehyde, and juglone in fruits of different cultivars of *Juglans regia* L. Journal Agricultural and Food Chemistry 53(16):6390.

Comité Mexicano del Sistema Producto Nuez, A. C. (2012). Come Nuez. Accesado el día 31 de Julio de 2013, en <http://www.comenuz.org/xoo/modules/tinycontent/index.php?id=2>

Contini M, Baccelloni S, Massantitni R, Anelli G. 2008. Extraction of natural antioxidants from hazelnut (*Corylus avellana* L.) shell and skin wastes by long maceration at room temperature. Food Chemistry 110(3):659-669.

Costa Oliveira MS, Maia de Moraes S, Varela Magalhaes D, Pereira Batista W, Pinto Vieira ÍG, Aragao Craveiro A, Alencar de Maneses S, Eire J, Urano Carvalho AF, Gomes de Lima GP. 2011. Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. Acta Tropica 117(3):165.

De la Rosa LA, Alvarez-Parrilla E, Shahidi, F. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activity of kernels and shells of mexicanpecan (*Carya illinoensis*). Journal of Agricultural and Food Chemistry 59(1):160.

Deschamps Solórzano L. 2010. Caso de éxito productora de nuez, sociedad de producción rural de responsabilidad ilimitada. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. 8p.

Drago Serrano ME, López López M, SaínezEspuñes T. 2006. Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas 37(004):59.

El Siglo De Durango. 2011. El Siglo De Durango. Accesado el día 16 de Abril de 2013 en <http://www.elsiglodedurango.com.mx/noticia/299806.la-nuez-mexicana-fuente-de-nutricion-calidad.html>

Fernández Agulló A, Pereira E, Freire MS, Valentao P, Andrade PB, González Álvarez J, Pereira JA. 2013. Influence of solvent on the antioxidant properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. Industrial Crops and Products 42:126.

García Mier L. 2009. Contenido total de taninos condensados en las variedades pinto zapata, azufrado higuero, negro 8025 y bayo madero de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) cocidas por calentamiento ohmico. Tesis. Instituto Politécnico Nacional. 8p.

García DE. 2004. Principales factores antinutricionales de las leguminosas forrajeras y sus formas de cuantificación. Pastos y Forrajes 27(2):104.

Gutiérrez Zavala Á, Ledesma Rivero L, García García I, Grajales Castillejos O. 2007. Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. Revista Cubana Salud Pública 33(1): 2.

Iglesias Neira J. 2009. Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de la pesca. Tesis. Universidad de Santiago de Compostela. 65p.

John JA, Shahidi F. 2010. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). *Journal of Functional Foods* 2(3):196–209.

Jalili A, Heydari R, Sadeghzade A, Alipour S. 2012. Reducing power and radical scavenging activities of phenolic extracts from *Juglans regia* hulls and shells. *African Journal of Biotechnology* 11(37):9042.

Kamath V, Rajini PS. (2007). The efficacy of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) skin extract as a free radical scavenger. *Food Chemistry* 103(2):430.

Kukoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos Campinas* 25(4):726-732.

Lin L-Z, Harnly JM. 2007. A screening method for the identification of glycosylated flavonoids and other phenolic compounds using a standard analytical approach for all plant materials. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 55(4):1088.

López Díaz JC, Arras Vota AM, Salas González JM, Aguilar Valdés A, Robles Hernández L, Villalobos Pérez E, Rodríguez Andujo A. 2011. Rentabilidad del nogal pecanero bajo sistemas de producción de mediana tecnología en Delicias, Chihuahua. *Revista Mexicana de Agronegocios* 15(29):721.

Molina-Quijada DM, Medina-Juárez LA, González-Aguilar GA, Robles-Sánchez RM, Gámez-Meza N. 2010. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cáscara de uva (*Vitis vinifera* L.) de mesa cultivada en el noroeste de México. *CyTA – Journal of Food* 8(1):57-63.

Montoya Ballesteros L, García Pérez TG, Martínez Núñez YJ, Robles Ozuna LE. 2010. Evaluación de la calidad de productos confitados de nuez (*Carya illinoensis*). *XI Simposio Internacional de Nogal Pecanero* 150p.

Moreno Barbosa JJ, López Velandia C, Maldonado A, Giraldo L, Moreno Piraján JC. 2013. Removal of lead (II) and zinc (II) ions from aqueous solution by adsorption onto activated carbon synthesized from watermelon shell and walnut shell. *Adsorption* 19(2-4):676.

Núñez Barrios A. 2007. La cadena de producción en el cultivo del nogal pecanero en México y Estados Unidos. Accesado el día 24 de Julio de 2013, en http://www.comenez.org/xoo/uploads/Eventos/8_Nogalero/04_LaCadenadeProduccionenelCultivodelNogalPecanero.pdf

Núñez Moreno H, Sabori Palma R, Martínez Díaz G, Grageda Grageda J, Quijada Flores A, Carvajal S. 2010. La defoliación química invernal en nogal pecanero. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25(002):125.

Ojeda Barrios D, Hernández Rodríguez O, López Ochoa G, Martínez Téllez J. 2009. Evolución de los sistemas de producción de nuez en México. *Tecnología Chihuahua* 3(3):116-117.

Orona Castillo I, Sangerman Jarquí DM, Fortis Hernández M, Vázquez Vázquez C, Gallegos Robles MÁ. 2013. Producción y comercialización de nuez pecanera (*Carya illinoensis* Koch) en el norte de Coahuila, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4(3):461.

Otero MJ, Hidalgo LG. 2004. Taninos condensados en especies forrajeras de clima templado: efectos sobre la productividad de ruminantes afectados por parasitosis gastrointestinales (una Revisión). *Livestock Research for Rural Development* 16(2).

Palencia Mendoza Y. 1999. Sustancias bioactivas en alimentos. Accesado el día 17 de Septiembre de 2012, de Universidad de Zaragoza, en http://www.unizar.es/med_naturista/bioactivos%20en%20alimentos.pdf

Pecan Global. 2013. Accesado el 18 de Abril de 2013, de Pecan Global, en <http://pecanglobal.co.za/>

Pineda Alonso D, Salucci M, Lázaro R, Maiani G, Ferro-Luzzi A. 1999. Capacidad antioxidantes y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición* 13(2):104-11.

Pinheiro do Prado AC, Aragao AM, Fett R, Block JM. 2009. Antioxidant properties of Pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] shell infusion. *Grasas y Aceite* 60(4):333.

Reckziegel P, Boufleur N, Barcelos RC, Benvegnú DM, Pase CS, Muller LG, Teixeira AM, Zanella R, Prado ACP, Fett R, Block JM, Burger ME. 2011. Oxidative stress and anxiety-like symptoms related to withdrawal of passive cigarette smoke in mice: beneficial effects of pecan nut shells extract, a by-product of the nut industry. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74(6):1771.

Romero Arenas O, López Escobedo R, Damián Huato MÁ, Hernández Treviño I, Parraguirre Lezama JF, Huerta Lara, M. 2012. Evaluación del residuo de cáscara de nuez (*Juglans regia* L.) en la producción de plántulas de *Pinus patula*, en vivero. *Agronomía Costarricense* 36(2):103.

Seeram NP, Zhang Y, Henning SM, Lee R, Niu Y, Lin G, Heber D. 2006. Pistachio skin phenolics are destroyed by bleaching resulting in reduced antioxidative capacities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(19):7039.

Shahidi F, Alasalvar C, Liyana-Pathirana, CM. 2007. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts. *Agricultural and Food Chemistry* 55(4):1212-1213.

Sies H. 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology* 82(2):291-295.

Siriwardhana SS, Shahidi F. 2002. Antiradical activity of extracts of almond and its by-products. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 79(9):905-906.

Stévigny C, Rolle L, Valentini N, Zeppa G. 2007. Optimization of extraction of phenolic content from hazelnut shell using response surface methodology. *Science of Food and Agriculture* 87(15):2817.

Suárez Dieguez T, López Rodríguez G, Ramos Ramírez EG. 2011. La Nuez. Accesado el día 16 de Abril de 2013, en <http://www.conacyt.gob.mx/comunicacion/Revista/252/articulos/la-nuez-y-la-nutricion-humana.html>

Texas Pecan Board. 2010. Texas Pecan Board. Accesado el día 18 de Abril de 2013, en <http://www.texaspecans.org/varieties.html>

Tomaino A, Martorana M, Arcoraci T, Monteleone D, Giovinazzo C, Saija A. 2010. Antioxidant activity and phenolic of pistachio (*Pistacia vera* L, variety Bronte) seed and skins. *Biochimie* 92(9):1116.

Vilaplana M. 2003. Beneficios cardiovasculares, antioxidantes y gastrointestinales de los frutos secos. *Revista de la Oficina de Farmacia* 22(8):76.

Villarreal-Lozoya JE, Lombardini L, Cisneros-Zevallos L. 2007. Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.)K. Koch] cultivars. *Food Chemistry* 102(4):1244-1248.

Viveros Esparza. 2013. Accesado el día 18 de Abril de 2013, en Viveros Esparza: <http://www.viverosesparza.com.mx/variedades.html>

Xu Y, Sismour EN, Parry J, Hanna MA, Li H. 2012. Nutritional composition and antioxidant activity in hazelnut shells from US-grown cultivars. *International Journal of Food Science and Technology* 47(5):943.