

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA



Extracción de compuestos bioactivos a partir de ruezno de pistache (*Pistacia vera L.*)
mediante tecnologías verdes

Por:

XIMENA ARELY CORDERO NIETO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Agosto, 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Extracción de compuestos bioactivos a partir de ruezno de pistache (*Pistacia vera L.*)
mediante tecnologías verdes

Por:

XIMENA ARELY CORDERO NIETO

TESIS

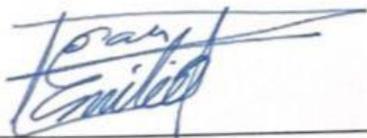
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Julio César Tafolla Arellano
Asesor Principal UAAAN



M.C. Emilio Ochoa Reyes
Coasesor



Dr. José Juan Buenrostro Figueroa
Asesor Principal Externo



Dr. Jesús Omar Díaz Rivas
Coasesor

Saltillo, Coahuila, México

Agosto, 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Extracción de compuestos bioactivos a partir de ruezno de pistache (*Pistacia vera L.*)
mediante tecnologías verdes

Por:

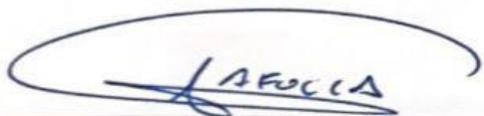
XIMENA ARELY CORDERO NIETO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

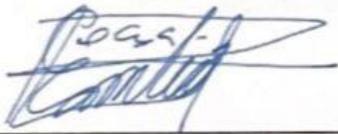
Aprobada por el Jurado Examinador:



Dr. Julio César Tafolla Arellano
Asesor Principal UAAAN



Dr. José Juan Buenrostro Figueroa
Asesor Principal Externo



M.C. Emilio Ochoa Reyes
Coasesor



Dr. Jesús Omar Díaz Rivas
Coasesor



M.C. Sergio Sánchez Martínez
Coordinador de la División de Ingeniería

Saltillo Coahuila, México

Agosto, 2024

DERECHO DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

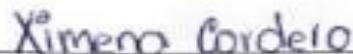
Todo material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es el responsable directo y jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes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

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

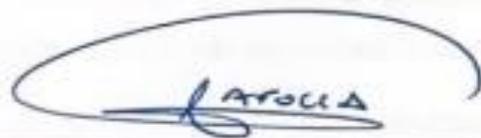
Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.

Atentamente.

Alma Terra Mater



Ximena Arely Cordero Nieto
Autor Principal



Dr. Julio César Tafolla Arellano
Asesor Principal UAAAN

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** Por iluminarme, guiarme y cuidarme cada día. Tu amor es incomparable, gracias por nunca abandonarme.

A mi **ALMA TERRA MATER**, la **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO** por darme la oportunidad de formar parte de esta gran casa de estudios y permitirme acceder a nuevas posibilidades. Con gratitud eterna, ¡Buitres por siempre!

Al **CIAD DELICIAS** por darme la oportunidad de realizar una estancia donde realicé mi tesis y mis prácticas profesionales y sobre todo gracias por el apoyo económico.

Al **LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA DEL CIAD DELICIAS** por la confianza que tuvieron en mí y por todas las enseñanzas que adquirí durante mi tiempo en este laboratorio. Gracias a todos los que forman parte de este equipo de trabajo que me mostraron mucha paciencia y me ayudaron a resolver todas mis dudas.

Al **Dr. JULIO CESAR TAFOLLA ARELLANO** quiero agradecerle por su constante apoyo, paciencia y confianza durante la realización de este proyecto al igual que durante mi formación académica como profesor. Gracias por su apoyo incondicional y por ser un excelente asesor.

Al **Dr. JOSÉ JUAN BUENROSTRO FIGUEROA** por haberme aceptado como practicante y sobre todo por haber aceptado formar parte de uno de mis asesores principales, gracias por darme la oportunidad de llevar a cabo este trabajo y por brindarme las instalaciones para este proyecto. Agradezco sinceramente por compartir de su conocimiento y estar siempre disponible cuando lo necesitaba. Además, quiero reconocer su paciencia al ayudarme a terminar este trabajo de investigación Un gran asesor, pero, ante todo un verdadero amigo.

Al **M.C EMILIO OCHO REYES** Agradezco profundamente los momentos compartidos en el laboratorio como fuera de él, pero, sobre todo, sus consejos, sus regaños, por escucharme siempre, por su apoyo, por su confianza, a sobrellevar los momentos de estrés y por su gran paciencia, aprecio que me haya dado esa confianza en mi capacidad para alcanzar cualquier objetivo que me proponga. Le agradezco por permitirme trabajar y experimentar libremente en el laboratorio LBYB lo que hizo que me esforzara más y superara como persona. Gracias

por adoptarme durante mis prácticas profesionales haciendo que mi estancia en Chihuahua se convirtiera en una de las experiencias más bonitas que he vivido. Por ser además de un académico, un gran amigo. Lo quiero mucho.

Agradezco al **Dr. JESÚS OMAR DÍAS RIVAS** por su aportación durante este proyecto y por estar siempre accesible a cualquier duda o comentario, igualmente por aceptar ser parte de mi comité de tesis.

DEDICATORIA

A mis Padres **ESTRELLA MARISOL NIETO ESCOBEDO Y ESTEBAN ALEJANDRO ORTIZ Zamarripa** quienes han sido mi pilar fundamental ya que me han brindado apoyo y motivación a lo largo de todos estos años de mi vida. Gracias, papás, por ser mis mayores defensores, por animarme a creer en mí misma, por mostrarme el valor del esfuerzo y dedicación. Valoro profundamente el apoyo de sus manos amorosas cada vez que tropecé y caí en este viaje de la vida, me recordaron que siempre hay esperanza y que cada día es una oportunidad para levantarme con más fuerza. Los amo.

A mis hermanos **FABIAN, DAN MARINO Y XIOMARA MIAMI** que han sido mi motivación para alcanzar mis metas al igual, siempre alegran mi vida con su apoyo, sus risas y me consienten con su cariño. Me siento tan feliz porque celebren mis logros, y este es tan suyo como mío.

A mis abuelitos **ROSA ELVIA DE LA RIVA, VÍCTOR MANUEL NIETO, SOCORRO ESCOBEDO** † a quienes les tengo un gran afecto, gracias por sus bendiciones y por hacer mi vida más bonita con su gran cariño.

A mi tía **PATRICIA ORTIZ** por todo el apoyo durante mi carrera profesional, por sus consejos, por celebrar mis logros y por estar a mi lado en cada etapa de mi vida, por todo el amor que me ha brindado, la quiero mucho.

Quiero tomar un momento para dirigirme a toda mi familia, quienes estuvieron a mi lado y me ofrecieron su apoyo incondicional para culminar esta etapa tan significativa en mi vida. A mis tíos, primos y demás parientes, les agradezco sinceramente por estar presentes y por sus palabras de ánimo.

A mi mejor amiga **MARIJOSE COVARRUBIAS** quien la considero como mi hermana de otra sangre, quiero expresarte mi agradecimiento por ser una amistad tan significativa en mi vida. El acompañamiento y respaldo que me has brindado durante este proceso tienen un gran valor para mí, gracias por soportarme 4 meses día y noche, por cada consejo tuyo, por estar siempre para mí, gracias por compartir las mismas locuras y por sacarme una sonrisa en cada momento, gracias por un logro más juntas, cada experiencia compartida es apreciada

profundamente. Te amo mucho y valoro enormemente nuestra amistad. Espero que esta conexión perdure siempre y que sigamos siendo un apoyo mutuo en nuestras vidas.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a las bellas amistades que he formado en la universidad (**MARIANELA, PABLO, LUIS, PEPE, ERNESTO**) los quiero mucho, espero que nuestra amistad dure por siempre y que continuemos creando recuerdos juntos.

A los padres de mi mejor amiga **YOLANDA CÁRDENAS Y CARLOS COVARRUBIAS** quienes han sido un gran apoyo para mí, gracias por sus palabras de motivación y por sus buenos deseos hasta la fecha.

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a mis amistades que siempre me apoyaron a lo largo de este proyecto a mis amigos del laboratorio LBYB en Delicias **JOSÉ CARLOS Y MAYTE**.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Pág.
AGRADECIMIENTOS.....	V
DEDICATORIA.....	VI
ÍNDICE GENERAL.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
ÍNDICE DE CUADROS.....	X
Resumen.....	XI
Capítulo I. INTRODUCCIÓN.....	12
1.1. Justificación.....	13
1.2. Hipótesis.....	14
1.3. Objetivo general.....	14
1.3.1. Objetivos específicos.....	14
Capítulo II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	15
2.1. Generalidades del pistache.....	15
2.2. Composición química.....	16
2.3. Ruzno de pistache.....	17
2.4. Taninos.....	18
2.5. Métodos de extracción de compuestos bioactivos.....	19
2.5.1. Extracción convencional.....	20
2.5.2. Extracción asistida por ultrasonido (EAU).....	20
2.5.3. Extracción asistida por microondas (EAM).....	21
2.5.4. Extracción asistida por ultrasonido-microondas (EAUM).....	21
2.6. Métodos para la determinación de la capacidad antioxidante.....	22
2.6.1. DPPH.....	22
2.6.2. ABTS.....	22
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
3.1. Material vegetal.....	23
3.2. Reactivos químicos.....	23

3.3. Obtención de los extractos a partir del ruezno de pistache.....	23
3.4. Separación y purificación mediante cromatografía en columna.....	23
3.5. Análisis químico.....	24
3.5.1. Evaluación de la capacidad antioxidante.....	24
3.5.2. Determinación del IC₅₀.....	25
3.5.3. Fenoles hidrolizables.....	25
3.5.4. Fenoles condensados.....	25
3.6. Análisis de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas....	26
3.7. Análisis por espectroscopía infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR).....	26
3.8. Análisis de resultados.....	26
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
4.1. Obtención de extractos mediante EAU, EAM y EAUM.....	27
4.2. Contenido de fenoles condensados.....	28
4.3. Contenido de fenoles hidrolizables.....	29
4.4. Contenido de fenoles totales.....	30
4.5. Capacidad antioxidante.....	32
4.6. Perfil de compuestos fenólicos por GC-MS.....	33
4.7. Análisis por Espectroscopía Infrarroja por Transformadas de Fourier.....	35-
	37
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES.....	38
CAPÍTULO VI. LITERATURA CITADA.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	Pág.
Fig. 1 Fruto del árbol del pistache.....	15
Fig. 2. Fruto de pistache comercial	16
Fig. 3. Clasificación de los taninos.....	19
Fig. 4. Efecto del método de extracción asistida por ultrasonido (EAU), microondas (EAM) e híbrida (EAUM) sobre el contenido de fenoles condensados (FC) en extractos de ruezno de pistache.	28
Fig. 5. Efecto del método de extracción asistida por ultrasonido (EAU), microondas (EAM) e híbrida (EAUM) sobre el contenido de fenoles hidrolizables (FH) en extractos de ruezno de pistache.	29
Fig. 6. Efecto del método de extracción asistida por ultrasonido (EAU), microondas (EAM) e híbrida (EAUM) sobre el contenido de fenoles totales (FT) en extractos de ruezno de pistache	30
Fig. 7. Efecto de la concentración de extracto de ruezno de pistache sobre la inhibición del radical DPHH.....	32
Fig. 8. Efecto de la concentración de extracto de ruezno de pistache sobre la inhibición del radical ABTS.....	
Fig. 9. Cromatograma del extracto de ruezno de pistache obtenido mediante EAM.....	33
Fig. 10. Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de ruezno de pistache...	35

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pág.
Cuadro 1. Rendimiento de fracción de polifenoles obtenidos a partir de ruezno de pistache mediante EAUM, EAU y EAM.....	27
Cuadro 1. Perfil de compuestos fenólicos presentes en extractos de ruezno de pistache por EAM obtenidos mediante GC-MS.....	34
Cuadro 2. Señales identificadas en el espectro infrarrojo de polifenoles purificados de ruezno.....	35

RESUMEN

El pistache *Pistacia vera* L. es un cultivo procedente de Oriente Medio, y es uno de los frutos secos más populares del mundo por su alto valor nutricional. El ruezno es un subproducto de baja valoración de la producción del pistache ya que este es desechado en las distintas fases del procesamiento comercial y se genera en grandes cantidades, estimándose un promedio del 60% de la producción, lo cual puede ocasionar importantes impactos ambientales. El objetivo de este proyecto fue evaluar el proceso de extracción y potencial antioxidante (ABTS y DPPH) de compuestos fenólicos obtenidos a partir de ruezno de pistache empleando tecnologías verdes. Se evaluaron tres métodos de extracción: ultrasonido (EAU), microondas (EAM) e híbrido (Ultrasonido-Microondas, EAUM). Los extractos obtenidos fueron separados y purificados mediante cromatografía en columna para obtener la fracción rica en compuestos fenólicos y se analizó el contenido de fenoles hidrolizables (FH), condensados (FC) y totales (hidrolizables + condensados, FT). El mayor rendimiento de compuestos purificados a partir del extracto de ruezno de pistache se obtuvo en el EAM, obteniendo un valor de 0.057 ± 0.001 mg FT/gms. Se obtuvo un rendimiento de 89.89 ± 2.97 mgEC/gms para FC, 173.87 ± 2.39 mgEAG/gms para FH y 263.77 ± 0.71 mg/gms para FT. El extracto EAM exhibió una capacidad antioxidante de 520.73 ± 7.91 mgET/gms para DPPH y 747.33 ± 13.48 mgET/gms para ABTS. Finalmente el extracto obtenido por este sistema fue empleado para determinar el perfil de compuestos fenólicos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS), donde fueron identificados cinco compuestos: 1-Icosanol, Ácido butanoico, éster 3-metil-3-metilfenilico, galato de etilo, Fenol,3-Pentadecil y Ácido -4-((4-hidroxifenil)amino))-4-oxobut-2-enoico, siendo este compuesto superior a los demás presentes. Dentro de los análisis obtenidos por FTIR se pudo equiparar con los análisis espectrofotométricos y cromatográficos ya que se detectó la presencia de grupos funcionales pertenecientes al hidroxilo y carbonilo, los cuales forman parte fundamental en la estructura de compuestos bencénicos pertenecientes a compuestos fenólicos y alifáticos. Los resultados obtenidos muestran la capacidad del ruezno de pistache para obtener compuestos fenólicos con alta capacidad antioxidante a través de tecnologías verdes.

Palabras clave: *Pistacia vera* L., DPPH, ABTS, compuestos bioactivos, potencial antioxidant

I. INTRODUCCIÓN

El pistache (*Pistacia vera* L.) es considerado uno de los principales frutos secos del mundo. Su consumo se remonta a hace 300 mil años, al encontrar restos de pistache carbonizados en Israel (Mandalari *et al.*, 2021). Se consume fresco o tostado, en forma de aceite virgen vegetal, o se puede obtener una harina que se usa en la elaboración de pan, pasteles o galletas, o como crema untada (Pakdaman *et al.*, 2021; Mateos *et al.*, 2022). En 2022, la producción mundial de pistache fue de 829 mil toneladas, siendo Estados Unidos, Irán, Turquía y Siria los principales productores (USDA, 2022). A nivel nacional se estima una producción anual de 37 mil toneladas, de las cuales el 98.96 % se produce en Chihuahua, principalmente en los municipios de Buenaventura, Juárez, Práxedes Guerrero, Jiménez, Delicias y Meoqui (SIAP, 2019; SENASICA, 2019).

El pistache es un fruto muy importante debido a su valor nutricional, ya que contiene hasta un 60 % de grasa, mayormente insaturada (~ 90 %), destacando el ácido oleico y linoleico, mono y polinsaturado, respectivamente (Mateos *et al.*, 2022). Estos compuestos poseen un efecto antiinflamatorio y vasodilatador, disminuyen la presión arterial, lo cual ayuda a prevenir enfermedades del corazón (Cabo, Achón y González, 2015). Adicionalmente, el pistache contiene de 18 a 23% de proteína, 18% de carbohidratos (principalmente sacarosa), y el restante corresponde a fibra, minerales y compuestos bioactivos como carotenoides, clorofila y compuestos fenólicos (Martínez *et al.*, 2019; Mandalari *et al.*, 2021).

Al ser cosechado, el pistache se divide en dos fracciones, una comestible que corresponde a la semilla, y una no comestible, que corresponde al ruzno, la cual se desecha (Arjeh *et al.*, 2020). El ruzno de pistache comprende del 45 al 60 % del peso total del fruto (Hamed *et al.*, 2020; Elhadeif *et al.*, 2021; Cardullo *et al.*, 2021). Diversos estudios han reportado al ruzno de pistache como fuente potencial de compuestos bioactivos, los cuales presentan actividad antioxidante, antimicrobiana y antimutagénica (Cardullo *et al.*, 2021; Neval *et al.*, 2018).

La extracción de compuestos bioactivos a partir de matrices vegetales se realiza mediante métodos tradicionales como la maceración y la extracción Soxhlet. Sin embargo, estos métodos de extracción requieren mucho tiempo y grandes cantidades de disolvente. Hoy en día, muchos nuevos métodos de extracción ecológicos están reemplazando a los métodos de extracción tradicionales (Pereira *et al.*, 2017).

1.1 Justificación

El fruto del pistacho ha llamado la atención de los científicos porque la fina cáscara que recubre el pistacho y la pulpa exterior, similar a la cáscara dura que representa la semilla, son compuestos bioactivos y tienen muchas propiedades como antioxidantes, anticancerígenas, antimutagénicas y antiproliferativas (Abe-Matsumoto *et al.*, 2010). En esta parte de la fruta son muy activos los antioxidantes fitoquímicos como los polifenoles, que se liberan en varias etapas del procesamiento comercial, y desde las partes externas estas moléculas llegan a la fruta y potencian el efecto antioxidante de las grasas mono y poliinsaturadas. Debido a ello, esta fruta se puede utilizar como materia prima y fuente de nutraceuticos (Chang *et al.*, 2016).

Han surgido nuevas técnicas conocidas como "tecnologías verdes" como resultado de los esfuerzos para evitar las desventajas de los métodos de extracción convencionales, estas técnicas ofrecen varias ventajas en el proceso de extracción, y no tienen un impacto negativo en el medio ambiente, ya que permiten reducir drásticamente el uso de disolventes orgánicos o usar disolventes ecológicos. Además, se observa una mejora en el rendimiento y la calidad de los compuestos bioactivos que se obtienen del ruezno de pistache (Dar, Paracha y Akhter, 2015). Las técnicas más amigables con el medio ambiente son las extracciones asistidas por ultrasonido (EAU) y microondas (EAM) (Carciochi *et al.*, 2017). Estas técnicas han demostrado altos rendimientos en la obtención de compuestos bioactivos utilizando menos disolvente y en menos tiempo (Nayak *et al.*, 2015). A pesar de la disponibilidad de estas opciones, existe una escasez de investigaciones que aprovechen estas técnicas para la extracción y recuperación de compuestos bioactivos (Safdar *et al.*, 2017).

1.2 Hipótesis

La evaluación de los sistemas de extracción (microondas, ultrasonido e híbrido) permitirá seleccionar al de mayor rendimiento de compuestos fenólicos con capacidad antioxidante a partir de ruezno de pistache.

1.3 Objetivo General

Evaluar el proceso de extracción y potencial antioxidante de compuestos fenólicos obtenidos a partir de ruezno de pistache (*Pistacia vera L.*) empleando tecnologías verdes.

1.3.1 Objetivos Específicos

1. Obtener extractos de ruezno de pistache (*Pistacia vera L.*) mediante ultrasonido, microondas y combinación ultrasonido/microondas.
2. Seleccionar el mejor sistema de extracción de acuerdo al rendimiento de compuestos fenólicos obtenidos.
3. Determinar el perfil de compuestos fenólicos presentes en el mejor sistema de extracción mediante CG-MS y FTIR.
4. Determinar la capacidad antioxidante mediante ABTS y DPPH de los compuestos fenólicos presentes en el mejor sistema de extracción

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades del pistache

El pistache o pistacho es un árbol nativo de regiones áridas del centro y oeste de Asia, distribuido en el mediterráneo y Norteamérica (Elhadeh *et al.*, 2021). Debido a que su producción comienza después de 5 a 10 años de sembrado, en México no ha sido explotado tanto su cultivo, ya que los agricultores optan por sembrar otros árboles o cultivos que les permita obtener su inversión a menor tiempo (Martínez *et al.*, 2019). Aunado a ello, su cultivo requiere de condiciones climatológicas muy particulares, con inviernos fríos y veranos calurosos, siendo esencial acumular 900 h frío ($<7\text{ }^{\circ}\text{C}$) para una adecuada producción (De Santiago *et al.*, 2022). En México, su cosecha se realiza en el mes de agosto, con el mayor rendimiento por hectárea a partir del 6to año de producción (De León *et al.*, 2020).

El fruto del pistacho (Fig. 1) es una pequeña drupa de forma ovalada y cáscara rojiza, de 0.2 a 2.5 cm de largo, y un peso aproximado de 1.40 g, de color beige. A medida que madura, revela una cáscara dura, amarilla y lisa. Es una semilla uniespermática formada por dos cotiledones de color verde amarillento cubiertos de piel clara y marrón. Cada pistache se encuentra encerrado en una cáscara dura, que a su vez está protegida por una cáscara exterior que se abre. Se diferencia de otros frutos secos por tener la cáscara semiabierta, lo que convierte al pistacho en un fruto seco que no necesita pelarse para tostarse (Martínez *et al.*, 2019). El color verde claro, característico del pistache, se desarrolla después del tostado (Bautista, 2022).



Figura 1. Fruto del árbol de pistache (Grajales, Hall., 2021)

El pistache (Fig. 2) es un fruto seco muy importante a nivel mundial, debido a su valor comercial y nutricional. Se emplea en repostería y helados, así como en formulaciones para cosméticos (Neval *et al.*, 2018; Martínez *et al.*, 2019). Diversos estudios han reportado que el consumo de pistache otorga beneficios a la salud, debido a su efecto antidiabética, cardiovascular, antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena, además del control del peso corporal (Mateos *et al.*, 2022; Moreno *et al.*, 2022). Es una fuente rica en ácidos grasos insaturados, proteínas, micronutrientes y diversos compuestos antioxidantes como los compuestos fenólicos y los carotenoides (De Santiago *et al.*, 2022).



Figura 2. Fruto de pistache comercial (El poder del consumidor., 2022)

2.2. Composición Química

Los pistaches son una fuente nutricionalmente rica de diversos compuestos químicos beneficiosos. Su perfil incluye grasas saludables, como los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, que son buenos para el corazón. También son una fuente de proteínas vegetales, esenciales para el crecimiento y reparación de tejidos. La fibra dietética en los pistaches promueve una digestión saludable y ayuda a controlar el apetito. Además, contienen una variedad de vitaminas, como la vitamina B6, y minerales, como potasio y magnesio. Los pistaches son ricos en antioxidantes y fitoquímicos, como la luteína, que benefician la salud ocular (Arbeloa *et al.*, 2018).

El Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA.,2019) en su portal web menciona que los pistaches que han pasado por el proceso de secado contienen 3.5% de agua,

27.5% de carbohidratos, 20.6% de proteínas y 4.4% de grasas. De acuerdo a (Bulló *et al.*, 2015) los principales nutrientes y compuestos que presentan los pistaches son los siguientes:

- Vitaminas y minerales: Los pistaches poseen grandes cantidades de:
 - Minerales: Mg, Mn, Cu, Ca, Zn, Se.
 - Vitaminas: A, C, K y E. Además, contiene todas las vitaminas del grupo B (excepto B12), especialmente, altos niveles de vitamina B1 (tiamina) y B6 (piridoxina).
- Carotenoides: Poseen luteína y zeaxantina, dos carotenoides responsables del color de este fruto y que poseen propiedades antioxidantes.
- Fibra: Una porción de 28 g de pistacho puede proporcionar un aproximado de 3 g de fibra.
- Proteína: el 20% del peso representa proteína vegetal. Porción que contiene alrededor de 2% de L-arginina, un aminoácido que ayuda al organismo a generar proteínas.

2.3. Ruezno de pistache

Durante la cosecha del pistache, se obtiene el fruto cubierto por una cáscara dura, así como otra cubierta verde-amarillenta, denominada ruezno. Hamed *et al.* (2020) y Elhadeh *et al.* (2021) reportaron que el ruezno comprende del 35 al 45 % del peso total del fruto. Sin embargo, otros autores han reportado valores del 50-60 % (Seifzadeh *et al.*, 2018; Özbek *et al.*, 2020; Cardullo *et al.*, 2021). De acuerdo a Martínez *et al.* (2019), el ruezno de pistache presenta un contenido de proteína de 8.78-10.22%, cenizas de 10.79-11.89%, grasas de 3.67-4.89% y carbohidratos de 63.37-67.7%. Una mala disposición de este residuo puede generar problemas ambientales y sociales: altas emisiones de CO₂ debido a la quema no controlada, contaminación del agua por lixiviados, generación de malos olores y proliferación de ratas e insectos (Arjeh *et al.*, 2020).

Adicionalmente, posee un alto contenido de humedad que, aunado al alto contenido de carbohidratos, facilita el crecimiento microbiano y la proliferación de plagas. No obstante, el ruezno de pistache representa una excelente opción como fuente para la extracción de compuestos bioactivos como polifenoles y polisacáridos (Akbari-Alavijeh *et al.*, 2018). Los polifenoles se consideran uno de los compuestos alimentarios más importantes porque

contribuyen a la salud humana. La actividad biológica de los polifenoles está relacionada con su carácter antioxidante, ya que son capaces de neutralizar los radicales libres y prevenir el daño celular (Elsy De Santiago *et al.*, 2022)

2.4. Taninos

Los taninos son metabolitos secundarios polifenólicos de origen vegetal con un peso molecular relativamente alto y un sabor astringente. Se encuentran en todas las partes de la planta como tallo, madera, hojas, semillas y cogollos. En los vegetales, los taninos suelen encontrarse en las vacuolas celulares junto con alcaloides, proteínas u otros (Ruddock & Facey, 2024).

Existen cuatro tipos de taninos: condensados (de alto peso molecular e incapaces de ser hidrolizados), hidrolizables (de menor peso molecular y susceptibles de hidrólisis), galotaninos y elagitaninos (Figura 3).

- Las proantocianidinas, también conocidas como taninos condensados, son moléculas formadas por unidades flavan-3-ol que se unen a través de enlaces C-4 a C-8, o en casos menos comunes, C-4 a C-6. Estas moléculas varían en tamaño y composición dependiendo de su origen. Además, las proantocianidinas son resistentes a la hidrólisis (Herrera *et al.*, 2017).
- Los taninos hidrolizables, también conocidos como pirogálicos, se caracterizan por ser moléculas polifenólicas de tamaño moderado y no poliméricas. Estas moléculas tienen la capacidad de ser descompuestas mediante ácidos o enzimas en un azúcar y un ácido carboxílico fenólico.
- Los Galotaninos son vistos como las formas más básicas de los taninos hidrolizables. Se componen de ésteres del ácido gálico y del ácido digálico unidos mediante enlaces ésteres, conectando el carboxilo (-COOH) de uno con el -OH del otro. A su vez, están ligados a hexosas como la glucosa a través de un enlace anomérico beta, ya que la forma alfa rara vez se encuentra en la naturaleza. Sin embargo, es posible generar isómeros alfa en laboratorio mediante reacciones controladas. (Olivas-Aguirre *et al.*, 2015).

- Elagitaninos son compuestos complejos que producen un depósito insoluble durante el proceso de curtido de las pieles, esto se debe a la precipitación del ácido elágico. La unión de dos ácidos gálicos.

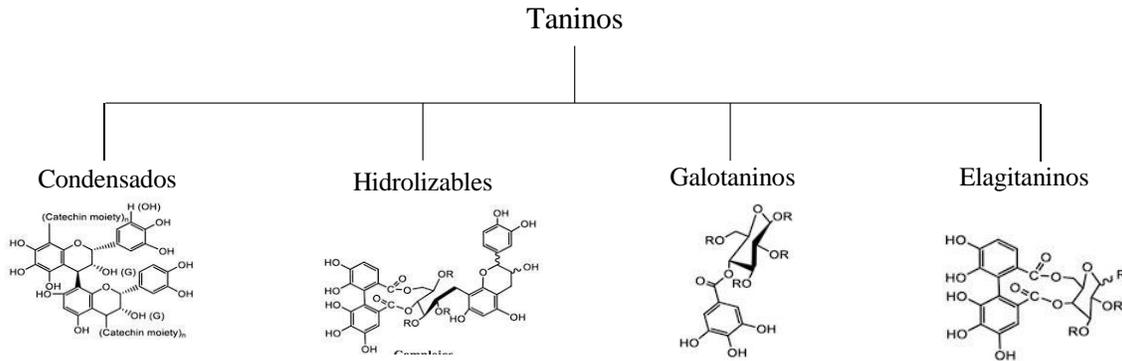


Figura 3. Clasificación de los taninos (Ascacio-Valdés *et al.*, 2011).

Los pistachos, son ricos en compuestos fenólicos, como antocianinas, flavonoides, proantocianidinas, flavonoles, isoflavonas, flavanonas, estilbenos, ácidos y flavanonas. Los taninos hidrolizables y los fenólicos son esenciales como antioxidantes y también por sus propiedades quimiopreventivas, cardioprotectoras y vasoprotectoras (Bolling BW *et al.*, 2011). Los compuestos fenólicos pueden proteger contra enfermedades relacionadas con la sobreproducción de radicales libres, como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares. (Bullo *et al.*, 2015)

Recientemente, la cáscara de pistacho ha despertado el interés de los investigadores por su contenido de compuestos fenólicos que incluyen ácido gálico, ácido 4- hidroxibenzoico, ácido protocatechuic, naringina, eriodictyol-7-O-glucósido, isorhamnetin-7-O-glucósido, quercetina-3-O-rutinósido, iso- rhamnetin-3-O-glucósido y catequina (Barreca *et al.*, 2016).

2.5. Métodos de extracción de compuestos bioactivos

Históricamente, se han empleado técnicas tradicionales como la maceración, la hidrodestilación y el uso del Soxhlet para la extracción de compuestos bioactivos. No obstante, estas técnicas emplean cantidades significativas de disolventes químicos, requieren en ciertos casos agitación y demandan largos intervalos de tiempo para llevar a cabo la extracción. Por ejemplo, la hidrodestilación puede durar alrededor de 8 h, mientras que la

maceración puede tomar más de 24 h (Soquetta *et al.*, 2018). Frente a esta situación, y tal como se ha mencionado previamente, se han investigado alternativas de extracción que sean más respetuosas con el entorno natural. Estas alternativas se caracterizan por emplear disolventes amigables con el medio ambiente o reducir la cantidad de disolventes orgánicos utilizados, además de requerir menos tiempo para llevar a cabo la extracción. Entre las técnicas más importantes se destacan la extracción asistida por ultrasonido (EAU), la extracción por microondas (EAM) y la extracción asistida por fluidos supercríticos. Sin embargo, las primeras dos opciones han sido las más utilizadas, ya que permiten aumentar la recuperación de compuestos bioactivos, requieren volúmenes pequeños de solventes, son más accesibles y fáciles de usar, con un gasto energético bajo, al requerir tiempos de extracción cortos, que van desde 5 a 40 min (Putnik *et al.*, 2017; Wong-Paz *et al.*, 2017).

2.5.1. Extracción Convencional

La extracción convencional involucra procesos de infusión y/o maceración, ampliamente reportados para extraer sabores y compuestos a partir de matrices vegetales. El proceso implica los siguientes pasos:

- **Maceración:** En esta etapa, la pasta de pulpa de pistache se mezcla con un líquido adecuado, como agua, aceite u otro solvente. La maceración permite que los compuestos solubles en la pulpa se transfieran al líquido, enriqueciéndolo con sabor y otros componentes.
- **Infusión:** La mezcla resultante se calienta o se deja reposar durante un período de tiempo específico, lo que permite que los sabores y compuestos se infundan en el líquido. La infusión puede ser en caliente o en frío, dependiendo de la aplicación. (Thorat *et al.*, 2021).

2.5.2. Extracción asistida por ultrasonido (EAU)

Esta técnica es un método limpio, sencillo, rápido y respetuoso con el medio ambiente en comparación con los métodos tradicionales. Además de su alta reproducibilidad en poco tiempo, fácil manipulación y reducción del consumo de disolventes respecto a otros métodos (Rojas *et al.*, 2019). Las ondas de ultrasonido en un rango de 20 kHz a 100 MHz provocan una rotura mecánica de la pared celular y liberan los componentes bioactivos. El primer

fenómeno que se produce durante la extracción de compuestos biológicos de las plantas (hojas y pieles de frutos, etc.) es la fragmentación, que tiene las siguientes características: disminuye el tamaño de las partículas, disminuye la transferencia de masa por colisiones entre partículas y ondas. Por otro lado, la acción sonocapilar y la sonoporación mejoran la penetración del disolvente en las membranas de las células vegetales a través de los canales creados por el estallido de las burbujas de aire. El propósito de este último paso es liberar los compuestos biológicos a través de condiciones vibratorias (Wong-Paz *et al.*, 2017).

2.5.3. Extracción asistida por microondas (EAM)

Este proceso gracias al calor creado por la vibración de las moléculas de agua en el medio, destruye la estructura celular y libera compuestos al medio. Aunque se ha demostrado que este método es eficaz, la exposición prolongada a altas temperaturas puede degradar el contenido de polifenoles (Estrada Gil *et al.*, 2022). Así, las moléculas de agua que se encuentran en los sistemas vasculares de las plantas desintegran los tejidos, liberando las biomoléculas que contienen y luego se van integrando gradualmente al solvente (Ávila *et al.*, 2019). La ventaja de este proceso son tiempos de extracción más cortos y una mejor utilización de los reactivos, lo que en última instancia mejora el rendimiento de la reacción y reduce los costos (Nayak *et al.*, 2015).

2.5.4. Extracción asistida por ultrasonidos/microondas (EAUM)

En comparación con los métodos convencionales, la EAUM tiene más ventajas, como acortar el tiempo de extracción, proporcionar mayores rendimientos y utilizar menos disolvente. Esto da paso a nuevas tecnologías, por las ventajas que ofrecen frente a los métodos convencionales, para procesos que aceleren la recuperación de moléculas con alta bioactividad (Hernandez-Hernandez *et al.*, 2020).

Las aplicaciones futuras no tienen límite porque se trata de una tecnología respetuosa con el medio ambiente, ya que puede trabajar con disolventes tan nobles como el agua para evitar el uso de sustancias más contaminantes como el hexano. El uso de tecnología híbrida ayuda a aumentar la solubilidad y obtener mejores rendimientos de extracción en menos tiempo que las tecnologías convencionales (Kaderides *et al.*, 2019).

2.6. Métodos para la determinación de la capacidad antioxidante

Los métodos para establecer la capacidad antioxidante total dependen del método de generación de radicales libres, del método de medición, del final de la inhibición de la reacción y de la reducción de la sensibilidad de las moléculas de la muestra. Los métodos utilizados para medir la capacidad antioxidante incluyen: ABTS y DPPH basados en la captación de los radicales libres 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolina-6-sulfónico ácido) y 2,2-difenil-1- picrilhidrazil, respectivamente (Rumpf *et al.*, 2023).

2.6.1. DPPH

Este método básico implica la mezcla del compuesto o extracto deseado con una solución de DPPH, y luego se mide la absorbancia después de un tiempo determinado. A medida que las técnicas instrumentales han avanzado, este método ha sido modificado para adaptarse a diversas necesidades, aunque conserva el mismo principio básico en todas sus variantes (Kedare & Singh, 2011). Los radicales libres, presentes en sistemas biológicos, pueden desencadenar trastornos degenerativos como mutagénesis, carcinogénesis, problemas cardiovasculares y envejecimiento. El proceso oxidativo, que involucra radicales libres, consta de tres etapas principales: inicio, propagación y terminación. Los antioxidantes actúan combatiendo los radicales libres en cualquiera de estas etapas. El DPPH• es un radical nitrogenado orgánico y estable de color púrpura intenso, compuesto por moléculas estables de radicales libres (Meléndez *et al.*, 2014).

2.6.2. ABTS

El método ABTS es una técnica ampliamente empleada para evaluar la capacidad antioxidante de compuestos. Comienza con la preparación de una solución ABTS, que es un compuesto que se oxida en presencia de agentes oxidantes. Esta solución se genera disolviendo ABTS en agua o en un solvente orgánico, creando una solución de trabajo de color azul oscuro. Este método se basa en la cuantificación del cambio de color del radical ABTS^{•+} a medida que los antioxidantes lo reducen a ABTS. El radical catiónico ABTS^{•+} es un cromóforo azul verdoso que se absorbe a 734 nm y se produce por la reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonatoamonio)). De esta manera, el grado de tinción radical ABTS^{•+} y el porcentaje de inhibición se determinan en función de la concentración (Rumpf *et al.*, 2023).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material Vegetal

El ruezno de pistache se colectó en la región de Meoqui, Chihuahua (29°42'00.0"N 104°33'00.0"W) y se transportó al laboratorio de biotecnología y bioingeniería en Delicias, Chihuahua, México. Se secó a 50 °C durante 24 h (Shel-Lab 1380FX Forced-Air Oven, Cornelius, OR, EE. UU.), se pulverizó (PULVEX Mini 100, Ciudad de México, México) a un tamaño de partícula de 1 mm, y se almacenó en una botella hermética de polietileno negro a temperatura ambiente (30 °C) hasta su uso.

3.2 Reactivos químicos

Etanol, metanol, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ácido 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS•+), Folin Ciocalteu, carbonato de sodio, HCl-Butanol (10%), TROLOX, ácido gálico, sulfato de hierro heptahidratado (FeSO₄·7H₂O), HCL butanol, reactivo férrico (amberlita XAD-16, H₂O destilada, agua desionizada.

3.3. Obtención de los extractos a partir del ruezno de pistache

Las extracciones de los compuestos fenólicos se realizaron en el Laboratorio de Ciencias Químicas de la UAdeC con el equipo ATPIO-SM300 ultrasonic microwave reaction system, siguiendo la metodología reportada por Hernandez-Hernandez *et al.* (2020). Se pesaron 62.50 g de ruezno de pistache, y se colocaron en el reactor. Posteriormente se agregaron 1000 mL de agua destilada, y se introdujo al equipo de extracción. La EAU se realizó durante 20 min a una frecuencia de 25 kHz a temperatura ambiente. Para la EAM, se llevó a cabo a 70 °C durante 5 min con 800 W de potencia. Para la EAUM, se realizó durante 25 min con una frecuencia de microondas de 2450 MHz y ultrasonido de 25 kHz. Una vez obtenidos los extractos, se filtraron a través de algodón y papel filtro para eliminar los sólidos, y el filtrado se guardó en botellas de plástico cubiertas de aluminio, y se almacenaron a -18 °C hasta su uso.

3.4 Separación y purificación mediante cromatografía en columna

Los extractos obtenidos se sometieron a un proceso de purificación, empleando la resina Amberlita XAD-16 empacada en una columna de vidrio (3.7 x 50 cm), de acuerdo a Ascacio-Valdés *et al.* (2016). El extracto se cargó en la columna, y los compuestos solubles (carbohidratos, proteínas y otras impurezas) se eluyeron con agua destilada. Posteriormente

se eluyó con etanol para recuperar la fracción rica en compuestos fenólicos. Finalmente, las muestras se colocaron en un rotavapor (R-100, BUCHI) a una temperatura de 40°C, para eliminar el etanol y recuperar los extractos en forma de polvo, el cual se almacenó en viales de 1.5 mL protegidos de la luz y en refrigeración.

3.5 Análisis químico

3.5.1. Evaluación de la capacidad antioxidante

Para los ensayos de capacidad antioxidante, se preparó una solución madre de 1000 mg/L a partir de cada muestra.

3.5.1.1 Ensayo DPPH

La capacidad para eliminar los radicales libres se realizó de acuerdo a lo reportado por Meléndez *et al.* (2014) empleando una solución de radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidracilo, Sigma-Aldrich®, México) a 60 µM. Se mezclaron 7 µL de muestra con 193 µL de solución DPPH. Se preparó un control (DPPH-Etanol) y un blanco (Etanol). La mezcla se dejó reaccionar en la oscuridad por 30 min y se registró la absorbancia a 517 nm en un lector de microplacas (Multiskan GO, Thermo Scientific). El ensayo se hizo por cuadruplicado y los resultados se expresaron como mg de equivalentes Trólox por mg de muestra seca (mgET/gms) empleando una curva de calibración con Trólox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico; Sigma-Aldrich®, México) de 0.2 a 1 mg/mL.

3.5.1.2 Ensayo ABTS

Se determinó el ensayo ABTS• (2,2-azino bis (3-etilbenzotiazolina-6- sulfonato, Sigma-Aldrich®, México) de acuerdo con el método de López-Cárdenas *et al.* (2023). Se generó el catión radical ABTS por medio de una solución acuosa de ABTS con persulfato de potasio; se mezclaron estos compuestos en la oscuridad a temperatura ambiente durante 12 h antes de su uso. Se mezclaron 10 µL de muestra con 190 µL de solución ABTS. Se preparó un control (ABTS-Etanol) y un blanco (Etanol). La mezcla se dejó reaccionar 1 min y se registró la absorbancia a 734 nm en un lector de microplacas (Multiskan GO, Thermo Scientific). El ensayo se hizo por cuadruplicado y los resultados se expresaron como mg de equivalentes TROLOX por mg de muestra seca (mgET/gms) empleando una curva de calibración con

Trólox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico; Sigma-Aldrich®, México) de 0.2 a 1 mg/mL.

3.5.2. Determinación del IC₅₀

El IC₅₀ representa la cantidad de muestra que se requiere para inhibir al 50 % un radical. Para determinarlo, se prepararon diluciones de 50 a 400 mg/L a partir de la solución madre, y se determinó la capacidad antioxidante frente al DPPH y ABTS, como se reportó previamente. Con los datos obtenidos, se calculó el % de inhibición empleando la ecuación: % *Inhibición* = 100 - (((*A*_{blanco} - *A*_{muestra}) / *A*_{blanco}) × 100), donde *A*_{blanco} representa el valor de la absorbancia del control y *A*_{muestra} representa el valor de la absorbancia que se obtuvo de cada una de las muestras. Con los datos obtenidos se graficó la concentración del extracto vs % de inhibición, y se ajustaron a un modelo de regresión lineal, en el cual se despejó para determinar la concentración de extracto requerida para inhibir el 50% los radicales DPPH y ABTS (Pérez-Jiménez *et al.*, 2008).

3.5.3 Fenoles Hidrolizables

Para la determinación de fenoles hidrolizables se colocaron 20 µL de muestra añadiendo 20 µL de reactivo Folin-Ciocalteu dejando reposar durante 5 min, posteriormente se añadió 20 µL de carbonato de sodio, se dejó en reposo de 5 min. Finalmente se agregó 125 µL de agua destilada y se registró la absorbancia a 790 nm en un lector de microplacas (Multiskan GO, Thermo Scientific). El ensayo se hizo por cuadruplicado y los resultados se expresaron como mg equivalentes ácido gálico por gramo de masa seca (mgEAG/gms) empleando una curva de calibración con ácido gálico de 0 a 0.2 mg/mL (Ramírez *et al.*, 2024).

3.5.4 Fenoles Condensados

Para la determinación de fenoles condensados se colocaron 250 µL de muestra en tubos de ensayo, añadiendo 1500 µL HCL-Butanol y finalmente 50 µL de reactivo férrico. Se colocaron en una celda para llevarlos a baño María por 40 minutos en una olla exprés, pasando estos 40 min se dejó reposar a temperatura ambiente, posteriormente se agregaron 200 µl y se registró la absorbancia a 524 nm en un lector de microplacas (Multiskan GO, Thermo Scientific). El ensayo se hizo por cuadruplicado y los resultados se expresaron como mg equivalentes de catequina por gramo de masa seca (mgEC/gms) empleando una curva de calibración con catequina de 0 a 0.2 mg/mL (Ramírez *et al.*, 2024).

3.6. Análisis de Cromatografía de gases acoplada a Espectrometría de Masas

La identificación de los compuestos presentes en el extracto obtenido mediante EAM se realizó por CG-MS de acuerdo a (Proestos *et al.*, 2006). Para ello, se pesaron 5 mg de polvo de ruezno de pistache y se disolvieron en 1 mL de agua desionizada. 2 μ L de cada muestra se inyectaron en un CG-MS, sistema compuesto por un cromatógrafo Varian Serie 01049 acoplado Espectrómetro de masas en modo EI (Impacto electrónico) con la energía del electrón fijada en 70 eV y el rango de masas a m/z 25-700. Una columna capilar FactorFour VF-1ms (60 m 0.25 mm, 0.25 μ m). El inyector se fijó en 280°C y el detector a 290°C. Se realizó GC con 1 min de tiempo splitless. El programa de temperatura fue el siguiente: de 70 a 135° C con un aumento de 2°C cada minuto, mantener durante 10 min, de 135° a 220° C con un aumento de 4°C cada minuto, mantener durante 10 min, desde 220° a 270°C con un aumento de 3.5°C cada minuto y luego mantener durante 20 min. Se mantuvo el caudal de gas portador (helio) a 0.9 mL/min. La identificación de compuestos se realizó comparando los tiempos de retención con los de compuestos auténticos y los datos espectrales obtenidos de las bibliotecas del Software del equipo. Cada determinación se realizó por duplicado.

3.7. Análisis por espectroscopía infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR)

El extracto de polifenoles purificado se analizó mediante el equipo Agilent Cary 630 FTIR acoplado a un cristal de seleniuro de zinc (ZnSe) ATR siguiendo el protocolo de Bautista-Hernández *et al.* (2021). Las muestras se analizaron mediante el programa MicroLab PC en el rango de espectro entre 4000 a 650 cm^{-1} con un ciclo de 32 escaneos con una resolución de 2 cm. El análisis del espectro y los grupos funcionales detectados se llevó a cabo con el MicroLab Expert. programa, y los gráficos se construyeron utilizando el programa OriginPro 8.

3.8. Análisis de resultados

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar para evaluar el método de extracción (EAM, EAU, EAUM) sobre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, con el paquete estadístico SAS 9.0. Para las diferencias entre tratamientos, se realizó una prueba de comparación de medias utilizando el procedimiento de rango múltiple de Tukey, con un nivel de significancia $\alpha=0.05$.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluó el rendimiento de polifenoles, actividad antioxidante, FH, FC, FT, GC-MS y FTIR obtenidos mediante los tres sistemas de extracción, y los principales resultados se describen a continuación.

4.1 Obtención de extractos mediante EAU, EAM y EAUM

Los resultados determinaron que la tecnología (EAM), fue la tecnología de mayor rendimiento, ya que fue significativamente diferente de las otras dos tecnologías (Tukey $\alpha=0.05$).

Cuadro 3. Rendimiento de fracción rica de polifenoles obtenidos a partir de ruezno de pistache mediante EAUM, EAU y EAM.

Sistema	Rendimiento (mgPT/gms)
EAUM	0.026±0.001c
EAU	0.038±0.002b
EAM	0.057±0.001a

En el Cuadro 1, podemos observar los rendimientos en la extracción de polifenoles (mgPT/gms). El método EAM fue del que se obtuvo mayor cantidad de polifenoles totales, con un valor de 0.057±0.001 mgPT/gms de muestra.

4.2. Contenido de fenoles condensados

Respecto al contenido de FC presentes en los extractos de ruezno sometidos a diferentes sistemas de extracción, los resultados obtenidos se muestran en la figura 4. Se observó un efecto del sistema de extracción, con valores de FC en un rango de 80-100 mgEC/gms, con el valor más alto con la EAU (97.76 ± 1.20 mgEC/gms), diferente significativamente respecto al valor obtenido con EAM y EAUM (Tukey $\alpha=0.05$). Los valores obtenidos mediante el método de EAU son 1.08 y 1.07 mgEC/gms más altos que los observados al emplear la EAM y la EAUM, respectivamente.

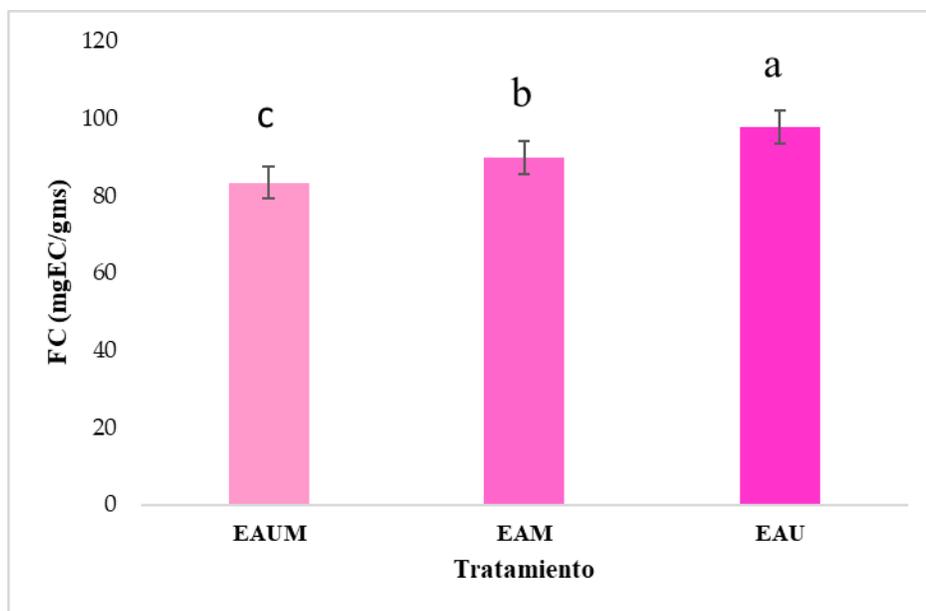


Figura 4. Efecto del método de extracción asistida por ultrasonido (EAU), microondas (EAM) e híbrida (EAUM) sobre el contenido de fenoles condensados (FC) en extractos de ruezno de pistache. Las barras representan el promedio de los extractos evaluados \pm el error estándar de cuatro repeticiones, las letras diferentes representan estadísticamente una diferencia significativa (Tukey, <0.05).

Estos resultados pueden atribuirse a la ruptura de las paredes celulares debido a los efectos de la cavitación sónica producida por el método de extracción ultrasonido, lo cual lleva a un incremento en la liberación de compuestos fenólicos contenidos en las mismas (Herrera-Pool *et al.*, 2012). En otro estudio llevado a cabo por Elhadeh *et al.* (2021), se analizó el contenido de FC en ruezno de pistache, donde se empleó el método de maceración en frío usando como disolvente el agua, reportando como resultado 79.06 ± 2.46 mgEC/100g. Los resultados obtenidos en el presente estudio EAU fueron mayores a los reportados por Elhadeh *et al.* (2021) lo cual sugiere que el método de extracción por ultrasonido ofrece mejores resultados de extracción que los obtenidos al emplear un método convencional como la maceración.

4.3. Contenido de fenoles hidrolizables

Se determinó el efecto del método de extracción sobre el contenido de fenoles hidrolizables (FH) en extractos de ruezno de pistache, y los resultados se muestran la figura 5.

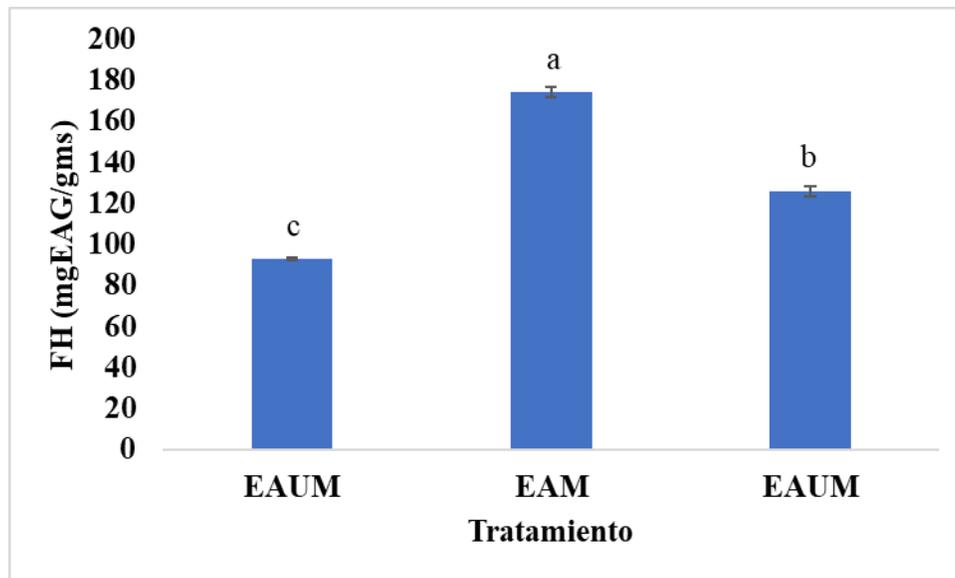


Figura 5. Efecto del método de extracción asistida por ultrasonido (EAU), microondas (EAM) e híbrida (EAUM) sobre el contenido de fenoles hidrolizables (FH) en extractos de ruezno de pistache. Las barras representan el promedio de los extractos evaluados \pm el error estándar de cuatro repeticiones, las letras diferentes representan estadísticamente una diferencia significativa (Tukey, <0.05).

Se obtuvo un rango de 90-180 mgEAG/gms siendo el valor más alto (173.87 ± 2.39 mgEAG/gms) el cual corresponde al método de EAM, dicho valor es 1.38 y 1.87 mgEAC/gms más alto que los valores obtenidos al aplicar la extracción asistida por ultrasonido y la extracción híbrida, respectivamente. La diferencia observada en los valores obtenidos para fenoles hidrolizables puede atribuirse al calentamiento de la matriz vegetal y del disolvente debido a la rotación del dipolo del solvente. Es importante notar que los métodos de extracción ideales para fenoles hidrolizables y condensados son diferentes, este es un paso muy importante en el aislamiento, identificación y utilización de compuestos polifenólicos. Depende de la naturaleza química y el grado de polimerización de los propios compuestos, así como del efecto de la extracción repetida, la concentración y polaridad de

los diferentes disolventes, la temperatura de extracción y el tamaño de partícula de la muestra (Bass Dzul, 2014)

Noorolahi *et al.* (2020) reportaron un contenido de 27.96 mgEAG/gms en extractos de ruezno de pistache obtenidos mediante maceración y utilizando agua como disolvente, valor muy por debajo del obtenido en el presente estudio con cualquiera de los sistemas de extracción evaluados.

4.4. Contenido de fenoles totales

Para la determinación del contenido de fenoles totales (FT) presentes en los extractos de ruezno de pistache obtenidos mediante los tres sistemas de extracción evaluados (EAM, EAU y EAUM) se sumó el contenido de FC y FH, y los resultados se muestran en la figura 6.

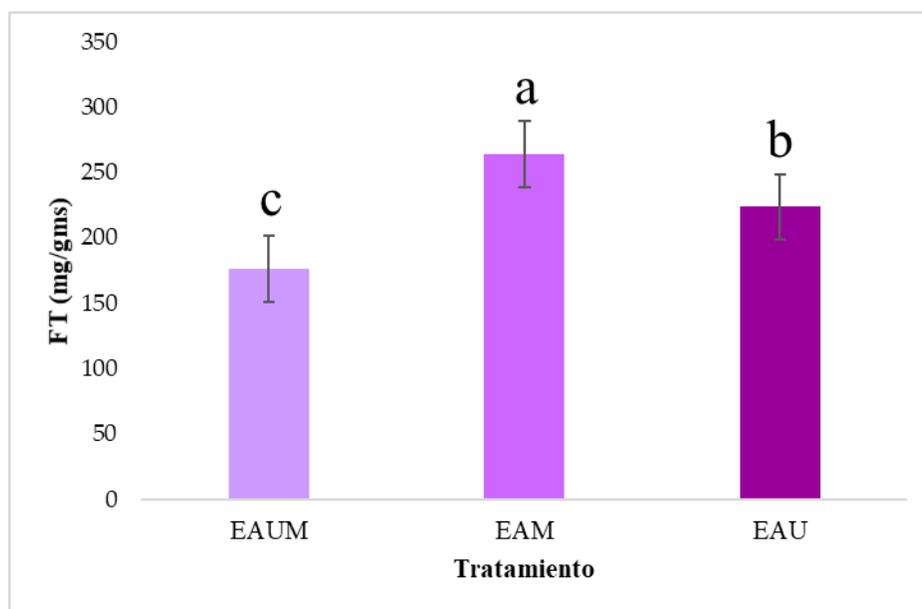


Figura 6. Efecto del método de extracción asistida por ultrasonido (EAU), microondas (EAM) e híbrida (EAUM) sobre el contenido de fenoles totales (FT) en extractos de ruezno de pistache. Las barras representan el promedio de los extractos evaluados \pm el error estándar de cuatro repeticiones, las letras diferentes representan estadísticamente una diferencia significativa (Tukey, <0.05).

Se detectó un efecto significativo ($p \leq 0.05$) debido al método de extracción, ya que la recuperación más alta de FT se encontró en el tratamiento de EAM, con un valor de hasta 263.77 ± 0.71 mg/gms, el cual es 1.17 y 1.49 veces más alto que el obtenido con la EAU y la

EAUM, respectivamente. Esto podría deberse a que durante el proceso de EAM, la energía disipada por el equipo se traduce en un calentamiento selectivo de la muestra, favoreciendo la extractabilidad y solubilidad de los compuestos bioactivos (Quiroz *et al.*, 2013). Los resultados obtenidos coinciden con los resultados reportados por Sutivisedsak *et al.* (2010), empleando un horno de microondas casero.

En un extracto acuoso de ruezno de pistache, Noorolahi *et al.* (2020) reportaron valores de 33.08 mgEAG/gms, Los resultados alcanzados en este estudio están significativamente inferiores a los obtenidos en el presente trabajo de investigación. la diferencia, además del sistema de extracción y solventes empleados, puede atribuirse a la variabilidad respecto a los aspectos agronómicos del cultivo (variedad, región, época, etc).

Es destacable el uso de tecnología por microondas ya que contribuye a una mejor extracción, tal como se observó en el presente estudio. Por ello, la metodología de EAM propuesta para la recuperación de compuestos bioactivos a partir de ruezno de pistache podría ser usada como un método preliminar para la búsqueda bio-dirigida de diferentes compuestos fenólicos, sin invertir grandes cantidades de dinero en equipos de alto costo (Puertas-Mejía *et al.*, 2013).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se seleccionó el sistema de EAM ya que permitió recuperar una mayor cantidad de FT del ruezno de pistache. En consecuencia, se trabajó con los extractos obtenidos vía EAM para su capacidad antioxidante y el perfil de compuestos bioactivos presentes.

4.5. Capacidad antioxidante

El extracto de ruezno de pistache obtenido mediante el sistema de EAM mostró una buena capacidad antioxidante, con valores de 520.73 ± 7.91 mgET/gms para DPPH y 747.33 ± 13.48 mgET/gms para ABTS. El poder antioxidante de una muestra suele expresarse en términos del IC₅₀, es decir, la concentración mínima requerida de una muestra para que esta reduzca la concentración inicial del radical en un 50 % (Munteanu & Apetrei, 2021). Para ello, se determinó la inhibición de los radicales DPPH y ABTS frente a diferentes concentraciones del extracto de ruezno de pistache obtenido mediante EAM, y los resultados se presentan en la figura 7 y 8. A partir de los datos del % de inhibición, se obtuvo la ecuación de regresión lineal. Posteriormente, se asignó a Y (% Inhibición) un valor de 50 y se despejó para X

(Concentración de extracto, mg/L), con el fin de calcular el IC₅₀ frente a ambos radicales. De esta manera, valores de IC₅₀ menores representan un mayor poder antioxidante de la muestra.

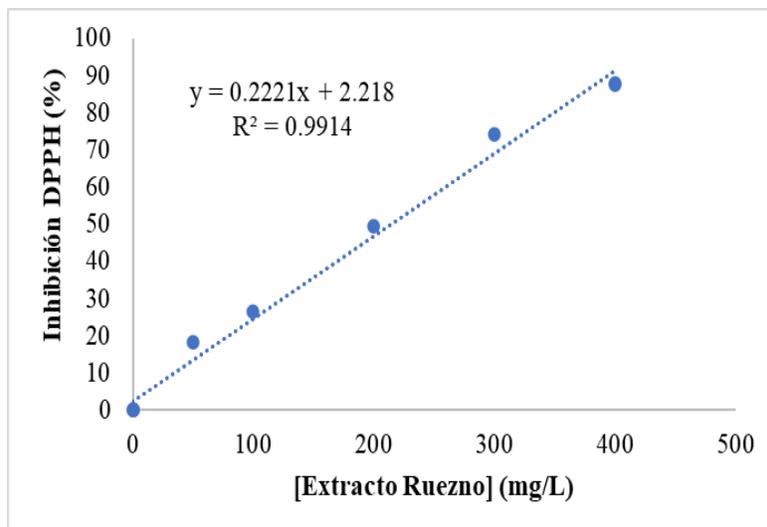


Figura 7. Efecto de la concentración de extracto de ruezno de pistache sobre la inhibición del radical DPPH.

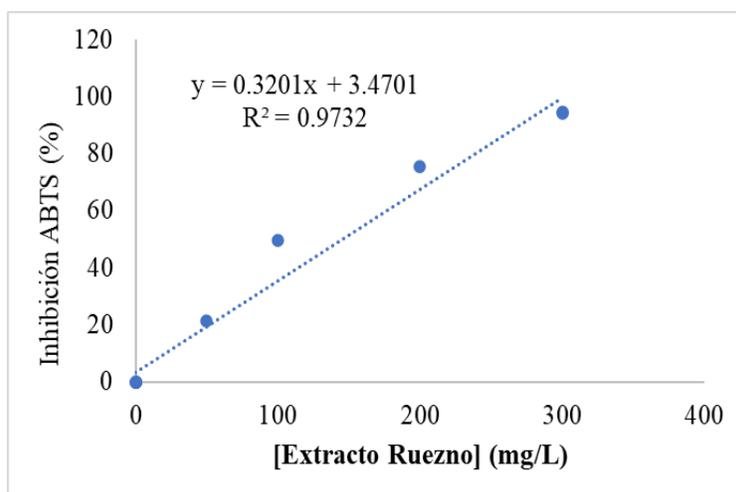


Figura 8. Efecto de la concentración de extracto de ruezno de pistache sobre la inhibición del radical ABTS.

El sistema de EAM mostró un buen porcentaje de inhibición para ambos ensayos, con un IC₅₀ de 211.64 ± 3.82 y 140.14 ± 3.37 para DPPH y ABTS, respectivamente. De acuerdo al estudio reportado por Valero-Mendoza *et al.* (2022) utilizando agua como disolvente en muestra de cáscara de granada, reportaron valores de inhibición del radical DPPH de 79.18% a 1000 ppm y 75.22% a 500 ppm. Los valores obtenidos en el presente trabajo son superiores a lo reportado por Valero-Mendoza *et al.* (2022). En un extracto acuoso de ruezno de pistache, Noorolahi *et al.* (2020) reportaron valores de IC₅₀ frente a los radicales DPPH y ABTS de 171.15 y 430 mg/L, respectivamente. En otro estudio, se obtuvieron extractos hidroalcohólicos de ruezno de pistache mediante extracción convencional y empleando EAM (Özbek *et al.*, 2019). Los autores determinaron un IC₅₀ frente al radical DPPH de 1060 y 1590 mg/L para el extracto obtenido mediante EAM y convencional, respectivamente. Lo anterior demuestra el papel importante que juega el método de extracción en la recuperación de compuestos antioxidante. Asimismo, es importante considerar que en el presente estudio se trabajó con extractos parcialmente purificados mediante cromatografía en columna, obteniendo así una fracción rica en compuestos fenólicos, incrementando así su poder antioxidante.

Los resultados obtenidos demuestran el poder antioxidante que presentan los compuestos bioactivos extraídos del ruezno de pistache. La alta capacidad antioxidante ejercida los convierte en una excelente opción para ser recuperados y posteriormente aplicados en el desarrollo de alimentos funcionales, o bien como ingrediente en formulaciones cosméticas o farmacéuticas, otorgando un nivel agregado a este residuo subutilizado.

4.6. Perfil de compuestos fenólicos por GC-MS

La identificación de compuestos se realizó comparando los tiempos de retención, los datos espectrales obtenidos de las bibliotecas del Software del equipo se muestran en el cromatograma obtenido en la figura 9.

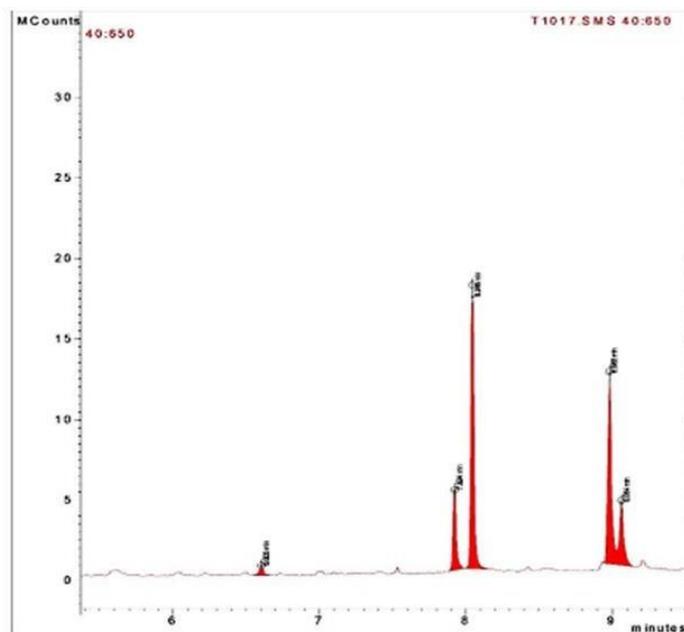


Figura 9. Cromatograma del extracto de ruezno de pistache obtenido mediante EAM.

Se observa que el pico más alto fue registrado en el tiempo de retención de 8.046 min el cual corresponde a 4-(4-(2-hidroxibenzoil) amino) anilino) 4-oxobut-2-ácido enoico de acuerdo con la información obtenida de la biblioteca del Software. El compuesto anteriormente mencionado representa el 38% de los compuestos identificados en el análisis cromatográfico. En segundo lugar, se observa el pico obtenido en el tiempo de retención de 8.983 min, tras realizar la comparación con la biblioteca del software corresponde a Etil Galato. Este compuesto representa 35% del total de compuestos fenólicos encontrados. Elakremi *et al.* (2020) reportaron como compuesto mayoritario al 1-Metil-1H-pirrol al analizar el perfil de compuestos fenólicos del ruezno de pistache empleando GC-MS. Los resultados reportados por Elakremi *et al.* (2020) no muestran semejanzas con los obtenidos en el presente estudio. Las discrepancias encontradas pueden atribuirse a las diferencias en el método de extracción, las condiciones empleadas para el análisis cromatográfico y a las variaciones propias del material vegetal empleado.

En el cuadro 2 se muestra el perfil completo de compuestos fenólicos obtenidos mediante el análisis GC-MS.

Cuadro 4. Perfil de compuestos fenólicos presentes en extractos de ruezno de pistache por EAM obtenidos mediante GC-MS.

#	TR	[M-H]	Compuesto	Formula	AR	%M
1	6.603	298	1-Eicosanol	C ₂₀ H ₄₂ O	1140000	1%
2	7.924	178	Éster 3-metilfenílico del ácido butanoico	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	15690000	12%
3	8.046	326	Ácido 4-(4-(2-hidroxibenzoil)amino)anilino)4-oxobut-2-enoico	C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O ₅	51670000	38%
4	8.983	198	Galato de etilo	C ₉ H ₁₀ O ₅	47200000	35%
5	9.064	304	Fenol, 3.pentadecil-	C ₂₁ H ₃₆ O	19330000	14%

4.7. Análisis por Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es un método analítico que permite la investigación de grupos funcionales, tipos de enlaces y conformaciones moleculares presentes en el material. Este método estudia la absorción o emisión de energía electromagnética producida por la interacción entre la radiación electromagnética y el material en estudio. Es simple, reproducible, no destructivo y requiere muy poco material (de microgramos a nanogramos) y poca preparación de la muestra (Piqué & Vázquez, 2012).

A través del análisis de resultados, es posible observar las lecturas de absorbancia obtenidas en cada uno de los tres métodos. En la figura 10, se pueden observar diez picos a los cuales se les atribuye un grupo funcional, y en el cuadro 3 podemos observar los valores de las lecturas.

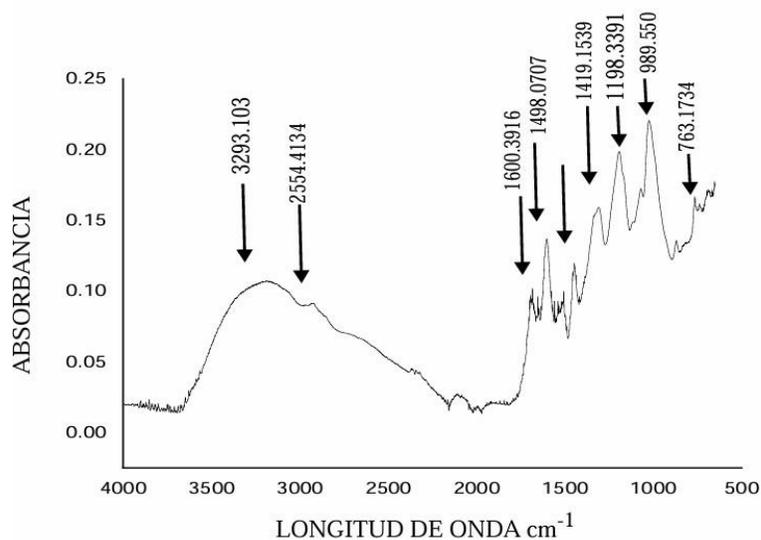
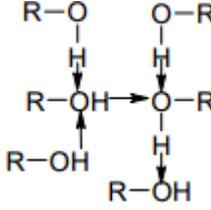
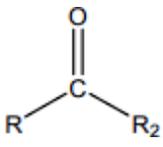
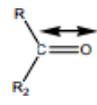


Figura 10. Espectro infrarrojo de polifenoles purificados de ruezno de pistache. **La longitud de onda está dada en cm^{-1} .

Cuadro 5. Señales identificadas en el espectro infrarrojo de polifenoles purificados de ruezno

Onda	Grupo	Nota
3293.105	Polimérico 	También aquí aparecen las aminas (3500~3200) y la pequeña señal de sobretono del carbonilo. En muestras húmedas aparece la señal de estiramiento H-O-H (3600~3100), en cuyo caso también se observa la flexión en 1640~1615.
2554.4134	-CH ₂ -	
1600.8916	Cetonas 	Señal intensa, característica del grupo carbonilo. Estiramiento del carbonilo 
1448.0707	-CH ₂ -	1445 en ciclopentanos, 1450 en ciclohexanos. Se

		desplaza por hiperconjugación.
1198.3391	Alcanos	Un doblete en 1380 sugiere grupos gem-dimetilo; la confirmación se realiza por la vibración del esqueleto (5)-(7).
989.550	Fuera del plano	
763.1734	Aromático	El número, forma y posición, junto con sus pequeños sobretonos en 2000~1650 caracterizan las posiciones sustituidas del anillo bencénico.

Mediante el análisis FTIR se confirma la presencia de los grupos funcionales que están presentes en las familias de los compuestos del tratamiento EAM. En base a los datos obtenidos en GC-MS como primer compuesto el 1-Eicosanol, donde dicha estructura se encuentra un grupo funcional de C-O-H, el cual corresponde a lo obtenido en los grupos funcionales de este estudio al igual que el Galato de etilo, Fenol, 3.pentadecil- y el Ácido 4-(4-(2-hidroxibenzoil)amino)anilino)4-oxobut-2-enoico, dentro de su estructura contienen un grupo funcional OH relacionado a compuestos aromáticos hidrogenados, alifáticos y fenólicos hidrogenados dichos OH en estos compuestos son un objetivo radical potencial, lo que permite que estas moléculas tengan capacidades de eliminación de radicales, tienen la facilidad de ceder electrones lo cual estabiliza a los radicales libres y es lo que se le debe la actividad antioxidante. De igual manera el compuesto Éster 3-metilfenílico del ácido butanoico, concuerda con lo obtenido en este estudio con la presencia del grupo funcional C-H, lo que indica la existencia de ácidos carboxílicos aromáticos, sin embargo, tiene menos acción antioxidante porque es más hidrófilo.

De acuerdo a Bautista-Hernández *et al.*, (2021) en el rango de los 3300 a 3000 cm^{-1} se encuentra la presencia del grupo funcional OH en compuestos aromáticos hidrogenados, alifáticos y fenólicos hidrogenados, estos han sido reportados en ruezno de pistache en la longitud de onda de 3293.105 cm^{-1} los cuales provienen de enlaces -OH aromáticos asociados a estructuras fenólicas. La señal presente en 1600

cm^{-1} se asocia con $\text{C}=\text{O}$ y grupos aromáticos $\text{C}=\text{C}$, como la pectina y los compuestos fenólicos, (Lucarini et al., 2020). Las señales entre 1500 y 1400 cm^{-1} se deben al alargamiento de los grupos carbonilo y está relacionado con los compuestos fenólicos de la cascara de pistacho por Manirul Haque (2022), mientras que entre 1150 y 1000 cm^{-1} indica la presencia del grupo funcional $\text{C}-\text{O}-\text{H}$ de alcoholes; finalmente en la banda de 750 cm^{-1} , se observó la presencia del grupo $\text{C}-\text{H}$, lo que indica la presencia de ácidos carboxílicos aromáticos. La región que comprende de 1500 a 800 cm^{-1} es la región más informativa de los compuestos orgánicos, sin embargo, es difícil de analizar debido a su complejidad (Lucarini et al., 2020). Los estudios polifenólicos que realizó Hamidpour et al. (2018) fundamentan los resultados obtenidos en este análisis, ya que estos resultados no muestran diferencia significativa con los picos mostrados en la lectura de absorbancia que reportan en su investigación, cabe señalar que no se estudió el mismo subproducto del pistache.

V. CONCLUSIONES

Acorde a los resultados obtenidos, el ruezno de pistache, uno de los subproductos de la industria del pistacho, es una fuente muy rica de compuestos fenólicos naturales y muestra una notable actividad antioxidante. Se observó que en comparación con las demás técnicas empleadas en esta investigación (EAU, EAM y EAUM), los extractos de ruezno de pistache obtenidos mediante EAM presentaron un mayor rendimiento en la extracción de fenólicos con un contenido de 263.77 ± 0.71 mg/gms y una alta actividad antioxidante, con valores IC_{50} de 211.64 ± 3.82 y 140.14 ± 3.37 para DPPH y ABTS, respectivamente. Además, mediante análisis GC-MS se logró identificar compuestos fenólicos siendo el Ácido -4-((4-hidroxifenil) amino))-4-oxobut-2-enoico, el compuesto mayoritario con un 38% a los demás presentes. Con el análisis mediante FTIR se logró identificar a los diferentes grupos funcionales entre los que podemos destacar 3-5 que se encuentran en el ruezno de pistache. Se identificaron diez señales, entre las que destacan la de 3293.103 cm^{-1} asociada a grupo funcional de alcoholes y aminas, 1600.8916 en el grupo de las cetonas, 1448.0707 y 1419.1839 asociada al alargamiento de los grupos carbonilo.

Por lo tanto, la extracción asistida por microondas EAM representa una alternativa amigable con el medio ambiente para recuperar compuestos con alto valor agregado a partir del ruezno de pistache

VI. LITERATURA CITADA

- Abe-Matsumoto, L., Lajolo, F. M., y Genovese, M. I. (2010). Comparison of phenol content and antioxidant capacity of nuts. *Food Science and Technology (Campinas)*, 30,254-259. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000500038>
- Akbari-Alavijeh, S., Soleimanian-Zad, S., Sheikh-Zeinoddin, M., & Hashmi, S. (2018). Pistachio hull water-soluble polysaccharides as a novel prebiotic agent. *International Journal of Biological Macromolecules* 107: 808-816.
- Arbeloa, A., García, E., Lorente, M.P, Andreu, P., & Marín, J.A. (2018). Micropropagación del pistacho: pros y contras. *Revista de fruticultura* 64: 120-133.
- Arjeh, E., Hamid-Reza, A., Barzegar, M. & Carbonell-Barrachina, A. (2020). Bioactive compounds and functional properties of pistachio hull: A review. *Trends in Food Science & Technology*. No. 97. p.p 55-64, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.031>
- Ascacio-Valdés JA, Aguilera-Carbó AF, Buenrostro JJ, Prado-Barragán A, Rodríguez-Herrera R, Aguilar CN. The complete biodegradation pathway of ellagitannins by *Aspergillus niger* in solid-state fermentation. *J Basic Microbiol*. 2016 Apr;56(4):329-36. doi: 10.1002/jobm.201500557.
- Ascacio-Valdés, Juan & Buenrostro Figueroa, Jose & Aguilera-Carbo, Antonio & Prado, Lilia Arely & Rodriguez, Raul & Aguilar, Cristobal. Ellagitannins: Biosynthesis, biodegradation and biological properties. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5. 4696-4703.
- Barreca, D., Lagana, G., Leuzzi, U., Smeriglio, A., Trombetta, D., y Bellocco, E. (2016). Evaluation of the nutraceutical, antioxidant and cytoprotective properties of ripe pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) hulls. *Food Chemistry* 196: 493-5021.

- Bautista, M. D. R. O. (2022). CARACTERIZACIÓN QUÍMICA Y NUTRACÉUTICA DEL PISTACHE (*Pistacia vera* L.) TOSTADO, ASÍ COMO LA EVALUACIÓN DE LA BIOACCESIBILIDAD IN VITRO, PERMEABILIDAD EX VIVO Y ANÁLISIS QUIMIOINFORMÁTICO IN SILICO.
- Bautista-Hernández, I., Aranda-Ledesma, NE, Rojas, R., Tafolla-Arellano, JC, & Martínez-Ávila, GC (2021). Actividad antioxidante de compuestos polifenólicos obtenidos de subproductos de *Euphorbia antisiphilitica*. *Heliyon* , 7 (4).
- Bolling BW, Chen C-YO, McKay DL, et al. (2011) Fitoquímicos de frutos secos: composición, capacidad antioxidante, bioactividad, factores de impacto. Una revisión sistemática de almendras, brasiles, anacardos, avellanas, macadamias, pecanas, piñones, pistachos y nueces. *Nutr Res Rev* 24, 244–275.
- Bulló, M., Juanola-Falgarona, M., Hernández-Alonso, P., & Salas-Salvadó, J. (2015). Atributos nutricionales y efectos sobre la salud de los pistachos. *Revista Británica de Nutrición*, 113 (S2), S79-S93.
- Cabo, L., Achón, M. y González, M.P. (2015). Influencia de los ácidos grasos poliinsaturados en la prevención y promoción del cáncer. *Nutrición hospitalaria*. 2015; 32(1): 41-49. DOI: <https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.1.8721>
- Carciochi, RA, D'Alessandro, LG, Vauchel, P., Rodríguez, MM, Nolasco, SM y Dimitrov, K. (2017). Valorización de subproductos agroalimentarios mediante la extracción de valiosos compuestos bioactivos mediante procesos verdes. En *Extracción de ingredientes por métodos fisicoquímicos en alimentos* (pp. 191-228). Prensa académica.
- Cardullo, N., Leanza, M., Muccilli, V. y Tringali, C. (2021). Valorization of Agri-Food Waste from Pistachio Hard Shells: Extraction of Polyphenols as Natural Antioxidants. *Resources MDPI* 2021, 10, 45. DOI: <https://doi.org/10.3390/resources10050045>

- Chang, S. K., Alasalvar, C., Bolling, B. W., y Shahidi, F. (2016). Nuts and their co-products: The impact of processing (roasting) on phenolics, bioavailability, and health benefits - A comprehensive review. *Journal of Functional Foods*, 26, 88-122. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.06.029>
- Dar, NG, Hussain, A., Paracha, GM y Akhter, S. (2015). Evaluación de diferentes técnicas para la extracción de antioxidantes como compuestos bioactivos de cáscaras de cítricos (subproductos industriales). *Revista Americano-Eurasiática de Ciencias Agrícolas y Ambientales*, 15 (4), 676-682.
- De León-Delgado, M.M., Legarreta-González M.A., Olivas-García J.M., Guerrero-Morales S. & Baray-Guerrero, M.R. (2020). Análisis financiero y económico del cultivo del pistache en el Municipio de López, Chihuahua. *Revista Científica Biológico Agropecuaria Tuxpan*. Vol 8 (2), DOI: <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v8i2.175>
- De Santiago, E., Ordóñez-Díaz, J.L., Pereira-Caro, G., Arquero, A., Lovera, M., Moreno-Rojas, J.M., Ortiz-Somovilla, V. (2022). Compuestos biosaludables del pistacho. *Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Córdoba*. p.p 1 -23
- Editor. (2022, February 23). *El poder de. . . El pistache - El Poder del Consumidor*. El Poder Del Consumidor. <https://elpoderdelconsumidor.org/2022/01/el-poder-de-el-pistache/>
- Elakremi, M., Sillero, L., Ayed, L., Labidi, J. y Moussaoui, Y. (2020). Composición química de hojas y cáscara de Pistacia Vera L. una evaluación del contenido fenólico y propiedades antioxidantes de sus extractos.
- Elhadeif, K., Akermi, S., Ben Hlima, H., Ennouri, K., Fourati, M., Ben Braïek, O., Mellouli, L. y Smaoui, S. (2021). Tunisian Pistachio Hull Extracts: Phytochemical Content, Antioxidant Activity, and Foodborne Pathogen Inhibition. *Hindawi Journal of Food Quality*. Volume 2021, p.p 18. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/9953545>
- Elhadeif, K., Akermi, S., Hlima, H. B., Ennouri, K., Fourati, M., Braïek, O. B., Mellouli, L., & Smaoui, S. (2021). Tunisian Pistachio Hull Extracts:

- Phytochemical Content, Antioxidant Activity, and Foodborne Pathogen Inhibition. *Journal Of Food Quality*, 2021, 1-18. <https://doi.org/10.1155/2021/9953545>
- Elsy De Santiago, J. L. (2022). *Compuestos Biosaludables del Pistacho*. Cordoba: JUNTA DE ANDALUCÍA. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera.
- Estrada-Gil, L., Contreras-Esquivel, JC, Flores-Gallegos, C., Zugasti-Cruz, A., Govea-Salas, M., Mata-Gómez, MA, ... & Ascacio-Valdés, JA (2022). Recuperación de elagitaninos bioactivos mediante extracción asistida por ultrasonido/microondas de la cáscara de rambután mexicano (*Nephelium lappaceum* L.). *Moléculas* ,
- Grajales-Hall, M. (2011, 26 de agosto). La cosecha del pistacho: una espera que vale la pena. *La Blog de* <https://ucanr.edu/blogs/blogcore/postdetail.cfm?postnum=5617> [Alimentos_ Ultimo acceso el 23 de julio de 2021].
- Hamed, M., Bougateg, H., Karoud, W., Krichen, F., Haddar, A., Bougateg, A., & Sila, A. (2020). Polysaccharides extracted from pistachio external hull: Characterization, antioxidant activity and potential application on meat as preservative. *Industrial Crops and Products*, 148, 112315. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112315>
- Hamidpour, M., Hosseini, N., Mozafari, V., & Heshmati Rafsanjani, M. (2018). Removal of Cd (II) and Pb (II) from aqueous solutions by pistachio hull waste. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(2), 307-316.
- Hernández-Hernández, C., Aguilar, C. N., Flores-Gallegos, A. C., Sepúlveda, L., Rodríguez-Herrera, R., Morlett-Chávez, J. A., Govea-Salas, M., & Ascacio-Valdés, J. A. (2020). Preliminary Testing of Ultrasound/Microwave-Assisted Extraction (U/M-AE) for the Isolation of Geraniin from *Nephelium lappaceum* L. (Mexican Variety) Peel. *Processes*, 8(5), 572. <https://doi.org/10.3390/pr8050572>
- Herrera Quiñones, X. Á., Rodríguez Castillo, K. S. (2016) Evaluación del extracto de flavonoles y antocianinas contenidos en el agraz (*Vaccinium meridionale*

- Swartz) obtenidos a nivel laboratorio por medio de los métodos de extracción por solventes y extracción asistida por microondas (Trabajo de grado). Fundación Universidad de América. Retrieved from <http://hdl.handle.net/20.500.11839/478>
- Herrera-Pool, E., Ramos-Díaz, AL, Lizardi-Jiménez, MA, Pech-Cohuo, S., Ayora-Talavera, T., Cuevas-Bernardino, JC, ... & Pacheco, N. (2021) . Efecto de la polaridad del solvente en la extracción asistida por ultrasonido y la actividad antioxidante de compuestos fenólicos de hojas de chile habanero (*Capsicum chinense*) y su identificación mediante UPLC-PDA-ESI-MS/MS. *Sonoquímica ultrasónica* , 76 , 105658.
- Kaderides, K., Papaikonomou, L., Serafim, M., & Goula, A. M. (2019). Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 137, 1-11. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cep.2019.01.006>
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology* 48: 412-422.
- López-Cárdenas, F., Ochoa-Reyes, E., Baeza-Jiménez, R., Tafolla-Arellano, J. C., Ascacio-Valdés, J. A., & Buenrostro-Figueroa, J. J. (2023). Solid-State Fermentation as a Sustainable Tool for Extracting Phenolic Compounds from Cascalote Pods. *Fermentation*, 9(9), 823
- Mandalari, G., Barreca, D., Gervasi, T., Roussel, M.A., Klein, B., Feeney, M.J. y Carughi, A. (2021). Pistachio Nuts (*Pistacia vera* L.): Production, Nutrients, Bioactives and Novel Health Effects. *Plants* 2022, 11, 18. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11010018>
- Martínez-Ruiz, N. R., García, J. R., y Corral-Díaz, B. (2019). Efecto del secado controlado sobre la calidad nutrimental del pistache (*Pistacia vera*) y subproductos en el valle de Juárez, Chihuahua, México (Rep. Téc. Final pistache No.9). Ciudad Juárez, Chihuahua: UACU-Investigación, Coordinación General de Investigación y Posgrado. Recuperado de <http://cathi.uacj.mx/20.500.11961/7808>

- Martínez-Ruiz, N.R., García, J.R. & Corral-Díaz, B. (2019). Efecto del secado controlado sobre la calidad nutrimental del pistache (*Pistacia vera* L.) y subproductos producidos en el Valle de Juárez, Chihuahua, México (ICB Reporte Técnico). *Productos de Creación Artística, Tecnológica, Humanidades e Investigación Científica*, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
- Mateos, R., Salvador, M.D., Fregapane, G. y Goya, L. (2022). Why Should Pistachio Be a Regular Food in Our Diet? *Nutrients* 2022, 14, 3207. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu14153207>
- Meléndez, N. P., Nevárez-Moorillón, V., Rodríguez-Herrera, R., Espinoza, J. C., & Aguilar, C. N. (2014). A microassay for quantification of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging. *African Journal of Biochemical Research* 8(1), 14-18. <https://doi.org/https://doi.org/10.5897/AJBR2013.0669>
- Moreno-Rojas, J.M., Velasco-Ruiz, I., Lovera, M., Ordoñez-Díaz, J.L., Ortiz-Somovilla, V., De Santiago, E., Arquero, O. y Pereira-Caro, G. (2022). Evaluation of Phenolic Profile and Antioxidant Activity of Eleven Pistachio Cultivars (*Pistacia vera* L.) Cultivated in Andalusia. *Antioxidants* 2022, 11, 609. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11040609>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int J Mol Sci*, 22(7). <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Muñoz, J. F. V., & Sánchez, J. Á. A. (2016). El mercado mundial y norteamericano del pistacho. *Boletín económico de ICE, Información Comercial Española*, (3082), 51-61.
- Nayak, B., Dahmoune, F., Moussi, K., Remini, H., Dairi, S., Aoun, O., Khodir, M. (2015). Comparison of microwave, ultrasound and accelerated-assisted solvent extraction for recovery of polyphenols from *Citrus sinensis* peels. *Food Chemistry* 187:507-16. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.04.081.
- Neval-Özbek, H., Halahlih, F., Göğüş, F., Yanık, D.K. y Azaizeh, H. (2018). Pistachio (*Pistacia vera* L.) Hull as a Potential Source of Phenolic

- Compounds: Evaluation of Ethanol–Water Binary Solvent Extraction on Antioxidant Activity and Phenolic Content of Pistachio Hull Extracts. Waste and Biomass Valorization. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0512-6>
- Noorolahi, Z., Sahari, M. A., Barzegar, M. & Ahmadi Gavlighi, H. (2020). Tannin fraction of pistachio green hull extract with pancreatic lipase inhibitory and antioxidant activity. *Journal of Food Biochemistry*, 44(6), doi: <https://doi.org/10.1111/jfbc.13208>
- Noorolahi, Z., Sahari, M. A., Barzegar, M. & Ahmadi Gavlighi, H. (2020). Tannin fraction of pistachio green hull extract with pancreatic lipase inhibitory and antioxidant activity. *Journal of Food Biochemistry*, 44(6), doi: <https://doi.org/10.1111/jfbc.13208>
- Noorolahi, Z., Sahari, M. A., Barzegar, M., & Gavlighi, H. A. (2020). Tannin fraction of pistachio green hull extract with pancreatic lipase inhibitory and antioxidant activity. *Journal Of Food Biochemistry*, 44(6). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13208>
- OBTENCIÓN DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA A PARTIR DE HARINAS ELABORADAS CON SUBPRODUCTOS DE LIMON ITALIANO. (2014). [MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA EN LA ESPECIALIDAD DE PROCESOS AGROINDUSTRIALES]. CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO, A. C.
- Olivas-Aguirre, Francisco & Wall, Abraham & Aguilar, Gustavo & Lopez, Alberto & Alvarez-Parrilla, Emilio & De la Rosa, Laura & Ramos, Arnulfo. (2015). Hydrolyzable tannins; biochemistry, nutritional & analytical aspects and health effects. *Nutrición hospitalaria*. 31. 55-66. 10.3305/nh.2015.31.1.7699.
- Özbek, H.N., Yanık, D.K., Fadıloğlu, S. & Göğüş, F. (2019). Optimization of microwave-assisted extraction of bioactive compounds from pistachio (*Pistacia vera* L.) hull, *Separation Science and Technology*, DOI: <https://doi.org/10.1080/01496395.2019.1577444>

- Özbek, HN, Yanık, DK, Fadiloğlu, S. y Göğüş, F. (2020). Optimización de la extracción asistida por microondas de compuestos bioactivos de la cáscara de pistacho (*Pistacia vera* L.). *Separación Ciencia y Tecnología* 55 (2): 289-299.
- Pakdaman, N., Dargahi, R., Nadi, M., Javanshah, A., Shakerardekani, A. y Saberi, N. (2021). Optimizing the Extraction of Phenolic Compounds from Pistachio Hulls. *Journal of Nuts*. 12(4) (2021) 361-370. DOI: <https://doi.org/10.22034/jon.2021.1941474.1132>
- Pereira, MG, Hamerski, F., Andrade, EF, Scheer, ADP y Corazza, ML (2017). Assessment of subcritical propane, ultrasound-assisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) seeds. *The Journal of Supercritical Fluids* 128: 338-348.
- Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz- Rubio, M. E., Serrano, J., Goñi, I., & Saura-Calixto, F. (2008). Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. *Food Research International*, 41(3), 274-285.
- Piqué, T. M. & Vázquez, A. (2012). Uso de Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) en el estudio de la hidratación del cemento. *Concreto y cemento. Investigación y desarrollo* 3(2): 62-71.
- Proestos, C., Sereli, D. y Komaitis, MJFC (2006). Determinación de compuestos fenólicos en plantas aromáticas mediante RP-HPLC y GC-MS. *Química de los alimentos* , 95 (1), 44-52.
- Puertas-Mejía, M. A., Ríos-Yepes, Y., & Rojano, B. A. (2013). Determinación de antocianinas mediante extracción asistida por radiación de microondas en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de alto consumo en Antioquia-Colombia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 18(2): 288-297.
- Putnik, P., Bursac Kovačević, D., Režek Jambrak, A., Barba, FJ, Cravotto, G., Binello, A., ... y Shpigelman, A. (2017). Estrategias innovadoras “verdes” y novedosas para la extracción de compuestos bioactivos de valor agregado a partir de desechos de cítricos: una revisión. *Moléculas* , 22 (5), 680.
- Quiroz, M. H., Soto, J. H., Callejas, F. R., Mendoza, C. R., Pérez, C. V., & De León Hill, C. P. (2013). EXTRACCIÓN ASISTIDA POR MICROONDAS Y

LIMPIEZA EN FASE SÓLIDA COMO MÉTODO DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN *Ambystoma mexicanum*. *Int. Contam. Ambie*, 29(2), 189-200.
<http://scielo.unam.mx/pdf/rica/v29n2/v29n2a5.pdf>

- Ramírez-Esparza, U., Ochoa-Reyes, E., Baeza-Jiménez, R., & Buenrostro-Figueroa, J. J. (2023). Efecto de la fermentación en medio sólido sobre el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante del maíz. *CienciaUAT(En Línea)/CienciaUAT*. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v18i2.1801>
- Rojas, T., Fuentes Campos, M. E., Contreras-López, E., Gómez, S., & Muñoz-Jáuregui, A. M. (2019). Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cáscara de sanky (*Corryocactus brevistylus*). *Revista de la Sociedad Química del Perú* 85(2): 258-267.
- Ruddock, P. L., & Facey, P. (2024). Chapter 9 - Tannins. McCreath & Y. N. Clement (Eds.), *Pharmacognosy (Second Edition)* (pp. 211-251). Academic Press.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18657-8.00015-3>
- Rumpf, J., Burger, R., & Schulze, M. (2023). Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233, 123470.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123470>
- Safdar, MN, Kausar, T., Jabbar, S., Mumtaz, A., Ahad, K. y Saddozai, AA (2017). Extracción y cuantificación de polifenoles de la piel de kinnow (*Citrus reticulata* L.) mediante técnicas de ultrasonido y maceración. *Revista de análisis de alimentos y medicamentos* , 25 (3), 488-500.
- Seifzadeh, N., Sahari, MA, Barzegar, M. y Ahmadi Gavlighi, H. (2018). Concentración de antioxidantes del extracto de cáscara de pistacho mediante separación de membranas y reducción del ensuciamiento de las membranas durante el proceso. *Ciencia de los alimentos y nutrición*, 6(6): 1741-1750.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2019). Estadísticas de cierre de producción agrícola. Recuperado de <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>

- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). (2019). Y a ti ¿te gusta el pistache?. Recuperado de <https://www.gob.mx/senasica/articulos/y-a-ti-te-gusta-el-pistache?idiom=es>
- Soquetta, M. B., Terra, L. D. M. & Bastos, C. P. (2018). Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. *CyTA -Journal of Food* 16(1): 400-412.
- Sutivisedsak, N. & Cheng, Huai & Willett, Julious & Lesch, W.C. & Tangsrud, R.R. & Biswas, Atanu. (2010). Microwave-assisted extraction of phenolics from bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Research International*. 43. 516-519. 10.1016/j.foodres.2009.09.014.
- Thorat, Vishal & Harinath, N. & Tamboli, Firoj & Jadhav, Asha. (2021). NOVEL EXTRACTION PROCESS USE IN MEDICINAL PLANTS: A REVIEW. 10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP.8(4).138-45.
- United State Department of Agriculture [USDA] (2019, 4 de enero). Nuts, Pistachio nuts, raw [Conjunto de datos interactivos]. Food Data Central Search Research Disponible en: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/170184/nutrients>
- United States Departament of Agriculture (USDA). (2022). Tree Nuts: World Markets and Trade (Informe de producción). Foreign Agricultural Service.
- Valero-Mendoza, AG, Meléndez-Rentería, NP, Chávez-González, ML, Flores-Gallegos, AC, Govea-Salas, M., Wong-Paz, JE, ... & Ascacio-Valdés, JA *Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica*.
- Wong-Paz, J. E., Muñiz-Márquez, D., Aguilar-Zarate, P., Ascacio-Valdés, J., Cruz, K., Reyes-Luna, C. & Aguilar, C. (2017). Extraction of Bioactive Phenolic Compounds by Alternative Technologies. In A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Ingredients extraction by physicochemical methods in food* (pp. 229-252). London, United Kindgdom: Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-811521-3.00005-3