



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
COLEGIO DE INGENIERÍA QUÍMICA



**“APLICACIÓN DE UN DISOLVENTE EUTÉCTICO
PROFUNDO NATURAL EN LA EXTRACCIÓN ASISTIDA CON
ULTRASONIDO PARA LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS
FENÓLICOS: OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO Y
CARACTERIZACIÓN DE LOS PRODUCTOS”**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO

LICENCIATURA EN INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA:

HIROSHI SAID RAMOS HERNÁNDEZ

DIRECTORAS DE TESIS

DRA. EDITH CORONA JIMÉNEZ

DRA. MARÍA DE LOURDES RUIZ PERALTA

PUEBLA, PUE. MAYO 2024



Oficio No. FIQ/AC/018/2024
Asunto: Registro de Tema de Tesis.

C. HIROSHI SAID RAMOS HERNÁNDEZ
PASANTE DE LA LICENCIATURA EN
INGENIERÍA QUÍMICA
P R E S E N T E:

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería Química cuyo título es el siguiente:

“Aplicación de un disolvente eutéctico profundo natural en la extracción asistida con ultrasonido para la obtención de compuestos fenólicos: optimización del proceso y caracterización de los productos”

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	ANTECEDENTES
CAPÍTULO 2	METODOLOGÍA
CAPÍTULO 3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA

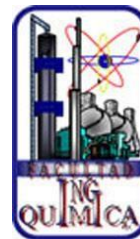
Directora de Tesis: Dra. Edith Corona Jiménez
Co-Directora: Dra. Ma. de Lourdes Ruiz Peralta.

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **ÚNICAMENTE POR UN AÑO**.

Atentamente,
“Pensar Bien Para Vivir Mejor”
H. Puebla de J., a 22 de enero de 2024

Dra. Valeria Jordana Gonzalez Coronel
Secretaria Académica

C.c.p. Directora de Tesis: Dra. Edith Corona Jiménez.
C.c.p. Co-Directora: Dra. Ma. de Lourdes Ruiz Peralta.
C.c.p. Archivo.



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

CIUDAD UNIVERSITARIA

Ricardo Valderrama Valdez
Director de la Administración Escolar
De la BUAP.
Presente

ASUNTO:
AUTORIZACIÓN
IMPRESIÓN DE TESIS

Por este conducto me permito presentar a Ud. al C. pasante de la carrera de Ingeniería Química:

Hiroshi Said Ramos Hernández

Quién presenta como tema de registro de Tesis:

**Aplicación de un disolvente eutéctico profundo natural en la extracción
asistida con ultrasonido para la obtención de compuestos fenólicos:
optimización del proceso y caracterización de los productos**

La cual ha sido debidamente revisada y se autoriza para su impresión correspondiente.

Sin otro particular y para los fines que se estimen conducentes reitero mi distinción.

ATENTAMENTE

“Pensar Bien, para Vivir Mejor”

H. Puebla de Z., a 03 de mayo de 2024

Directoras de Tesis

Dra. Edith Corona Jiménez

Dra. Ma. de Lourdes Ruiz Peralta



BUAP

Oficio No. FIQ/DI/264/2024

Asunto: Modalidad de Titulación por Examen Profesional por Tesis.

Mtro. Ricardo Valderrama Valdez
Director de Administración Escolar de la BUAP
P r e s e n t e:

At'n: Psic. Marcela Juárez Zenteno
Jefa del Departamento de Titulación

Por este medio, me permito hacer de su conocimiento que el alumno:

Nombre completo del alumno:

Hiroshi Said Ramos Hernández

Matrícula:

201759097

Sustentante de la Carrera en:

Ingeniería Química

Fecha de Examen Profesional:

Viernes 17 de Mayo de 2024 8:00 a.m. Presencial.

JURADO:

NOMBRE	CARGO
Dr. Efraín Rubio Rosas	Presidente
Dr. Irving Israel Ruiz López	Secretario
Dra. Edith Corona Jiménez	Vocal

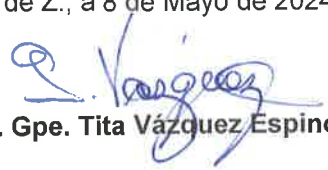
NOTA: ESTE DOCUMENTO TIENE VIGENCIA POR 6 MESES A PARTIR DE LA FECHA DE SU EXPEDICIÓN.

Sin otro particular, le reitero las seguridades de mi atenta y distinguida consideración.

Atentamente

"Pensar Bien, Para Vivir Mejor"

H. Puebla de Z., a 8 de Mayo de 2024


M.I.C. Ma. Gpe. Tita Vázquez Espinosa de los Monteros
Directora



C.c.p. Archivo

AGRADECIMIENTOS

A continuación, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas e instituciones que contribuyeron en la realización de este proyecto.

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, a la Facultad de Ingeniería Química y al Cuerpo Académico Consolidado “Innovación en Tecnología para el Desarrollo de Procesos Alimenticios” debido a que el presente trabajo se realizó en sus instalaciones.

A mis directoras de tesis, la Dra. Edith Corona Jiménez y la Dra. María de Lourdes Ruiz Peralta, por recibirme en su equipo de trabajo, atender y resolver mis dudas, enriquecer mi aprendizaje por medio de su experiencia y el conocimiento compartido, además de ofrecerme su confianza, apoyo y paciencia que condujeron en todo momento el progreso de este trabajo. Admiro su dedicación, disciplina y calidez humana.

A los miembros del jurado, el Dr. Irving Israel Ruiz López y el Dr. Efraín Rubio Rosas, por el tiempo concedido para revisar y enviar su valiosa retroalimentación al trabajo final.

A la Dra. Tania Martínez Ramos por la amabilidad, compromiso y disposición otorgados desde el primer día. Asimismo, agradezco a la Universidad Politécnica Metropolitana de Puebla por ser parte fundamental en el desarrollo de este proyecto.

Extiendo mi gratitud al Dr. Gregorio Romero de la Vega, a la Mtra. Ramzi Mellado Pumarino y al personal administrativo del Instituto de Diseño e Innovación Tecnológica por facilitarme el acceso a sus laboratorios y capacitarme en el uso de los equipos.

Además, doy gracias al Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada por el préstamo de sus espectrómetros y la asesoría brindada.

Agradezco a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP-BUAP) por la beca concedida dentro del Programa Institucional para la Consolidación de Cuerpos Académicos: Apoyo Complementario a Proyectos de Investigación 2024, mediante el proyecto titulado “Aprovechamiento de subproductos del sector agrario a través de una extracción sostenible de compuestos bioactivos y su potencial uso en la cadena productiva agrolimentaria” (ID 00459-PV/2024), el cual dirige la Dra. Edith Corona Jiménez.

En especial, me gustaría dar las gracias a mi querida madre Xóchitl por ser el principal motor detrás de cada uno de mis logros. Sus enseñanzas son la brújula que guían mi camino y su ejemplo la inspiración que llena mi vida. Este trabajo es un tributo a su dedicación, cuidados y amor inquebrantables. Espero que se sienta tan orgullosa como yo estoy de ella. Asimismo, a mis tías Sandy, Maritza y Norma por haberme inculcado el amor por el aprendizaje, fomentar en mí el deseo de superación y porque me motivan e impulsan a alcanzar mi metas, brindándome desmesuradamente su cariño, apoyo y

comprensión desde que tengo memoria. Ellas, a quienes dedico esta tesis, representan ese hogar al que siempre quiero regresar. ¡Las quiero intensamente!

Finalmente, quiero agradecer a todas las amistades que hice y mantuve durante mi formación académica, particularmente: a Juan Pablo, Tomas y Elías porque su compañía siempre me anima, me motiva y distrae de cualquier mal rato; a Harumi, René, Sergio, Cristina, Ernesto y José Ángel porque cada experiencia compartida dentro y fuera de las aulas me hicieron sentir bienvenido en esta ciudad; y a Diana, Rocío, Denneb y Adriana por permanecer en contacto a pesar del tiempo y la distancia.

RESUMEN

Las técnicas de extracción convencionales requieren tiempos de extracción prolongados además del uso de disolventes tóxicos y volátiles. De este modo, los disolventes eutécticos profundos naturales (NaDESs por sus siglas en inglés) surgen como alternativa para reducir o sustituir la aplicación de disolventes orgánicos tradicionales. Asimismo, se ha demostrado que el ultrasonido de potencia favorece la transferencia de masa, mejorando así el proceso de extracción. Hasta ahora existen pocas investigaciones que evalúen y optimicen el efecto conjunto de la extracción asistida con ultrasonido (EAU) con NaDESs. En este sentido, el presente trabajo estudió el uso de un NaDES conformado por ácido cítrico y fructosa en la EAU para la obtención de compuestos fenólicos presentes en cáscara de mango (*Mangifera indica* L. cv manila), definiendo una metodología de tres etapas.

En la primera etapa se realizó la síntesis, caracterización y elección de los NaDESs. Se midieron sus propiedades fisicoquímicas en función del contenido de agua (20–40 %, v/v) y se evaluaron mediante las técnicas FTIR y micro-Raman para determinar la formación del NaDES. Los resultados señalan que la adición de agua modificó significativamente las propiedades fisicoquímicas de la mezcla ácido cítrico y fructosa, sin embargo, el análisis espectroscópico indicó que no afecta su estructura química, señalando así que se obtuvo un compuesto eutéctico. En seguida, para elegir el NaDES que se utilizó en la fase de optimización, se prepararon extractos mediante agitación convencional y se cuantificó su contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) por el método de Folin–Ciocalteu y su actividad antioxidante (AA) aplicando los ensayos DPPH y ABTS. El NaDES con 40 % de agua (NaDES-40) fue el más adecuado para el proceso de extracción, registrándose un contenido de CFT de 6525.80 ± 214.35 mg equivalentes de ácido gálico/100 g muestra seca (GAE, por sus siglas en inglés) con una AA de 161.338 ± 1.480 mg TROLOX/100 g muestra seca y 998.08 ± 2.89 mg TROLOX/100 g muestra seca para DPPH y ABTS, respectivamente.

Durante la segunda etapa se evaluó el impacto y la interacción de las variables tiempo (10–30 min), temperatura (20–60 °C) y aplicación de ultrasonido de potencia en la obtención de CFT y su AA utilizando etanol como disolvente de referencia, todo ello para optimizar el proceso de extracción empleando el NaDES elegido previamente. La combinación de variables óptimas que brindó la mayor cantidad de CFT mediante el uso de NaDES-40 fueron 60 °C durante 16.7 minutos sin la aplicación de ultrasonido (6789.34 mg GAE/100 g muestra seca). Por otra parte, la mayor AA registrada a partir de las condiciones óptimas fue 175.673 mg TROLOX/100 g muestra seca (30 minutos y 37.4 °C bajo EAU) mediante el ensayo DPPH y 029.80 mg TROLOX/100 g muestra seca (19.5 minutos

y 20 °C mediante extracción convencional) para el ensayo ABTS. En comparación con el etanol, el uso del NaDES-40 permite recuperar un contenido de CFT hasta 1.7 veces mayor, con una AA hasta 8 veces mayor. Los modelos de regresión cuadráticos calculados mostraron coeficientes de determinación R^2 en el rango de 0.732 a 0.984, indicando un ajuste adecuado de los datos pronosticados.

En la tercera y última etapa, se identificaron y cuantificaron algunos compuestos fenólicos empleando las técnicas HPLC y micro-Raman. Los espectros micro-Raman señalaron la presencia de carotenoides, mientras que los cromatogramas advierten la presencia de ácido gálico y quercetina en los extractos óptimos. En ambas técnicas, el contenido varía en función de las condiciones de extracción aplicadas.

Por consiguiente, el uso de un NaDES constituido por ácido cítrico y fructosa podría considerarse una alternativa apropiada e interesante para potenciar la extracción de compuestos fenólicos con alta actividad antioxidante presentes en cáscara de mango manila.

ABSTRACT

Conventional extraction techniques require long extraction times in addition to the use of toxic and volatile solvents. Thus, natural deep eutectic solvents (NaDESs) emerge as an alternative to reduce or replace the application of traditional organic solvents. Ultrasound has also been shown to enhance mass transfer, thus improving the extraction process. So far, there is little information evaluating and optimising the effect of ultrasound-assisted extraction (UAE) with NaDESs. In this sense, the present work studied the use of a NaDES consisting of citric acid and fructose in UAE to obtain phenolic compounds in mango (*Mangifera indica* L. cv manila) peel, defining a three-step methodology.

In the first stage, the NaDESs were synthesised, characterised and selected. Their physicochemical properties were measured as a function of water content (20-40 %, v/v) and evaluated by FTIR and micro-Raman techniques to determine NaDES formation. The results indicate that the addition of water significantly modified the physicochemical properties of the citric acid-fructose mixture, however, spectroscopic analysis indicated that it did not affect its chemical structure, thus indicating that a eutectic compound was formed and not a solution. Next, to choose the NaDES to be used in the optimisation phase, extracts were prepared by conventional shaking and their total phenolic compound (TPC) content was quantified by the Folin-Ciocalteu method and their antioxidant activity (AA) by applying the DPPH and ABTS assays. NaDES with 40 % water (NaDES-40) was the most suitable for the extraction process, registering a TPC content of 6525.80 ± 214.35 mg gallic acid equivalents/100 g dry sample (GAE) with an AA of 161.338 ± 1.480 mg TROLOX/100 g dry sample and 998.08 ± 2.89 mg TROLOX/100 g dry sample for DPPH and ABTS, respectively.

During the second stage, the impact and interaction of the variables time (10-30 min), temperature (20-60 °C) and application of power ultrasound in obtaining TPC and its AA using ethanol as reference solvent were evaluated in order to optimise the extraction process using the previously chosen NaDES. The combination of optimal variables that provided the highest amount of TPC using NaDES-40 was 60 °C for 16.7 min without the application of ultrasound (6789.34 mg GAE/100 g dry sample). On the other hand, the highest AA recorded from the optimal conditions was 175.673 mg TROLOX/100 g dry sample (30 min and 37.4 °C under UAE) by the DPPH assay and 029.80 mg TROLOX/100 g dry sample (19.5 min and 20 °C by conventional extraction) for the ABTS assay. Compared to ethanol, the use of NaDES-40 allows the recovery of up to 1.7 times higher TPC content, with up to 8 times higher AA. The calculated quadratic regression models sho-

wed coefficients of determination R^2 in the range of 0.732 to 0.984, indicating an adequate fit to the predicted data.

In the third and final stage, some phenolic compounds were identified and quantified using HPLC and micro-Raman techniques. The micro-Raman spectra showed the presence of carotenoids, while the chromatograms showed the presence of gallic acid and quercetin in the optimal extracts. In both techniques, the content varies depending on the extraction conditions applied.

Therefore, the use of a NaDES consisting of citric acid and fructose could be considered an appropriate and interesting alternative to enhance the extraction of phenolic compounds with high antioxidant activity present in manila mango peel.

ÍNDICE

RESUMEN	I
ABSTRACT	I
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE TABLAS	VI
INTRODUCCIÓN	1
I ANTECEDENTES	3
1.1 Lixiviación	3
1.2 Residuos agroindustriales como fuente de compuestos bioactivos	3
1.3 Compuestos fenólicos	5
1.3.1 Definición y clasificación de los compuestos fenólicos	5
1.3.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales (CFT)	7
1.3.3 Actividad antioxidante (AA)	8
1.3.4 Estimación de la actividad antioxidante	8
1.4 Extracción de compuestos fenólicos	9
1.4.1 Técnicas de extracción convencionales (EC)	9
1.4.2 Tecnologías emergentes aplicadas en el proceso de extracción	10
1.5 Generalidades del ultrasonido	11
1.5.1 Definición y clasificación del ultrasonido	11
1.5.2 Fenómeno de cavitación acústica	13
1.6 Extracción asistida con ultrasonido (EAU)	14
1.6.1 Mecanismos inducidos por el ultrasonido	14
1.6.2 Factores que influyen en la EAU de compuestos bioactivos	15
1.6.2.1 Parámetros acústicos	15
1.6.2.2 Parámetros del sistema de extracción	16
1.6.3 Optimización del proceso	17

1.7	Disolventes eutécticos profundos (DESs)	17
1.7.1	Definición	17
1.7.2	Disolventes eutécticos profundos naturales (NaDESs)	18
1.7.3	Propiedades fisicoquímicas de los NaDESs	19
1.7.4	Análisis espectroscópicos aplicados en NaDESs	20
1.7.5	Aplicaciones de los NaDESs	21
1.8	Uso de NaDESs en la extracción asistida con ultrasonido de compuestos fenólicos	22
II	OBJETIVOS E HIPÓTESIS	24
2.1	Objetivo general	24
2.2	Objetivos específicos	24
2.3	Hipótesis	24
III	METODOLOGÍA	25
3.1	Plan de trabajo	25
3.2	Reactivos y estándares	26
3.3	Preparación de la materia prima	27
3.4	Síntesis de los NaDESs	27
3.5	Caracterización fisicoquímica de los NaDESs	27
3.6	Procesos de extracción	28
3.6.1	Método de extracción convencional (EC)	29
3.6.2	Extracción asistida con ultrasonido (EAU)	29
3.6.3	Optimización del proceso de extracción	29
3.7	Análisis cuantitativos	30
3.7.1	Determinación de compuestos fenólicos totales (CFT)	30
3.7.2	Determinación de la actividad antioxidante (AA)	30
3.7.2.1	Ensayo DPPH	30
3.7.2.2	Ensayo ABTS	30
3.7.3	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	31
3.8	Análisis cualitativos	31
3.8.1	FTIR	31
3.8.2	Espectroscopía micro-Raman	31
3.9	Análisis estadístico	32
IV	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1	Caracterización y elección del NaDES	33

4.1.1	Elección del NaDES	33
4.1.2	Caracterización de los NaDESs	34
4.1.2.1	Propiedades fisicoquímicas	34
4.1.2.2	Análisis por FTIR	36
4.1.2.3	Análisis por micro-Raman	39
4.2	Optimización del proceso de extracción	40
4.2.1	Compuestos Fenólicos Totales (CFT)	40
4.2.1.1	Extracción de CFT con etanol y su optimización	41
4.2.1.2	Extracción de CFT con NaDES-40 y su optimización	44
4.2.2	Análisis de la actividad antioxidante	46
4.2.2.1	Determinación de la AA en los extractos con etanol y su optimización	47
4.2.2.2	Determinación de la AA en los extractos con NaDES-40 y su optimización	50
4.3	Caracterización de los extractos e identificación de CFT presentes	53
4.3.1	Análisis por espectroscopía micro-Raman	53
4.3.2	Análisis por HPLC	55
V	CONCLUSIONES	59
	BIBLIOGRAFÍA	60
	CONTRIBUCIÓN CIENTÍFICA	69
	ANEXO	70

ÍNDICE DE FIGURAS

1.1	Estructura básica de los flavonoides.	5
1.2	Propagación del ultrasonido.	12
1.3	Fenómeno de cavitación.	13
1.4	Representación esquemática de un punto eutéctico en un diagrama de fases de dos componentes.	18
3.1	Plan de trabajo.	26
4.1	Estructura molecular de la fructosa (a) y el ácido cítrico (b).	36
4.2	Espectros FTIR de fructosa (a) y ácido cítrico (b).	37
4.3	Espectros FTIR del NaDES-0 (a), NaDES-20 (b), NaDES-30 (c) y NaDES-40 (d).	38
4.4	Espectros micro-Raman de fructosa (a), NaDES-20 (b), NaDES-30 (c) y NaDES-40 (d).	39
4.5	Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste, que muestran el efecto del tiempo y la temperatura sobre el CFT de los extractos obtenidos mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D) con etanol.	43
4.6	Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste, que muestran el efecto del tiempo y la temperatura sobre el CFT de los extractos obtenidos mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D) con NaDES-40.	45
4.7	Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste, que muestran el efecto del tiempo y la temperatura sobre la AA _{DPPH} de los extractos obtenidos mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D) con etanol.	48
4.8	Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste, que muestran el efecto del tiempo y la temperatura sobre la AA _{ABTS} de los extractos obtenidos mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D) con etanol.	49

4.9	Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste, que muestran el efecto del tiempo y la temperatura sobre la AA_{DPPH} de los extractos obtenidos mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D) con NaDES-40.	51
4.10	Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste, que muestran el efecto del tiempo y la temperatura sobre la AA_{ABTS} de los extractos obtenidos mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D) con NaDES-40.	52
4.11	Espectros micro-Raman de los extractos óptimos obtenidos mediante EC (A y C) y EAU (B y D).	54
4.12	Contenido de ácido gálico y quercetina en extractos obtenidos con etanol y NaDES-40 mediante EC y EAU. Las barras de error representan las desviaciones estándar del promedio de tres repeticiones.	55
4.13	Estructura molecular y cromatogramas del ácido gálico (A) y de los extractos E3 (B), E4 (C), N3 (D) y N4 (E).	56
4.14	Estructura molecular y cromatogramas de la quercetina (A) y de los extractos E3 (B), E5 (C), N2 (D) y N4 (E).	58

ÍNDICE DE TABLAS

1.1	Composición nutricional de la cáscara de mango.	4
1.2	Compuestos fenólicos presentes en la cáscara de mango.	7
1.3	Estudios reportados de EAU de compuestos fenólicos presentes en residuos agroindustriales mediante el uso de NaDESs.	22
3.1	Preparación de diferentes sistemas NaDES.	27
3.2	Factores y niveles del diseño experimental.	30
4.1	Determinación de CFT y AA de los NaDESs a diferentes porcentaje de agua.	33
4.2	Propiedades fisicoquímicas de los NaDESs a diferentes porcentajes de agua a 25 ± 2 °C.	34
4.3	Diseño de experimentos y CFT en la extracción con etanol y NaDES-40 con (100 %) y sin ultrasonido (0 %).	41
4.4	Diseño de experimentos y AA en los extractos con etanol y NaDES-40 en presencia (100 %) y ausencia (0 %) de ultrasonido.	47
4.5	Acrónimo y condiciones de extracción utilizadas para cada extracto analizado.	53

INTRODUCCIÓN

Diversos estudios han demostrado el potencial de los subproductos de la industria alimentaria como fuente asequible para la obtención de compuestos bioactivos de alto valor. Además de contribuir a minimizar la cantidad de residuos generados, se recupera una gran variedad de compuestos de interés por parte de los consumidores, entre ellos, los compuestos fenólicos sobresalen por su conocida efectividad en el tratamiento y prevención de enfermedades crónico-degenerativas (Gupta *et al.*, 2022).

La extracción es el primer paso para la recuperación de compuestos bioactivos de matrices vegetales. Los compuestos deben separarse de su matriz de origen considerando un enfoque combinado (bioquímico, químico y físico) para lograr una extracción selectiva y modificación de los compuestos deseados (Baiano, 2014). Las técnicas de extracción tradicionales (extracción Soxhlet, maceración, extracción líquido-líquido, entre otras) continúan aplicándose extensivamente debido a su practicidad y la eficiencia alcanzada. Sin embargo, además de requerir altas temperaturas y tiempos largos para su ejecución, que conlleva a la degradación de compuestos termosensibles, estas técnicas utilizan grandes volúmenes de disolventes orgánicos (metanol, hexano, acetona, cloroformo, etc.) que presentan toxicidad inherente y una alta volatilidad, posibilitando la evaporación de compuestos volátiles a la atmósfera (Paiva *et al.*, 2014).

Entre las opciones disponibles para reducir o sustituir el uso de disolventes orgánicos, destacan los disolventes eutécticos profundos naturales (NaDESs). Estas sustancias exhiben propiedades favorables como volatilidad baja, inflamabilidad nula, alta solubilidad, toxicidad potencial menor, precio asequible, y la posibilidad de sintetizarse a partir de fuentes renovables (Cañadas *et al.*, 2021). Se ha reportado que el uso de NaDES puede aumentar la bioactividad, biodisponibilidad y vida útil de los compuestos fitoquímicos disueltos en el medio, potenciando su aplicación en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética (Hikmawanti *et al.*, 2021).

Asimismo, para contrarrestar las desventajas de los procesos convencionales, se ha evaluado el uso de tecnologías emergentes para asistir el proceso de extracción. El ultrasonido de alta potencia, por ejemplo, facilita la solubilidad de los compuestos de interés en el disolvente, permitiendo reducir la cantidad de disolvente empleado y la duración del proceso (Alara *et al.*, 2021). Hasta ahora, existen varios estudios que evalúan el efecto conjunto del ultrasonido con NaDESs elaborados a partir de compuestos de grado alimenticio, sin embargo, la mayoría de los trabajos considera un enfoque químico, es decir, la afinidad entre compuestos.

Las industrias tienen la responsabilidad social de buscar e implementar estrategias innovadoras, eficientes y amigables con el medio ambiente para satisfacer las necesidades de los consumidores, además de cumplir con las regulaciones legales establecidas. El desarrollo de tecnologías “verdes” y el uso de residuos agroindustriales como materia prima son clave en el desarrollo de proyectos sostenibles.

Bajo este enfoque, una de las operaciones unitarias más aplicadas es la extracción. Este proceso tiene como objetivo brindar el mayor rendimiento de sustancias y la más alta calidad respecto a la concentración de los compuestos de interés y la funcionalidad de los extractos. Una de las formas para mejorar la calidad del producto final es evaluando los parámetros de operación. La optimización permite definir las condiciones que conllevan a los mejores resultados, aprovechando al máximo los recursos disponibles, además de ser crítica para escalar un proceso a nivel industrial.

Se ha reportado que la aplicación de tecnologías no convencionales como el ultrasonido de alta potencia en conjunto con el uso de disolventes eutécticos profundos incrementa la eficiencia de extracción y contribuye a la preservación ambiental al reducir el consumo de energía y la generación de sustancias peligrosas. No obstante, son pocos los estudios enfocados en la caracterización de los NaDESs y en la optimización conjunta del proceso de extracción.

I.ANTECEDENTES

1.1. Lixiviación

La lixiviación, también denominada extracción sólido-líquido, consiste en remover un componente soluble (o grupo de componentes) que forman parte de una matriz sólida, utilizando un disolvente adecuado donde el resto del sólido es inerte. Esta operación unitaria se utiliza para generar una solución concentrada de un material sólido valioso o para eliminar un sólido insoluble (Richardson y Harker, 2002; Seader *et al.*, 2011).

En la lixiviación de materiales solubles del interior de una partícula por acción de un disolvente se identifican los siguientes pasos: el disolvente se transfiere del volumen de solución a la superficie del sólido. Luego, dicho disolvente penetra o se difunde en el sólido. El soluto se disuelve en el disolvente. Entonces, el soluto se difunde a través de la mezcla de sólido y disolvente hasta la superficie de la partícula. Finalmente, el soluto se transfiere a la solución general. La velocidad de difusión del soluto a través del sólido, y la del disolvente hasta la superficie del sólido, suelen ser la resistencia que limita el proceso global de lixiviación (Geankoplis, 2006).

Los equipos industriales para la extracción sólido-líquido están diseñados para el procesamiento por lotes o continuo. El método de contacto de los sólidos con el disolvente puede ser por inmersión del sólido en el disolvente seguida de agitación de la mezcla o por percolación del disolvente a través de un lecho de sólidos. Los sólidos suelen recibir un tratamiento antes de ser introducidos en el equipo de lixiviación, con el fin de asegurar tiempos de operación razonables (Seader *et al.*, 2011).

Las aplicaciones más conocidas de la lixiviación son: recuperación de diversos metales en forma de sales solubles, producción de diversos productos farmacéuticos a partir de hojas, tallos y raíces, extracción de aceite de soya (una fuente de biodiesel) y obtención de azúcar a partir de remolacha (Wankat, 2008).

1.2. Residuos agroindustriales como fuente de compuestos bioactivos

La gran cantidad de residuos vegetales generados por las industrias alimentarias ocasiona serios problemas ambientales, además de provocar pérdidas económicas de no ser gestionados adecuadamente; el desecho indiscriminado de estos subproductos resulta en

la producción de gases de efecto invernadero y la proliferación de organismos patógenos. Debido a ello, las tendencias actuales se enfocan en regular el crecimiento de los residuos, así como valorizar su potencial en el desarrollo de productos novedosos de valor agregado (Freitas *et al.*, 2021; Gupta *et al.*, 2022).

El mango, por ejemplo, es uno de los cultivos más importantes en términos de producción, comercialización y consumo a nivel global. México es el principal exportador de esta fruta, cuya variedad Manila representa una cuarta parte de la producción total nacional de mangos (Soria-Lara *et al.*, 2020). Aunque se utiliza como materia prima en la elaboración de diversos productos comestibles, su formulación no incluye el uso de cáscaras ni semillas debido a sus características sensoriales (Siddiq *et al.*, 2017).

La cáscara del mango, que constituye del 7 al 24 % del peso total de la fruta, es uno de los principales subproductos que se obtiene durante su procesamiento industrial. Este residuo es rico en fibra dietética, lípidos, celulosa, hemicelulosa, proteínas, minerales y pectina (Tabla 1.1). Además, varios estudios han demostrado que contiene un alto contenido de compuestos nutraceuticos (polifenoles, carotenoides, antocianinas, vitaminas C y E, y enzimas), conocidos por sus propiedades funcionales y antioxidantes. El perfil y cantidad de compuestos fitoquímicos varía en función del cultivo, ubicación y condiciones climáticas de la región donde se cultiva, tratamiento postcosecha y estado de maduración (Jahurul *et al.*, 2015; Marcal y Pintado, 2021; Yahia *et al.*, 2023).

Tabla 1.1. Composición nutricional de la cáscara de mango.

Componente		Contenido aproximado por cada 100 g
	Agua (g)	72.5
	Proteínas (g)	3.6
	Lípidos (g)	22.2
	Carbohidratos (g)	28.2
	Fibra dietética total (g)	40–72.5
	Azúcares (g)	25
	C (ácido ascórbico total) (mg)	18–257
	Vitaminas A (equivalente de retinol) (mg)	100
	E (α -tocoferol) (mg)	0.25–0.59
	Calcio (Ca) (mg)	150
Minerales	Hierro (Fe) (mg)	40.6
	Magnesio (Mg) (mg)	100
	Potasio (K) (mg)	75
	Zinc (Zn) (mg)	1.74
	Sodio (Na) (mg)	50
	Cobre (Cu) (mg)	10.4

Adaptado de (Gupta *et al.*, 2022)

1.3. Compuestos fenólicos

1.3.1. Definición y clasificación de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se han estudiado extensivamente debido a su rol preventivo en diversas afecciones relacionadas con estrés oxidativo. Son metabolitos secundarios que las plantas sintetizan para protegerse de diferentes tipos de estrés (radiación ultravioleta, organismos patógenos, especies reactivas de oxígeno, etc.). Su estructura comprende un anillo aromático que contiene uno o más sustituyentes hidroxilo. Se encuentran de forma natural en combinación con mono- y polisacáridos, asociados con uno o más grupos fenólicos. Actualmente, se conocen más de 8000 estructuras de compuestos fenólicos (Vuolo *et al.*, 2019; Yahia *et al.*, 2023). Los compuestos fenólicos entre las plantas pueden clasificarse en lignanos, estilbenos, taninos, ácidos fenólicos y flavonoides.

Los flavonoides se caracterizan por tener una estructura de 15 carbonos dispuestos en tres anillos, en orden C6-C3-C6, etiquetados como A, B y C (Figura 1.1). El anillo C es responsable de la variedad entre estos compuestos; existen seis subgrupos de flavonoides: flavonas, flavononas, flavonoles, flavanoles, antocianinas e isoflavonas.

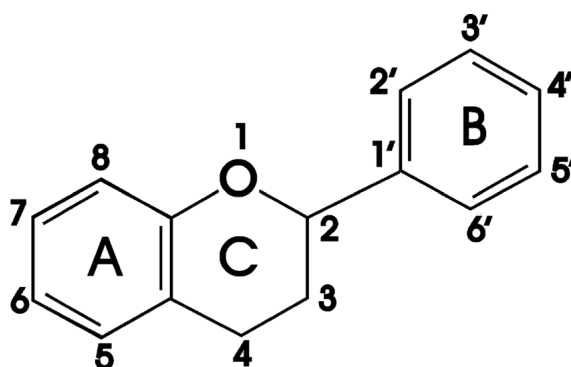


Figura 1.1. Estructura básica de los flavonoides.

Los *flavonoles* son el tipo más común en los alimentos, siendo la miricetina, el kaempferol y la quercetina los más representativos. Tienen un doble enlace entre C2 y C3, una cetona en C4 y un grupo hidroxilo en C3. Las *flavonas* son glucósidos de apigenina y luteolina de fuentes poco conocidas. Se caracterizan por la presencia de un doble enlace entre C2 y C3, y una cetona en C4; varias flavonas tienen grupos hidroxilos en C5 y C7. Las *isoflavonas* existen como fitoestrógenos debido a su afinidad por los receptores de estrógenos. Se diferencian del resto por la posición del anillo bencénico B en C3. La gliciteína, daidzeína y genisteína son las más estudiadas. Las *flavanonas* están glicosiladas principalmente en la posición 7 por un disacárido. Se encuentran como hesperitina en naranjas,

eriodictiol en limones y agliconas naringenina en pomelos. Las *antocianinas* son pigmentos solubles en agua, responsables del color morado, azul y rojo de muchas flores, frutos y tubérculos. Estructuralmente son cationes de flavilio (2-fenilbenzopirilio) con grupos hidroxilo en C3, C5 y C7. Algunos ejemplos son cianidina, delfinidina, peonidina y malvidina. Los *flavanoles* existen como catequinas o proantocianidinas. En estos compuestos, la posición C3 está esterificada con ácido gálico o con un grupo hidroxilo (Alara *et al.*, 2021; Khoo *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2023).

Los taninos contienen un gran número de hidroxilos y otros grupos funcionales. Son compuestos altamente reactivos debido a su capacidad para formar puentes de hidrógeno intra o intermoleculares. Se dividen en dos grupos: hidrolizables y condensados. Los taninos hidrolizables contienen un núcleo central de glucosa en forma esterificada con ácido gálico; los taninos condensados son oligómeros y polímeros de flavanoles, siendo más complejos y uniformes. Por su parte, los ácidos fenólicos se componen de al menos un anillo aromático donde al menos un hidrógeno es sustituido por un grupo hidroxilo. Se clasifican en ácidos hidroxibenzóicos (AHB) y ácidos hidroxicinámicos (AHC). La estructura general de los AHB es C6-C1, mientras que los AHC tienen la forma C6-C3, con un enlace doble del lado de la cadena que puede tener configuración *cis* o *trans* (Vuolo *et al.*, 2019).

La cantidad de estilbenos presentes en la dieta humana es mínima, encontrándose principalmente en forma de resveratrol. Por su parte, los lignanos son fitoestrógenos con actividad estrogénica/antiestrogénica que existen en el cuerpo humano como enterodiol o enterolactona (Alara *et al.*, 2021).

Particularmente, la cáscara de mango contiene ácidos fenólicos, flavonoides y xantonas. En la Tabla 1.2 se enlistan algunos compuestos identificados en este subproducto. Asimismo, se ha detectado ácido gálico, ácido elágico, ácido protocatéquico, ácido clorogénico, ácido ferúlico, rutina, catequina y galato de etilo en diversas variedades (Kaur *et al.*, 2022; Ojeda *et al.*, 2022).

Tabla 1.2. Compuestos fenólicos presentes en la cáscara de mango.

Compuesto	mg/kg material en base seca
Mangiferina	1690.4
Isomangiferina	134.5
Galato de mangiferina	321.9
Galato de isomangiferina	82.0
Quercetina 3-0-galactósido	651.2
Quercetina 3-0-glucósido	557.7
Quercetina 3-0-galactósido	207.3
Quercetina 3-0-xilósido	101.5
Quercetina 3-0-arabinopiranosido	103.6
Quercetina 3-0-ramnósido	20.1
Kaempferol 3-0-glucósido	36.0
Ramnetina 3-0-galactósido/glucósido	94.4
Quercetina	65.3
Compuestos fenólicos totales	4066

de Masibo y He (2009)

1.3.2. Cuantificación de compuestos fenólicos totales (CFT)

La determinación cuantitativa de compuestos fenólicos se ve obstaculizada por su complejidad estructural y gran diversidad. No obstante, se han desarrollado varios métodos para estimar el contenido fenólico de extractos vegetales. El ensayo Folin-Ciocalteu, cuyo principio es la reacción colorimétrica entre el reactivo Folin-Ciocalteu (RFC) y los fenoles, es uno de los más utilizados (Blainski *et al.*, 2013).

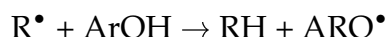
El RFC es una mezcla de fosfomolibdato y fosfowolframato en los que el molibdeno y el wolframio se encuentran en el estado de oxidación +6. Al reaccionar con un reductor, se forma el complejo azul fosfowolfrámico-fosfomolibdeno y el estado de oxidación promedio de los metales se sitúa entre 5 y 6. La absorción máxima de los cromóforos dependerá de la solución alcalina y la concentración de compuestos fenólicos (Agbor *et al.*, 2014; Shi *et al.*, 2022).

Aunque el método de Folin-Ciocalteu es rápido, sencillo y reproducible, presenta una limitación: el RFC no reacciona solamente con los fenoles, sino también con otros compuestos oxidables como el ácido ascórbico, los azúcares reductores y los aminoácidos aromáticos (Malta y Liu, 2014).

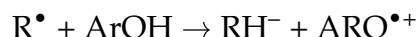
1.3.3. Actividad antioxidante (AA)

Un antioxidante es un compuesto químico de naturaleza orgánica o inorgánica que inhibe, detiene o controla la oxidación de un sustrato. La oxidación de los compuestos se atribuye a la presencia de radicales libres, que corresponden a un átomo o grupo de átomos con uno o más electrones no apareados que existen en forma libre. Una reacción en cadena de radicales libres inicia con la formación de un radical libre. A continuación, el radical libre se propaga, afectando a otras moléculas. Finalmente, durante la reacción de terminación se crean especies neutras o productos no radicales. Aunque es un proceso normal a nivel celular, la formación excesiva de radicales libres provoca un desequilibrio en las rutas bioquímicas, causando estrés oxidativo (Zeb y Zeb, 2021).

Los compuestos fenólicos actúan como antioxidantes naturales, evitando que las biomoléculas (proteínas, ácidos nucleicos, lípidos poliinsaturados y azúcares) sufran daños oxidativos. Se conocen dos mecanismos principales por los que estos compuestos ejercen su capacidad antioxidante: inactivación de radicales libres y transferencia de electrones (Gupta *et al.*, 2022; Vuolo *et al.*, 2019). En el primer mecanismo, el radical libre ($R^{\bullet}$) puede eliminar un átomo de hidrógeno del agente antioxidante ($ArOH$), que se convierte en radical. Cuanto menor sea la energía de disociación en los enlaces $O-H$, más fácil será la reacción de inactivación del radical libre.



En el segundo mecanismo, el compuesto antioxidante puede donar un electrón al radical libre, convirtiéndolo en un radical catiónico. En este caso, cuanto menor sea el potencial de ionización, más fácil será la abstracción de electrones.



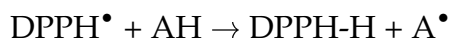
1.3.4. Estimación de la actividad antioxidante

Existen varios métodos *in vitro* para evaluar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos. Los métodos más empleados se basan en una reacción de transferencia de un solo electrón o de átomos de hidrógeno. Las primeras son reacciones de óxido-reducción que presentan variaciones de coloración relacionadas con la concentración de especies antioxidantes en la muestra. Las segundas reacciones se basan en la competencia termodinámica entre sustratos y antioxidantes por el radical hidroxilo y, en consecuencia, la formación de sondas fluorescentes. Cada prueba tiene un objetivo específico dentro de las matrices, presentando ventajas e inconvenientes. Por ello, es común el uso de varios

métodos de comparación en lugar de un enfoque unidimensional. Asimismo, estos estudios no consideran parámetros bioquímicos, metabólicos y fisiológicos (Vuolo *et al.*, 2019; Zeb y Zeb, 2021).

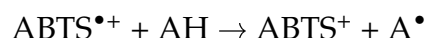
Ensayo DPPH

El compuesto DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) es un radical estable de nitrógeno orgánico que presenta un color púrpura intenso en solución alcohólica y absorción en el rango de 515 a 520 nm. El ensayo DPPH se sustenta en la reducción del DPPH en presencia de un antioxidante donador de hidrógeno, que conlleva a la formación del radical DPPH-H. Al reaccionar, la solución pierde su intensidad y se vuelve amarilla, según el número de electrones transferidos (Gülcin, 2012; Vuolo *et al.*, 2019).



Ensayo ABTS

El ensayo se fundamenta en la capacidad de las moléculas para eliminar el radical libre del ácido 2,2'-acino-bis(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS). Es una técnica que involucra la decoloración de un complejo verde-azulado por efecto de los agentes antioxidantes. El radical ABTS^{•+} es un compuesto cromóforo químicamente estable que tiene un amplio alcance de pH y absorción en el rango de 600 a 750 nm. Debido a que es soluble en medios acuosos y orgánicos, puede emplearse para muestras hidrosolubles y liposolubles (Malta y Liu, 2014; Shi *et al.*, 2022; Vuolo *et al.*, 2019).



1.4. Extracción de compuestos fenólicos

1.4.1. Técnicas de extracción convencionales (EC)

La única forma para separar, purificar, identificar y caracterizar compuestos bioactivos a partir de matrices vegetales es mediante un proceso de extracción efectivo. Dependiendo la naturaleza de las muestras, podrían requerirse técnicas de pretratamiento como secado y molienda. Tras la extracción, se procede al aislamiento y la purificación para obtener los compuestos bioactivos (Sridhar *et al.*, 2021).

Los procesos de extracción convencionales involucran dos etapas: inicialmente, el material que será extraído se sumerge en un disolvente apropiado para hincharlo e hidratarlo.

En seguida, mediante mecanismos de difusión y permeación, los compuestos solubles se desplazan hacia el disolvente (Alexandre *et al.*, 2018). Algunos ejemplos son maceración, decocción, percolación, infusión, digestión y extracción soxhlet. Estas técnicas se sustentan en el poder de extracción de distintos disolventes, y en la aplicación de calor y/o mezclado para incrementar la velocidad de transferencia de masa.

Brevemente, la *maceración* se realiza sumergiendo la matriz vegetal en un disolvente apropiado a temperatura ambiente durante al menos tres días con agitación intermitente; la *decocción* consiste en hervir la materia prima en agua para recuperar los materiales termoestables; el método de *percolación* implica hacer pasar el disolvente a través de la muestra sólida a una velocidad de goteo controlada; la infusión conlleva sumergir el material vegetal en disolvente hirviendo (generalmente agua) y dejar reposar en un recipiente tapado por 15 minutos, tras lo cual el extracto se filtra; la técnica de *digestión* requiere mantener temperaturas moderadas (entre 35 y 40 °C) hasta por 24 horas, agitando la mezcla soluto-disolvente a intervalos regulares; por su parte, durante la *extracción Soxhlet* una bolsa porosa llena de la muestra vegetal se deposita en el compartimiento de la parafernalia. El disolvente se coloca en el matraz inferior. En seguida, el disolvente se calienta y vaporiza en la bolsa que contiene la muestra, se condensa en la parte superior del equipo y vuelve a gotear. La operación se repite hasta alcanzar la saturación (Bitwell *et al.*, 2023; Chuo *et al.*, 2022; Sridhar *et al.*, 2021).

Los métodos convencionales continúan aplicándose debido a su facilidad de operación y funcionamiento consolidado. Sin embargo, presentan varias desventajas como: requieren largos tiempos de operación, consumen grandes cantidades de disolventes, presentan baja selectividad de extracción y el calentamiento prolongado reduce la actividad de compuestos termosensibles (Alara *et al.*, 2021).

1.4.2. Tecnologías emergentes aplicadas en el proceso de extracción

Para afrontar las limitaciones de los procesos convencionales, se han desarrollado nuevas y prometedoras técnicas de extracción. Las tecnologías que se han aplicado incluyen fluidos supercríticos, microondas y ultrasonido. Se ha demostrado que estas alternativas incrementan la recuperación de compuestos fenólicos en un 32–36 %. Además, son técnicas consideradas “verdes” debido a que consumen menor tiempo, energía y disolventes, generando un impacto ambiental menor en comparación con los tratamientos térmicos (Sridhar *et al.*, 2021).

Extracción con fluidos supercríticos

Esta técnica aprovecha la capacidad de ciertas sustancias para transformarse en disolventes afines de un compuesto específico bajo condiciones específicas de presión y temperatura (Carciochi *et al.*, 2017). Un fluido supercrítico supera su presión y temperatura críticas definidas, adquiriendo propiedades tanto de los líquidos (baja tensión superficial, alta densidad) como de los gases (viscosidad reducida, alta difusividad). Por tanto, los fluidos supercríticos se esparcen fácilmente y experimentan una rápida penetración dentro de la matriz sólida, aumentando así la eficiencia de extracción (Pagano *et al.*, 2021). Sin embargo, esta técnica es inadecuada para la extracción de compuestos hidrosolubles. A su vez, la dificultad de limpieza del equipo y su elevado costo impiden una producción rentable (Bitwell *et al.*, 2023).

Extracción asistida con microondas

La energía de microondas es una radiación no ionizante (frecuencia de 300 MHz a 300 GHz) que se utiliza para calentar la mezcla soluto-disolvente. El calor transferido por convección facilita la difusión del disolvente en la muestra, logrando potenciar la cinética de extracción. El principio de esta técnica se sustenta en el efecto directo de las microondas sobre las moléculas por conducción iónica y rotación dipolar (Carciochi *et al.*, 2017). Cuando las microondas calientan el contenido de humedad remanente del interior de la muestra vegetal, induce su evaporación. De este modo, se genera una presión que conlleva al rompimiento de la pared celular desde el interior, liberando así los compuestos bioactivos (Bitwell *et al.*, 2023). Si bien esta tecnología permite incrementar el rendimiento de los fitoquímicos, se ha reportado que puede alterar la estructura química de los compuestos de interés y requerir una mayor cantidad de energía durante el proceso (Okolie *et al.*, 2019; Sridhar *et al.*, 2021).

1.5. Generalidades del ultrasonido

1.5.1. Definición y clasificación del ultrasonido

El ultrasonido es una forma de energía asociada al sonido en frecuencias superiores a las percibidas por el oído humano (>20 kHz). Es un conjunto de ondas de presión que constituye una serie de ciclos de compresión y expansión (rarefacción) capaz de propagarse a través de un medio sólido, líquido o gaseoso, induciendo el desplazamiento y desalojo de las moléculas de sus posiciones originales. Se representa como una serie de

líneas verticales (la intensidad se relaciona con la separación entre líneas) o como una forma de onda sinusoidal (la intensidad se relaciona con la amplitud) (Figura 1.2). La presión máxima se alcanza en la fase de compresión y la mínima durante la fase de rarefacción (Kumar *et al.*, 2021; Lavilla y Bendicho, 2017).

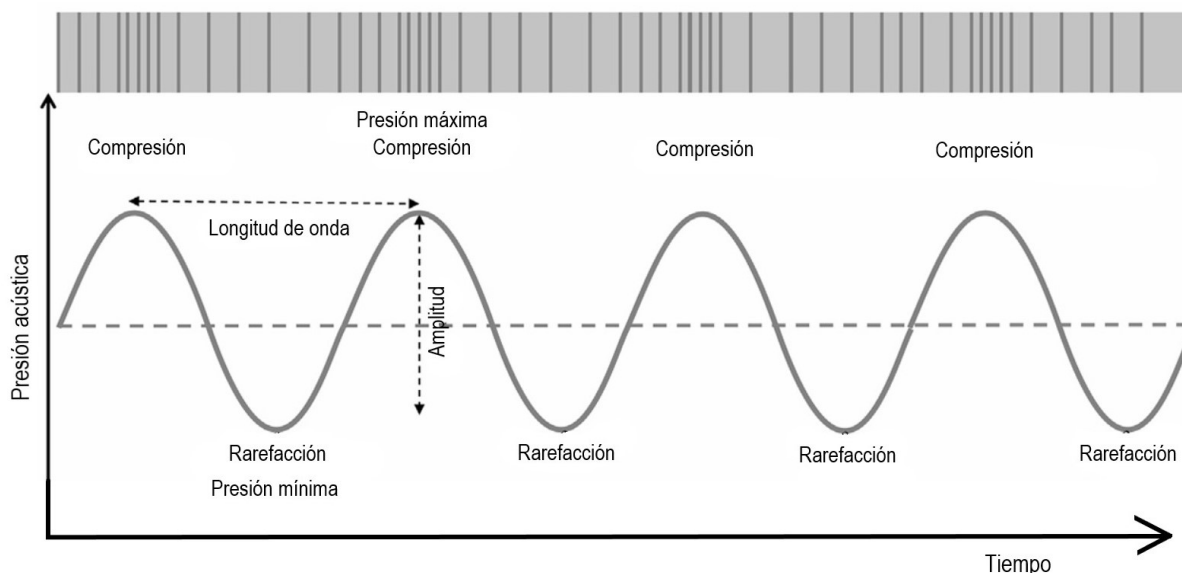


Figura 1.2. Propagación del ultrasonido.
Adaptado de Lavilla y Bendicho (2017)

La fuente de emisión de ultrasonidos suele ser un cuerpo vibratorio cuyo movimiento permite que la onda ultrasónica transfiera energía a otras partículas circundantes. Los principales parámetros físicos que definen la función de los ultrasonidos son: potencia, frecuencia y amplitud. El nivel de energía al que se difunden los ultrasonidos en un medio puede expresarse como potencia ultrasónica (W), intensidad ultrasónica (W/cm^2) o densidad de energía acústica (W/cm^3) (Wen *et al.*, 2018).

Considerando la energía suministrada para inducir el movimiento vibratorio de las moléculas de un medio, los ultrasonidos se clasifican en:

1. Ultrasonidos de baja frecuencia (20–100 kHz) y alta intensidad (10–1000 W/cm^2). Al trabajar con altos niveles de energía se establece una interacción adecuada entre la onda ultrasónica y el medio, afectando las propiedades físicas, mecánicas y/o químicas de los alimentos. También se conocen como ultrasonidos de alta potencia. Son utilizados en diversos procesos industriales tales como: homogeneización, cristalización, extracción, desgasificación, formación de aerosoles y emulsiones, activación química, despolimerización, entre otros (Awad *et al.*, 2012; Lavilla y Bendicho, 2017).

2. Ultrasonidos de alta frecuencia (>100 kHz) y baja intensidad (<1 W/cm²). Bajo estas condiciones no se produce ningún efecto destructivo. Se aplica para caracterizar el medio mediante los cambios que experimenta la onda ultrasónica durante su propagación. Por ejemplo, para garantizar la calidad y seguridad de los alimentos durante su procesamiento y almacenamiento (Awad *et al.*, 2012; Khadhraoui *et al.*, 2021).

1.5.2. Fenómeno de cavitación acústica

Los efectos inducidos por el uso de ultrasonidos en sistemas líquidos se atribuyen al fenómeno de cavitación acústica, relacionado con la formación de burbujas de vapor.

Durante la fase de compresión se ejerce una presión positiva, provocando el acercamiento de las moléculas del medio. Por el contrario, la fase de rarefacción ejerce una presión negativa que las separa. Cuando se aplica ultrasonido con suficiente intensidad, la presión negativa generada en los ciclos de rarefacción supera las fuerzas intermoleculares de atracción, creándose cavidades en el medio líquido. Si la presión negativa supera la fuerza de tensión del líquido, se forman pequeñas burbujas llenas de vapor (nucleación). Al aplicar ultrasonidos de alta potencia, las burbujas crecen rápidamente (expansión) hasta volverse inestables y colapsan (implosionan) violentamente durante la fase de compresión, liberando una gran cantidad de energía (Figura 1.3). Todo ello ocurre en menos de un microsegundo, alcanzándose temperaturas de 5000 K y presiones superiores a 2000 atm. Cuando el colapso cavitacional ocurre cerca de una superficie sólida, se generan microjets y ondas de choque dirigidas hacia dicha superficie, provocando su ruptura (Lavilla y Bendicho, 2017; Perera y Alzahrani, 2021).

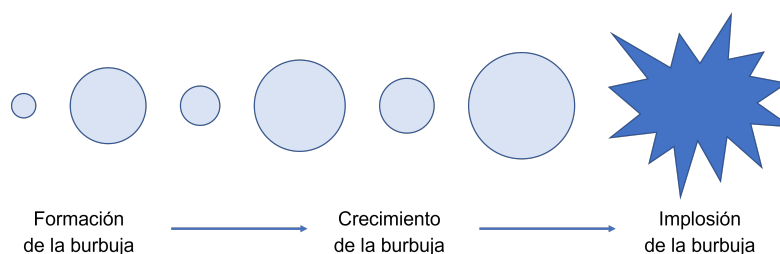


Figura 1.3. Fenómeno de cavitación.
Adaptado de Perera y Alzahrani (2021)

Los parámetros que determinan el alcance de la cavitación son: energía e intensidad suministradas, viscosidad del medio, tensión superficial, presión de vapor, presencia de partículas sólidas, así como la temperatura y la presión del tratamiento (Soria y Villamiel, 2010).

1.6. Extracción asistida con ultrasonido (EAU)

La extracción asistida con ultrasonido se ha utilizado exitosamente para la recuperación de compuestos bioactivos de residuos agroindustriales. Durante este proceso, los fenómenos térmicos, mecánicos y de cavitación asociados con el ultrasonido provocan la ruptura de la pared celular. Esta fragmentación súbita conlleva la solubilización del compuesto bioactivo en el disolvente debido a la reducción del tamaño de partícula, el aumento del área de contacto y las altas tasas de transferencia de masa en la capa límite de la matriz sólida, resultando en un alto rendimiento de extracción (Kumar *et al.*, 2021; Pagano *et al.*, 2021). En la mayoría de los casos, la asistencia con ultrasonido ha permitido mejorar los rendimientos de extracción en un menor tiempo, aumentar la calidad de los productos, reducir el consumo energético y de disolventes, además de simplificar las condiciones de manipulación y trabajo (Carciochi *et al.*, 2017).

1.6.1. Mecanismos inducidos por el ultrasonido

Diversos estudios han reportado que la asistencia con ultrasonido favorece la transferencia de masa en un proceso de extracción. De acuerdo con Chemat *et al.* (2017), esta mejora se produce debido a la acción conjunta o independiente de diferentes mecanismos derivados de la cavitación, concretamente: fragmentación, erosión, efecto sonocapilar, sonoporación, esfuerzo cortante local y detexturación.

La *fragmentación* se atribuye a las colisiones entre partículas y las ondas de choque procedentes del colapso cavitacional. De este modo, se reduce el tamaño de las partículas y aumenta la superficie de contacto. La *erosión* corresponde al daño en la superficie de las estructuras vegetales. En consecuencia, mejora la accesibilidad del disolvente a la muestra. El *efecto sonocapilar* promueve la penetración del disolvente entre los canales y poros del material vegetal, influyendo positivamente en la desorción y difusión del soluto. La *sonoporación* implica perforar la membrana celular con el fin de aumentar su permeabilidad, facilitando así la liberación de contenido celular en el medio. El *esfuerzo cortante local* es resultado de la oscilación y el colapso de las burbujas de cavitación dentro del disolvente y en la cercanía del material sólido. Las fuerzas de cizallamiento y turbulencias generadas al interior del líquido conllevan efectos de flujo y microflujo acústico. Por último, la *detexturización* involucra la alteración y destrucción de las estructuras celulares (Chemat *et al.*, 2017; Martínez-Ramos *et al.*, 2020).

1.6.2. Factores que influyen en la EAU de compuestos bioactivos

La extracción asistida con ultrasonido resulta afectada por diversas variables que deben considerarse para obtener el mayor beneficio posible. Dichas variables se relacionan con el sistema ultrasónico, el procesamiento de la materia prima, los parámetros de operación y la naturaleza de los compuestos bioactivos de interés (Lavilla y Bendicho, 2017). A continuación, se describen las variables más estudiadas:

1.6.2.1. Parámetros acústicos

- **Potencia ultrasónica.** El rendimiento de la EAU mejora con el incremento de la potencia suministrada y luego disminuye tras alcanzar un valor pico. Esta tendencia se atribuye al colapso cavitacional producido. El tamaño de las burbujas de cavitación es proporcional a la potencia de la onda ultrasónica y, conforme aumenta su tamaño, aumenta su impacto en la implosión (Kumar *et al.*, 2021).
- **Frecuencia.** Una alta frecuencia reduce el efecto de la cavitación debido a que las alternancias entre los ciclos de compresión y rarefacción suceden más rápido, afectando la formación y el desarrollo de burbujas de cavitación (Chemat *et al.*, 2017).
- **Intensidad.** Este parámetro se relaciona con la amplitud de la onda sonora y se define como la energía transmitida a través del área receptora por unidad de tiempo. La intensidad debe superar un valor umbral para inducir la cavitación. Aunque el colapso de las burbujas se intensifica con el aumento de la intensidad, un aumento excesivo implica una transmisión deficiente de los ultrasonidos a través del medio (Chemat *et al.*, 2017).
- **Dispositivo ultrasónico.** En general, la EAU se realiza a nivel laboratorio utilizando un baño o una probeta, que contienen un transductor piezoeléctrico como fuente de energía ultrasónica. En el baño ultrasónico, un recipiente que contiene el soluto y el disolvente se coloca dentro de un tanque de acero inoxidable conectado al transductor (sonicación indirecta). Es un sistema económico y fácil de manejar. Por el contrario, la probeta se sumerge en el recipiente de extracción y emite ultrasonidos a través del medio con una pérdida de energía mínima. La energía suministrada se concentra en una zona específica de la muestra, favoreciendo el efecto de la cavitación (Kumar *et al.*, 2021).

1.6.2.2. Parámetros del sistema de extracción

- Relación sólido-líquido (RSL). Una relación baja conlleva un medio altamente viscoso. En consecuencia, el efecto de cavitación disminuye debido a que la presión generada en el ciclo de rarefacción debe superar la fuerza de cohesión que existe en el medio. Al aumentar la RSL se reduce la viscosidad y la concentración del medio de extracción, mejorando así la difusividad y disolución del soluto en el disolvente. Una RSL alta favorece los mecanismos de fragmentación, erosión y sonoporcación y, por consiguiente, se incrementa el rendimiento de extracción. En contraste, la intensificación excesiva del efecto de cavitación conduce a la degradación de los compuestos bioactivos (Kumar *et al.*, 2021).
- Tamaño de partícula. Cuanto menor es el tamaño, mayor es el área de contacto entre el soluto y el disolvente y, en consecuencia, menor es la distancia en la que el soluto debe difundirse. Sin embargo, un material demasiado fino podría impedir la circulación del disolvente y dificultar la separación del residuo sólido (Richardson y Harker, 2002).
- Tiempo. Un periodo de sonicación adecuado debe potenciar los mecanismos relacionados con la cavitación. Mientras que un tiempo corto puede implicar una extracción incompleta, la exposición prolongada puede generar reacciones indeseables y reducir la selectividad de extracción (Lavilla y Bendicho, 2017).
- Temperatura. Al elevar la temperatura se incrementa la capacidad de solubilidad y desorción del soluto, mientras se reduce la viscosidad y tensión superficial del disolvente. No obstante, el aumento desmesurado de temperatura disminuye el rendimiento de extracción debido a que perjudica el efecto de cavitación y promueve la degradación de compuestos termosensibles (Kumar *et al.*, 2021; Sridhar *et al.*, 2021).
- Disolvente. La selección del disolvente se realiza con base en su afinidad química con el soluto. Asimismo, se consideran ciertas propiedades fisicoquímicas, entre ellas: polaridad, tensión superficial, viscosidad, presión de vapor y toxicidad. En general, para la extracción de grasas, aceites y compuestos bioactivos se utilizan disolventes polares como metanol, etanol, hexano, acetona y cloroformo en estado puro o bajo diferente composición molecular. Entre ellos, el etanol destaca por su baja toxicidad y biodegradabilidad (Esclapez *et al.*, 2011; Yusoff *et al.*, 2022).

1.6.3. Optimización del proceso

Debido al gran número de variables que intervienen en la EAU, es importante mantener un buen equilibrio para obtener el máximo rendimiento y una mayor concentración de extracto. En este sentido, el diseño experimental suele utilizarse para optimizar el proceso, lo cual representa un punto esencial para escalar un proceso a nivel industrial.

La modelación numérica ha demostrado ser eficaz para reducir el tiempo y los costos de operación al evitar la producción mediante prueba y error. Esta herramienta abarca modelos analíticos, estadísticos, cinéticos, de metodología de superficies de respuesta (MSR), de redes neuronales, entre otros. En particular, la MSR es un conjunto de métodos matemáticos y estadísticos desarrollados para modelar procesos y encontrar combinaciones de una serie de factores experimentales (variables) que conlleven respuestas óptimas sin considerar los fenómenos reales que rigen el proceso estudiado (Roselló-Soto *et al.*, 2015).

La MSR se ha aplicado en la EAU para describir las relaciones entre las variables independientes (potencia, frecuencia, relación sólido-líquido, temperatura) y la variables respuesta (rendimiento de extracción, actividad antioxidante), así como sus interacciones. El diseño Box-Behnken y el diseño compuestos central rotatable son las MSR más utilizadas para estudiar y optimizar las variables del proceso de extracción. En menor medida, se han reportado diseños experimentales factoriales 2^2 (dos factores y dos niveles) y 3^2 (dos factores y tres niveles) (Kumar *et al.*, 2021).

1.7. Disolventes eutécticos profundos (DESs)

1.7.1. Definición

Un sistema eutéctico representa una mezcla de compuestos que, en función de proporciones específicas, tienen el punto de fusión más bajo (Figura 1.4). Estos compuestos interactúan mediante fuerzas intermoleculares, pero no por medio de enlaces covalentes o iónicos (Liu *et al.*, 2018). Aquellas mezclas que aspiren a emplearse como disolvente deben cubrir ciertas características: (a) el punto eutéctico debe ser mucho más bajo que el punto de fusión de sus componentes individuales, así como el previsto para una mezcla líquida ideal; (b) el punto eutéctico depende de la composición molar de la muestra y (c) debe permanecer en estado líquido a temperatura ambiente (Santana-Mayor *et al.*, 2021).

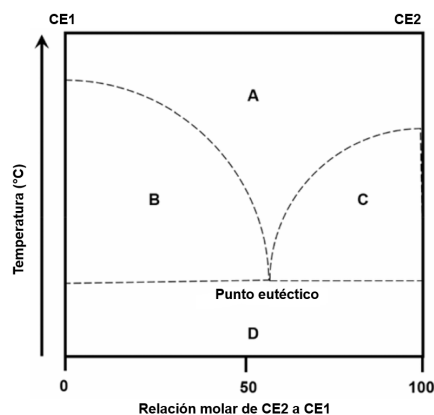


Figura 1.4. Representación esquemática de un punto eutéctico en un diagrama de fases de dos componentes.

Así, los disolventes eutécticos profundos (DESs, por sus siglas en inglés Deep Eutectic Solvents) se constituyen de al menos dos sustancias, un aceptor de enlaces de hidrógeno (HBA) y un donador de enlaces de hidrógeno (HBD), que a una composición determinada presentan un punto de fusión inferior al de cualquiera de sus componentes. Las interacciones que se establecen entre ambos elementos dan lugar a nuevos disolventes caracterizados por tener naturaleza dipolar, baja presión de vapor, gran capacidad de disolución, además de ser ininflamables y térmicamente estables (Cañadas *et al.*, 2021; Santana-Mayor *et al.*, 2021).

1.7.2. Disolventes eutécticos profundos naturales (NaDESs)

Cuando los compuestos que forman los DES son metabolitos primarios (derivados de colina, aminoácidos, ácidos orgánicos o azúcares) se denominan disolventes eutécticos profundos naturales (NaDESs, por sus siglas en inglés Natural Deep Eutectic Solvents). Se designan naturales porque varios estudios han señalado que sirven como fase líquida para solubilizar, almacenar o transportar metabolitos no solubles en agua en células y organismos vivos (Ruesgas-Ramón *et al.*, 2017).

Los NaDESs pueden agruparse en: (1) NaDESs tipo líquido iónico, conformados por un ácido y una base, (2) NaDESs neutros, preparados únicamente con azúcares o azúcares y polialcoholes, (3) NaDESs neutros con ácidos, elaborados a partir de azúcar/polialcohol y ácidos orgánicos, (4) NaDESs neutros con bases, se sintetizan mediante el uso de azúcar/polialcohol y bases orgánicas y (5) NaDESs a base de aminoácidos, conformados por un aminoácido y ácidos orgánicos o azúcares (Hikmawanti *et al.*, 2021). Particularmente, se ha demostrado que los NaDESs elaborados a base de azúcares proveen una eficiencia de extracción alta en diferentes biomásas con baja toxicidad. Las moléculas más utilizadas

para su formación son glucosa, sacarosa y fructosa (Koh *et al.*, 2023). Para incrementar la formación de enlaces de hidrógeno, el ácido cítrico es un HBD compatible debido al gran número de grupos -COOH que contiene en comparación con otros ácidos orgánicos. Por su origen natural, los disolventes sintetizados a partir de estos compuestos pueden incorporarse directamente en fórmulas alimentarias sin pasos adicionales de purificación (Savi *et al.*, 2019).

Los NaDESs pueden sintetizarse de tres formas diferentes, aplicando algunas modificaciones según la naturaleza de los compuestos: (a) método de calentamiento y agitación, donde los componentes se colocan en un frasco cerrado, se agitan a una temperatura determinada hasta la formación de un líquido claro; (b) método de evaporación, en el que los compuestos se disuelven en agua, la solución se evapora a 50°C y el líquido obtenido se deposita en un desecador hasta alcanzar un peso constante, y (c) método de liofilización (Liu *et al.*, 2018; Ruesgas-Ramón *et al.*, 2017). Los NaDESs más utilizados se consideran disolventes “verdes” debido a su alta biocompatibilidad y biodegradabilidad, baja toxicidad, así como bajo costo (con respecto a disolventes orgánicos complejos) y gran disponibilidad de materia prima, dando lugar a más de un millón de posibles combinaciones.

1.7.3. Propiedades fisicoquímicas de los NaDESs

El uso de NaDESs conlleva la posibilidad de adecuar sus propiedades fisicoquímicas mediante la adición de agua, el ajuste de la relación molar entre el HBA y HBD y/o la modificación de la temperatura. Las propiedades fisicoquímicas de los disolventes desempeñan un rol importante en la capacidad de extracción de compuestos bioactivos (Koh *et al.*, 2023). En tal sentido, algunas de las propiedades más estudiadas son: viscosidad, densidad, pH, conductividad y polaridad.

- Viscosidad. La viscosidad describe la velocidad de deformación de un fluido cuando se le aplica un esfuerzo cortante (White, 2004). En comparación con los disolventes convencionales, la viscosidad de los NaDESs oscila entre 5 y 6175 cP debido a la presencia de una amplia red de enlaces de hidrógeno entre cada precursor y, en menor medida, a las interacciones electrostáticas y de Van der Waals (Benvenuti *et al.*, 2019; Gabriele *et al.*, 2019). De esta forma, entre mayor sea la cantidad de grupos hidroxilos presentes en el HBD, aumentará el número de enlaces de hidrógeno y, con ello, la viscosidad del NaDESs. Una viscosidad alta ralentizará la transferencia de masa y el proceso de disolución, además de aumentar el costo de bombeo si se requiere aplicar (Koh *et al.*, 2023).

- **Densidad.** La densidad de un fluido corresponde a su masa por unidad de volumen. Generalmente los NaDESs presentan densidades superiores a la del agua (1 g/cm^3), variando en función de la disposición molecular dentro del NaDES. Este comportamiento se ha explicado a partir de la teoría “de los agujeros”, según la cual se reduce el espacio entre las moléculas al formarse el NaDES, volviéndolos más viscosos y densos que sus precursores (Singh *et al.*, 2021).
- **pH.** El pH varía en función de la acidez relativa de los precursores utilizados. En este sentido, los NaDESs preparados a base de azúcares (glucosa y fructosa) presentan una acidez neutra o baja en comparación con los NaDESs elaborados a base de ácidos orgánicos. El pH es un factor importante durante la selección de un disolvente para evitar cualquier reacción química indeseable en el medio. Además, un NaDES respetuoso con el medio ambiente debe presentar un pH de 0 a 7 para que su desecho sea seguro (Hansen *et al.*, 2020; Koh *et al.*, 2023).
- **Conductividad.** Esta propiedad cuantifica la facilidad con la que un material conduce el flujo de iones, resultando interesante en aplicaciones de sistemas de energía (Singh *et al.*, 2021). La conductividad de los NaDESs es inversamente proporcional a la viscosidad, es decir, una viscosidad baja conlleva una conductividad alta. Sin embargo, puede modificarse en función del contenido de agua y la temperatura (Koh *et al.*, 2023).
- **Polaridad.** Generalmente, cuanto mayores sean las interacciones intermoleculares, mayor será la polaridad. Por ello, esta propiedad depende en gran medida de los enlaces de hidrógeno presentes en la mezcla eutéctica. La polaridad de los NaDESs está asociada con su capacidad de extracción y miscibilidad, así, los NaDESs con una polaridad cercana a la de los compuestos de interés tendrán una mejor selección durante el proceso de extracción (Koh *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2018).

1.7.4. Análisis espectroscópicos aplicados en NaDESs

Además de su caracterización fisicoquímica, resulta importante evaluar los NaDESs mediante el uso de técnicas espectroscópicas para determinar y comprender las interacciones que suceden a nivel molecular durante su formación y aplicación como medio de extracción. Particularmente, los espectros infrarrojo y micro-Raman proveen información complementaria sobre los grupos funcionales que conforman la mezcla eutéctica.

FTIR

La región infrarroja (IR) del espectro electromagnético comprende radiación con número de onda que varía entre 12800 y 10 cm^{-1} . La espectroscopía IR estudia la interacción entre la radiación IR y el analito. Si la frecuencia de la radiación coincide exactamente con la frecuencia de vibración natural del analito, tiene lugar la absorción de la radiación, lo cual origina un cambio en la amplitud de la vibración molecular. Dicho cambio puede relacionarse con un enlace concreto. Se distinguen dos categorías básicas de vibraciones: de estiramiento y de flexión. En una vibración de estiramiento existe un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. En cambio, una vibración de flexión se caracteriza por un cambio en el ángulo entre dos enlaces y son de cuatro tipos: de tijereteo, balanceo, aleteo y torsión (Griffiths y de Haseth, 2007; Skoog *et al.*, 2008). En el estudio de los NaDESs se utiliza principalmente para determinar cómo cambian y se ajustan las estructuras moleculares de los precursores al mezclarlos en distintas composiciones (Hansen *et al.*, 2020).

Micro-Raman

Los espectros Raman se obtienen al irradiar una muestra con una fuente potente de rayos láser de radiación monocromática visible o infrarroja. La dispersión Raman es resultado de la interacción de los fotones con la nube de electrones de la molécula. Aunque la mayor parte de la luz dispersa permanece sin cambios en su longitud de onda (*Rayleigh*), pueden presentarse procesos de dispersión inelásticos, que conducen a la emisión de luz con una longitud de onda más corta (*desplazamiento Stokes*) o más larga (*desplazamiento anti-Stokes*). Los desplazamientos dependen de la polarización de la molécula, pues debe generarse un cambio en la polarización dipolar-eléctrica (Krysa *et al.*, 2022; Skoog *et al.*, 2008). Además de facilitar la identificación de compuestos presentes en los NaDESs, esta técnica permite verificar indirectamente la existencia de complejos supramoleculares que donan enlaces de hidrógeno, ya que brinda información sobre los desplazamientos químicos relacionados a la formación y disolución de enlaces de este tipo (Hansen *et al.*, 2020).

1.7.5. Aplicaciones de los NaDESs

A pesar de su alta viscosidad, los NaDESs se han utilizado para generar materiales a nanoescala, extraer ADN, biocatalisis, desulfurar productos de los combustibles, capturar dióxido de carbono, desarrollar técnicas cromatográficas, almacenar energía electroquímica, electrodeposición solubilizar medicamentos y en la conversión de biomasa (Duan *et al.*, 2016; Prabhune y Dey, 2023).

De acuerdo con Castro-Muñoz *et al.* (2023), en la industria de los alimentos los NaDESs se han aplicado principalmente para extraer compuestos indeseados (principalmente metales pesados y pesticidas), desarrollar formulaciones alimentarias, analizar y determinar analitos específicos en muestras de alimentos, fabricar nuevos materiales de empaque y extraer compuestos bioactivos de diversas matrices vegetales.

1.8. Uso de NaDESs en la extracción asistida con ultrasonido de compuestos fenólicos

Diversos autores han estudiado el uso de ultrasonidos de alta potencia en conjunto con NaDESs para la extracción de compuestos bioactivos presentes en diversas matrices vegetales (Tabla 1.3).

Tabla 1.3. Estudios reportados de EAU de compuestos fenólicos presentes en residuos agroindustriales mediante el uso de NaDESs.

Materia prima	NaDES elegido (Relación molar)	Condiciones de extracción			Autor
		RSL (p/v)	T (°C)	t (min)	
Hojas de olivo	Ácido cítrico, glicina y agua (2:1:1)	1:4	35	1440	Zurob et al. (2020)
Cáscara de uva	Cloruro de colina y ácido oxálico (1:1) con 25 % de agua	1:10	65	50	Bubalo et al. (2016)
Orujo de manzana	Cloruro de colina en combinación con glicerol (1:2), ácido láctico (1:3) y ácido cítrico (1:1) con 30 % de agua	1:30	40	40	Rashid et al. (2023)
Cáscara de mango (cv Alphonso)	Ácido láctico y glucosa (5:1) con 20 % agua	1:30	30±2	30	Lanjekar et al. (2022)

Zurob *et al.* (2020) prepararon diferentes NaDESs (cuatro a base de azúcares y cuatro a base de ácidos orgánicos) para la EAU de hidroxitirosol (HT) presente en hojas de olivo. Las extracciones se realizaron considerando una relación sólido-líquido de 1:4 durante 24 horas. Sus resultados mostraron que la mezcla eutéctica ácido cítrico:glicina:agua (2:1:1) conllevó la extracción de 87 ppm de HT, un valor cuatro veces superior a los obtenidos

con agua, que es el disolvente convencional más utilizado para la recuperación de este compuesto.

Asimismo, Bubalo *et al.* (2016) evaluaron la aplicación de DES en conjunto con técnicas de extracción asistidas con microondas y ultrasonido. Inicialmente analizaron la efectividad de cinco DESs preparados a base de cloruro de colina y determinaron que la mezcla cloruro de colina y ácido oxálico con 25 % de agua es un medio favorable para la obtención de compuestos fenólicos presentes en cáscara de uva. Asimismo, reportaron que la EAU demostró ser una técnica favorable en comparación con la extracción convencional y asistida con microondas.

Por su parte, Rashid *et al.* (2023) encontraron que el cloruro de colina en combinación con glicerol (1:2), ácido láctico (1:3) y ácido cítrico (1:1) conlleva una mayor obtención de compuestos bioactivos presentes en orujo de manzana mediante EAU. Además, evaluaron dichos disolventes para optimizar los parámetros de extracción, reportando que el mayor contenido de CFT se alcanzó utilizando 40 minutos de sonicación, 40 °C de temperatura, 30 % de contenido de agua (v/v), 83.2 W/cm² de intensidad acústica, 75 % de ciclo de trabajo y una relación sólido-líquido de 1:30.

A su vez, Lanjekar *et al.* (2022) optimizaron las variables de proceso de EAU en conjunto con NaDESs para la obtención de CFT y flavonoides presentes en cáscara de mango (cv Alphonso). En primera instancia, los autores evaluaron diferentes NaDESs y determinaron que se obtiene un mayor contenido de compuestos bioactivos al utilizar la mezcla ácido láctico-glucosa (5:1). Posteriormente, las condiciones de extracción óptimas reportadas fueron 20 % de contenido de agua, 50 % de ciclo de trabajo, 2 W/cm³ de densidad acústica, relación sólido-líquido de 1:30 (p/v), 0.3 mm de tamaño de partícula y 30 minutos de sonicación. A partir de estas condiciones se extrajeron 69.85 mg GAE/g de muestra seca y 16.5 mg equivalentes de quercetina/g de muestra seca.

Aunque se han realizados diversos estudios enfocados al uso de NaDES la EAU, la mayoría de ellos evalúan el proceso sin determinar las condiciones de tiempo y temperaturas óptimas. La optimización con base en estos parámetros podría conllevar la reducción del consumo energético así como a la obtención de extractos con elevada actividad antioxidante. De esta forma, el presente trabajo encontró como área de oportunidad estudiar el uso de un NaDES conformado por precursores de grado alimenticio en la EAU de compuestos fenólicos presentes en cáscara de mango manila.

II.OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1. Objetivo general

Estudiar el comportamiento de un disolvente eutéctico profundo natural conformado por ácido cítrico y fructosa durante la extracción asistida con ultrasonido de compuestos fenólicos a partir de cáscara de mango (*Mangifera indica* L. cv Manila).

2.2. Objetivos específicos

1. Evaluar el disolvente eutéctico profundo natural con base en sus propiedades físico-químicas y su capacidad para extraer compuestos fenólicos.
2. Optimizar las condiciones del proceso de extracción convencional y asistido con ultrasonido utilizando etanol como disolvente de comparación.
3. Identificar y cuantificar mediante técnicas espectroscópicas los compuestos fenólicos presentes en los extractos obtenidos de forma convencional y con la asistencia del ultrasonido.

2.3. Hipótesis

La aplicación de un disolvente eutéctico profundo natural durante un proceso de extracción asistido con ultrasonido favorecerá la obtención de compuestos fenólicos totales a partir de cáscara de mango manila.

III.METODOLOGÍA

3.1. Plan de trabajo

El proceso de extracción asistido con ultrasonido resulta afectado por diversos factores. Para determinar las condiciones de operación que favorecen una mayor recuperación de compuestos fenólicos, además de una actividad antioxidante elevada, se estudió la interacción de algunas variables como son el tipo de disolvente, temperatura y tiempo de extracción, bajo la asistencia de ultrasonido y utilizando como referencia un proceso de extracción convencional por agitación.

Con base en los objetivos planteados, se estableció un plan de trabajo conformado por una sección preliminar y tres etapas subsiguientes (Figura 3.1). En la sección preliminar se realizó la estabilización de la materia prima, así como la puesta en marcha de los equipos y las técnicas previstas. La primera etapa consistió en la síntesis, caracterización y elección del NaDES conformado por los precursores ácido cítrico y fructosa a diferentes proporciones de agua, con la finalidad de modificar la viscosidad del NaDES para mejorar la extracción. Se midieron sus propiedades fisicoquímicas y se evaluaron a través de espectroscopía FTIR y micro-Raman para determinar la formación del NaDES en presencia de agua. Posteriormente, se realizaron extracciones por agitación convencional para cuantificar los CFT y su AA, todo ello para realizar una elección de un NaDES a utilizar en la siguiente etapa. Con el fin de optimizar el proceso de extracción aplicando el NaDES seleccionado anteriormente, en la segunda etapa se evaluó la influencia e interacción de la temperatura, tiempo y aplicación de ultrasonido de alta intensidad en la obtención de CFT y su AA utilizando etanol como disolvente de referencia. Finalmente, en la tercera etapa se identificaron y cuantificaron dos tipos de compuestos fenólicos (quercetina y ácido gálico) en los extractos óptimos empleando las técnicas espectroscópicas de HPLC y micro-Raman. Cada etapa se describe a continuación.

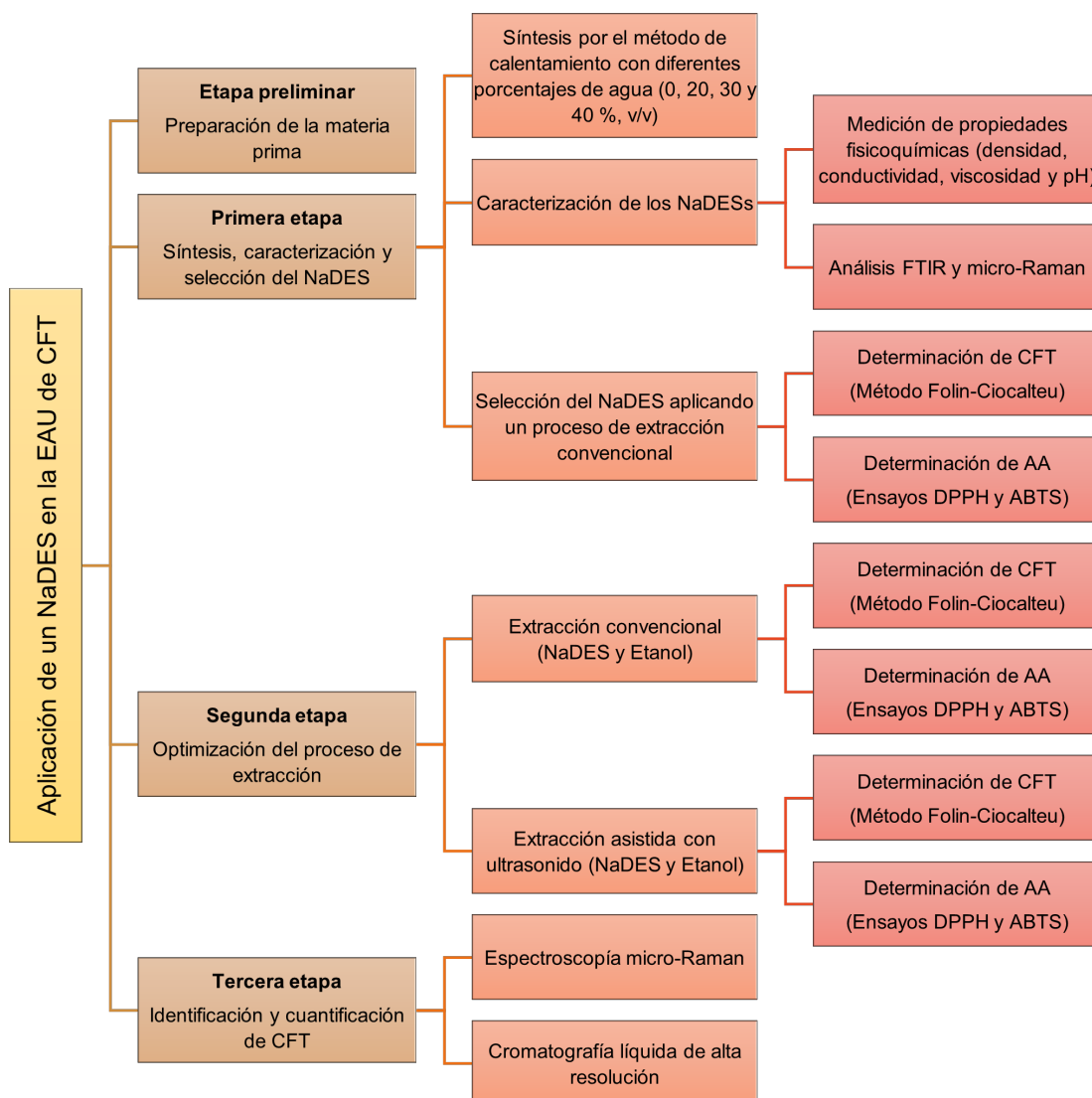


Figura 3.1. Plan de trabajo.

3.2. Reactivos y estándares

Los reactivos Folin–Ciocalteu, 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), Ácido 2,2'-acino-bis(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS), los estándares ácido gálico, (S)-Trolox metil éter, quercetina y el metanol grado HPLC se adquirieron de la marca Sigma–Aldrich. Se utilizó carbonato de sodio y persulfato de potasio de la marca JT Baker. La fructosa corresponde a la marca Ensign y el ácido cítrico a Ingredion, ambos de grado alimenticio. Los ácidos fosfórico y acético glacial pertenecen a las marcas Golden Bell y Química Mercurio, respectivamente. El resto de los compuestos empleados se adquirieron de la marca Meyer.

3.3. Preparación de la materia prima

Las muestras de mango (*Mangifera indica* L. cv Manila) se adquirieron en un mercado local de la Ciudad de Puebla, cuidando que no presentaran deterioro físico y/o microbiológico. Después de lavar la fruta y remover la pulpa, las cáscaras de mango fueron deshidratadas hasta alcanzar un peso constante en un horno de flujo convectivo (H-41, RIOSSA, México) a una temperatura de 60 °C, con el fin de evitar la pérdida de compuestos de interés. Las cáscaras deshidratadas se pulverizaron utilizando un molino de cuchillas y, posteriormente, se homogeneizó el tamaño de partícula con un tamiz de 0.5 mm. La materia prima se conservó en oscuridad y a temperatura ambiente hasta su respectivo uso en la etapa de extracción.

3.4. Síntesis de los NaDESs

El NaDES fue sintetizado aplicando el método de calentamiento y agitación (Ruesgas-Ramón *et al.*, 2017). En un vaso de precipitados se colocó fructosa (F) como HBD y ácido cítrico (AC) como HBA en relación molar 1:1, es decir, 0.9377 g de fructosa por cada gramo de ácido cítrico (Dai *et al.*, 2013). Se utilizó una parrilla de calentamiento (SP88854100, Thermo Scientific Digital, EE. UU.) para controlar la temperatura (60 °C) y mantener la mezcla bajo agitación (de 200 a 400 rpm) hasta la formación de un fluido blanquizco viscoso. Por último, se agregaron diferentes porcentajes de agua (20, 30 y 40 % (v/v)) para reducir la viscosidad de la mezcla (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Preparación de diferentes sistemas NaDES.

Acrónimo	Precusores		Relación molar	Contenido de agua (v/v)	Fracción másica		
	HBD	HBA			F	AC	Agua
NaDES-0				0 %	0.484	0.516	–
NaDES-20	Fructosa	Ácido cítrico	1:1	20 %	0.412	0.439	0.149
NaDES-30				30 %	0.372	0.397	0.231
NaDES-40				40 %	0.329	0.352	0.319

3.5. Caracterización fisicoquímica de los NaDESs

Para estudiar la influencia del contenido de agua en el NaDES y su efecto en el proceso de extracción, se determinaron las propiedades fisicoquímicas de viscosidad, densidad,

pH y conductividad. Todas las mediciones se realizaron por triplicado a 25 ± 2 °C. Las técnicas empleadas se describen a continuación.

Viscosidad

La viscosidad de los NaDES se determinó utilizando un viscosímetro digital rotacional (VE-8S, CScientific, México) con una aguja estándar LV1, aplicando una velocidad rotacional de 60 rpm (Ojeda *et al.*, 2023). Los resultados se expresan en centipoises (cP).

Densidad

Para calcular la densidad de los NaDES se aplicó un método gravimétrico sencillo empleando un volumen calibrado. Los resultados se expresan en g/cm^3 .

pH

La acidez de las muestras se determinó empleando un potenciómetro de mesa (Starter 3100, OAHUS, EE. UU.).

Conductividad

La conductividad se registró utilizando un conductímetro (Orion Star A325, Thermo Scientific, EE. UU.). Los resultados se expresan en mS/cm .

3.6. Procesos de extracción

Se estudió el proceso de extracción con y sin la aplicación de ultrasonido variando los factores temperatura y tiempo de extracción. A partir de la información previamente revisada en la literatura, se estableció el siguiente dominio experimental para cada factor.

- Temperatura. Se ha reportado que la eficiencia de extracción mejora considerablemente al incrementar la temperatura. Por ello, se estableció un rango de temperatura de forma que no se alcancen valores que promuevan la degradación de los compuestos fenólicos ($20, 40$ y 60 ± 2 °C) (Dorta *et al.*, 2012).
- Tiempo de extracción. Se eligieron tres tiempos de extracción (10, 20 y 30 min) considerando que, después de cierto periodo, cuando se alcanza el equilibrio entre el soluto y el disolvente, la extracción se detiene (Rashid *et al.*, 2023).

La extracción de compuestos fenólicos presentes en cáscara de mango manila se realizó mediante el método convencional y asistido con ultrasonido, con base en las metodologías descritas por Lim *et al.* (2019); Safdar *et al.* (2017); Zampar *et al.* (2022). Además del NaDES, se utilizó etanol absoluto como disolvente de referencia. Cada extracción se realizó manejando una relación soluto:disolvente de 1:20 (p/v), específicamente, 100 mL de etanol para 5 g de muestra de cáscara de mango y 40 mL de NaDES para 2 g de cáscara de mango. Todas las extracciones fueron realizadas por triplicado.

3.6.1. Método de extracción convencional (EC)

La muestra y el disolvente (etanol o NaDES) fueron depositadas en un vaso de precipitados envuelto con papel aluminio. Se utilizó una parrilla de calentamiento (*SP88854100, Thermo Scientific Digital, EE. UU.*) para controlar la temperatura de la mezcla y mantener bajo agitación magnética constante de 1000 rpm. Al terminar el proceso, los extractos fueron centrifugados (*SOLBAT C-40, México*) a 3500 rpm durante 30 minutos. El sobrenadante fue almacenado en frascos ámbar a 4 ± 2 °C hasta su posterior análisis.

3.6.2. Extracción asistida con ultrasonido (EAU)

La muestra y el disolvente fueron colocados en un matraz. El matraz fue colocado dentro de un baño ultrasónico (*8893, CIVEQ, México*; 350W, 40 kHz) trabajando a su máxima potencia. La temperatura de extracción fue controlada con un baño recirculador a los valores establecidos. Posteriormente, el extracto se obtuvo por centrifugación y para el almacenamiento se utilizaron las mismas condiciones descritas en el método de extracción convencional.

3.6.3. Optimización del proceso de extracción

Para optimizar el proceso de extracción se evaluó la interacción entre las variables temperatura (x_1) y tiempo de extracción (x_2) sobre las variables respuesta CFT y AA (y). Como se indica en la Tabla 3.2, se utilizó un diseño experimental factorial 3^2 (dos factores y tres niveles) y se ajustó con un modelo de regresión cuadrática (3.1). Este diseño fue aplicado para cada uno de los disolventes empleados.

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 \quad (3.1)$$

Tabla 3.2. Factores y niveles del diseño experimental.

Variables independientes	Niveles codificados		
	-1	0	1
Tiempo [min] (x_1)	10	20	30
Temperatura [°C] (x_2)	20	40	60

3.7. Análisis cuantitativos

3.7.1. Determinación de compuestos fenólicos totales (CFT)

Se utilizó el método colorimétrico Folin-Ciocalteu para determinar el contenido fenólico total (Kaur *et al.*, 2022; Safdar *et al.*, 2017). En un tubo de ensayo se agregaron 100 μ L de extracto, 200 μ L de reactivo Folin-Ciocalteu y 2 mL de agua destilada. Luego de tres minutos de reposo, se añadió 1 mL de carbonato de sodio al 20 %. La mezcla se agitó y se dejó reposar en la oscuridad durante una hora a temperatura ambiente. Finalmente, se midió la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro (*Thermo Scientific GENESYS 10S Series UV-Vis, EE. UU.*).

Para cuantificar los compuestos fenólicos se realizó una curva de calibración de ácido gálico preparando soluciones entre el rango de 50 a 250 ppm. Los resultados se expresan en mg GAE/100 g muestra seca. Cada extracto se analizó por triplicado.

3.7.2. Determinación de la actividad antioxidante (AA)

3.7.2.1. Ensayo DPPH

Esta técnica se realizó con base en la metodología reportada por Lanjekar *et al.* (2022); Lim *et al.* (2019) con algunas modificaciones. Para generar el radical DPPH se disolvieron 4 mg del compuesto DPPH en 100 mL de etanol y se dejó en reposo durante 30 minutos. Para cuantificar la actividad antioxidante, se mezclaron 1.5 mL del radical preparado con 1.5 mL de extracto en un tubo de ensayo. Después de 30 minutos de reacción en la oscuridad y a temperatura ambiente, se leyó la absorbancia a 515 nm. Los resultados se expresan en mg TROLOX/100 g muestra seca. Cada extracto se analizó por triplicado.

3.7.2.2. Ensayo ABTS

El ensayo ABTS se realizó a partir de las técnicas descritas por Castañeda-Valbuena *et al.* (2021); Rojas *et al.* (2015). Para obtener el radical ABTS se preparó una solución de 7 mM de ABTS y posteriormente se agregó persulfato de potasio a una concentración de 2.45

mM. Se dejó reaccionar en la oscuridad durante 18 horas y a temperatura ambiente. El radical formado se diluyó en etanol hasta obtener un valor de absorbancia de 0.700 ± 0.100 a 734 nm. En seguida, se mezclaron 100 μL de extracto con 900 μL de radical diluido y se leyó su absorbancia a la misma longitud de onda. Los resultados se expresan en mg TROLOX/100 g de muestra seca. Cada extracto se analizó por triplicado.

3.7.3. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Se empleó un sistema HPLC Agilent serie 1260 Infinity (*Agilent Technologies, USA*) equipado con muestreador automático (G1329B), una bomba cuaternaria integrada con desgasificador (G1311B), un compartimiento de columna con termostato (G1316A) y un detector de arreglo de diodos (DAD) (G4212B). La separación se realizó en una columna Hypersil ODS C18 (4 $\times$ 250 mm de diámetro interno, tamaño de partícula de 5 μm , *Thermo Scientific, Lituania*).

Se obtuvieron curvas de calibración en el rango de 5 a 50 ppm para los estándares disponibles con base en metodologías previamente reportadas con algunas modificaciones (Barrón-García *et al.*, 2022; Ranjbari *et al.*, 2012). La fase móvil empleada para la quercetina fue metanol (A) y 0.3 % de ácido fosfórico en agua (B) en relación isocrática 95 % A: 5 % B, fijando la longitud de onda a 370 nm. Para el ácido gálico se utilizó acetonitrilo (A) y 0.1 % de ácido acético en agua (B) en relación isocrática 90 % A: 10 % B, detectándose a 280 nm. En ambos casos, se programó un flujo de elución de 1 mL/min.

3.8. Análisis cualitativos

3.8.1. FTIR

Los NaDES y sus precursores se evaluaron mediante FTIR utilizando el espectrómetro (VERTEX 70v, *Bruker, Alemania*) con el fin de identificar la formación y/o desplazamiento de grupos funcionales. Todas las muestras se escanearon en el rango de 4000–400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} (Airouyuwa *et al.*, 2022).

3.8.2. Espectroscopía micro-Raman

Se utilizó espectroscopía Micro-Raman para analizar los NaDES, los precursores y los extractos óptimos. El espectrómetro (*Jobin Yvon LabRAM HR, HORIBA, Japón*) está equipado con laser de Helio Neon (632.8 nm), resoluciones espacial y espectral máximas de 6

μm y 0.5 cm^{-1} , respectivamente, un detector CCD enfriado termoeléctricamente, un microscopio óptico (10, 50 y 100X) (*Olympus BX41*) y una videocámara para enfoque.

3.9. Análisis estadístico

Los resultados se expresan como el promedio $\pm$ desviación estándar. El diseño experimental, el análisis de regresión y el método de superficie de respuesta se establecieron con el software Statistica®. Asimismo, se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) y el valor p para definir los coeficientes de regresión lineal, cuadrática y de interacción individual.

IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización y elección del NaDES

4.1.1. Elección del NaDES

La elección del NaDES empleado para optimizar los procesos de extracción se realizó con base en su afinidad con los compuestos fenólicos presentes en la cáscara de mango. Para ello, los NaDESs con diferentes porcentajes de agua se evaluaron en un proceso de extracción convencional por agitación, fijando las variables tiempo (30 minutos) y temperatura (40 ± 2 °C). Posteriormente, se determinó la cantidad de CFT de los extractos por medio del método Folin-Ciocalteu, así como su actividad antioxidante (AA) mediante los ensayos DPPH y ABTS, descritos en el apartado 2.7.2. En la Tabla 4.1 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 4.1. Determinación de CFT y AA de los NaDESs a diferentes porcentaje de agua.

NaDESs	CFT (mg GAE/100 g m.s.)	DPPH (mg TROLOX/100 g m. s.)	ABTS (mg TROLOX/100 g m. s.)
NaDES-0	–	–	–
NaDES-20	4900.85 ± 120.05^b	185.013 ± 2.002^b	1022.13 ± 3.63^b
NaDES-30	4456.65 ± 212.356^a	184.050 ± 3.199^b	1024.47 ± 4.85^b
NaDES-40	6525.80 ± 214.35^c	161.338 ± 1.480^a	998.08 ± 2.89^a

Los resultados muestran los promedios $\pm$ desviación estándar (n=3). Diferentes letras en una misma columna indican diferencias significativas para cada variable respuesta mediante la prueba Tukey ($p < 0.05$).

Para el NaDES-0 no se obtuvieron resultados en los ensayos colorimétricos debido a su alta viscosidad. No obstante, se observa que el NaDES-40 confiere el mayor contenido de CFT ($p < 0.05$). Estos resultados concuerdan con la información reportada por (Pal y Jadeja, 2020), quienes mencionan que la adición de agua reduce considerablemente la viscosidad y la tensión superficial del NaDES, favoreciendo la transferencia de masa y con ello el rendimiento de extracción.

Los resultados son similares con el trabajo realizado por Rashid *et al.* (2023) para estudiar el efecto de tres NaDESs preparados a base de cloruro de colina en la extracción de CFT presentes en orujo de manzana. Los autores evaluaron diferentes porcentajes de agua (de 10 a 50 %), determinando que la adición de un 30 % de agua conlleva un ma-

por rendimiento de extracción. En contraparte, Lanjekar *et al.* (2022) al evaluar la mezcla ácido láctico: glucosa (5:1) con diferentes porcentajes de agua (0, 10, 20, 30 y 40 %) documentaron que la adición de un 20 % de agua (v/v) resulta un medio de extracción óptimo para obtener CFT presentes en cáscara de mango (cv Alphonso) mediante EAU. Estos autores atribuyeron los resultados a una mejora en la transferencia de masa derivada de la disminución de la viscosidad y, por tanto, un aumento de la solubilidad de los compuestos fenólicos en el NaDES. La discrepancia entre los resultados del presente trabajo y los reportados por dichos autores se atribuye a la diferente relación molar utilizada (1:1).

Con respecto a la AA, se observa que el NaDES-40 obtuvo significativamente los menores resultados ($p<0.05$) para ambos ensayos. No obstante, en comparación con los resultados obtenidos por Martínez-Ramos *et al.* (2020) a partir del uso de disolventes orgánicos (etanol, hexano y acetona) en estado puro y mezclas, el uso del NaDES-40 aumenta el orden de magnitud de la AA conseguida.

4.1.2. Caracterización de los NaDESs

4.1.2.1. Propiedades fisicoquímicas

En la Tabla 4.2 se presentan las propiedades fisicoquímicas calculadas para los NaDESs con diferentes porcentajes de agua a 25 ± 2 °C.

Tabla 4.2. Propiedades fisicoquímicas de los NaDESs a diferentes porcentajes de agua a 25 ± 2 °C.

NaDESs	Viscosidad (cP)	Densidad (g/cm ³)	Conductividad (mS/cm)	pH
NaDES-0	4355.80 $\pm$ 237.5 ^d	1.424 $\pm$ 0.010 ^d	1.8433 $\pm$ 0.0306 ^d	1.827 $\pm$ 0.015 ^d
NaDES-20	207.73 $\pm$ 0.321 ^c	1.377 $\pm$ 0.003 ^c	0.1534 $\pm$ 0.0002 ^a	0.566 $\pm$ 0.005 ^a
NaDES-30	49.73 $\pm$ 0.251 ^b	1.331 $\pm$ 0.002 ^b	0.4368 $\pm$ 0.0003 ^b	0.786 $\pm$ 0.005 ^b
NaDES-40	19.80 $\pm$ 0.100 ^a	1.282 $\pm$ 0.041 ^a	0.9666 $\pm$ 0.0004 ^c	0.970 $\pm$ 0.010 ^c

Los resultados muestran los promedios $\pm$ desviación estándar ($n=3$). Diferentes letras en una misma columna indican diferencias significativas para cada propiedad fisicoquímica mediante la prueba Tukey ($p<0.05$).

Se observa que conforme incrementa el porcentaje de agua agregado, los valores de viscosidad y densidad disminuyen (4355.80 $\pm$ 237.5-19.80 $\pm$ 0.100 cP y 1.424 $\pm$ 0.010-1.282 $\pm$ 0.041 g/cm³, respectivamente). Por el contrario, se percibe que las propiedades de conductividad y pH presentan valores iniciales altos (1.8433 $\pm$ 0.0306 mS/cm y 1.827 $\pm$ 0.015, respectivamente), los cuales disminuyen al añadir 20 % de agua a la mezcla y posteriormente

aumentan de manera proporcional al contenido de agua. El análisis estadístico indica que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los diferentes NaDESs para las propiedades de pH, conductividad y densidad.

Con relación a la viscosidad se conoce que, en comparación con los disolventes convencionales, la mayoría de los NaDESs presenta alta viscosidad (>100 cP) a temperatura ambiente, pudiendo perjudicar la transferencia de masa y, por ende, la eficiencia de extracción. Sin embargo, esta propiedad puede ajustarse mediante la adición de agua y el cambio de la temperatura. Al agregar agua se interviene en la interacción entre el HBA y el HBD. No obstante, para evitar que el sistema actúe como solución, se recomienda trabajar con un límite máximo del 50 % de fracción molar de agua (Cannavacciuolo *et al.*, 2022; Coscarella *et al.*, 2023). Aunque se han reportado valores de viscosidad con diferentes órdenes de magnitud en función de los precursores y la relación molar aplicados, la mayoría de los estudios reportan una tendencia a disminuir al agregar cierto contenido de agua. Por ejemplo, Gómez *et al.* (2019) observaron dicha tendencia para el sistema ácido cítrico-fructosa-agua (relación molar 1:1:2) en función del porcentaje de agua contenido. Sus valores fueron desde 125.1 cP con 20 % de agua hasta 12.3 cP con 40 % de agua. La discrepancia de resultados entre el trabajo presente y el reportado por los autores se atribuye a las diferentes relaciones molares de partida con que se trabajan. Cabe destacar que la viscosidad se relaciona con los grupos hidroxilo presentes en los NaDESs, por ello, los NaDESs elaborados a base de azúcares presentan una viscosidad más elevada que el resto (Koh *et al.*, 2023).

A su vez, la densidad es una propiedad crítica que afecta la transferencia de masa. Esta propiedad también puede manipularse alterando la temperatura y el contenido de agua (Hayyan *et al.*, 2013). La densidad de los NaDESs analizados en el presente trabajo ($>1.424 \pm 0.010$ g/cm³) fue superior a la del agua (1 g/cm³). Se presentó un comportamiento similar al observado por Gómez *et al.* (2019) para la mezcla de ácido cítrico y fructosa. Los autores registran una densidad inicial de 1.428 g/cm³, la cual disminuyó hasta 1.238 g/cm³ al agregar un 40 % de agua (v/v). De acuerdo con Santana *et al.* (2019), al añadir agua a la mezcla eutéctica se observa que se debilitan las interacciones electrostáticas, de enlace de hidrógeno y de Van der Waals entre los componentes, provocando una reducción de la densidad.

Por otro lado, los valores registrados para la conductividad ($<1.8433 \pm 0.0306$ mS/cm) se encuentran dentro del rango definido por Mitar *et al.* (2019) que abarca desde 0.02 hasta 2.48 mS/cm para los NaDES elaborados a base de glucosa. De acuerdo con los autores, la conductividad depende de los iones disponibles en el medio, así como de su distribución y valencia. La mayoría de los NaDES presentan conductividades iónicas inferiores a

2 mS/cm a temperatura ambiente a causa de su elevada viscosidad. Asimismo, esta propiedad fisicoquímica aumenta al incorporar agua debido a que favorece la movilidad de los electrones y de los iones libres (Koh *et al.*, 2023).

Finalmente, el pH del NaDES-0 fue de 1.827 ± 0.015 . Este valor se atribuye a la presencia del ácido cítrico (pH 3–6) que posiblemente se disoció al interactuar con la fructosa. En cuanto al NaDES-40, se infiere que al agregar más agua el ácido cítrico (ácido débil) reacciona y vuelve a disociarse, aumentando la concentración de iones H^+ y, en consecuencia, el valor de pH disminuye hasta 0.970 ± 0.010 . Whitten *et al.* (2014) establecen que los ácidos débiles se ionizan menos del 5 %. En este sentido, todas las mezclas con diferentes porcentajes de agua se encuentran disociadas. Sin embargo, debido a que el ácido cítrico tiene un límite de disociación por su naturaleza débil, la adición de agua conduce a un aumento en el volumen y a la reducción de la concentración de los iones H^+ , tal y como lo declara Koh *et al.* (2023). Una tendencia similar fue reportada por Mitar *et al.* (2019), quienes registraron un aumento del pH desde 0.41 (10 % de agua) hasta 0.76 (50 % de agua) para la mezcla de ácido málico y glucosa.

4.1.2.2. Análisis por FTIR

Los NaDESs y sus precursores fueron analizados mediante espectroscopía FTIR para determinar las interacciones intermoleculares entre los grupos funcionales del HBA y el HBD, así como para evaluar la formación del NaDES en presencia de diferentes porcentajes de agua. En las Figuras 4.1 y 4.2 se presentan la estructura molecular de los precursores y los espectros de infrarrojo obtenidos, respectivamente.

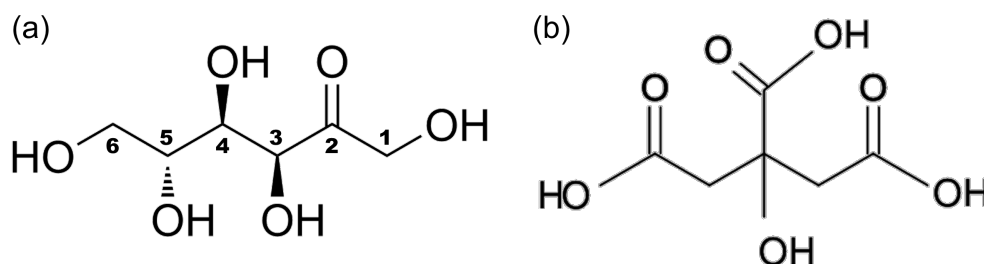


Figura 4.1. Estructura molecular de la fructosa (a) y el ácido cítrico (b).

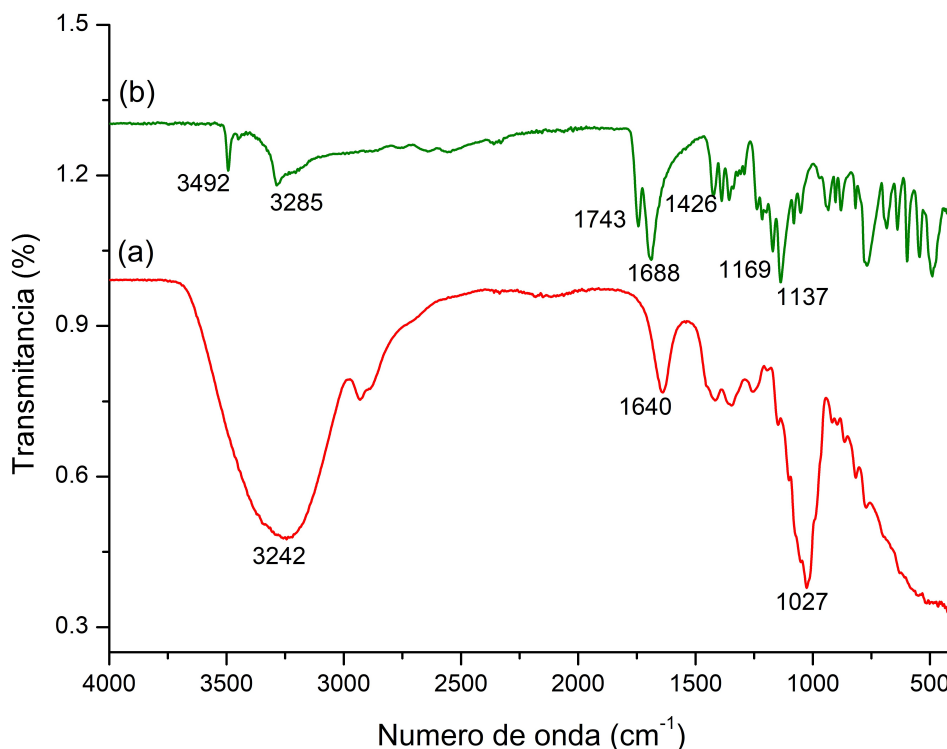


Figura 4.2. Espectros FTIR de fructosa (a) y ácido cítrico (b).

El espectro infrarrojo de la fructosa presenta una banda ancha en 3242 cm^{-1} asociada a las vibraciones de estiramientos del O-H, indicando que la fructosa contiene agua. El pico definido en 1640 cm^{-1} se atribuye a la presencia de vibraciones de estiramientos debido al grupo carbonilo C=O (Dhaulaniya *et al.*, 2020). Las señales localizadas cerca de 1400 cm^{-1} se asignan a las vibraciones de deformación C-C-H y C-O-H (Jurić *et al.*, 2021). Asimismo, se detectó una banda intensa en 1027 cm^{-1} , correspondiente a la flexión C-O y al estiramiento C-OH (Wang *et al.*, 2010).

Por otro lado, en el espectro FTIR del ácido cítrico se observa una señal en 3492 cm^{-1} correspondiente al estiramiento de los grupos -OH libres de la molécula, mientras que el pico ancho en 3285 cm^{-1} se atribuye al enlace O-H. Los estiramientos C-O-H y C=O se observan en 1743 cm^{-1} y 1688 cm^{-1} , respectivamente. La flexión del grupo OH se presenta en 1426 cm^{-1} . De igual forma, el estiramiento C-O se localiza en 1169 cm^{-1} y 1137 cm^{-1} (Macasoi *et al.*, 2021; Santana *et al.*, 2019).

En la Figura 4.3 se presentan los espectros de los NaDES preparados con diferentes porcentajes en volumen de agua añadida.

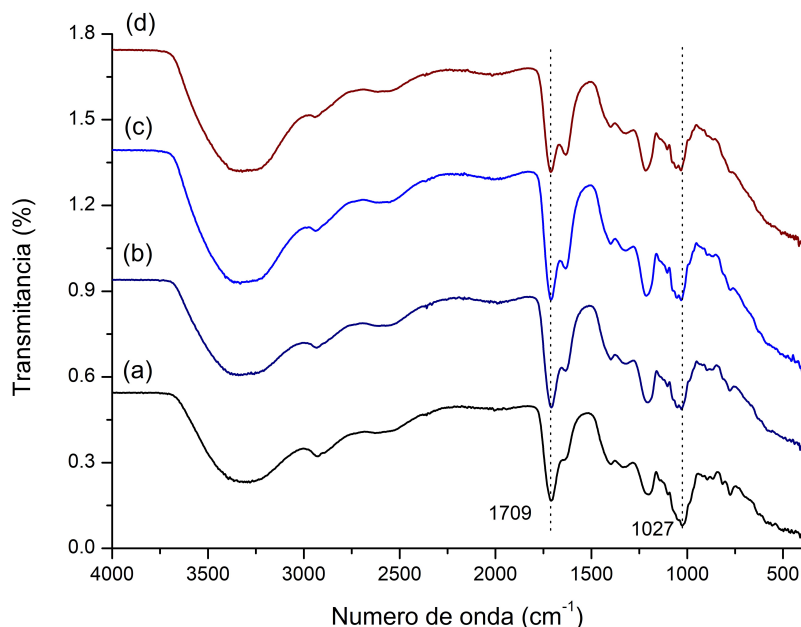


Figura 4.3. Espectros FTIR del NaDES-0 (a), NaDES-20 (b), NaDES-30 (c) y NaDES-40 (d).

El espectro del NaDES-0 presenta algunas señales características de sus constituyentes con ligeras diferencias. Se distingue una banda más ancha entre el rango de 3500-3000 cm^{-1} , que indica la formación de nuevos enlaces de hidrógeno entre los precursores (Aïrouyuwa *et al.*, 2022). De acuerdo con el estudio teórico realizado por Pisano *et al.* (2018), las interacciones de enlace de hidrógeno que se producen son: entre el hidrógeno del grupo carboxilo del ácido cítrico y el oxígeno unido al C-4 de la fructosa, entre el hidrógeno del grupo hidroxilo del C-5 de la fructosa y el oxígeno del grupo carbonilo del ácido cítrico, y entre el hidrógeno del grupo hidroxilo del C-1 de la fructosa y el oxígeno del otro grupo carbonilo del ácido cítrico. La señal que corresponde al estiramiento C=O se desplaza de 1640 cm^{-1} hacia 1709 cm^{-1} . Este cambio sugiere un aumento de la densidad electrónica del oxígeno en el grupo carbonilo, que podría atribuirse a la formación de enlaces de hidrógeno en el medio (Santana *et al.*, 2019).

Asimismo, se observa que el pico característico de la fructosa en 1027 cm^{-1} se mantiene. Zhan *et al.* (2023) reportaron el espectro FTIR para la mezcla sacarosa-ácido cítrico en relación molar 1:1. En comparación con el espectro del NaDES preparado para este proyecto, se aprecia un comportamiento de formación similar.

Los espectros de los NaDESs con diferentes porcentajes de agua advierten que la adición del agua no influye drásticamente en la estructura del disolvente, tan solo ensancha la señal en el rango de 3700 cm^{-1} a 2900 cm^{-1} de forma proporcional.

4.1.2.3. Análisis por micro-Raman

En la Figura 4.4 se presentan los espectros micro-Raman obtenidos para la fructosa y los NaDESs con diferentes porcentajes de agua (20, 30 y 40 %, v/v).

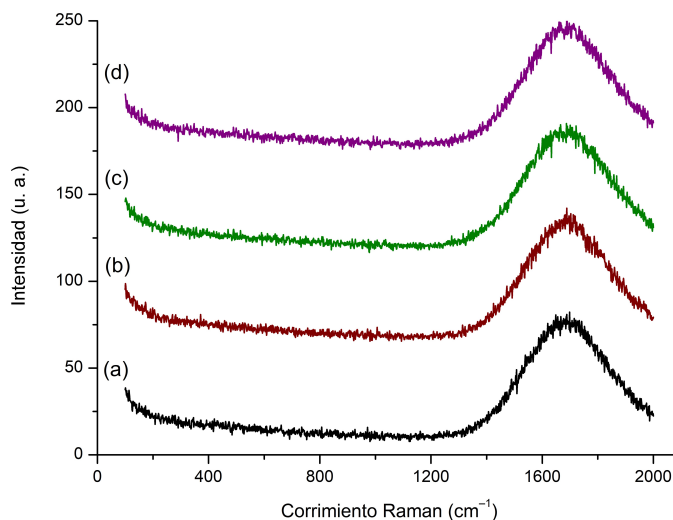


Figura 4.4. Espectros micro-Raman de fructosa (a), NaDES-20 (b), NaDES-30 (c) y NaDES-40 (d).

En todos los espectros se observa una banda extensa y ancha alrededor de 1687 cm^{-1} . Dumouilla y Dussap (2021) detectaron una señal semejante para diferentes monosacáridos en disolución acuosa, la cual fue asignada a la flexión H–O–H. El parecido entre los espectros infiere que el agua añadida no conlleva un cambio estructural significativo del NaDES y la formación de las bandas se asocia a la presencia de enlaces O–H.

Con base en los resultados obtenidos a partir de la caracterización de los NaDESs se deduce que la adición de diferentes porcentajes de agua no altera la estructura química del NaDESs pero sí modifica sus propiedades fisicoquímicas.

De manera particular, las propiedades fisicoquímica del NaDES-40 podrían ser adecuadas para emplearse en la EAU de CFT. La densidad ($1.282 \pm 0.041\text{ g/cm}^3$) y viscosidad ($19.80 \pm 0.100\text{ cP}$) del NaDES-40 podrían favorecer la solubilidad de los compuestos fenólicos y, en consecuencia, aumentar la transferencia de masa. No obstante, el pH (0.970 ± 0.010) podría conllevar un cambio químico dentro del sistema de extracción. Por su parte, las pruebas espectroscópicas sugieren que los NaDESs sintetizados con diferentes porcentajes de agua no corresponden a una disolución, sino a una mezcla eutéctica de los precursores. Considerando lo anterior, se eligió el NaDES-40 para aplicarse en la siguiente etapa orientada a evaluar y optimizar los procesos de extracción.

4.2. Optimización del proceso de extracción

Una vez seleccionado el NaDES-40 con base en sus propiedades fisicoquímicas y su análisis espectroscópico, se realizó la optimización de la extracción bajo un ambiente acústico. Para ello se llevaron a cabo extracciones con asistencia de ultrasonido (100 %) y sin ella (0 %). La optimización se aplicó estableciendo como variables respuesta el CFT y la AA, y definiendo como factores independientes el tiempo (x_1) y la temperatura de extracción (x_2).

4.2.1. Compuestos Fenólicos Totales (CFT)

Se cuantificó el CFT y la AA del NaDES-40 para determinar su efecto en los ensayos colorimétricos antes de aplicarse en los procesos de extracción. El resultado obtenido a partir del método Folin-Ciocalteu fue de 34.274 ± 1.95 mg GAE/100 g muestra seca, mientras que para la AA se registraron 9.98 ± 0.022 mg TROLOX/100 g muestra seca y 9.0833 ± 0.722 mg TROLOX/100 g muestra seca con base en los ensayos DPPH y ABTS, respectivamente. Se observó que el NaDES-40 por sí solo presenta una contribución antioxidante baja, corroborando así que los resultados obtenidos posteriormente no se asocian al efecto del NaDES-40 sino a los CFT recuperados.

La Tabla 4.3 presenta los resultados de los CFT obtenidos de la extracción con etanol y NaDES-40 en presencia (100 %) y ausencia (0 %) de ultrasonido a diferentes temperaturas y tiempos de operación con base en el diseño de experimentos establecido en el apartado 3.6.4.

Tabla 4.3. Diseño de experimentos y CFT en la extracción con etanol y NaDES-40 con (100 %) y sin ultrasonido (0 %).

Experimento	Factores		Potencia ultrasónica (%)	CFT (mg GAE/100 g muestra seca)	
	x_1	x_2		Etanol	NaDES-40
1	-1	-1	0	1708.58±14.25 ^a	4946.13±170.91 ^b
			100	3648.77±41.97 ^b	3950.36±195.03 ^a
2	0	-1	0	1698.14±134.75 ^a	4642.68±155.78 ^b
			100	4027.21±158.01 ^b	4042.57±208.49 ^a
3	1	-1	0	1718.37±23.85 ^a	5058.94±222.57 ^b
			100	3622.85±78.11 ^b	4536.30±95.54 ^a
4	-1	0	0	3761.58±170.11 ^b	5545.88±118.12 ^a
			100	3398.67±20.45 ^a	5235.14±218.05 ^a
5	0	0	0	3555.22±140.73 ^a	6208.49±48.35 ^a
			100	3414.30±50.00 ^a	5813.16±313.95 ^a
6	1	0	0	3747.90±181.27 ^b	6561.42±153.64 ^b
			100	3422.26±34.40 ^a	4739.67±180.96 ^a
7	-1	1	0	3724.36±140.57 ^a	6392.40±320.34 ^a
			100	3895.76±54.30 ^a	5712.96±55.77 ^a
8	0	1	0	3605.13±181.14 ^a	6490.33±429.38 ^a
			100	3891.97±44.90 ^a	6334.63±357.44 ^a
9	1	1	0	3692.65±129.81 ^a	6631.40±269.18 ^b
			100	3821.85±93.38 ^a	5255.15±116.83 ^a

Los resultados muestran los promedios±desviación estándar (n=3). Diferentes letras para un solo experimento indican diferencias significativas entre las técnicas de extracción (EC (0 %) y EAU (100 %)) mediante la prueba Tukey ($p<0.05$). x_1 : tiempo, x_2 : temperatura.

4.2.1.1. Extracción de CFT con etanol y su optimización

Con relación a los resultados de CFT registrados para el uso de etanol, en la Tabla 4.3 se muestra que el mayor CFT obtenido mediante EC y EAU fue de 3761.58±170.11 mg GAE/100 g muestra seca (40±2 °C, 10 minutos) y 4027.21±158.01 mg GAE/100 g muestra seca (20±2 °C, 20 minutos), respectivamente.

En los experimentos 1, 2 y 3 se obtuvo una alta cantidad de CFT cuando se aplicó el ultrasonido ($p<0.05$). La EAU combina el fenómeno de la cavitación acústica y las propiedades de los disolventes para potenciar la obtención de compuestos bioactivos. La energía ultrasónica promueve la formación, el crecimiento y el colapso inmediato de burbujas de cavitación, generando condiciones de presión y temperatura extremas. De este modo, se favorece la penetración del disolvente en la muestra, provocando la disrupción de la pared celular y con ello la liberación de los compuestos de interés (Pagano *et al.*, 2021).

Los resultados indican que la asistencia con ultrasonidos conlleva una extracción relativamente superior de CFT en menor tiempo y a temperaturas moderadas. En consecuencia, se podría reducir el consumo energético.

Por otra parte, en los experimentos 4 y 6 se observa que la EC conlleva una mayor obtención de CFT en comparación con la EAU. Este incremento se atribuye a la temperatura de extracción aplicada (40 ± 2 °C). De acuerdo con Sridhar *et al.* (2021), el aumento de la temperatura en el proceso de extracción reduce la viscosidad y la tensión superficial del etanol, lo cual incrementa la transferencia de masa y mejora la solubilidad de los CFT.

Con respecto a los experimentos 5, 7, 8 y 9 no se observan diferencias significativas ($p < 0.05$) en función de la técnica utilizada. Estos resultados podrían inferirse a dos fenómenos. Por un lado, de acuerdo con la segunda ley de Fick, después de cierto tiempo se alcanza un equilibrio entre las concentraciones de soluto en el disolvente y la matriz sólida (Silva *et al.*, 2007). Asimismo, una temperatura excesiva promueve la degradación de compuestos termosensibles y, en el caso de la EAU, se reduce la intensidad de colapso de burbujas de cavitación, además de provocar un efecto de sonólisis, que implica la oxidación de los compuestos fenólicos (Chuo *et al.*, 2022; Martínez-Ramos *et al.*, 2020). Dichos experimentos se realizaron aplicando tiempos prolongados y temperaturas elevadas.

Una vez analizados los resultados, se realizó la optimización del proceso de extracción. La Figura 4.5 muestra en un gráfico de superficie de respuesta la influencia de la interacción entre la temperatura y el tiempo de operación sobre el contenido de CFT recuperado mediante EC (4.5A) y EAU (4.5C). Además, se presentan los ajustes entre los valores experimentales y pronosticados para los CFT (4.5B y 4.5D para EC y EAU, respectivamente).

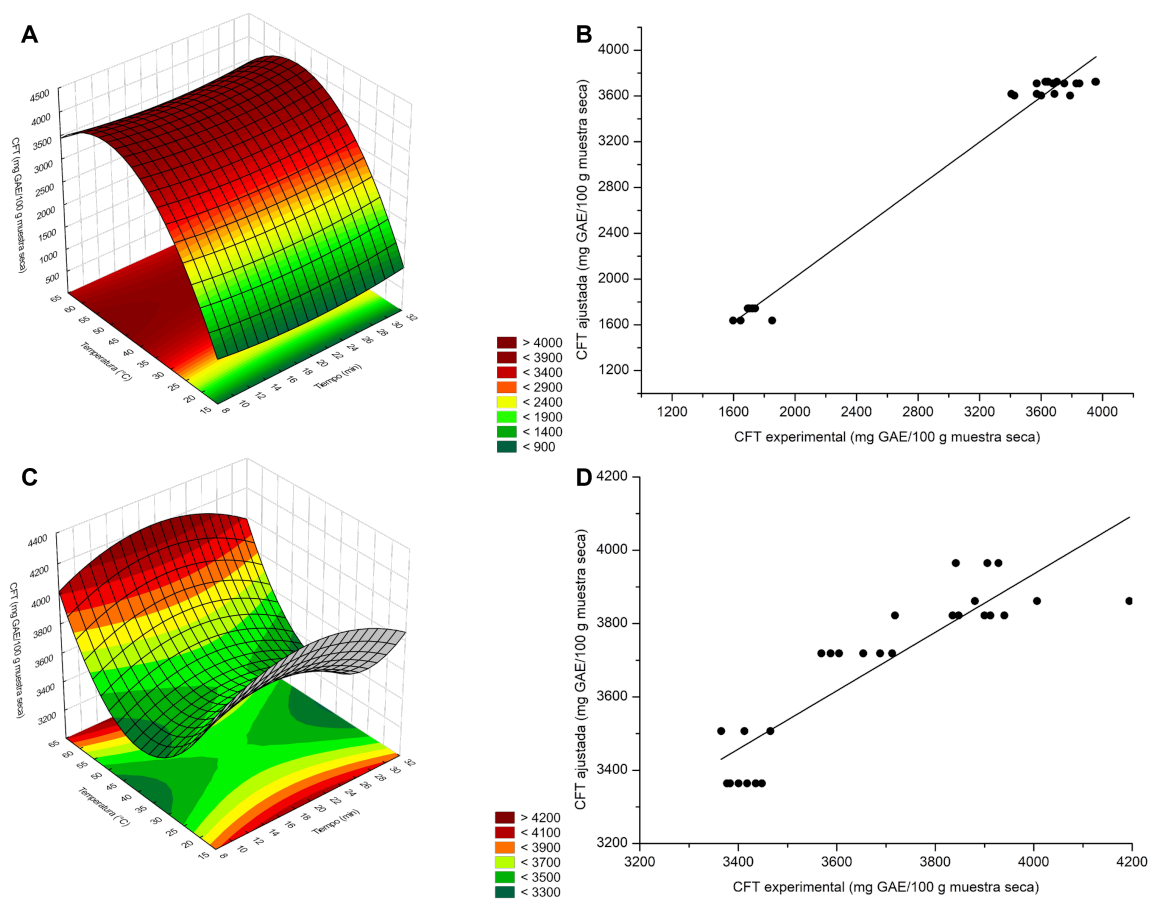


Figura 4.5. Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste, que muestran el efecto del tiempo y la temperatura sobre el CFT de los extractos obtenidos mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D) con etanol.

Asimismo, a partir del diseño de experimentos, se estableció el modelo de regresión cuadrática para EC (Ec. 4.1) y para EAU (Ec. 4.2), mostrándose solo los coeficientes que resultaron significativos ($p < 0.05$).

$$y_{CFT_{EC-Etanol}} = 3617.513 + 982.843x_2 + 106.075x_1^2 - 997.024x_2^2 \quad (4.1)$$

$$y_{CFT_{EAU-Etanol}} = 3506.946 + 51.759x_2 - 142.799x_1^2 + 406.320x_2^2 \quad (4.2)$$

Con base en los resultados obtenidos para EC (4.5A), las condiciones óptimas de extracción fueron 10 minutos y 50 °C, con un valor máximo de CFT de 3965.77 mg GAE/100 g muestra seca. El modelo de regresión ajustado a los datos experimentales fue adecuado para describir el efecto de la EC con etanol sobre los CFT a diferentes condiciones de tiempo y temperatura de procesamiento. Lo anterior se confirma por el valor del coeficiente de determinación ajustado de $R^2 = 0.984$

Por otro lado, las condiciones de extracción óptimas para EAU (4.5C) fueron 20 minutos y 60 °C, que conlleva un valor máximo de 3965.05 mg GAE/100 g muestra seca. El modelo de regresión presentó un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.796$, indicando un ajuste adecuado, no obstante, siendo menor al obtenido para la técnica convencional. De forma general, se aprecia que existió una menor variabilidad en los datos de EC, aunque una distribución en dos grandes grupos atribuida a la influencia de la menor temperatura (20 ± 2 °C) que induce un contenido de CFT bajo (1597.239-1851.171 mg GAE/100 g muestra seca). En el caso de la EAU, el valor de ajuste se confiere a una mayor variabilidad del comportamiento de los datos, destacando que se alcanzan contenidos de CFT elevados a menor temperatura (>3568.642 mg GAE/100 g muestra seca a 20 ± 2 °C).

4.2.1.2. Extracción de CFT con NaDES-40 y su optimización

En la Tabla 4.3 se observa que al utilizar el NaDES-40 se obtiene un mayor contenido de CFT con respecto al etanol, independientemente de las técnicas de extracción utilizadas. De acuerdo con (Aktaş y Kurek, 2024), la extracción de CFT en conjunto con NaDES se basa en la formación de enlaces de hidrógeno entre los compuestos de interés y las moléculas del NaDES. En este sentido, el número de grupos carboxilo e hidroxilo de los precursores (ácido cítrico y fructosa) favorece la creación de enlaces de hidrógeno, aumentando así el contenido fenólico recuperado (Liu *et al.*, 2019). Además, la mejora del rendimiento de extracción podría explicarse por el principio de “lo similar disuelve lo similar”, es decir, la polaridad del NaDES sintetizado puede ser similar a la de los compuestos fenólicos en cáscara de mango (Liu *et al.*, 2023).

Con respecto a la influencia de las técnicas, el mayor contenido de CFT extraído fue de 6631.40 ± 269.18 mg GAE/100 g muestra seca mediante la EC (60 ± 2 °C, 30 minutos) y 6334.63 ± 357.44 mg GAE/100 g muestra seca para EAU (60 ± 2 °C, 20 minutos).

En los experimentos 1, 2, 3, 6 y 9 se observa que la EC presenta una mayor obtención de CFT en comparación con la técnica asistida con ultrasonido. Estos resultados se confieren al tiempo de extracción prolongado mediante el cual se favorece la disolución de los compuestos fenólicos en el disolvente (Liu *et al.*, 2023). En contraste, en los experimentos 4, 5, 7 y 8 no se aprecian diferencias significativas ($p < 0.05$) en función del uso de ultrasonido, aunque sí un aumento en el contenido de CFT al elevar la temperatura. de Almeida Pontes *et al.* (2021) establecen que al aplicar temperaturas altas en un sistema con NaDESs se debilitan las interacciones químicas en la matriz vegetal (enlaces de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, momentos dipolares e interacciones electrostáticas) y los fenómenos físicos de absorción que retienen los compuestos biológicos en dichas matrices, conllevando una mejora en el proceso de extracción.

Posteriormente se realizó el análisis de los resultados para optimizar el proceso de extracción. La Figura 4.6 presenta el gráfico de superficie de respuesta para la EC (4.6A) y EAU (4.6C), además de los ajustes entre los valores experimentales y pronosticados para los CFT (4.6B para EC y 4.6D para EAU).

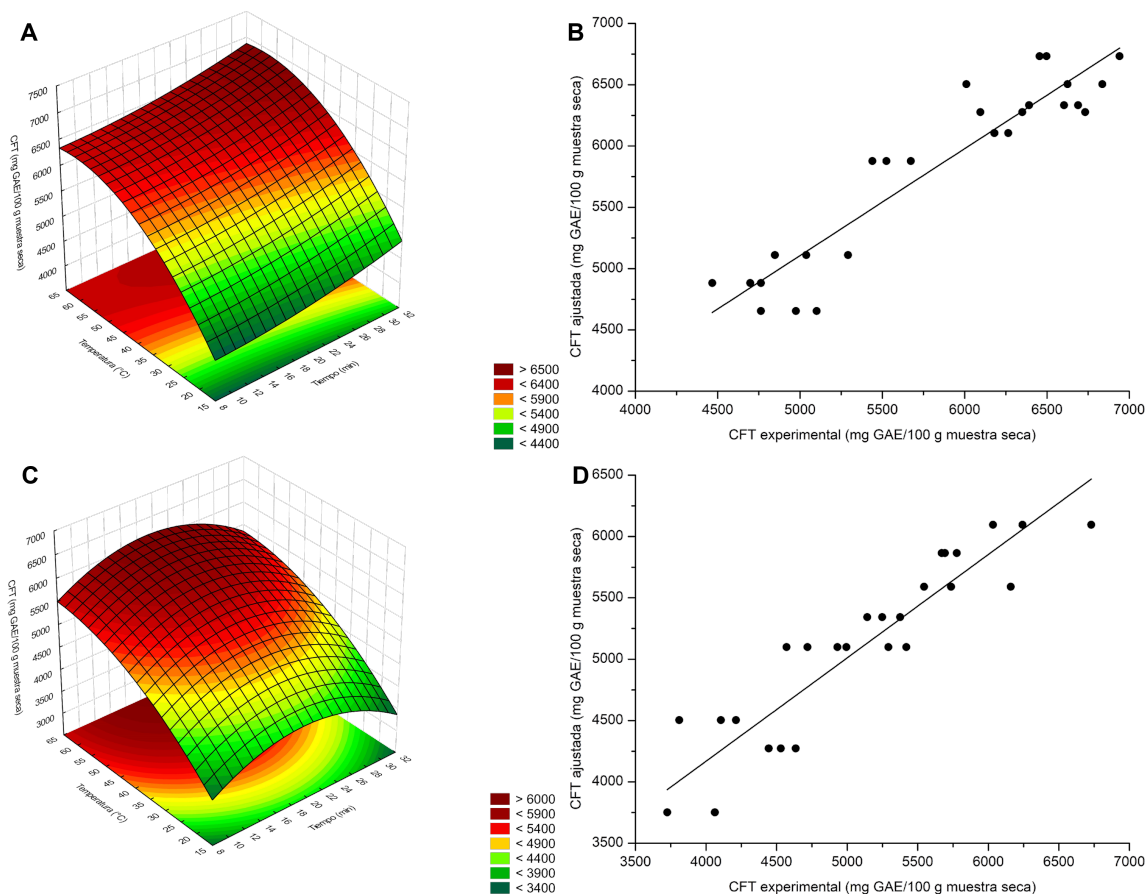


Figura 4.6. Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste, que muestran el efecto del tiempo y la temperatura sobre el CFT de los extractos obtenidos mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D) con NaDES-40.

Con relación a los resultados obtenidos para EC (4.6A), las condiciones de temperatura y tiempo de extracción óptimas fueron 60 °C durante 16.7 minutos, con un valor máximo de 6789.34 mg GAE/100 g muestra seca. Por otra parte, las condiciones óptimas para la EAU (4.6C) fueron 20 minutos y 60 °C, que conducen a un valor máximo de 6148.26 mg GAE/100 g muestra seca.

$$y_{CFT_{EC-NaDES-40}} = 6105.266 + 227.892x_1 + 811.064x_2 - 411.618x_2^2 \quad (4.3)$$

$$y_{CFT_{EAU-NaDES-40}} = 5590.561 + 795.584x_2 - 491.858x_1^2 - 260.936x_1x_2 - 290.658x_2^2 \quad (4.4)$$

Los modelos de regresión definidos (Ec. 4.3 y Ec. 4.4) indicaron que los datos se ajustaron de forma adecuada, calculando un coeficiente de determinación de $R^2 = 0.871$ para la técnica convencional y de $R^2 = 0.842$ bajo la asistencia con ultrasonido.

Anteriormente se mencionó que en los extractos con NaDES-40 se distinguieron valores altos de CFT sin importar la técnica, atribuyéndolo a un posible efecto del pH del medio, cuyos valores oscilaron entre 1.03 y 1.15. De acuerdo con Saini *et al.* (2022), la naturaleza ácida de los NaDESs rompe un mayor número de enlaces, conduciendo a un proceso de extracción más rápido. Asimismo, se infiere que la fructosa contribuye en la extracción debido a su afinidad con los compuestos fenólicos presentes en la cáscara de mango. Además, de acuerdo con Ojeda *et al.* (2023), la presencia de agua incrementa la polaridad del NaDES, mejorando la extracción de compuestos con dicha naturaleza. Por lo anterior, se deduce que la extracción con NaDES-40 conlleva una mayor obtención de CFT debido al efecto sinérgico entre sus precursores.

En la literatura se ha reportado gran variabilidad del contenido fenólico presente en cáscara de mango, asociado con el tipo de cultivo, el estado de maduración y las condiciones de extracción utilizados. Los resultados del presente proyecto se ubican dentro del rango documentado por otros autores, que oscila entre 810 y 9260 mg GAE/100 g muestra (Ajila y Rao, 2013; Kim *et al.*, 2010).

4.2.2. Análisis de la actividad antioxidante

En la Tabla 4.4 se presentan los resultados de la AA para el ensayo de DPPH y ABTS obtenidos a partir de los extractos con etanol y NaDES-40 con (100 %) y sin (0 %) la aplicación de ultrasonido a diferentes temperaturas y tiempos de procesamiento, con base en el diseño de experimentos definido en el apartado 3.6.4 y en seguida se presenta el análisis de los resultados en función del disolvente y de los ensayos aplicados para la cuantificación de la AA.

Tabla 4.4. Diseño de experimentos y AA en los extractos con etanol y NaDES-40 en presencia (100 %) y ausencia (0 %) de ultrasonido.

Experimento	Factores		Potencia ultrasónica (%)	Etanol		NaDES-40	
	x ₁	x ₂		DPPH*	ABTS*	DPPH*	ABTS*
1	-1	-1	0	17.37±0.20 ^a	120.27±0.31 ^b	163.49±0.94 ^a	1017.33±2.76 ^b
			100	16.84±0.33 ^a	117.06±0.17 ^a	168.07±2.03 ^a	998.07±8.83 ^a
2	0	-1	0	17.05±0.12 ^b	119.80±0.36 ^b	165.71±1.21 ^a	1037.78±1.93 ^b
			100	16.76±0.06 ^a	118.17±0.31 ^a	167.91±0.57 ^b	997.27±4.16 ^a
3	1	-1	0	16.83±0.13 ^a	119.64±0.17 ^a	163.67±1.24 ^a	1011.41±3.09 ^a
			100	16.50±0.29 ^a	119.12±0.53 ^b	170.03±1.45 ^b	1015.85±4.86 ^a
4	-1	0	0	16.67±0.27 ^a	118.95±0.10 ^a	166.59±3.31 ^a	1002.32±0.76 ^b
			100	17.14±0.14 ^a	119.31±0.44 ^a	174.29±2.82 ^b	964.56±7.48 ^a
5	0	0	0	16.19±0.99 ^a	118.96±0.27 ^a	166.84±1.05 ^a	1019.02±1.39 ^b
			100	16.96±0.07 ^a	119.06±0.05 ^a	173.65±1.42 ^b	986.27±7.65 ^a
6	1	0	0	16.74±0.55 ^a	119.46±0.29 ^a	166.22±0.44 ^a	1007.67±5.80 ^a
			100	17.00±0.21 ^a	119.72±0.24 ^a	176.01±0.01 ^b	1005.59±8.31 ^a
7	-1	1	0	15.68±0.48 ^a	118.96±0.18 ^a	158.08±0.69 ^a	1001.82±2.92 ^b
			100	18.53±0.43 ^b	119.94±0.16 ^b	167.59±2.06 ^b	969.22±6.24 ^a
8	0	1	0	15.28±0.36 ^a	118.85±0.22 ^a	154.42±0.81 ^a	995.75±10.90 ^b
			100	18.33±0.40 ^b	119.49±0.31 ^b	165.49±2.01 ^b	976.18±3.98 ^a
9	1	1	0	15.09±0.57 ^a	119.41±0.09 ^b	157.35±1.26 ^a	996.23±2.12 ^a
			100	17.99±0.09 ^b	118.85±0.33 ^a	166.55±2.71 ^b	992.51±5.48 ^a

Los resultados muestran los promedios±desviación estándar (n=3). Diferentes letras para un solo experimento indican diferencias significativas entre los ensayos (DPPH y ABTS) mediante la prueba Tukey ($p<0.05$). x_1 : tiempo, x_2 : temperatura. *mg TROLOX/100 g muestra seca.

4.2.2.1. Determinación de la AA en los extractos con etanol y su optimización

Ensayo DPPH

Con respecto al ensayo DPPH, la mayor AA obtenida a partir de EC y EAU fue de 17.37±0.20 mg TROLOX/100 g muestra seca (20 °C, 10 minutos) y 18.53±0.43 mg TROLOX/100 g muestra seca (60 °C, 10 minutos), respectivamente (Tabla 4.4).

En los experimentos 7, 8 y 9 se obtuvo una mayor AA mediante EAU, sugiriendo que los compuestos recuperados presentaron una capacidad elevada para eliminar el radical DPPH bajo las condiciones acústicas aplicadas. Con respecto a los experimentos 1, 3, 4, 5 y 6 no se observaron diferencias significativas ($p<0.05$) entre técnicas, mientras que el experimento 2 es el único en el que se obtiene una AA más alta al emplear la EC.

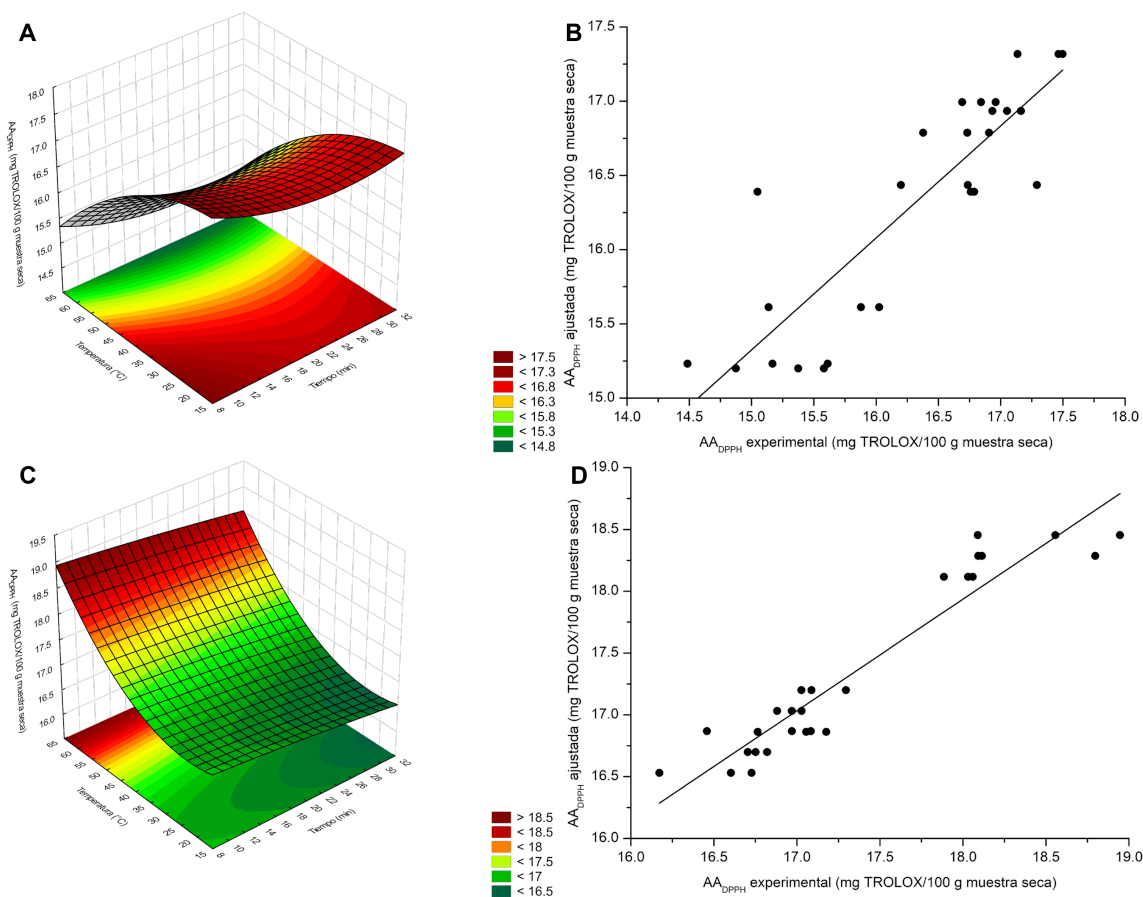


Figura 4.7. Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste, que muestran el efecto del tiempo y la temperatura sobre la AA_{DPPH} de los extractos obtenidos mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D) con etanol.

La optimización realizada a partir de los resultados documentados mostró que se requieren 20°C durante 20 minutos para obtener la mayor AA (17.25 mg TROLOX/100 g muestra seca) mediante EC (Figura 4.7A). Por su parte, la condiciones de procesamiento óptimas bajo la asistencia del ultrasonido fueron 20 °C y 10 minutos, que conlleva la obtención de 18.116 mg TROLOX/100 g muestra seca (Figura 4.7C). Los modelos de regresión (Ec. 4.5-4.6) presentaron coeficientes de determinación de $R^2 = 0.754$ para la técnica convencional y de $R^2=0.902$ para la técnica con ultrasonido.

$$y_{DPPH_{EC-Etanol}} = 16.389 - 0.886x_2 \quad (4.5)$$

$$y_{DPPH_{EAU-Etanol}} = 17.031 - 0.168x_1 + 0.793x_2 + 0.460x_2^2 \quad (4.6)$$

Ensayo ABTS

A partir de esta metodología, la mayor AA alcanzada fue 120.27 ± 0.31 mg TROLOX/100 g muestra seca (20°C , 10 minutos) mediante la técnica convencional y 119.94 ± 0.16 mg TROLOX/100 g muestra seca (60°C , 10 minutos) bajo EAU (Tabla 4.4).

En los experimentos 3, 7 y 8 se consigue una mayor AA mediante EAU (de 119.12 ± 0.53 - 119.94 ± 0.16 mg TROLOX/100 g muestra seca). En contraste, de acuerdo con los resultados de los experimentos 1, 2 y 9, la EC conlleva una AA superior. Con respecto a las pruebas 4, 5 y 6 no se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en función de la presencia o ausencia del ultrasonido.

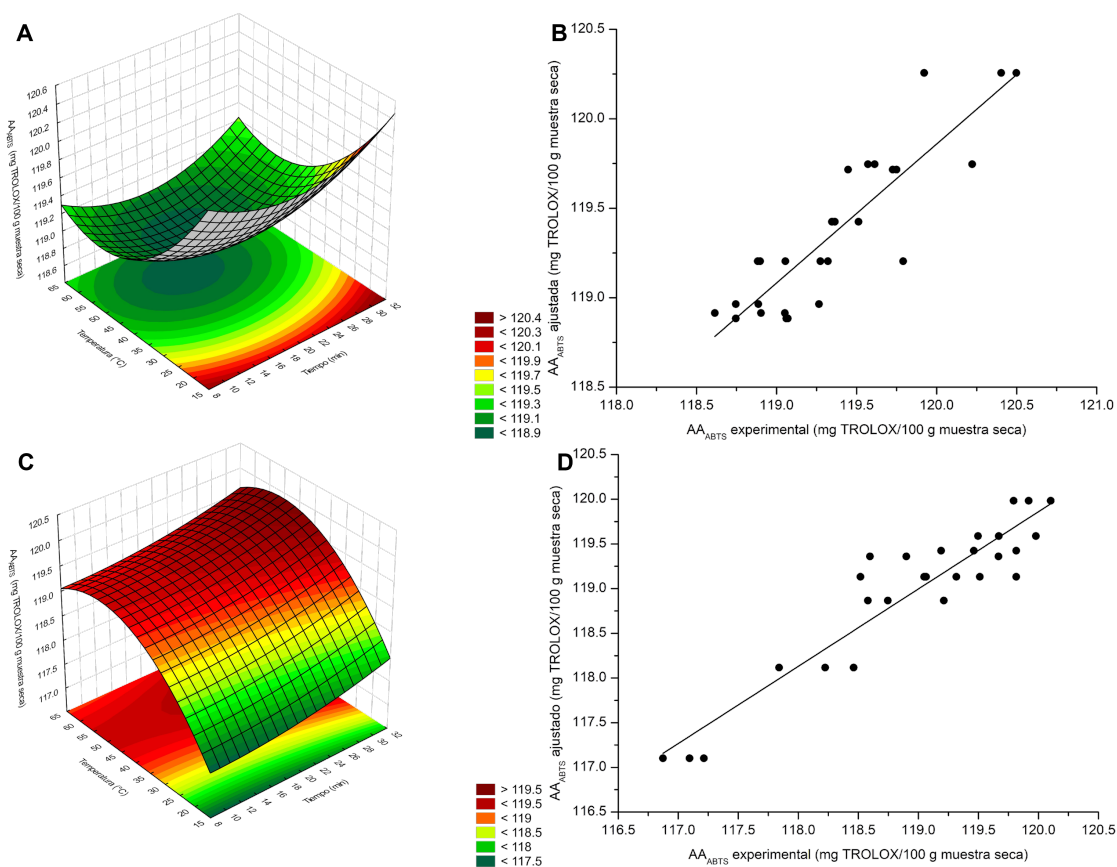


Figura 4.8. Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste, que muestran el efecto del tiempo y la temperatura sobre la AA_{ABTS} de los extractos obtenidos mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D) con etanol.

Las condiciones de EC óptimas fueron 20°C y 10 minutos, con un valor máximo de 120.256 mg TROLOX/100 g muestra seca (Ec. 4.7, $R^2 = 0.776$) (Figura 4.8A), mientras que para EAU fueron 60°C y 10 minutos, que resulta en 119.983 mg TROLOX/100 g muestra seca (Ec. 4.8, $R^2 = 0.864$) (Figura 4.8C)

$$y_{ABTS_{EC-Etanol}} = 118.964 - 0.415x_2 + 0.240x_1^2 + 0.270x_1x_2 + 0.365x_2^2 \quad (4.7)$$

$$y_{ABTS_{EAU-Etanol}} = 119.359 + 0.228x_1 + 0.653x_2 - 0.786x_1x_2 - 0.589x_2^2 \quad (4.8)$$

En el presente trabajo, la AA evaluada mediante el ensayo ABTS fue superior en comparación con el ensayo DPPH, sin embargo, los resultados no son comparables entre los métodos aplicados ya que el ensayo ABTS cuantifica la AA de compuestos hidrófilos y lipofílicos, mientras que el ensayo DPPH determinaría únicamente el efecto de los compuestos lipofílicos (Martínez-Ramos *et al.*, 2020). En este sentido, los resultados indican que las cáscaras de mango presentan una mayor concentración de compuestos capaces de estabilizar el radical ABTS.

De forma general, los resultados obtenidos se encuentran dentro del rango definido por otros autores, que abarca desde 13.24 ± 0.80 hasta 793.41 ± 0.24 mg TROLOX/100 g muestra seca para DPPH y de 13.70 ± 0.73 a 2476 ± 5.00 mg TROLOX/100 g muestra seca para ABTS (Madalageri *et al.*, 2015; Martínez *et al.*, 2012; Martínez-Ramos *et al.*, 2020). De acuerdo con Soria-Lara *et al.* (2020), la variación entre los resultados de AA registrados en el presente trabajo y los obtenidos por otros autores puede atribuirse al estado de madurez de la muestra y/o a una previa exposición a estrés biótico o abiótico. Por lo anterior, se infiere que las técnicas y condiciones de extracción aplicadas no perjudica la AA de los compuestos recuperados.

4.2.2.2. Determinación de la AA en los extractos con NaDES-40 y su optimización

Ensayo DPPH

La mayor AA registrada para los extractos obtenidos con NaDES-40 fue de 166.84 ± 1.05 mg TROLOX/100 g muestra seca (40 °C y 20 minutos de EC) y 176.01 ± 0.01 mg TROLOX/100 g muestra seca (40 °C y 30 minutos de EAU) (Tabla 4.4).

A excepción del experimento 1, donde no existieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en función de la técnica aplicada, en todos los extractos obtenidos mediante EAU se registró una mayor AA en comparación a los preparados con la extracción convencional. Por ello, se infiere que la aplicación del NaDES-40 en la EAU conlleva una AA_{DPPH} elevada, independientemente del tiempo y la temperatura de extracción utilizados.

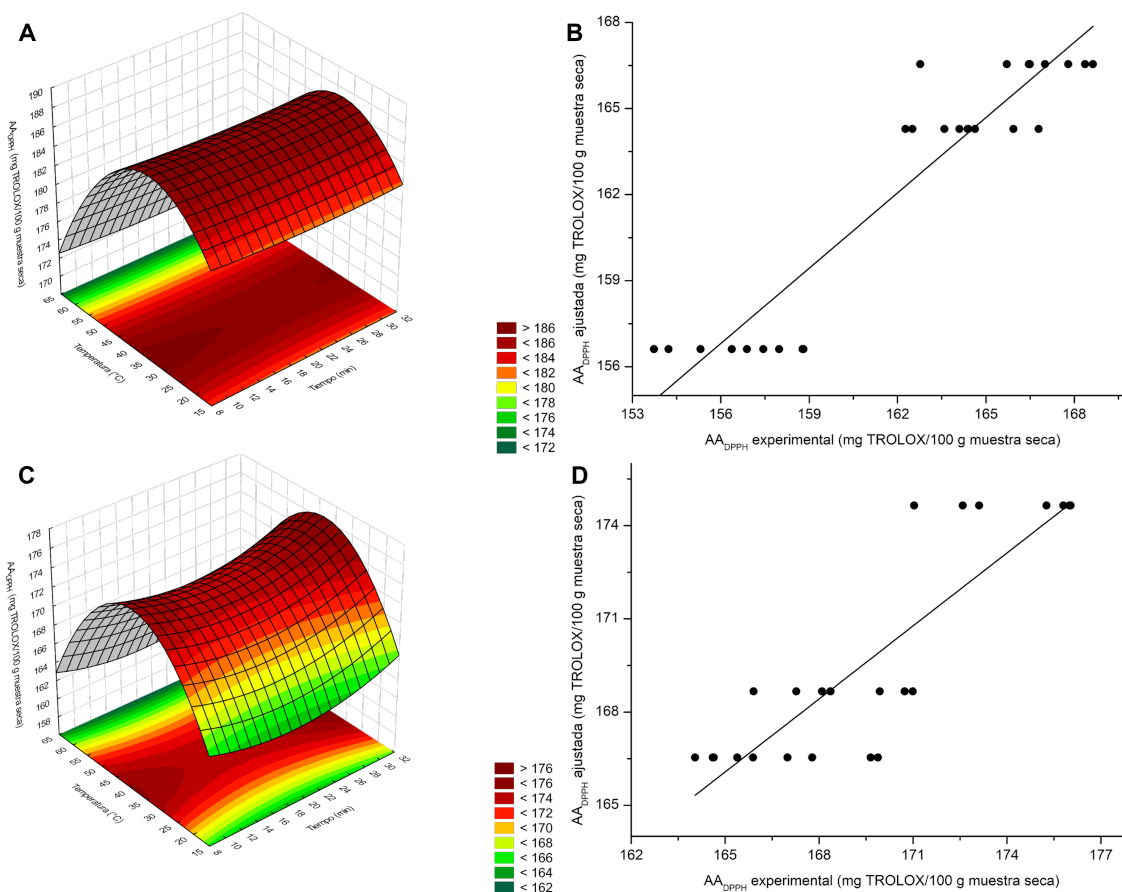


Figura 4.9. Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste, que muestran el efecto del tiempo y la temperatura sobre la AA_{DPPH} de los extractos obtenidos mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D) con NaDES-40.

Para la extracción convencional se determinaron las condiciones óptimas 34 °C y 10 minutos para recuperar 167.319 mg TROLOX/100 g muestra seca (Ec. 4.9, $R^2 = 0.874$) (Figura 4.9A). En contraste, las condiciones óptimas de EAU corresponden a 37.4 °C y 30 minutos para alcanzar un valor máximo de 175.673 mg TROLOX/100 g muestra seca (Ec. 4.10, $R^2 = 0.783$) (Figura 4.9C).

$$y = 166.548 - 3.836x_2 - 6.096x_2^2 \quad (4.9)$$

$$y = 174.648 - 1.065x_2 - 7.045x_2^2 \quad (4.10)$$

Ensayo ABTS

La mayor AA obtenida por EC fue 1037.18 ± 1.40 mg TE/100 g muestra seca (20 °C, 20 minutos), y por EAU fue 1015.85 ± 4.86 mg TE/100 g muestra seca (20 °C, 30 minutos) (Tabla 4.4).

En contraste con los datos obtenidos a partir del ensayo DPPH, los resultados de los experimentos 1, 2, 4, 5, 7 y 8 indican que a partir de la EC se obtiene una AA_{ABTS} superior en comparación con la EAU. Dichos experimentos se realizaron en un lapso menor a 20 minutos. Por el contrario, en las pruebas 3, 6 y 9, realizadas a 30 minutos, no se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en función del uso o no de ultrasonido. Con base en lo anterior, se infiere que el uso de tiempos de extracción moderados en la EC facilita la obtención de CFT capaces de eliminar el radical libre del ABTS.

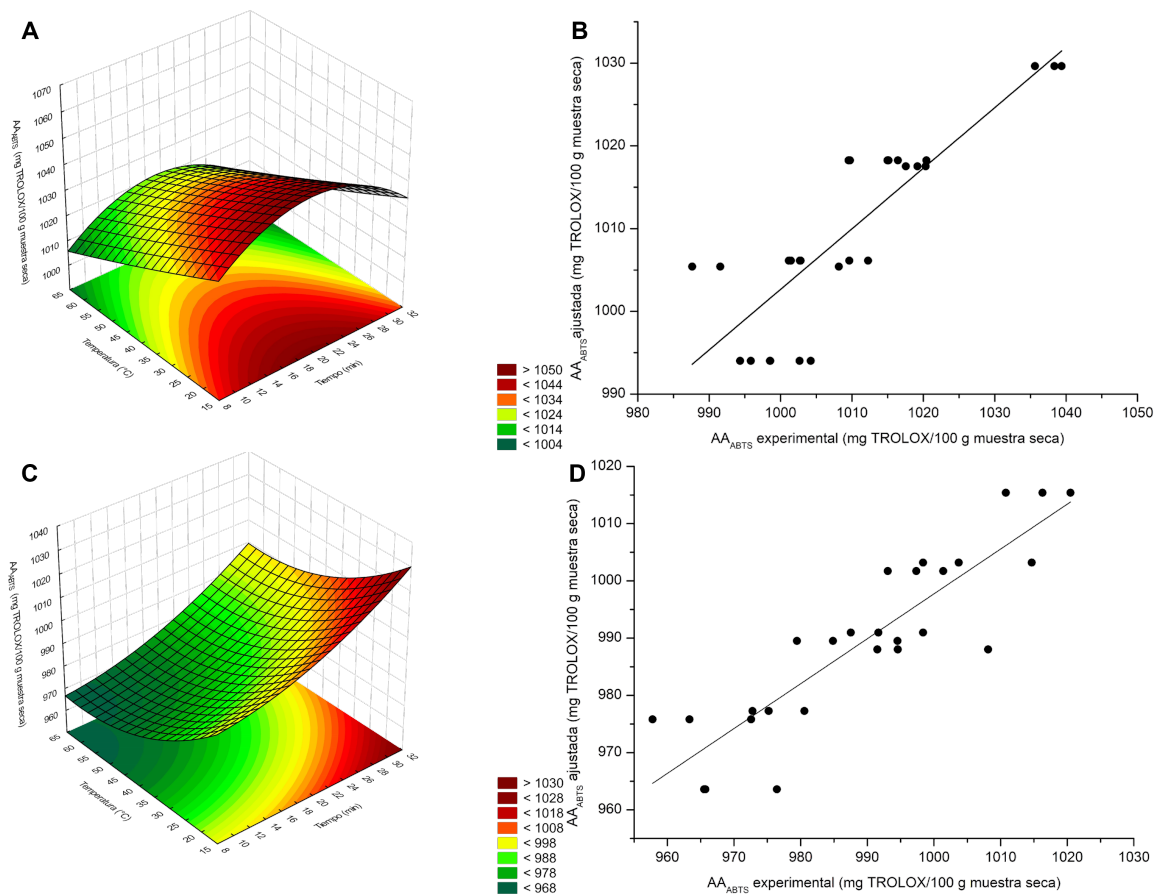


Figura 4.10. Gráficos de superficie de respuesta del modelo de regresión cuadrática y su ajuste, que muestran el efecto del tiempo y la temperatura sobre la AA_{ABTS} de los extractos obtenidos mediante extracción convencional (A y B) y asistida con ultrasonido (C y D) con NaDES-40.

Con relación a la EC, se determinó que las condiciones de procesamiento óptimas son 20 °C durante 19.5 minutos, las cuales conllevan a un AA de 1029.8 mg TROLOX/100 g muestra seca (Ec. 4.11, $R^2 = 0.732$) (Figura 4.10A). Finalmente, los valores de tiempo y temperatura óptimos de EAU fueron 20 °C y 30 minutos, permitiendo alcanzar un valor máximo de 1017.5 mg TROLOX/100 g muestra seca (Ec. 4.12, $R^2 = 0.783$) (Figura 4.10A).

$$y = 1017.526 - 12.116x_2 - 11.394x_1^2 \quad (4.11)$$

$$y = 989.501 + 13.686x_1 - 12.214x_2 \quad (4.12)$$

Al realizar una comparación en función del disolvente empleado, independientemente de la técnica de extracción, se observa que el uso de NaDES-40 conduce a una actividad antioxidante superior. Esta tendencia presenta concordancia con los resultados determinados en la cuantificación de CFT, donde la aplicación del NaDES-40 favorece la extracción de CFT y por tanto se presenta un incremento en la AA. Asimismo, se aprecia que el uso de ultrasonido no influyó negativamente la AA de los extractos con NaDES-40.

4.3. Caracterización de los extractos e identificación de CFT presentes

Los extractos que presentaron el mayor contenido de CFT y la mayor AA para cada disolvente y técnica de extracción aplicados se caracterizaron mediante espectroscopía micro-Raman y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). En la Tabla 4.5 se especifica la nomenclatura designada a partir de las condiciones de extracción utilizadas para obtener cada muestra.

Tabla 4.5. Acrónimo y condiciones de extracción utilizadas para cada extracto analizado.

Acrónimo	Disolvente	Extracción	Tiempo (min)	Temperatura (°C)
E1	Etanol	Convencional	10	50
E2			20	20
E3			10	20
E4		Asistida con ultrasonido	20	60
E5			10	60
N1	NaDES-40	Convencional	30	60
N2			10	34
N3			19.5	20
N4		Asistida con ultrasonido	16.7	60
N5			30	37.4
N6			30	20

4.3.1. Análisis por espectroscopía micro-Raman

En la Figura 4.11 se presentan los espectros micro-Raman obtenidos para los extractos preparados a partir de las condiciones óptimas.

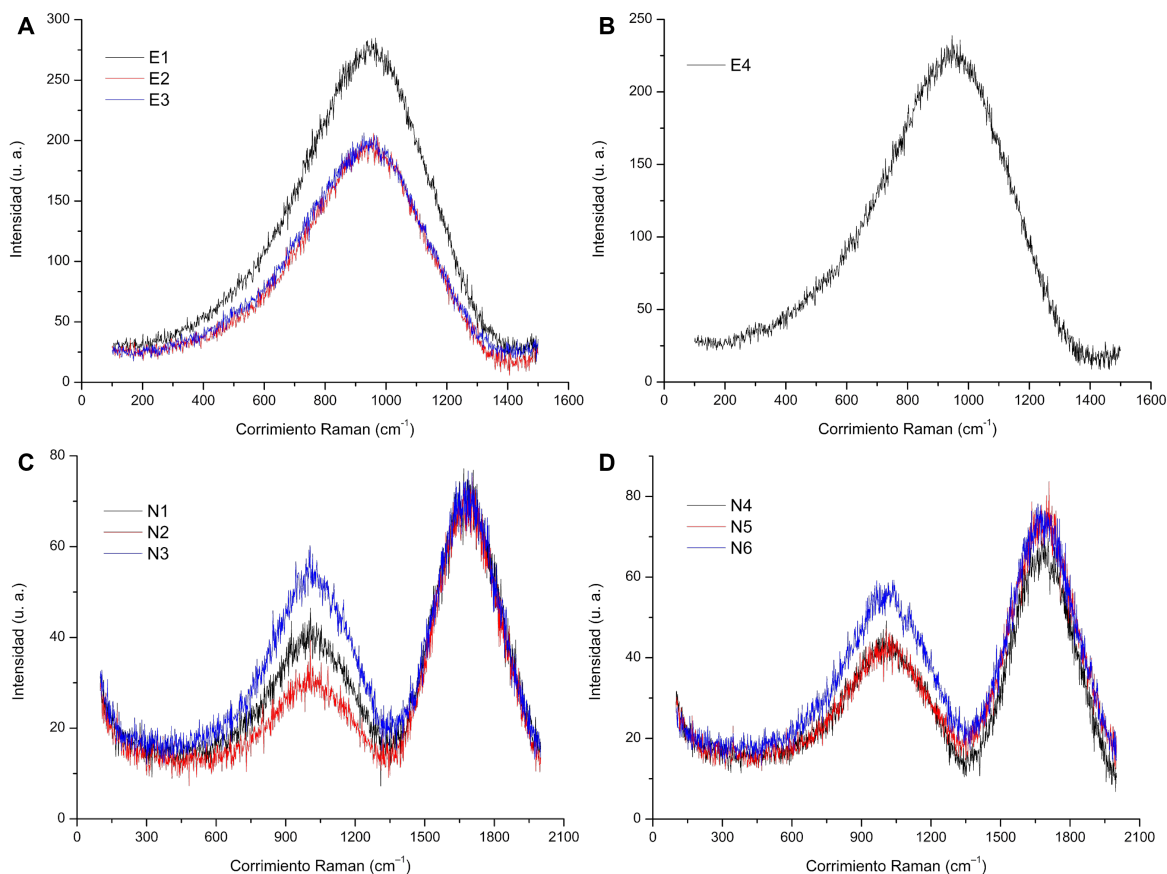


Figura 4.11. Espectros micro-Raman de los extractos óptimos obtenidos mediante EC (A y C) y EAU (B y D).

En la Figuras 4.11A y B se aprecia una banda ancha alrededor de 964 cm^{-1} , la cual se atribuye a modos C–H fuera del plano en carotenoides. Aunque generalmente este modo está prohibido para moléculas planas, cuando las moléculas de carotenoides se doblan alrededor de un enlace C–C, estos modos fuera del plano se intensifican debido al acoplamiento de transiciones electrónicas (Prinsloo *et al.*, 2004). Se observa una variación de la intensidad entre los espectros E1, E2 y E3. Con base en las condiciones de extracción aplicadas, se sugiere que al aumentar la temperatura a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ puede favorecerse la extracción de carotenoides, lo cual está en acuerdo con los resultados obtenidos por la ecuación 4.3 utilizada para optimizar las condiciones de EC.

Por otra parte, se observa que en los espectros de los extractos obtenidos con NaDES-40, además de la banda asociada a la presencia de carotenoides, se encuentra la señal asociada a la fructosa. Esto supone que la fructosa no sufre cambios en su estructura, infiriendo que el NaDES-40 es térmicamente estable bajo las condiciones de extracción aplicadas. En este sentido, el cambio con respecto a la intensidad de cada espectro se atribuye a la variación en las condiciones de extracción aplicadas.

4.3.2. Análisis por HPLC

Aunque se ha identificado una gran variedad de compuestos fenólicos en cáscaras de mango, el ácido gálico y la quercetina destacan por sus propiedades bioactivas y su alto contenido. Como se muestra en la Figura 4.12, dichos compuestos se identificaron en todos los extractos.

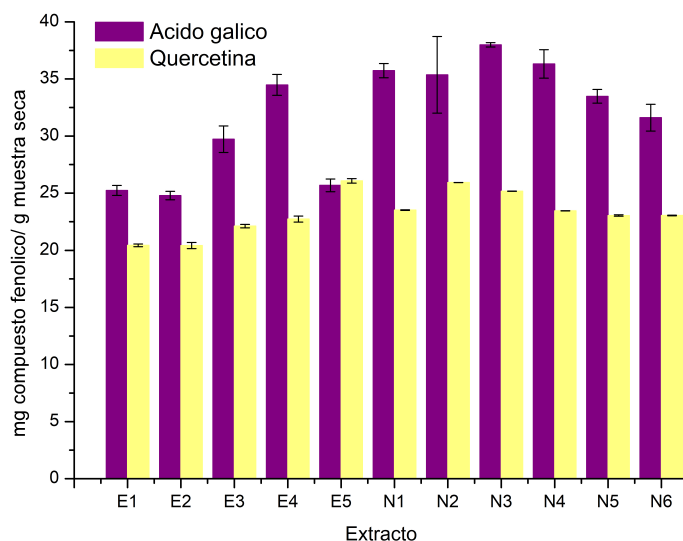


Figura 4.12. Contenido de ácido gálico y quercetina en extractos obtenidos con etanol y NaDES-40 mediante EC y EAU. Las barras de error representan las desviaciones estándar del promedio de tres repeticiones.

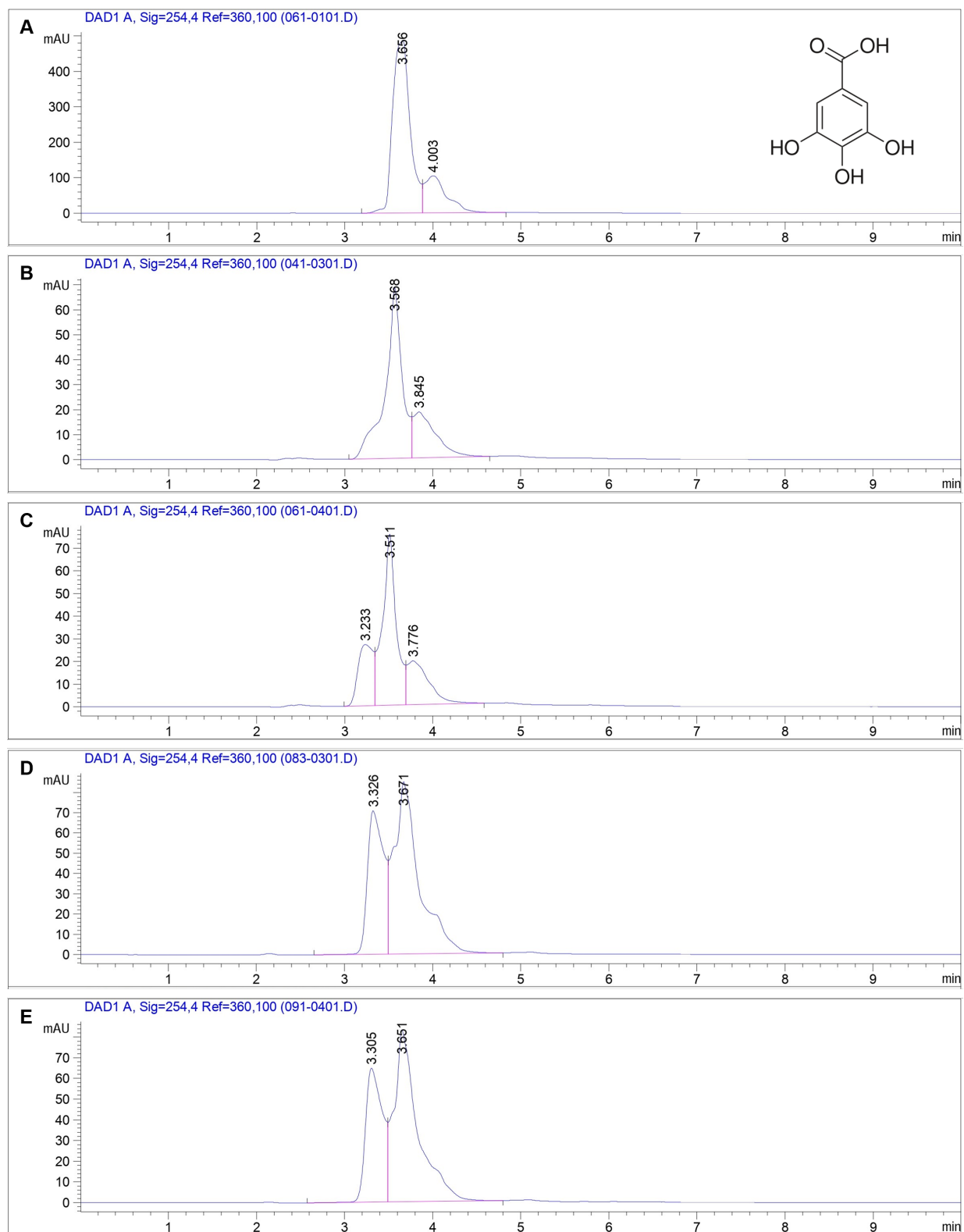


Figura 4.13. Estructura molecular y cromatogramas del ácido gálico (A) y de los extractos E3 (B), E4 (C), N3 (D) y N4 (E).

El tiempo de retención registrado para el ácido gálico fue de 3.656 ± 0.30 minutos (Figura 4.13). Los resultados indican que el uso del NaDES-40 aumenta la extracción de ácido gálico, obteniendo un mayor contenido en conjunto con la técnica convencional (37.991 ± 1.90 mg/ g muestra seca). En contraste, el etanol conlleva valores significativamente inferiores ($p < 0.05$) al utilizarse en ambas técnicas. Este comportamiento presenta concordancia con los resultados observados en la determinación de CFT, donde la aplicación del NaDES-40 en la EC conlleva una extracción superior. Por lo anterior, la mejora en la obtención de ácido gálico se atribuye a las propiedades químicas del NaDES sintetizado en el presente trabajo.

Por otra parte, en la Figura 4.14 se observa que la quercetina presentó un tiempo de retención de 3.142 ± 0.30 minutos. Contrario a los resultados obtenidos para ácido gálico, la cantidad de quercetina registrada en los extractos con NaDES-40 no superó significativamente ($p < 0.05$) la cantidad obtenida en los extractos con etanol, independientemente de la técnica aplicada. Se registró un valor máximo al utilizar etanol bajo la asistencia del ultrasonido (26.078 ± 0.96 mg/ g muestra seca). Ojeda *et al.* (2023) reportaron resultados similares en la cuantificación de quercetina extraída de cáscara de mango 'criollo'.

Los datos del presente análisis se ubican dentro del rango documentado por otros autores, siendo de 7.379–564 mg/100 g de muestra seca para ácido gálico y de 1.591–49.1 mg/100 g muestra seca para quercetina (Ojeda *et al.*, 2023; Safdar *et al.*, 2017; Sánchez-Camargo *et al.*, 2021). A partir de los resultados documentados se concluye que fue posible identificar ácido gálico y quercetina en los extractos obtenidos y que las metodologías aplicadas para su cuantificación fueron adecuadas.

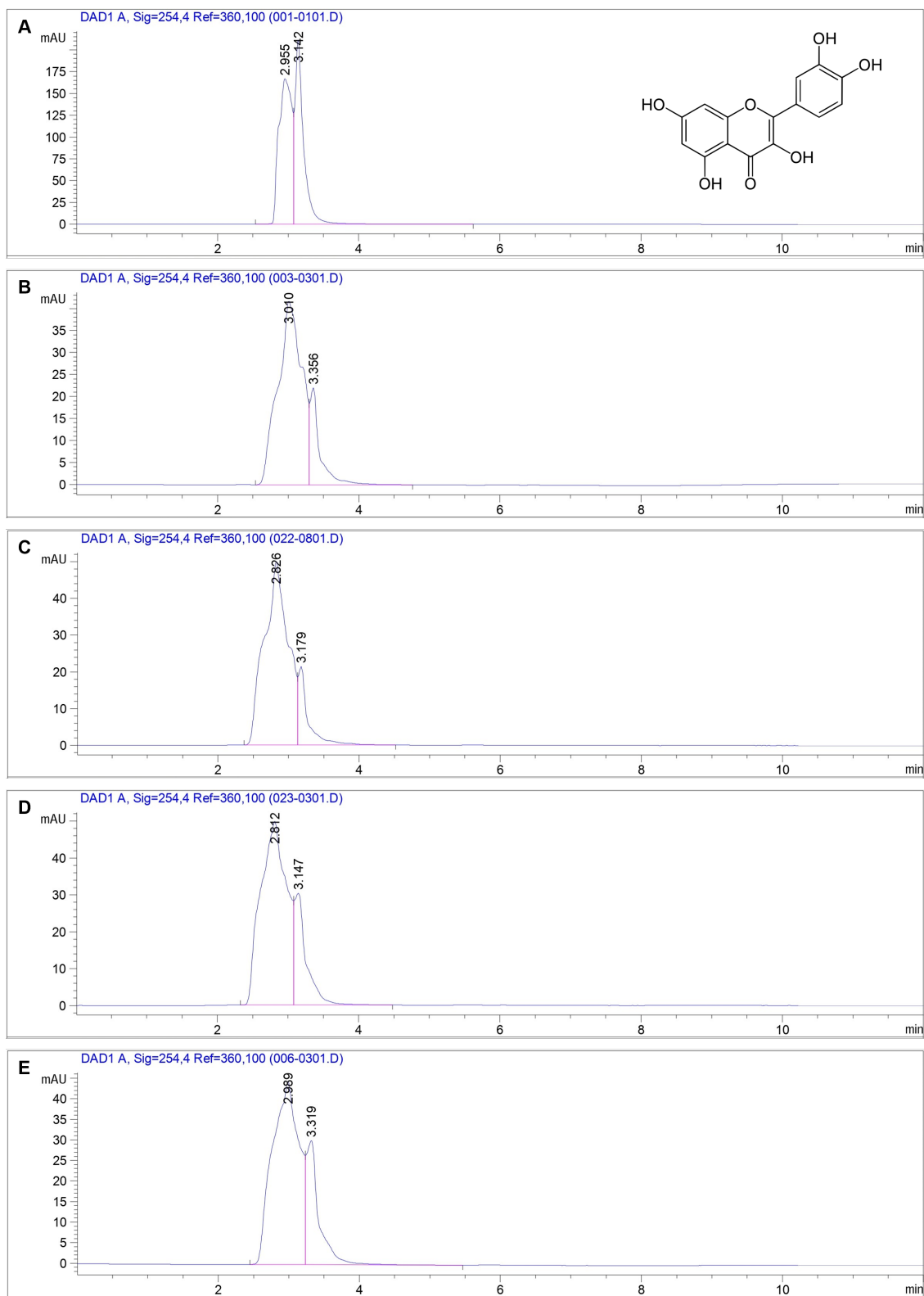


Figura 4.14. Estructura molecular y cromatogramas de la quercetina (A) y de los extractos E3 (B), E5 (C), N2 (D) y N4 (E).

V.CONCLUSIONES

El presente trabajo estudió el comportamiento de un NaDES conformado por ácido cítrico y fructosa durante la extracción asistida con ultrasonido de compuestos fenólicos a partir de cáscaras de mango (*Mangifera indica* L. cv Manila).

Los resultados de las propiedades fisicoquímicas de los NaDESs mostraron que la adición de agua modificó significativamente cada propiedad y los análisis espectroscópicos (FTIR y micro-Raman) señalaron que los NaDESs sintetizados con diferentes porcentajes de agua no corresponden a una disolución, sino a una mezcla eutéctica de los precursores.

El NaDES-40 fue adecuado para la EAU de CFT debido a que se favoreció la solubilidad de dichos compuestos por efecto de la viscosidad, densidad y pH del disolvente. Por lo tanto, se logró obtener un contenido de CFT hasta 1.7 veces más en comparación con el etanol. Cabe destacar que a partir del uso de ultrasonidos se logró reducir el tiempo de extracción requerido. Por otra parte, la AA alcanzada con el uso del NaDES-40 fue hasta ocho veces la obtenida con el etanol. Los modelos de regresión cuadráticos establecidos mostraron coeficientes de determinación R^2 de 0.732–0.984, señalando que el ajuste de los datos pronosticados fue adecuado.

Los espectros micro-Raman solo mostraron la presencia de carotenoides en los extractos y señalan que al elevar la temperatura aumenta la obtención de dichos compuestos. Asimismo, los espectros advierten que el NaDES-40 permanece químicamente estable bajo las condiciones de tiempo y temperatura de extracción aplicados. Por su parte, el análisis mediante HPLC permitió identificar y cuantificar la presencia de ácido gálico y quercetina en los extractos óptimos.

Así, se concluye que la aplicación de ultrasonido y el NaDES-40 presentan un efecto sinérgico en la extracción de compuestos fenólicos. Los extractos obtenidos a partir de las cáscaras de mango y NaDES-40 podrían considerarse adecuados para aplicarse como ingredientes en diversos productos alimenticios sin la necesidad de realizar algún proceso de purificación previo a su uso.

Bibliografía

- Agbor, G. A., Vinson, J. A., y Donnelly, P. E. (2014). Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics (IJFS)*, 3(8):147–156.
- Airouyuwa, J. O., Mostafa, H., Riaz, A., y Maqsood, S. (2022). Utilization of natural deep eutectic solvents and ultrasound-assisted extraction as green extraction technique for the recovery of bioactive compounds from date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seeds: An investigation into optimization of process parameters. *Ultrasonics Sonochemistry*, 91:106233.
- Ajila, C. y Rao, U. P. (2013). Mango peel dietary fibre: Composition and associated bound phenolics. *Journal of Functional Foods*, 5(1):444–450.
- Aktaş, H. y Kurek, M. A. (2024). Deep eutectic solvents for the extraction of polyphenols from food plants. *Food Chemistry*, p. 138629.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., y Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4:200–214.
- Alexandre, E. M., Moreira, S. A., Castro, L. M., Pintado, M., y Saraiva, J. A. (2018). Emerging technologies to extract high added value compounds from fruit residues: Sub/supercritical, ultrasound-, and enzyme-assisted extractions. *Food Reviews International*, 34(6):581–612.
- Awad, T., Moharram, H., Shaltout, O., Asker, D., y Youssef, M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48(2):410–427.
- Baiano, A. (2014). Recovery of biomolecules from food wastes - a review. *Molecules*, 19(9):14821–14842.
- Barrón-García, O., Morales-Sánchez, E., Jiménez, A. R., Antunes-Ricardo, M., Luzardo-Ocampo, I., González-Jasso, E., y Gaytán-Martínez, M. (2022). Phenolic compounds profile and antioxidant capacity of ataulfo mango pulp processed by ohmic heating at moderate electric field strength. *Food Research International*, 154:111032.
- Benvenutti, L., Zielinski, A. A. F., y Ferreira, S. R. S. (2019). Which is the best food emerging solvent: IL, DES or NADES? *Trends in Food Science & Technology*, 90:133–146.
- Bitwell, C., Indra, S. S., Luke, C., y Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19:e01585.
- Blainski, A., Lopes, G. C., y De Mello, J. C. P. (2013). Application and Analysis of the

- Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18(6):6852–6865.
- Bubalo, M. C., Ćurko, N., Tomašević, M., Ganić, K. K., y Redovniković, I. R. (2016). Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents. *Food Chemistry*, 200:159–166.
- Cañadas, R., González-Miquel, M., González, E. J., Nuñez de Prado, A., Díaz, I., y Rodríguez, M. (2021). Sustainable Recovery of High Added-Value Vanilla Compounds from Wastewater Using Green Solvents. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 9(13):4850–4862.
- Cannavacciuolo, C., Pagliari, S., Frigerio, J., Giustra, C. M., Labra, M., y Campone, L. (2022). Natural Deep Eutectic Solvents (NADESs) Combined with Sustainable Extraction Techniques: A Review of the Green Chemistry Approach in Food Analysis. *Foods*, 12(1):56.
- Carciochi, R. A., D Alessandro, L. G., Vauchel, P., Rodriguez, M. M., Nolasco, S. M., y Dimitrov, K. (2017). Valorization of Agrifood By-Products by Extracting Valuable Bioactive Compounds Using Green Processes. En *Ingredients Extraction by Physico-chemical Methods in Food*, pp. 191–228. Elsevier.
- Castañeda-Valbuena, D., Ayora-Talavera, T., Luján-Hidalgo, C., Álvarez-Gutiérrez, P., Martínez-Galero, N., y Meza-Gordillo, R. (2021). Ultrasound extraction conditions effect on antioxidant capacity of mango by-product extracts. *Food and Bioprocess Technology*, 127:212–224.
- Castro-Muñoz, R., Can Karaça, A., Saeed Kharazmi, M., Boczkaj, G., Hernández-Pinto, F. J., Anusha Siddiqui, S., y Jafari, S. M. (2023). Deep eutectic solvents for the food industry: extraction, processing, analysis, and packaging applications—a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, pp. 1–17.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., y Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. a review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34:540–560.
- Chuo, S. C., Nasir, H. M., Mohd-Setapar, S. H., Mohamed, S. F., Ahmad, A., Wani, W. A., Muddassir, M., y Alarifi, A. (2022). A Glimpse into the Extraction Methods of Active Compounds from Plants. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 52(4):667–696.
- Coscarella, M., Nardi, M., Alipieva, K., Bonacci, S., Popova, M., Procopio, A., Scarpelli, R., y Simeonov, S. (2023). Alternative Assisted Extraction Methods of Phenolic Compounds Using NaDESs. *Antioxidants*, 13(1):62.
- Dai, Y., Van Spronsen, J., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R., y Choi, Y. H. (2013). Natural deep

- eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, 766:61–68.
- de Almeida Pontes, P. V., Shiwaku, I. A., Maximo, G. J., y Batista, E. A. C. (2021). Choline chloride-based deep eutectic solvents as potential solvent for extraction of phenolic compounds from olive leaves: Extraction optimization and solvent characterization. *Food Chemistry*, 352:129346.
- Dhaulaniya, A. S., Balan, B., Sodhi, K. K., Kelly, S., Cannavan, A., y Singh, D. K. (2020). Qualitative and quantitative evaluation of corn syrup as a potential added sweetener in apple fruit juices using mid-infrared spectroscopy assisted chemometric modeling. *LWT*, 131:109749.
- Dorta, E., Lobo, M. G., y Gonzalez, M. (2012). Reutilization of Mango Byproducts: Study of the Effect of Extraction Solvent and Temperature on Their Antioxidant Properties. *Journal of Food Science*, 77(1):C80–C88.
- Duan, L., Dou, L.-L., Guo, L., Li, P., y Liu, E.-H. (2016). Comprehensive evaluation of deep eutectic solvents in extraction of bioactive natural products. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(4):2405–2411.
- Dumouilla, V. y Dussap, C. G. (2021). Online analysis of D-glucose and D-mannose aqueous mixtures using Raman spectroscopy: An in silico and experimental approach. *Bioengineered*, 12(1):4420–4431.
- Esclapez, M., García-Pérez, J. V., Mulet, A., y Cárcel, J. (2011). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. *Food Engineering Reviews*, 3:108–120.
- Freitas, L. C., Barbosa, J. R., da Costa, A. L. C., Bezerra, F. W. F., Pinto, R. H. H., y de Carvalho Junior, R. N. (2021). From waste to sustainable industry: How can agro-industrial wastes help in the development of new products? *Resources, Conservation and Recycling*, 169:105466.
- Gabriele, F., Chiarini, M., Germani, R., Tiecco, M., y Spreti, N. (2019). Effect of water addition on choline chloride/glycol deep eutectic solvents: Characterization of their structural and physicochemical properties. *Journal of Molecular Liquids*, 291:111301.
- Geankoplis, C. J. (2006). *Procesos de transporte y principios de procesos de separación (incluye operaciones unitarias)*. México: Patria.
- Gómez, A. V., Tadini, C. C., Biswas, A., Buttrum, M., Kim, S., Boddu, V. M., y Cheng, H. N. (2019). Microwave-assisted extraction of soluble sugars from banana puree with natural deep eutectic solvents (NADES). *LWT*, 107:79–88.
- Griffiths, P. R. y de Haseth, J. (2007). *Fourier Transform Infrared Spectrometry - 2nd ed.* Wiley-Interscience.
- Gülcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxi-*

- cology*, 86:345–391.
- Gupta, Alok Kumar and Gurjar, Pawan Singh and Beer, Karma and Pongener, Alemwati and Ravi, SC and Singh, Smita and Verma, Anil and Singh, Abha and Thakur, Mamta and Tripathy, Soubhagya and others (2022). A review on valorization of different byproducts of mango (*Mangifera indica* L.) for functional food and human health. *Food Bioscience*, 48:101783.
- Hansen, Benworth B and Spittle, Stephanie and Chen, Brian and Poe, Derrick and Zhang, Yong and Klein, Jeffrey M and Horton, Alexandre and Adhikari, Laxmi and Zelovich, Tamar and Doherty, Brian W and others (2020). Deep Eutectic Solvents: A Review of Fundamentals and Applications. *Chemical Reviews*, 121(3):1232–1285.
- Hayyan, A., Mjalli, F. S., AlNashef, I. M., Al-Wahaibi, Y. M., Al-Wahaibi, T., y Hashim, M. A. (2013). Glucose-based deep eutectic solvents: Physical properties. *Journal of Molecular Liquids*, 178:137–141.
- Hikmawanti, N. P. E., Ramadon, D., Jantan, I., y Mun im, A. (2021). Natural Deep Eutectic Solvents (NADES): Phytochemical Extraction Performance Enhancer for Pharmaceutical and Nutraceutical Product Development. *Plants*, 10(10):2091.
- Jahurul, M., Zaidul, I., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F. Y., Nyam, K.-L., Norulaini, N., Saheena, F., y Omar, A. M. (2015). Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review. *Food Chemistry*, 183:173–180.
- Jurić, T., Uka, D., Holló, B. B., Jović, B., Kordić, B., y Popović, B. M. (2021). Comprehensive physicochemical evaluation of choline chloride-based natural deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids*, 343:116968.
- Kaur, B., Panesar, P. S., Anal, A. K., y Chu-Ky, S. (2022). Recent Trends in the Management of Mango By-products. *Food Reviews International*, 39(7):4159–4179.
- Khadhraoui, B., Ummat, V., Tiwari, B., Fabiano-Tixier, A., y Chemat, F. (2021). Review of ultrasound combinations with hybrid and innovative techniques for extraction and processing of food and natural products. *Ultrasonics Sonochemistry*, 76:105625.
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., y Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*.
- Kim, H., Moon, J. Y., Kim, H., Lee, D.-S., Cho, M., Choi, H.-K., Kim, Y. S., Mosaddik, A., y Cho, S. K. (2010). Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. *Food Chemistry*, 121(2):429–436.
- Koh, Q. Q., Kua, Y. L., Gan, S., Tan, K. W., Lee, T. Z. E., Cheng, W. K., y Lau, H. L. N. (2023). Sugar-based natural deep eutectic solvent (NADES): Physicochemical properties, antimicrobial activity, toxicity, biodegradability and potential use as green

- extraction media for phytonutrients. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 35:101218.
- Krysa, M., Szymańska-Chargot, M., y Zdunek, A. (2022). FT-IR and FT-Raman fingerprints of flavonoids – a review. *Food Chemistry*, 393:133430.
- Kumar, K., Srivastav, S., y Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70:105325.
- Lanjekar, K. J., Gokhale, S., y Rathod, V. K. (2022). Utilization of waste mango peels for extraction of polyphenolic antioxidants by ultrasound-assisted natural deep eutectic solvent. *Bioresource Technology Reports*, 18:101074.
- Lavilla, I. y Bendicho, C. (2017). Fundamentals of Ultrasound-Assisted Extraction. En *Water Extraction of Bioactive Compounds*, pp. 291–316. Elsevier.
- Li, C., Dai, T., Chen, J., Chen, M., Liang, R., Liu, C., Du, L., y McClements, D. J. (2023). Modification of flavonoids: Methods and influences on biological activities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(31):10637–10658.
- Lim, Y. P., Pang, S. F., Yusoff, M. M., Mudalip, S. K. A., y Gimbun, J. (2019). Correlation between the extraction yield of mangiferin to the antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid content of phaleria macrocarpa fruits. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 14:100224.
- Liu, X.-Y., Ou, H., Gregersen, H., y Zuo, J. (2023). Deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction of polyphenols from *Cosmos sulphureus*. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 32:100444.
- Liu, Y., Friesen, J. B., McAlpine, J. B., Lankin, D. C., Chen, S.-N., y Pauli, G. F. (2018). Natural Deep Eutectic Solvents: Properties, Applications, and Perspectives. *Journal of Natural Products*, 81(3):679–690.
- Liu, Y., Li, J., Fu, R., Zhang, L., Wang, D., y Wang, S. (2019). Enhanced extraction of natural pigments from *Curcuma longa* L. using natural deep eutectic solvents. *Industrial Crops and Products*, 140:111620.
- Macasoi, C., Pincu, E., Jurca, B., y Meltzer, V. (2021). Increasing the bromazepam solubility by forming eutectic mixture with citric acid. *Thermochimica Acta*, 702:178954.
- Madalageri, D., Bharati, P., Orsat, V., Raghavan, V., y Kage, U. (2015). Antioxidant activity in pulp and peel of three mango varieties. *Journal of Horticultural Sciences*, 10(2):199–209.
- Malta, L. y Liu, R. (2014). Analyses of total phenolics, total flavonoids, and total antioxidant activities in foods and dietary supplements. En *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, pp. 305–314. Elsevier.
- Marcál, S. y Pintado, M. (2021). Mango peels as food ingredient/additive: Nutritional va-

- lue, processing, safety and applications. *Trends in Food Science & Technology*, 114:472–489.
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., y Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, 135(3):1520–1526.
- Martínez-Ramos, T., Benedito-Fort, J., Watson, N. J., Ruiz-López, I. I., Che-Galicia, G., y Corona-Jiménez, E. (2020). Effect of solvent composition and its interaction with ultrasonic energy on the ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Mango peels (*Mangifera indica* L.). *Food and Bioproducts Processing*, 122:41–54.
- Masibo, M. y He, Q. (2009). Mango Bioactive Compounds and Related Nutraceutical Properties – A Review. *Food Reviews International*, 25(4):346–370.
- Mitar, A., Panić, M., Prlić Kardum, J., Halambek, J., Sander, A., Zagajski Kučan, K., Radojčić Redovniković, I., y Radošević, K. (2019). Physicochemical Properties, Cytotoxicity, and Antioxidative Activity of Natural Deep Eutectic Solvents Containing Organic Acid. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 33(1):1–18.
- Ojeda, G. A., Sgroppo, S. C., Sánchez-Moreno, C., y de Ancos, B. (2022). Mango criollo by-products as a source of polyphenols with antioxidant capacity. Ultrasound assisted extraction evaluated by response surface methodology and HPLC-ESI-QTOF-MS/MS characterization. *Food Chemistry*, 396:133738.
- Ojeda, G. A., Vallejos, M. M., Sgroppo, S. C., Sánchez-Moreno, C., y de Ancos, B. (2023). Enhanced extraction of phenolic compounds from mango by-products using deep eutectic solvents. *Heliyon*, 9(6):e16912.
- Okolie, C. L., Akanbi, T. O., Mason, B., Udenigwe, C. C., y Aryee, A. N. (2019). Influence of conventional and recent extraction technologies on physicochemical properties of bioactive macromolecules from natural sources: A review. *Food Research International*, 116:827–839.
- Pagano, I., Campone, L., Celano, R., Piccinelli, A. L., y Rastrelli, L. (2021). Green non-conventional techniques for the extraction of polyphenols from agricultural food by-products: A review. *Journal of Chromatography A*, 1651:462295.
- Paiva, A., Craveiro, R., Aroso, I., Martins, M., Reis, R. L., y Duarte, A. R. C. (2014). Natural deep eutectic solvents – solvents for the 21st century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(5):1063–1071.
- Pal, C. B. T. y Jadeja, G. C. (2020). Microwave-assisted extraction for recovery of polyphenolic antioxidants from ripe mango (*Mangifera indica* L.) peel using lactic acid/sodium acetate deep eutectic mixtures. *Food Science and Technology International*

- nal*, 26(1):78–92.
- Perera, C. O. y Alzahrani, M. A. J. (2021). Ultrasound as a pre-treatment for extraction of bioactive compounds and food safety: A review. *LWT*, 142:111114.
- Pisano, P. L., Espino, M., de los Ángeles Fernández, M., Silva, M. F., y Olivieri, A. C. (2018). Structural analysis of natural deep eutectic solvents. Theoretical and experimental study. *Microchemical Journal*, 143:252–258.
- Prabhune, A. y Dey, R. (2023). Green and sustainable solvents of the future: Deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids*, 379:121676.
- Prinsloo, L. C., du Plooy, W., y van der Merwe, C. (2004). Raman spectroscopic study of the epicuticular wax layer of mature mango (*Mangifera indica*) fruit. *Journal of Raman Spectroscopy*, 35(7):561–567.
- Ranjbari, E., Biparva, P., y Hadjmohammadi, M. R. (2012). Utilization of inverted dispersive liquid–liquid microextraction followed by HPLC-UV as a sensitive and efficient method for the extraction and determination of quercetin in honey and biological samples. *Talanta*, 89:117–123.
- Rashid, R., Wani, S. M., Manzoor, S., Masoodi, F., y Dar, M. M. (2023). Green extraction of bioactive compounds from apple pomace by ultrasound assisted natural deep eutectic solvent extraction: Optimisation, comparison and bioactivity. *Food Chemistry*, 398:133871.
- Richardson, J. F. y Harker, J. H. (2002). *Chemical Engineering-Volume 2: Particle Technology and Separation Processes*. Butterworth-Heinemann.
- Rojas, R., Contreras-Esquivel, J. C., Orozco-Esquivel, M. T., Muñoz, C., Aguirre-Joya, J. A., y Aguilar, C. N. (2015). Mango Peel as Source of Antioxidants and Pectin: Microwave Assisted Extraction. *Waste and Biomass Valorization*, 6:1095–1102.
- Roselló-Soto, E., Galanakis, C. M., Brnčić, M., Orlie, V., Trujillo, F. J., Mawson, R., Knoerzer, K., Tiwari, B. K., y Barba, F. J. (2015). Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, by-products and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions. *Trends in Food Science & Technology*, 42(2):134–149.
- Ruesgas-Ramón, M., Figueroa-Espinoza, M. C., y Durand, E. (2017). Application of Deep Eutectic Solvents (DES) for Phenolic Compounds Extraction: Overview, Challenges, and Opportunities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(18):3591–3601.
- Safdar, M. N., Kausar, T., y Nadeem, M. (2017). Comparison of ultrasound and maceration techniques for the extraction of polyphenols from the mango peel. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(4):e13028.
- Saini, A., Kumar, A., Panesar, P. S., y Thakur, A. (2022). Potential of deep eutectic solvents

- in the extraction of value-added compounds from agro-industrial by-products. *Applied Food Research*, 2(2):100211.
- Sánchez-Camargo, A. d. P., Ballesteros-Vivas, D., Buelvas-Puello, L. M., Martínez-Correa, H. A., Parada-Alfonso, F., Cifuentes, A., Ferreira, S. R., y Gutiérrez, L.-F. (2021). Microwave-assisted extraction of phenolic compounds with antioxidant and anti-proliferative activities from supercritical CO₂ pre-extracted mango peel as valorization strategy. *LWT*, 137:110414.
- Santana, A. P., Mora-Vargas, J. A., Guimaraes, T. G., Amaral, C. D., Oliveira, A., y Gonzalez, M. H. (2019). Sustainable synthesis of natural deep eutectic solvents (nades) by different methods. *Journal of Molecular Liquids*, 293:111452.
- Santana-Mayor, Á., Rodríguez-Ramos, R., Herrera-Herrera, A. V., Socas-Rodríguez, B., y Rodríguez-Delgado, M. Á. (2021). Deep eutectic solvents. The new generation of green solvents in analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 134:116108.
- Savi, L. K., Carpiné, D., Waszczynskyj, N., Ribani, R. H., y Haminiuk, C. W. I. (2019). Influence of temperature, water content and type of organic acid on the formation, stability and properties of functional natural deep eutectic solvents. *Fluid Phase Equilibria*, 488:40–47.
- Seader, J. D., Henley, E. J., y Roper, D. K. (2011). *Separation Process Principles: Chemical and Biochemical Operations*. Wiley New York.
- Shi, L., Zhao, W., Yang, Z., Subbiah, V., y Suleria, H. A. R. (2022). Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(54):81112–81129.
- Siddiq, M., Brecht, J. K., y Sidhu, J. S. (2017). *Handbook of Mango Fruit: Production, Postharvest Science, Processing Technology and Nutrition*. John Wiley & Sons.
- Silva, E., Rogez, H., y Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 55(3):381–387.
- Singh, M. B., Kumar, V. S., Chaudhary, M., y Singh, P. (2021). A mini review on synthesis, properties and applications of deep eutectic solvents. *Journal of the Indian Chemical Society*, 98(11):100210.
- Skoog, D., Holler, F., y Crouch, S. (2008). *Principios de análisis instrumental Sexta Edición*. Cengage Learning.
- Soria, A. C. y Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(7):323–331.
- Soria-Lara, D. M., Jiménez-García, S. N., Botello-Álvarez, J. E., y Miranda-López, R. (2020).

- Main changes on the polyphenols profile and antioxidant capacity in Manila mango (*Mangifera indica* L.). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición (ALAN)*, 70(4):269–281.
- Sridhar, A., Ponnuchamy, M., Kumar, P. S., Kapoor, A., Vo, D.-V. N., y Prabhakar, S. (2021). Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 19:3409–3443.
- Vuolo, M. M., Lima, V. S., y Junior, M. R. M. (2019). Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. En *Bioactive Compounds*, pp. 33–50. Elsevier.
- Wang, J., Kliks, M. M., Jun, S., Jackson, M., y Li, Q. X. (2010). Rapid Analysis of Glucose, Fructose, Sucrose, and Maltose in Honeys from Different Geographic Regions using Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Multivariate Analysis. *Journal of Food Science*, 75(2):C208–C214.
- Wankat, P. C. (2008). *Ingeniería de procesos de separación*. Pearson Educación.
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C. S., Zandile, M., Duan, Y., Ma, H., y Luo, X. (2018). Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops – a review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48:538–549.
- White, F. M. (2004). *Mecánica de fluidos*. McGraw Hill.
- Whitten, K. W., Davis, R. E., Peck, M. L., y Stanley, G. G. (2014). *Química 10a. ed.* Cengage Learning.
- Yahia, E. M., Ornelas-Paz, J. d. J., Brecht, J. K., García-Solís, P., y Celis, M. E. M. (2023). The contribution of mango fruit (*Mangifera indica* L.) to human nutrition and health. *Arabian Journal of Chemistry*, p. 104860.
- Yusoff, I. M., Taher, Z. M., Rahmat, Z., y Chua, L. S. (2022). A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. *Food Research International*, 157:111268.
- Zampar, G. G., Zampar, I. C., de Souza, S. B. d. S., da Silva, C., y Barros, B. C. B. (2022). Effect of solvent mixtures on the ultrasound-assisted extraction of compounds from pineapple by-product. *Food Bioscience*, 50:102098.
- Zeb, A. y Zeb (2021). *Phenolic Antioxidants in Foods: Chemistry, Biochemistry and Analysis*. Springer.
- Zhan, A., Niu, D., Li, K., y Li, J. (2023). Characterization of some sucrose-based deep eutectic solvents and their effect on the solubility of piroxicam. *Journal of Molecular Liquids*, 377:121556.
- Zurob, E., Cabezas, R., Villarroel, E., Rosas, N., Merlet, G., Quijada-Maldonado, E., Romero, J., y Plaza, A. (2020). Design of natural deep eutectic solvents for the ultrasound-assisted extraction of hydroxytyrosol from olive leaves supported by COSMO-RS. *Separation and Purification Technology*, 248:117054.

CONTRIBUCIÓN CIENTÍFICA

Estancia

Estancia de investigación en la Universidad Politécnica Metropolitana de Puebla (Asesora: Dra. Tania Martínez Ramos) y en la Universidad Iberoamericana Campus Puebla (Asesor: Dr. Gregorio Romero de la Vega).

Participación en congresos

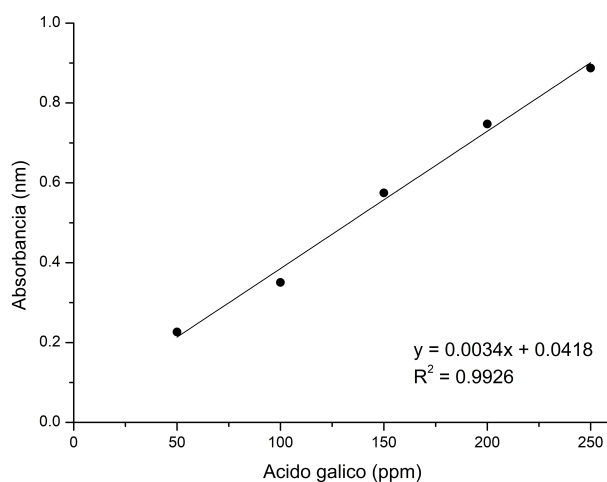
Ramos-Hernández H. S., Martínez-Ramos, T., Ruiz-López, I. I., Ruiz-Peralta, M. D. L. y Corona-Jiménez, E. 2023. Optimization of phenolic compounds extraction from mango peels using a deep eutectic solvent. #LatinXChem X Conference.

Ramos Hernández Hiroshi Said, Martínez Ramos, Tania, Ruiz Peralta, María de Lourdes, Ruiz López Irving Israel, Romero de la Vega, Gregorio, Torres Martínez Juan Pablo y Corona Jiménez Edith. 2024. Uso de un disolvente eutéctico profundo en la extracción con ultrasonido de compuestos fenólicos de mango (*Mangifera Indica* L.) XLV Encuentro Nacional de la AMIDIQ. Ixtapa Zihuatanejo, Guerrero.

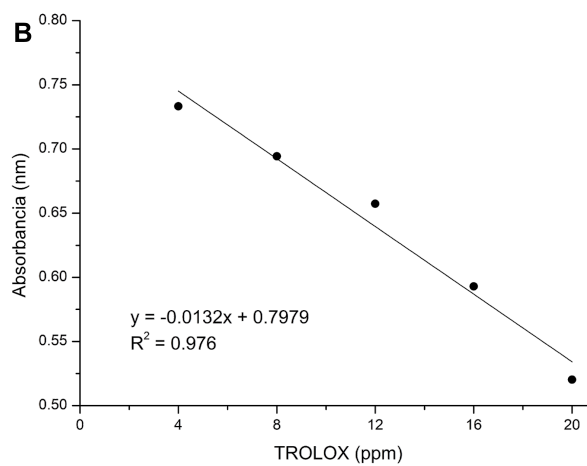
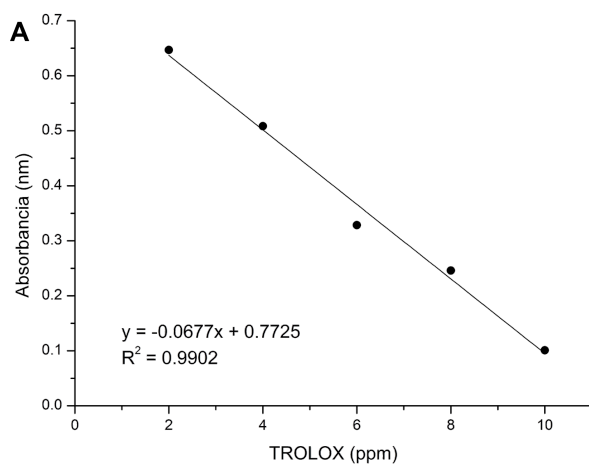
ANEXO

Curvas de calibración

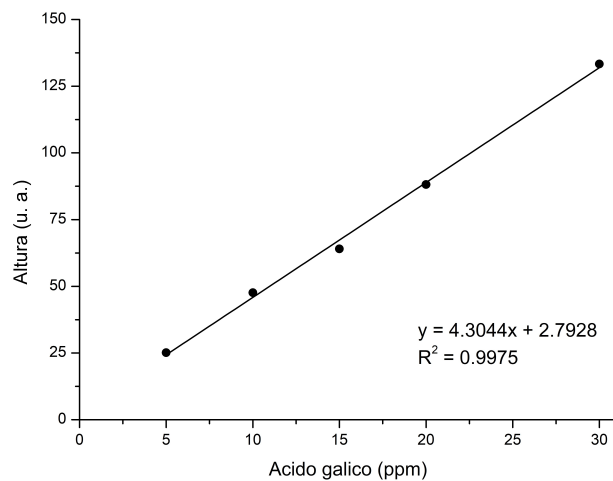
Curva de calibración del estándar ácido gálico para el contenido de CFT (ensayo Folin-Ciocalteu).



Curva de calibración del estándar TROLOX para la actividad antioxidante (ensayo DPPH (A) y ABTS (B))



Curva de calibración del estándar ácido gálico para cuantificar su contenido en los extractos óptimos mediante HPLC



Curva de calibración del estándar quercetina para cuantificar su contenido en los extractos óptimos mediante HPLC

