



Universidad Veracruzana

Facultad de Ciencias Químicas

Región Xalapa

Maestría en Ingeniería Química

Extracción de flavonoides de residuos de bambú
mediante Química Verde:
optimización y análisis cinético-termodinámico

Tesis para obtener el grado de Maestro en
Ingeniería Química

Presenta:
Ing. Virginia Yedamy Bautista Blanco

Directores de Tesis:
Dra. Zaira Julieta Domínguez Esquivel
Dr. Miguel Ángel Morales Cabrera

Elija el mes de 2025

“Lis de Veracruz: Arte, Ciencia, Luz”



Universidad Veracruzana

Facultad de Ciencias Químicas
Región Xalapa

Maestría en Ingeniería Química

*Extracción de flavonoides de residuos de bambú mediante
Química Verde: optimización y análisis cinético-termodinámico*

Tesis para obtener el grado de Maestro en
Ingeniería Química

Presenta:
Ing. Virginia Yedamy Bautista Blanco

Directora de tesis:
Dra. Zaira Julieta Domínguez Esquivel

Codirector de tesis:
Dr. Miguel Ángel Morales Cabrera

Dedicatoria

A mis padres, por su amor incondicional y comprensión constante. Gracias al apoyo y las facilidades que siempre me han brindado, he podido alcanzar muchas metas. Este logro, en particular, ha sido posible gracias a ellos, quienes lo hicieron realidad.

Agradecimientos

A CONAHCyT, por haberme otorgado la beca No. 825910, con la cual me fue posible mantenerme económicamente y dedicarme de tiempo completo en la Maestría en Ingeniería Química.

A la Dra. Zaira Domínguez, por darme la oportunidad de desarrollar este trabajo bajo su dirección, por su apoyo constante, su orientación en los momentos más difíciles y por su paciencia durante todo el proceso. Su guía fue fundamental para mantenerme enfocada en mis objetivos y por proporcionarme todas las herramientas necesarias para llevar a cabo este proyecto. Ha sido un verdadero privilegio contar con esta oportunidad, sin su apoyo no habría logrado culminar este proyecto de forma satisfactoria.

Al Dr. Miguel Morales, quien me brindó su apoyo para enriquecer más este proyecto y contribuir a su mejora, lo que permitió desarrollar una versión más sólida y completa del mismo. Agradezco las asesorías brindadas, las cuales fueron clave para superar los retos que surgieron durante el proceso, así como el tiempo dedicado.

A mis compañeros del laboratorio y al técnico responsable, cuya compañía y amistad fueron fundamentales para que el desarrollo de mis experimentos se convirtiera en una experiencia grata y significativa.

A mis amigos de toda la vida, Viri, Jonathan, Mariel, Laura, Luz, por su constante apoyo, su comprensión en momentos de mayor tensión y por brindarme siempre palabras de aliento. Su presencia y cariño fueron un pilar esencial para sobrellevar los desafíos de este cambio; sin ellos, los momentos más difíciles habrían sido mucho más duros.

Al vivero del biólogo David Moreno Martínez ubicado en Teocelo, Ver., y al vivero Bambuver ubicado en Huatusco de Chicuellar, Veracruz. Por permitirme recolectar dos especies diferentes de bambú para desarrollar este proyecto.

Al Instituto de Química Aplicada por brindar las instalaciones y equipos requeridos para la realización de este proyecto.

Índice

Dedicatoria	I
Agradecimientos	II
Índice	III
Índice de figuras	VI
Índice de tablas	VIII
Lista de abreviaturas y símbolos	IX
Resumen	XI
<i>Abstract</i>	XIV
CAPÍTULO 1	1
1.1 Introducción.....	1
1.2 Antecedentes.....	4
1.3 Planteamiento del problema	9
1.4 Justificación	10
1.5 Hipótesis	11
1.6 Objetivos.....	12
General.....	12
Específicos	12
CAPÍTULO 2	13
2.1 Marco teórico.....	13
2.1.1 Bambú	13
2.1.1.1Valor nutricional de los brotes de bambú	13
2.1.1.2 Valor nutricional de las hojas de bambú	13
2.1.1.3 Usos	14
2.1.2 Principales compuestos antioxidantes presentes en las hojas de bambú	15
2.1.2.1 Compuestos fenólicos.....	15
2.1.2.1.1 Flavonoides	16
2.1.3 Pruebas para determinar la capacidad antioxidante	17
2.1.3.1 Ensayo DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	17
2.1.3.2 Ensayo de la capacidad de reducción férrea del plasma (FRAP).....	18
2.1.4 Química Verde	19

2.1.5 Disolventes eutécticos profundos	20
2.1.6 Métodos de extracción de compuestos antioxidantes	21
2.1.6.1 Técnicas de extracción convencionales	22
2.1.6.1.1 Maceración	22
2.1.6.1.2 Infusión	22
2.1.6.1.3 Hidrodestilación.....	22
2.1.6.1.4 Decocción	23
2.1.6.1.5 Extracción soxhlet.....	23
2.1.6.1.6 Extracción por reflujo térmico	23
2.1.6.1.7 Extracción convencional con disolvente o extracción asistida por calentamiento	24
2.1.6.2 Técnicas no convencionales.....	24
2.1.6.2.1 Extracción con líquido presurizado	24
2.1.6.2.2 Extracción asistida por ultrasonido	24
2.1.6.2.3 Extracción asistida por microondas	25
2.1.7 Cinética de extracción.....	26
2.1.8 Estudio termodinámico	27
2.1.9 Importancia de los estudios cinéticos y termodinámicos en los procesos de separación	28
CAPÍTULO 3	30
3.1 Metodología.....	30
3.1.1 Obtención y procesado de las hojas de bambú	30
3.1.2 Reactivos.....	31
3.1.3 Extracción de flavonoides asistida por calentamiento	31
3.1.4 Preparación de 5 NADES	31
3.1.5 Extracción con microondas.....	32
3.1.6 Determinación de flavonoides totales.....	32
3.1.7 Determinación de la actividad de atrapamiento de radicales libres (DPPH)	33
3.1.8 Capacidad de reducción férrica del plasma (FRAP).....	33
3.1.9 Optimización de la extracción	33
3.1.10 Viscosidad.....	35
3.1.11 Tensión superficial.....	35
3.1.12 Estudio cinético-termodinámico	36

CAPÍTULO 4	39
4.1 Resultados y discusión.....	39
4.1.1 Selección de la muestra.....	39
4.1.2 Preparación de 5 NADES	39
4.1.3 Selección del NADES más eficiente	40
4.1.4 Optimización de las condiciones de extracción	44
4.1.5 Viscosidad.....	52
4.1.6 Tensión superficial.....	54
4.1.7 Condiciones óptimas	55
4.1.8 Estudio cinético-termodinámico	58
CAPÍTULO 5	72
5.1 Conclusiones	72
5.2 Perspectivas	74
5.3 Anexos	75
Trabajos derivados de esta tesis	76
Referencias.....	78

Índice de figuras

Figura 1.	Estructura básica de los flavonoides.	16
Figura 2.	Estructuras de flavonoides presentes en las hojas de bambú.	17
Figura 3.	Estructura del radical 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo.	18
Figura 4.	Estructura del complejo férrico-TPTZ (tri-piridiltriazina).	19
Figura 5.	Ventajas del uso de microondas en procesos de extracción.	25
Figura 6.	Diagrama de flujo de la metodología de trabajo.	30
Figura 7.	Flavonoides totales (expresados como miligramos equivalentes de quercetina/g de peso seco) en los extractos obtenidos mediante técnica convencional y asistencia de microondas (EAMO) a 60°C, tasa líquido/sólido 20:1, tiempo:15 minutos. En el caso de los NADES, se agregó un 20 % de agua (%v/v).	40
Figura 8.	Capacidad atrapadora de radicales libres (expresados como miligramos equivalentes de trolox/g de peso seco) de los extractos obtenidos mediante técnica convencional y asistencia de microondas (EAMO) a 60°C, tasa líquido/sólido 20:1, tiempo:15 minutos En el caso de los NADES, se agregó un 20% de agua (%v/v)	42
Figura 9.	Capacidad reductora del ion férrico (expresados como miligramos equivalentes de trolox/g de peso seco) de los extractos obtenidos mediante técnica convencional y asistencia de microondas (EAMO) a 60°C, tasa líquido/sólido 20:1, tiempo:15 minutos En el caso de los NADES, se agregó un 20% de agua (%v/v)	43
Figura 10.	Gráficas de superficie de respuesta del rendimiento de extracción de flavonoides de las hojas de bambú usando el NADES Glicerol:ChCl como disolvente con los efectos combinados de: a) porcentaje de agua y tasa líquido/sólido (tasa L/S), b) porcentaje de agua y temperatura y c) temperatura y tasa líquido/sólido.	51
Figura 11.	Diagrama de Pareto de efectos estandarizados.	52
Figura 12.	Viscosidad del Glicerol:ChCl (Gly:ChCl)y de sus mezclas con diferentes porcentajes de agua destilada (3.2%, 10%, 20%, 30% y 37%)	53

en función de la temperatura, analizada utilizando el modelo de Voguel-Fulcher-Tamman.

Figura 13. Tensión superficial del Glicerol:ChCl (Gly:ChCl) y a diferentes proporciones de agua (3.2%, 10%, 20%, 30%, 37%) y agua destilada expresada en $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$. 54

Figura 14. Extracción de flavonoides utilizando la asistencia por microondas, evaluado con una relación líquido/sólido de 60.22:1 mL/g utilizando Glicerol:ChCl con un 37% de agua destilada, a diferentes temperaturas (313.15, 323.15, 338.15 y 363.15 K) y medidas en diferentes intervalos de tiempo (0, 60, 300, 600, 900 y 1200 s). 60

Figura 15. Modelo cinético de pseudo primer orden evaluado a una relación líquido/sólido de 60.22:1 mL/g utilizando Glicerol:ChCl con un 37% de agua destilada a diferentes temperaturas: a) 313.15 K, b) 323.15 K, c) 338.15 K y d) 363.15 K, y en diferentes intervalos de tiempo (0, 60, 300, 600, 900 y 1200 s), así también el inciso e muestra la comparación de todas las temperaturas. 62

Figura 16. Modelo cinético de pseudo segundo orden evaluado a una relación líquido/sólido de 60.22:1 mL/g utilizando Glicerol:ChCl con un 37% de agua a diferentes temperaturas: a) 313.15 K, b) 323.15 K, c) 338.15 K y d) 363.15 K, y en diferentes intervalos de tiempo (0, 60, 300, 600, 900 y 1200 s), así también el inciso e muestra la comparación de todas las temperaturas. 65

Figura 17. Datos experimentales utilizando la ecuación de Van't Hoff. 67

Índice de tablas

Tabla 1.	Trabajos reportados para la extracción de compuestos fenólicos a partir de bambú.	5
Tabla 2.	Modelos cinéticos y termodinámicos.	37
Tabla 3.	Extracción de flavonoides totales.	39
Tabla 4.	Componentes.	39
Tabla 5.	Valores independientes utilizados en el diseño de experimentos factorial para optimizar la extracción de flavonoides totales.	44
Tabla 6.	Valores experimentales de flavonoides y determinación de actividad antioxidante de los extractos de bambú en Glicerol:ChCl.	45
Tabla 7.	Análisis estadístico de los flavonoides.	46
Tabla 8.	Análisis estadístico DPPH.	47
Tabla 9.	Análisis estadístico FRAP.	47
Tabla 10.	Flavonoides totales extraídos en estudio cinético.	59
Tabla 11.	Flavonoides totales extraídos en estudio cinético (mg EQ/L).	74
Tabla 12.	Valores de k a diferentes temperaturas de extracción.	61
Tabla 13.	Parámetros termodinámicos de la extracción asistida por microondas de flavonoides a partir de hojas de bambú.	66

Lista de abreviaturas y símbolos

ChCl	Cloruro de colina.
C₀	Concentración inicial de flavonoides.
C_∞	Concentración de flavonoides totales en equilibrio.
C_e	Concentración de flavonoides totales en equilibrio.
C_t	Concentracion de flavonoides totales en tiempo t.
cP	Centipoise.
DEP	Disolvente Eutéctico Profundo.
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo.
EAU	Extracción Asistida por Ultrasonido.
EAMO	Extracción Asistida por Microondas.
EAG	Equivalentes de Ácido Gálico.
EQ	Equivalentes de quer cetina.
FRAP	Potencial Antioxidante Reductor Férrico.
EtOH	Etanol.
ET	Equivalentes de Trolox.
FT	Flavonoides totales.
Glicerol:ChCl	Disolvente eutéctico profundo natural de glicerol y cloruro de colina.
HAT	Transferencia de átomo de hidrógeno.
HBA	Aceptor de enlaces de hidrógeno (Hydrogen Bond Acceptor).
HBD	Donante de enlaces de hidrógeno (Hydrogen Bond Acceptor).
k₁	Constante de velocidad de primer orden.
k₂	Constante de velocidad de segundo orden.
MeOH	Metanol.
NADES	Disolventes Eutécticos Profundos Naturales (Natural Deep Eutectic Solvent).
min	Minutos.
mL	Mililitro.
mN • m⁻¹	Milinewton por metro.
nm	Nanómetro.
μL	Microlitro.

μm	Micrómetro
μM	Micromolar
TPTZ	2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina
Trolox	Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico
Ys	Rendimiento de flavonoides totales saturados.
Y_{max}	Máximo rendimiento de flavonoides totales.
ΔH	Cambio de entalpía.
ΔS	Cambio de entropía.
ΔG	Energía de Gibbs.

Resumen

En México, existen 36 especies leñosas y cuatro especies de bambú herbáceos, utilizadas en construcción y fabricación de utensilios. Esto genera una gran cantidad de residuos forestales ricos en compuestos de interés cosmetológico y farmacéutico, los cuales no son aprovechados. Tal es el caso de las hojas de bambú, que frecuentemente se queman, sin considerar que contienen compuestos de tipo flavonoide, muchos de ellos apreciados por sus propiedades antioxidante. Por ello, es importante proponer metodologías eficientes y ecoamigables para su extracción. En el presente trabajo se investigó la extracción de flavonoides presentes en hojas de bambú, empleando cinco disolventes eutécticos profundos naturales (NADES) y radiación de microondas evaluando las variables de flavonoides totales (FT), DPPH y FRAP. Estos disolventes, además de no ser tóxicos, poseen formulaciones estables y son adecuados para su aplicación directa en procesos alimentarios o cosméticos. El NADES más eficiente de la serie fue Glicerol:ChCl (2:1) con un 20 % de agua añadida, el cual dio los siguientes resultados en cada una de las pruebas (por gramo de peso seco de biomasa): 13.79 ± 0.26 mg de EQ, 53.27 ± 2.40 % ET y 27.02 ± 3.44 mg ET. Este disolvente se utilizó para optimizar el efecto de la temperatura, relación líquido/sólido y el porcentaje de agua, teniendo como respuesta FT, a través de un diseño factorial central compuesto y la metodología de superficie de respuesta. Los parámetros óptimos fueron: temperatura de 90 °C, tasa de $60.22; 1$ mL/g y un 37 % de agua. Bajo estas condiciones el valor obtenido experimentalmente fue de 21.71 ± 1.19 mg EQ/g de bambú. Para completar el estudio también se llevó a cabo un análisis dinámico de la transferencia de masa y se evaluaron las propiedades termodinámicas del proceso. El modelo de pseudo segundo orden describió la extracción, lo cual nos indica que la mayoría de los compuestos objetivos se encuentran dentro de la matriz vegetal. Este modelo mostró coeficientes de regresión superiores a 0.94 ($R^2 > 0.94$), lo que confirma su capacidad para describir el proceso. Además, se determinaron las constantes de velocidad a diferentes temperaturas, obteniéndose valores de 3.66×10^{-6} , 5.04×10^{-6} , 6.88×10^{-6} y 5.33×10^{-7} L mg⁻¹ s⁻¹ a 313.15, 323.15, 338.15 y 363.15 K, respectivamente. El estudio termodinámico confirmó que la extracción es un proceso endotérmico ($\Delta H = 8.65$ kJ mol⁻¹) y espontáneo ($\Delta G < 0$). Con base en los resultados presentados, se propone que el uso del NADES Glicerol:ChCl con un 37 % de agua para obtener extractos en compuestos antioxidantes a partir de las hojas de bambú, ya que el uso

de estos disolventes, no tóxicos, mejoran la estabilidad de los compuestos y están listos para utilizarse en formulaciones para uso farmacéutico y cosmético.

Palabras clave: Flavonoides, NADES, Asistencia de microondas.

Abstract

In Mexico, there are 36 woody species and four herbaceous bamboo species, which are used in construction and the manufacture of household utensils. This generates a large amount of forest waste, which is rich in cosmetologically and pharmaceutically valuable compounds, but is not utilized. This is the case with bamboo leaves, which are often burned without considering that they contain flavonoid compounds, many of which are valued for their antioxidant properties. Therefore, it is essential to propose efficient and eco-friendly extraction methodologies. This study investigated the extraction of flavonoids present in bamboo leaves using five natural deep eutectic solvents (NADES) and microwave radiation, evaluating the variables of total flavonoids (FT), DPPH, and FRAP. These solvents, in addition to being non-toxic, have stable formulations and are suitable for direct application in food and cosmetic processes. The most efficient NADES in the series was Glycerol:ChCl (2:1) with 20% added water, which yielded the following results in each test (per gram of dry biomass weight): 13.79 ± 0.26 mg EQ, 53.27 ± 2.40 % ET, and 27.02 ± 3.44 mg ET. This solvent was used to optimize the effects of temperature, solid/liquid ratio, and water percentage, using FT as a response variable through a central composite factorial design and response surface methodology. The optimal parameters were: temperature of 90°C , a ratio of 60.22:1 mL/g, and water content 37 %. Under these conditions, the experimentally obtained value was 21.71 ± 1.19 mg EQ/g of bamboo. To complete the study, a dynamic mass transfer analysis was conducted, and the thermodynamic properties of the process were evaluated. The pseudo-second-order model described the extraction process, indicating that most of the target compounds are located within the plant matrix. This model exhibited regression coefficients higher than 0.94 ($R^2 > 0.94$), confirming its suitability for accurately representing the process. In addition, the rate constants were determined at different temperatures, yielding values of 3.66×10^{-6} , 5.04×10^{-6} , 6.88×10^{-6} y 5.33×10^{-7} L mg⁻¹ s⁻¹ L mg⁻¹ s⁻¹ at 313.15, 323.15, 338.15 and 363.15 K, respectively. The thermodynamic study confirmed that the extraction process is endothermic ($\Delta H = 8.65 \text{ kJ mol}^{-1}$) and spontaneous ($\Delta G < 0$). Based on the results presented, the use of NADES Glycerol:ChCl with 37% water is proposed for obtaining antioxidant-rich extracts from bamboo leaves, as these non-toxic

solvents enhance the stability of compounds and are suitable for use in pharmaceutical and cosmetic formulations.

Keywords: Flavonoids, NADES, Microwave-assist

CAPÍTULO I

I.I Introducción

Los bambúes son pastos arborescentes altos pertenecientes a la familia *Poaceae*. Desde épocas muy antiguas están liados con los seres humanos, generalmente como material para diversos fines. Una forma de aprovechamiento de los bambúes menos conocida, fuera de Asia, es el consumo de sus brotes jóvenes, ya sea como alimento fresco, fermentado o enlatado (Chongtham y col., 2011), así como el uso de sus hojas con fines medicinales (Shibata y col., 1975; Lin y col., 2008, Cheng y col., 2023).

En el mundo existen más de 1250 especies de bambú, que crecen en regiones tropicales, subtropicales, templadas y húmedas, particularmente en Asia, América Latina y África (Lin y col., 2018). China es el mayor productor de bambú, con cerca de 400 especies (Wang y col., 2018). En México, de acuerdo con la Comisión Nacional Forestal, se han registrado 36 especies leñosas y cuatro especies de bambú herbáceos, los cuales se utilizan como material de construcción y fabricación de utensilios domésticos (Comisión Federal, 2020). En 1998 el Ministerio de Salud de China determinó que era una hierba medicinal y comestible (Wang y col., 2018; Jiang y col., 2019; Choudhury y col., 2012).

Durante el procesamiento para producir alimentos o utensilios se genera una gran cantidad de subproductos, tales como hojas y conchas de brotes; estos residuos pueden depositarse en vertederos o desintegrarse a través de la combustión para obtener energía, aunque, ninguno de estos métodos es amigable para el medio ambiente, ya que, en el primer caso se generan olores desagradables y la proliferación de mosquitos, mientras que en el segundo se produce bióxido de carbono (Lin y col., 2018).

La capa primaria y secundaria de la pared celular vegetal del bambú están constituidas por los biopolímeros celulosa (40%-45%), hemicelulosa (28%-34%) y lignina (13%-24%) (Xin y col., 2015). Particularmente las hojas contienen fibras dietéticas, compuestos volátiles (alcoholes, aldehídos, ácidos carboxílicos, furanos), polisacáridos, aminoácidos, ácidos fenólicos y flavonoides (Cheng y col., 2023; Gong y col., 2016; Jiang y col., 2019). Los últimos dos pertenecen a la familia de los compuestos fenólicos, los cuales se caracterizan

por tener en su estructura uno o más grupos hidroxilo enlazadas a uno o más anillos aromáticos (Ignat y col., 2011).

Existe una variedad de flavonoides presentes en las hojas de bambú los cuales le confieren importantes propiedades biológicas, tales como: antioxidantes antivirales, antibacterianas, antiinflamatorios, anticancerígenos y hepatoprotectores (Zhang y col., 2010; Fu y col., 2013; Tanaka y col., 2014), por lo que los extractos de las hojas de bambú ya han sido admitidos como un aditivo alimentario natural por el Ministerio de Salud de China (Wang y col., 2018; Su y col., 2019).

Particularmente, en la literatura se han reportado diferentes métodos de extracción de flavonoides a partir de hojas de bambú, los cuales incorporan el uso de disolventes orgánicos, extracción asistida por ultrasonido y métodos enzimáticos (Stalikas y col., 2007; Alesci y col., 2015). La primera de ellas es la tradicional y comúnmente utilizada, ya que utiliza equipos sencillos; sin embargo, en algunos casos los disolventes pueden ser contaminantes y si se usa calentamiento por conducción el consumo de energía es alto.

Para moderar los efectos desfavorables causados por los disolventes volátiles orgánicos, se han desarrollado y evaluado otros disolventes respetuosos con el medio ambiente para recuperar compuestos fenólicos de diversos tipos de biomasa (Lu y Liu, 2020). Por ejemplo, se han empleado líquidos iónicos (Wang y col., 2018), fluidos supercríticos (Fabrowska y col., 2016) y disolventes eutécticos profundos naturales (Airouyuwa y col., 2022). Paralelamente, se ha innovado en el uso de técnicas alternativas de extracción, que implican el uso de microondas (Milani y col., 2020), ultrasonido (Parniakov y col., 2015) o líquidos presurizados (Onofrejová y col., 2010)

Particularmente el empleo de disolventes eutécticos profundos (*DES*, por sus siglas en inglés, *Deep Eutectic Solvents*) ha ganado atención en los últimos años debido a su carácter de disolvente ecológico y su consideración como una alternativa favorable a los disolventes convencionales. Estos disolventes se crean combinando sales y/o compuestos moleculares, en los cuales uno de los componentes desempeña el papel de donante de enlaces de hidrógeno (*HBD*, por sus siglas en inglés, *Hydrogen Bond Donor*) y el otro actúa como aceptor de enlaces de hidrógeno (*HBA*, por sus siglas en inglés, *Hydrogen Bond Acceptor*) en una proporción molar específica (Zhao y col., 2015), de tal forma que la mezcla resultante tiene un punto de fusión muy inferior al de sus componentes puros. Recientemente, los disolventes eutécticos profundos generados a partir de compuestos de origen natural, tales

como carbohidratos, terpenos, alcoholes y ácidos orgánicos, han sido categorizados como disolventes eutécticos profundos naturales (Dai y col., 2016).

En este sentido, las extracciones con disolventes eutécticos profundos naturales (*NADES*, por sus siglas en inglés, *Natural Deep Eutectic Solvents*) y asistidas por microondas constituyen una alternativa interesante para obtener compuestos de interés a partir de material vegetal, puesto que se ha demostrado que pueden lograrse mayores rendimientos, en un menor tiempo, con respecto a los disolventes orgánicos y el calentamiento por conducción, lo cual minimiza tanto consumo energético como impacto ambiental.

De acuerdo con la literatura, la “extracción verde” o “amigable con el medio ambiente” es uno de los temas clave en la investigación y el desarrollo científico e industrial, ya que se emplea para diseñar procesos que ofrecen una utilización óptima de solventes y energía, minimizando el impacto ambiental y beneficiando la salud humana (Radošević y col., 2016; Wei y col., 2015).

Por lo anterior, este trabajo tiene como finalidad optimizar las condiciones de operación para el proceso de extracción de flavonoides asistida por microondas a partir de hojas de bambú utilizando *NADES* mediante un diseño experimental factorial central compuesto y la metodología de superficie de respuesta. Asimismo, una segunda parte del estudio contempla la descripción termodinámica y cinética del proceso, ya que, comúnmente como lo reporta Jurinjak-Tušek y colaboradores (2022) los modelos de superficie de respuesta no logran proporcionar información detallada sobre la transferencia de masa y dinámica del proceso, debido a que su función principal es explicar cómo las variables experimentales seleccionadas influyen en el proceso de extracción.

I.2 Antecedentes

Actualmente existe una mayor exigencia de implementar métodos de extracción verdes, que sean seguros y sustentables, en procesos industriales (González y col., 2017; Radošević y col., 2015; Wei y col., 2015). En este sentido, los disolventes eutécticos profundos, se están abriendo paso como disolventes no tóxicos y biodegradables para la extracción de compuestos bioactivos de productos naturales (Zhen Lin y col., 2020), entre ellos compuestos fenólicos (Ruesgas-Ramón y col., 2017). No obstante, su aplicación en la recuperación de moléculas de interés a partir de residuos de bambú es todavía escasa.

En la Tabla 1 se muestran algunos de los trabajos publicados recientemente sobre la extracción de compuestos de tipo fenólico presentes en hojas, brotes y conchas de brotes de diferentes especies de bambú; en todos los casos que ahí se mencionan se utilizó alguna metodología propia de la química verde.

Por ejemplo, en el año 2012, Xie y colaboradores desarrollaron una extracción eficiente de flavonoides, asistida por mecano-química, a partir de hojas de bambú (*Phyllostachys edulis*), los resultados obtenidos fueron los siguientes: flavonoides totales (expresados como mg de rutina/mL de extracto): 13.27 ± 0.12 mg rutina/mL obtenidos utilizando una solución acuosa de Na_2CO_3 al 12% en peso a 25°C ; para evitar la oxidación de los compuestos fenólicos se añadió 2% en peso de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, con la cual, se incrementó el rendimiento a 15.76 ± 0.07 mg rutina/mL.

En el año 2014, Shang y colaboradores realizaron la extracción de compuestos fenólicos, fenoles y flavonoides totales, a partir de bambú negro (*Phyllostachys nigra*), utilizando mezclas de etanol en agua en diferentes proporciones, presurizadas y sobrecalentadas. Las mejores condiciones de extracción fueron: tamaño de partícula de material: $425 \mu\text{m}$, 200°C por 25 minutos; no obstante, las proporciones óptimas de etanol en la mezcla etanol/agua variaron de la siguiente forma: para fenólicos totales 50%, flavonoides totales 75% y para la prueba de DPPH 25%. Particularmente, la cantidad de fenoles totales y flavonoides totales (expresados como equivalentes de ácido gálico y de quercetina por cada 100 g de hojas secas, respectivamente), fueron: 2682 ± 0.9 mg EAG/100 g y 657 ± 1.7 mg EQ/100 g; mientras que la mayor capacidad atrapadora de radicales libres obtenidas en este estudio (expresada como equivalentes de ácido ascórbico necesarios para inhibir 50% del radical DPPH) fue de 3 g/100 g de hojas secas.

Tabla I. Trabajos reportados para la extracción de compuestos fenólicos a partir de bambú.

Material	Método (disolvente o técnica)	Metabolitos obtenidos	Referencia
Hojas de bambú (<i>Phyllostachys edulis</i>)	Extracción asistida por mecano-química (Na_2CO_3 y $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)	Flavonoides (15.76 ± 0.07 mg rutina/mL de extracto)	Xie y col., 2012
Concha y brote de bambú (<i>Phyllostachys edulis</i> y <i>Phyllostachys aureosuleata</i>)	Etanol 80%, EAU ¹	Fenoles totales: del brote (<i>Phyllostachys aureosuleata</i> fue 14.642 ± 0.010 mg EAG ² /g y de <i>Phyllostachys edulis</i> fue 10.672 ± 0.038 mg EAG/g) y de la concha (<i>Phyllostachys aureosuleata</i> fue 9.103 ± 0.004 mg EAG/g y de <i>Phyllostachys edulis</i> fue 16.692 ± 0.028 mg EAG/g) flavonoides totales: del brote (<i>Phyllostachys aureosuleata</i> fue 4.088 ± 0.033 mg rutina/g y de <i>Phyllostachys edulis</i> fue 1.938 ± 0.021 mg rutina/g) y de la concha (<i>Phyllostachys aureosuleata</i> fue 1.292 ± 0.002 mg rutina/g y de <i>Phyllostachys edulis</i> fue 6.325 ± 0.008 mg rutina/g)	Jin y col., 2012
Hojas de bambú moso (<i>Phyllostachys edulis</i>)	EAU ¹	Flavonoides (4.538 mg rutina/g)	Jiang, 2013
Hoja de bambú negro (<i>Phyllostachys nigra</i>)	Extracción con líquidos presurizados (etanol a diferentes concentraciones)	Fenoles totales (2682 ± 0.9 mg EAG /100 g de peso seco) y flavonoides totales (657 ± 1.7 mg EQ/ 100 g de peso seco)	Shang y col., 2014
Hojas de bambú (<i>Phyllostachys heterocycla</i>)	EAU ¹ , líquidos iónicos	Flavonoides (4.592 ± 0.07 mg/g de hojas secas)	Wang y col., 2018
Brote de bambú (<i>Phyllostachys pubescens</i>)	EAMO ² y metanol	Polifenoles (54.80 ± 1.6 mg EAG/ g peso seco) y de flavonoides totales (1.30 ± 0.1 mg EQ/ g de peso seco)	Milani y col., 2020
Hojas de bambú (<i>Phyllostachys heterocycla</i>)	EAMO ² utilizando etanol 70% y extracción tradicional soxhlet	Flavonoides (rendimiento de 4.67 %)	Xu y col., 2021

Nota: ¹Extracción asistida por ultrasonido. ²Extracción asistida por microondas.

En 2018, Wang y colaboradores desarrollaron un método eficiente de extracción asistida por ultrasonido, utilizando como disolvente el 1-butil-3-metilimidazolio ([Bmim]Br), elegido de una serie de 15 líquidos iónicos, para la extracción de flavonoides, a partir de hojas de bambú *Phyllostachys heterocycla*; posteriormente se utilizó *n*-butanol para recuperar los flavonoides del líquido iónico. Utilizando un diseño de experimentos de Box-Behnken y el método de superficie de respuesta, fueron evaluados el efecto de la concentración de [Bmim]Br, tasa líquido/sólido y tiempo, a partir de lo cual se obtuvieron las siguientes condiciones óptimas: 1.5 mol/L, 41 mL/g y 90 min, respectivamente. Bajo estos parámetros, la cantidad promediada obtenida de flavonoides totales (evaluada mediante HPLC considerando el contenido de los flavonoides más abundantes) fue de 4.592 mg/g de biomasa. Posteriormente, los autores lograron recuperar el 97.87 ± 0.25 % y 96.52 ± 0.63 % de los flavonoides y el líquido iónico, a través de una extracción líquido-líquido con *n*-butanol.

Por otra parte, Milani y col. (2020) evaluaron la extracción, asistida por microondas, de compuestos fenólicos a partir de los brotes de *Phyllostachys pubescens*, utilizando metanol como disolvente. El diseño experimental de estos autores se basó en un modelo central compuesto y el análisis de las variables evaluadas se llevó a cabo mediante la metodología de superficie de respuesta. Las condiciones óptimas, estimadas por el modelo, fueron las siguientes: relación sólido-líquido de 6.25 mg de biomasa/mL metanol durante 4 min a 105 °C; utilizando estos parámetros, los resultados fueron los siguientes: fenoles totales 54.8 ± 1.6 mg EAG/g de peso seco y flavonoides totales (1.3 ± 0.1 mg EQ/g de peso seco), en comparación con el método tradicional, a mayor tiempo y menores cantidades de extracción (11.2 ± 0.1 mg EAG/g de peso seco).

En 2021, Xu y colaboradores extrajeron flavonoides de las hojas de *Phyllostachys heterocycla* utilizando la tecnología de extracción asistida por microondas. El diseño experimental de estos autores se basó en un modelo de un solo factor y diseño Plackett-Burman con cuatro variables independientes (concentración de etanol, relación sólido-líquido, tiempo de extracción y potencia de microondas) a dos niveles (± 1) para diseñar 12 puntos experimentales con el fin de explorar los efectos de las variables independientes mencionadas en el rendimiento de extracción de flavonoides de las hojas de bambú. El análisis de las variables evaluadas se llevó a cabo mediante la metodología de superficie de respuesta con el fin de obtener las condiciones óptimas de extracción e investigar los efectos de las variables independientes sobre el rendimiento de flavonoides, se realizó un diseño Box-Behnken con tres variables, es decir, la concentración de etanol, el tiempo de extracción y la potencia de microondas, en tres niveles, utilizando el software Design Expert. Las condiciones óptimas, estimadas por el modelo, fueron las siguientes: relación sólido-líquido de 4 g de biomasa/120 mL de etanol al 70.01% durante 24.9 min a una potencia de 559 W. Bajo estos parámetros, se obtuvo un rendimiento de flavonoides del 4.67% utilizando rutina como estándar, en comparación con el método tradicional de extracción con soxhlet, a mayor tiempo (7 h) a 100°C se obtiene un menor rendimiento de extracción (3.35%).

El único reporte en la literatura en el que se implementó el uso de *NADES* para tratar brotes y vaina de la especie *Bambusa oldhamii* es el de Lin y colaboradores (2020). En su estudio, los autores optimizaron la extracción de proteínas de ambas secciones del bambú utilizando el DES formado a partir de ácido levulínico y cloruro de colina (en una relación molar 1:6).

Resulta interesante que hasta el momento no existan reportes del uso de NADES para la extracción de compuestos fenólicos a partir de bambú, ya que en los últimos años se han propuesto estos disolventes como una técnica verde emergente para recuperar compuestos fenólicos a partir de material vegetal y en particular, aquel que se considera residuo agroindustrial. Cabe mencionar que los DES basados en cloruro de colina se han utilizado exitosamente para extraer compuestos fenólicos, la mayoría de los DES de cloruro de colina (Ch-DES) pueden preservar las bioactividades de los compuestos objetivo, lo que indica un gran potencial de aplicación en alimentos, productos farmacéuticos y cosméticos. Lo más interesante es que los Ch-DES ofrecen la ventaja de poder ser adaptados en propiedades fisicoquímicas, como viscosidad, pH y polaridad, al variar los donantes de enlaces de hidrógeno (Ruesgas-Ramón y col., 2017; Herrera-Beltrán y col., 2023).

Por otra parte, los estudios cinéticos y termodinámicos de las extracciones son fundamentales para conocer el proceso. Por ejemplo, So y Macdonald (1986) reportaron la cinética de extracción de aceite de canola utilizando hexano como disolvente, describiendo la cinética como un modelo de lavado/ difusión en dos etapas, haciendo referencia al lavado como un alto coeficiente cinético (una alta tasa de transferencia del aceite de la superficie sólida al solvente) y a la difusión como un bajo coeficiente cinético (una baja tasa de transferencia del aceite restante desde el interior del sólido al solvente). Para el análisis termodinámico Santos y col. (2015), propusieron la ecuación de van't Hoff para estimar los parámetros termodinámicos como los cambios de entalpía y entropía de la extracción. En esta ecuación se describe la relación entre la entalpía, la entropía y los cambios de energía de Gibbs en función del tercer principio de la termodinámica.

Los modelos cinéticos más utilizados para describir los procesos de extracción asistida por microondas consideran cinéticas de pseudo-primer orden y segundo orden, como lo reportan Albarri y Şahin (2021). En particular, los modelos de pseudo-segundo orden han sido los más adecuados en numerosos trabajos en los cuales se utilizaron microondas (Chan y col., 2014; Krishnan y Rajan, 2016; Chutia y Mahanta, 2021; Kurtulbaş, 2021; Sharma y Dash, 2022).

Por ejemplo, Krishnan y Rajan (2016), realizaron el estudio cinético y termodinámico de la extracción asistida por microondas de flavonoides de *Terminalia bellerica* a temperaturas entre 40 °C y 100 °C utilizando agua como disolvente. En el proceso, la relación

líquido/sólido (40 mL/g) y la temperatura fueron las variables con mayor impacto en la cinética de segundo orden y el rendimiento, siendo 25.21 mg EQ/g la máxima cantidad de flavonoides extraída. El valor positivo del cambio en la entalpía ($\Delta H = 15.5488 \text{ kJ/mol}$) indica que el proceso fue endotérmico. El valor positivo del cambio en la entropía ($\Delta S = 54.4151 \text{ J/mol K}$) indica el aumento en el desorden del sistema de extracción sólido/líquido debido a la transferencia del soluto desde una fase sólida más ordenada a una fase líquida menos ordenada.

En 2021, Kurtulbaş usó microondas y el DES compuesto por ácido cítrico y etilenglicol (relación molar de 1:4), en la extracción de compuestos polifenólicos de las cáscaras de cereza ácida (*Prunus cerasus L.*). Dependiendo de la potencia de la radiación (300 vs 500 W) y el tiempo del experimento, la cantidad total de sustancias fenólicas varió entre 4.29 y 33.61 mg EAG/g de material fresco bajo diferentes condiciones de temperatura y relación sólido/líquido. En ese estudio, el modelo cinético de pseudo-segundo orden ($R^2 > 0.90$) se ajustó exitosamente a los datos experimentales a 345, 351 y 352 K, para las cuales se determinaron las siguientes constantes de velocidad (k): 2.07×10^{-4} , 1.89×10^{-4} y $3.01 \times 10^{-5} \text{ L mg}^{-1} \text{ s}^{-1}$, respectivamente. Por otra parte, los autores estimaron a 351 K los valores de $\Delta H = 281.98 \text{ kJ/mol}$, $\Delta S = 0.834 \text{ kJ/mol K}$ y $\Delta G = -10.752 \text{ kJ/mol}$, lo cual corresponde a un proceso endotérmico y espontáneo.

Recientemente, Sharma y Dash (2022) trajeron compuestos fenólicos, antocianinas y antioxidantes de la pulpa de jamón negro (*Syzygium cumini*) utilizando el DES conformado por cloruro de colina y ácido cítrico monohidratado (relación molar 1:1) y microondas. A una potencia de 100, 200, 300 y 400 W durante 240 segundos, se obtuvo un rendimiento de extracción entre 37.671 y 40.632 mg de EAG/g. En estas condiciones, la constante de velocidad de extracción (k) aumentó de 1.94×10^{-4} a $2.11 \times 10^{-4} \text{ g mg}^{-1} \text{ s}^{-1}$. El modelo cinético de pseudo-segundo orden presentó el mejor ajuste en función de los distintos niveles de potencia y tiempo evaluados.

Dado que hasta el momento no se ha estudiado la cinética y termodinámica de la extracción asistida por microondas de compuestos fenólicos a partir de hojas de bambú, utilizando un DES, este trabajo resulta pertinente.

I.3 Planteamiento del problema

Existen 1641 especies de bambú, las cuales crecen vertiginosamente en regiones tropicales y subtropicales en todo el planeta. En México, de acuerdo con la Comisión Nacional Forestal, se han identificado 36 especies leñosas y cuatro especies de bambú herbáceos. Debido a que sus tallos son flexibles y resistentes, en muchos países, el bambú se utiliza como material de construcción y para elaborar utensilios domésticos. Por otra parte, los brotes de bambú son aprovechados como alimento, mientras que sus hojas son consideradas frecuentemente como residuos, a pesar de que se ha documentado su uso en la medicina tradicional china.

Las hojas de bambú contienen compuestos fenólicos de tipo flavonoide, los cuales tienen propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, etc. Por lo que pueden aprovecharse en formulaciones cosméticas o farmacéuticas. De esta forma, se le otorga una segunda vida a un residuo agroindustrial. Sin embargo, resulta indispensable que la extracción de estos metabolitos secundarios se realice con procedimientos eficientes y amigables con el medio ambiente.

En el presente trabajo se propone optimizar condiciones de operación del proceso de extracción de flavonoides que se encuentran en hojas de bambú, utilizando disolventes eutécticos profundos naturales (*NADES*) y radiación de microondas, e investigar la cinética y termodinámica de extracción del proceso optimizado.

I.4 Justificación

Actualmente se generan grandes cantidades de residuos agrícolas y forestales en todo el mundo, los cuales pueden ocasionar problemas ambientales si no son tratados adecuadamente. Por otra parte, son una fuente importante de compuestos químicos de interés para las industrias farmacéuticas y cosméticas, entre otras. De tal manera que resulta relevante optimizar procedimientos que permitan extraerlos de forma eficiente y sin contaminar, lo cual implica conjuntar elementos de la Química Verde y la Ingeniería Química. Particularmente, los disolventes eutécticos profundos naturales (*NADES*) y las microondas, han ganado terreno, en las últimas dos décadas, en el campo de las técnicas verdes, ya que se han propuesto como alternativas menos tóxicas y ahorradoras de energía con respecto a los tradicionales disolventes orgánicos y al calentamiento.

En México, de acuerdo con la Comisión Nacional Forestal se han registrado 36 especies leñosas y cuatro especies de bambú herbáceos. Esta planta generalmente es empleada por la comunidad rural para la construcción de casas y muebles por ser un material accesible resistente y durable. No obstante, es frecuente que las hojas simplemente se quemén, sin considerar que contienen flavonoides, ácidos fenólicos y lactonas, muchos de ellos apreciados por sus propiedades medicinales y antioxidantes.

Por lo anterior, resulta de interés realizar la extracción de flavonoides presentes en hojas de bambú, utilizando disolventes eutécticos profundos naturales (*NADES*) y radiación de microondas para aprovechar ese residuo forestal.

1.5 Hipótesis

El uso de disolventes eutécticos profundos naturales y microondas permiten una extracción eficiente y termodinámicamente favorable para la extracción de flavonoides totales presentes en hojas de bambú.

1.6 Objetivos

General

Optimizar y describir cinética y termodinámicamente un proceso para la extracción de compuestos fenólicos presentes en las hojas de bambú utilizando disolventes eutécticos profundos naturales y microondas.

Específicos

- I. Preparar 5 *NADES* a partir de materias primas renovables y de bajo impacto al ambiente y a la salud.
- II. Comparar la selectividad de los *NADES* en la extracción de flavonoides totales a partir de hojas de bambú.
- III. Optimizar los parámetros que influyen en la extracción (temperatura, proporción *NADES*/agua y relación líquido:sólido) de los flavonoides totales presentes en las hojas de bambú, a través de un diseño factorial central compuesto, utilizando la mezcla *NADES*/agua más eficiente.
- IV. Evaluar la cinética y termodinámica del proceso de extracción bajo las condiciones óptimas estimadas en el objetivo anterior.

CAPÍTULO 2

2.1 Marco teórico

2.1.1 Bambú

Los bambúes son plantas que se caracterizan por tener tallos que varían entre delgados y gruesos, así como hojas largas y estrechas. Generalmente, son definidos como gramíneas y pueden presentarse en forma herbácea, como el pasto, o leñosa. Esta especie se encuentra incluida en la subfamilia *Bambusoideae*, una de las subfamilias reconocidas dentro de la familia *Poaceae* (Ruiz-Sánchez y col., 2015).

En México se encuentran varias especies de bambú, que han sido introducidas o son endémicas del país. Cabe destacar, que las especies que más se cultivan en México son *Bambusa oldhamii*, *B. vulgaris*, *Phyllostachys aurea*, *P. bambusoides* y *Guadua angustifolia*. De acuerdo con ciertas investigaciones, se ha reportado que los estados con mayor disposición de bambú son Chiapas, en primer lugar, seguido por Veracruz y Oaxaca. Cabe destacar que las especies *Guadua angustifolia* y *Bambusa oldhamii* son utilizadas con fines alimenticios en el estado de Veracruz y en la Sierra Nororiental de Puebla (Aguirre-Cadena y col., 2023; Ruiz-Sánchez y col., 2015).

2.1.1.1 Valor nutricional de los brotes de bambú

Chongtham y colaboradores (2011) describen que los principales nutrientes en los brotes de bambú son proteínas, carbohidratos, aminoácidos, minerales, grasa, azúcar, fibra y sales inorgánicas. El contenido de aminoácidos presente en los brotes es considerablemente mayor al encontrado en otras verduras como la zanahoria, la cebolla y la calabaza (Aguirre-Cadena y col., 2023). En cuanto a los minerales, se encuentran potasio, calcio, manganeso, zinc, cromo, cobre, hierro y, en menores proporciones fósforo y selenio. Los extractos de brotes de bambú complementan los antioxidantes que se producen en el cuerpo humano (Gupta y col., 2010), reduciendo el estrés oxidativo y, por lo tanto, el riesgo de enfermedades crónicas (Lim y Lee, 2013).

2.1.1.2 Valor nutricional de las hojas de bambú

Las hojas de bambú contienen proteínas como glutelina, lisina, metionina, betaína, colina y enzimas proteolíticas como nucleasa y ureasa (Cheng y col., 2023).

A lo largo de los siglos han sido empleadas en la medicina tradicional china para reducir la fiebre y aliviar la inflamación, y recientemente se descubrió que son clínicamente útiles en el tratamiento de la hipertensión, la arteriosclerosis, las enfermedades cardiovasculares y ciertas formas de cáncer (Shibata y col., 1975; Lin y col., 2008; Cheng y col., 2023).

En particular, las hojas de la especie *Bambusa* han sido utilizadas tradicionalmente para controlar la tos, fiebre y la lepra. Por su parte, la especie de *B. arundinacea* ha demostrado poseer propiedades antiinflamatorias, antiulcerosas, antimicrobiana e hipoglucemiantes. Asimismo, se ha establecido que los extractos de hojas de bambú son una fuente rica en flavonoides (Sangeetha y col., 2015).

2.1.1.3 Usos

El bambú es uno de los recursos naturales de más rápido crecimiento en muchos países del mundo y es un importante material de construcción y elaboración de utensilios domésticos. El bambú es considerado como un material económico y sustentable; además, tiene un gran potencial para ser utilizado como sustituto de la madera (Kaur y col., 2016).

El bambú tiene un amplio valor ecológico debido a que es un material de crecimiento rápido e incluso los tallos que se cortan anualmente tienden a tener un rebrote constante. Una plantación de 20×20 m produce después de cinco años suficiente materia prima para construir dos casas de 8×8 m, de acuerdo con datos encontrados en la Fundación del Medio Ambiente del Bambú, de Bali, Indonesia. En referencia a la industria, el bambú es utilizado para producir papel en Brasil e India; en este último, el 80% del papel que producen proviene del bambú. (Ordóñez y col., 2013).

Además, sus hojas han sido consumidas en China desde hace mucho tiempo debido a que poseen numerosos metabolitos secundarios con propiedades tanto medicinales como nutritivas, las cuales están asociadas con beneficios para la salud humana. El extracto de hojas de bambú puede presentarse como un polvo de color marrón claro obtenido de dichas hojas y contiene una alta concentración de componentes bioactivos, entre los cuales destacan los flavonoides, ácidos fenólicos y lactonas cumarínicas (Gao y col., 2019).

De acuerdo con Singhal (2024), las hojas de bambú también pueden usarse en la elaboración de galletas y pasteles de arroz; en estos últimos, aumentan dureza y masticabilidad. Asimismo, un estudio reportó que se elaboró vino de bambú a partir de sus

hojas, el cual se obtiene mediante la fermentación alcohólica de hojas y material alimenticio con almidón, resultando un producto rico en vitaminas B solubles en agua.

2.1.2 Principales compuestos antioxidantes presentes en las hojas de bambú

Entre los principales compuestos presentes en los extractos obtenidos de hoja de bambú se encuentran los compuestos fenólicos, como ácidos fenólicos y flavonoides, además de polisacáridos, poliesteroles y terpenoides (Indira y col., 2022).

2.1.2.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos, fenoles o polifenoles son designaciones para un tipo de metabolitos secundarios de las plantas, que tienen en común la presencia de al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo. Esto da como resultado un conjunto muy heterogéneo, tanto por su estructura como por sus propiedades, abarcando una amplia gama de compuestos químicos desde moléculas pequeñas hasta polímeros de más de 30000 Da (Bravo, 1998).

Estos compuestos son ubicuos en el reino vegetal (verduras, frutas, cereales) y algunos de sus derivados (zumos de frutas, té, café, vino, etc.). Están implicados en muchas funciones de importancia para las plantas, que van desde su morfología, hasta la reproducción, el crecimiento, la resistencia a depredadores y patógenos, así como la prevención de la germinación prematura (Bravo, 1998).

Los compuestos fenólicos se clasifican como fenoles simples o polifenoles en función del número de unidades de fenol en la molécula. Entre ellos se encuentran cumarinas, ligninas, lignanos, taninos condensados e hidrolizables, ácidos fenólicos y flavonoides (Soto-Vaca y col., 2012).

Los flavonoides y los ácidos fenólicos tienen una gran capacidad para neutralizar radicales libres, por lo que en numerosas publicaciones se ha asociado el consumo de estos antioxidantes con la prevención o el retraso del daño oxidativo de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos en el cuerpo (Balsano y Alisi, 2009).

2.1.2.1.1 Flavonoides

Los flavonoides son algunos de los fenólicos más ampliamente distribuidos en los tejidos vegetales y, a menudo, responsables junto con los carotenoides y las clorofilas de sus colores azul, morado, amarillo, naranja y rojo. La familia de los flavonoides incluye flavonas, flavonoles, isoflavonoles, antocianinas, antocianidinas, proantocianidinas y catequinas. Todos los flavonoides se derivan de los aminoácidos aromáticos, fenilalanina y tirosina, y tienen una estructura base de tres anillos (Fig. 1). La variación en la estructura de los flavonoides proviene de las reacciones de hidroxilación, prenilación, alcalinización y glicosilación, que alteran la estructura base (Khoddami y col., 2013).

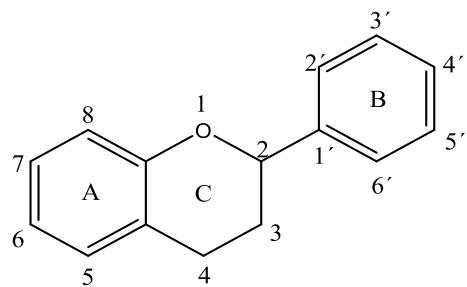


Figura 1. Estructura básica de los flavonoides.

La atención que han recibido los flavonoides se debe a su gran potencial para su aplicación en las industrias cosmética, farmacéuticas y de alimentos, debido a sus efectos beneficiosos para la salud, incluidos los efectos antioxidantes, antifúngicos, antitumorales y antidiabéticos (Xu y col., 2021). En el caso del bambú, estos metabolitos secundarios están presentes en las hojas, raíces y xilema.

Los principales flavonoides presentes en las hojas de bambú son: la orientina, la homoorientina, la vitexina y la isovitexina (Fig. 2). Los cuatro son de tipo C-glicósidos y exhiben una amplia gama de actividades biológicas, incluyendo actividades antimicrobianas, antivirales, antiinflamatorias, anticancerígenas y antiparasitarias, así como también contribuyen a evitar enfermedades cardiovasculares y la lipoperoxidación, además de brindar radioprotección (Xie y col., 2013; Lan y col., 2020).

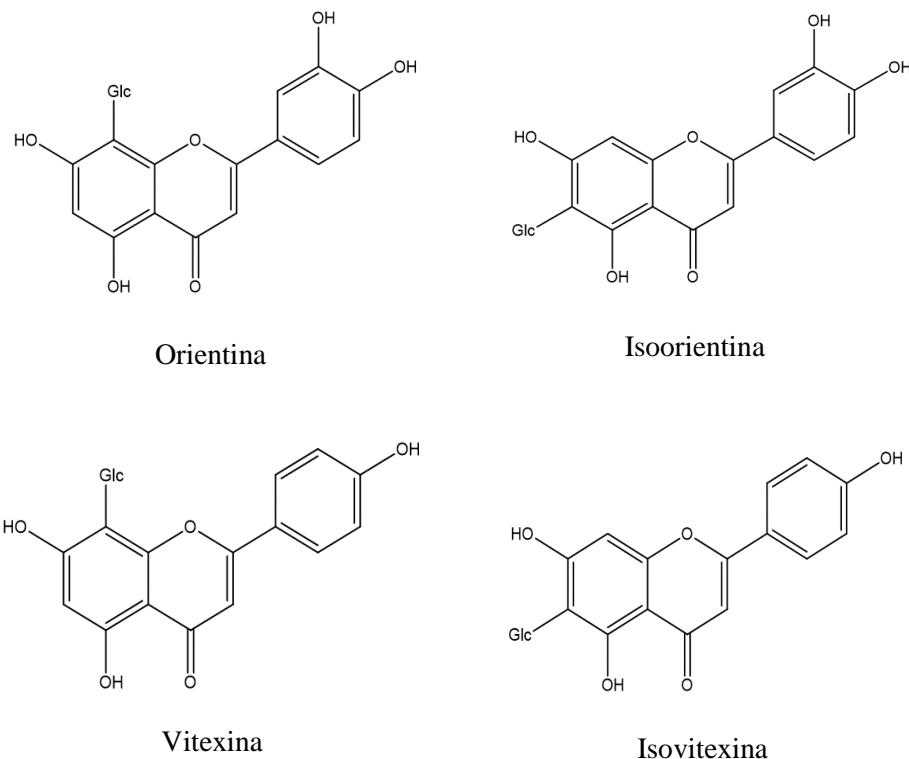


Figura 2. Estructuras de flavonoides presentes en las hojas de bambú

2.1.3 Pruebas para determinar la actividad antioxidante

La actividad antioxidante de una muestra, particularmente si se trata de un extracto, no puede ser evaluada utilizando únicamente un ensayo, debido a que los mecanismos por los cuales se oxidan los diferentes componentes de la muestra pueden ser de diferente tipo. Es por ello que en la práctica se emplean diversos modelos de pruebas *in vitro* para realizar un primer cribado. En la primera parte de este trabajo solo se utilizarán dos de ellas: los ensayos de DPPH (radical 1,1-difenil-2-pricil-hidrazilo) y FRAP (capacidad de reducción férrica del plasma). Los mecanismos de las reacciones químicas involucradas en las pruebas de DPPH y FRAP se pueden dividir en dos categorías: transferencia de átomos de hidrógeno y transferencia de un solo electrón (Munteanu y Apetrei, 2021). Debido a esto, en ocasiones, no es posible encontrar una correlación directa entre los resultados de ambas.

2.1.3.1 Ensayo de DPPH (radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

Un radical libre se define como una molécula o fragmento de molécula que posee uno o más electrones desapareados, lo que le confiere una alta reactividad. Esta prueba hace uso del

radical 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo, mejor conocido como DPPH, el cual tiene un electrón desapareado en un átomo de nitrógeno (Figura 3).

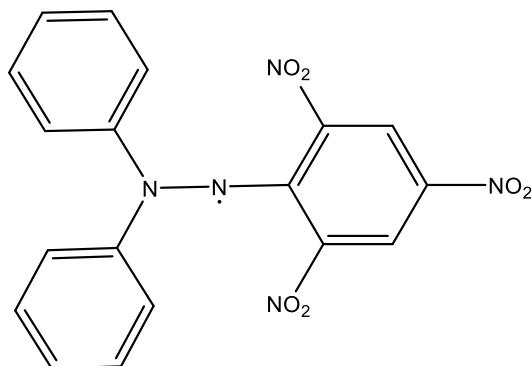


Figura 3. Estructura del radical 2,2- difenil-1-picril-hidrazilo.

El ensayo tiene como propósito valorar la capacidad atrapadora de radicales libres que posee un compuesto o una mezcla, como es el caso de los extractos obtenidos de plantas. El método fue introducido por Blois en 1958, quien demostró por primera vez que el radical DPPH tiene la capacidad de aceptar un átomo de hidrógeno cuando reacciona con compuestos antioxidantes. Sin embargo, dependiendo de las condiciones experimentales y la estructura molecular del compuesto antioxidante, la transferencia de un electrón también puede contribuir a neutralizar al radical.

La neutralización del radical DPPH que ocurre durante la reacción es el principio fundamental de este ensayo (Sharma y Bhat, 2009).

El radical DPPH tiene un color violeta notablemente estable e intenso. Cuando una solución de DPPH se mezcla con una sustancia capaz de donar un átomo de hidrógeno, su color cambia a amarillo pálido, debido a la formación de la hidrazina DPPH-H. La reacción se monitorea mediante espectroscopía visible a 515nm (Mishra y col., 2012; Gulcin y Alwasel, 2023).

2.1.3.2 Ensayo de la capacidad de reducción férrica del plasma (FRAP)

El ensayo FRAP es un método que evalúa la capacidad que tienen los compuestos antioxidantes de transferir electrones al complejo férrico-TPTZ (tri-piridiltiazina) que se muestra en la figura 4, en el cual los iones Fe^{3+} pasan a Fe^{2+} , con el concomitante cambio en el color de la solución de amarillo pálido a azul. A diferencias de otros métodos que siguen

el mismo mecanismo, este ensayo se realiza en condiciones de pH ácido (pH=3.6) para mantener la solubilidad del hierro.

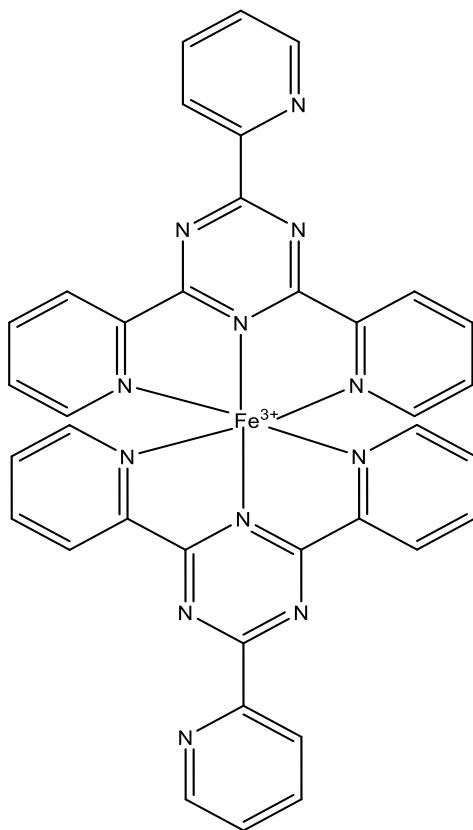


Figura 4. Estructura del complejo férrico-TPTZ (tri-piridiltriazina).

Al igual que en el ensayo de DPPH, la prueba no está diseñada para identificar un tipo específico de compuesto antioxidante. Esto significa que en algunas ocasiones puede haber interferencias de cualquier semirreacción que tenga un potencial redox más negativo, es decir, con mayor tendencia a donar electrones, lo que provocaría la reducción del ion férrico (Benzie y Strain, 1996; Munteanu y Apetrei, 2021).

A pesar de sus limitaciones, ambas pruebas se utilizan para determinar capacidad antioxidante de compuestos de origen natural, debido a que son sencillas de usar y proporcionan un resultado preliminar de la naturaleza de la muestra.

2.1.4 Química verde

La química verde se define como “el diseño de procesos y productos para reducir o eliminar el uso y generación de sustancias peligrosas”. De acuerdo con Anastas & Eghbali (2010) el

diseño es el aspecto más importante de la química verde. Este concepto ha tenido un gran impacto desde su gestación debido a que va más allá de un laboratorio de investigación, hasta cierto punto se ha convertido en un estilo de vida, estando presente en las industrias, en la educación y la sociedad en general.

Muchos procesos que se llevan a cabo en los laboratorios o la industria se basan en el uso de disolventes orgánicos, lo que puede tener ciertas desventajas, ya que muchos de ellos son tóxicos, inflamables, explosivos, corrosivos y, en consecuencia, dañan la salud y el medio ambiente. En los últimos años se han propuesto algunas alternativas a estos, siendo de las más interesantes los denominados “disolventes verdes”. Dentro de esta categoría se encuentran, fluidos supercríticos (FSC), los líquidos iónicos (LIs), los disolventes eutécticos profundos (DEPs), hidrótropos y disolventes eutécticos profundos naturales (NADES) (Häckl y Kunz, 2018; Vandeponsele y col., 2020).

2.1.5 Disolventes eutécticos profundos

El vocablo “eutéctico” procede del término griego *eutēktos* que significa bajo punto de fusión que se aplica a una aleación o medio líquido (Liu y col., 2018). En términos generales, un sistema eutéctico representa una mezcla de componentes que provoca, debido a las proporciones específicas, el punto de fusión bajo.

Particularmente, un disolvente eutéctico profundo es una mezcla de, por lo menos, dos componentes: un aceptor de enlaces de hidrógeno, como cloruro de colina, también conocida como vitamina B4, y un donante de hidrógeno, como aminoácidos, ácidos, carboxílicos, azúcares, polioles, etc. El resultado es generalmente un líquido, con un punto de fusión más bajo que el de cada componente (Wei y col., 2015).

Las materias primas que se usan para prepararlos pueden ser muy variadas, lo que da lugar a una amplia gama de combinaciones con características particulares. Generalmente se usan compuestos de origen natural para su preparación, por lo que tienen baja toxicidad. Además, poseen alta estabilidad térmica presión de vapor insignificante, y baja inflamabilidad, lo que los hace más seguros para su manejo y almacenaje con respecto a muchos de los disolventes orgánicos tradicionales. Por otra parte, su costo de producción es más bajo en comparación con otros disolventes verdes, como los líquidos iónicos (Hansen y col., 2021).

En los últimos años, numerosas investigaciones se han centrado en las aplicaciones de los disolventes eutécticos profundos en diversas áreas, incluida la captura de gas, biocatálisis, síntesis orgánica, y procesos de extracción de compuestos valiosos a partir de materia vegetal (Lázaro y col., 2023). Esto último se debe a su capacidad para disolver parcialmente el material lignocelulósico de diversas biomasas y se ha encontrado que tienen el potencial de extraer una gran variedad de compuestos tanto polares como no polares (Abidin y col., 2017; Chanioti y Tzia, 2018).

Adicionalmente, los disolventes eutécticos profundos generados exclusivamente a partir de compuestos de origen natural (por ejemplo, azúcares, alcoholes de azúcar, ácidos orgánicos, aminoácidos y aminas) y/o materiales bio-renovables han sido denominados “disolventes eutécticos profundos naturales (NADES)”. Esto ha ampliado las posibilidades de estos disolventes verdes y sus extractos para ser usados como parte de formulaciones en el campo de las ciencias alimentarias, farmacéuticas y cosméticas (Smith y col., 2014; Morgana y col., 2022).

2.1.6 Métodos de extracción de compuestos antioxidantes

La extracción es un proceso en el cual ciertas sustancias de una mezcla sólida o líquida se disuelven con la ayuda de un disolvente líquido. La extracción sólido/líquido se define como un proceso de separación en el que un disolvente líquido se utiliza para extraer compuestos específicos o de interés desde una matriz sólida, formando una solución (Chanioti y col., 2014). Para realizar las extracciones sólido/líquido de manera eficiente se necesitan considerar ciertos factores que comúnmente afectan a los procesos de extracción, los cuales son: las características del material vegetal, el tipo de solvente, la temperatura, la presión y el tiempo (Azmir y col., 2013).

Otro aspecto importante es la selección del método de extracción, ya que, esto puede influir en el rendimiento del proceso (Azmir y col., 2013).

Con el paso de los años las técnicas de extracción se han ido modificando o cambiando con la finalidad de disminuir el tiempo de extracción y la formación de subproductos, aminorar el daño al medio ambiente por los altos consumos energéticos y el uso de solventes orgánicos volátiles, sin mencionar que, actualmente ha crecido el interés en los productos naturales y procesos sostenibles por lo que se han buscado alternativas

haciendo que se dividan las técnicas en convencionales y no convencionales (Naviglio y col., 2019).

2.1.6.1. Técnicas de extracción convencionales

Las técnicas convencionales se clasifican en maceración, infusión, hidrodestilación, decocción, extracción soxhlet y extracción por reflujo térmico. Generalmente estas técnicas se basan en el uso de solventes orgánicos volátiles, calentamiento y/o agitación (Azmir y col., 2013; Brusotti y col., 2014; Naviglio y col., 2019; Rasul, 2018).

2.1.6.1.1 Maceración

Es un método de extracción sólido/líquido que consiste en colocar la muestra sólida previamente pulverizada en un recipiente hermético al cual se le añade el disolvente. Se deja reposar por varias horas o días a temperatura ambiente, agitándolo esporádicamente para aumentar la difusión del disolvente a través de la pared celular. Una vez que los compuestos se hayan disuelto en el disolvente, el extracto se cuela y el residuo sólido se prensa con la finalidad de recuperar la mayor cantidad de disolvente posible (Azmir y col., 2013; Rasul, 2018).

2.1.6.1.2 Infusión

Es uno de los métodos más sencillos y conocidos aun por personas no expertas en química. Consiste en verter agua caliente al material vegetal y dejar reposar durante 1 o 2 minutos. Posteriormente, se filtra el extracto acuoso para promover la biomasa (Naviglio y col., 2019).

2.1.6.1.3 Hidrodestilación

Este método es generalmente utilizado para la extracción de aceites esenciales de plantas y de algunos compuestos bioactivos. No hace uso de disolventes orgánicos y no se necesita deshidratar o pulverizar la muestra, ya que, solamente el material vegetal se coloca en un compartimiento de alambique y se le añade suficiente cantidad de agua, para posteriormente aplicar calor para hacer ebullir el agua (Azmir y col., 2013; Rasul, 2018).

Existen tres tipos de hidrodestilación: destilación con agua, destilación con agua y vapor, y destilación con vapor directo. Una manera alternativa para realizar la extracción es inyectando el vapor directamente a la muestra. Tanto el agua caliente como el vapor ayudan

a que los compuestos bioactivos se liberen del tejido vegetal. Posteriormente, un sistema de enfriamiento indirecto con agua condensa la mezcla de vapores de agua y aceite (Azmir y col., 2013; Rasul, 2018).

2.1.6.1.4 Decocción

Este método es utilizado cuando los compuestos de interés no son sensibles al calor y pueden solubilizarse en agua, ya que, consiste en hervir el material vegetal (previamente pulverizado o cortado en trozos pequeños) utilizando agua como disolvente durante un tiempo determinado. Además, este método es útil cuando se necesita extraer compuestos de las partes duras de las plantas como lo son las cortezas y raíces o tallos leñosos (Rasul, 2018).

2.1.6.1.5 Extracción soxhlet

La extracción soxhlet es uno de los métodos convencionales más utilizados para extraer compuestos bioactivos que no sean sensibles al calor. Para realizar este proceso, de preferencia se necesita que el material vegetal este pulverizado para posteriormente colocarlo en un dedal hecho de papel filtro e introducirlo dentro del tubo extractor, el cual se conecta a un matraz de fondo redondo (donde está contenido el disolvente) y a un condensador de reflujo (Azmir y col., 2013; Naviglio y col., 2019; Rasul, 2018).

Se añade calor al matraz, hasta que el disolvente alcance su punto de ebullición, posteriormente sube por el tubo más angosto y se condensa en el refrigerante y cae sobre la muestra sólida, extrayendo así los compuestos bioactivos; una vez que éste se ha llenado y se alcanza el nivel de rebose, automáticamente se vacía el sifón hacia el matraz y así se repite el proceso hasta que completa la extracción (Azmir y col., 2013; Rasul, 2018).

2.1.6.1.6 Extracción por reflujo térmico

Se utiliza para extraer compuestos bioactivos a partir de material vegetal. La muestra debe estar seca y pulverizada para incrementar el área de contacto con el disolvente (generalmente etanol, metanol, agua, etc.). Esta técnica consiste en calentar la muestra ya contenida en un matraz con el disolvente, conectado a un refrigerante de reflujo para evitar la evaporación del disolvente, en un baño de agua o aceite a una temperatura controlada, sin alcanzar su punto de ebullición (Biesaga, 2011; Moldovan y col., 2019; Xu y col., 2016).

2.1.6.1.7 Extracción convencional con disolvente o extracción asistida por calentamiento

Esta técnica es una modificación de otras técnicas convencionales como la maceración y la extracción por reflujo térmico. En este método se pone en contacto la biomasa con el disolvente, luego la mezcla se coloca en un baño de agua o aceite a una temperatura controlada, según la condición experimental que se desee, acompañado de agitación electromagnética continua. Una vez finalizado el proceso, se filtra para obtener la solución de interés y en algunos casos se procede a evaporar la solución utilizando un rotavapor para eliminar el disolvente (Biesaga, 2011; Madureira y col., 2021).

2.1.6.2 Técnicas no convencionales

Entre las técnicas no convencionales más comúnmente utilizadas se encuentran: la extracción con líquido presurizado, la extracción asistida por ultrasonido y la extracción asistida por microondas.

2.1.6.2.1 Extracción con líquido presurizado

Este método es conocido de varias maneras, entre ellos la extracción con fluido presurizado, extracción acelerada con fluidos y extracción con solventes a alta presión. Se ha utilizado para extraer compuestos bioactivos a partir de esponjas marinas, material vegetal de diverso origen e incluso pueden llegarse a extraer contaminantes orgánicos a partir de matrices ambientales. El método consiste en aplicar alta presión para que el disolvente se mantenga líquido, ya que esto facilita el proceso de extracción disminuyendo el tiempo de extracción y la cantidad de solvente (Azmir y col., 2013).

2.1.6.2.2 Extracción asistida por ultrasonido

Esta técnica consiste en la propagación de pulsos de alta frecuencia con intensidad progresiva mediante sondas de titanio que se encuentran sumergidas en un medio líquido. Estas ondas se propagan a través del medio generando zonas de compresión y expansión, lo que da a lugar a un fenómeno denominado cavitación, en donde se forman, crecen y colapsan burbujas, facilitando la extracción de compuestos bioactivos desde la matriz vegetal (Azmir y col., 2013; Naviglio y col., 2019).

2.1.6.2.3 Extracción asistida por microondas

La extracción asistida por microondas es un método avanzado, económico, rápido y eficiente que se ha utilizado cada vez más para obtener compuestos bioactivos de materiales vegetales. En este tipo de extracción, se utiliza radiación con longitudes de onda en el rango de las microondas en lugar del calentamiento por conducción (Routray y Orsat, 2012).

Las microondas son ondas electromagnéticas no ionizantes que se encuentran entre el rango de radiofrecuencia y el infrarrojo en el espectro electromagnético, abarcando una banda de frecuencias de 300 MHz a 300 GHz. La frecuencia de 915 MHz es ideal para aplicaciones industriales debido a su mayor capacidad de penetración, mientras que los 2,450 MHz suelen emplearse en microondas domésticos y en aplicaciones de extracción, con numerosas unidades comerciales diseñadas específicamente para la química analítica (Routray y Orsat, 2012).

En la extracción asistida por microondas, la energía se transfiere directamente al material vegetal a través de interacciones moleculares con un campo electromagnético, donde la energía electromagnética se convierte en energía térmica. La radiación de microondas penetra en el material vegetal, generando un aumento instantáneo de la temperatura dentro de la matriz vegetal. Este calor aumenta la presión intercelular, provocando que las células vegetales estallen y que los compuestos en el solvente se liberen durante la extracción (Sharma y Dash, 2022).



Figura 5. Ventajas del uso de microondas en procesos de extracción. Adaptada de: “Mass transfer, kinetics, and thermodynamics studies during the extraction of polyphenols from Feijoa sellowiana peels” por Abishli y col. 2021.

Una de las ventajas de utilizar esta técnica, respecto a las tradicionales, es que las microondas pueden penetrar fácilmente en los poros de la muestra, haciendo que el solvente atrapado en los poros se caliente de manera uniforme y rápida. A diferencia del calentamiento convencional, donde se necesita mucho tiempo para que el recipiente se caliente y luego transfiera su energía al solvente, la asistencia por microondas es muy rápida ya que el calor se transfiere directamente al solvente, siempre y cuando éste absorba microondas (Letellier y Budzinski, 1999).

2.1.7 Cinética de extracción

La cinética de extracción estudia el progreso del proceso a lo largo del tiempo. Implica monitorear la tasa de extracción, la concentración de los compuestos extraídos y determinar los factores que afectan a la velocidad de extracción (Krishnan y Rajan, 2016).

Se han propuesto algunos modelos para llevar a cabo este tipo de análisis en las extracciones sólido/líquido de compuestos antioxidantes a partir de diferentes biommasas. Entre ellos se encuentran el modelo de Peleg, el modelo logarítmico (Tušek y col., 2016) y la ecuación empírica de ponomaryov (Paunović y col., 2015). Con el paso del tiempo, los modelos han evolucionado, siendo actualmente los más utilizados, por lo que, los modelos que mejor describen el progreso del proceso a lo largo del tiempo, especialmente en técnicas no convencionales como la extracción asistida por microondas, son los modelos de pseudo primer orden y psuedo segundo orden (Abishli y colaboradores, 2021; Albarri y Şahin, 2021; Kurtulbaş, 2022).

De acuerdo con la literatura, la extracción sólido/líquido puede considerarse como el proceso inverso a la adsorción, por lo que, se pueden aplicar los fundamentos de las ecuaciones de cinéticas de adsorción a la extracción sólido/líquido (Kaderides y col., 2019). Por ello, se emplean los modelos de pseudo primer orden y pseudo segundo orden para calcular e investigar la cinética de la extracción de compuestos antioxidantes a partir de material vegetal.

Con lo descrito en el párrafo anterior, se puede interpretar que cuando el proceso de extracción se ajusta al modelo de pseudo-primer-orden, indica que la etapa inicial de la extracción ocurre de forma rápida, es decir, en esta fase la transferencia de los compuestos presentes en el material vegetal hacia el solvente se da con facilidad, lo que lleva a alcanzar el equilibrio rápidamente. Esto suele suceder cuando el proceso de extracción está dominado

por la difusión externa, es decir, los compuestos solo se liberan desde la superficie de la biomasa sin penetrar las zonas más profundas ni depender de los sitios activos que se encuentran dentro de la matriz vegetal (Wang y Guo, 2020).

El modelo de pseudo-segundo-orden es adecuado cuando la extracción depende de la ruptura de enlaces entre los compuestos y la matriz vegetal. En este caso, los compuestos se encuentran en el interior de la biomasa, es decir, domina la difusión interna, lo que hace que se ralentice el proceso, provocando que se alcance el equilibrio lentamente (Wang y Guo, 2020).

Es importante llevar a cabo estos estudios, ya que, la velocidad en la que se extraen los compuestos de interés (esto es, la rapidez en la que se llega al equilibrio) se ve afectada por diversos factores como la elección de solvente, la relación sólido/líquido, tamaño de partícula y la temperatura. Esto aplica tanto a los métodos de extracción convencionales o no convencionales (Agu y col., 2021; Chan y col., 2014).

Cabe destacar que, en la mayoría de los procesos de extracción, la energía de activación (E_a) se emplea para analizar el comportamiento de cómo la temperatura del sistema influye en la velocidad con la que se transfieren los compuestos al disolvente. Para ello, la energía de activación (E_a) se determina utilizando la ecuación de Arrhenius para deducir la relación o el efecto que la temperatura tiene sobre la constante de velocidad calculada.

2.1.8 Estudio termodinámico

Un sistema depende de parámetros termodinámicos como los cambios en la entalpía, la entropía y la de energía de Gibbs, que se utilizan para describir lo que ocurre en el proceso (Albarri y Şahin, 2021).

El proceso de extracción sólido/líquido pasa por varias etapas. La primera es la etapa de dispersión de compuestos bioactivos, de la biomasa al solvente (desde la concentración más alta hasta la concentración más baja). La fase de dispersión produce energías que se contabilizan en un sistema termodinámico a una temperatura y presión constantes, como la energía de Gibbs. La energía de Gibbs expresa la espontaneidad de la reacción química o proceso.

Por lo tanto, para determinar la energía de Gibbs durante los cambios resultantes del proceso de extracción, se deberán calcular los cambios de entalpía y entropía aplicando la ecuación de Van't Hof (Albarri y Şahin, 2021; Krishnan y colaboradores, 2016).

2.1.9 Importancia de los estudios cinéticos y termodinámicos en los procesos de separación

Los estudios cinéticos comúnmente son utilizados en procesos de extracción para determinar los tiempos óptimos y en algunos casos puede ayudar a disminuir el consumo energético (Albarri y Şahin, 2021; Chutia y Mahanta, 2021), en el proceso de cristalización se analiza la cinética de nucleación y el crecimiento de cristales (McCabe y col., 2007), y en los procesos de secado se implica mediante el estudio de la tasa de evaporación (Geankoplis, 1998).

Actualmente los estudios cinéticos están siendo ampliamente aplicados en los procesos de extracción sólido/líquido, como es el caso de la extracción de compuestos antioxidantes a partir de material vegetal, ya que, es importante considerar los factores que están afectando la velocidad con la que ocurre el proceso. No basta con solo desarrollar una serie de experimentos para determinar las condiciones óptimas y maximizar la cantidad de compuestos extraídos del material vegetal, es decir, no solo es importante conocer que tanto se puede extraer, sino también cuán rápido se puede extraer para hacer más eficiente el proceso (Rente y col., 2022).

Entre los parámetros que más afectan en que tan rápido se pueden transferir los compuestos de interés hacia el solvente, sin importar si es una técnica convencional o no, son principalmente la selección del tipo de solvente, la relación sólido/líquido, el tamaño de partícula y la temperatura (Chan y col., 2014).

Por otra parte, es importante realizar el estudio termodinámico para conocer el comportamiento del proceso, y así determinar si este necesita un ajuste, por ejemplo, si los valores de entropía o la energía de Gibbs no son ideales, eso no da pauta a definir que el modelo este mal diseñado, sino que necesita ser mejorado con ciertas modificaciones. Aunque si es un proceso ya establecido y no cumple con ciertos valores ideales, no quiere decir que deba cambiarse completamente sino hacer ligeras modificaciones, aunque esto también dependerá de los intereses económicos (Demirel, 2004; Smith y col., 2014).

Los procesos industriales o experimentales son de naturaleza irreversible, ya que, no pueden regresar a su estado inicial sin una pérdida neta de energía o aumento de entropía. Todos los procesos se llevan a cabo en un tiempo finito con sustancias reales que se acompañan en cierto grado por defectos disipativos (puede ser calor, fricción, vibraciones, ruido o turbulencia), por lo tanto, todos son irreversibles (Smith y col., 2014; Roma y Pirino, 2009).

Comúnmente son utilizados en la destilación, ya que, para poder separar los componentes la composición del vapor debe ser diferente de la composición del líquido con el que se encuentra en el equilibrio en el punto de ebullición de este último. A partir de esto último, se determinan las condiciones de operación empleando la energía de Gibbs y entalpía de evaporación (Geankolis, 1998).

Estos enfoques suelen utilizarse para describir los procesos de extracción de compuestos antioxidantes a partir de materiales vegetales a nivel laboratorio. De este modo, es posible evaluar si la separación es viable y comprobar si el aumento de la temperatura favorece la extracción, ya que, la constante de equilibrio se ve influenciada por la temperatura (Anslyn y col., 2006; Chutia y Mahanta, 2021; Krishnan y Rajan, 2016; Kurtulbaş, 2021).

Además, diversos métodos termodinámicos también son implementados para definir las propiedades termodinámicas de diferentes tipos de biomasa y sus componentes, lo que permite evaluar la viabilidad del proceso, establecer si el proceso es energéticamente favorable y determinar cómo es que afecta la temperatura, presión, la relación de los reactivos implementados en el proceso (Michael, 2024).

Con base a lo descrito anteriormente, los análisis cinéticos y termodinámicos son estudios que pueden brindarnos información importante del comportamiento del proceso y ayudar en la mejora de cada uno de ellos de ser necesario. Además, en caso de ser procesos a nivel laboratorio es importante analizar los parámetros que pueden afectar los procesos, ya que esta información será un factor clave para poder realizar el escalamiento a nivel industrial (Rente y col., 2022).

CAPÍTULO 3

3.1 Metodología

En la Figura 6 se muestran de manera general las fases de la metodología y en las secciones posteriores se describe de manera concisa los procedimientos que se emplearán en cada etapa.

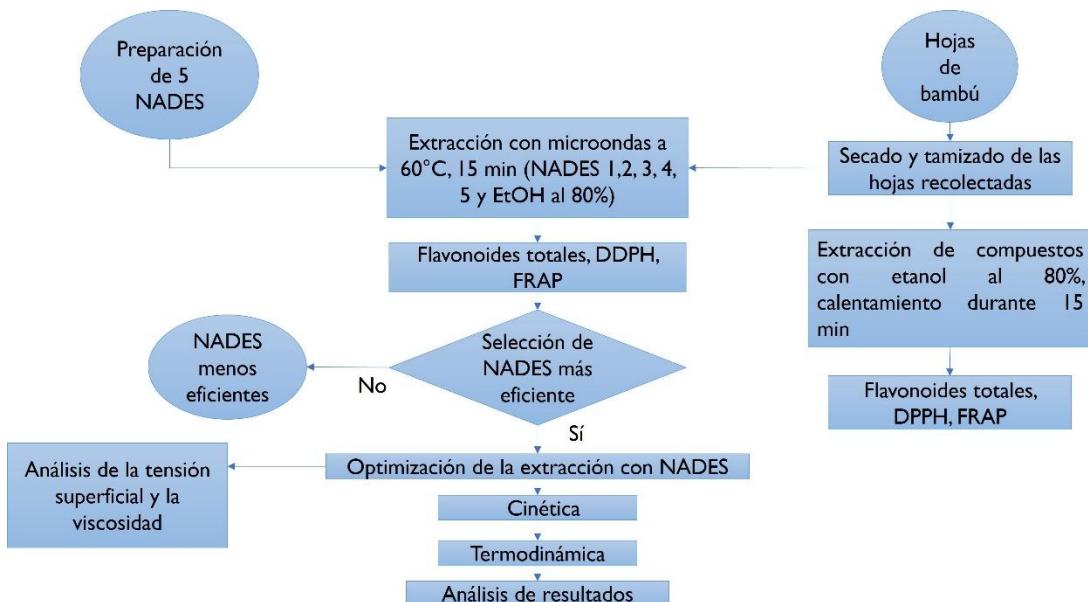


Figura 6. Diagrama de flujo de la metodología de trabajo.

3.1.1 Obtención y procesado de las hojas de bambú

Para elegir la especie de bambú estudiada, se colectaron dos muestras de diferente especie. La primera correspondió a la especie *Rhipidocladum racemiflorum*, obtenida en el vivero del biólogo David Moreno Martínez en Teocelo, Ver., el día 28 de agosto de 2023. La segunda, pertenece a *Bambusa oldhamii* y fue recolectada el día 11 de septiembre de 2023 en el vivero Bambuver ubicado en Huatusco de Chicuellar, Veracruz. Ambos residuos se pesaron y secaron en un deshidratador de alimentos (ChefWave) con aire circulante a 40 °C, hasta comprobar que no hubo variación en el peso, siguiendo condiciones similares reportadas por Xie y colaboradores (2012). Las hojas se molieron en un molino KRUPS F408 y se tamizaron utilizando una malla de 500 µm. Las muestras se almacenaron en bolsas selladas al vacío a -20 °C, protegidas de la luz, hasta su uso.

3.1.2 Reactivos

En la preparación de los *NADES* se utilizó cloruro de colina (98%), xilitol (99%), glucosa (100%), fructosa (99%), acetato de sodio (99%) y glicerol (99.5%). Los reactivos para evaluar flavonoides totales y actividad antioxidante son: nitrito de sodio (99 %), cloruro de aluminio (99 %), 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH, 100%), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox, 97%), acetato de sodio tri-hidratado (99%), ácido acético glacial (99%), ácido clorhídrico (37%), cloruro de hierro (III) hexahidratado (98%), 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ, 99%), etanol (96%), metanol HPLC y quercetina (97.5-102.5%). Todos se obtuvieron en Sigma-Aldrich.

3.1.3 Extracción de flavonoides asistida por calentamiento

Se extrajeron los flavonoides de las hojas de bambú utilizando etanol al 80%, una tasa líquido/sólido 20:1, a 60 °C, durante 15 minutos, con agitación magnética (250 rpm) en una placa de calentamiento. Luego, se separó el disolvente de los sólidos mediante filtración. Posteriormente, se determinó la cantidad de flavonoides totales, la capacidad atrapadora de radicales libres y la capacidad de reducción férrica del plasma del extracto mediante técnicas colorimétricas.

3.1.4 Preparación de 5 *NADES*

Los *NADES* se prepararon calentando un compuesto donador de puentes de hidrógeno y otro acceptor, en las proporciones molares apropiadas. Las materias primas se secaron previamente al vacío durante dos horas; a continuación, se colocaron en un matraz de 250 mL con una barra de agitación, se calentaron a 70 °C u 80 °C durante 30 min o hasta obtener un líquido homogéneo. El procedimiento se realizó en una parrilla de calentamiento y agitación. (Choi y col.,2011; Lázaro-Rangel y col., 2023). A continuación, se presentan las cantidades empleadas de las materias primas utilizadas para la preparación de 120 g de los cinco *NADES* propuestos. Estos disolventes fueron elegidos considerando que su polaridad estuviera en un rango intermedio entre la del etanol y agua.

- Xilitol:ChCl:H₂O (Relación molar 1: 2: 3)
37.43 g + 69.40 g + 13.16 g = 120g
- Glucosa:ChCl:H₂O (Relación molar 2: 5: 5)

$$37.18 \text{ g} + 73.51 \text{ g} + 9.29 \text{ g} = 120 \text{ g}$$

- Fructosa:ChCl:H₂O (Relación molar 2: 5: 5)
$$37.44 \text{ g} + 73.28 \text{ g} + 9.26 \text{ g} = 120 \text{ g}$$
- Glicerol:ChCl (Relación molar 2: 1)
$$58.84 \text{ g} + 45.28 \text{ g} = 120 \text{ g}$$
- Glicerol:Acetato de sodio (Relación molar 3: 1)
$$92.42 \text{ g} + 27.57 \text{ g} = 120 \text{ g}$$

3.1.5 Extracción con microondas

Se colocaron 1.25 g de hojas de bambú molidas y tamizadas en un vaso de cuarzo con 25 mL de cada *NADES* hidratado (20 % de agua v/v), agua destilada pura o etanol al 80% en agua. Las mezclas se calentaron a 60 °C durante 15 min en un reactor de microondas Anton Paar Multiwave Pro, equipado con un rotor 8NXQ80 y operando a 600 MW. El extracto resultante se filtró a vacío y se aforo a la misma cantidad de lo extraído de cada tubo de cuarzo, para así, proceder a realizar la determinación de fenoles totales, la capacidad atrapadora de radicales libres y la capacidad de reducción férrica del plasma. Los extractos etanólicos y acuosos, obtenidos para comparar la eficiencia del *NADES*, solo se filtraron. Para comparar el efecto de las MW, también se obtuvo y caracterizó el extracto etanólico obtenido por calentamiento. Los experimentos se realizaron por triplicado.

3.1.6 Determinación de flavonoides totales

El contenido total de flavonoides (TFC) se estimó con el ensayo de cloruro de aluminio descrito por (Zhishen et al., 1999). Se pipetearon alícuotas de los diversos extractos (30 µL) en placas de 96 pocillos. Se agregaron 9 µL de NaNO₂ (5%) y después de 5 minutos, se añadieron 9 µL de AlCl₃ (5%). Luego, se pipetearon 60 µL de NaOH (1 M) a cada solución. La mezcla se incubó durante 15 minutos, y la absorbancia se estimó utilizando un lector de microplacas Fluostar Omega (BMG Labtech, Ortenberg, Alemania) operado a 510 nm, utilizando quercetina como estándar. Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de quercetina por gramo de peso seco (mg EQ·g⁻¹ de peso seco).

3.1.7 Determinación de la actividad de atrapamiento de radicales libres (DPPH)

De acuerdo con el método modificado reportado por Usia y colaboradores (2002), la actividad atrapadora de radicales libres se determinó mezclando 100 µL de los extractos de bambú con una solución de DPPH 300 µM (100 µL). Las muestras se mantuvieron en la oscuridad durante 30 min, para así, proceder a medir la absorbancia de las muestras a 517 nm en un lector de microplacas Fluostar Omega (BMG Labtech, Ortenberg, Alemania). Se utilizó Trolox como referencia para comparar el desempeño de los extractos. Los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de trolox (ET)/ g de peso seco a través de un análisis de regresión lineal.

3.1.8 Capacidad de reducción férrica del plasma (FRAP)

Este método fue modificado a partir de Benzie y Strain (1996, 1999) por Griffin y Bhagooli (2004). El reactivo FRAP se produjo mezclando 300 µM de buffer de acetato (pH 3.6) 10 µM de solución de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) y 20 µM de FeCl₃•6H₂O en una proporción de 10:1:1, justo antes de su uso, y se calentó a 37 °C. El buffer de acetato de 300 µM se preparó mezclando 3.1 g de acetato de sodio trihidratado (C₂H₃NaO₂•3H₂O) con 16 mL de ácido acético glacial y se llevó a 1 L con agua destilada. La solución de TPTZ se preparó haciendo una solución de 10 µM de TPTZ en 40 µM de HCl.

Se añadió un total de 150 µL de reactivo FRAP de trabajo a cada pocillo en una placa de microtitulación, para así, proceder a añadir 20 µL de solución estándar. Se encubrió por 8 min a 37 °C. A continuación, se tomó la lectura a 600 nm utilizando un lector de microplacas Fluostar Omega (BMG Labtech, Ortenberg, Alemania).

3.1.9 Optimización de la extracción

Después de la selección del NADES más eficiente para la extracción de flavonoides, se llevó a cabo la optimización de las condiciones de extracción, considerando variables como la temperatura, relación líquido:sólido y porcentaje de agua % (v/v), considerando el tiempo constante de 15 min. Para ello, se empleó un diseño factorial central compuesto utilizando el software DesignExpert, lo que resultó en un total de 20 experimentos y tres variables de respuesta: Flavonoides Totales, DPPH y FRAP. Los factores independientes se representaron

de la siguiente manera: temperatura (A), tasa líquido/sólido (B) y el porcentaje de agua (C). El diseño se definió por un punto central (0), los puntos factoriales (1 y -1) y puntos axiales (α y $-\alpha$), los cuales fueron definidos con ayuda del software DesignExpert.

Por lo que, se seleccionaron temperaturas en un intervalo desde 50 °C hasta 80°C para el análisis, considerando que los compuestos de tipo flavonoide son sensibles al calor (Khrishnan y Rajan, 2016). Para el segundo parámetro, se tomaron en cuenta análisis previos reportados en la literatura y se seleccionaron las relaciones líquido/sólido entre 50:1 y 20:1 (mL/g), tomando en cuenta el volumen constante de 25 mL (Khrishnan y Rajan, 2016; Shang y col., 2018). Finalmente, para determinar los valores más adecuados del porcentaje de agua, se revisaron varios análisis con el fin de asegurar que el agua añadida al NADES no lo desestabilizara, concluyendo así, considerar valores entre 10 y 30 % de agua destilada (Hu y col., 2023; Martinović y col., 2022; Shang y col., 2018). Cada experimento se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como el promedio de estos.

Después de obtener experimentalmente los resultados experimentalmente de las 20 combinaciones, el software Minitab nos brinda información estadística de cómo es los factores seleccionados afectan a las variables de respuesta.

Los datos del contenido de flavonoides totales y actividad antioxidante de las hojas de bambú se ajustaron a una ecuación polinómica de segundo orden:

$$Y = B_0 + \sum_{i=1}^k B_i X_i + \sum_{i=1}^k B_{ii} X^2 + \sum_{i < j}^k B_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (1)$$

Donde la variable de respuesta está representada por Y; el coeficiente constante es B_0 ; los términos de los coeficientes lineal, cuadrático e interactivo de la regresión son B_i , B_{ii} y B_{ij} , respectivamente; y las variables independientes son expresadas por X_i y X_j . El análisis de varianza se llevó a cabo utilizando el software Minitab, a través del cual se determinaron los coeficientes de regresión correspondientes a los términos individuales lineales, cuadráticos e interacción. Para representar la relación entre la respuesta y las variables estudiadas, se generaron gráficos tridimensionales de superficie de respuesta a partir de la ecuación polinómica ajustada (Ferreira y col., 2021).

3.1.10 Viscosidad

El parámetro viscosidad se le determinó al *NADES* seleccionado para realizar la optimización. Las mediciones se llevaron a cabo tanto en el disolvente eutéctico profundo natural como en mezclas con diferentes porcentajes de agua destilada (3.2, 10, 20, 30 y 37 % v/v). Los análisis se realizaron a diferentes temperaturas en un rango de 40 a 90 °C con intervalos de 10 °C utilizando un viscosímetro Stabinger Anton Paar SVM 3000.

La viscosidad del *NADES* y sus mezclas acuosas respecto a la temperatura se puede describir mediante el modelo de Vogel-Fulcher-Tamman, la ecuación es la siguiente:

$$\ln \eta = A + \frac{B}{T - T_0} \quad (2)$$

Donde A, B y T_0 son constantes empíricas (T_0 generalmente corresponde a la temperatura de divergencia donde la entropía configuracional del sistema se anula).

3.1.11 Tensión superficial

El método se modificó de acuerdo con el reportado por Chen y colaboradores (2019). La tensión superficial se midió tanto en el *NADES* seleccionado para la optimización como en sus mezclas con diferentes porcentajes de agua destilada (3.2, 10, 20, 30 y 37 % v/v) se determinó utilizando un tensíometro Dataphysics, empleando el método de placa de platino de Wilhelmy. Este equipo cuenta con un rango de medición de 0 a 600 mN·m⁻¹ y una precisión de ± 0.1 mN·m⁻¹.

Como primer paso, se realiza una limpieza meticulosa de los materiales. Los recipientes de vidrio se lavan con abundante agua destilada y jabón líquido. Para la limpieza de la placa de platino de Wilhelmy (de 2.2 cm de largo y 1 cm de ancho) se enjuaga con agua destilada, se somete a un proceso de sonicación durante dos minutos en agua destilada y, posteriormente, se pasa por una llama de alcohol hasta que la placa de platino se tornó roja. Finalmente, se deja enfriar por 1 o 2 minutos antes de su uso.

El equipo se dejó estabilizar durante 30 min antes de la medición, y se calibró utilizando agua de grifo a 25°C, asegurándose de que el valor estuviera en un rango de 71 a 72 mN·m⁻¹. Para las mediciones de la calibración y las muestras, se añadieron aproximadamente 80 mL de muestra en cada contenedor de vidrio. El recipiente se colocó en el equipo, se posicionó la placa hasta el tope con cuidado para evitar aplicar demasiada

fuerza, asegurándose de que quedara perpendicular. Luego, se ajustó la platina a 5 milímetros de la placa, se cerró la tapa del equipo y se procedió a realizar la medición.

La tensión superficial se determinó en solo unos segundos, lo que indica que la interferencia del aire se puede ignorar. Los valores finales de la tensión superficial se obtuvieron promediando tres mediciones replicadas. Cabe mencionar que la temperatura se controló mediante un chiller, el cual hizo circular el agua a través de un tubo flexible hacia la platina (donde se colocó la muestra) durante unos 30 minutos con el fin de estabilizar la temperatura.

3.1.12 Estudio cinético-termodinámico

Para desarrollar el análisis cinético de la extracción, se utilizaron los valores obtenidos en la optimización, con la finalidad de mejorar la comprensión del proceso de transferencia de flavonoides hacia el NADES y determinar el tiempo óptimo de la extracción.

Para ello, se definieron intervalos de tiempo de 0, 60, 300, 600, 900, 1200, 1500 y 1800 s, ya que, de acuerdo a la literatura, los procesos de extracción de compuestos antioxidantes a partir de material vegetal suelen mostrar un patrón similar, caracterizado por una etapa inicial de extracción rápida seguida de una etapa de extracción más lenta hasta alcanzar el equilibrio. Durante los primeros minutos, el cambio en la concentración suele ser más rápida (Chan y col., 2014).

Con base en los estudios de Krishnan y Rajan (2016, 2017) se muestran que las cantidades de flavonoides extraídas son bajas, expresadas en mg EQ/ mL y mg EQ/ g, respectivamente. En ambos estudios se puede apreciar que en los primeros 5 min no ocurren cambios drásticos en las cantidades extraídas, e incluso llegan al equilibrio a los 10 min. Esto puede demostrar que el cambio de la concentración de flavonoides a través del tiempo en cantidades bajas extraídas no se ve afectado por la temperatura.

Por ello, se consideró adecuado establecer intervalos de tiempo cada 5 min, previendo que no habría cambios significativos a menos que se obtengan grandes cantidades en mg EQ/ g de peso seco, o que hubiera grandes cambios entre el primer minuto y quinto minuto. Además, se consideró un tiempo de extracción mayor al doble utilizado en las condiciones óptimas con el propósito de evaluar si el incremento en la temperatura y el tiempo permiten lograr una mayor recuperación de flavonoides o si, por el contrario, conduce a su degradación por la exposición prolongada al calor.

Por otro lado, considerando que la literatura ha documentado que la velocidad de extracción depende de la temperatura del sistema, y debido a que estos compuestos son sensibles al calor se realizó el estudio a diferentes temperaturas para evaluar su efecto en la transferencia de estos compuestos (Krishnan y Rajan, 2017). La energía de activación (E_a) se calculó utilizando la ecuación de Arrhenius para deducir la relación entre la temperatura de extracción y la constante de velocidad de extracción (Tabla 2).

Las temperaturas analizadas correspondieron a las 20 combinaciones generadas por el diseño central factorial compuesto, definidas por el software DesignExpert, con la finalidad de analizar la velocidad en la que se transfieren los flavonoides al NADES y corroborar si las condiciones óptimas de relación líquido/sólido y porcentaje de agua ofrecían una mayor ventaja comparativa frente a la temperatura óptima.

Una vez completado los experimentos correspondientes, los datos obtenidos fueron analizados utilizando los modelos de pseudo-primer orden y pseudo-segundo orden presentados en la Tabla 2. Para estimar el valor de la constante de velocidad de extracción k_1 , se graficaron los datos de $\ln(C_\infty/(C_\infty - C_0))$ vs el tiempo t ; mientras que para k_2 , se utilizó la gráfica t/C_t vs t .

Tabla 2. Modelos cinéticos y termodinámicos*

	Modelo	Terminología
Ecuación de pseudo primer orden	$\ln\left(\frac{C_\infty}{C_\infty - C_t}\right) = k_1 t + \ln\left(\frac{C_\infty}{C_\infty - C_0}\right)$	C_0 : concentración inicial de flavonoides. C_∞ : concentración de flavonoides totales en equilibrio. C_e : concentración de flavonoides totales en equilibrio. C_t : concentración de flavonoides totales en tiempo t . t : tiempo (s). k_1 : constante de primer orden.
Ecuación de pseudo segundo orden	$\frac{t}{C_t} = \frac{1}{k_2 C_e^2} + \frac{t}{C_e}$	k_2 : constante de segundo orden. k : constante de velocidad de extracción.
Ecuación de Arrhenius	$\ln k = \left(-\frac{E_a}{R}\right) \times \frac{1}{T} + \ln k_0$	k_0 : factor de frecuencia. E_a : energía de activación (kJ/mol). K_e : constante de equilibrio. T : temperatura (K). R : constante universal de los gases. Y_s : rendimiento de flavonoides totales saturados. Y_{max} : máximo rendimiento de flavonoides totales. ΔH : cambio de entalpía. ΔS : cambio de entropía. ΔG : energía de Gibbs.
Ecuación de Van't Hoff	$\ln K_e = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}$ $K_e = \frac{Y_s}{Y_{max} - Y_s}$	
Energía de Gibbs	$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$	

*Tomado de Albarri y Şahin, 2021.

Para llevar a cabo el estudio termodinámico, las propiedades termodinámicas ΔH y ΔS del proceso de extracción se determinaron utilizando la ecuación de Van't Hoff (Tabla 2). Para ello, inicialmente se calcularon los valores de la constante de equilibrio (K_e) aplicando la ecuación correspondiente (Tabla 2) y utilizando los datos experimentales obtenidos en el estudio cinético a diferentes temperaturas. Posteriormente, se graficó el $\ln K_e$ en función de $1/T$, donde a partir de la pendiente se logró determinar el valor de ΔH y de la ordenada al origen se calculó el valor ΔS (Anslyn y col., 2006).

Con estos parámetros termodinámicos, se procedió a calcular la energía de gibbs (ΔG) para cada temperatura, lo que permitió evaluar la viabilidad y espontaneidad del proceso de extracción.

CAPÍTULO 4

4.1 Resultados y discusión

4.1.1 Selección de la muestra

Primeramente, se hizo un análisis preliminar de las dos muestras de bambú: *Bambusa oldhamii* y *Rhipidocladum racemiflorum*, en el cual se determinó el contenido de flavonoides totales en cada una de ellas. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Extracción de flavonoides totales.

<i>Bambusa oldhamii</i>	<i>Rhipidocladum racemiflorum</i>
Extracción convencional (Etanol 80%, 15 min) (mg de EQ/g de peso seco)	Extracción convencional (Etanol 80%, 15 min) (mg de EQ/g de peso seco)
46.37±1.33	29.41±1.26

Con base en los resultados obtenidos en la tabla 3, se puede concluir que la especie *Bambusa oldhamii* es la especie que contiene mayor cantidad de flavonoides totales en sus hojas, por lo que fue seleccionada para hacer los experimentos de extracción descritos en la sección anterior.

4.1.2 Preparación de 5 NADES

Los cinco NADES se obtuvieron de acuerdo con lo descrito en la metodología y cada una de las proporciones molares utilizadas en este trabajo ya se encuentran reportadas en la literatura. En la tabla 4 se presentan las materias primas utilizadas para preparar cada uno de ellos, así como la proporción molar en la que se encuentran y la etiqueta utilizada este trabajo para referirnos a ellos en el resto del documento.

Tabla 4. Componentes

	1	2	3	Relación molar
Xil:ChCl:H ₂ O	xilitol	cloruro de colina	agua	1:2:3
Glu:ChCl:H ₂ O	glucosa	cloruro de colina	agua	2:5:5
Fruc:ChCl:H ₂ O	fructosa	cloruro de colina	agua	2:5:5
Gly:ChCl	Glicerol	cloruro de colina	---	2:1
Gly:AS	Glicerol	Acetato de sodio	---	3:1

4.1.3 Selección del NADES más eficiente

En las figuras 7-9 se muestra la cantidad de flavonoides presentes en los extractos de NADES, agua destilada y etanol al 80%, así como sus respectivas capacidades antioxidantes. Xilitol, glucosa, fructosa, glicerol y acetato de sodio se abrevian como Xil, Glu, Fru, Gly y AS, respectivamente. El acrónimo EAMO que aparece entre paréntesis significa extracción asistida por microondas. La primera barra de cada gráfica corresponde a los resultados del extracto obtenido con placa de calentamiento, los cuales fueron agregados para contrastar el efecto de las microondas.

De la figura 7, se observa que el valor obtenido con etanol al 80 % mediante la asistencia por microondas (49.98 ± 0.98 mg de EQ/ g biomasa) es un poco mayor pero significativamente diferente al del extracto en el que se usó una parrilla de calentamiento (46.37 ± 1.33 mg EQ/ g de biomasa). Lo que significa que el uso de las microondas sí tiene un efecto favorable en el rendimiento del proceso.

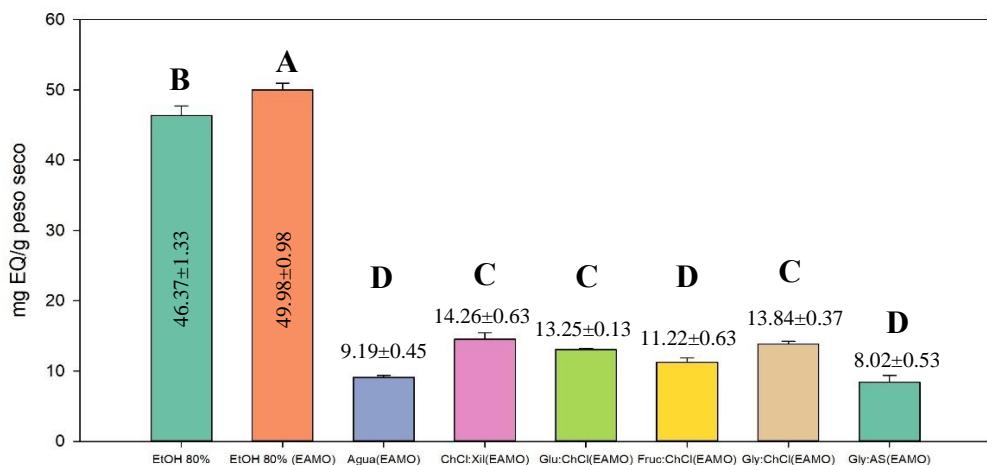


Figura 7. Flavonoides totales (expresados como miligramos equivalentes de quercetina/g de peso seco) en los extractos obtenidos mediante técnica convencional y asistencia de microondas (EAMO) a 60°C, tasa líquido/sólido 20:1, tiempo:15 minutos. En el caso de los NADES, se agregó un 20 % de agua (%v/v).

Como puede apreciarse en la figura 1, los cinco NADES trajeron cantidades menores de flavonoides, en comparación con el etanol al 80 % (49.98 ± 0.98 mg de EQ/ g biomasa). Este comportamiento puede verse afectado por la polaridad, la viscosidad y la tensión superficial de los NADES. La polaridad es uno de los aspectos importantes para

lograr una extracción eficiente de los compuestos de interés. En el presente estudio, los cinco NADES han sido utilizados exitosamente con anterioridad en la extracción de compuestos de tipo fenólico en diferentes tipos de biomasa (López-Linares y col., 2020; Ruesgas-Ramón y col., 2017; Mouratoglou y col., 2016; Ünlü, 2021).

La polaridad de los NADES se ha evaluado de forma empírica mediante estudios solvatocrómicos, los cuales hacen uso de dos escalas de polaridad, como la escala normalizada E_T de Reichardt y Dimroth y la escala multiparamétrica de Kamlet-Taft. En la literatura se han reportado, mayormente, datos de la primera para un buen número de NADES e intenta dar una idea de la polaridad relativa de los nuevos disolventes verdes. La escala E_T es la energía de transición molar, la cual puede determinarse utilizando colorantes orgánicos de Reichardt o rojo Nilo en la prueba solvatocrómica. La energía de transición molar se representa como E_{NR} cuando se utiliza rojo Nilo. Entre mayor es el valor significa que la polaridad del disolvente es menor. Por ejemplo, para Gly:ChCl, ChCl:Xil, Fru:ChCl, Glu:ChCl los valores E_{NR} reportados son los siguientes: 49.55, 49.72, 49.81 y 49.72 kcal/mol, respectivamente, mientras que los valores para agua y metanol son 48.21 y 51.89 kcal/mol (Dai y col., 2013). No se encontraron datos reportados para Gly:AS.

Es de esperarse entonces que el valor de etanol puro se encuentre ligeramente por arriba de 51.89. Como se aprecia, la polaridad de los cuatro NADES derivados de colina es muy similar y está intermedia entre agua y metanol. No obstante, al agregar agua la polaridad de la mezcla puede incrementarse. Ese sería el caso esperado para los NADES utilizados aquí. No obstante, la efectividad de los NADES también depende de la capacidad que tienen para formar puentes de hidrógeno con los compuestos objetivo, como ha quedado demostrado mediante estudios teóricos (Herrera-Beltrán y col., 2023).

La viscosidad también juega un papel muy importante en los procesos de transferencia de masa. Por ejemplo, para Gly:ChCl, ChCl:Xil, Fru:ChCl, Glu:ChCl se han reportado valores de 51.3, 86.1, 280.8 y 397.4 mm²/s a 40 °C, los cuales son muy superiores al del agua ~ 1 mm²/s (Dai y col., 2013). Como es de esperarse, al agregar agua y aumentar la temperatura, la viscosidad de los NADES disminuye. Al analizar la gráfica de la figura 7, parece claro que, además de la polaridad y la viscosidad, algún otro factor, como la tensión superficial, podría estar jugando un papel importante en el desempeño de los NADES. En particular, la biomasa estudiada es un sólido muy ligero, lo que complica que se mezcle con facilidad en los líquidos con alta tensión superficial, como el agua y los NADES. De acuerdo

con la literatura, la tensión superficial del etanol es de $22.07 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$, mientras que la del agua es de $72.15 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$. Para los NADES, la información es más limitada, aunque se ha reportado que la tensión superficial del Xilitol:ChCl:H₂O es de $77.41 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ y la del Glicerol:ChCl es de $77 \pm 0.5 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ (Khattab y col., 2012; López y col., 2020; Meredith y col., 2024). Como es de esperar, los valores menores en viscosidad y tensión superficial del etanol, con respecto a los NADES, facilitan la transferencia de masa en el proceso.

Sin embargo, dentro de la serie de NADES evaluados, Xilitol:ChCl: H₂O y Glicerol:ChCl fueron los que dieron los mejores resultados (14.26 ± 0.63 y 13.84 ± 0.37 , respectivamente).

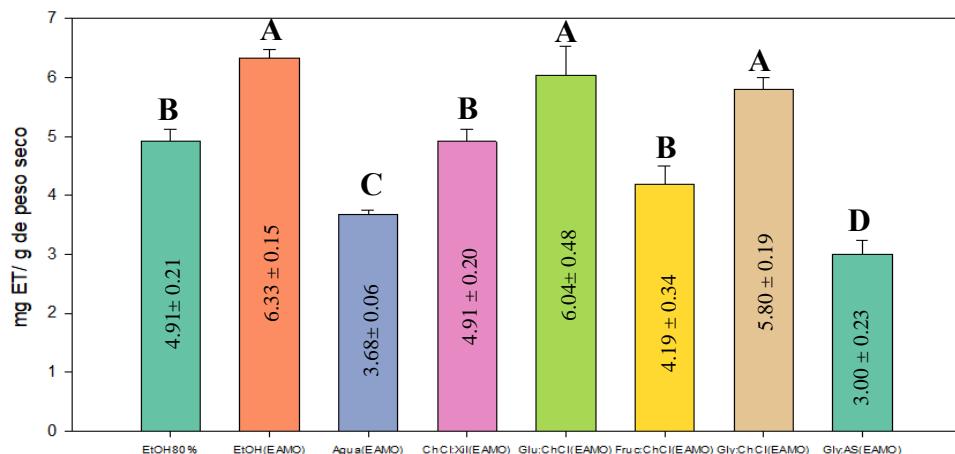


Figura 8. Capacidad atrapadora de radicales libres (expresados como miligramos equivalentes de trolox/g de peso seco) de los extractos obtenidos mediante técnica convencional y asistencia de microondas (EAMO) a 60°C , tasa líquido/sólido 20:1, tiempo: 15 minutos. En el caso de los NADES, se agregó un 20% de agua (%v/v)

En la figura 8 se muestran los datos obtenidos en la determinación de la capacidad atrapadora del radical DPPH (1,1-Difenil-2-picrilhidrazilo). A partir de estos resultados se observa que los extractos de etanol 80 % asistido por microondas ($6.33 \pm 0.15 \text{ mg ET/ g peso seco}$), Glucosa:ChCl:H₂O ($6.04 \pm 0.48 \text{ mg ET/ g peso seco}$) y Glicerol:ChCl ($5.80 \pm 0.19 \text{ mg ET/ g peso seco}$) tienen capacidades similares para reaccionar con el radical DPPH, mientras que los extractos de Xilitol:ChCl:H₂O, etanol 80 % y Fructosa:ChCl:H₂O muestran similitud entre sí (4.91 ± 0.20 , 4.91 ± 0.21 y $4.19 \pm 0.34 \text{ mg ET/ g peso seco}$, respectivamente). En cambio, el extracto de flavonoides en Glicerol:Acetato de sodio (el más viscoso de la serie) es el menos eficiente ($3.00 \pm 0.23 \text{ mg ET/ g peso seco}$). Al comparar estos resultados con los

que se muestran en la figura 7, puede inferirse que, además de los compuestos de tipo flavonoide, los NADES extraen otros compuestos antioxidantes de las hojas del bambú, lo cual explicaría que no exista una correlación entre la cantidad de flavonoides totales en la muestra y la capacidad del extracto para reaccionar con un radical libre. Aunque se ha reportado que las hojas de bambú contienen también ácidos de tipo fenólico, en este estudio no fue posible hacer la prueba colorimétrica de Folin-Ciocalteu para determinar fenoles totales, ya que en la mayoría de los casos ocurría precipitación.

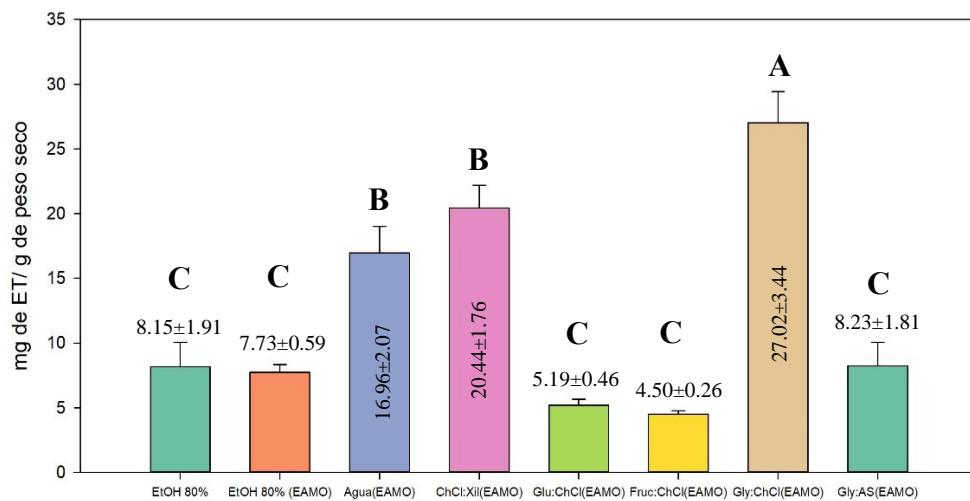


Figura 9. Capacidad reductora del ion férrico (expresados como miligramos equivalentes de trolox/g de peso seco) de los extractos obtenidos mediante técnica convencional y asistencia de microondas (EAMO) a 60°C, tasa líquido/sólido 20:1, tiempo:15 minutos. En el caso de los NADES, se agregó un 20% de agua (%v/v)

Otra técnica para determinar la capacidad antioxidante de extractos es el método FRAP, el cual se basa en el principio de que los antioxidantes son sustancias capaces de reducir el ion férrico al estado ferroso; en esta forma, el ion forma un complejo colorido con el compuesto 2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine (TPTZ). Por consiguiente, el método FRAP no se enfoca en valorar la capacidad de la muestra estudiada para neutralizar radicales libres, sino más bien su habilidad reductora mediante la transferencia de electrones (Griffin y Bhagooli, 2004).

En este ensayo de capacidad antioxidante se utilizó Trolox como estándar. En la figura 9, se muestran los resultados de los ensayos realizados, en este caso los extractos en tres de los cinco NADES muestran valores más altos que el extracto etanólico ($7.73 \text{ mg ET} \pm$

0.59); particularmente Glicerol:ChCl y Xilitol:ChCl:H₂O fueron los que mostraron tener mayor actividad antioxidante: 27.02 ± 3.44 mg ET/ g peso seco y 20 ± 1.76 mg ET/ g peso seco, respectivamente.

Considerando que en dos de las tres pruebas (flavonoides totales y FRAP) Glicerol:ChCl y Xilitol:ChCl:H₂O dieron buenos resultados, y que en la prueba DPPH el Xilitol:ChCl:H₂O estuvo únicamente por debajo del *NADES* Glucosa:ChCl:H₂O, mientras que el Glicerol:ChCl obtuvo un resultado comparable, ambos disolventes resultan buenos candidatos para la siguiente etapa del estudio.

No obstante, el glicerol es una materia prima más económica que el xilitol, por lo que resulta mejor opción el *NADES* Glicerol:ChCl. Por lo tanto, se procedió a llevar a cabo la optimización de la extracción de flavonoides en ese *NADES*, para lo cual se utilizó el diseño del modelo central compuesto, empleando el software Minitab, tomando en cuenta los factores anteriormente mencionados en la metodología para realizar la optimización de la extracción con Glicerol:ChCl y la asistencia de microondas.

4.1.4 Optimización de las condiciones de extracción

Los parámetros elegidos para optimizar extracción de flavonoides utilizando el *NADES* Glicerol:ChCl fueron temperatura, tasa líquido/sólido y porcentaje de agua % (v/v) en el medio. La Tabla 5 presenta los valores centrales, factoriales y axiales para realizar el diseño experimental. Los valores centrales seleccionados para este diseño fueron: 65 °C, una relación líquido/sólido de 35:1 (mL/g) y 20 % de agua destilada. Para este caso experimentalmente, se consideró que la relación líquido/sólido pequeña corresponde a una menor cantidad de biomasa y un mayor contenido de *NADES*, tomando en cuenta que el volumen empleado para la extracción se mantiene fijo en 25 mL. Este dato resulta crucial, ya que fue utilizado para las conversiones correspondientes.

Tabla 5. Valores independientes utilizados en el diseño de experimentos factorial para optimizar la extracción de flavonoides totales.

Condiciones	-α	-I	0	I	α
Temperatura (°C)	39.77	50	65	80	90.22
Tasa líquido:sólido (mL/g)	60.22	50	35	20	9.77
% de agua destilada	3.1821	10	20	30	36.81

En la Tabla 6 se muestran las 20 combinaciones de estos parámetros junto con los respectivos valores, obtenidos experimentalmente a partir de las pruebas colorimétricas de

flavonoides totales, DPPH y FRAP; también se incluyen en esta tabla los valores predichos para flavonoides totales, ya que a partir del análisis estadístico se observó que el modelo obtenido para este parámetro cumple con los requerimientos de calidad, como se explica más adelante.

Tabla 6. Valores experimentales de flavonoides y determinación de actividad antioxidante de los extractos de bambú en Glicerol:ChCl. *

Corrida	Temperatura (°C)	% Agua	Tasa L/S (mL/g)	Flavonoides (mg EQ/g de peso seco)	Flavonoides (mg EQ/g de peso seco) Valores predecidos	DPPH (mg ET/ g de peso seco)	FRAP (mg ET/ g de peso seco)
1	50	10	20	8.26±0.32	8.8	3.24±3.07	17.03±1.59
2	80	10	20	11.11±1.00	9.91	3.74±1.66	32.44±2.90
3	50	10	50	4.79±0.34	4.65	3.51±1.82	15.89±2.87
4	80	10	50	7.14±0.90	8.09	3.42±3.18	20.45±1.14
5	50	30	20	14.55±0.87	13.48	5.00±2.61	30.51±2.50
6	80	30	20	14.29±0.33	14.3	4.61±1.00	36.82±1.64
7	50	30	50	16.65±1.24	17.73	1.31±3.04	22.95±1.97
8	80	30	50	21.52±1.47	20.87	3.55±0.30	20.44±1.39
9	39.77	20	35	12.77±0.75	12.47	4.61±2.02	22.38±2.69
10	90.22	20	35	15.58±1.84	16.05	7.31±1.94	45.11±4.25
11	65	20	9.77	9.66±1.25	10.62	2.51±2.04	23.75±3.72
12	65	20	60.22	13.44±1.72	12.66	1.93±0.99	41.27±1.94
13	65	3.18	35	3.81±1.18	3.65	4.40±1.68	17.70±3.21
14	65	36.81	35	18.01±1.13	18.34	4.61±1.71	38.59±1.89
15	65	20	35	13.13±0.67	13.46	4.84±0.42	38.15±1.79
16	65	20	35	13.35±1.22	13.46	5.71±0.54	33.36±1.18
17	65	20	35	15.09±1.17	13.46	2.64±1.04	33.90±4.52
18	65	20	35	12.16±0.66	13.46	6.13±1.02	27.71±3.39
19	65	20	35	12.38±1.71	13.46	6.42±1.75	26.94±0.93
20	65	20	35	14.68±2.46	13.46	5.20±2.88	25.25±1.29

* En la columna 6 se incluyen también los valores de flavonoides (expresados como equivalentes de quercetina) predichos con el modelo correspondiente.

En las siguientes tablas se presentan los resultados del análisis estadístico para cada uno de los modelos: flavonoides totales, DPPH y FRAP (tabla 7, 8 y 9, respectivamente). En la primera columna y fila se encuentra la evaluación de cada modelo; se debe prestar atención a los valores F y p, ya que esto nos indica si nuestro modelo es significativo o no. Otro aspecto relevante de la primera columna va de la segunda a la cuarta fila, en la cual, se representan las variables analizadas de la siguiente manera: temperatura (A), tasa líquido/sólido (B) y el porcentaje de agua (C), posteriormente se muestran las combinaciones entre estas variables y su relación con el valor p ($p<0.05$ indica significancia), ubicado en la penúltima columna,

lo que nos permite identificar qué combinación o factor tiene mayor impacto en el proceso. Finalmente, es fundamental revisar el apartado de la falta de ajuste, ya que es la suma ponderada de las diferencias cuadradas entre la respuesta promedio de cada nivel factorial y el valor predicho por el modelo. Una falta de ajuste no significativa se considera un resultado positivo.

Con base en la explicación del párrafo anterior y lo datos de la tabla 7, cabe concluir que el análisis estadístico de la cuantificación de flavonoides es significativo, ya que solo hay un 0.01% de probabilidad de que un valor de F alto ocurra debido a la variabilidad de los datos. De acuerdo con los valores de p menores a 0.05, las variables A, C, BC, C² son los factores significativos del modelo. Sin embargo, la tasa líquido/sólido (C) es la que tiene mayor impacto en el proceso de extracción de flavonoides, con un valor de p<0.0001. Al analizar la falta de ajuste, se observa que el valor de F no es significativo en comparación con el error puro, lo cual es favorable para nuestro análisis. Además, el modelo presenta un R²=95.88%, una R² de ajuste=92.16% y una R² predicha=79.46%. Por lo anterior, se concluye que cumple con los requerimientos estadísticos de confiabilidad

Tabla 7. Análisis estadístico de los flavonoides.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Valor de F	Valor p	
Modelo	336.66	9	37.41	25.83	< 0.0001	significativo
A-Temperatura	15.46	1	15.46	10.67	0.0085	
B-Tasa L/S	5.00	1	5.00	3.45	0.0928	
C-% Agua	260.20	1	260.20	179.68	< 0.0001	
AB	2.69	1	2.69	1.86	0.2024	
AC	0.0437	1	0.0437	0.0301	0.8656	
BC	35.18	1	35.18	24.29	0.0006	
A²	1.16	1	1.16	0.7989	0.3924	
B²	5.99	1	5.99	4.14	0.0693	
C²	10.97	1	10.97	7.57	0.0204	
Residual	14.48	10	1.45			
Falta de ajuste	7.32	5	1.46	1.02	0.4912	No significativo
Error puro	7.17	5	1.43			
Total cor	351.14	19				

En contraste, el análisis estadístico de los resultados obtenidos con la prueba DPPH indican que el modelo no es significativo, al igual que la falta de ajuste, ya que se observa que existe un 80.90% de probabilidad de que un valor F tan grande ocurra debido a la variabilidad de los datos. Esto se refleja en los valores obtenidos de R²=69.95%, una R² de ajuste=42.90% y una R² predicha=3.45%.

Tabla 8. Análisis estadístico DPPH.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Valor de F	Valor p	
Modelo	31.37	9	3.49	2.59	0.0775	No significativo
A-Temperatura	3.33	1	3.33	2.47	0.1472	
B-Tasa L/S	2.47	1	2.47	1.83	0.2055	
C-% Agua	0.0642	1	0.0642	0.0476	0.8316	
AB	0.5000	1	0.5000	0.3710	0.5561	
AC	0.2450	1	0.2450	0.1818	0.6789	
BC	2.88	1	2.88	2.14	0.1745	
A²	0.3441	1	0.3441	0.2553	0.6243	
B²	19.77	1	19.77	14.67	0.0033	
C²	1.85	1	1.85	1.37	0.2687	
Residual	13.48	10	1.35			
Falta de ajuste	4.08	5	0.8170	0.4349	0.8090	No significativo
Error puro	9.39	5	1.88			
Total cor	44.85	19				

Lo mismo ocurre para los resultados de la prueba FRAP. Al examinar la tabla 9, se observa que el modelo es significativo, con A y C identificados como factores significativos. La falta de ajuste no es significativa en relación con el error puro, ya que existe un 14.24% de probabilidad de que un valor F tan grande sea producto de la variabilidad de los datos. Este modelo no es fiable, y se refleja en los valores obtenidos de $R^2 = 38.79\%$, R^2 ajustada = 42.90%, R^2 predicho = -4.74%.

Tabla 9. Análisis estadístico de FRAP.

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	Valor de F	Valor de p	
Modelo	549.66	3	183.22	3.38	0.0443	Significativo
A-Temperatura	281.44	1	281.44	5.19	0.0367	
B-Tasa L/S	4.23	1	4.23	0.0781	0.7834	
C-% Agua	263.98	1	263.98	4.87	0.0423	
Residual	867.20	16	54.20			
Falta de ajuste	741.81	11	67.44	2.69	0.1424	No significativo
Error puro	125.39	5	25.08			
Total cor	1416.86	19				

De acuerdo con el análisis estadístico y los datos presentados en las tablas 7, 8 y 9, se observa que únicamente el modelo obtenido a partir de la cantidad de flavonoides totales es confiable.

La falta de ajuste observada entre los datos experimentales y los resultados de actividad antioxidante, evaluada mediante DPPH y FRAP, podría estar relacionada con el efecto que el *NADES* tenga sobre las reacciones que se llevan a cabo en cada una de las pruebas. Por ejemplo, se ha documentado que los disolventes que establecen eficientemente puentes de hidrógeno con los compuestos fenólicos interfieren con la transferencia de hidrógeno que ocurre entre el compuesto antioxidante y el radical DPPH. Esto ralentiza la reacción que ocurre a través de este mecanismo, lo cual influye en los resultados observados (Xie y Schaich, 2014).

Esto podría estar en concordancia con la forma de reaccionar de los compuestos fenólicos presentes en los diferentes extractos obtenidos durante la optimización del proceso, ya que, por un lado, el *NADES* se caracteriza por formar redes de puentes de hidrógeno entre sus componentes y también con los compuestos de tipo fenólico. Adicionalmente, habría que estudiar la estabilización del propio radicar DPPH en el *NADES* a través de puentes de hidrógeno.

Otra circunstancia por considerar es que la cinética de una reacción está influenciada por la viscosidad del medio, ya que ralentiza o dificulta la difusión de los antioxidantes y/o el radical DPPH. Cabe mencionar que la investigación sobre los *NADES* continúa actualmente, no se tiene información específica de cómo estas pruebas colorimétricas actúan en medios viscosos como los *NADES*. Los diferentes componentes de los *NADES* causan diferencias en la polaridad, la viscosidad y la capacidad de disolución. Por otra parte, en este estudio se le añadieron diferentes porcentajes de agua al Glicerol:ChCl para disminuir la viscosidad y evaluar este efecto en el proceso de extracción; pero, al realizar esto también se modifica la polaridad del *NADES* y en concordancia se afecta la cinética y el mecanismo de las reacciones entre compuestos fenólicos y DPPH.

Para el caso de la prueba FRAP, se indagó en la literatura y se encontraron algunos aspectos relevantes. Munteanu y Apetrei (2021) reportan que esta prueba se basa en la transferencia de electrones y en el potencial de ionización del grupo funcional (que tan fácil se puede remover el electrón), esto hace que las reacciones por transferencia de electrones sean dependientes del pH. Recordando que a pH bajos (ácidos) la desprotonación es menos probable que ocurra mientras que a pH altos (básicos) la desprotonación es más probable que ocurra, lo cual ayuda a la transferencia de electrones.

Para la prueba de FRAP a diferencia de otros métodos basados en la transferencia de electrones se realiza en condiciones de pH ácido para mantener la solubilidad del hierro, ya que, al presentarse un pH neutro o alcalino, el Fe³⁺ puede formar precipitados como hidróxidos y afectar la precisión de la prueba. Al trabajar en pH ácido hace que la reacción disminuya el potencial de ionización lo que permite la transferencia de electrones y aumenta el potencial redox haciendo que Fe³⁺ sea un mejor aceptor de electrones (Munteanu y Apetrei, 2021).

Este factor de pH en la prueba puede ser un impedimento, aunque muchos antioxidantes pueden transferir electrones en su forma protonada, no todos los antioxidantes se comportan de la misma forma en un pH bajo. Por ello, se podría decir que la prueba FRAP no mide en su totalidad la capacidad antioxidante de los compuestos, resaltando nuevamente que estas pruebas rápidas miden la capacidad antioxidante en general no solo de compuestos específicos como lo son en este trabajo los flavonoides, lo cual sería otro factor para justificar por qué los resultados obtenidos en esta prueba no fueron descritos correctamente por el modelo propuesto.

En resumen, el único modelo estadísticamente significativo es el que se obtuvo con los datos de flavonoides totales. La ecuación 3, que se muestra a continuación es la que describe el comportamiento del proceso para esta variable experimental:

$$\text{Flavonoides (mg Q/g de peso seco)} = 0.00126 A^2 - 0.00287 B^2 - 0.00872 C^2 + 0.00258 AB - 0.00049 AC + 0.01398 BC - 0.173 A - 0.206 B + 0.328 C + 12.04 \quad (3)$$

De acuerdo con la tabla 6, en los 20 experimentos realizados, la corrida 8 presentó la mayor cantidad de flavonoides extraídos por gramo de biomasa. Los parámetros experimentales usados fueron los siguientes: 37% de agua añadida al NADES, relación líquido/sólido igual a 50:1 mL/g (0.5 g de biomasa en 25 mL), y una temperatura de 80°C. Por el contrario, la menor cantidad de flavonoides se obtuvo en la corrida 4, en la cual se empleó únicamente un 10 % de agua, una temperatura de 50 °C y la misma tasa líquido/sólido que en la corrida 8, lo que podría estar indicando que la disminución de la viscosidad ocasionada por un mayor porcentaje de agua y una temperatura mayor juega un papel

preponderante en la transferencia de masa de la fase sólida a la líquida. Este comportamiento ya ha sido documentado en estudios similares.

Por otra parte, las corridas 11 y 12 nos permiten comparar el efecto de la relación líquido/sólido, ya que en el primer caso se usó la más pequeña (9.77:1 mL/g) y en el segundo la más alta (60.22:1 mL/g) del diseño experimental. Mientras tanto, la temperatura (65 °C) y el porcentaje de agua fue el mismo (20 %) en ambas. Como se aprecia en la tabla, una mayor relación líquido/sólido incrementa la cantidad de flavonoides extraídos.

En la Fig. 10 se muestran las gráficas de superficie de respuesta de la extracción de flavonoides, mostrando las combinaciones de las tres variables propuestas en el diseño factorial central compuesto, organizadas en pares: porcentaje de agua *vs* tasa, porcentaje de agua *vs* temperatura y tasa *vs* temperatura.

En la figura 10a se observa que los parámetros con mayor influencia en la eficiencia de la extracción son el porcentaje de agua destilada y la relación líquido/sólido, factores que afectan en la transferencia de masa como ya se explicó anteriormente. El área en color rojo indica que la cantidad de flavonoides extraída se incrementa cuando el porcentaje de agua en el NADES alcanza 28.5-37% v/v y la tasa líquido/sólido se encuentra alrededor de 50:1-60.22:1 mL/g.

En la figura 10b se compara el efecto combinado del porcentaje de agua destilada y la temperatura. Como puede observarse, al incrementar el porcentaje de agua (28.5-37 % v/v) y elevar la temperatura (80-90 °C) se obtienen los mejores resultados.

Por otro lado, en la figura 10c se muestra que el par de variables relación líquido/sólido y temperatura, al combinarse son las que tienen un menor efecto sobre la cantidad de flavonoides extraídos por gramo de biomasa.

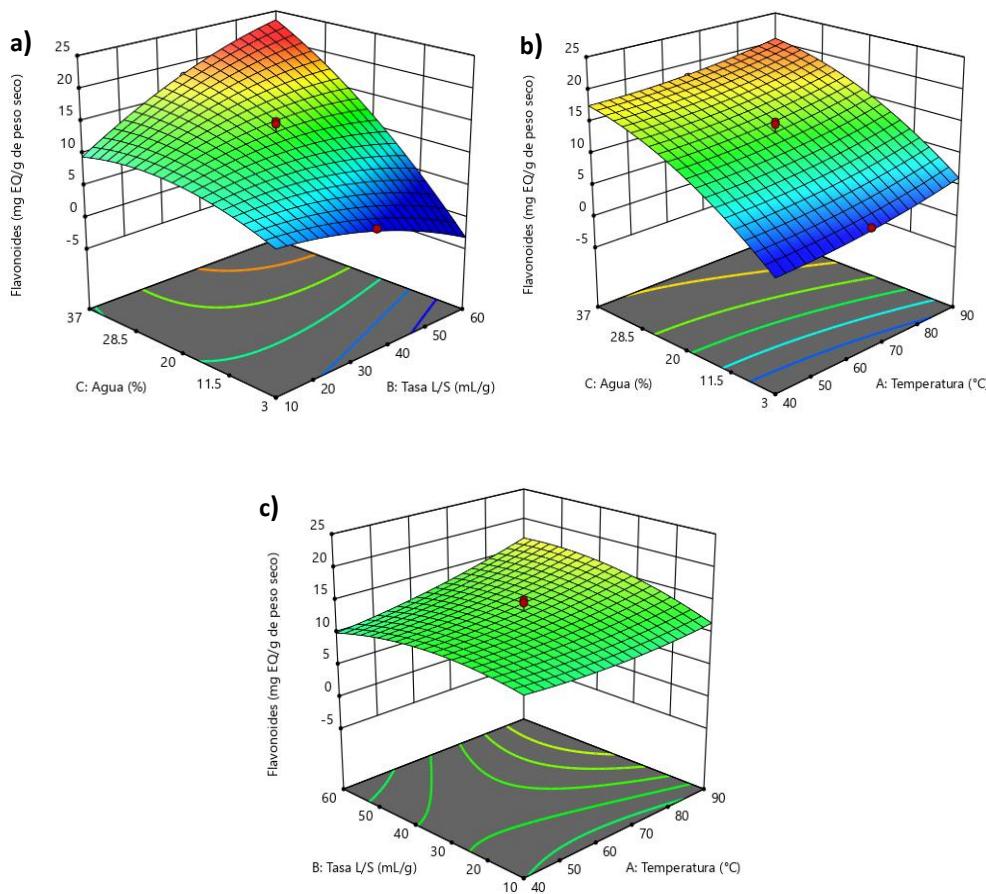


Figura 10. Gráficas de superficie de respuesta del rendimiento de extracción de flavonoides de las hojas de bambú usando el NADES Glicerol:ChCl como disolvente con los efectos combinados de: a) porcentaje de agua y tasa líquido/sólido (tasa L/S), b) porcentaje de agua y temperatura y c) temperatura y tasa líquido/sólido.

De igual forma se presenta en la figura 11 un Diagrama de Pareto de efectos estandarizados, en el cual se analizan los factores A (temperatura), B (tasa líquido/sólido) y C (porcentaje de agua destilada), junto con sus posibles combinaciones. La barra roja representa el valor crítico de significancia (2.23), lo que implica que los valores que superan esta línea son estadísticamente significativos. Entre los factores evaluados, el más influyente es el porcentaje de agua destilada (C), ya que disminuye la viscosidad del Glicerol:ChCl, como se ha mencionado previamente. Después le sigue la interacción BC, que, aunque tiene un menor impacto que el factor C, también resulta significativa y relevante, que es prácticamente lo que se presenta en la figura 10a. En resumen, la figura 11 destaca al porcentaje de agua destilada (C) y la interacción BC como factores clave en la extracción de flavonoides.

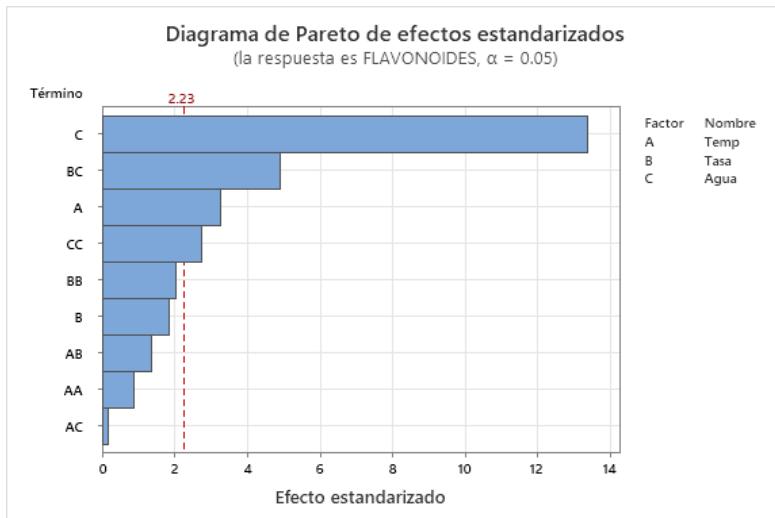


Figura II. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados.

Si bien los modelos de superficie de respuesta se usan generalmente para explicar cómo las variables seleccionadas influyen en la eficiencia del proceso de extracción, comúnmente no logran a proporcionar información detallada sobre la transferencia de masa y dinámica del proceso. Por ello, el modelado matemático es de suma importancia para evaluar la cinética de extracción y garantizar la máxima reproducibilidad del extracto (Jurinjak-Tušek y col., 2022).

4.1.5 Viscosidad

Como se ha discutido en los últimos párrafos, la disminución en la viscosidad en el disolvente, ocasionada por un mayor porcentaje de agua parece tener una relación directa con el desempeño del NADES en la extracción de flavonoides. Por tal motivo, se llevó a cabo la evaluación de esta propiedad, tanto del NADES Glicerol:ChCl puro, como de las mezclas NADES/agua utilizadas en el diseño experimental y registradas en la tabla 6, es decir con el siguiente porcentaje de agua: 3.2, 10, 20, 30 y 37% v/v. El estudio se realizó a diferentes temperaturas en un rango de 313.15 a 363.15K con intervalos de 10 K, y se analizaron utilizando el modelo de Voguel-Fulcher-Tamman.

Los resultados se muestran en la figura 12, en ellos se puede observar que la viscosidad disminuye drásticamente a medida que se aumenta la cantidad de agua y la temperatura, esto se debe a que se debilitan los enlaces de hidrógeno que forman la red de interacciones entre los componentes del NADES, tal como lo han reportado Smith (2014) y Zhang (2020).

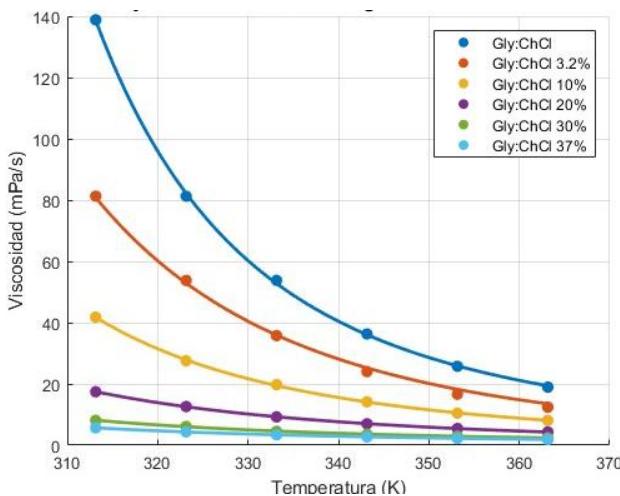


Figura 12. Viscosidad del Glicerol:ChCl (Gly:ChCl) y de sus mezclas con diferentes porcentajes de agua destilada (3.2%, 10%, 20%, 30% y 37%) en función de la temperatura, analizada utilizando el modelo de Voguel-Fulcher-Tamman.

Estos datos están de acuerdo con lo observado en la optimización del proceso de extracción, ya que una mayor proporción de agua disminuye la viscosidad del medio y favorece la transferencia de masa. Por otra parte, se puede observar que el efecto de la temperatura sobre la viscosidad es menor a medida que se incrementa la proporción de agua en el NADES. Así pues, los datos de la figura 12 corroboran que la viscosidad es un factor determinante en la eficiencia del proceso de extracción.

Numerosos esfuerzos se han enfocado en entender la relación entre la fuerza de las interacciones que se establecen entre los componentes de los NADES y la viscosidad. Por ejemplo, Souza y colaboradores (2021) reportaron que la viscosidad del glicerol puro es de 1490 cP a 293.15 K (donde 1 cP es equivalente a 1 mPa·s), lo que dificulta su uso directo. Sin embargo, al combinarse con cloruro de colina en una relación molar de 2:1 (2 Glicerol: ChCl), se observa una disminución en la viscosidad, ya que a la misma temperatura se tiene un valor de 472 cP. Además, a temperatura ambiente, su viscosidad disminuye aún más, ya que se ha reportado un valor de 259 cP (Satlewal y col., 2018). Este fenómeno podría explicarse porque el punto de fusión de los DES disminuye con el aumento de la fuerza del enlace de hidrógeno dentro de la mezcla (Espino y col., 2016).

Yadav y colaboradores (2014) reportaron la viscosidad del NADES Glicerol:ChCl a diferentes temperaturas. De acuerdo con su estudio a 313.15 K, la viscosidad del NADES

puro es 133.37 mPa·s, la cual es bastante cercano a la registrada en este trabajo: 138.81 mPa·s.

La pequeña diferencia entre los valores se debe al diferente contenido de agua en los NADES, ya que son sustancias demasiado higroscópicas, así como a la distinta forma de elaboración o condiciones para la formación de estos disolventes.

4.1.6 Tensión superficial (γ)

Debido a que las hojas de bambú secas son muy ligeras y los NADES en general son viscosos y tienen tensión superficial mayor que la de los disolventes tradicionalmente utilizados para extraer los compuestos fenólicos presentes en ellas, en este trabajo se optó por evaluar la tensión superficial del NADES Glicerol:ChCl puro y de las mezclas con diferentes porcentajes de agua destilada (3.2, 10, 20, 30 y 37% v/v) mencionadas en la tabla 6. Si bien las mediciones únicamente se pudieron realizar a temperatura ambiente (298.15 K), los resultados permiten concluir que esta propiedad también puede jugar un papel importante en la extracción de flavonoides. En la figura 13 se observa que la tensión superficial de la mezcla eutéctica que contiene 37 % de agua disminuyó alrededor de 22 % con respecto a la del NADES puro, e inclusive es alrededor de 12 % menor que la del agua destilada. Por otra parte, cuando el porcentaje de agua es apenas el 3.2 %, la tensión superficial no es significativamente diferente a la registrada para el NADES puro.

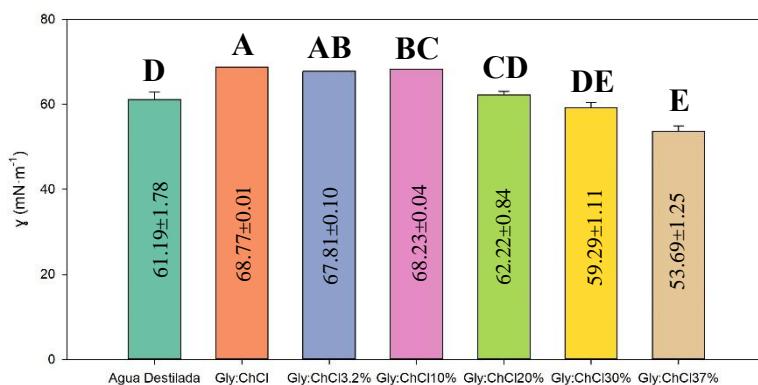


Figura 13. Tensión superficial del Glicerol:ChCl (Gly:ChCl) y a diferentes proporciones de agua (3.2%, 10%, 20%, 30%, 37%) y agua destilada expresada en mN·m⁻¹.

Mientras que el NADES puro mostró un valor de 68.77 ± 0.01 mN·m⁻¹, al agregar 37 % de agua ocurre una disminución significativa en su tensión superficial, registrando un valor de 53.69 ± 1.25 mN·m⁻¹, el cual es menor inclusive a la del agua destilada (61.19 ± 1.78

$\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$) medida bajo las mismas condiciones. Este fenómeno se atribuye a la disrupción de los puentes de hidrógeno entre los componentes del *NADES*, debido a la presencia del agua, haciendo que exista mayor movilidad molecular y se reduzcan las fuerzas cohesivas características del *NADES* puro en la interfaz aire-líquido (Chen y col., 2019).

Resulta interesante hacer una comparación de los datos publicados en la literatura sobre la tensión superficial Glicerol:ChCl. Por ejemplo, se han reportado los siguientes valores: de $58.10 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ medido por un tensiómetro Krüss K100 utilizando el método del anillo de du Nouy a 298.15 K (Shahbaz y col., 2012), $57.8 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ medido por un tensiómetro QBZY-1 utilizando la placa de Wilhelmy a 293.15 K (Chen y col., 2019), y $77 \pm 0.5 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ medido por un tensiómetro multicanal Kibron Delta-8, diseñado con capacidad para placas de 96 pocillos, a 298.15 K (Meredith y col., 2024).

Estas discrepancias pueden atribuirse a la alta higroscopidad de los *NADES*, es decir, la posibilidad que tienen de absorber agua del ambiente, dificultando secarlos completamente y afectando sus propiedades (Meredith y col., 2024). Adicionalmente, otros factores que pueden influir en los resultados son la temperatura y los distintos métodos de medición.

Como es evidente, la tensión superficial de la mezcla *NADES*/agua sí tiene un efecto en la cantidad de flavonoides extraídos, lo cual confirma la observación experimental realizada durante el proceso, ya que visualmente se apreció que la biomasa, particularmente ligera respecto a otros materiales vegetales, penetrándose mezcla de manera más efectiva cuando se incrementa la proporción de agua en el medio. Este fenómeno ocurre debido al debilitamiento las fuerzas intermoleculares, lo que reduce la cohesión entre las moléculas.

4.1.7 Condiciones óptimas

De acuerdo con el diseño experimental y los datos obtenidos, se empleó la función de Optimizador de respuesta del software Minitab Statistical, la cual generó soluciones con deseabilidad de 1 y determinó que una temperatura de $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$, una tasa: $60.22:1 \text{ mL/g}$ y un porcentaje de agua: 37 % eran las condiciones óptimas de extracción para flavonoides totales de las hojas de bambú. La cantidad de flavonoides totales calculada bajo estas condiciones dio como resultado 27.48 mg EQ/g de biomasa. El valor obtenido experimentalmente fue de

21.71 ± 1.19 mg EQ/g de bambú, lo cual se encuentra dentro del intervalo de confianza (21.60-33.37 mg EQ/g de biomasa) predicho.

Por otra parte, se llevaron a cabo extracciones asistidas por microondas, a la misma temperatura y tasa líquido/sólido predichas por el modelo como óptimas, pero utilizando agua y etanol al 80% como disolventes, con el fin de comparar el desempeño del NADES con esos otros disolventes también considerados verdes. Adicionalmente, se llevó a cabo la extracción con etanol al 80% y calentamiento por conducción (bajo las mismas condiciones experimentales). Las cantidades obtenidas fueron las siguientes: 9.87 ± 0.84 , 46.39 ± 3.48 y 45.23 ± 2.68 mg EQ/g de biomasa, respectivamente. Como se aprecia, el agua extrae menos de la mitad que el NADES, mientras que con etanol se obtiene el doble, independientemente si se usa la asistencia de las microondas o el calentamiento con parrilla.

A pesar de que el desempeño del NADES en el proceso de extracción fue inferior al del etanol acuoso, el uso de éste puede ser de interés para posibles formulaciones farmacéuticas, alimentarias o cosméticas, ya que se ha documentado que los NADES les confieren una mayor estabilidad a los compuestos fenólicos disueltos en ellos (Gómez-Urios, et al., 2023) y, al estar compuestos por materias primas de origen natural, los extractos pueden utilizarse directamente, sin necesidad de separar el disolvente de los compuestos fenólicos.

Además, Faggian y colaboradores (2016) y Panić y colaboradores (2019) han reportado que los NADES mejoran la absorción y biodisponibilidad de los compuestos activos, lo que los hace actuar como agentes de transporte, vehículos de administración o integrarse en productos nutracéuticos, ya que ayudan a llevar los compuestos bioactivos a través de membranas celulares y los medicamentos lleguen al cuerpo de forma más eficiente.

Por otra parte, resulta interesante comparar el desempeño del NADES con otros trabajos reportados en la literatura. Por ejemplo, Shang y col. (2014) investigaron la extracción de flavonoides a partir de las hojas de bambú negro (*Phyllostachys nigra*) utilizando mezclas de etanol en agua en diferentes proporciones. Las condiciones óptimas identificadas en su estudio fueron: tamaño de partícula de 425 μm , 200 °C por 25 min y etanol al 75 %. Bajo estas condiciones, lograron obtener una cantidad de flavonoides de 657 ± 1.7 mg EQ/100 g, lo que equivale a 6.57 ± 1.7 mg EQ/g. Sin embargo, al comparar este resultado con el valor óptimo obtenido en nuestro estudio, el rendimiento de este último supera por más de 15 mg al de Shang y col. Una posible explicación para esta diferencia es que la elevada temperatura de 200 °C utilizada durante 25 min en su experimento podría

haber provocado la degradación de una gran parte de los compuestos de tipo flavonoide. En cuanto al tamaño de partícula, aunque Shang y col., emplearon partículas menores a 500 μm , este factor parece influir significativamente en la extracción, dado que, de acuerdo la literatura, cuanto más pequeño sea el tamaño de partícula mayor será la transferencia de masa, como lo señalan Varzakas y Tzia (2014). Además, en el estudio, al comparar los tamaños de partícula, los autores observaron que las de mayor tamaño (6 mm) tienden a disminuir la cantidad de flavonoides extraídos.

Por otro lado, existen otros estudios que también se enfocan en la extracción de flavonoides a partir de hojas de diferentes especies de bambú utilizando diferentes técnicas. Aunque utilizan estándares distintos para la cuantificación, estos trabajos resultan útiles para estimar la cantidad de flavonoides extraída de cada biomasa analizada y para comparar con los obtenidos mediante métodos como la extracción asistida por microondas y *NADES*.

Por ejemplo, Jiang y colaboradores (2013), llevaron a cabo una extracción de flavonoides a partir de hojas de bambú Moso (*Phyllostachys edulis*), logrando obtener 4.538 ± 0.26 mg rutina/g de peso seco utilizando la técnica de extracción asistida por ultrasonido. Este procedimiento empleó etanol como solvente y se optimizó mediante un diseño ortogonal, definiendo las condiciones óptimas como etanol 80%, una relación sólido/líquido de 1:15 (g/mL) durante 20 min a 60 °C. A pesar de no utilizar querctetina para la cuantificación, los resultados obtenidos en nuestro estudio superan al rendimiento reportado por Jiang y col., evidenciando la eficiencia del diseño central compuesto y los modelos de superficie de respuesta.

Por su parte, Wang y colaboradores (2018) también emplearon extracción asistida por ultrasonido, utilizando como disolvente 1-butil-3-metilimidazolio ([Bmim]Br) para extraer flavonoides de las hojas de bambú *Phyllostachys heterocycla*. Se utilizó un diseño Box-Behnken y el método de superficie de respuesta, sus condiciones óptimas fueron: concentración de 1.5 mol/L del [Bmim]Br, tasa líquido/sólido de 41:1 mL/g y tiempo de 90 min. Posteriormente, bajo estos parámetros se utilizó cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para cuantificar los contenidos de 4 flavonoides específicos (isoorientina, orientina, vitexina e isovitexina), obteniendo un rendimiento de 4.592 mg/g de biomasa. Aunque en el estudio se menciona que la experimentación se realizó por triplicado, no incluye datos de la desviación estándar. Comparado con los resultados de nuestra extracción, este valor resulta

significativamente inferior, lo que resalta la superioridad de nuestras condiciones experimentales.

Para este último estudio y más actualizado, realizado por Xu y colaboradores (2021), se utilizó la extracción asistida por microondas para extraer compuestos de tipo flavonoide de las hojas de bambú de *Phyllostachys heterocycla*. Se utilizó un diseño Box-Behnken y el método de superficie de respuesta, utilizando el software Design Expert, sus condiciones óptimas fueron: relación sólido/líquido de 4 g de biomasa/120 mL de etanol al 70.01% durante 24.9 min a una potencia de 559 W. Bajo estas condiciones, los resultados fueron los siguientes: un rendimiento de flavonoides de 4.67 %. Además, compararon este resultado con el método tradicional de extracción con Soxhlet, el cual, a mayor tiempo (7 h) y temperatura (100 °C), se obtuvo un menor rendimiento de 3.35 %. Para comparar los resultados, en nuestro estudio se calculó el rendimiento de flavonoides, en el cual se obtuvo un 2.17 %, que, si bien es menor al reportado por Xu y colaboradores, sigue evidenciando diferencias metodológicas significativas entre ambas investigaciones.

La principal diferencia radica en que el método de Xu y colaboradores (2021) combina la extracción asistida por microondas con el método Soxhlet, lo que implica el uso de un mayor volumen de solvente y una mayor cantidad de biomasa. Esto facilita la extracción de una mayor cantidad de flavonoides, incrementando el rendimiento obtenido. Sin embargo, el rendimiento obtenido en nuestro estudio utilizando NADES es notable, especialmente considerando que requiere menos solvente y una cantidad menor de biomasa. Esto estaría dando pauta a que los NADES podrían ser una alternativa viable a los disolventes orgánicos volátiles, ya que la cantidad de biomasa utilizada y la cantidad de solvente es menor, además pueden ser manejados a altas temperaturas sin evaporarse como es el caso del etanol. Para el caso del Glicerol:ChCl, su punto de ebullición, reportada por Sazali y colaboradores (2023), se encuentra entre 189.69-197.41 °C, lo que refuerza su potencial para aplicaciones en condiciones térmicas elevadas.

4.1.8 Estudio cinético-termodinámico

Se realizó un estudio cinético de la extracción flavonoides a partir de las hojas de bambú para proporcionar información más detallada sobre la transferencia de masa y dinámica del proceso. Esto se debe a que el diseño central factorial compuesto y en los modelos de superficie de respuesta, no muestran a detalle de como varía la concentración de flavonoides

respecto con el tiempo de la extracción. Es importante destacar que el tiempo de extracción es un factor fundamental, ya que, los flavonoides podrían degradarse al estar demasiado tiempo expuestos a altas temperaturas.

El diseño cinético se desarrolló con base en las condiciones óptimas determinadas para la extracción de flavonoides, con el objetivo de representar la transferencia de estos compuestos hacia el disolvente a lo largo del tiempo y evaluar que tan rápido alcanza el equilibrio. La evaluación se llevó a cabo utilizando una relación líquido/sólido de 60.22:1 mL/g y Gly:ChCl con un 37 % de agua destilada, sometido a las siguientes temperaturas: 313.15, 323.15, 338.15 y 363.15 K, monitoreando la cantidad de flavonoides obtenida a los 60, 300, 600, 900 y 1200 s.

Los tiempos 1500 y 1800 s, que fueron mencionados previamente en la metodología, fueron descartados debido a que, a la temperatura de 363.15 K, se observó una disminución en la extracción tras una larga exposición, lo que indica una posible degradación de compuestos.

Tabla 10. Flavonoides totales extraídos en estudio cinético.

Tiempo (s)	Concentración de flavonoides (mg EQ/g peso seco)			
	313.15 K	323.15 K	338.15 K	363.15 K
0	0	0	0	0
60	11.36±0.98 ^a	12.04±1.57 ^a	13.38±1.45 ^a	16.48±0.22 ^b
300	11.19±0.57 ^a	11.44±1.29 ^a	14.98±0.48 ^a	16.43±0.14 ^b
600	11.30±1.06 ^a	14.58±0.80 ^a	15.61±2.18 ^a	16.90±0.51 ^b
900	12.17±0.16 ^a	11.61±2.50 ^a	12.21±0.76 ^a	24.86±1.70 ^a
1200	12.81±2.04 ^a	14.04±0.20 ^a	14.07±0.80 ^a	24.13±0.22 ^a

Las diferencias entre los experimentos realizados a una misma temperatura variando el tiempo, son representadas con diferentes letras minúsculas en superíndice. De acuerdo con la prueba de Tukey indica si son significativamente diferentes ($p<0.05$).

Los resultados de las extracciones bajo estas condiciones, presentados en la tabla 10, muestran que la cantidad de flavonoides extraídos se incrementa conforme se aumentan la temperatura y el tiempo. En particular, se puede notar que a la temperatura más alta (363.15 K) y en los tiempos de 900 y 1200 s, se alcanzaron los valores máximos extraídos, duplicando la cantidad obtenida a la temperatura más baja (313.15 K).

A temperaturas menores (313.15, 323.15 y 338.15 K) la extracción se mantuvo constante a través del tiempo, lo que fue confirmado mediante el análisis estadístico de Tukey. Este análisis indicó que los datos recopilados a bajas temperaturas durante los 1200

s no representan variaciones significativas, lo que nos podría indicar que no existe degradación de compuestos de tipo flavonoide en esas condiciones. Sin embargo, el estudio realizado a 363.15 K, el análisis estadístico reveló que, si hay diferencias en los resultados, y que el máximo de flavonoides extraídos se alcanza entre los segundos 900 y 1200 segundos.

De manera gráfica, la figura 14 ilustra el comportamiento de las extracciones a diferentes temperaturas.

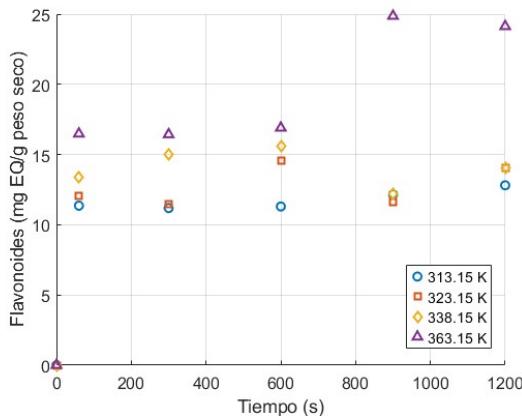


Figura 14. Extracción de flavonoides utilizando la asistencia por microondas, evaluado con una relación líquido/sólido de 60.22:1 mL/g utilizando Glicerol:ChCl con un 37% de agua destilada, a diferentes temperaturas (313.15, 323.15, 338.15 y 363.15 K) y medidas en diferentes intervalos de tiempo (0, 60, 300, 600, 900 y 1200 s).

Para llevar a cabo el estudio cinético se emplearon los modelos de pseudo primer orden y pseudo segundo orden, presentados en la tabla 2, con base a ellos se calcularon las constantes de velocidad k_1 y k_2 que indican la eficiencia de la transferencia de los flavonoides hacia el NADES. Estudios previos que han utilizado estos modelos, como Kurtulbaş (2022), realizaron una extracción asistida por microondas a partir de cascarras de guinda (*Prunus cerasus L.*), utilizando disolventes eutécticos profundos. Además, existen otros estudios que emplean estos modelos para extracciones similares, aunque con disolventes orgánicos tradicionales como los estudios de Abishli y colaboradores (2021) y Albarri y Şahin (2021). Por esta razón, estos modelos fueron propuestos para analizar la extracción de flavonoides asistida por microondas a partir de las hojas de bambú.

Cabe resaltar que, con fines comparativos, los resultados obtenidos en mg EQ/ g de peso seco fueron transformados a mg EQ/L (ver tabla en el Anexo I), con el objetivo de

realizar los cálculos necesarios para determinar las constantes de velocidad de flavonoides k_1 y k_2 .

Tabla 12. Valores de k a diferentes temperaturas de extracción.

Modelo	Parámetro	Temperatura (K)			
		313.15	323.15	338.15	363.15
Pseudo-primer-orden	k_1 (s^{-1})	0.0022	0.0017	0.0007	0.0024
	R^2	0.5441	0.6043	0.1011	0.8543
Pseudo-segundo-orden	k_2 ($L \ mg^{-1} s^{-1}$)	3.66×10^{-6}	5.04×10^{-6}	6.88×10^{-6}	5.33×10^{-7}
	R^2	0.9957	0.9778	0.9843	0.9477

En la figura 15 se observan los datos experimentales analizados mediante la ecuación de pseudo primer orden, mientras que en la tabla 12 se presentan las constantes de velocidad (k_1) que se determinaron mediante la relación entre $\ln(C_\infty/C_\infty - C_t)$ y el tiempo. Tanto la representación gráfica como los datos de la tabla indican que este modelo no se ajusta adecuadamente al proceso, ya que los coeficientes de ajuste obtenidos para cada temperatura evaluada fueron inferiores a $R^2 < 0.55$. Debido a esto se descarta el modelo de pseudo primer orden para describir la transferencia de flavonoides al Gly:ChCl con un 37% de agua.

Al comparar las condiciones óptimas (relación líquido/sólido de 60.22:1 mL/g, NADES con un 37 % de agua destilada y una temperatura de 363.15 K) entre ambos modelos, se observa que los valores R^2 del modelo de pseudo segundo orden están más cercanos a 1. Esto indica un mejor ajuste a los datos experimentales, por lo que se selecciona este modelo para representar el proceso de extracción de flavonoides a partir de las hojas de bambú.

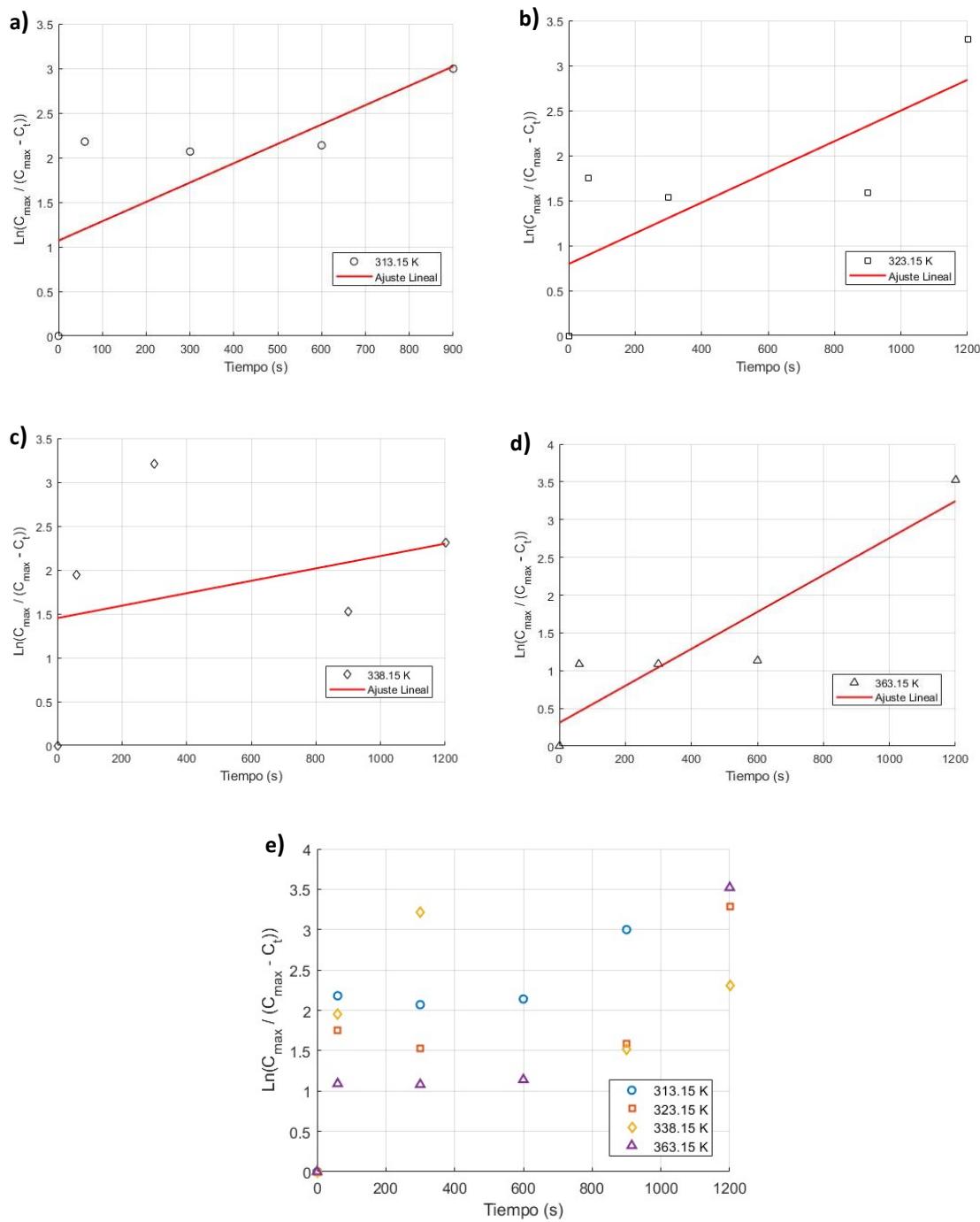


Figura 15. Modelo cinético de pseudo primer orden evaluado a una relación líquido/sólido de 60.22:1 mL/g utilizando Glicerol:ChCl con un 37% de agua destilada a diferentes temperaturas: a) 313.15 K, b) 323.15 K, c) 338.15 K y d) 363.15 K, y en diferentes intervalos de tiempo (0, 60, 300, 600, 900 y 1200 s), así también el inciso e muestra la comparación de todas las temperaturas.

En la figura 16 se ilustran los datos experimentales analizados mediante la ecuación de pseudo segundo orden, donde la relación entre t/C_s y t presentan un comportamiento lineal. A partir de la intersección de la recta $1/(k_2 C_s^2)$ y los valores obtenidos de C_s de cada una de

las temperaturas, se determinan las constantes de velocidad del modelo de psuedo segundo orden (k_2), los cuales se presentan en la tabla 12. De acuerdo con lo mencionado previamente y considerando los valores de R^2 , se puede concluir que este modelo se ajusta adecuadamente a los datos experimentales, ya que se presenta coeficientes de determinación superiores a 0.94.

Sin embargo, a pesar de este buen ajuste, la tabla 12 muestra que la constante de velocidad (k_2) disminuyen con el aumento de la temperatura de extracción. De acuerdo con la literatura, un coeficiente alto indica que existe mayor transferencia de masa. No obstante, en este estudio, al aumentar la temperatura se obtienen los mejores rendimientos de flavonoides, lo que concuerda con el modelo óptimo obtenido, ya que estos valores se encuentran dentro de su intervalo de confianza.

Estudios previos, como el de Kurtulbaş (2022), examinaron la cinética de la extracción asistida por microondas de compuestos fenólicos a partir de cáscaras de cereza ácida (*Prunus Cerasus L.*), utilizando un disolvente eutéctico profundo (DES) compuesto por ácido cítrico y etilenglicol en una relación molar 1:4. En este estudio, se evaluaron ambos modelos de pseudo primer orden y pseudo segundo orden a temperaturas de 345, 351 y 352 K durante 180 segundos, determinando que el modelo de pseudo segundo orden era el más adecuado para describir su extracción. Las constantes de velocidad del modelo (k_2) obtenidos fueron 2.07×10^{-4} , 1.89×10^{-4} y $3.01 \times 10^{-5} \text{ L mg}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Cabe destacar que en el estudio realizado Kurtulbaş (2022) presenta ciertos aspectos relevantes que pueden compararse con el proceso extracción de flavonoides a partir de hojas de bambú. Entre ellos se destaca el uso de disolventes eutécticos profundos y la extracción asistida por microondas. Otro aspecto es que los valores de los coeficientes (k_2) presentan ciertas similitudes con los reportados en la tabla 12, incluyendo que los órdenes de magnitud siguen una tendencia similar, se mantienen dentro del rango esperado y presentan las mismas unidades dimensionales. Por otro lado, las temperaturas aplicadas en dicho estudio se encuentran en el intervalo de térmico empleado en la extracción de flavonoides a partir de hojas de bambú.

Otros estudios como el de Abishli y colaboradores (2021), evaluaron la cinética de extracción asistida por microondas de compuestos fenólicos a partir de cáscaras de *Feijoa sellowiana* utilizando etanol acuoso 60 % (v/v). En su análisis, también compararon los

modelos de pseudo primer orden y pseudo segundo orden a diferentes temperaturas (295, 298, 301 y 304 K). Al igual que el estudio anterior, encontraron que los coeficientes de transferencia de masa (k_2) del modelo de pseudo segundo orden disminuyen al incrementar la temperatura (0.0012, 0.0006, 0.0009 y 0.0005 L mg⁻¹ s⁻¹). Sin embargo, debido al coeficiente de determinación de (R^2), se selecciona el modelo de pseudo primer orden para describir el proceso de extracción.

Del estudio de Abishli y colaboradores (2021), se observa que los valores de los coeficientes obtenidos en este estudio son mayores a los presentados en la tabla 12, lo cual puede atribuirse a que el etanol 60 % (v/v) presenta una mejor mojabilidad de la biomasa, ya que, la tensión superficial del etanol es menor a la del Glicerol:ChCl al 37 %.

Albarri y Şahin (2021) realizaron un estudio cinético para optimizar la extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos a partir de la planta *Moringa oleífera* utilizando etanol acuoso 60 % (v/v). Evaluaron ambos modelos cinéticos en experimentos de 5 min a temperaturas de 298, 300 y 306 K, obteniendo valores de 0.0028, 0.0028 y 0.0029 L mg⁻¹ s⁻¹, respectivamente. Nuevamente basándose en los valores de R^2 , concluyeron que el modelo de pseudo segundo orden era el más adecuado para describir la extracción. Además, reportaron que el aumento de la temperatura favoreció la tasa de extracción, mejorando la solubilidad y difusión de los fenoles en la solución de etanol. También encontraron que las constantes de velocidad incrementaban con la temperatura, lo que contribuyó a tener una mayor eficiencia en el proceso. Sin embargo, estos coeficientes mostraron poca variación entre sí, lo que es coherente porque no hay una gran diferencia entre las temperaturas propuestas.

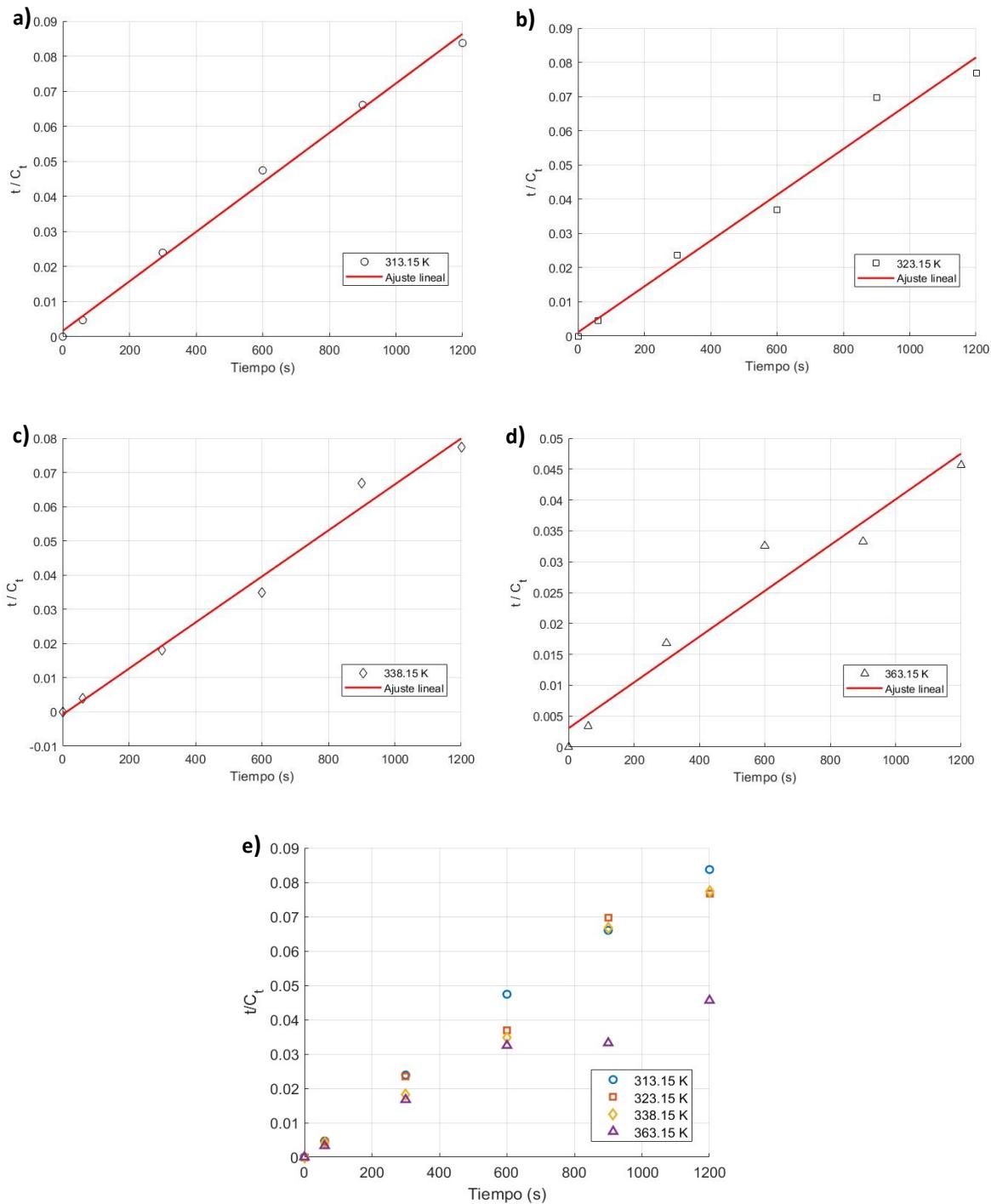


Figura 16. Modelo cinético de pseudo segundo orden evaluado a una relación líquido/sólido de 60.22:1 mL/g utilizando Glicerol:ChCl con un 37% de agua a diferentes temperaturas: a) 313.15 K, b) 323.15 K, c) 338.15 K y d) 363.15 K, y en diferentes intervalos de tiempo (0, 60, 300, 600, 900 y 1200 s), así también el inciso e muestra la comparación de todas las temperaturas.

Con el fin de profundizar el análisis cinético, se realizó la determinación de las propiedades termodinámicas del proceso de extracción de compuestos de tipo flavonoide a

partir de las hojas de bambú, utilizando Glicerol:ChCl 37 % como disolvente y asistencia de microondas, para analizar la difusión de estos compuestos en el *NADES*, ya que es una fase principal en el proceso de extracción sólido/líquido. Para comprender el comportamiento del proceso, se utilizan los parámetros termodinámicos como la entalpía, la entropía y los cambios en la energía de Gibbs (Albarri y Şahin, 2021; Chutia y Mahanta, 2021).

Los cambios de entalpía y entropía de nuestro proceso se determinaron aplicando las ecuaciones de la tabla 2, utilizando los datos experimentales de la tabla 10. En esta última, se puede observar que la concentración máxima ($Y_{\text{máx}}$) a cada temperatura aumentó conforme la temperatura se elevó (313.15, 323.15, 383.15 y 363.15 K), alcanzando valores de 12.81, 14.58, 15.61 y 24.86 mg EQ/g de peso, respectivamente. A partir de estos valores, se calcularon las constantes de equilibrio de extracción (K_e) de cada una de las temperaturas mostradas en la tabla 13 y como era de esperarse la constante de equilibrio aumentó con el aumento de la temperatura.

Tabla 13. Parámetros termodinámicos de la extracción asistida por microondas de flavonoides a partir de hojas de bambú.

Parámetro	Temperatura (K)			
	313.15	323.15	338.15	363.15
K_e	19.1454	25.7526	25.8363	32.7907
$\Delta H \text{ (kJ mol}^{-1}\text{)}$		8.6515		
$\Delta S \text{ (kJ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}\text{)}$		0.0527		
$\Delta G \text{ (kJ mol}^{-1}\text{)}$	-7.8707	-8.3983	-9.1897	-10.5087

Finalmente, a partir de la figura 17, se determinaron los valores de la entalpía y entropía, los cuales se presentan en la tabla 13. Los resultados indican que el proceso es endotérmico debido al valor positivo de la entalpía (ΔH), es decir que requiere energía (en este caso, del calentamiento de microondas). Este comportamiento era esperado, ya que, la absorción de las microondas se lleva a cabo por dos mecanismos que ayudan a degradar el tejido vegetal para que los compuestos flavonoides salgan desde la matriz sólida e interaccionen mediante puentes de hidrógeno con la parte líquida, tal y como lo reporta Plazzotta y colaboradores (2020). Además, con esta información se podría asumir que la energía requerida para la extracción sería más importante para romper las interacciones de los flavonoides con la matriz vegetal.

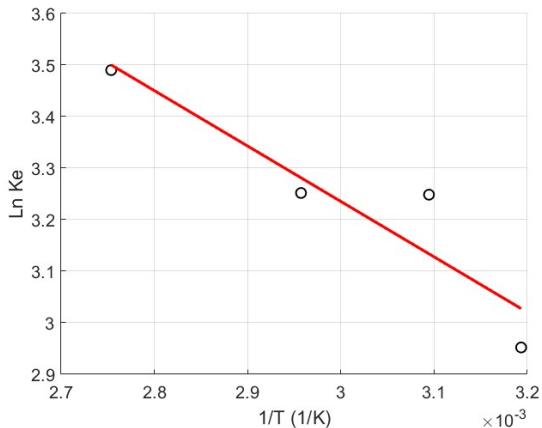


Figura 17. Datos experimentales utilizando la ecuación de Van't Hoff.

Por otro lado, el cambio de la entropía (ΔS) es positivo indica que el sistema tiende hacia un aumento al desorden. Esto indica que los flavonoides están en un estado más ordenado cuando aún se encuentran dentro de la biomasa y al ser extraídos se dispersan en el disolvente lo que provoca que pasen a un estado más desordenado. Añadiendo que, con la disminución de la viscosidad al añadirle agua al *NADES* se estaría haciendo más notable esta dispersión. Es posible que, debido a la presencia del 37 % de agua, tanto el *NADES* como el agua compitan por formar puentes de hidrógeno con los flavonoides, lo que contribuye aún más a la dispersión molecular.

Finalmente, se calcularon los valores de la energía de Gibbs de cada una de las temperaturas con las ecuaciones de la tabla 2, los resultados también se muestran en la tabla 13. Los valores negativos indican que el sistema es espontáneo y al incrementar los valores se deduce que la extracción es más favorable a temperaturas altas lo que indica que la asistencia con microondas se vuelve más viable como se observa en los valores de la tabla 10 (Chutia y Mahanta, 2021). Este comportamiento puede explicarse por la influencia de la temperatura en la absorción de microondas por el material vegetal, tal como se mencionó previamente.

Los resultados obtenidos del análisis termodinámico se basan en $\Delta H > 0$, $\Delta S > 0$ y $\Delta G < 0$, son consistentes con los hallazgos de Krishnan y Rajan (2016), Krishnan y Rajan (2017), Abishli y colaboradores (2021), Albarri y Şahin (2021), Chutia y Mahanta (2021) y Kurtulbaş (2022).

Dado que el análisis termodinámico indicó que conforme se va aumentando la temperatura la extracción es más eficiente, este resultado de sustento adicional para

interpretar los valores obtenidos con el modelo de pseudo segundo orden, el cual demostró ser el mejor modelo para describir el proceso de extracción de flavonoides a partir de hojas de bambú. Destacando que, se cumple con lo reportado en la literatura, ya que, se observa en la mayoría de los estudios, el modelo de pseudo segundo orden es generalmente empleado para describir procesos de extracción sólido/líquido, lo que lo hace aceptable para evaluar procesos de extracción de compuestos antioxidantes (Abishli y colaboradores, 2021; Albarri y Şahin, 2021; Kurtulbaş, 2022; Krishnan y Rajan, 2016; Krishnan y Rajan, 2017).

Si bien la información recaudada no detalla precisamente la interpretación física de cada modelo en procesos de extracción, autores como Chutia y Mahanta (2021) mencionan que los modelos de pseudo primer orden y pseudo segundo orden han sido aplicados para investigar la velocidad de “adsorción” en la extracción de matrices sólidas mediante un solvente. Estos estudios indican que el modelo de pseudo primer orden es más eficiente en la etapa inicial de la “adsorción”, mientras que el modelo de pseudo segundo orden lo han utilizado para analizar la velocidad experimental de todo el proceso.

Aunque la adsorción es el proceso opuesto a la extracción, se puede inferir que en el modelo de pseudo primer orden, la etapa inicial de la extracción ocurre de forma rápida, lo cual, conlleva a alcanzar más rápido el equilibrio. Es decir, sucede rápidamente porque los compuestos se están liberando desde la superficie del material vegetal sin la necesidad de penetrar a zonas más profundas, por lo que, el proceso está dominado por la difusión externa (Wang y Guo, 2020).

Por otra parte, para el modelo de pseudo segundo orden también se puede inferir que, depende tanto de las rupturas de enlace entre los compuestos y la matriz vegetal, y de que tan profundos se encuentren los sitios activos dentro de la matriz vegetal, lo que puede provocar que el equilibrio se alcance lentamente. En otras palabras, este modelo considera la trasferencia de compuestos dentro del material vegetal al exterior, es decir, la transferencia de flavonoides desde la matriz interna de la biomasa hacia su superficie externa, seguida de su transferencia al disolvente mediante mecanismos de difusión externa. Esto se puede corroborar mediante el coeficiente h , que es la velocidad inicial de extracción cuando t se aproxima a cero y se calcula como el producto de k_2 y C_e^2 . Además, este modelo incluye el parámetro C_e (concentración de saturación), que este último estaría analizando la parte final de la superficie del material vegetal hacia el solvente (Krishnan y Rajan, 2016; Krishnan y Rajan, 2017; Sharma y Dash, 2022).

Además, el hecho de que los datos obtenidos se ajustaran al modelo de pseudo segundo orden es que está limitado por la difusión y de cómo es que se da la interacción entre el NADES y la biomasa. Es decir, de acuerdo a lo resultados presentados en la tabla 10, a bajas temperaturas la extracción se extrae menor cantidad de flavonoides porque la difusión es más lenta y constante, es por ello que, su constante de velocidad y su ajuste es mayor.

Por lo que, a altas temperaturas (363.15 K), la constante disminuye debido a que ya la difusión no es constante, mostrando una variabilidad en los resultados, entre los 900 y 1200 segundos. Demostrando una eficiencia en la cantidad de flavonoides extraídos a los tiempos mencionados previamente, lo cual, concuerda con el análisis termodinámico, ya que, indica que el sistema es espontaneo y conforme se vaya aumentando la temperatura la extracción será más favorable. Además, se dedujo que el proceso es endotérmico, por lo que se requiere energía para llevar a cabo la extracción (en este caso, del calentamiento de microondas).

Retomando lo explicado en el párrafo anterior, es por ello que a la temperatura más alta (363.15 K) se obtienen los mejores resultados de la extracción de flavonoides. Adicionando que, se pueden presentar otros sucesos que estarían ayudando en la mejora de la extracción, ya que, diversos autores señalaron que el efecto de las altas temperaturas ayuda a debilitar las interacciones soluto-soluto y soluto-sólido mejorando la transferencia de compuestos desde la matriz vegetal hacia el disolvente (Krishnan y Rajan, 2017).

Cabe destacar que, la extracción asistida por microondas consiste de dos mecanismos, que son por la conducción iónica y la rotación dipolar estarán degradando el tejido vegetal de la hoja de bambú. Y esto se da por la conducción iónica, que es la migración de especies cargadas, como los iones (en este caso el Ch^+ y Cl^-), bajo el efecto del campo eléctrico inducido por las microondas. Y en cuanto la rotación dipolar se refiere a moléculas polares como el agua y el glicerol, que estarán intentando alinearse con el campo eléctrico alterno de las microondas, la rotación rápida genera fricción molecular (Plazzotta y col., 2020).

Dicha fricción entre las moléculas en movimiento y el medio produce calor, lo que ayuda a romper las paredes celulares. Esta ruptura estructural reduce la resistencia a la transferencia de masa, ayudando a la liberación de flavonoides y acelerando su difusión hacia la fase líquida, lo que estaría mejorando la extracción (Plazzotta y col., 2020).

Con base a lo descrito en los párrafos anteriores y los resultados obtenidos del análisis termodinámico (tabla 13), se puede interpretar que, si bien la asistencia por microondas contribuye a mejorar la eficiencia de la extracción, el hecho de tener constantes de velocidad bajos indica que existe una resistencia que limita la velocidad del proceso. Esto podría estar asociado a que la difusión interna es lenta, ya que, los compuestos deben atravesar las paredes celulares para liberarse y después difundirse a través del medio.

Aunque el valor de la constante k_2 disminuye al aumentar la temperatura, este valor representa la eficiencia del proceso y al no tener una difusión constante de los flavonoides que se encuentran dentro de la matriz vegetal y se dirigen hacia el disolvente, se ve obstruido por los fenómenos físicos presentes, como la disminución de la tensión superficial que ayuda en la mojabilidad de la biomasa y facilita mayor interacción del NADES con la matriz sólida, logrando así que se formen un mayor número de puentes de hidrógeno con los flavonoides.

El análisis de la tensión superficial del Glicerol:ChCl al 37 % nos da un valor de $53.69 \pm 1.25 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$, el cual es menor a la tensión superficial del agua, pero considerablemente mayor que la del etanol ($22.07 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$), disolvente comúnmente utilizado y que promueve mojabilidad de la biomasa. Por lo que, la tensión superficial del NADES nos da pauta a que la mojabilidad de la biomasa puede ser no uniforme; aunque al añadir agua mejora este aspecto, es posible que no toda la biomasa se impregne adecuadamente, lo que también podría estar provocando que las constantes de extracción sean bajas.

Adicionalmente, otro factor que podría interferir en el proceso es la viscosidad del NADES. En la figura 12 se observa cómo cambia la viscosidad al aumentar el porcentaje de agua a diferentes temperaturas. El Glicerol:ChCl con un 37 % de agua añadida muestra una variación mínima conforme se va aumentando la temperatura, es decir, la temperatura afecta muy poco en la disminución de la viscosidad, ya que, el agua estaría modificando la red de enlaces de hidrógeno entre cada uno de los componentes del NADES (Zhang y col., 2020). Con base en este análisis el aumento de la temperatura solo ayuda en la degradación del tejido vegetal para mejorar la liberación de flavonoides hacia el NADES. No obstante, se podría intuir es que a altas temperaturas como 363.15 K podría darse el caso de que también está contribuyendo en el debilitamiento de los puentes de hidrógeno.

Existen aún pocos estudios cinéticos sobre extracciones de flavonoides asistidas con microondas utilizando disolventes eutécticos, por lo que aún debe profundizarse en el papel que múltiples factores pueden jugar en los coeficientes de extracción. Dado lo anterior, en

este trabajo no fue posible determinar la energía de activación mediante la ecuación de Arrhenius, la cual utiliza la relación entre la temperatura de extracción y la constante de velocidad en el que se transfieren los compuestos hacia el disolvente (Albarri y Şahin, 2021).

CAPÍTULO 5

5.1 Conclusiones

En el presente estudio, la búsqueda de procedimientos verdes para la extracción de compuestos de interés a partir de un residuo agroindustrial, como lo son las hojas de bambú, se comparó la eficiencia de cinco *NADES* y etanol al 80%, así como agua destilada para extraer flavonoides, utilizando la asistencia de microondas, así como la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos. A partir de los resultados que arrojan las pruebas colorimétricas usadas en el estudio se observa que no hay una relación evidente entre la concentración de flavonoides y la capacidad antioxidante de los extractos, lo cual puede implicar diversas causas, entre ellas la subestimación de algunos compuestos fenólicos, las características fisicoquímicas de los disolventes y la influencia que estos tengan en el proceso de extracción y en las pruebas colorimétricas. No obstante, de las cinco *NADES* evaluados, se consideró que la de Glicerol:ChCl con 20 % de agua añadida era la más adecuada para continuar con la optimización del proceso, debido a su buen desempeño y costo accesible.

La extracción con Glicerol:ChCL se optimizó a través de un diseño experimental factorial central compuesto y la metodología de superficie de respuesta. Las variables experimentales fueron: temperatura, la tasa líquido/sólido y el porcentaje de agua, mientras que las variables de respuesta fueron cantidad de flavonoides totales y capacidad antioxidante de los extractos obtenidos; esta última, evaluada a partir de las pruebas de DPPH y FRAP.

De acuerdo con el análisis estadístico de los datos experimentales, únicamente los valores de flavonoides totales cumplieron con los parámetros de calidad adecuados para predecir el comportamiento del proceso a través de un modelo. A través de éste, se observó que el porcentaje de agua y la relación líquido/sólido son los parámetros que tienen una mayor influencia en la cantidad de flavonoides presentes en el extracto: un mayor porcentaje de agua y una relación menor de líquido/sólido favorecen la extracción, debido a que se promueve una mayor transferencia de flavonoides hacia el Glicerol:ChCl. Un mayor porcentaje de agua disminuye la viscosidad y la tensión superficial, lo cual contribuye a incrementar la eficiencia del proceso.

Las condiciones de extracción optimizada fueron: temperatura: 90°C, tasa:60.22:1 mL/g y porcentaje de agua: 37 %. Bajo estos parámetros el contenido de flavonoides fue de 21.71 ± 1.19 mg EQ/g de bambú.

Aunque la cantidad extraída no superó a la obtenida con etanol al 80 %, el extracto obtenido con Glicerol:ChCl tiene potencial para utilizarse, sin purificación previa, en formulaciones de interés en la industria alimentaria o farmacéutica.

Por otro lado, se analizó la transferencia de masa de manera dinámica y el modelo de pseudo segundo orden fue el que mejor representó el proceso de extracción. Con base en este análisis, es posible inferir que uno de los aspectos que influyen en la menor eficiencia del Glicerol:ChCl con un 37 % de agua con respecto al etanol al 80%, se debe a que la mayor cantidad de flavonoides presentes en la biomasa se encuentra en las regiones internas del material vegetal, lo que limita su liberación rápida hacia el disolvente, provocando que el transporte difusivo sea más lento.

Esto permite concluir que el Glicerol:ChCl con un 37 % de agua añadida impregna parcialmente la superficie de biomasa analizada, sin lograr penetrar hasta los sitios activos más profundos. Como resultado, se limitan las posibles interacciones de puentes de hidrógeno entre el NADES y la biomasa. Este comportamiento es respaldado por el análisis de la tensión superficial, ya que, esta propiedad es mucho mayor en el caso del NADES que en el del etanol al 80 %.

Así también el estudio de los parámetros termodinámicos indicó que la extracción asistida por microondas es un proceso endotérmico y espontáneo. Estos resultados complementaron y respaldaron los datos obtenidos en el análisis cinético y en la optimización del proceso. Adicionalmente, indican que el aumento la temperatura favorece la eficiencia de la extracción, ya que, esto genera la liberación de los flavonoides hacia la superficie. Esto ocurre gracias al calor generado por la fricción generada entre las moléculas en movimiento y el medio, lo que provoca que incremente la presión interna y facilita la ruptura de las paredes celulares.

5.2 Perspectivas

Optimizar los ciclos de reutilización del Glicerol:ChCl con un 37 % de agua añadida para maximizar su eficiencia en la extracción.

Evaluar la estabilidad del extracto para analizar la degradación de los compuestos extraídos y determinar su vida de anaquel, un aspecto fundamental en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética.

Realizar pruebas de la capacidad antioxidante de los extractos generados en modelos animales con el fin de estudiar sus efectos sistémicos del mismo y así poder corroborar si el extracto está listo para usarse.

Llevar a cabo ensayos a mayor escala para comprobar si el escalamiento del proceso de extracción mantiene y permite su producción a nivel industrial.

Llevar a cabo un análisis de ciclo de vida para evaluar el impacto ambiental y determinar si el proceso es completamente viable ambientalmente y económicoamente.

5.3 Anexos I

Tabla II. Flavonoides totales extraídos en estudio cinético.

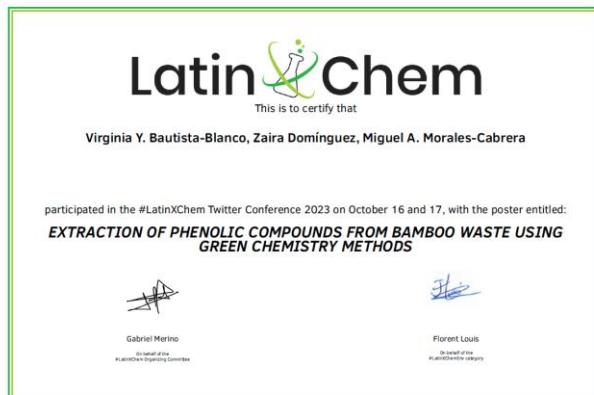
Tiempo (s)	Concentración de flavonoides (mg EQ/L)			
	313.15 K	323.15 K	338.15 K	363.15 K
0	0	0	0	0
60	12708.43	13400.85	14770.03	17949.42
300	12518.25	12732.72	16535.87	17892.80
600	12649.59	16232.46	17229.60	18406.76
900	13619.65	12923.61	13470.87	27078.76
1200	14331.03	15627.96	15526.82	26279.51

XIV. Trabajos derivados de esta tesis (opcional)

Parte de los resultados de este trabajo fueron presentados en diferentes eventos:
El primero fue en el 7° Simposio de Ingeniería de Procesos realizado en septiembre de 2023:



El segundo fue en un evento virtual LatinXChem que se llevó a cabo en octubre de 2023:



El tercero fue en el 4° Simposio de Tópicos Selectos y Aplicaciones de la Química Analítica realizado en octubre de 2023:



El quinto fue en la Academia Mexicana de Investigación y Docencia en Ingeniería Química realizado en mayo del 2024:



El sexto fue nuevamente en modalidad virtual en el LatinXChem que se llevó a cabo en 2024:



El primero fue en el 5° Simposio de Tópicos Selectos y Aplicaciones de la Química Analítica realizado en octubre de 2024:



Referencias

- Airouyuwa, J. O., Mostafa, H., Riaz, A., & 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. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106233>
- Abishli, R., Albarri, R., & Şahin, S. (2021). Mass transfer, kinetics, and thermodynamics studies during the extraction of polyphenols from *Feijoa sellowiana* peels. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(9), e15736. doi: <https://doi.org/10.1111/jfpp.15736>
- Agu, C., Menkiti, M., Ohale, P., & Ugonabo, V. (2021). Extraction modeling, kinetics, and thermodynamics of solvent extraction of *Irvingia gabonensis* kernel oil, for possible industrial application. *Engineering Reports*, 3(4), e12306. doi: <https://doi.org/10.1002/eng2.12306>
- Aguirre-Cadena, J., Aguirre-Medina, J., & Lopez-Gonzalez, J. (2023). Social and economic importance of new bamboo species established in three municipalities of the North Eastern Mountain range of Puebla, Mexico. *Journal of Bamboo and Rattan*, 22(2), 47-53. doi: <https://doi.org/10.55899/09734449/jbr022202>
- Albarri, R., & Şahin, S. (2021). Kinetics, thermodynamics, and mass transfer mechanism of the ultrasound-assisted extraction of bioactive molecules from *Moringa oleifera* leaves. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-8. doi: <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01686-5>
- Alesci, A., Salvo, A., Lauriano, E. R., Gervasi, T., Palombieri, D., Bruno, M., ... & Cicero, N. (2015). Production and extraction of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* and its biological effect on alcohol-induced renal hypoxia in *Carassius auratus*. *Natural product research*, 29(12), 1122-1126. doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.979417>
- Ali, S., & Ahmed, D. (2023). Comparing DES-mediated ultrasound-and heat-assisted extraction of bioactive metabolites from *Saussurea lappa* and optimization by RSM and validation studies. *Green Analytical Chemistry*, 7, 100080. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.greeac.2023.100080>
- AIOMar, M., Hayyan, M., Alsaadi, M., Akib, S., Hayyan, A., & Hashim, M. (2016). Glycerol-based deep eutectic solvents: Physical properties. *Journal of Molecular Liquids*, 215, 98-103. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.11.032>
- Anslyn, E., & Dougherty, D. (2006). *Modern physical organic chemistry*. University science books.
- Atwi-Ghaddar, S., Destandau, E., & Lesellier, E. (2023). Optimization of supercritical fluid extraction of polar flavonoids from *Robinia pseudoacacia* L. heartwood. *Journal of CO₂ Utilization*, 70, 102440. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2023.102440>
- Azmir, J., Zaidul, I., Rahman, M., Sharif, K., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M., Ghafoor, K., Norulaini N. & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Balsano, C., & Alisi, A. (2009). Antioxidant effects of natural bioactive compounds. *Current pharmaceutical design*, 15(26), 3063-3073. doi: <https://doi.org/10.2174/138161209789058084>
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76. doi: <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1999). [2] Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Academic press*, 299, 15-27. doi: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99005-5](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99005-5)
- Biesaga, M. (2011). Influence of extraction methods on stability of flavonoids. *Journal of chromatography A*, 1218(18), 2505-2512. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.02.059>
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200. doi: <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Bondet, V., Brand-Williams, W., & Berset, C. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *LWT-Food Science and Technology*, 30(6), 609-615. doi: <https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0240>
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>

- Brusotti, G., Cesari, I., Dentamaro, A., Caccialanza, G., & Massolini, G. (2014). Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: the role of analysis in the ethnopharmacological approach. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 87, 218-228. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.03.007>
- Chan, C. H., Yusoff, R., & Ngoh, G. C. (2014). Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction. *Chemical engineering research and design*, 92(6), 1169-1186. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2013.10.001>
- Chanioti, S., Liadakis, G., & Tzia, C. (2014). Food Engineering Handbook: Food Process Engineering. CRC Press. URL: <https://books.google.es/books>
- Chanioti, S., & Tzia, C. (2018). Extraction of phenolic compounds from olive pomace by using natural Deep eutectic solvents and innovative extraction techniques. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 48, 228-239. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.07.001>
- Chen, Y., Chen, W., Fu, L., Yang, Y., Wang, Y., Hu, X., & Mu, T. (2019). Surface tension of 50 deep eutectic solvents: effect of hydrogen-bonding donors, hydrogen-bonding acceptors, other solvents, and temperature. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 58(28), 12741-12750. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b00867>
- Cheng, Y., Wan, S., Yao, L., Lin, D., Wu, T., Chen, Y., ... & Lu, C. (2023). Bamboo leaf: A review of traditional medicinal property, phytochemistry, pharmacology, and purification technology. *Journal of Ethnopharmacology*, 306, 116166. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116166>
- Choi, Y. H., van Spronsen, J., Dai, Y., Verberne, M., Hollmann, F., Arends, I. W., & Verpoorte, R. (2011). Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology?. *Plant physiology*, 156(4), 1701-1705. doi: <https://doi.org/10.1104/pp.111.178426>
- Chongtham, N., Bisht, M. S., & Haorongbam, S. (2011). Nutritional properties of bamboo shoots: potential and prospects for utilization as a health food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(3), 153-168. doi: [10.1111/j.1541-4337.2011.00147.x](https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00147.x)
- Choudhury, D., Sahu, J. K., & Sharma, G. D. (2012). Value addition to bamboo shoots: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49, 407-414. doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0379-z>
- Chutia, H., & Mahanta, C. L. (2021). Green ultrasound and microwave extraction of carotenoids from passion fruit peel using vegetable oils as a solvent: Optimization, comparison, kinetics, and thermodynamic studies. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 67, 102547. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102547>
- Cicco, N., Lanorte, M. T., Paraggio, M., Viggiano, M., & Lattanzio, V. (2009). A reproducible, rapid and inexpensive Folin-Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts. *Microchemical journal*, 91(1), 107-110. doi: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2008.08.011>
- Comisión Nacional Forestal. Bambú, la planta de mil usos. 18 de septiembre de 2020. URL: <https://www.gob.mx/conafor/articulos/bambu-la-planta-de-los-mil-usos?idiom=es>
- Cunha, S. C., & Fernandes, J. O. (2018). Extraction techniques with deep eutectic solvents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 105, 225-239. doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.05.001>
- Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G. J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica chimica acta*, 766, 61-68. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.019>
- Dai, Y., Rozema, E., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2016). Application of natural deep eutectic solvents to the extraction of anthocyanins from Catharanthus roseus with high extractability and stability replacing conventional organic solvents. *Journal of Chromatography A*, 1434, 50-56. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.01.037>
- Demirel, Y. (2004). Thermodynamic analysis of separation systems. *Separation science and technology*, 39(16), 3897-3942. doi: <https://doi.org/10.1081/SS-200041152>
- Deng, J., Cheng, W., & Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, 125(4), 1430-1435. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.031>
- Espino, M., de los Ángeles Fernández, M., Gomez, F. J., & Silva, M. F. (2016). Natural designer solvents for greening analytical chemistry. *TrAC trends in analytical chemistry*, 76, 126-136. doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.11.006>
- Fabrowska, J., Ibañez, E., Łęska, B., & Herrero, M. (2016). Supercritical fluid extraction as a tool to valorize

- underexploited freshwater green algae. *Algal Research*, 19, 237-245. doi: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.09.008>
- Faggian, M., Sut, S., Perissutti, B., Baldan, V., Grabnar, I., & Dall'Acqua, S. (2016). Natural deep eutectic solvents (NADES) as a tool for bioavailability improvement: pharmacokinetics of rutin dissolved in proline/glycine after oral administration in rats: possible application in nutraceuticals. *Molecules*, 21(11), 1531. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules21111531>
- Ferreira, A. M., Gomes, H. M., Coutinho, J. A., & Freire, M. G. (2021). Valorization of spent coffee by caffeine extraction using aqueous solutions of cholinium-based ionic liquids. *Sustainability*, 13(13), 7509. Doi: <https://doi.org/10.3390/su13137509>
- Fu, Y., Chen, J., Li, Y. J., Zheng, Y. F., & Li, P. (2013). Antioxidant and anti-inflammatory activities of six flavonoids separated from licorice. *Food chemistry*, 141(2), 1063-1071. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.089>
- Gao, Q., Shi, Y., Liao, M., Xiao, J., Li, X., Zhou, L., ... & Cao, H. (2019). Laboratory and field evaluation of the aphidicidal activity of moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*) leaf extract and identification of the active components. *Pest management science*, 75(12), 3167-3174. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.5434>
- Geankoplis, C. (1998). *Procesos de transporte y operaciones unitarias* (Terceraedición). Continental.
- Gómez-Urios, C., Vinas-Ospino, A., Puchades-Colera, P., Blesa, J., López-Malo, D., Frígola, A., & Esteve, M. (2023). Choline chloride-based natural deep eutectic solvents for the extraction and stability of phenolic compounds, ascorbic acid, and antioxidant capacity from *Citrus sinensis* peel. *LWT*, 177, 114595. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114595>
- Gong, J., Huang, J., Xiao, G., Chen, F., Lee, B., Ge, Q., ... & Zhang, Y. (2016). Antioxidant capacities of fractions of bamboo shaving extract and their antioxidant components. *Molecules*, 21(8), 996. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules21080996>
- González, C. G., Mustafa, N. R., Wilson, E. G., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2018). Application of natural deep eutectic solvents for the “green” extraction of vanillin from vanilla pods. *Flavour and Fragrance Journal*, 33(1), 91-96. doi: <https://doi.org/10.1002/ffj.3425>
- Gulcin, I., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8), 2248. doi: <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Gupta, V. K., Rachna, K., Munish, G., & Monika, G. (2010). Recent updates on free radicals scavenging flavonoids: an overview. *Asian Journal of Plant Sciences*, 9(3), 108-117. doi: <https://doi.org/10.3923/ajps.2010.108.117>
- Griffin, S. P., & Bhagooli, R. (2004). Measuring antioxidant potential in corals using the FRAP assay. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 302(2), 201-211. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2003.10.008>
- Häckl, K., & Kunz, W. (2018). Some aspects of green solvents. *Comptes Rendus Chimie*, 21(6), 572-580. doi: <https://doi.org/10.1016/j.crci.2018.03.010>
- Herrera-Beltrán, I., Méndez-Torruco, M., Matus, M. H., & Domínguez, Z. (2023). Study of the chlorogenic acid extraction with choline chloride-based deep eutectic solvents and its non-covalent interactions analysis. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 36(11), e4560. doi: <https://doi.org/10.1002/poc.4560>
- Hu, R., Yu, L., Zhou, S., Zhou, H., Wan, H., & Yang, J. (2023). Comparative study on optimization of NADES extraction process by dual models and antioxidant activity of optimum extraction from chuanxiong-Honghua. *LWT*, 184, 114991. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114991>
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. (2005). The Chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856. doi: <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, 126(4), 1821-1835. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>
- Indira, A., Santosh, O., Koul, A., & Nirmala, C. (2022). Comparative assessment of the antioxidant potential of bamboo leaves, along with some locally and commercially consumed beverages in India. *Advances in bamboo science*, 1, 100007. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bamboo.2022.100007>
- Jin, Y. C., & Yuan, K. (2012). Studies on the functional components and bioactivity and the relativity of bamboo shoots and shells. *Applied Mechanics and Materials*, 108, 314-319. doi: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.108.314>
- Jiang, S. J. (2013). Study on ultrasonic wave extraction of flavonoids from bamboo leaves. *Advanced Materials Research*, 781, 731-736. doi: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.781-784.731>

- Jiang, L., Belwal, T., Huang, H., Ge, Z., Limwachiranon, J., Zhao, Y., ... & Luo, Z. (2019). Extraction and characterization of phenolic compounds from bamboo shoot shell under optimized ultrasonic-assisted conditions: A potential source of nutraceutical compounds. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 1741-1755. doi: <https://doi.org/10.1007/s11947-019-02321-y>
- Kaderides, K., Papaoikonomou, L., Serafim, M., & Goula, A. (2019). Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 137, 1-11. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2019.01.006>
- Kaur, P. J., Kardam, V., Pant, K. K., Naik, S. N., & Satya, S. (2016). Characterization of commercially important Asian bamboo species. *European Journal of Wood and Wood Products*, 74, 137-139. doi: 10.1007/s00107-015-0977-y
- Khattab, I., Bandarkar, F., Fakhree, M., & Jouyban, A. (2012). Density, viscosity, and surface tension of water+ethanol mixtures from 293 to 323K. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 29, 812-817. doi: <https://doi.org/10.1007/s11814-011-0239-6>
- Kurtulbaş, E. (2022). Prediction of mass transfer and kinetic behavior during the extraction of high added-value products from sour cherry (*Prunus cerasus L.*) peels. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(3), e16401. doi: <https://doi.org/10.1111/jfpp.16401>
- Kumar, S., Singh, N., & Prasad, R. (2010). Anhydrous ethanol: A renewable source of energy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(7), 1830-1844. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.03.015>
- Krishnan, R. Y., & Rajan, K. S. (2016). Microwave assisted extraction of flavonoids from *Terminalia bellerica*: study of kinetics and thermodynamics. *Separation and Purification Technology*, 157, 169-178. doi: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.11.035>
- Krishnan, R. Y., & Rajan, K. S. (2017). Influence of microwave irradiation on kinetics and thermodynamics of extraction of flavonoids from *Phyllanthus emblica*. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 34(3), 885-899. doi: <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20170343s20150628>
- Lan, M. Y., Li, H. M., Tao, G., Lin, J., Lu, M. W., Yan, R. A., & Huang, J. Q. (2020). Effects of four bamboo derived flavonoids on advanced glycation end products formation in vitro. *Journal of functional foods*, 71, 103976. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103976>
- Lázaro-Rangel, J. M., Sánchez, A., Inoue, M., Olivares-Romero, J. L., Meza-Gordillo, R., Salas-Reyes, M., Virués, C. & Domínguez, Z. (2023). Natural Eutectic Solvent Mixture of l-Menthol/Malic acid (4: 1) and Its Ibuprofen Solution: Thermal and Physical Characterizations and NMR Studies of Molecular Interaction. *European Journal of Organic Chemistry*, 26(5), e202201326. doi: doi.org/10.1002/ejoc.202201326
- Letellier, M., & Budzinski, H. (1999). Microwave assisted extraction of organic compounds. *Analisis*, 27(3), 259-270. doi: 10.1051/analisis:1999116
- Li, Y. (2022). Study on the properties of water molecule at different temperatures. In *Journal of Physics: Conference Series*, 2206 (1), 012031. doi: 10.1088/1742-6596/2206/1/012031
- Lim, Y. S., & Lee, S. T. (2013). In vitro antioxidant capacities of star fruit (*Averrhoa carambola*), an underutilised tropical fruit. *Journal of Biology*, 1(1), 21-24.
- Liu, Y., Friesen, J. B., McAlpine, J. B., Lankin, D. C., Chen, S. N., & Pauli, G. F. (2018). Natural deep eutectic solvents: properties, applications, and perspectives. *Journal of natural products*, 81(3), 679-690. doi: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00945>
- Lin, Z., Chen, J., Zhang, J., & Brooks, M. S. L. (2018). Potential for value-added utilization of bamboo shoot processing waste—recommendations for a biorefinery approach. *Food and bioprocess technology*, 11(5), 901-912. doi: <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2088-3>
- Lin, Z., Jiao, G., Zhang, J., Celli, G. B., & Brooks, M. S. L. (2020). Optimization of protein extraction from bamboo shoots and processing wastes using deep eutectic solvents in a biorefinery approach. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11, 2763-2774. doi: <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00614-3>
- López-Linares, J., Campillo, V., Coca, M., Lucas, S., & García-Cubero, M. (2021). Microwave assisted deep eutectic solvent extraction of phenolic compounds from brewer's spent grain. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 96(2), 481-490. doi: <https://doi.org/10.1002/jctb.6565>
- López, N., Delso, I., Matute, D., Lafuente, C., & Artal, M. (2020). Characterization of xylitol or citric acid: choline chloride: water mixtures: Structure, thermophysical properties, and quercetin solubility. *Food chemistry*, 306, 125610. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125610>
- Lu, B., Wu, X., Shi, J., Dong, Y., & Zhang, Y. (2006). Toxicology and safety of antioxidant of bamboo leaves.

- Part 2: Developmental toxicity test in rats with antioxidant of bamboo leaves. *Food and chemical toxicology*, 44(10), 1739-1743. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.05.012>
- Lu, W., & Liu, S. (2020). Choline chloride-based deep eutectic solvents (Ch-DESS) as promising green solvents for phenolic compounds extraction from bioresources: State-of-the-art, prospects, and challenges. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-14. doi: <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00753-7>
- Madureira, J., Melgar, B., Santos-Buelga, C., Margaça, F., Ferreira, I., Barros, L., & Cabo Verde, S. (2021). Phenolic compounds from irradiated olive wastes: Optimization of the heat-assisted extraction using response surface methodology. *Chemosensors*, 9(8), 231. doi: <https://doi.org/10.3390/chemosensors9080231>
- Martinović, M., Krgović, N., Nešić, I., Žugić, A., & Tadić, V. (2022). Conventional vs. green extraction using natural deep eutectic solvents—Differences in the composition of soluble unbound phenolic compounds and antioxidant activity. *Antioxidants*, 11(11), 2295. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox11112295>
- Martins, M. A., Pinho, S. P., & Coutinho, J. A. (2019). Insights into the nature of eutectic and deep eutectic mixtures. *Journal of Solution Chemistry*, 48, 962-982. doi: <https://doi.org/10.1007/s10953-018-0793-1>
- McCabe, W., Smith, J. & Harriot, P. (2007). *Operaciones unitarias en ingeniería química* (Séptima edición). McGraw-Hill.
- Meredith, L., Elbourne, A., Greaves, T. L., Bryant, G., & Bryant, S. J. (2024). Physico-chemical characterisation of glycerol-and ethylene glycol-based deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids*, 394, 123777. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.123777>
- Michael, I. (2024). Application of thermodynamic methods to the study of plant biomass and its components—a review. *Applied Biosciences*, 3(4), 577-616. doi: <https://doi.org/10.3390/applbiosci3040036>
- Milani, G., Curci, F., Cavalluzzi, M. M., Crupi, P., Pisano, I., Lentini, G., ... & Corbo, F. (2020). Optimization of microwave-assisted extraction of antioxidants from bamboo shoots of *Phyllostachys pubescens*. *Molecules*, 25(1), 215. doi: [doi:10.3390/molecules25010215](https://doi.org/10.3390/molecules25010215)
- Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food chemistry*, 130(4), 1036-1043. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>
- Moldovan, M. L., Iurian, S., Puscas, C., Silaghi-Dumitrescu, R., Hanganu, D., Bogdan, C., Vlase, L., Oniga, I., & Benedec, D. (2019). A design of experiments strategy to enhance the recovery of polyphenolic compounds from *Vitis vinifera* by-products through heat reflux extraction. *Biomolecules*, 9(10), 529. doi: <https://doi.org/10.3390/biom9100529>
- Morgana, N. M., Magdalena, E., de los Angeles Fernandez, M., & Fernanda, S. M. (2022). NADES for food industry innovation: Novel bioadditives based on olive oil byproducts. *Food and Bioproducts Processing*, 134, 193-201. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.05.007>
- Mouratoglu, E., Malliou, V., & Makris, D. (2016). Novel glycerol-based natural eutectic mixtures and their efficiency in the ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from agri-food waste biomass. *Waste and Biomass Valorization*, 7, 1377-1387. doi: <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9539-8>
- Munteanu, I., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3380. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Naviglio, D., Scarano, P., Ciaravolo, M., & Gallo, M. (2019). Rapid Solid-Liquid Dynamic Extraction (RSLDE): A powerful and greener alternative to the latest solid-liquid extraction techniques. *Foods*, 8(7), 245. doi: <https://doi.org/10.3390/foods8070245>
- Onofrejová, L., Vašíčková, J., Klejdus, B., Strátil, P., Mišurcová, L., Kráčmar, S. & Vacek, J. (2010). Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 51(2), 464-470. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.03.027>
- Ordóñez Candelaria, Víctor Rubén, Mejía Seulés, Teresa, Bárcenas Pozos, Guadalupe M. (2013). Manual para la construcción sustentable con bambú. Zapopan (Jalisco, México): Comisión Nacional Forestal/Coordinación General de Educación y Desarrollo Tecnológico/Gerencia de Desarrollo y transferencia de Tecnología.
- Pal, C. B. T., & 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*, 26(1), 78-92. doi: <https://doi.org/10.1177/1082013219870010>
- Panić, M., Stojković, M. R., Kraljić, K., Škevin, D., Redovniković, I. R., Srček, V. G., & Radošević, K. (2019).

- Ready-to-use green polyphenolic extracts from food by-products. *Food chemistry*, 283, 628-636. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.061>
- Parniakov, O., Apicella, E., Koubaa, M., Barba, F. J., Grimi, N., Lebovka, N., ... & Vorobiev, E. (2015). Ultrasound-assisted green solvent extraction of high-added value compounds from microalgae *Nannochloropsis* spp. *Bioresource Technology*, 198, 262-267. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.020>
- Paunović, D., Mitić, S., Stojanović, G., Mitić, M., Stojanović, B., & Stojković, M. (2015). Kinetics of the solid-liquid extraction process of phenolic antioxidants and antioxidant capacity from Hop (*Humulus lupulus* L.). *Separation Science and Technology*, 50(11), 1658-1664. doi: <https://doi.org/10.1080/01496395.2014.978019>
- Plazzotta, S., Ibarz, R., Manzocco, L., & Martín-Belloso, O. (2020). Optimizing the antioxidant biocompound recovery from peach waste extraction assisted by ultrasounds or microwaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 63, 104954. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104954>
- Pothoczki, S., Pethes, I., Pusztai, L., Temleitner, L., Ohara, K., & Bakó, I. (2021). Properties of hydrogen-bonded networks in ethanol–water liquid mixtures as a function of temperature: Diffraction experiments and computer simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 125(23), 6272-6279. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.1c03122>
- Radošević, K., Bubalo, M. C., Srček, V. G., Grgas, D., Dragičević, T. L., & Redovniković, I. R. (2015). Evaluation of toxicity and biodegradability of choline chloride based deep eutectic solvents. *Ecotoxicology and environmental safety*, 112, 46-53. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.034>
- Rente, D., Bubalo, M., Panić, M., Paiva, A., Caprin, B., Redovniković, I., & Duarte, A. (2022). Review of deep eutectic systems from laboratory to industry, taking the application in the cosmetics industry as an example. *Journal of cleaner production*, 380, 135147. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.135147>
- Rodriguez-Juan, E., Lopez, S., Abia, R., Muriana, F. J., Fernandez-Bolanos, J., & Garcia-Borrego, A. (2021). Antimicrobial activity on phytopathogenic bacteria and yeast, cytotoxicity and solubilizing capacity of deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids*, 337, 116343. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116343>
- Roma, A., & Pirino, D. (2009). The extraction of natural resources: the role of thermodynamic efficiency. *Ecological economics*, 68(10), 2594-2606. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2009.04.013>
- Routry, W., & Orsat, V. (2012). Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 409-424. doi: <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0573-z>
- Ruesgas-Ramón, M., Figueroa-Espinoza, M., & 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. doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01054>
- Ruiz-Sánchez, E., Clark, L., Londoño, X., Mejía-Saulés, T., & Cortés, G. (2015). Morphological keys to the genera and species of bamboos (Poaceae: Bambusoideae) of Mexico. *Phytotaxa*, 236(1), 1-24. doi: <https://doi.org/10.11164/phytotaxa.236.1.1>
- Rasul, M. (2018). Conventional extraction methods use in medicinal plants, their advantages and disadvantages. *Int. J. Basic Sci. Appl. Comput.*, 2(6), 10-14.
- Santos, S. B. D., Martins, M. A., Caneschi, A. L., Aguilar, P. R. M., & Coimbra, J. S. D. R. (2015). Kinetics and thermodynamics of oil extraction from *Jatropha curcas* L. using ethanol as a solvent. *International Journal of Chemical Engineering*, 2015. doi: <https://doi.org/10.1155/2015/871236>
- Sangeetha, R., Diea, Y., Chaitra, C., Malvi, P., & Shinomol, G. (2015). The amazing bamboo: a review on its medicinal and pharmacological potential. *Indian J Nutr*, 2(1), 1-7.
- Satlewal, A., Agrawal, R., Bhagia, S., Sangoro, J., & Ragauskas, A. J. (2018). Natural deep eutectic solvents for lignocellulosic biomass pretreatment: recent developments, challenges and novel opportunities. *Biotechnology advances*, 36(8), 2032-2050. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.08.009>
- Sazali, A., AlMasoud, N., Amran, S., Alomar, T., Pa'ee, K., El-Bahy, Z., ... & Chuah, L. (2023). Physicochemical and thermal characteristics of chloride-based deep eutectic solvents. *Chemosphere*, 338, 139485. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139485>
- Singhal, P. (2024). Bamboo leaves: an emerging multi-functional food. *Food and Drug Safety*, 1(1), 1-9. doi: <https://doi.org/10.55121/fds.v1i1.134>
- Singleton V.L., Orthofer R.O., Lamuela-Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, 299, 152-178. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Smith, J., van Ness, H. & Abbott, M. (2014). *Introduction to chemical engineering thermodynamics* (Séptima

- edición). McGraw-Hill.
- Smith, E., Abbott, A., & Ryder, K. (2014). Deep eutectic solvents (DESs) and their applications. *Chemical reviews*, 114(21), 11060-11082. doi: <https://doi.org/10.1021/cr300162p>
- So, G. C., & MacDonald, D. G. (1986). Kinetics of oil extraction from canola (rapeseed). *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 64(1), 80-86. doi: <https://doi.org/10.1002/cjce.5450640112>
- Soto-Vaca, A., Gutierrez, A., Losso, J. N., Xu, Z., & Finley, J. W. (2012). Evolution of phenolic compounds from color and flavor problems to health benefits. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(27), 6658-6677. doi: <https://doi.org/10.1021/jf300861c>
- Souza, G., Silva, L., & Martinez, P. (2021). Vapour-liquid equilibria of systems containing deep eutectic solvent based on choline chloride and glycerol. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 158, 106444. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jct.2021.106444>
- Shang, Y. F., Kim, S. M., & Um, B. H. (2014). Optimization of pressurized liquid extraction of antioxidants from black bamboo leaves. *Food Chemistry*, 154, 164-170. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.050>
- Shang, X., Tan, J. N., Du, Y., Liu, X., & Zhang, Z. (2018). Environmentally-friendly extraction of flavonoids from Cyclocarya paliurus (Batal.) Iljinskaja leaves with deep eutectic solvents and evaluation of their antioxidant activities. *Molecules*, 23(9), 2110. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules23092110>
- Sharma, O., & Bhat, T. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008>
- Sharma, M., & Dash, K. (2022). Microwave and ultrasound assisted extraction of phytocompounds from black jamun pulp: Kinetic and thermodynamics characteristics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 75, 102913. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102913>
- Shibata, M., Kubo, K., & Onoda, M. (1975). Pharmacological studies on bamboo grass. (2) Central depressant and antitoxic actions of a water-soluble fraction (folin) extracted from *Sasa albomarginata* Makino et Shibata. *Nihon yakurigaku zasshi. Folia pharmacologica Japonica*, 72(5), 531-541. doi: <https://doi.org/10.1254/fpj.72.531>
- Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 30(18), 3268-3295. doi: <https://doi.org/10.1002/jssc.200700261>
- Sui, M., Feng, S., Liu, G., Chen, B., Li, Z., & Shao, P. (2023). Deep eutectic solvent on extraction of flavonoid glycosides from *Dendrobium officinale* and rapid identification with UPLC-triple-TOF/MS. *Food Chemistry*, 401, 134054. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134054>
- Su, Y., Dong, H., Li, M., Lai, C., Huang, C., & Yong, Q. (2019). Isolation of the flavonoid from bamboo residues and its application as metal ion sensor in vitro. *Polymers*, 11(9), 1377. doi: <https://doi.org/10.3390/polym11091377>
- So, G. C., & MacDonald, D. G. (1986). Kinetics of oil extraction from canola (rapeseed). *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 64(1), 80-86. doi: <https://doi.org/10.1002/cjce.5450640112>
- Shang, Y. F., Kim, S. M., & Um, B. H. (2014). Optimization of pressurized liquid extraction of antioxidants from black bamboo leaves. *Food Chemistry*, 154, 164-170. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.050>
- Ünlü, A. (2021). Green and non-conventional extraction of bioactive compounds from olive leaves: Screening of novel natural deep eutectic solvents and investigation of process parameters. *Waste and biomass valorization*, 12, 5329-5346. doi: <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01411-3>
- Usia, T., Banskota, A. H., Tezuka, Y., Midorikawa, K., Matsushige, K., & Kadota, S. (2002). Constituents of Chinese propolis and their antiproliferative activities. *Journal of natural products*, 65(5), 673-676. doi: <https://doi.org/10.1021/np010486c>
- Tanaka, A., Zhu, Q., Tan, H., Horiba, H., Ohnuki, K., Mori, Y., ... & Shimizu, K. (2014). Biological activities and phytochemical profiles of extracts from different parts of bamboo (*Phyllostachys pubescens*). *Molecules*, 19(6), 8238-8260. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules19068238>
- Tang, B., & Row, K. H. (2013). Recent developments in deep eutectic solvents in chemical sciences. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 144, 1427-1454. doi: <https://doi.org/10.1007/s00706-013-1050-3>
- Tušek, A., Benković, M., Cvitanović, A., Valinger, D., Jurina, T., & Kljusurić, J. (2016). Kinetics and thermodynamics of the solid-liquid extraction process of total polyphenols, antioxidants and extraction yield from Asteraceae plants. *Industrial Crops and Products*, 91, 205-214. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.015>
- Tzanova, M., Atanasov, V., Yaneva, Z., Ivanova, D., & Dinev, T. (2020). Selectivity of current extraction

- techniques for flavonoids from plant materials. *Processes*, 8(10), 1222. doi: <https://doi.org/10.3390/pr8101222>
- Jurinjak-Tušek, A., Šamec, D., & Šalić, A. (2022). Modern techniques for flavonoid extraction to optimize or not to optimize?. *Applied Sciences*, 12(22), 11865. doi: <https://doi.org/10.3390/app122211865>
- Vandeponsele, A., Draye, M., Piot, C., & Chatel, G. (2020). Subcritical water and supercritical carbon dioxide: Efficient and selective eco-compatible solvents for coffee and coffee by-products valorization. *Green Chemistry*, 22(24), 8544-8571. doi: <https://doi.org/10.1039/D0GC03146A>
- Varzakas, T., & Tzia, C. (2014). Food engineering handbook: food process engineering. CRC Press.
- Vilková, M., Płotka-Wasylka, J., & Andruch, V. (2020). The role of water in deep eutectic solvent-base extraction. *Journal of Molecular Liquids*, 304, 112747. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112747>
- Waluyo, B., Wardana, I., Yuliati, L., & Sasongko, M. (2018). The role of molecule cluster on the azeotrope and boiling points of isoctane-ethanol blend. *Fuel*, 215, 178-186. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.10.103>
- Wang, L., Bai, M., Qin, Y., Liu, B., Wang, Y., & Zhou, Y. (2018). Application of ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from bamboo leaves. *Molecules*, 23(9), 2309. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules23092309>
- Wang, J., & Guo, X. (2020). Adsorption kinetic models: Physical meanings, applications, and solving methods. *Journal of Hazardous materials*, 390, 122156. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122156>
- Wang, P., Tian, B., Ge, Z., Feng, J., Wang, J., Yang, K., ... & Cai, M. (2023). Ultrasound and deep eutectic solvent as green extraction technology for recovery of phenolic compounds from *Dendrobium officinale* leaves. *Process Biochemistry*, 128, 1-11. doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.02.018>
- Wei, Z., Qi, X., Li, T., Luo, M., Wang, W., Zu, Y., & Fu, Y. (2015). Application of natural deep eutectic solvents for extraction and determination of phenolics in *Cajanus cajan* leaves by ultra performance liquid chromatography. *Separation and Purification Technology*, 149, 237-244. doi: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.05.015>
- Xin, D., Yang, Z., Liu, F., Xu, X., & Zhang, J. (2015). Comparison of aqueous ammonia and dilute acid pretreatment of bamboo fractions: Structure properties and enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 175, 529-536. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.160>
- Xie, J., Lin, Y. S., Shi, X. J., Zhu, X. Y., Su, W. K., & Wang, P. (2012). Mechanochemical-assisted extraction of flavonoids from bamboo (*Phyllostachys edulis*) leaves. *Industrial Crops and Products*, 43, 276-282. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.041>
- Xie, J., Lin, Y. S., Shi, X. J., Zhu, X. Y., Su, W. K., & Wang, P. (2013). Mechanochemical-assisted extraction of flavonoids from bamboo (*Phyllostachys edulis*) leaves. *Industrial Crops and Products*, 43, 276-282. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.041>
- Xie, J., & Schaich, K. (2014). Re-evaluation of the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(19), 4251-4260. doi: <https://doi.org/10.1021/jf500180u>
- Xu, H., Zhan, L., & Zhang, L. (2016). Comparison of microwave-assisted and heat reflux extraction techniques for the extraction of ten major compounds from Zibu Piycin Recipe using ultra high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 39(5), 1009-1015. doi: <https://doi.org/10.1002/jssc.201501033>
- Xu, J., Wu, J., Qi, J., Li, J., Liu, Y., Miao, Z., ... & Jia, W. (2021). Microwave-assisted extraction of flavonoids from phyllostachys heterocycla leaves: Optimization, mechanism, and antioxidant activity in vitro. *BioResources*, 16(4), 8060. doi: [10.15376/biores.16.4.8060-8081](https://doi.org/10.15376/biores.16.4.8060-8081)
- Yadav, A., Trivedi, S., Rai, R., & Pandey, S. (2014). Densities and dynamic viscosities of (choline chloride+ glycerol) deep eutectic solvent and its aqueous mixtures in the temperature range (283.15–363.15) K. *Fluid Phase Equilibria*, 367, 135-142. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2014.01.028>
- Zainal-Abidin, M. H., Hayyan, M., Hayyan, A., & Jayakumar, N. S. (2017). New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvents: A review. *Analytica Chimica Acta*, 979, 1-23. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2017.05.012>
- Zhang, J., Gong, J., Ding, Y., Lu, B., Wu, X., & Zhang, Y. (2010). Antibacterial activity of water-phase extracts from bamboo shavings against food spoilage microorganisms. *African Journal of Biotechnology*, 9(45), 7710-7717. doi: [10.5897/AJB10.932](https://doi.org/10.5897/AJB10.932)
- Zhang, H., Lang, J., Lan, P., Yang, H., Lu, J., & Wang, Z. (2020). Study on the dissolution mechanism of cellulose

- by ChCl-based deep eutectic solvents. *Materials*, 13(2), 278. doi: <https://doi.org/10.3390/ma13020278>
- Zhao, B. Y., Xu, P., Yang, F. X., Wu, H., Zong, M. H., & Lou, W. Y. (2015). Biocompatible deep eutectic solvents based on choline chloride: characterization and application to the extraction of rutin from *Sophora japonica*. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 3(11), 2746-2755. doi: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b00619>
- Zhu, K. X., Lian, C. X., Guo, X. N., Peng, W., & Zhou, H. M. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*, 126(3), 1122-1126. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.14>

“Lis de Veracruz: Arte, Ciencia, Luz”

www.uv.mx

