

Disolventes eutécticos profundos en la extracción de compuestos fenólicos en fruto entero de *Brosimum alicastrum*

Deep eutectic solvents in the extraction of phenolic compounds in whole fruit of *Brosimum alicastrum*

Víctor M. Moo-Huchin^{1*} , Gustavo Aguilar-Piloto¹ , Enrique Sauri-Duch¹ , Manuel Octavio Ramírez-Sucre² , Jorge C. Canto-Pinto³ , Carlos Rolando Ríos-Soberanis⁴ 

¹Instituto Tecnológico de Mérida. Carretera Mérida-Progreso Km. 5, CP. 97120. Mérida, Yucatán, México.

²Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Carretera Sierra Papacal-Chuburna Puerto Sede Sureste Km. 5.5, CP. 97302. Mérida, Yucatán, México.

³Instituto Tecnológico Superior de Calkiní, Av. Ah Canul S/N por Carretera Federal, CP. 24900. Calkiní, Campeche, México.

⁴Centro de Investigación Científica de Yucatán, Calle 43 No. 130 x 32 y 34, CP. 97205. Mérida, Yucatán, México.

*Autor de correspondencia: victor.mh@merida.tecnm.mx

Artículo científico

Recibido: 29 de enero 2025

Aceptado: 19 de septiembre 2025

RESUMEN. Los disolventes eutécticos profundos (DEPs) han sido utilizados en lugar de disolventes orgánicos (como el metanol), en procesos de extracción verde de compuestos fenólicos (CF). El objetivo fue determinar un proceso de extracción de CF con alta capacidad antioxidante en el fruto entero de *B. alicastrum*, mediante DEPs asistidos de ultrasonido (EAU). La EAU de CF del fruto liofilizado se realizó utilizando 10 DEPs y 50% metanol acuoso (50% Met-OH). Tras determinar el DEPs con mayor contenido de compuestos fenólicos totales (CFT) y capacidad antioxidante, se aplicó un diseño experimental de un solo factor para establecer las condiciones de extracción de CF (contenido de agua en DEPs, temperatura y tiempo de EAU). La EAU de CF se realizó con las mejores condiciones de extracción con DEPs y se comparó con el 50% Met-OH respecto al perfil cromatográfico de CF y la morfología por microscopía electrónica de barrido. El DEPs betaína-glicerol mostró un mayor contenido de CFT (2 200 mg equivalente al ácido gálico 100 g⁻¹) y capacidad antioxidante (1 996.94 mg equivalente al ácido ascórbico 100 g⁻¹) en comparación al 50% Met-OH. El mayor contenido de CFT se obtuvo utilizando 20% de agua en DEPs a 40 °C y 30 min de EAU. El DEPs betaína-glicerol y el 50% Met-OH obtuvieron el mayor contenido de naringina y ácido vanílico, respectivamente. Se concluye que el sistema betaína-glicerol es una opción viable como disolvente verde para la EAU de CF del fruto entero de *B. alicastrum*.

Palabras clave: Antioxidante, compuestos fenólicos, extracción, ramón.

ABSTRACT. Deep eutectic solvents (DES) have been applied instead of organic solvents (such as methanol) in green phenolic compound (PC) extraction processes. The objective of the study was to determine a PC extraction process with high antioxidant capacity from whole fruit of *B. alicastrum*, using ultrasound-assisted DES. Ultrasound-assisted extraction (UAE) of PC from the freeze-dried fruit was performed using 10 DES and an organic solvent, 50% aqueous methanol (50% Met-OH). After determining a DES with the highest content of total phenolic compounds (TPC) and antioxidant capacity, a single-factor experimental design was applied to establish the extraction conditions (water content of DES, temperature and UAE time) of PC. Finally, the UAE of PC was carried out considering the best extraction conditions with DES and it was compared with 50% Met-OH with respect to the chromatographic profile of PC and the morphology by scanning electron microscopy. The DES betaine-glycerol showed a higher TPC content (2 200 mg equivalent to gallic acid 100 g⁻¹) and antioxidant capacity (1 996.94 mg equivalent to ascorbic acid 100 g⁻¹) compared to 50% Met-OH. The highest TPC content was obtained with 20% water in DES at 40 °C and 30 min UAE. The DES betaine-glycerol and 50% Met-OH obtained the highest content of naringin and vanillic acid, respectively. The betaine-glycerol system is proposed as a green solvent for the UAE of PC from the whole fruit of *B. alicastrum*.

Key words: Antioxidant, phenolic compounds, extraction, ramón.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, los consumidores prefieren alimentos más saludables e innovadores, los productos de *B. alicastrum* (también conocido como árbol Ramón) pueden ser una alternativa para una dieta funcional (Moo-Huchin *et al.* 2021). La semilla del fruto de *B. alicastrum* era empleada en diferentes preparaciones como atole o en tortillas y, además la hoja se utiliza como alimento forrajero alternativo para especies de corral (Sarmiento-Franco *et al.* 2022). La harina de la semilla tiene una calidad nutricional superior a algunos cereales que componen la dieta moderna; entonces, este árbol está cobrando mucho interés en los mercados, por su potencial como alimento funcional (Trujillo-Nava *et al.* 2023). La harina de semillas del Ramón es rica en proteínas (11%), tiene un alto contenido de carbohidratos, representando el 70% de su composición, y una baja concentración de grasa cruda (1.5%). Además, contiene fibra, vitaminas B₁, B₂ y ácido fólico, así como minerales tales como calcio, hierro y zinc. Por cada 100 g de harina, aporta 318 Kcal y no contiene gluten (Trujillo-Nava *et al.* 2023).

La harina de semillas de *B. alicastrum* es una fuente de antioxidantes, que son importantes en una dieta saludable porque pueden prevenir enfermedades y el estrés oxidativo en el cuerpo humano (Halliwell 2024). Según Ozer (2017), la harina de semilla de Ramón presentó un mayor contenido de compuestos fenólicos totales en comparación a algunas nueces comerciales. En la semilla del Ramón se encuentran diversos ácidos fenólicos y flavonoides, siendo los principales como la catequina, el ácido gálico, el ácido clorogénico, el ácido cafeico, la epicatequina, el ácido vanílico, el ácido sinápico, el ácido ferúlico, la quercetina y el ácido trans-cinámico (Moo-Huchin *et al.* 2019). Con los presentes antecedentes indicados, la harina o extractos bioactivos del árbol Ramón se convierten en una opción para productores de alimentos funcionales. Las investigaciones de las propiedades bioactivas de *B. alicastrum* pueden contribuir a fomentar su cultivo y su incorporación en la alimentación saludable a personas (Ramírez-Sánchez *et al.* 2017).

La industria tiene el interés de producir alimentos saludables y extractos de compuestos bioactivos con procesos amigables con el medio ambiente (Suthar *et al.* 2023). En este sentido, el estudio de nuevos disolventes de extracción de compuestos bioactivos en plantas como el Ramón es importante para una producción de alimentos en una agroindustria sustentable. Actualmente, se comercializan extractos, polvos y concentrados de compuestos bioactivos de plantas; sin embargo, en la mayoría de los casos se utilizan procesos de extracción con disolventes orgánicos (metanol, etanol, hexano, etc.) de bajo punto de vapor y volatilidad, cierto grado de toxicidad y provocan bioacumulación en el medio ambiente (Pereira *et al.* 2025). Con el propósito de extraer los compuestos bioactivos de una manera más limpia, se investigan métodos alternativos de extracción utilizando disolventes eutécticos profundos (DEPs) combinado con técnicas no convencionales como el ultrasonido. Los DEPs se están utilizando en la extracción de compuestos bioactivos de diferentes matrices vegetales como las semillas, hojas o cáscaras (Alrugaibah *et al.* 2021). Por ejemplo, se han realizado extracciones de compuestos fenólicos con DEPs a partir de hojas de moras o pulpa residual de la extracción de aceite de oliva (Ali-Redha 2021). A diferencia de los disolventes orgánicos, los DEP's presentan características más amigables con el medio ambiente y están elaborados de compuestos relativamente económicos, tienen una toxicidad muy baja o nula, son biodegradables y tienen la posibilidad de ser reutilizables (Pereira *et al.* 2025). Por lo anterior, el

objetivo fue determinar un proceso de extracción de compuestos fenólicos con alta capacidad antioxidante de fruto entero de *B. alicastrum*, mediante DEPs asistidos de ultrasonido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos químicos

El ferricianuro de potasio, el persulfato de potasio, el carbonato de sodio, el acetato de etilo y el ácido oxálico se adquirieron de High Purity® (México). Los estándares de compuestos fenólicos y otros reactivos fueron obtenidos de Sigma–Aldrich Chemical Company (St. Louis, MO, USA).

Obtención de polvo de fruto liofilizado

Se recolectaron los frutos de *B. alicastrum* (40 kg) de diferentes árboles al azar en el Instituto Tecnológico de Mérida, Yucatán, México, localizado a 21° 00' 44" LN y 89° 37' 20" LO. Los frutos se seleccionaron por su madurez, indicado por la coloración naranja de su cáscara con valores promedios de color L*, a*, b*, ángulo de tono (h°) y cromaticidad (C*) de 62.12 ± 2.10, 14.10 ± 1.37, 60.77 ± 2.61, 76.80 ± 1.20 y 65.10 ± 4.5, respectivamente. Se excluyeron del experimento los frutos que mostraron daños físicos y mecánicos. Los frutos enteros se lavaron con agua corriente y se procesaron en un molino estrella MM-E semi automático para reducir el tamaño del fruto, para su posterior liofilización en una liofilizadora Edwards Modulyo EF4 1044 (Apeldoorn, Países bajos) durante 72 h (Aguilar-Piloto *et al.* 2023). El fruto liofilizado fue molido mediante un procesador de alimentos Nutribullet® 600 W (USA) durante 45 s, tamizado con una malla Tyler No. 40 (0.425 mm) y finalmente, el polvo liofilizado se almacenó en bolsas Ziploc® con cierre hermético a -20 °C hasta la extracción de los compuestos fenólicos.

Preparación de DEPs y extracción asistida por ultrasonido (EAU)

En este estudio se consideraron el uso de 10 DEPs para la extracción de compuestos fenólicos del fruto liofilizado de *B. alicastrum*. La selección de los DEPs se basó en los valores máximos de rendimiento de extracción reportados para distintas matrices vegetales (Tabla 1). La mezcla se preparó según la relación molar del aceptor de enlaces de hidrógeno (AH) y el donador de enlaces de hidrógeno (DH) que se muestra en la tabla 1. Se pesaron los componentes de cada mezcla y se colocaron en un vial que contenía un agitador magnético. La mezcla se agitó continuamente a 80 °C hasta que se formó un líquido transparente y homogéneo (30 min). Después de la formación de los DEPs, se añadió al vial un 20% de agua destilada (p/p) para reducir la viscosidad del disolvente y mejorar el proceso de extracción de compuestos fenólicos (Wang *et al.* 2021).

El fruto liofilizado (150 mg) fue mezclado con 3 mL de DEPs (20:1 mL g⁻¹) en un tubo de centrifuga utilizando un vórtex (MX-S, Science Med, México) y luego, colocado en un baño ultrasónico (CScientific CS-UB100, México) para la extracción de compuestos fenólicos, siguiendo las condiciones descritas por Aguilar-Piloto *et al.* (2023). El extracto (sobrenadante) se obtuvo por centrifugación (VE-4000 VELAP, México) a 4 000 rpm durante 15 min a 25 °C. El proceso de extracción usando DEPs se repitió con el sedimento (pellet) y los sobrenadantes de dos ciclos de extracción se combinaron, completando su volumen a 6 mL con el mismo DEPs de extracción y finalmente, el extracto se almacenó a -20 °C (Torrey CHTC-255D, México) bajo obscuridad hasta el

análisis (CFT y capacidad antioxidante). Con la finalidad de comparar con un disolvente orgánico, se realizó una extracción de compuestos fenólicos del fruto utilizando metanol 50% (v/v en agua destilada) (50% Met-OH) siguiendo el procedimiento de Negrón-Díaz *et al.* (2023).

Tabla 1. Componentes de los disolventes eutécticos profundos a diferentes relaciones molares utilizados en esta investigación

Disolvente	Aceptor de enlaces de hidrógeno (AH)	Donador de enlaces de hidrógeno (DH)	Relación molar	Autor
DEPs-1	Betaína	Glicerol	1:2	Zheng <i>et al.</i> (2022)
DEPs-2	Cloruro de colina	Ácido láctico	1:2	Zannou <i>et al.</i> (2022)
DEPs-3	Cloruro de colina	Ácido acético	1:2	Zannou <i>et al.</i> (2022)
DEPs-4	Cloruro de colina-Proлина	Ácido málico	1:1:1	Alrugaibah <i>et al.</i> (2021).
DEPs-5	Cloruro de colina	Ácido oxálico	1:1	Saha y Chakraborty (2019)
DEPs-6	Betaína	Ácido levulínico	1:2	Zhou <i>et al.</i> (2018)
DEPs-7	Cloruro de colina	Ácido cítrico	2:1	Zhou <i>et al.</i> (2018)
DEPs-8	Proлина	Ácido láctico	1:1	Zhou <i>et al.</i> (2018)
DEPs-9	Cloruro de colina	Ácido málico	1:1	Wang <i>et al.</i> (2021)
DEPs-10	Glicina	Ácido láctico	1:5	Zheng <i>et al.</i> (2022).

Efecto del contenido de agua de DEPs (betaína-glicerol), temperatura y tiempo EAU en la variación del contenido CFT

En el presente estudio, se aplicaron experimentos de un solo factor para determinar las condiciones de EAU-DEPs (betaína-glicerol) maximizando el contenido de compuestos fenólicos totales del fruto. Los niveles de cada factor investigado fueron seleccionados con base en la literatura y ensayos preliminares. El proceso de extracción EAU utilizando el disolvente betaína-glicerol se realizó de acuerdo con los procedimientos previamente descritos. Primero, el nivel de temperatura se varió entre 30 y 45 °C, seguido del tiempo de extracción entre 10 y 40 min y finalmente, el contenido de agua entre 10 y 40%. El nivel de cada factor se estableció con base en la mayor concentración CFT. Durante las corridas experimentales, un factor independiente fue cambiado y a la vez los otros factores se mantuvieron constantes.

Métodos analíticos

CFT y capacidad antioxidante *in vitro*

Para determinar la concentración de CFT se utilizó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito previamente por Olvera-Aguirre *et al.* (2022). Una alícuota del extracto (50 µL) se agitó en un vórtex (MX-S, Science Med, México) con 3 mL de agua destilada y 250 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu's (1 N). Después de 8 min de reacción, se agregaron a la mezcla 750 µL de carbonato de sodio (20% p/v en agua destilada) y 950 µL de agua destilada. La mezcla de reacción se incubó a 25 °C durante 30 min y la absorbancia de la muestra se midió a 765 nm usando un espectrofotómetro Uv-Vis (Optizen Pop V, KLAB, Corea). El contenido de CFT se calculó mediante una curva estándar ($y = 0.0009x - 0.0012$, $R^2 = 0.999$) utilizando una solución metanólica de ácido gálico y los resultados se expresaron como mg equivalente al ácido gálico (EAG) 100 g⁻¹ de polvo liofilizado.

La capacidad antioxidante *in vitro* ABTS•+ se determinó de acuerdo con el procedimiento reportado por Olvera-Aguirre *et al.* (2022). El catión activado fue diluido en etanol (96%) hasta que

la mezcla tuviera una absorbancia de 0.7. En un tubo de ensayo se agregaron y mezclaron 30 μL de extracto más 2 970 μL de ABTS•+ y, entonces la absorbancia a 734 nm de la muestra se midió después de 90 min de reacción utilizando un espectrofotómetro UV-Vis (Optizen Pop V, KLAB, Corea). Se preparó una curva de calibración ($y = 0.2483x - 4.5197$, $R^2 = 0.999$) utilizando ácido ascórbico (entre 80 y 300 mg L^{-1}) como estándar y con los valores del porcentaje de inhibición, los resultados se expresaron como mg equivalente al ácido ascórbico (EAA) 100 g^{-1} polvo liofilizado.

Perfil cromatográfico de compuestos fenólicos del fruto entero

Para el análisis de compuestos fenólicos del fruto entero (liofilizado) por HPLC se requirió la recuperación de estos compuestos a partir del extracto obtenido con DEPs betaína-glicerol. El extracto obtenido con DEPs betaína-glicerol (6 mL) se mezcló con 10 mL de acetato de etilo usando agitación magnética a 120 rpm durante 20 min a 25 °C (Hang *et al.* 2022). La mezcla se mantuvo en reposo durante 10 min a 25 °C para la separación de las fases. Se recuperó la fracción de acetato de etilo (fase superior) que contiene los compuestos fenólicos y el proceso se repitió una vez más. Ambas fracciones de acetato de etilo se juntaron y se evaporaron a presión reducida a 45 °C para obtener el extracto seco. El extracto seco fue re-suspendido en 500 μL de agua grado HPLC más 500 μL de metanol grado HPLC para su posterior inyección en el sistema HPLC. Este procedimiento también se siguió para el extracto obtenido con 50% Met-OH. Asimismo, se realizó la inyección directa del extracto obtenido con betaína-glicerol. Las muestras se filtraron a través de una membrana de 0.45 μm (Millex-HV). Los compuestos fenólicos se determinaron utilizando el sistema HPLC UV-Vis (Dionex Ultimate 3000, Thermo Scientific Inc., Germany), equipado con un inyector manual y un detector UV-Vis con longitud de onda variable. Los datos obtenidos fueron procesados mediante el software Chromeleon® Dionex. La separación cromatográfica se realizó en una columna Eclipse XDB-C18 (250 mm x 4.9 mm i.d., 5 μm). Como fases móviles se utilizaron agua HPLC acidificada con ácido fórmico (1% v/v) (fase A) y acetonitrilo HPLC (fase B). La tabla 2 muestra el gradiente utilizado para la separación de compuestos fenólicos.

Tabla 2. Gradiente utilizado en la separación de compuestos fenólicos del fruto *B. alicastrum* por HPLC

Tiempo (min)	Fase A	Fase B
	Agua:ácido fórmico (99:1, v/v)	Acetonitrilo (100%)
0	98%	2%
70	0%	100%
80	98%	2%

El flujo de la fase móvil fue de 0.5 mL min^{-1} y la temperatura de la columna se mantuvo a 25 °C. El volumen de inyección del extracto fue de 50 μL y la longitud de onda fue de 280 nm. Los compuestos fenólicos se identificaron y cuantificaron tras comparar el tiempo de retención y los valores de las áreas de los picos detectados con los obtenidos al inyectar los estándares auténticos. La linealidad de la curva de calibración se comprobó trazando el gráfico del área de los compuestos de referencia en cinco concentraciones utilizando un modelo de regresión lineal de mínimos cuadrados. Para cada compuesto fenólico, los coeficientes de determinación (R^2) de las rectas de regresión fueron ≥ 0.999 . La concentración de cada compuesto fenólico se expresó como mg 100 g^{-1} de peso seco.

Microscopía electrónica de barrido (MEB)

El análisis morfológico de la estructura se realizó mediante MEB, siguiendo el procedimiento de Zheng *et al.* (2022). Después de la extracción de los compuestos fenólicos del fruto mediante EAU utilizando DEPs betaína-glicerol o utilizando 50% Met-OH, el residuo fue secado bajo una campana extractora. Las muestras secas se colocaron en láminas de aluminio con una capa delgada de oro y se observaron con un analizador MEB (JEOL JSM-6360 LV 5, Japón).

Análisis estadístico

Se aplicó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento. Los resultados fueron analizados a través del análisis de varianza ANOVA unidireccional y cuando se detectaron diferencias estadísticas se realizó la comparación de medias por el método de Tukey ($p \leq 0.05$) con el paquete estadístico Statgraphic® Centurión XVI.

RESULTADOS

CFT y capacidad antioxidante *in vitro* del fruto entero *B. alicastrum*

La Figura 1 muestra el contenido de CFT del fruto liofilizado extraído con diferentes DEPs y comparados con el disolvente orgánico acuoso (50% Met-OH). Al comparar los DEPs, los disolventes prolina-ácido láctico, glicina-ácido láctico y betaína-glicerol resultaron con el mayor contenido de CFT (valores entre $1\ 668.63 \pm 28.56$ y $2\ 200 \pm 19.63$ mg EAG $100\ g^{-1}$ de fruto liofilizado). El DEPs betaína-glicerol fue el disolvente eutéctico profundo que obtuvo el mayor ($p \leq 0.05$) contenido de CFT de *B. alicastrum* ($2\ 200 \pm 19.63$ mg EAG $100\ g^{-1}$) en comparación con el disolvente 50 % Met-OH ($1\ 965.74 \pm 13.92$ mg EAG $100\ g^{-1}$).

Los valores de la capacidad antioxidante ABTS•+ del fruto variaron significativamente ($p \leq 0.05$) entre los DEPs y 50% Met-OH (Figura 2). Al comparar los disolventes de extracción, los DEPs-1 (betaína-glicerol), DEPs-3 (cloruro de colina-ácido acético), DEPs-6 (betaína-ácido levulínico), DEPs-9 (cloruro de colina-ácido málico) y DEPs-10 (glicina-ácido láctico), y el 50% Met-OH obtuvieron una capacidad antioxidante superior a 500 mg EAA $100\ g^{-1}$. El fruto entero *B. alicastrum* resultó con mayor capacidad antioxidante ABTS•+ utilizando el disolvente DEP-1 (betaína-glicerol) ($1\ 966.94 \pm 2.39$ mg EAA $100\ g^{-1}$) en comparación con el disolvente orgánico 50% Met-OH ($1\ 257.36 \pm 46.31$ mg EAA $100\ g^{-1}$).

Efecto del porcentaje de agua en el DEPs, la temperatura y el tiempo de EAU en el contenido de CFT del fruto

La figura 3 A muestra el efecto de cuatro niveles de temperatura de extracción EAU (30, 35, 40 y 45 °C) sobre el contenido de CFT del fruto entero de *B. alicastrum* utilizando el DEPs betaína-glicerol. El mayor contenido de CFT en el fruto ($2\ 336.13 \pm 70.01$ mg EAG $100\ g^{-1}$) se reportó a 40 °C en comparación a las otras tres temperaturas evaluadas (valores entre $2\ 057.25 \pm 23.79$ y $2\ 159.88 \pm 62.64$ mg EAG $100\ g^{-1}$). Otro resultado mostró que entre 40 y 45 °C, el contenido de CFT del fruto entero disminuyó de $2\ 336.13 \pm 70.01$ a $2\ 057.25 \pm 23.79$ mg EAG $100\ g^{-1}$, respectivamente.

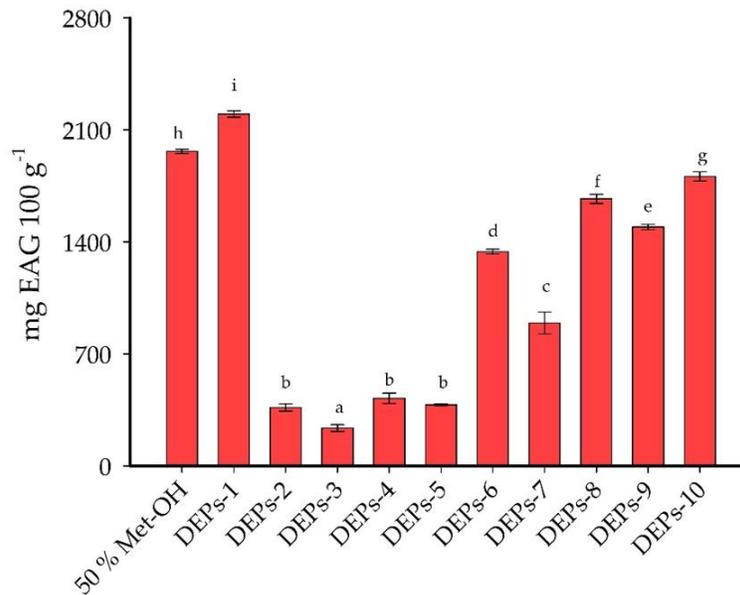


Figura 1. Contenido CFT de fruto entero de *B. alicastrum* usando diferentes disolventes eutécticos profundos (DEPs) y el disolvente orgánico acuoso. EAG = equivalente al ácido gálico. 50% Met-OH = 50% metanol acuoso; DEPs-1=Betaína-glicerol; DEPs-2 = Cloruro de colina-ácido láctico; DEPs-3 = Cloruro de colina-ácido acético; DEPs-4 = Cloruro de colina-prolina-ácido málico; DEPs-5 = Cloruro de colina-ácido oxálico; DEPs-6 = Betaína-ácido levulínico; DEPs-7 = Cloruro de colina-ácido cítrico; DEPs-8 = Prolina-ácido láctico; DEPs-9 = Cloruro de colina-ácido málico y DEPs-10 = Glicina-ácido láctico.

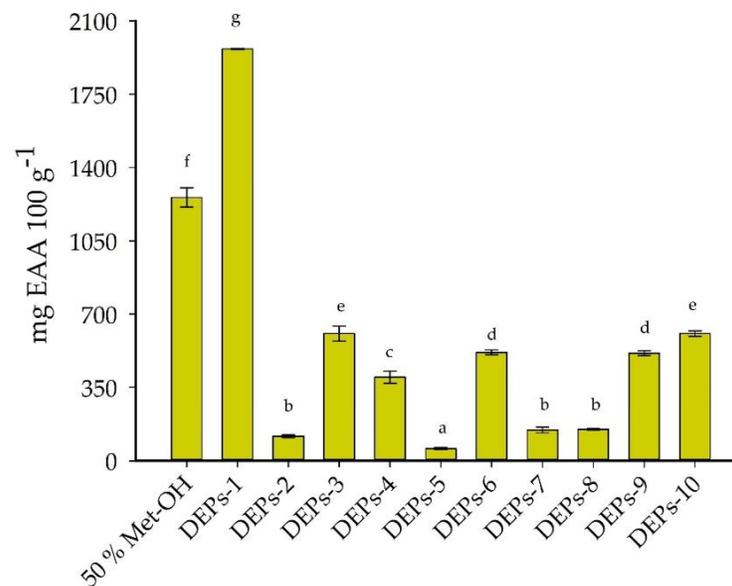


Figura 2. Capacidad antioxidante *in vitro* ABTS•+ de fruto entero de *B. alicastrum* usando diferentes disolventes eutécticos profundos (DEPs) y el disolvente orgánico acuoso. EAA = equivalente al ácido ascórbico. 50% Met-OH = 50% metanol acuoso; DEPs-1 =Betaína-glicerol; DEPs-2 = Cloruro de colina-ácido láctico; DEPs-3 = Cloruro de colina-ácido acético; DEPs-4 = Cloruro de colina-prolina-ácido málico; DEPs-5 = Cloruro de colina-ácido oxálico; DEPs-6 = Betaína-ácido levulínico; DEPs-7 = Cloruro de colina-ácido cítrico; DEPs-8 = Prolina-ácido láctico; DEPs-9 = Cloruro de colina-ácido málico y DEPs-10 = Glicina-ácido láctico.

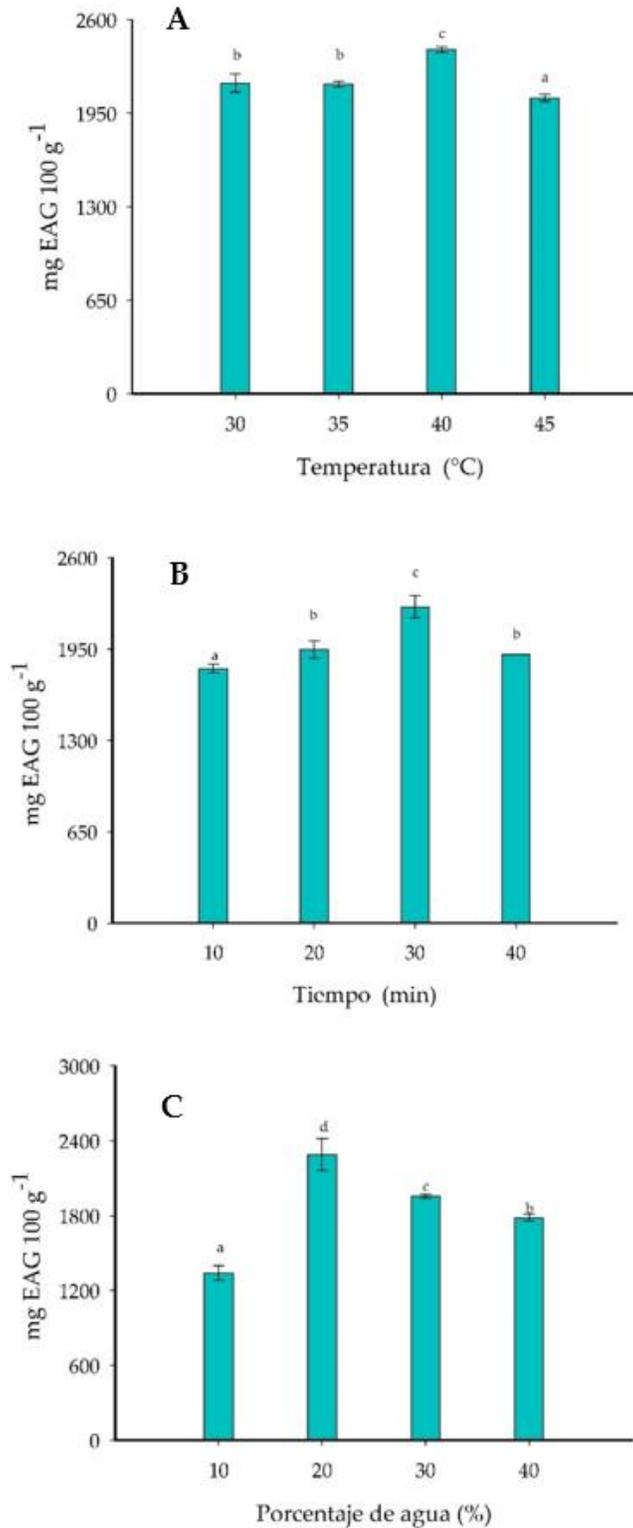


Figura 3. Efecto de la temperatura (A), tiempo de extracción (B) y porcentaje de agua en el DEP (%) (C) en la EAU de compuestos fenólicos del fruto *B. alicastrum* utilizando el disolvente betaína-glicerol. EAG = equivalente al ácido gálico.

El tiempo EAU utilizando el DEPs betaína-glicerol afectó significativamente el contenido de CFT del fruto *B. alicastrum* (Figura 3 B). Al comparar los tiempos de extracción se encontró que el contenido de CFT del fruto era mayor a los 30 min ($2\ 251.63 \pm 78.95$ mg EAG $100\ g^{-1}$). El contenido de CFT del fruto disminuyó a los 40 min en comparación con los 30 min de extracción.

En otro resultado, se encontró que el contenido de CFT del fruto varió debido a los diferentes porcentajes de agua destilada agregada al disolvente de extracción (betaína-glicerol) (Figura 3 C). Se encontró que el contenido de CFT de *B. alicastrum* aumentó 1.63 (20% agua), 1.46 (30% agua) y 1.33 veces (40% agua) en comparación con el 10 % de agua destilada en DEPs. Comparando los niveles de porcentaje de agua, el 20% de agua destilada agregado al DEPs resultó en el contenido más alto de CFT del fruto entero ($2\ 187 \pm 20.44$ mg EAG $100\ g^{-1}$).

Compuestos fenólicos individuales por HPLC e imágenes microscópicas MEB

Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el contenido de compuestos fenólicos individuales del fruto entre el disolvente orgánico (50% Met-OH) y el sistema DEPs betaína-glicerol (Tabla 3). Al inyectar directamente el extracto obtenido con DEPs, se obtuvo mayor contenido de los compuestos fenólicos individuales (valores entre 3.8 y $22.83\ mg\ 100\ g^{-1}$) en comparación al disolvente 50% Met-OH (valores entre 0.48 y $2.56\ mg\ 100\ g^{-1}$). Cuando se utilizó el acetato de etilo para recuperar los compuestos del extracto con DEPs, resultó con el menor contenido de compuestos fenólicos comparado con el extracto DEPs que se inyectó directo al sistema HPLC. De los compuestos fenólicos identificados en fruto, se obtuvo el mayor contenido de naringina ($2.56\ mg\ 100\ g^{-1}$) y ácido vanílico ($22.82\ mg\ 100\ g^{-1}$) para el disolvente 50% Met-OH y DEPs betaína-glicerol, respectivamente.

Tabla 3. Contenido de compuestos fenólicos individuales ($mg\ 100\ g^{-1}$) de fruto entero de *B. alicastrum* utilizando el DEPs betaína-glicerol y el disolvente orgánico (50% Met-OH)

Compuesto fenólico ($mg\ 100\ g^{-1}$)	50% Met-OH	DEPs betaína-glicerol	DEPs-acetato de etilo
Ácido gálico	1.00 ± 0.02^b	10.86 ± 0.03^c	0.72 ± 0.01^a
2,4 hidroxifenil etanol	2.12 ± 0.04^a	15.48 ± 0.09^b	nd
Ácido vanílico	1.77 ± 0.01^a	22.82 ± 0.04^b	1.84 ± 0.08^a
Ácido cafeico	0.48 ± 0.01^b	3.8 ± 0.04^c	0.25 ± 0.00^a
Ácido elágico	0.65 ± 0.01^a	8.81 ± 0.02^b	nd
Naringina	2.56 ± 0.12	nd	nd
Quercetina	1.67 ± 0.01	nd	nd
Ácido trans-cinámico	0.49 ± 0.00^a	8.37 ± 0.06^b	0.55 ± 0.01^a
Crisina	0.83 ± 0.00^a	12.63 ± 0.00^c	0.93 ± 0.03^b
Miricetina	nd	nd	0.17 ± 0.01

Nd = no detectado. Letras diferentes dentro de la misma fila son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

La Figura 4 muestra microfotografías MEB después de la EAU de fruto liofilizado utilizando DEPs betaína-glicerol (A) y 50% Met-OH (B). Se observan partículas con estructuras con mayor daño y grietas en la extracción con DEPs en comparación con la superficie exterior de la estructura obtenido para 50% Met-OH.

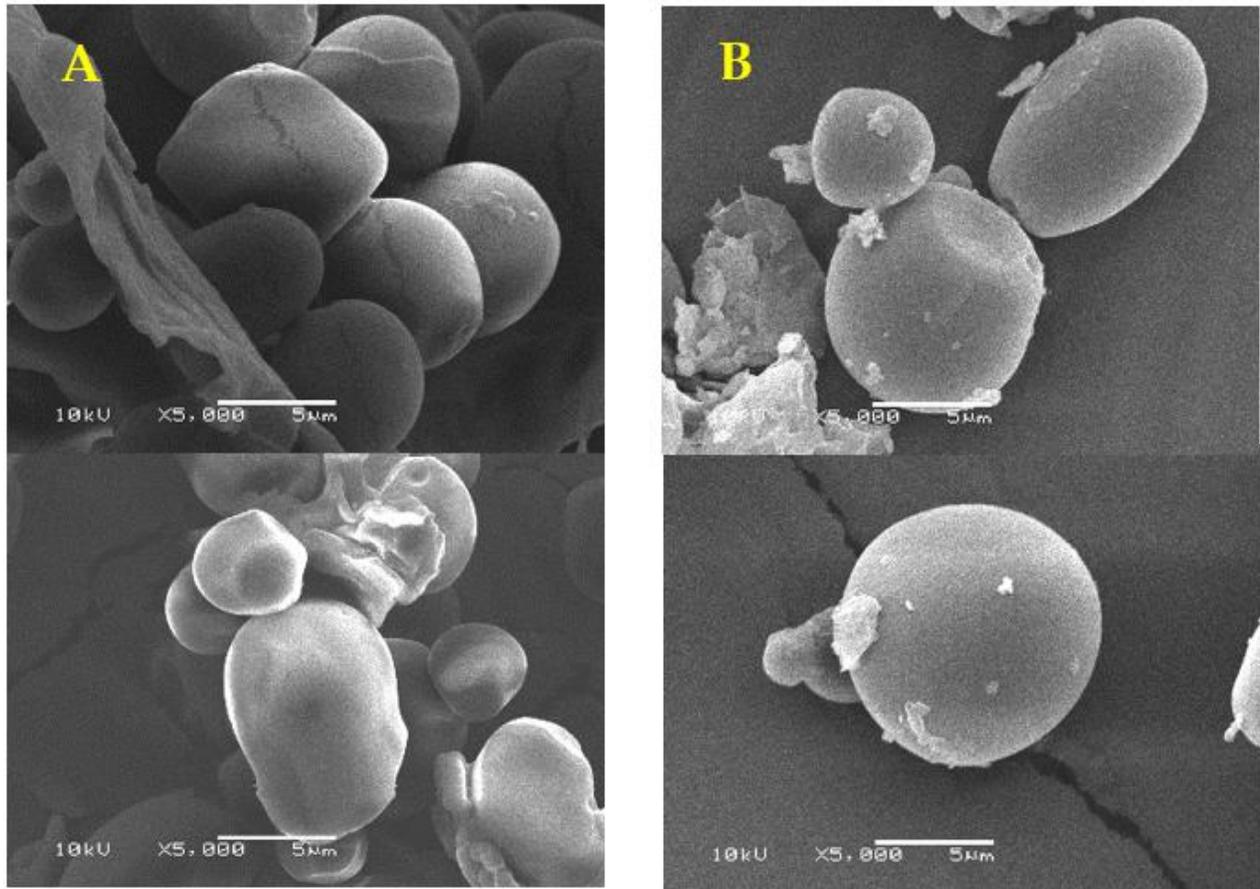


Figura 4. Microfotografía MEB de fruto de *B. alicastrum* después de la EAU con DEPs betaína-glicerol (A) y 50 % Met-OH (B).

DISCUSIÓN

CFT y capacidad antioxidante *in vitro* del fruto entero *B. alicastrum*

La eficiencia de extracción de los compuestos fenólicos está relacionado con las propiedades fisicoquímicas (polaridad, viscosidad, pH, etc.) del disolvente de extracción (Qin *et al.* 2023). Se apoya la idea de que la polaridad del DEPs betaína-glicerol está cerca de la polaridad de los compuestos fenólicos del fruto de *B. alicastrum*, y que el DEPs estaba a favor de extraer los compuestos fenólicos de acuerdo con la teoría del principio “similar-disuelve-similar” (Gao *et al.* 2022). Este hecho explica porque de todos los disolventes investigados, el DEPs betaína-glicerol resultó con el mayor contenido de CFT. En otro estudio, Zheng *et al.* (2022) también compararon el contenido de CFT del salvado de mijo extraído con EAU utilizando nueve DEPs (la mayoría usados en este trabajo) y un disolvente orgánico acuoso (80% metanol). Estos autores seleccionaron el sistema compuesto por betaína-glicerol (relación molar 1:2) como el DEPs óptimo de extracción (~7.5 mg ácido ferúlico g⁻¹ de peso seco).

La variación en el contenido de CFT del fruto encontrado en este trabajo se puede atribuir a las diferencias en las propiedades intrínsecas de los DEPs como su polaridad, tensión superficial, la solubilidad, las interacciones fisicoquímicas y la viscosidad, lo cual es resultado de las diferencias

en la estructura de los DEPs (donador y aceptor de enlaces de hidrógeno) (Mansinhos *et al.* 2021). La polaridad del DEPs betaína-glicerol y sus interacciones de enlaces de hidrógeno con los compuestos fenólicos del fruto *B. alicastrum* parecen ser muy importantes. También Qin *et al.* (2023) informaron que el DEPs prolina-ácido láctico fue uno de los disolventes eutécticos profundos que obtuvo el mayor contenido de CFT (~70 mg EAG g⁻¹) en *Ligustrum robustum*. En otro estudio realizado por Gao *et al.* (2020) sintetizaron 12 DEPs mezclando cloruro de colina con diferentes grupos de donadores de hidrógeno (ácido carboxílico, amida, polialcohol y azúcar) en una determinada proporción molar para evaluar su eficiencia en la EAU de compuestos fenólicos de hojas de *Morus alba* L. Los autores encontraron que los DEPs a base de polialcohol (principalmente glicerol) obtuvieron mejores rendimientos de extracción de CF que los DEPs a base de ácido carboxílico, de amida y de azúcar.

El contenido de CFT del fruto obtenido en la EAU utilizando 50% Met-OH (1 965.74 ± 13.92 mg EAG 100 g⁻¹) resultó mayor a lo reportado por Trujillo-Nava *et al.* (2023) en harina de semillas de *B. alicastrum* (154 mg EAG 100 g⁻¹) utilizando metanol absoluto como disolvente de extracción. En otro trabajo, Losoya-Sifuentes *et al.* (2023) encontraron un contenido de CFT entre 1 161 y 1 335 mg EAG 100 g⁻¹ de peso seco para harina de semillas de *B. alicastrum* secado en el sol y en un deshidratador de alimentos, respectivamente. Estos resultados son valores más bajos a lo reportado en esta investigación. En el trabajo realizado por Mansinhos *et al.* (2021) y Airouyuwa *et al.* (2022) encontraron alta variación en la capacidad antioxidante ABTS•+ entre los DEPs y los disolventes orgánicos utilizados para la extracción de compuestos de las partes aéreas de *Lavandula pedunculata* y las semillas de palma datilera, respectivamente.

El fruto entero *B. alicastrum* resultó con mayor capacidad antioxidante ABTS•+ utilizando el disolvente DEP-1 (betaína-glicerol) (1 966.94 ± 2.39 mg EAA 100 g⁻¹) en comparación con el disolvente orgánico 50% Met-OH (1 257.36 ± 46.31 mg EAA 100 g⁻¹), lo que significa que cuando se añade el extracto antioxidante obtenido con DEP-1 al radical ABTS•+ (cromóforo azul-verde a λ_{max} = 734 nm) se reduce a ABTS y pierde su color. Este resultado es consistente con lo reportado para el contenido de CFT (Figura 1). Al comparar diferentes DEPs y disolventes orgánicos, Zannou *et al.* (2022) encontraron que dos DEPS (cloruro de colina-ácido láctico y cloruro de colina-ácido tartárico) obtuvieron un mayor contenido de CFT y ambos DEPs también tuvieron una mayor capacidad antioxidante en los frutos de *Rhus coriaria* L. Este hecho también fue encontrado por Airouyuwa *et al.* (2022) para semillas de palma datilera. El disolvente DEPs betaína-glicerol tuvo la mayor capacidad antioxidante ABTS•+ en el salvado de mijo en comparación con el disolvente orgánico, metanol al 80% (Zheng *et al.* 2022). En un estudio realizado en la cáscara de *Carya cathayensis* Sarg, se demostró que el DEPs constituido de cloruro de colina-ácido málico tuvo una mayor capacidad antioxidante ABTS•+ que el etanol al 40% (Fu *et al.* 2021).

Un estudio comparó los valores de la capacidad antioxidante ABTS•+ del alga roja *Asparagopsis taxiformis* entre el sistema DEPS betaína-ácido levulínico y tres disolventes orgánicos (acetona, etanol y metanol) (Gao *et al.* 2022). Estos autores demostraron que el DEPS betaína-ácido levulínico obtuvo el valor más alto de capacidad antioxidante ABTS•+ de 4.73 mM trolox g⁻¹ de peso seco en comparación con los disolventes orgánicos (<1.0 mM trolox g⁻¹ de peso seco).

Según la literatura, la betaína es un compuesto zwitteriónico (alta solubilidad en agua) y se ha utilizado como alternativa al cloruro de colina como disolvente eutéctico profundo. En la estructura de la betaína se muestra el mismo resto de amonio cargado positivamente del cloruro de colina y un grupo carboxilo, y, además, su naturaleza salina le confiere una serie de características distintivas. La betaína es un osmolito no tóxico, fácilmente biodegradable y se obtiene de fuentes renovables (subproducto de la producción de azúcar) (Mero *et al.* 2023). Krisanti *et al.* (2019) indicaron que la estructura asimétrica de la betaína con un grupo funcional polar le permite formar fácilmente un enlace eutéctico con los donadores de enlaces de hidrógeno. El DEPs betaína-glicerol mezclado con agua muestra una polaridad muy similar al agua, lo que indica que el mejor DEPs (betaína-glicerol) utilizado en este estudio es muy polar (Rodríguez-Juan *et al.* 2021).

Influencia del contenido de agua en DEPs betaína-glicerol, temperatura y tiempo de EAU sobre el contenido de CFT del fruto

Acorde a la literatura, la extracción de compuestos fenólicos de diversas matrices vegetales utilizando DEPs puede verse influenciada por el contenido de agua en DEPs, la temperatura y el tiempo de EAU (Wang *et al.* 2021). Se asume en este trabajo que el aumento de la temperatura de extracción de 30 a 40 °C permitió que la pared celular del fruto libere compuestos fenólicos asociados con la lignina (Antony y Farid 2022). De hecho, Ali-Redha (2021) señaló que los compuestos fenólicos se adsorben (adsorción física e interacciones químicas) en la matriz de la muestra. Sin embargo, al aumentar la temperatura de EAU aumenta la desorción, aumenta la solubilidad de los compuestos en el disolvente de extracción, disminuye la viscosidad, densidad y tensión superficial de los DEPs y aumenta la difusividad, lo que conduce a mayor rendimiento de extracción de compuestos.

Sin embargo, un mayor aumento de la temperatura de extracción (de 40 a 45 °C, en este trabajo) afecta los enlaces químicos (y la estructura) de los compuestos objetivo, lo que resulta en una degradación térmica (termolabilidad) o la oxidación de ciertos compuestos fenólicos (algunos sensibles al calor) en la muestra (Ali-Redha 2021). De acuerdo con los resultados, la temperatura EAU de 40 °C fue seleccionado para la extracción de compuestos fenólicos del fruto utilizando el DEPs betaína-glicerol. Por otra parte, el incremento del tiempo de EAU (entre 10 y 30 min) favoreció la disolución de los compuestos en el disolvente; sin embargo, la exposición prolongada del fruto (a 40 min) a los ultrasonidos dio lugar a la degradación de los compuestos fenólicos, tal como informaron Wang *et al.* (2021) y Liu *et al.* (2023). Con base en los resultados, se determinó que el tiempo de EAU de 30 min fue la mejor condición de extracción para los compuestos fenólicos del fruto entero de *B. alicastrum*.

En general, los DEPs son más viscosos a los disolventes orgánicos, lo que puede impedir la transferencia de masa entre el DEPs y la matriz de la muestra (Gao *et al.* 2020). La viscosidad de los DEPs se puede reducir agregando agua, lo que afecta la polaridad de los DEPs y ajusta su acidez (Rente *et al.* 2021). La incorporación del 10% de agua destilada al DEPs betaína-glicerol quizás logro reducir la tensión superficial, lo que permitió que el DEPs betaína-glicerol penetre mejor en la matriz del fruto y proporcione un mayor contenido de CFT. La explicación de la disminución en el contenido de CFT con 30 y 40% de agua en DEPs en comparación con 20% de agua es porque el exceso de agua en DEPs cambia la capacidad de formar enlaces de hidrógeno entre la betaína y

glicerol, destruyendo la estructura supramolecular de DEPs (Gao *et al.* 2020). Por tanto, se considera que la interacción entre DEPs y los compuestos fenólicos se debilitó y el contenido de CFT resultó menor. Según Mansur *et al.* (2019), agregar un 20% de agua a DEPs (cloruro de colina-acetamida y cloruro de colina-trietilenglicol) mejoró la extracción de flavonoides de los brotes de trigo sarraceno en comparación a 40, 60 y 80% de agua destilada. Asimismo, Gao *et al.* (2020) encontraron resultados similares al extraer compuestos fenólicos de las hojas de *Morus alba* L.

Contenido de compuestos fenólicos individuales por HPLC y microfotografías MEB

Se ha demostrado que la naringina tiene mayor solubilidad en metanol (Zhang *et al.* 2015), quizás esto explique que el 50 % Met-OH (en comparación a DEPs betaína-glicerol) fue el disolvente que obtuvo mayor contenido de este flavonoide en el fruto de *B. alicastrum*. Ya se ha reportado que la naringina se obtiene de los cítricos y muestra diferentes beneficios a la salud con sus propiedades cardioprotectores, antioxidante, anti-hiperglucémico, anti-inflamatorio y anti-cancerígeno (Shilpa *et al.* 2023). El mayor contenido de ácido vanílico del fruto se reportó para DEPs betaína-glicerol y este compuesto fenólico se ha encontrado en diversas plantas medicinales, siendo utilizado como agente saborizante de diversos productos alimenticios (Kaur *et al.* 2022). El ácido vanílico ejerce una bioactividad contra el cáncer, la diabetes, las enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y hepáticas mediante la inhibición de las vías moleculares asociadas (Kaur *et al.* 2022). De acuerdo con Fanali *et al.* (2020) el sistema DEPs betaína-glicerol (relación molar 1:2) extrajo tirosol a partir de aceite de oliva extra virgen, tal como también se extrajo en fruto entero de *B. alicastrum* usando el mismo disolvente. Al igual que en este trabajo, el ácido vanílico fue uno de los compuestos fenólicos más predominantes en la fracción libre y ligada del salvado de mijo extraído con el sistema betaína-glicerol (Zheng *et al.* 2022).

El contenido de compuestos fenólicos del fruto como el ácido gálico, 2,4 hidroxifenil etanol, ácido vanílico, ácido cafeico, ácido elágico y ácido trans-cinámico extraídos con 50% Met-OH fue similar a lo reportado para la semilla, cáscara de fruto y cutícula de semilla extraídos con etanol acuoso (50%, v/v) (Canto-Pinto *et al.* 2024). Por otra parte, las diferencias encontradas (entre DEPs y 50% Met-OH) en la estructura superficial del fruto después de la extracción de compuestos fenólicos puede atribuirse al efecto sinérgico de la cavitación del ultrasonido y la permeación completa del sistema eutéctico betaína-glicerol, que ingresa a la estructura interior de las partículas. Este hecho en la morfología MEB respalda el uso de DEPs betaína-glicerol con EAU como un método conveniente y práctico para la extracción de compuestos fenólicos del fruto *B. alicastrum*.

CONCLUSIONES

Se concluye que el sistema eutéctico betaína-glicerol es el DEPs que mostró el mayor contenido de CFT ($2\,200 \pm 19.63$ mg EAG 100 g^{-1}) y la mayor capacidad antioxidante ABTS•+ ($1\,996.94 \pm 2.39$ mg EAA 100 g^{-1}) en comparación con el disolvente 50% Met-OH. Se estableció el proceso EAU para la extracción de compuestos fenólicos del fruto entero de *B. alicastrum*, utilizando DEPs betaína-glicerol con 20% de agua, con una temperatura de 40 °C y un tiempo de extracción de 30 min. El contenido de ácido gálico, 2,4 hidroxifenil etanol, ácido vanílico, ácido cafeico y ácido elágico fue mayor en el sistema betaína-glicerol que en el 50% Met-OH. Este estudio propone la extracción de

compuestos fenólicos del fruto entero de *B. alicastrum* utilizando el sistema betaína-glicerol en combinación con la técnica EAU, ya que fue capaz de obtener un mayor contenido de compuestos fenólicos, lo que podría tener aplicaciones en la industria alimentaria.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación por la beca otorgada al segundo autor para realizar estudios de posgrado. Al Tecnológico Nacional de México por el financiamiento del proyecto 20295.24-P "Evaluación de las propiedades bioactivas del fruto de *Brosimum alicastrum* utilizando disolvente eutéctico profundo y disolvente orgánico asistidos por ultrasonido".

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Piloto G, Negrón-Díaz AC, Moo-Huchin VM, Ramírez-Sucre MO, Delgadillo-Díaz M, Cuevas-Glory LF, Sauri-Duch E (2023) Ultrasound-assisted extraction (UAE) of phenolic compounds from *Brosimum alicastrum* fruit and their antioxidant capacity. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 10(NEIII): e3655. <https://doi.org/10.19136/era.a10niii.3655>
- Airouyuwa JO, 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. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106233>
- Ali-Redha A (2021) Review on extraction of phenolic compounds from natural sources using green deep eutectic solvents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 69(3): 878-912. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06641>
- Alrugaibah M, Washington TL, Yagiz Y, Gu L (2021) Ultrasound-assisted extraction of phenolic acids, flavonols, and flavan-3-ols from muscadine grape skins and seeds using natural deep eutectic solvents and predictive modelling by artificial neural networking. *Ultrasonics Sonochemistry* 79: 105773. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105773>
- Antony A, Farid M (2022) Effect of temperatures on polyphenols during extraction. *Applied Sciences* 12(4): 2107. <https://doi.org/10.3390/app12042107>
- Canto-Pinto JC, Pat-Moreno NI, Moo-Huchin VM, Pérez-Pacheco E, Chay-Canul AJ, Estrada-León RJ, Sauri-Duch E, Ríos-Soberanis CR (2024) Comparison of proximate composition, phytochemical contents, antioxidant capacity and polyphenols in *Brosimum alicastrum* leaf, fruit and seed. *Journal of Animal & Plant Sciences* 34(4): 875-885. <https://doi.org/10.36899/JAPS.2024.4.0772>
- Fanali C, Posta SD, Dugo L, Russo M, Gentili A, Mondello L, De Gara L (2020) Application of deep eutectic solvents for the extraction of phenolic compounds from extra-virgin olive oil. *Electrophoresis* 41(20): 1752-1759. <https://doi.org/10.1002/elps.201900423>

- Fu X, Wang D, Belwal T, Xu Y, Li L, Luo Z (2021) Sonication-synergistic natural deep eutectic solvent as a green and efficient approach for extraction of phenolic compounds from peels of *Carya cathayensis* Sarg. *Food Chemistry* 355: 129577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129577>
- Gao H, Wang Y, Guo Z, Liu Y, Wu Q, Xiao J (2022) Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolics from *Asparagopsis taxiformis* with deep eutectic solvent and their characterization by ultra-high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Frontiers in Nutrition* 9: 1036436. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1036436>
- Gao MZ, Cui Q, Wang L-T, Meng Y, Yu L, Li Y-Y, Fu Y-J (2020) A green and integrated strategy for enhanced phenolic compounds extraction from mulberry (*Morus alba* L.) leaves by deep eutectic solvent. *Microchemical Journal* 154: 104598. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104598>
- Halliwell B (2024) Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 25(1): 13-33. <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00645-4>
- Hang NT, Uyen TTT, Van Phuong N (2022) Green extraction of apigenin and luteolin from celery seed using deep eutectic solvent. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 207(5): 114406. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114406>
- Kaur J, Gulati M, Singh SK, Kuppasamy G, Kapoor B, Mishra V, Gupta S, Arshad MF, Porwal O, Jha NK (2022) Discovering multifaceted role of vanillic acid beyond flavours: Nutraceutical and therapeutic potential. *Trends in Food Science & Technology* 122: 187-200. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.023>
- Krisanti EA, Saputra K, Arif MM, Mulia K (2019) Formulation and characterization of betaine-based deep eutectic solvent for extraction phenolic compound from spent coffee grounds. *AIP Conference proceedings*. 2175(1): 020040. <https://doi.org/10.1063/1.5134604>
- Liu X-Y, Ou H, Gregersen H, Zuo J (2023) Deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction of polyphenols from *Cosmos sulphureus*. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 32: 100444. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100444>
- Losoya-Sifuentes C, Pinto-Jimenez K, Cruz M, Rodriguez-Jasso RM, Ruiz HA, Loredó-Treviño A, López-Badillo CM, Belmares R (2023) Determination of nutritional and antioxidant properties of Maya Nut flour (*Brosimum alicastrum*) for development of functional foods. *Foods* 12(7): 1398. <https://doi.org/10.3390/foods12071398>
- Mansinhos I, Gonçalves S, Rodríguez-Solana R, Ordóñez-Díaz JL, Moreno-Rojas JM, Romano A (2021) Ultrasonic-assisted extraction and natural deep eutectic solvents combination: A green strategy to improve the recovery of phenolic compounds from *Lavandula pedunculata* subsp. lusitanica (chaytor) franco. *Antioxidants* 10(4): 582. <https://doi.org/10.3390/antiox10040582>
- Mansur AR, Song N-E, Jang HW, Lim T-G, Yoo M, Nam TG (2019) Optimizing the ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of flavonoids in common buckwheat sprouts. *Food Chemistry* 293: 438-445. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.003>
- Mero A, Koutsoumpou S, Giannios P, Stavrakas I, Moutzouris K, Mezzetta A, Guazzelli L (2023) Comparison of physicochemical and thermal properties of choline chloride and betaine-based deep eutectic solvents: The influence of hydrogen bond acceptor and hydrogen bond donor nature and their molar ratios. *Journal of Molecular Liquids* 377: 121563. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.121563>
- Moo-Huchin V, Canto-Pinto J, Cuevas-Glory L, Sauri-Duch E, Pérez-Pacheco E, Betancur-Ancona D (2019) Effect of extraction solvent on the phenolic compounds content and antioxidant activity of Ramon nut (*Brosimum alicastrum*). *Chemical Papers* 73: 1647-1657. <https://doi.org/10.1007/s11696-019-00716-x>
- Moo-Huchin V, Góngora-Chi GJ, Sauri-Duch E, Canto-Pinto JC, Betancur-Ancona D, Ramón-Canul LG (2021) Tortilla de maíz adicionado con harina de *Brosimum alicastrum*: propiedades fisicoquímicas y actividad antioxidante. *CIENCIA ergo-sum* 28(3): 1-12. <https://doi.org/10.30878/ces.v28n3a1>

- Negrón-Díaz AC, Aguilar-Piloto G, Moo-Huchin VM, Delgadillo-Díaz M, Sauri-Duch E (2023) Extracción asistida por ultrasonidos (EAU) de compuestos fenólicos de diferentes tejidos de *Brosimum alicastrum*. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 10(NEIII): e3659. <https://doi.org/10.19136/era.a10nNEIII.3659>
- Olvera-Aguirre G, Mendoza-Taco MM, Moo-Huchin VM, Lee-Rangel HA, Roque-Jiménez JA, Gómez-Vázquez A, Dzib-Cauich DA, Vargas-Bello-Pérez E, Chay-Canul AJ (2022) Effect of extraction type on bioactive compounds and antioxidant activity of *Moringa oleifera* Lam. leaves. Agriculture 12(9): 1462. <https://doi.org/10.3390/agriculture12091462>
- Ozer HK (2017) Phenolic compositions and antioxidant activities of Maya nut (*Brosimum alicastrum*): Comparison with commercial nuts. International Journal of Food Properties 20(11): 2772-2781. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1252389>
- Pereira TC, Souza VP, Padilha APF, Duarte FA, Flores EM (2025) Trends and perspectives on the ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds using natural deep eutectic solvents. Current Opinion in Chemical Engineering 47: 101088. <https://doi.org/10.1016/j.coche.2024.101088>
- Qin G, Zhang F, Ren M, Chen X, Liu C, Li G, Gao Q, Qiao L, Jiang Y, Zhu L, Guo Y, Wang G (2023) Eco-friendly and efficient extraction of polyphenols from *Ligustrum robustum* by deep eutectic solvent assisted ultrasound. Food Chemistry 429: 136828. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136828>
- Ramírez-Sánchez S, Ibáñez-Vázquez D, Gutiérrez-Peña M, Ortega-Fuentes MS, García-Ponce LL, Larqué-Saavedra A (2017) El ramón (*Brosimum alicastrum* Swartz) una alternativa para la seguridad alimentaria en México. Agro Productividad 10(1): 80-83.
- Rente D, Paiva A, Duarte AR (2021) The role of hydrogen bond donor on the extraction of phenolic compounds from natural matrices using deep eutectic systems. Molecules 26(8): 2336. <https://doi.org/10.3390/molecules26082336>
- Rodríguez-Juan E, Rodríguez-Romero C, Fernández-Bolaños J, Florido MC, Garcia-Borrego A (2021) Phenolic compounds from virgin olive oil obtained by natural deep eutectic solvent (NADES): Effect of the extraction and recovery conditions. Journal of Food Science and Technology 58: 552-561. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04567-3>
- Sarmiento-Franco L, Montfort-Grajales S, Sandoval-Castro C (2022) La semilla del árbol Ramón (*Brosimum alicastrum* Swartz): alternativa alimentaria energética para animales de producción y seres humanos. Bioagrociencias 15(1): 19-28. <http://dx.doi.org/10.56369/BAC.4214>
- Shilpa V, Shams R, Dash KK, Pandey VK, Dar AH, Ayaz Mukarram S, Harsányi E, Kovács B (2023) Phytochemical properties, extraction, and pharmacological benefits of naringin: a review. Molecules 28(15): 5623. <https://doi.org/10.3390/molecules28155623>
- Suthar P, Kaushal M, Vaidya D, Thakur M, Chauhan P, Angmo D, Kashyap S, Negi N (2023) Deep eutectic solvents (DES): An update on the applications in food sectors. Journal of Agriculture and Food Research 14: 100678. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100678>
- Trujillo-Nava IJ, Negrete-Hernández J, García-Arrazola R, Dávila Ú, Gimeno M (2023) Characterization of the ramon tree seed (*Brosimum alicastrum* Swartz.) as a potential food source. Agrociencia 57(7): 1-16. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i7.2771>
- Wang R, He R, Li Z, Li S, Li C, Wang L (2021) Tailor-made deep eutectic solvents-based green extraction of natural antioxidants from partridge leaf-tea (*Mallotus furetianus* L.). Separation and Purification Technology 275(15): 119159. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.119159>
- Zannou O, Pashazadeh H, Galanakis CM, Alamri AS, Koca I (2022) Carboxylic acid-based deep eutectic solvents combined with innovative extraction techniques for greener extraction of phenolic compounds from sumac (*Rhus coriaria* L.). Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 30: 100380. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100380>

- Zhang J, Zhang P, Liu T, Zhou L, Zhang L, Lin R, Yang G, Wang W, Li Y (2015) Solubility of naringin in ethanol and water mixtures from 283.15 to 318.15 K. *Journal of Molecular Liquids* 203: 98-103. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2014.12.039>
- Zheng B, Yuan Y, Xiang J, Jin W, Johnson JB, Li Z, Wang C, Luo D (2022) Green extraction of phenolic compounds from foxtail millet bran by ultrasonic-assisted deep eutectic solvent extraction: Optimization, comparison and bioactivities. *LWT-Food Science and Technology* 154: 112740. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112740>