



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

FACULTAD DE QUIMICA Y CIENCIAS EXACTAS

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**Obtención de películas activas con adición de
extractos de limón**

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:

INGENIERA QUÍMICA

Autora: Gualpa Guaycha, Karen del Cisne

Director: Meneses Chamba, Miguel Ángel

LOJA

2022



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NC-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2022

Aprobación del director del Trabajo de Titulación

Loja, 14 de septiembre de 2022

Magister

Natalí Solano Cueva

Directora de la carrera de Ingeniería Química.

Ciudad. -

De mi consideración:

Me permito comunicar que, en calidad de director del presente Trabajo de Titulación denominado: Obtención de películas activas con adición de extractos de limón, realizado por Karen del Cisne Gualpa Guaycha ha sido orientado y revisado durante su ejecución, así mismo ha sido verificado a través de la herramienta de similitud académica institucional, y cuenta con un porcentaje de coincidencia aceptable. En virtud de ello, y por considerar que el mismo cumple con todos los parámetros establecidos por la Universidad, doy mi aprobación a fin de continuar con el proceso académico correspondiente.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Director: Miguel Ángel Meneses Chamba

C.I.: 1103885636

Correo electrónico: mameneses@utpl.edu.ec

Declaración de autoría y cesión de derechos

Yo, Karen del Cisne Gualpa Guaycha, declaro y acepto en forma expresa lo siguiente:

Ser autor (a) del Trabajo de Titulación denominado: Obtención de películas activas con adición de extractos de limón, de la carrera de Ingeniería Química, específicamente de los contenidos comprendidos en: Estado del arte, Metodología, Resultados y discusión, Conclusiones y Recomendaciones, siendo Miguel Ángel Meneses Chamba PhD., director del presente trabajo; también declaro que la presente investigación no vulnera derechos de terceros ni utiliza fraudulentamente obras preexistentes. Además, ratifico que las ideas, criterios, opiniones, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad. Eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones judiciales o administrativas, en relación a la propiedad intelectual de este trabajo.

Que la presente obra, producto de mis actividades académicas y de investigación, forma parte del patrimonio de la Universidad Técnica Particular de Loja, de conformidad con el artículo 20, literal j), de la Ley Orgánica de Educación Superior; y, artículo 91 del Estatuto Orgánico de la UTPL, que establece: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”, en tal virtud, cedo a favor de la Universidad Técnica Particular de Loja la titularidad de los derechos patrimoniales que me corresponden en calidad de autor/a, de forma incondicional, completa, exclusiva y por todo el tiempo de su vigencia.

La Universidad Técnica Particular de Loja queda facultada para ingresar el presente trabajo al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública, en cumplimiento del artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Autor: Karen del Cisne Gualpa Guaycha

C.I.: 1150004750

Correo electrónico: kdgualpa@utpl.edu.ec

Dedicatoria

Este trabajo se lo dedico primeramente a Dios y a la Virgencita ya que gracias a sus bendiciones he podido culminar mi vida Universitaria a pesar de las lágrimas, el sudor y esfuerzo que se necesita para cumplir con cada actividad y trabajo. Porque son mi consuelo cada noche de soledad en los que no pensaba en rendirme.

A mis padres Jenny Guaycha y Wilman Gualpa, por el esfuerzo y apoyo en cada una de mis decisiones, por la motivación que me brindaron las veces en las que no podía creer en mí misma y por enseñarme lo que es trabajar duro para poder lograr con tus metas.

A mis hermanos Wilman Gualpa y Jenny Gualpa por soportarme en mis días malos y alegrarse conmigo en mis logros, además de enseñarme a sonreír en los momentos más oscuros.

A mis amigos y demás familia por brindarme una palabra de aliento o un consejo cuando lo he necesitado.

Agradecimiento

Al Dr. Miguel Ángel Meneses por haberme guiado con su apoyo, paciencia y confianza para poder salir adelante en mi trabajo de fin de titulación

A la Dr. Diana Elizabeth Guaya porque con sus palabras pude motivarme y seguir con la carrera, siempre tendré en mente sus palabras.

A mis compañeros y amigos de la Universidad, gracias a ellos podía tener una sonrisa en mi rostro todos los días de clase o en el laboratorio con cada ocurrencia o broma que hacían. En especial a Paola y Emmily, dos amigas incondicionales que hice desde el primer ciclo, por sus consejos, salidas y en cada trabajo que realizábamos juntas, gracias a todos ellos consideraré a la Universidad como la mejor etapa de mi vida.

A mi familia, por creer en mí a pesar de las circunstancias de la vida y apoyarme siempre en poder superarme como profesional y sobre todo como persona.

Índice de contenido

Carátula.....	I
Aprobación del director del Trabajo de Titulación.....	II
Declaración de autoría y cesión de derechos	III
Dedicatoria.....	V
Agradecimiento	VI
Índice de contenido.....	VII
Resumen	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Capítulo uno	5
Estado del arte.....	5
1.1 Limón sutil. <i>Citrus aurantifolia</i>	5
1.1.1 Origen.	5
1.1.2 Características y Descripción Botánica.....	6
1.1.3 Cosecha y Postcosecha.	7
1.1.4 Propiedades nutritivas y curativas del limón sutil.....	8
1.1.5 Cáscara de limón sutil.	8
1.1.6 Tipo de control para el limón destinado a la extracción.	9
1.2 Métodos de extracción de compuestos bioactivos.	9
1.2.1 Extractos de limón.	10
1.2.2 Compuestos bioactivos en limón.....	13
1.2.3 Compuestos fenólicos.	13
1.2.4 Compuestos Antioxidantes.	13
1.3 Empaques biodegradables.	17
1.3.1 Alimentos mínimamente procesados.....	20
1.3.2 Biopolímeros	20
1.3.3 Almidón.....	21
1.3.4 Quitosano.	21
1.3.5 Polivinil alcohol.....	21

1.3.6	Métodos de preparación de películas biodegradables.....	22
1.4	Propiedades de las películas.....	22
Capítulo dos.....		27
Metodología.....		27
2.1	Adquisición de materia prima.....	27
2.2	Caracterización de la materia prima.....	27
2.2.1	Determinación del color.....	27
2.2.2	Determinación del porcentaje de acidez del limón.....	27
2.2.3	Índice de madurez del limón.....	28
2.3	Obtención del extracto de limón.....	28
2.3.1	Pretratamiento de materia prima.....	28
2.3.2	Obtención del extracto por maceración.....	28
2.3.3	Obtención del extracto por líquido presurizado.....	28
2.3.4	Purificación de los extractos de limón.....	29
2.4	Determinación de compuestos activos.....	30
2.4.1	Contenido de fenoles totales.....	30
2.4.2	Determinación la capacidad antioxidante.....	31
2.5	Elaboración de biopelículas activas.....	31
2.6	Medición de las propiedades de las biopelículas activas.....	32
2.6.1	Color.....	32
2.6.2	Transparencia y opacidad.....	32
2.6.3	Solubilidad en agua.....	33
2.6.4	Propiedades mecánicas.....	33
2.6.5	Biodegradación en las biopelículas.....	33
2.7	Análisis estadístico.....	34
Capítulo tres.....		35
Resultados y Discusión.....		35

3.1	Caracterización fisicoquímica del limón.....	35
3.2	Obtención de los extractos de limón	38
3.2.1	Rendimientos de los extractos de limón	39
3.2.2	Cuantificación de Fenoles totales.....	40
3.2.3	Actividad antioxidante	41
3.3	Obtención de películas activas.....	42
3.4	Propiedades de las películas	42
3.4.1	Color y espesor de las biopelículas.....	42
2.7.1	Transparencia y opacidad en las biopelículas.....	44
3.4.2	Solubilidad en agua	45
3.4.3	Propiedades mecánicas.....	47
3.4.4	Biodegradación de las biopelículas.....	48
	Conclusiones.....	51
	Recomendaciones.....	53
	Referencias.....	54

Índice de tablas

Tabla 1	Características del Citrus aurantifolia.	6
Tabla 2	Condiciones climáticas para el cultivo de Citrus aurantifolia.	7
Tabla 3	Información nutricional del limón.	8
Tabla 4	Estudios relacionados a extracciones del limón.....	11
Tabla 5	Estudios sobre compuestos bioactivos en el limón.....	15
Tabla 6	Estudios sobre películas biodegradables y su influencia en los alimentos	18
Tabla 7	Estudios sobre las propiedades de las películas biodegradables.	24
Tabla 8	Formulación para las biopelículas	32
Tabla 9	Coordenadas de color en el limón	36
Tabla 10	Caracterización del limón	36
Tabla 11	Rendimiento de los extractos de limón	39

Tabla 12 Contenido de fenoles totales en el extracto de limón.....	40
Tabla 13 Actividad Antioxidante de los extractos de limón	41
Tabla 14 <i>Resultados de las propiedades ópticas de las películas activas</i>	43
Tabla 15 Resultados de las propiedades de barrera a la luz de las biopelículas activas.	44
Tabla 16 Resultados de la solubilidad de las películas con y sin extracto de limón	45
Tabla 17 Resultados de las propiedades mecánicas de las biopelículas.....	47

Índice de figuras

Figura 1 Fruto de Citrus aurantifolia	5
Figura 2 Purificación de los extractos de limón.....	30
Figura 3 Extractos de limón en seco.....	38
Figura 4 Extracto de limón liofilizado	38
Figura 5 Biopelículas con extractos de limón	42
Figura 6 Resultados de la solubilidad de las películas con y sin extractos de limón	46
Figura 7 Propiedades mecánicas de las biopelículas	48
Figura 8 Control de la desintegración de las biopelículas.....	49

Resumen

En el presente trabajo se obtuvieron biopelículas activas a base de quitosano, almidón y PVA adicionando extractos de limón obtenidos mediante procesos de extracción por maceración y líquido presurizado. Para ello, se analizó el rendimiento de los extractos obtenidos por cada método, además se evaluó el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante. Cabe recalcar que se realizó una purificación a los extractos para poder mejorar la capacidad antioxidante y aplicarlos en la formulación de las biopelículas, lo cual afectó en su rendimiento (1,22%). Se midieron diferentes parámetros de tipo físicos, mecánicos y biodegradables a las biopelículas los cuales se analizaron tomando en cuenta el tipo de extracto añadido en la formulación. Se observó que las películas con el extracto de limón tuvieron un color amarillento, presentaron buenas propiedades de barrera contra la luz UV (0,51% - 0,38%) y VIS (94% - 87%). La adición de los extractos de limón hacía la formulación de las películas mejoraron el % de alargamiento de las películas ELM y ELP (57,12% - 47,06%) y afectó la resistencia a la tracción de ELM y ELP (4,38 - 2,28 Mpa) respectivamente. Además de la solubilidad en las que se obtuvieron valores de 55,95% y 60,93% para ELM y ELP respectivamente. Finalmente, en la biodegradabilidad se analizó cualitativamente como con el paso de los días la película llegaba a desintegrarse completamente.

Palabras clave: Extractos de limón, películas biodegradables, antioxidantes.

Abstract

In the present work, active biofilms based on chitosan, starch and PVA were obtained by adding lemon extracts obtained through maceration and pressurized liquid extraction processes. For this, the yield of the extracts obtained by each method was analyzed, in addition the content of total phenols and antioxidant activity were evaluated. It should be noted that a purification of the extracts was carried out in order to improve the antioxidant capacity and apply them in the formulation of the biofilms, which affected their performance (1.22%). Different physical, mechanical and biodegradable parameters of the biofilms were measured, which were analyzed taking into account the type of extract added in the formulation. It was observed that the films with the lemon extract had a yellowish color, presented good barrier properties against UV light (0.51% - 0.38%) and VIS (94% - 87%). The addition of lemon extracts to the film formulation improved the % elongation of ELM and ELP films (57.12% - 47.06%) and affected the tensile strength of ELM and ELP (4.38 -2.28Mpa) respectively. In addition to the solubility in which values of 55.95% and 60.93% were obtained for ELM and ELP, respectively. Finally, in the biodegradability, it was qualitatively analyzed how with the passing of days the film came to completely disintegrate.

Keywords: Lemon extracts, biodegradable films, antioxidants.

Introducción

En la industria alimentaria se hace uso de empaques para poder almacenar los alimentos procesados o mínimamente procesados los cuales se fabrican con polímeros derivados de petróleo, sin embargo, el impacto ecológico que generan estos plásticos es grande ya que se produce una cantidad significativa de residuos después de su uso (Kanatt & Makwana, 2020). En este contexto, se ha optado por el reemplazo de los polímeros derivados del petróleo, por polímeros biodegradables para la elaboración materiales de envases activos que contengan un gran potencial para mejorar la calidad de los alimentos en lo que respecta a la conservación y vida útil. (Souza et al., 2017) Uno de los biopolímeros usados para la creación de empaques son el quitosano, este material es de bajo costo y posee buena compatibilidad, biodegradabilidad, propiedades no tóxicas y antimicrobianas que se han aprovechado para proteger los alimentos de la contaminación, las películas únicamente de quitosano no poseen una buena flexibilidad (Bhat et al., 2022), es por eso que en algunos estudios se combina este con otros biopolímeros como el PVA o el almidón que al ser polímeros biodegradables con buenas propiedades, no tóxicos, adhesivas, biocompatibles y solubles en agua, se proporcionan buenas propiedades mecánicas y de barrera en las biopelículas. (Jahan et al., 2016).

A estos sistemas de envasado se añaden una serie de compuestos activos que cumplen diferentes funciones como mejorar las propiedades de barrera contra el oxígeno, liberación de gases, aroma o humedad. (Andrade et al., 2021), estos se obtienen a partir de extractos y aceites de especies vegetales que contienen una gran variedad de compuestos fenólicos como los terpenos, flavonoides o ácidos fenólicos los cuales presentan una baja volatilidad con alto potencial antioxidante y antimicrobiano (Vilela et al., 2018). En este contexto, el limón es un fruto ácido conocido y usado mundialmente el cual contiene una cáscara de color verde que es el principal residuo, no obstante, existen investigaciones que demuestran que la cáscara presenta una proporción significativa de compuestos fenólicos los cuales están asociados a una importante actividad de tipo antioxidante, antiinflamatoria o antibacteriana que ayudan a promover efectos biológicos en el organismo, ayuda al sistema inmunológico e incluso se pueden generar productos

potenciales para las diferentes industrias como alimenticia, farmacéutica, nutraceútica y cosmética. (Chaves et al., 2022)

Los componentes activos del limón se pueden obtener mediante diferentes procesos de extracción usando solventes como etanol y agua que en este caso se usaron para aplicar métodos de extracción por maceración y extracción por líquido presurizado a una sola condición, con ello, se realizó una comparación del contenido de fenoles totales y actividad antioxidante obtenidos mediante los diferentes métodos de extracción. El contenido fenólico y la actividad antioxidante se midieron en este estudio por ensayos de coloración como el ensayo de Folin-Ciocalteu y DPPH respectivamente, sin embargo, debido a la muestra surgieron inconvenientes al momento de cuantificar la capacidad antioxidante, es por eso que se procedió a realizar una purificación de los extractos usando adsorbentes de sílice DSC-18 para obtener compuestos únicamente de interés, es decir los compuestos fenólicos y eliminar los azúcares presentes en la muestra.

El objetivo de este estudio fue desarrollar películas bioactivas con capacidad antioxidante y antimicrobiana adicionando extractos naturales, para ello, se obtuvo primeramente los extractos de la corteza de limón mediante maceración y líquido presurizado, se realizó un análisis de la capacidad antioxidante de los extractos y con ello se prepararon la películas activas por el método de Casting para posteriormente evaluar algunas de las propiedades físicas, mecánicas y de biodegradación para su uso como empaques en los alimentos.

Capítulo uno

Estado del arte.

1.1 Limón sutil. *Citrus aurantifolia*.

El *Citrus aurantifolia*, comúnmente llamado limón sutil es un pequeño fruto cítrico que se consume en todo el mundo. (Castillo et al., 2015) Dentro de este apartado se presenta algunos datos y recopilación de información acerca del fruto como su origen, datos nutricionales, características y demás.

1.1.1 Origen.

El origen histórico del fruto Citrus se dice que tiene sus inicios en Assam, una región ubicada en la India en donde se ha cultivado por 2500 años, los comerciantes árabes se encargaron de difundir el fruto llegando hacia Grecia por el este y a España por el oeste en el siglo XI. La propagación de los cítricos desde sus lugares de origen se debió fundamentalmente a los grandes movimientos migratorios. Conforme al paso del tiempo hasta la actualidad, la especie ha sufrido algunas modificaciones de manera natural o producto del hombre. (Puente, 2006). A continuación, en la figura 1 se presenta al fruto de *Citrus aurantifolia*.

Figura 1

Fruto de Citrus aurantifolia



La especie *Citrus aurantifolia* tiene un fruto de tamaño medio con forma redonda, presenta un color generalmente verde o verde amarillento al madurar, contiene cáscara delgada, pulpa de color verde de sabor ácido y aromático. En la actualidad se produce en todas las áreas tropicales y templadas del mundo siendo los mayores productores de limón Europa, México y la India. Con

respecto a la producción Nacional, el limón sutil es cultivado principalmente en las provincias de Manabí, Pichincha, los Ríos y Loja. (Quirumbay, 2021)

1.1.2 Características y Descripción Botánica.

Con respecto a las características de la planta del limón sutil, se presenta la información correspondiente a la Tabla 1.

Tabla 1

Características del Citrus aurantifolia.

<i>Citrus aurantifolia</i>	
Reinos	Vegetal
Clase	Angiospermae
Subclase	Dicotiledónea
Orden	Rutae
Familia	Rutaceae
Género	Citrus
Subgénero	Eucitrus
Especie	Citrus Aurantifolia
Nombre común	Limón criollo, lima mexicana, lima ácida, lima chica, lima boba, limón chiquito, limón corriente, limón agrio.

Nota. Quirumbay (2021, p 5)

La planta de *Citrus aurantifolia* es un árbol de tipo mediano a pequeño con ramificaciones irregulares, brotes con espinas cortas y agudas.

Las hojas son como láminas elípticas-ovales de 2,5 a 9 cm de longitud y 1,5 a 5,5 cm de ancho, base redondeada y ápice ligeramente recortado, márgenes usualmente crenulados. Peciolos notablemente alados. Flores blancas de diámetro de 1,5 a 2,5 cm, fragantes que se disponen en inflorescencias axilares de 1 a 7 flores. Frutos pequeños, ovalados a subglobosos, con un ápice ligeramente deprimido. Pericarpio delgado, usualmente de superficie lisa, de color amarillo verdoso. Endocarpio con 9 a 12 segmentos, sabor ácido o ligeramente dulce. Contiene pocas semillas de pequeño tamaño. Ovais altamente poliembriónicas. (Puente, 2006)

1.1.3 Cosecha y Postcosecha.

Anticipadamente de los procesos de cosecha y postcosecha del limón, se encuentra el proceso de cultivo. El limón se reproduce normalmente por medio de las semillas seleccionadas, sin embargo, se ha realizado actualmente prácticas factibles como es el injerto. Para cualquier opción de siembra del limón, se requiere de condiciones climáticas y ambientales para que el fruto crezca sin inconvenientes y de mejor calidad, las condiciones del suelo y clima se presentan a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2

Condiciones climáticas para el cultivo de Citrus aurantifolia.

Consideraciones del clima y suelo.	
Clima	Cálido y templado
Temperatura	Desde 18 a 29 °C promedio
Humedad	Entre 40 a 70%
Precipitación	Entre 900 a 1200 mm anuales.
Viento	20 km/h máximo.
Altitud	De 40 a 1500 m.s.n.m.
Tipo de suelo	Suelos profundos, bien aireados, franco arenoso
pH	Neutro o ligeramente ácido. (5.5 a 6.5).

Nota. (Quirumbay, 2021)

La etapa de cosecha del limón sutil se determina mediante la maduración del fruto, esta se da en todo el año. La cosecha se realiza manualmente cuando la cáscara del fruto sea completamente verde, brillante, de piel lisa y de forma redonda. Es importante el cuidado y manejo de la fruta en el proceso de cosecha para evitar cortes o estropeos en la corteza del fruto. En la postcosecha de frutas y verduras representan un grupo de operaciones que se involucran desde la madurez hasta el consumo, estos procesos son la cosecha, manipulación, procesamiento y almacenamiento del fruto. (Vegas & Narrea, 2011). Los frutos que contiene más del 30% en volumen de jugo y contiene color verde madura son caracterizados por tener una vida útil mayor en diferencia los frutos de color amarillo las cuales deben comercializarse inmediatamente después de la cosecha. (Mero, 2020)

1.1.4 *Propiedades nutritivas y curativas del limón sutil.*

El limón es una de las especies de cítricos más conocida en el mundo ya que se la consume como fruta fresca o el jugo debido a sus propiedades y diversos compuestos fitoquímicos, entre ellos el compuesto más conocido en el limón es la vitamina C, este componente es un gran eliminador de toxinas y un poderoso bactericida. La vitamina C presente en abundancia, refuerza las defensas del organismo para evitar enfermedades como gripes, catarros, ronquera, amigdalitis, congestiones nasales, entre otras. Posee un gran poder desinfectante y antitóxico frente a venenos microbianos y algunos medicamentos. Es rico en minerales, es por eso que ayuda a cicatrizar heridas de todo tipo, activa la circulación de la sangre, es bueno en casos de diabetes para evitar complicaciones con las arterias además de prevenir la formación de cálculos renales. (Ortiz, 2018) En la tabla 3, se encuentra datos nutricionales y contenido de algunos minerales que se encuentran en el limón.

Tabla 3

Información nutricional del limón.

Valores nutritivos del limón en 100 g.	
Agua (gr)	87,5
Calorías (cal)	29,0
Grasa (gr)	0,6
Carbohidratos (gr)	8,1
Proteínas (mg)	0,5
Calcio (mg)	41,0
Fósforo (mg)	15,0
Vitamina B1 (mg)	51,0
Vitamina C (mg)	51,0

Nota. Tabla de composición de alimentos para América Latina. (FAO).

1.1.5 *Cáscara de limón sutil.*

La cáscara de limón se desecha principalmente porque se considera un residuo, pero está compuesto por membranas residuales de endocarpio, vesículas, residuos de médula y en gran medida de albedo y exocarpio o flavedo. La cáscara de limón contiene una amplia gama de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante, son ricas en azúcares, fibras, ácidos orgánicos,

aminoácidos, minerales, aceites esenciales, lípidos, compuestos polifenólicos y vitaminas. Existen algunos estudios donde evalúan el contenido fenólico y la actividad antioxidante de la cáscara, tomando en cuenta la optimización del proceso de extracción. Los desechos de los cítricos constituyen el 70% de la fruta en la que el 60% aproximadamente lo representa la cáscara, 35% son tejidos internos y el 10% son semillas. (Mahato et al., 2019)

1.1.6 Tipo de control para el limón destinado a la extracción.

Los diferentes tipos de control que se realizan para determinar la calidad del limón a obtener extractos o aceites esenciales principalmente es el grado de madurez. La industria citrícola determina este parámetro como muy importante ya que existe relación entre la madurez del fruto que se expresa por el color de la corteza y el tamaño del fruto, expresado por el peso, además relaciona la cantidad de jugo contenido y la acidez que presente. Con respecto al jugo de limón, se analizan parámetros como la determinación de la humedad, cenizas, grasa y proteína. Otro parámetro que se puede analizar en el fruto del limón, son los sólidos totales y de acidez el cual se emplea en relación de los grados brix, tomados con un refractómetro (0-32° Brix) y la acidez que se analiza mediante el método de titulación del jugo con una base a una normalidad de 0.1. Otros parámetros como el pH que es muy común para el control de calidad y se mide con ayuda de un potenciómetro y la determinación de la densidad del jugo que se mide con un densímetro de escala 1000 a 1200. (Chirinos & Quispe, 2018).

1.2 Métodos de extracción de compuestos bioactivos.

Dentro de los métodos más usados para la extracción de compuestos dentro de una especie vegetal se incluyen la destilación con aparato de Soxhlet, extracción por fluidos supercríticos, extracción por maceración, extracción presurizada, ultrasónica, entre otras. Existen algunas variables de extracción las cuales afectan la eficiencia y velocidad de la misma, estos factores principalmente se relacionan con la solubilidad de los componentes que se quieren extraer, la temperatura, concentración del solvente, tamaño de partícula y agitación. (Mahato et al., 2019).

La destilación por reflujo es un método de extracción que aplica la condensación de vapores de solventes orgánicos, los cuales se calientan y circulan usando un extractor Soxhlet, este extractor reusa los vapores de los solventes hasta que la separación sea completa.

La extracción por fluidos supercríticos, se basa en el uso de un fluido supercrítico en lugar de un solvente convencional, los fluidos supercríticos son cualquier sustancia a una temperatura y presión mayor a su punto crítico. La extracción se basa en que el fluido entre en contacto con la muestra que contiene el soluto de interés tomando en cuenta condiciones de temperatura y presión. (Román et al., 2016)

La extracción con líquidos presurizados se basa en el uso de disolventes a elevadas presiones y temperaturas por debajo de sus puntos críticos, donde el solvente usado se mantenga en estado líquido bajo las condiciones dadas. La bomba introduce un solvente al sistema y ayuda a expulsar el extracto en el vial de recolección, se mantiene gracias a la bomba la presión la cual suele ser de 5 a 10 MPa, se lleva a cabo el uso de un horno en donde se coloca la muestra en una celda de extracción. (Sánchez et al., 2016)

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido en la que la materia prima contiene una serie de compuestos solubles en el líquido de extracción, dentro de la maceración se genera el sólido ausente de componentes y el extracto líquido, la naturaleza de los compuestos extraídos depende de la materia prima empleada y del líquido de extracción que generalmente son los solventes. (Quiroz et al., 2013).

1.2.1 Extractos de limón.

Dentro de algunos estudios sobre los extractos de las hojas, la cáscara del limón, es decir del flavedo que es la superficie periférica verde o el albedo que es la capa media de color blanco del limón, dan a conocer el método de extracción, el análisis del extracto y las condiciones o variables de obtención del extracto, a continuación, en la Tabla 4 se presenta una recopilación de información acerca de los extractos de limón.

Tabla 4

Estudios relacionados a extracciones del limón

Parte estudiada	Método de extracción	Variables de extracción	Estudios químicos
Hojas de limón	Extracción por maceración	Tiempo de secado por 72 horas a 40°C, disolventes de extracción; etanol, agua y acetona, relación 100 g de muestra en 1 L de solvente. Tiempo de agitación 48 horas.	Se realizan ensayos en los extractos para la estimación del contenido de flavonoides, alcaloides, saponinas y ácidos fenólicos. Además, se evalúa la actividad antioxidante de los extractos. En el estudio se reporta que la eficacia del extracto difiere en función a la concentración y el solvente usado en la extracción, el extracto etanólico muestra mayores cantidades de componentes activos (Ehiobu et al., 2021)
Corteza y pulpa de limón.	Extracción por maceración.	Temperatura de secado de 45°C, relación 100 g de muestras en 300 ml de etanol-agua (7:3 v/v), tiempo de maceración por 24 horas	Obtienen los rendimientos del extracto de la corteza de limón y la pulpa incluyendo el flavedo y albedo de 10,64% y 14,33% respectivamente. Dentro de su aporte, definen que los extractos etanólicos poseen buenas propiedades antioxidantes debido al contenido de compuestos fenólicos y flavonoides los cuales también se obtienen con las condiciones de

			extracción adecuadas. (Makni et al., 2018)
Corteza de limón	Extracción maceración	por	<p>Temperaturas de secado: 40 y 60°C, relación de 0,5 g de muestra en 25 ml de metanol. Concentración del solvente de extracción (20-60%). Temperatura de extracción entre 28 -60°C, tiempo de extracción 1 hora</p> <p>Factores como la temperatura de secado y la temperatura de extracción son los que más contribuyen al contenido de componentes activos. A medida que aumentaba la temperatura de secado y la de extracción, aumentaba el contenido de ácidos fenólicos, mientras que la temperatura de secado y extracción y la concentración del solvente afectaron significativamente al contenido de flavonoides. (Zainol et al., 2022)</p>

Como se da a conocer en la tabla 3, los estudios de los extractos de limón muestran que estos contienen un alto contenido de compuestos activos los cuales se obtienen a condiciones adecuadas de extracción, las variables de extracción como la temperatura de extracción, el tipo y la concentración del solvente coinciden los estudios que son muy importantes para poder obtener diferentes componentes dependiendo el interés y la aplicación de los mismos.

1.2.2 Compuestos bioactivos en limón.

Los compuestos bioactivos son sustancias naturales presentes en las plantas o alimentos que tienen varias propiedades como antioxidantes o anticancerígenas (Piovesana et al., 2020), dentro de los compuestos bioactivos se encuentran los compuestos fenólicos los cuales son muy frecuentes dentro de algunos frutos, vegetales y plantas.

1.2.3 Compuestos fenólicos.

Los compuestos bioactivos tienen propiedades de óxido-reducción que permiten actuar como agentes adherentes de radicales libres, pueden actuar como quelantes e incluso inactivar las radicaciones libres de lípidos. Los compuestos fenólicos pueden extraerse con el uso de solventes en diferentes concentraciones y polaridad, dependiendo de estas variables, se logra la extracción de componentes específicos como Flavonoides (catequinas, antocianinas, flavona e isoflavonas), ácidos fenólicos, ligninas u otros polifenoles. (Piovesana et al., 2020). Los compuestos fenólicos pueden determinarse mediante análisis colorímetro del reactivo Folin Ciocalteu (FCR).

1.2.4 Compuestos Antioxidantes.

Un componente antioxidante es una sustancia que cuando está presente en concentraciones bajas en comparación con las de un sustrato oxidable, previene la oxidación de dicho sustrato combatiendo así los radicales libres interviniendo en cualquiera de las tres fases de proceso oxidativo. Para la cuantificación de la capacidad antioxidante en extractos de especies vegetales se pueden dar ensayos como DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, etc. El ensayo DPPH, se practica de forma rutinaria para la evaluación potencial de eliminación de radicales libres de una molécula antioxidante y se considera uno de los métodos colorimétricos estándar para la evaluación de propiedades antioxidantes de los compuestos puros y extractos. (Martínez, 2016)

Existen otros componentes bioactivos los cuales se encuentran dentro de los frutos, específicamente del limón, se encuentran algunos estudios en las que analizan tanto los extractos como el aceite esencial de diferentes partes de la planta para medir su contenido en componentes activos y respectivamente su actividad antioxidante y antimicrobiana los cuales se resume en la Tabla 5.

Tabla 5

Estudios sobre compuestos bioactivos en el limón

Parte estudiada y tipo de extracción.	Componentes activos estudiados.	Tipo de ensayo para identificación de componentes activos	Componentes activos analizados	Actividad antioxidante o antibacteriana.
Extracción de las hojas de limón por maceración.	Estimación del contenido total de flavonoides, cuantificación de ácidos fenólicos, determinación de saponinas, alcaloides y evaluación de actividad antioxidante	Para determinación de flavonoides se realiza el método colorímetro de cloruro de aluminio, en el contenido de ácidos fenólicos se realiza el método de Folin-Ciocalteu. Para medir la capacidad antioxidante se realizan los métodos de ABTS, DPPH y FRAP.	En este estudio se reporta que el extracto de hojas de limón contiene 12,23% y 5,53% de alcaloides y saponinas respectivamente, obtienen mejor contenido fenólicos en extractos acuosos de limón.	La actividad eliminadora de ABTS, FRAP fue de mayor capacidad en el extracto de acetona, seguido del extracto acuoso, sin embargo, en la actividad de eliminación de DPPH el extracto de etanol resulta tener una capacidad antioxidante mayor en comparación a los extractos de acetona o acuoso. (Ehiobu et al., 2021)
Extracción del aceite esencial de la cáscara de Citrus aurantifolia, aurantium y bergamia.	Identificación de compuestos y de la actividad antioxidante	Para la determinación de los compuestos en el aceite esencial hacen uso de un GC-MS y se identifican los compuestos comparando	Obtienen un rendimiento para el aceite esencial de limón de 0.1% (v/w), además los componentes mayoritarios fueron el	Los aceites esenciales de cítricos exhibieron una actividad de eliminación de radicales comparable contra el radical DPPH con valores IC50 de 201.3, 188,9 y 192,9 µg/mL para C. aurantifolia, C. aurantium y C.

los datos de los hidrocarburo espectros con datos monoterpénico de literatura de Adams. limoneno (49,2%), β - Para medir la capacidad antioxidante se realizan los pineno (14,1%), γ métodos de ABTS, DPPH, terpineno (6,6%) y β - mirceno (3,1%). prueba de blanqueo de B-caroteno y bioensayos para la actividad inhibidora de la colinesterasa.

bergamia, respectivamente. El aceite esencial de *C. aurantifolia* logra tener una mayor capacidad de eliminación de radicales DPPH. En la actividad inhibidora reportan que la mejor actividad ejerció el *C. aurantifolia* y *C. aurantium* que inhibieron la AChE con valores de IC50 de 139,3 y 147,5 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente. (Tundis et al., 2012)

Extracción de la Determinación de Determinación de fenoles Por medio de LC- Los resultados obtenidos corteza y pulpa de compuestos fenólicos, totales por el método de MS/MS se identifican muestran que los extractos de limón por el contenido total de Folin-Ciocalteu. Para compuestos como limón contienen niveles método de flavonoides, contenido medir la capacidad Cafeoil N-Triptófano, suficientemente altos de maceración. de flovanol, antioxidante se realizan los ácido hidroxicinamoil compuestos fenólicos y ensayos de componentes taninos, métodos de DPPH y Oglucósido, vicenina flavonoides. Esto se correlaciona capacidad antioxidantes, actividad antimicrobiana de FRAP. 2, eriocitrina, con una notable actividad antioxidante hacia la reducción rutinósido y de hierro y un poder relativamente alto contra los quercetina-3 y radicales libres. (Makni et al., rutinósido. 2018)

Los extractos de las hojas, corteza o pulpa y el aceite esencial del limón, tienen un alto contenido de compuestos bioactivos, los estudios demuestran que, en los extractos de limón, existe un gran contenido de fenoles totales y flavonoides los cuales tienen una alta capacidad antioxidante y pueden ayudar a mejorar las propiedades en películas para la conservación de los alimentos e inclusive puede aplicarse al campo medicinal, nutracéutica o cosmetológica.

1.3 Empaques biodegradables.

Una película biodegradable se define como una capa fina de material que puede ser formada sobre un alimento como una envoltura del mismo, contiene propiedades que permiten controlar la humedad, oxígeno, dióxido de carbono, lípidos y otros componentes con ayuda de principios activos como antioxidantes y antimicrobianos para así mejorar la integridad mecánica y la manipulación del alimento en su almacenamiento y comercialización. (Alba, 2016). En la Tabla 6 se resume algunos estudios sobre los empaques biodegradables aplicados en alimentos mínimamente procesados.

Tabla 6*Estudios sobre películas biodegradables y su influencia en los alimentos*

Material del empaque biodegradable	Tipo de aplicación	Resultado del estudio.
Recubrimiento comestible a base de quitosano y extracto de Aloe vera	Se formula empaques comestibles con quitosano y agregan extracto líquido de la pulpa y fracciones de Aloe vera y lo prueban en arándanos para aumentar su vida útil en la postcosecha,	Debido a las propiedades antimicrobianas del quitosano y los componentes activos del aloe vera, los niveles de crecimiento microbiológico y pérdida de agua se reducen aproximadamente en un 50% y un 42%, respectivamente, en los arándanos recubiertos después de 25 días en comparación con los arándanos no recubiertos. Los frutos sin recubrimientos presentaron contaminación por mohos después de 2 días de almacenamiento, mientras que los frutos con recubrimientos a base de quitosano con Aloe vera presentaron contaminación por moho después de 9 días de almacenamiento. (Vieira et al., 2016).
Recubrimientos comestibles a base de la formulación de quitosano, almidón y aceite de perilla	El componente activo de los recubrimientos es el aceite de perilla, las películas comestibles son ensayadas mediante propiedades fisicoquímicas, mecánicas, permeación de vapor de agua y análisis del recubrimiento del queso.	El estudio reporta que los recubrimientos le permitieron al queso una disminución de la pérdida del peso, las muestras sin recubrimiento (no controladas) demostraron el mayor porcentaje de pérdida de peso, mientras que las recubiertas con película mostraron el menor porcentaje de pérdida de peso después de 30 días de almacenamiento a 8 °C. Los quesos con cobertura presentan menores tasas de transferencia de humedad, así como menor pérdida relativa de peso. (Mei et al., 2013).

Películas multicapa de PVA-PLA y carvacol. La obtención de películas multicapa, medición de las propiedades físicas, mecánicas, ópticas y el análisis en cuanto a la capacidad de conservación de carne de res. Con respecto a los efectos de las películas en las muestras de res junto con el componente activo, que para este estudio es el carvacol, exhiben una eficacia antimicrobiana significativamente mayor a las películas multicapa sin componente activo, esto es debido a que el componente activo tiene una migración efectiva a través de la lámina de PLA-PVA, en lo cual alcanza aproximadamente 7 días de almacenamiento de la carne, también añadieron como componente activo el ácido ferúlico y en ella logran un almacenamiento de 13 días. (Andrade et al., 2022).

Al tomar en cuenta los estudios de la tabla 6 podemos darnos cuentas que la eficiencia de una película dependerá de la naturaleza de los componentes activos, la composición de la película y su estructura. Estos parámetros colaboran a mejorar la vida útil en los alimentos mínimamente procesados. En la actualidad, las películas biodegradables tienen su uso en alimentos como productos cárnicos, pescados, frutas, hortalizas enteras o en trozos, quesos o platos preparados, las investigaciones demuestran que los alimentos empaquetados con este tipo de películas tienden una conservación de 15 a 30 días y reducen el crecimiento de microorganismos generado por la humedad del alimento,

1.3.1 Alimentos mínimamente procesados.

Los alimentos mínimamente procesados son productos que presentan características organolépticas y nutricionales similares a las frutas y hortalizas frescas y la ventaja de ser fáciles de utilizar por el consumidor. Su mínimo procesamiento consiste en operaciones de clasificación, lavado, pelado, reducción de tamaño, etc., por lo cual se comercializan como productos para consumo directo o para preparaciones culinarias rápidas. (Parzanese, 2022) Actualmente estos productos se encuentran en auge y su consumo se ha incrementado en los países desarrollados La prolongación de la vida útil de los vegetales, frutos, tubérculos y raíces mínimamente procesados empaquetados en atmósferas modificadas limita el crecimiento de algunos microorganismos. Sin embargo, esta tecnología puede crear las condiciones apropiadas para el lento crecimiento de bacterias patógenas tales como *L. monocytogenes* y algunas enterobacterias como *Escherichia coli*. (Rodríguez & Rodríguez, 2007)

1.3.2 Biopolímeros

Los biopolímeros, que en su mayor parte proceden de recursos renovables, se convierten en una interesante alternativa para la industria de los plásticos, pueden procesarse mediante las mismas tecnologías que los materiales termoplásticos convencionales, tales como extrusión, inyección o soplado. Se dividen en aquellos basados en recursos renovables y degradables que cumplen todos los criterios de las normas científicamente reconocidas para biodegradabilidad y compostaje de plásticos y productos plásticos. Se pueden clasificar según su

fuerza en tres subgrupos: polímeros basados en recursos renovables como el almidón y celulosa, polímeros biodegradables basados en monómeros bioderivados como los aceites vegetales o ácido láctico, y biopolímeros sintetizados por microorganismos como los polihidroxialcanoatos (PHA). (Valero et al., 2013)

1.3.3 Almidón

Es un polisacárido usado como espesante, estabilizante y gelificante debido a que se forma por dos polímeros: amilosa y amilopectina, se encuentra en grandes cantidades en las diversas variedades de plantas, como, por ejemplo, en los granos de cereales, así como también, puede encontrarse en tubérculos, semillas de leguminosas y en algunas frutas. (Hernández, 2016). En un estudio de biopelículas a base de almidón de plátano, se realizaron diferentes mezclas del almidón junto con glicerol y quitosano, este estudio reporta que el contenido de humedad se ve afectado por la concentración de almidón, la alta concentración de almidón disminuye la propiedad de solubilidad y por ende las biopelículas poseen menor degradabilidad. (García et al., 2015).

1.3.4 Quitosano.

El quitosano se puede encontrar de forma natural en las paredes celulares de algunas plantas y hongos. Sin embargo, la fuente más importante de quitosano, a nivel industrial, lo constituye la quitina, la cual, mediante un proceso de desacetilación química o enzimática, ha permitido producirlo a gran escala. La quitina se encuentra distribuida ampliamente en la naturaleza y, después de la celulosa es el segundo polisacárido en abundancia. (Lárez, 2006). En un estudio de biopelículas de quitosano se determinaron las propiedades físicas y visuales de la misma en donde reportan que las películas de quitosano son de tono amarillento, debido a los grupos aminos libres que son susceptibles al pardeamiento lo que es conocido como reacción de Maillard, además en los ensayos físicos de solubilidad reportan que la película de quitosano es parcialmente soluble en agua destilada. (Pereda, Del, et al., 2014).

1.3.5 Polivinil alcohol.

Es un polímero biodegradable soluble en agua, de fórmula química general $(C_2H_4O)_n$, tiene excelentes propiedades para formar películas, como emulsionante y como adhesivo. También es

resistente al aceite, grasas y disolventes. Es inodoro y no tóxico. Tiene alta resistencia y flexibilidad, así como alta propiedades de barrera para el oxígeno y los aromas. En el estudio de Tripathi et al, (2009) sobre las propiedades fisicoquímicas y bioactividad de películas de Quitosano – PVA, dentro de los estudios reportan que existe una miscibilidad molecular entre estos dos biopolímeros y es una alternativa viable en la extensión de la vida útil de los alimentos mínimamente procesados, además contiene un efecto inhibitor contra microorganismos como la *E. coli*, *S. aureus* y *B. subtilis*.

1.3.6 Métodos de preparación de películas biodegradables.

La metodología para elaboración de películas a partir de polímeros biodegradables puede distinguirse en dos, el método húmedo y método seco.

El método húmedo o método de Casting involucra la dispersión o solubilización de los biopolímeros en una solución para la formación de la película, seguida por la evaporación del solvente, se basa en que a una solución líquida es vertida en un molde y dejado secar para su reacción de endurecimiento, esto forma un objeto rígido que reproduce la cavidad en un molde. Después del secado, se puede neutralizar la película con una solución de NaOH para regular el pH a 6.5. (Huerta et al., 2006).

El método seco en cambio se fundamenta en la conducta termoplástica que algunas proteínas y polisacáridos muestran a bajos niveles de humedad en moldeo por compresión y extrusión. En el método de moldeo por compresión, luego de formada la masa de los componentes de la película se le aplica una presión y una temperatura determinadas durante un tiempo establecido, para lograr así la formación de la película. (Villareal & Vanegas, 2014).

1.4 Propiedades de las películas.

Las propiedades de las películas se miden en base a ensayos físicos, químicos, microbiológicos las cuales dan a conocer la calidad de la película. Entre las propiedades físicas se encuentran principalmente la caracterización de las películas mediante ensayos de solubilidad en el agua, color, transparencia o permeabilidad al vapor de agua. La solubilidad es una propiedad usada como una medida de integridad de los recubrimientos en medio acuoso. (Villareal & Vanegas, 2014) En lo que respecta a la permeabilidad del vapor de agua (PVA), esta es una de las principales propiedades para el envasado de los alimentos ya que una película al tener un PVA

bajo, puede lograrse evitar o reducir la transferencia de humedad entre el alimento y la atmósfera del empaque. (Hernández, 2016). Las propiedades mecánicas de las películas tienen un impacto en la estabilidad y flexibilidad frente a diferentes condiciones ambientales y de temperatura. Con respecto a las propiedades biodegradables, es muy importante para conocer el tiempo de descomposición total o parcial de las películas bajo efectos de humedad y microorganismos que presenta el suelo. A continuación, se presentan algunos estudios sobre la evaluación de las propiedades de las biopelículas en la tabla 7.

Tabla 7

Estudios sobre las propiedades de las películas biodegradables.

<i>Tipo de película</i>	<i>Estudios sobre propiedades de las películas.</i>
Recubrimientos comestibles a base de la formulación de quitosano, almidón y aceite de perilla.	Con respecto a propiedades como la solubilidad de las películas, con la adición del componente activo que en este caso es el aceite de perilla, la solubilidad se vio disminuida, mientras que, con la adición de glicerol, la solubilidad aumenta, reportan que cuantos más materiales entrecruzados contenga la película, menor es la solubilidad. Con respecto a la opacidad en las películas, dan a conocer que las contienen glicerol como plastificante y el componente activo dieron como resultado una menor opacidad. (Mei et al., 2013).
Películas multicapa de PVA-PLA con componentes activos de carvacol y ácido ferúlico	Realizan diferentes ensayos en donde aplican películas multicapa con la adición de componentes activos y también realizan películas laminadas, reportan que las películas multicapa tienden a ser más extensibles que las películas laminadas sin componente activo debido a la migración de los compuestos activos hacia la capa de PLA, lo cual favorece la estirabilidad. En las propiedades de la permeabilidad del oxígeno dan a conocer que las láminas de PVA incrementan la movilidad molecular y por ende aumenta la permeabilidad al Oxígeno, también menciona que las películas multicapa contienen mejores propiedades de barrera debido a la adición del componente activo que contienen un efecto bloqueador de oxígeno por la capacidad antioxidante de los compuestos. (Andrade et al., 2022)

Películas activas de almidón de yuca.	<p>Miden propiedades como la permeabilidad del vapor del agua en las películas de almidón nativo y modificado en las que reportan que las películas de almidón nativo de yuca, tiene una mayor permeación de vapor debido a la presencia de grupos hidroxilo libres que pueden mejorar las interacciones con el agua y las películas de almidón de yuca.</p> <p>Dentro de las propiedades mecánicas se determina la fuerza y el porcentaje de elongación de las películas. Las películas tienden a absorber grandes cantidades de agua a partir de su producción, esto causa una disminución en el esfuerzo e incrementa la elongación, además las propiedades mecánicas se ven afectadas por el tipo y la cantidad de plastificante que se emplee. (Cortés et al., 2014).</p>
Películas de caseinato y quitosano	<p>Dan a conocer que la degradación de la película únicamente con caseinato se degrada de manera rápida, mientras que las películas de quitosano junto con caseinato tienen un proceso biodegradativo más lento y esto es debido a que el quitosano tiene un carácter antimicrobiano y puede resistir los microorganismos presentes en el suelo o algunos alimentos. (Pereda, Del, et al., 2014)</p>

Las investigaciones sobre las películas biodegradables estudian sus propiedades en la aplicación de los alimentos principalmente, en la formulación de las películas a base de biopolímeros como quitosano, almidón y PVA demuestran que al poseer estas estructuras complejas pueden llegar a tener buenas propiedades mecánicas, además, la adición de componentes activos en las películas mejora estas propiedades de resistencia a la tensión y propiedades de barrera, sin embargo, pueden dificultar las propiedades ópticas debido al color de los extractos, en el caso del extracto del limón como este es de color verde, puede afectar la transparencia o el color de las películas, también se demuestra que propiedades como la permeabilidad al oxígeno o vapor de agua son mucho más eficientes en películas con formulación de componentes activos debido a la capacidad antioxidante que presentan los mismos.

Capítulo dos

Metodología.

La sección experimental se llevó a cabo en los laboratorios de Alimentos de la Universidad Técnica Particular de Loja. En la institución se realizaron los procesos necesarios para la obtención de datos experimentales y posteriores resultados.

2.1 Adquisición de materia prima.

Para la obtención del extracto de cáscaras de limón se obtuvo en la compra de un saco pequeño de limón sutil (*Citrus aurantifolia*) adquirido en el Mercado Mayorista de la ciudad de Loja. Los frutos se lavaron con agua de la llave y la cáscara del fruto se separó de forma manual de la pulpa, las cáscaras fueron almacenadas en refrigeración para su posterior procesamiento.

2.2 Caracterización de la materia prima.

Para la caracterización de la materia prima, se realizaron algunos ensayos que permitieron determinar la calidad del limón, tomando como referencia una muestra de limones del saco pequeño, se midieron propiedades como el color, el % de acidez mediante titulación y el índice de madurez.

2.2.1 Determinación del color.

El color fue medido con un colorímetro (Minolta CR-14), se tomaron 7 frutos de limones enteros y se realizó dos medidas en lugares diametralmente opuestos de la zona ecuatorial del fruto, con ello se registraron las coordenadas para la conversión a los valores de L^* , a^* , b^* . (Gao et al., 2019)

2.2.2 Determinación del porcentaje de acidez del limón.

Se realizó un ensayo tomando como referencia la Norma (INEN, 1985). Se exprimieron 30 ml de limón filtrándolo para descartar los sólidos presentes. Se agregaron 2 ml de zumo con 100 ml de agua destilada y 4 gotas de indicador de fenolftaleína en un matraz Erlenmeyer. En la bureta de 50 ml se añadió hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N. Se comenzó la valoración agitando el matraz y dejando caer el NaOH gota a gota hasta que el color de la muestra se torne de color rosa. Se tomó en cuenta el volumen gastado y los respectivos cálculos se realizaron a partir de la siguiente fórmula.

$$\%Acidez = \frac{Vol_{NaOH} * N_{NaOH} * Eq_{Ac. Cítrico}}{Vol_{Muestra} * 1000} * 100 \quad \text{Ecuación 1.}$$

2.2.3 Índice de madurez del limón.

Se calculó el índice de madurez mediante la relación de los sólidos solubles totales o contenido de azúcar y la acidez del zumo de limón. Para determinar el contenido de azúcar, se empleó un refractómetro digital (Mettler Toledo, 30PX) en las que se midió con unas gotas de zumo de limón. (Romero, A, Calero, & F., 2020). Los cálculos del índice de madurez, se realizan a partir de la siguiente ecuación.

$$\text{índice de madurez} = \frac{\text{Sólidos solubles totales (°Brix)}}{\text{Acidez total.}} \quad \text{Ecuación 2.}$$

2.3 Obtención del extracto de limón.

2.3.1 Pretratamiento de materia prima.

El proceso de extracción de la cáscara de limón se realizó mediante los métodos de maceración y líquido presurizado, tomando como referencia al estudio de Haida et al., (2022). Primeramente, las cáscaras se deshidrataron en un secador de bandejas (Laselle, DY-110H) a 45 °C por 7 horas, se molieron finamente usando un molino de tornillos y con tamices de diferente tamaño (500, 250 y 106 µm), se tomó en cuenta solamente las muestras mayores a 250 y 106 µm. En el Anexo A, se encuentra el diagrama de proceso del pretratamiento.

2.3.2 Obtención del extracto por maceración.

Se pesaron 25 g de muestra y se añadió etanol con agua a diferente concentración (100-50%) como el disolvente de extracción. Seguidamente las muestras fueron llevadas a agitación en un baño maría a 45 °C de temperatura por 6 horas. Las muestras se filtraron a vacío y el líquido obtenido se llevó a evaporación por medio de un rotavapor (Buchi R-200), las condiciones del roto evaporador fueron de 165 mbares de presión, temperatura de 45 °C y una posición de rotación de 3. Las muestras que contenían etanol al 50% se llevaron a un liofilizador (Labconco -7754047) por 48 horas.

2.3.3 Obtención del extracto por líquido presurizado.

Se elaboró un cartucho con papel filtro el cual sirvió para colocar la muestra de la corteza de limón, se selló el cartucho y se colocó dentro de un extractor de columna de acero el cual se

encontraba dentro de una estufa (Memmert - UM 300) conectado al sistema. Posteriormente, el sistema se presurizó a 150 bar cuando el solvente de extracción el cual fue etanol al 100%, se bombeó hacia el sistema adecuado a 2 ml/min con ayuda de una bomba (Alliance-2695). La temperatura se elevó a cabo a 60°C y se recolectaron fracciones de extracto cada 20 minutos. El tiempo de extracción se llevó a cabo por 3 horas, además, los extractos obtenidos se roto evaporaron a las condiciones anteriormente mencionadas.

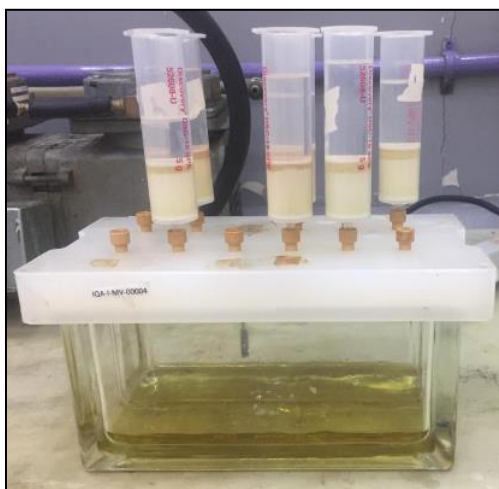
Los extractos tanto de maceración como de líquido presurizado se pesaron y se calculó el rendimiento de cada uno en base a la siguiente ecuación.

$$\text{Rendimiento \%}(R) = \frac{\text{Peso}_{\text{Final}}}{\text{Peso}_{\text{Inicial}}} \times 100 \quad \text{Ecuación 3.}$$

El diagrama de proceso de extracción por maceración y líquido presurizado para la obtención de los extractos de limón se encuentran en el Apéndice B.

2.3.4 Purificación de los extractos de limón.

Para la purificación de los extractos tanto de maceración como por líquido presurizado se hizo uso de un cartucho de sílice DSC-18 (Supelco, 5 g) el cual ayuda a separar los componentes fenólicos de los azúcares. El proceso se llevó a cabo bajo la metodología basada en el estudio de Meneses et al., (2015). Primeramente, se activó el DSC-18 agregando 25 ml de etanol y se humedeció con 30 ml de agua destilada, seguidamente se lavó el extracto en la columna. Después se volvió a lavar con 50 ml de agua destilada y los componentes fenólicos se desorbieron de la columna con 50 ml de etanol, La solución purificada, se roto evaporó a 45°C y se liofilizó por 48 horas. El extracto purificado finalmente se refrigeró hasta realizar los análisis posteriores. En la figura 2 se muestra el procedimiento de la purificación.

Figura 2*Purificación de los extractos de limón**Nota.* Cámara de vacío y absorbentes

DSC-18

2.4 Determinación de compuestos activos.**2.4.1 Contenido de fenoles totales.**

El contenido de fenoles totales del extracto de limón se determinó siguiendo el método de Chandra et al., (2014), el cual emplea el ensayo de Folin Ciocalteu con algunas modificaciones.

Primeramente, se preparó la solución madre de ácido gálico, se pesaron 25 mg de ácido gálico en un balón de aforo de 100 ml y se aforó con metanol, a partir de la solución madre se tomaron alícuotas de 0.4, a 9,7 ml y se aforan con metanol a 10 ml.

Se colocan 150 μ L de cada solución estándar junto con 2400 μ L de agua destilada y 150 μ L de reactivo de Folin Ciocalteu 0.25 N, se agita por 5 minutos y se deja reaccionar por 3 minutos. Seguidamente se agregan 300 μ L de Na_2CO_3 1N, se deja reposar a oscuras por 2 horas y luego se procede a medir las absorbancias a 275 nm en un espectrofotómetro (Spectronic, BioMate 3).

Los valores de las absorbancias se aplican para determinar la curva de calibración en donde la concentración se encuentra en el eje X y la absorbancia en el eje Y, y la gráfica de la curva de calibración debe tener un coeficiente de correlación R^2 mayor a 0,99. La lectura de los extractos se realiza mediante el mismo procedimiento. Los resultados se presentan en miligramos equivalentes de Ácido Gálico por cada g de muestra. En el Apéndice C, se presenta el diagrama del proceso descrito anteriormente.

2.4.2 Determinación la capacidad antioxidante.

Se usó el método descrito por Ehiobu et al., (2021) con algunas modificaciones. Primeramente, se preparó a solución madre disolviendo 12 mg de DPPH en un balón de aforo de 50 ml con metanol y se almacenó en refrigeración hasta su uso. Después se preparó la solución de trabajo tomando 10 ml de la solución madre y añadiendo 45 ml de metanol, se mezcló y se realizó la lectura de la solución de trabajo hasta tener $1.1 \pm 0,02$ de absorbancia a una longitud de onda de 515 nm.

Para el ensayo, se mezclaron 150 μ L de muestra del extracto con 2850 μ L de la solución de trabajo, se agitó y se dejó reposar por 24 horas en la oscuridad, luego se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 515 nm. Los valores se reemplazaron en la ecuación de la curva de calibración de 0 a 800 μ M de Trolox. Los valores de las absorbancias se aplican para determinar la curva de calibración en donde la concentración se encuentra en el eje X y la absorbancia en el eje Y, y la gráfica de la curva de calibración debe tener un coeficiente de correlación R^2 mayor a 0,99. La lectura de los extractos se realiza mediante el mismo procedimiento. En el Anexo D se encuentra el diagrama de la metodología usada.

2.5 Elaboración de biopelículas activas.

La elaboración de las películas activas se realizó mediante el método de casting, con referencia al estudio de Kanatt et al., (2012) Se pesaron el quitosano, PVA y almidón en diferentes cantidades y en una probeta se midió 50 ml de ácido acético al 1%. Se mezcló primero el almidón junto con el quitosano y se le agregó el ácido acético, esta solución se llevó a un baño de agitación a 40°C por 20 minutos, luego la mezcla e llevó a una plancha calentadora hasta 90°C, llegado a esta temperatura, se añadió el PVA junto con 47 ml de agua destilada, por consiguiente, se volvió la mezcla al baño de agitación y se agregó 0,45 g de glicerol junto con el extracto de limón. Las películas se prepararon vertiendo 10 ml de la solución en una caja Petri, finalmente, se llevaron a un secador (Cole Parmer, 52000-70) a 45°C por 24 horas, acabado el tiempo, las películas se llevaron hacia un desecador hasta ser usados para los ensayos posteriores. A continuación, en la tabla # se presenta la formulación de las películas.

Tabla 8*Formulación para las biopelículas*

Factores	Formulación
Quitosano	0,62%
PVA	1,87%
Almidón	0,50%
Glicerol	0,90%
Extracto	1,20%
Agua	94,90%
Total	100%

Nota: Se realizaron dos formulaciones usando Extracto de limón por el método de maceración (ELM) y Extracto de limón por líquido presurizado (ELP).

2.6 Medición de las propiedades de las biopelículas activas.

2.6.1 Color

El color fue medido con un colorímetro (Minolta CR-14). Se colocaron las biopelículas sobre un fondo blanco y se tomaron cinco medidas en diferentes puntos de la superficie incluyendo la zona central de cada película, con ello se registraron las coordenadas para la conversión a los valores de L*, a*, b*.

2.6.2 Transparencia y opacidad.

La transparencia de las películas se determinó usando un espectrofotómetro UV-VIS (Spectronic – BioMate 3) para registrar los espectros de absorción UV-Vis, se cortó las películas de tamaño 0,7 x 2,5 cm y se insertaron a una celda de cuarzo. Los espectros de absorción UV-Vis se registraron en el rango de longitud de onda de 190 a 800 nm usando películas sin extracto (blanco) como referencia. Se tomaron tres medidas para cada muestra y se consideró el valor promedio. La transparencia y la opacidad se determinaron a partir de las siguientes fórmulas.

$$\%T = \left(\frac{1}{10}\right)^A * 100 \quad \text{Ecuación 4}$$

$$O = \frac{A_{600}}{\delta} \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde %T es el porcentaje de Transparencia, A es la absorbancia y δ es el espesor de la película medido con un calibrador plano con precisión 0,002 mm en 4 posiciones aleatorias de la película.

2.6.3 Solubilidad en agua

La solubilidad en agua es la relación del porcentaje en masa de la película disuelta con respecto a la masa de la película seca. (Bhat et al., 2022). Para este ensayo, se cortaron las películas en tamaño de 3x3, se tomaron y se secaron en la estufa (Memmert - UM 300) a 70°C por 24 horas, pasado el tiempo, se pesó la masa seca de las películas (Peso inicial). Seguidamente las películas secas se sumergieron con 30 ml de agua destilada en tubos y se centrifugaron por 1 hora a 2000 rpm, luego se filtraron a vacío y las películas se llevaron nuevamente a ser secadas en la estufa a 100° por 24 horas, finalmente se registró el peso de las películas secas (peso final) y se determinó el porcentaje de solubilidad mediante la siguiente ecuación.

$$\%S = \frac{W_o - W_f}{W_o} * 100 \quad \text{Ecuación 6.}$$

Donde W_o es el peso seco inicial y W_f es el peso seco final de las muestras de las biopelículas.

2.6.4 Propiedades mecánicas.

Se midió la resistencia a la tracción (TS) (MPa), el porcentaje de elongación (E%) y el Módulo de Young (MY) mediante ensayos realizados en un texturómetro, utilizando una sonda de tipo A/MTG, basándonos en la Norma ASTM D882-12 con algunas modificaciones (Judawisastra et al., 2016). Se cortaron tiras de las películas tanto de ELM como de ELP de (25x90mm) y se montó en la sonda del texturómetro (Stable Micro Systems, TA-TX plus C) para la prueba, se usó el programa FINAT 22.MAC, el tipo de método que se usó fue para adhesivos. La separación de agarre inicial se estableció de 50 mm y la velocidad de prueba fue 1,0 mm/s.

2.6.5 Biodegradación en las biopelículas.

Se llevó a cabo el proceso en referencia al estudio de Pereda, et al., (2014) con algunas modificaciones. El experimento se realizó en una serie de macetas de plástico las cuales contenían materia orgánica y microflora natural presente en el suelo. Las muestras de las películas se cortaron en 3x3 cm y se colocaron en mallas metálicas de acero inoxidable, se enterraron a una profundidad

de 3 cm de la superficie. Las macetas de plástico se mantuvieron a temperatura ambiente, con una humedad relativa del suelo de 16,53%. Se roció agua común dos veces al día para poder mantener la humedad de la tierra. El proceso se monitoreó mediante inspección visual de las películas las cuales se fotografiaron periódicamente. (Medina-Jaramillo et al., 2017).

2.7 Análisis estadístico.

Se utilizó una prueba T de student de dos muestras pareadas para poder establecer las diferencias significativas entre los tratamientos de extracción por maceración y líquido presurizado, el porcentaje de rendimiento, contenido de fenoles totales, actividad antioxidante, propiedades de barrera, solubilidad y propiedades mecánicas en las biopelículas con un nivel de significancia de 95% ($P < 0,05$). Se utilizó el software Past student.

Se utilizó el programa Microsoft Excel 2010 para obtener las curvas de calibración y su coeficiente de correlación $r^2 > 0,99$.

Capítulo tres








Resultados y Discusión.

3.1 Caracterización fisicoquímica del limón.

Los parámetros fisicoquímicos del limón sutil (*Citrus aurantifolia*) para evaluar la calidad de los frutos se presentan en la Tabla 9 donde se dan los resultados de las coordenadas medidas en el colorímetro, mientras que en la Tabla 10 se encuentran los valores de los sólidos solubles medidos en grados Brix, el porcentaje de acidez del jugo de limón y la relación entre los sólidos solubles y la acidez titulable que corresponde al índice de madurez.

Los parámetros de color medidos en el sistema CIELAB fueron tres, L^* que representa el brillo y tiene intervalos de 0 (negro) a 100 (blanco), a^* donde los valores positivos representan el color rojo y negativo el color verde y b^* donde los valores positivos representan el color amarillo y los valores negativos al color azul (Multari et al., 2020). Se puede observar en la Tabla 9 que todos los valores de a^* de los 7 limones escogidos para medir el color obtuvieron valores negativos que variaron de -0,7 a -13,3, así mismo todos los valores de b^* fueron positivos y variaron de 15,9 a 57,9, el valor más bajo de a^* y más alto de b^* se debe a que los limones medidos presentaban un color más amarillo, mientras que a valores altos de a^* y menores de b^* los limones presentaban un color verde intenso, el color es un parámetro importante para poder juzgar la calidad de los alimentos ya que se ha comprobado que cuando el color de un alimento o fruto cambia sin alterar su forma, aroma u otros atributos, se obtienen respuestas de rechazo por parte de los consumidores, además en especies vegetales, el color se relaciona con la madurez. (Retting & Hen, 2014).

Tabla 9*Coordenadas de color en el limón*

Muestra	L*	a*	b*	
1.1	67,8	-5,8	50,2	
1.2	60,2	-11,6	47,5	
2.1	61,5	-7,5	50,8	
2.2	47,9	-14,1	38,6	
3.1	69,2	-4,9	57,9	
3.2	70,7	-0,7	54,5	
4.1	44,7	-9,5	25,7	
4.2	50,5	-13	31,8	
5.1	56,9	-12,2	39,5	
5.2	54	-13,3	44,9	
6.1	39,4	-9,3	30	
6.2	39,6	-9,9	15,7	
7.1	47	-10,7	33	
7.2	47	-12,6	28,3	

Nota. L*: Luminosidad, valores de 0 (negro) a 100 (blanco).

a*, valores – (rojo), + (verde), b*, valores – (azul), + (amarillo).

Tabla 10*Caracterización del limón*

Sólidos Solubles (°Brix)	Acidez total	Índice de Madurez
8,97 ± 0,05	6,46 ± 0,19	1,39 ± 0,04

El contenido de sólidos solubles totales fue de 8,97 brix en los limones, resultados que son comparados en el estudio de Coelho et al., (2021) en las que determinan parámetros de calidad de los cítricos cultivados en Brasil, teniendo valores de variación entre 8,2 brix en limones y 15,3 brix en cítricos híbridos, también en el estudio de Puente, (2006) en donde determinan las características físicas y químicas del limón sutil, obtienen valores de 7,56 brix, 7,61 brix y 7,72 brix para limones verdes, pintón y maduro, respectivamente los cuales son resultados ligeramente bajos a los obtenidos en nuestro estudio. El valor de la acidez titulable fue de 6,45%, lo cual demuestra el contenido de ácido cítrico presente en el jugo de limón sutil, estos valores se comparan con los obtenidos de Rodríguez et al., (2020) en los que obtuvieron 6,14% en la acidez titulable del limón y el estudio de Multari et al., (2020) en donde tuvieron valores que variaron de 4% a 6,05%, sin embargo, en los estudios de Puente, (2006) obtuvieron valores de 5,77%, 5,48% y 5,39% en estado verde, pintón y maduro, estos valores son ligeramente menores a los obtenidos en nuestro estudio pero esto puede intuirse que los limones analizados superan ligeramente la fase de maduración.

Por otro lado, para el índice de madurez de los limones se tomó en relación los valores de los sólidos solubles del zumo los cuales están compuestos por azúcares en su mayoría y el porcentaje de acidez titulable expresados en gramos de ácido cítrico por litro de zumo, los valores variaron de 1,34 a 1,42, resultados similares se obtuvieron en el estudio de Rodríguez et al., (2020) en donde para limones el índice de madurez tuvo un valor de 1,20. En cambio, en el estudio de Coelho et al., (2021) los valores del índice de madurez para los limones fueron de 1,1 y 1,14 para cítricos híbridos y en la determinación fisicoquímicas del estudio de Multari et al., (2020) los valores del índice de madurez variaron de 1,36 a 1,97 en los limones analizados en la cosecha desde septiembre a enero, siendo el valor mayor al mes de enero. La relación de los sólidos solubles y la acidez titulable sirve como un indicador de la relación agrídulce de las frutas y se utilizó para determinar la calidad sensorial de las muestras de limón.

3.2 Obtención de los extractos de limón

Los extractos de limón obtenidos mediante maceración y extracción con líquido presurizado presentaron una coloración verde, olor característico al limón y la consistencia de tipo pegajosa y sólida, como se presenta en la figura 3.

Figura 3

Extractos de limón en seco



Por otro lado, los extractos que contenían 50% etanol, se liofilizaron y presentaron una consistencia sólida de color café amarillento, olor dulce a limón como se muestra en la siguiente figura 4.

Figura 4

Extracto de limón liofilizado



Los resultados obtenidos mediante el análisis de componentes activos se presentan a continuación.

3.2.1 Rendimientos de los extractos de limón

Los valores del rendimiento de los extractos de limón mediante extracción por maceración y extracción por líquido presurizado se presentan en la tabla 11. Se puede observar que hubo un mejor rendimiento de los extractos de limón por el método de maceración, existiendo diferencia significativa entre los rendimientos de los extractos obtenidos por maceración y por líquido presurizado sin purificación, ($p < 0,05$). Los extractos por maceración obtuvieron valores de rendimiento entre 18,18 y 20,81%, mientras que los extractos por líquido presurizado obtuvieron valores de rendimiento de 10,98%.

Tabla 11

Rendimiento de los extractos de limón

Método de extracción.	Solvente de extracción	Rendimiento % SP	Rendimiento % P
Maceración	Etanol	18,18 ± 0,87 ^a	0,95 ± 0,25 ^c
	Etanol - Agua	20,81 ± 4,30 ^a	1,22 ± 0,83 ^c
Líquido Presurizado	Etanol	10,98 ± 0,56 ^b	1,22 ± 0,33 ^c

Nota. SP: rendimiento de los extractos sin purificación. P: rendimiento de los extractos purificados. Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes. ($p > 0,05$).

Con respecto a la purificación de los extractos, el rendimiento se redujo a valores que variaron de 0,95% a 1,22% en los extractos obtenidos por maceración como por líquido presurizado respectivamente, no existiendo diferencia significativa entre los métodos ($p > 0,05$). Esto es debido a que al usar la sílice DSC-18, solamente se recuperaron compuestos de tipo polar y se dio la eliminación de azúcares presentes en la muestra. En el estudio presentado por Chaves et al., (2022) en donde evalúan algunos factores de extracción presurizada para cortezas de limón, uno de ellos fue el tipo de adsorbente integrado al sistema de extracción por líquido presurizado (ELP) y el solvente de extracción utilizado, mencionan que el rendimiento y la separación de compuestos con el adsorbente (DSC-18) se verá afectado por el solvente ya que al usar Etanol, el rendimiento para obtener compuestos de tipo polar fue menor en comparación a otros solventes, sin embargo, existió

mejor rendimiento en compuestos no polares, esto es debido a que la molécula de etanol contiene una parte no polar que se solubiliza eficientemente en compuestos con menor polaridad.

3.2.2 Cuantificación de Fenoles totales.

En la tabla 12 se presenta el contenido de fenoles totales de los extractos de la corteza de limón obtenidos por el proceso de maceración y líquido presurizado, se puede observar que entre el método de maceración los valores del contenido de fenoles totales no varía significativamente en la concentración de solvente ($p > 0,05$), sin embargo, al comparar los dos métodos, el contenido de fenoles varía significativamente ($p < 0,05$), la cantidad de compuestos fenólicos dentro de los extractos por maceración son ligeramente mayores y esto puede ser debido a las condiciones de extracción que ayudaron a obtener de mejor manera este tipo de compuestos.

Tabla 12

Contenido de fenoles totales en el extracto de limón

Método de extracción.	Solvente de extracción	Fenoles totales (mg EAG/g Extracto)
Maceración	Etanol	78,30 ± 8,01 ^{ab}
	Etanol – Agua (50:50 v/v)	74,77 ± 11,2 ^{ab}
Líquido presurizado	Etanol	65,84 ± 3,48 ^c

Nota. Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes. ($p > 0,05$).

Los valores obtenidos de fenoles totales mediante el método de maceración variaron entre 78,30 mg EAG/g ES y 74,77 mg EAG/g ES, mientras que el contenido de compuestos fenólicos por el método de líquido presurizado fue de 65,84 mg EAG/g ES. Comparando nuestros resultados con otros estudios del limón, en el estudio de Guimarães et al., (2010) donde determinan la capacidad antioxidante de los cítricos, obtienen un valor de 87,77 mg GEA/g en las fracciones polares de la corteza del limón, al comparar con nuestros resultados se aprecian valores similares. En el estudio de García et al., (2013) los valores del contenido fenólico en los extractos de limón entero liofilizado

y secado al vacío fueron de 10,43 y 10,11 mg GAE/g respectivamente, además Li et al., (2006) reportaron valores de 4,89 y 9,92 mg GAE/g en la cáscara del limón y en el estudio de Ehiobu et al., (2021) donde estudian el contenido fenólico y potencial antioxidante de las hojas del limón, obtuvieron valores de 209,72 mg GAE/g y 289,40 GAE/g en los extractos etanólicos y acuosos respectivamente. Los valores reportados en los diferentes estudios varían en el contenido fenólico debido a las partes estudiadas del limón, (Ghasemi et al., 2009) indica que el contenido de fenoles totales en la cáscara de los cítricos es mayor significativamente que los tejidos del mismo, es decir, que la pulpa, además de las condiciones y métodos de extracción.

3.2.3 Actividad antioxidante

La tabla 13 nos indica los valores obtenidos en la actividad antioxidante de los extractos de limón por medio de la captación de radicales libre DPPH, se puede observar que la mejor cantidad de antioxidantes se puede extraer significativamente ($p < 0.05$) mediante la extracción presurizada a las condiciones de presión y temperatura usadas en el proceso.

Tabla 13

Actividad Antioxidante de los extractos de limón

Método de extracción.	Solvente de extracción	DPPH ($\mu\text{M ET/ g extracto}$)
	Etanol	$307,90 \pm 5,30^{ab}$
Maceración	Etanol – Agua (50:50 v/v)	$375,03 \pm 5,00^{ab}$
Líquido presurizado	Etanol	$402,27 \pm 4,39^b$

Nota. Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes. ($p > 0,05$).

Se puede observar que mediante el método de extracción por maceración se tienen valores que varían desde $307,90 \mu\text{M ET/g}$ a $375,03 \mu\text{M ET/g}$, en cambio, mediante la extracción por líquido presurizado, los valores de la concentración de actividad antioxidante fueron de $402,27 \mu\text{M ET/g}$. En el estudio de Sotomayor, (2015) se realizó una evaluación de la actividad antioxidante de los subproductos de la naranja, en donde obtuvo valores de $255 \mu\text{M EQ Trolox/g}$ y $210 \mu\text{M EQ Trolox/g}$

para subproducto completo y flavedo fresco respectivamente. Al comparar con nuestros resultados, se puede deducir que los cítricos poseen una gran actividad antioxidante frente a otra variedad de especies vegetales. Los valores de la capacidad antioxidante de los extractos de limón reportados en nuestro estudio son mayores a los extractos de remolacha con valores de 26,04 $\mu\text{M ET/g}$ reportados por Machuca, (2022), también, a los extractos de subproductos de mango con etanol obtenidos por maceración con 31,7 $\mu\text{M ET/g}$ del estudio de Martínez, (2016) y valores de 39,87 $\mu\text{M TE/g}$ en extractos de subproductos de la guayaba reportados en el estudio de Gutiérrez, (2013).

3.3 Obtención de películas activas.

En la figura 5 se presentan las películas con adición de extractos de limón obtenidos tanto por los métodos de presurizado (ELP) como maceración (ELM), respectivamente, así como también las películas que no contenían extracto (Blanco), las películas con extracto de limón presentan una tonalidad amarilla verdosa, con una consistencia de tipo adhesiva, suave y lisa.

Figura 5

Biopelículas con extractos de limón



Se obtuvieron 8 películas de cada formulación y se tomaron muestras de las mismas para medir la calidad de las películas activas mediante los ensayos físicos, mecánicos y de biodegradación.

3.4 Propiedades de las películas




3.4.1 Color y espesor de las biopelículas.

En la tabla 14 se presentan los resultados de las propiedades ópticas que se midieron en las biopelículas activas con adición de extractos de limón obtenido por maceración (ELM) y por líquido presurizado (ELP), con respecto a color, a simple vista, las películas fueron de color amarillo verdoso, dando así valores de a^* negativos que significan que se asemejan al color verde y valores

positivos en b^* que se asemejan al color amarillo, además se tomó como referencia las películas que no contenían extracto (blancos) en las que presentaban valores de a^* y b^* bajos los cuales representan una tonalidad grisácea, el color de las películas evaluadas aumentaban su coloración conforme se añadía el extracto de limón, el cual es el responsable de la tonalidad amarilla. En el estudio de (Souza et al., 2017b) donde miden las propiedades físicas de películas a base de quitosano con antioxidantes naturales, obtienen valores similares a nuestro estudio ya que reportan que el quitosano es generalmente amarillo, pero al añadir a las películas extractos de jengibre tuvo una tonalidad amarilla más intensa, es decir, valores de b^* positivos. Asimismo, (Kanatt & Makwana, 2020) reportan que en la adición de extracto de aloe vera en la formulación de las películas a base de Carboximetilcelulosa con Polivinil alcohol, el color de estas tendría a verde amarillento con valores de b^* positivos, sin embargo en este mismo estudio reportan valores bajos de L^* los cuales varían de 31,23 a 53,14, mientras más bajo es el valor de L^* , más oscura tiende a ser la película, en nuestro estudio se tuvieron valores de 83,66 los cuales representa mayor iluminación en la películas.

Tabla 14

Resultados de las propiedades ópticas de las películas activas

Muestra	Color			Espesor (μm)
	L	a^*	b^*	
Blanco	65,1	0,2	-0,7	 $35\pm 0,04^a$
ELM	81,30	-4,80	43,30	 $79\pm 0,04^a$
ELP	83,66	-4,38	39,93	 $85\pm 0,08^a$

Nota. L^* : Luminosidad, valores de 0 (negro) a 100 (blanco). a^* : valores – (rojo), + (verde), b^* : valores – (azul), + (amarillo) Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes. ($p > 0,05$).

El espesor de las películas se midió con ayuda de un calibrador en cinco puntos diferentes de las películas, el espesor es una característica importante para determinar algunas de las propiedades mecánicas y de barrera que pueden tener las películas y con ellos medir la eficacia

para su uso como envases para alimentos, se puede evidenciar que existe diferencia significativa entre los espesores del blanco y las películas que contenían extracto ($p < 0,05$), con la adición de los extractos de limón aumentó el espesor de las películas blanco de $35 \mu\text{m}$ a $79 \mu\text{m}$ y $85 \mu\text{m}$ para las películas de ELM y ELP, respectivamente. Los resultados se asemejan a los presentados por (Kanatt & Makwana, 2020) en donde para la mezcla de películas que llevaban en su formulación carboximetilcelulosa, PVA y extracto de aloe vera, el espesor de las películas tuvo valores de $135 \mu\text{m}$ y confirman el efecto del aumento del espesor al agregar los componentes activos a las películas. Asimismo, En el estudio de Souza et al., (2017) el espesor de las películas a base de quitosano con aceites esenciales de jengibre y tomillo tuvieron espesores que variaron de 50 a $70 \mu\text{m}$ y mencionan al incorporar el aceite esencial se tiende a un incremento en el espesor. El aumento del espesor posiblemente es debido al aumento de sólidos en la formulación. (Kanatt & Makwana, 2020).

2.7.1 Transparencia y opacidad en las biopelículas

En la presente tabla 15 se presenta los resultados de las propiedades de barrera de la luz expuestos en valores de transparencia y opacidad.

Tabla 15

Resultados de las propiedades de barrera a la luz de las biopelículas activas.

Muestra	Transparencia %						Opacidad
	Región VIS			Región UV			
	700	600	496	394	292	190	
ELM	$98,86 \pm 1,29^h$	$94,96 \pm 2,63^f$	$86,19 \pm 0,14^e$	$0,57 \pm 0,13^c$	$0,51 \pm 0,17^b$	$61,53 \pm 4,57^a$	$0,28 \pm 0,15^c$
ELP	$95,09 \pm 3,15^h$	$87,03 \pm 0,52^g$	$83,14 \pm 3,94^e$	$0,97 \pm 0,05^d$	$0,38 \pm 0,01^b$	$64,33 \pm 0,77^a$	$0,72 \pm 0,06^d$

Nota. Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes. ($p > 0,05$).

La transparencia de las películas se midieron mediante las longitudes de onda que variaban de 190 a 700 nm y se obtuvieron los porcentajes de transmitancia en donde se puede observar que las películas tanto de ELM como ELP exhibieron una baja transmitancia en la región UV, sobre todo en las longitudes de onda de 280 y 394 nm , este porcentaje de transmitancia indica que las películas con la adición de extractos mejoran las propiedades de barrera de luz UV la cual puede

ser la responsable de deteriorar los alimentos por oxidación, resultados similares se obtuvieron en el estudio de películas con adición de antioxidantes de Kanatt et al., (2012) y Souza et al., (2017), además también dan a conocer que mientras el valor de transmitancia VIS es mayor, la transparencia de la película será mejor, dentro de nuestros resultados, el %T de las películas de ELM y ELP fue de 97% y 91% respectivamente, tendiendo una diferencia significativa entre las dos formulaciones ($p < 0,05$).

La transparencia se relaciona directamente con la opacidad en las películas, si la transparencia de la luz visible es menor, la película tendrá una mayor opacidad, esto se refleja en nuestros resultados ya que para las películas ELM al tener un %T mayor que las películas de ELP, la opacidad para las dos formulaciones fue diferente significativamente ($p < 0,05$) con valores para ELM de 0,26 y para ELP de 0,72, este es un parámetro importante para el envasado de alimentos ya que los consumidores prefieren ver los alimentos que se encuentran envasados, sin embargo, si las películas son transparentes, es decir, sin opacidad, se permitirá el paso de la luz y existirá una fotooxidación de los lípidos contenidos en los alimentos, afectando así su calidad. (Kanatt & Makwana, 2020)

3.4.2 Solubilidad en agua

En la Figura 6 se presentan los resultados del porcentaje de solubilidad en agua de las películas que contienen extracto de limón por maceración (ELM), líquido presurizado (ELP) y las películas sin extracto (Blancos). Los resultados de la solubilidad muestran que las biopelículas que no contenían extracto de limón en su formulación contienen un 70% de solubilidad, mientras que, para las biopelículas con adición de extracto, la solubilidad se reduce, pero no significativamente ($p > 0,05$). Los valores de la solubilidad fueron de 55,95% y 60,93% para las biopelículas activas de ELM y ELP respectivamente.

Tabla 16

Resultados de la solubilidad de las películas con y sin extracto de limón

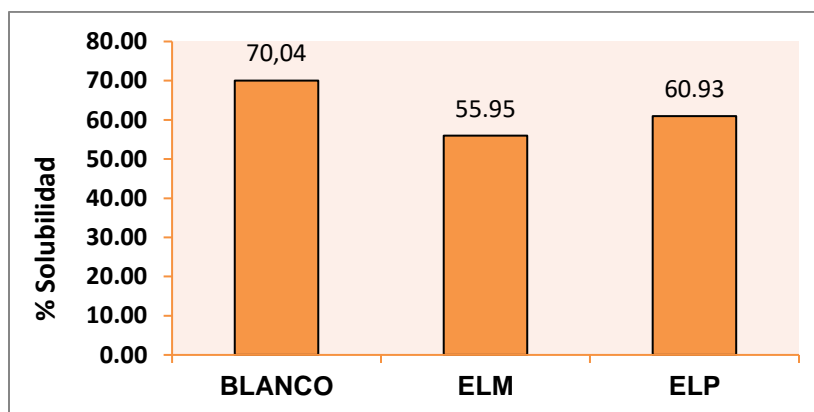
Muestra	Solubilidad %
BLANCO	70,04 ± 3,7 ^a

ELM	$55,95 \pm 10,3^a$
ELP	$60,93 \pm 12,7^a$

Nota. Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes. ($p > 0,05$).

Figura 6

Resultados de la solubilidad de las películas con y sin extractos de limón



La solubilidad es un parámetro importante para la utilidad de las biopelículas en el envasado de los alimentos, ya que naturalmente contienen cierto porcentaje de agua, lo que se espera de este parámetro es que las biopelículas contengan una menor solubilidad para poder mantener una buena conservación y vida útil al alimento. Los resultados de nuestro estudio se comparan con el de Bhat et al., (2022) en donde para películas con quitosano, goma guar y PVA obtuvieron un valor de 41,75% de solubilidad en agua, así mismo en el estudio de Andrade et al., (2021) en los que obtuvieron valores de 43% y 80% en películas de PVA de diferente estructura molecular incorporando compuestos fenólicos y en el estudio de Souza et al., (2017) los cuales tienen valores de 28% en la solubilidad de biopelículas de Quitosano y extracto de Romero. Estos estudios nos muestran que se dieron resultados de la solubilidad menores al 50%, los cuales comparados con nuestro estudio se obtuvieron porcentajes mayores de solubilidad y puede ser debido a la composición y estructura interna de la biopelícula, en estos estudios destacan que la solubilidad dependerá mucho de la matriz polimérica y la naturaleza hidrofóbica de los componentes del extracto, para ciertos casos dan a conocer que la adición de compuestos activos de las especies vegetales tienden a reducir la solubilidad pero en otros casos como en el estudio de Wang et al.,

(2013) en donde reporta que la incorporación de polifenoles de té en altas concentraciones hacia las películas de quitosano incrementó la solubilidad en agua.

3.4.3 Propiedades mecánicas

Dentro de las propiedades mecánicas, se llevó a cabo el comportamiento de las películas activas mediante la resistencia a la tracción (TS) y alargamiento a la rotura (E) medidos en Mpa y en % respectivamente. La figura 7 muestra la resistencia a la tracción de las películas, se puede observar en la gráfica que la película que no contiene extracto tiene un TS mayor que las películas ELM y ELP con valores de 6,79 Mpa, 4,39 Mpa y 2,28 Mpa respectivamente. Los resultados de TS para las películas ELM y ELP varió significativamente ($p < 0,05$), lo que quiere decir que el método de obtención de los compuestos activos puede influenciar en las propiedades mecánicas de las películas. En algunos estudios comprueban que la adición de extractos de naranja a las películas de almidón de yuca da como resultado la disminución de la resistencia a la tracción (TS) (Leites et al., 2021). En el estudio de Chhatariya et al., (2022) donde analizan películas a base de almidón de maíz con la adición de cáscara de naranja, explican que, al aumentar la concentración o la cantidad del extracto, este al contener compuestos solubles en agua hace que contenga menor resistencia. En otro casos sucede un efecto contrario, como es en el estudio de Kanatt et al., (2012) en donde reportan que hubo una mayor resistencia a la tracción al agregar extracto de menta y granada a las películas de quitosano y PVA y el estudio de Bhat et al., (2022) en donde las películas activas a base de quitosano, goma guar y PVA con extracto de moringa exhiben una mayor TS, este parámetro no solo se ve afectado por los componentes activos adicionados a la matriz polimérica, sino también por la relación entre el quitosano y PVA, al aumentar la concentración de PVA, existirá mejor resistencia a la tracción.

Tabla 17

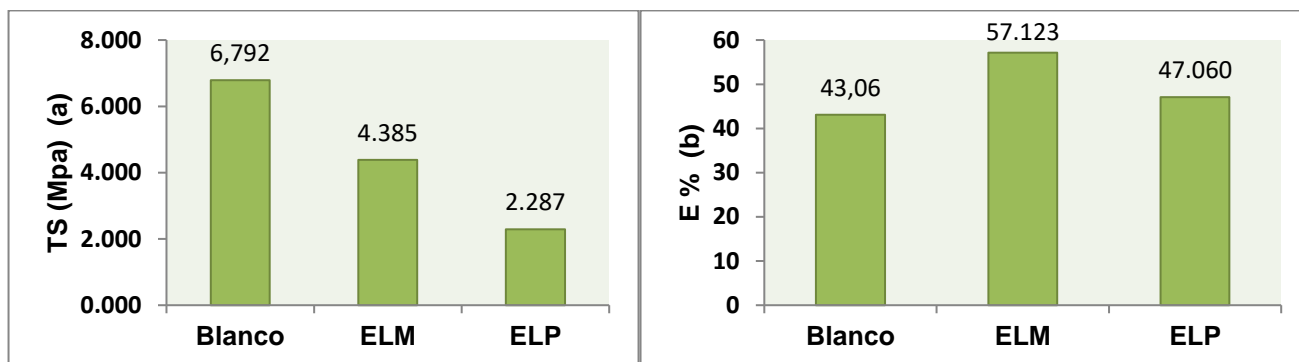
Resultados de las propiedades mecánicas de las biopelículas.

Muestra	TS (Mpa)	E (%)
Blanco	6,79 ± 1,63 ^a	43,06 ± 8,10 ^a
ELM	4,39 ± 1,10 ^{ab}	57,12 ± 5,20 ^a
ELP	2,29 ± 0,43 ^{cd}	47,06 ± 7,50 ^a

Nota. Los valores seguidos por la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes. ($p>0,05$).

Figura 7

Propiedades mecánicas de las biopelículas



Nota. La gráfica de la figura 7a representan los resultados de la resistencia a la tracción y la gráfica 7b representa los resultados del alargamiento a la rotura de las biopelículas.

En la figura 7 se presentan los resultados del alargamiento a la rotura (E%) definido como la capacidad de estiramiento de la película. Las películas que no contenían extracto de limón registraron un E% de 43,06% y las películas activas ELM y ELP tuvieron valores de E% de 57,12% y 47,06% respectivamente. No hubo diferencia significativa sobre este parámetro en los valores dados ($p>0,05$), sin embargo, se puede observar que E% resultó mayor en las películas activas que en la película sin extracto (Blanco), se considera que este efecto es debido al adicionar extractos se puede deber a los azúcares presentes naturalmente los frutos los cuales actúan como plastificantes dentro de la matriz polimérica, y existe una interacción excesiva lo que tiende a aumentar el % de elongación y a disminuir los valores de tracción. (Chhatariya et al., 2022)

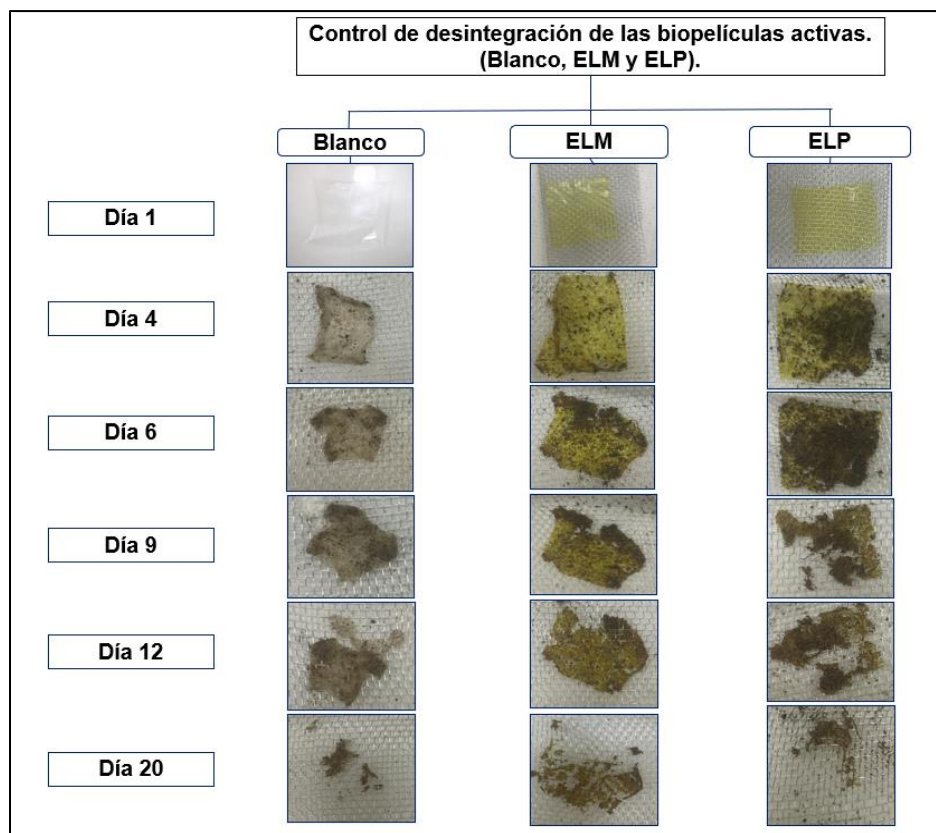
3.4.4 Biodegradación de las biopelículas

En la figura 8 se muestra la evolución de la desintegración de las biopelículas activas tanto el blanco como las adicionadas con extractos de limón en función al tiempo que estuvieron enterradas en la microflora natural del suelo. Se puede observar que a los primeros 4 días de control visual de las biopelículas, se encontraban con una baja desintegración, conforme a como pasaban los días se podía observar como la desintegración de las biopelículas era más notoria hasta el día 20 en donde se puede observar que las biopelículas blanco y ELP se encontraban totalmente desintegradas y la biopelícula ELM aún mostraba pequeños rastros de masa. El

comportamiento de la desintegración de las biopelículas ELP fue más acelerado según como se muestra en la figura, ya que se observa desde el día 9 que se había perdido masa entre la tierra. En comparación con el blanco, las biopelículas que contenían los extractos de limón pudieron conservarse ligeramente mejor, lo que quiere decir que la presencia de componentes activos que contiene el extracto puede ayudar a retrasar la biodegradación.

Figura 8

Control de la desintegración de las biopelículas



En el estudio de Piñeros et al., (2017) en donde visualizan la desintegración de biopelículas de almidón de yuca con la adición de extractos de romero, reportan que la película de control de se desintegró con totalidad después de 14 días, pero la presencia del extracto en diferente porcentaje se conservó mejor. Por otro lado, en el estudio de Medina et al., (2017) reportaron que las biopelículas de almidón con adición de extracto de té verde y albahaca exhibieron una degradación rápida después de 12 días de control.

Con respecto a la composición de las biopelículas, estas al no variar de composición con respecto a la cantidad de quitosano o PVA añadidas en la formulación no se pudo observar alguna

diferencia, sin embargo, en el estudio de Kochkina & Lukin, (2020) se reporta que la desintegración de las biopelículas de quitosano, almidón y PVA varía con respecto a la cantidad de PVA añadido a la formulación, conforme el % en peso de PVA aumentaba, la biopelícula llegó a retrasar su desintegración (90 días).

Conclusiones

Se logró obtener extractos de la cáscara de limón aplicando procesos de extracción por maceración y líquido presurizado los cuales contenían capacidad antioxidante y fue posible aplicarlos en la formulación de biopelículas activas.

El rendimiento más alto de extracción fue de 20,81% por maceración a 45°C y usando etanol-agua al 50%, sin embargo, debido al gran contenido de pectina que tenía la muestra, se procedió a purificar con absorbentes de sílice DSC-18 en los que el rendimiento se redujo a valores de 1,22% en los extractos obtenidos tanto por maceración como por líquido presurizado.

Gracias a la purificación de los extractos se logró cuantificar un gran contenido de fenoles totales en los extractos, siendo el valor más alto 78,30 EAG/g obtenido en la extracción por maceración a 45°C y Etanol al 100%. Asimismo, la capacidad antioxidante de los extractos de limón por el método DPPH fue 402,27 μM ET/g, resultados que permitieron ser aplicados hacia las biopelículas.

Se prepararon con éxito biopelículas activas con adición de extractos de limón a base de biopolímeros como el quitosano, almidón y PVA tomando en cuenta la variación del método de obtención de los extractos de limón.

Las biopelículas activas con adición de extractos de limón contienen buenas propiedades de barrera a la luz UV ya que el porcentaje de transmitancia a longitudes de onda de 280 a 394 nm tuvo valores menores al 1% para ELM y ELP, siendo ELM el que mejor resultado tuvo, en la región VIS este obtuvo un valor de 94% a longitud de onda de 600 nm lo cual indica una mejor transparencia.

La solubilidad en las biopelículas activas con extractos de limón fue de 55,95% y 60,93% para ELM y ELP respectivamente, estos valores se consideraron altos ya que si existe mayor solubilidad esta tenderá a desintegrarse con la presencia de agua presente en los alimentos, esto también se relaciona con la biodegradación ya que las películas tendieron a desintegrarse por completo a los 20 días.

En las propiedades mecánicas de las biopelículas, se logró obtener valores altos del estiramiento a la rotura, el mayor resultado fue de ELM con un 57,12%, sin embargo, la resistencia

a la tracción de las biopelículas fue baja, en donde el mayor valor lo obtuvo la película sin extracto con un valor de 6,79 Mpa, además, el espesor de las biopelículas se vio afectado al añadir a la formulación el extracto.

Recomendaciones

Se pueden realizar investigaciones más específicas a los extractos de las cortezas de limón, mediante un análisis cromatográfico HPLC para poder conocer a fondo la composición que estos extractos contienen.

Establecer y ampliar diferentes condiciones y métodos de extracción para la obtención de componentes activos en el limón.

Analizar la capacidad antioxidante de los extractos de limón mediante más métodos como ABTS o FRAP e incluso estudiar la actividad antimicrobiana para verificar su potencial uso.

Con respecto a las películas, se podría estudiar el efecto de la concentración del extracto de limón hacia la formulación de las biopelículas para poder identificar a qué condiciones se obtiene una mejor biopelícula.

Analizar más parámetros hacia las películas, como FTIR, permeabilidad al vapor de agua, análisis de calorimetría diferencial de barrido, ensayos microbiológicos u otros ensayos para medir la calidad y la aplicación dentro de los envases como alimentos.

Para medir la biodegradación en las biopelículas, además de controlar cualitativamente, se podrían realizar análisis de la biodegradación midiendo parámetros como la masa de las biopelículas o la cantidad de CO₂ generada conforme a los días de ensayo.

Referencias

- Alba, M. N. (2016). Estudio del efecto del tiempo de almacenamiento sobre las propiedades de películas de harina de triticale. Universidad Nacional de Córdoba.
- Andrade, J., González-Martínez, C., & Chiralt, A. (2021). Effect of phenolic acids on the properties of films from Poly (vinyl alcohol) of different molecular characteristics. *Food Packaging and Shelf Life*, 29, 100711. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2021.100711>
- Andrade, J., González-Martínez, C., & Chiralt, A. (2022). Antimicrobial PLA-PVA multilayer films containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 375, 131861. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.131861>
- Bhat, V. G., Narasagoudr, S. S., Masti, S. P., Chougale, R. B., Vantamuri, A. B., & Kasai, D. (2022). Development and evaluation of Moringa extract incorporated Chitosan/Guar gum/Poly (vinyl alcohol) active films for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 200, 50–60. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.116>
- Castillo-Herrera, G. A., Farías-Álvarez, L. J., García-Fajardo, J. A., Delgado-Saucedo, J. I., Puebla-Pérez, A. M., & Lugo-Cervantes, E. (2015). Bioactive extracts of *Citrus aurantifolia* swingle seeds obtained by supercritical CO₂ and organic solvents comparing its cytotoxic activity against L5178Y leukemia lymphoblasts. *The Journal of Supercritical Fluids*, 101, 81–86. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2015.02.026>
- Chandra, S., Khan, S., Avula, B., Lata, H., Yang, M. H., Elsohly, M. A., & Khan, I. A. (2014). Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown leafy vegetables and fruit crops: a comparative study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/253875>
- Chaves, J. O., Sanches, V. L., Viganó, J., de Souza Mesquita, L. M., de Souza, M. C., da Silva, L. C., Acunha, T., Faccioli, L. H., & Rostagno, M. A. (2022). Integration of pressurized liquid extraction and in-line solid-phase extraction to simultaneously extract and

- concentrate phenolic compounds from lemon peel (*Citrus limon* L.). *Food Research International*, 157, 111252. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2022.111252>
- Chhatariya, H. F., Srinivasan, S., Choudhary, P. M., & Begum, S. S. (2022). Corn starch biofilm reinforced with orange peel powder: Characterization of physicochemical and mechanical properties. *Materials Today: Proceedings*, 59, 884–892. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2022.01.339>
- Chirinos, D., & Quispe, V. (2018). Estudio Técnico Económico para la producción de aceite esencial de limón sutil. (*Citrus aurantifolia*) utilizable en la industrial de perfumería. [Universidad Nacional de Ingeniería]. http://cybertesis.uni.edu.pe/bitstream/uni/14158/1/chirinos_sd.pdf
- Claudia Leites, L., Julia Menegotto Frick, P., & Isabel Cristina, T. (2021). Influence of the incorporation form of waste from the production of orange juice in the properties of cassava starch-based films. *Food Hydrocolloids*, 117, 106730. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2021.106730>
- Coelho, E. M., da Silva Haas, I. C., de Azevedo, L. C., Bastos, D. C., Fedrigo, I. M. T., dos Santos Lima, M., & de Mello Castanho Amboni, R. D. (2021). Multivariate chemometric analysis for the evaluation of 22 Citrus fruits growing in Brazil's semi-arid region. *Journal of Food Composition and Analysis*, 101, 103964. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2021.103964>
- Cortés, J. F., Fernandez, A., Mosquera, S., & Velaszo, R. (2014). Evaluación de mecánica, óptica y propiedades de barrera en películas activas de almidón de yuca. https://www.researchgate.net/publication/317504335_ASSESSMENT_OF_MECHANICAL_OPTICAL_AND_BARRIER_PROPERTIES_IN_ACTIVE_FILMS_FROM_CASSAVA_STARCH
- Ehiobu, J. M., Idamokoro, M. E., & Afolayan, A. J. (2021). Phytochemical content and antioxidant potential of leaf extracts of *Citrus limon* (L.) Osbeck collected in the Eastern Cape Province, South Africa. *South African Journal of Botany*, 141, 480–486. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2021.06.001>

- Fernando Valero-Valdivieso, M., Ortegón, Y., & Uscategui, Y. (2013). Biopolímeros: Avances y Perspectivas. 80, 171–180.
- Gao, Y., Liu, Y., Kan, C., Chen, M., & Chen, J. (2019). Changes of peel color and fruit quality in navel orange fruits under different storage methods. *Scientia Horticulturae*, 256, 108522. <https://doi.org/10.1016/J.SCIENTA.2019.05.049>
- García, O., Pinzón, M., & Lucas, J. C. (2015, November 15). Propiedades físicas y ópticas de películas a base de alimón de Plátano Guayabo (*Musa paradisiaca* L.) . *Revista de Asociación Colombiana de Ciencias y Tecnología de Alimentos*. <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/350/300>
- García-Salas, P., Gómez-Caravaca, A. M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Guerra-Hernández, E., García-Villanova, B., & Fernández-Gutiérrez, A. (2013). Influence of technological processes on phenolic compounds, organic acids, furanic derivatives, and antioxidant activity of whole-lemon powder. *Food Chemistry*, 141(2), 869–878. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2013.02.124>
- Ghasemi, K., Ghasemi, Y., & Ebrahimzadeh, M. A. (2009). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(3), 277–281.
- Guimarães, R., Barros, L., Barreira, J. C. M., Sousa, M. J., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2010). Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, lemon, lime and orange. *Food and Chemical Toxicology*, 48(1), 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.09.022>
- Gutiérrez Novillo, M. A. (2013). Extracción e identificación de los compuestos fenólicos con actividad antioxidante en subproductos agroindustriales de guayaba (*Psidium guajava* L.) variedad pera rosada.
- Haida, Z., Ab Ghani, S., Juju Nakasha, J., & Hakiman, M. (2022). Determination of experimental domain factors of polyphenols, phenolic acids and flavonoids of lemon (*Citrus limon*) peel using two-level factorial design. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1), 574–582. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2021.09.022>

- Hernández, K. A. (2016). *Formulación y Caracterización de Películas Comestibles de almidón de papa nativo y modificado*. Universidad Veracruzana.
- Huerta, A., Elizabeth, M., Wong, G., Ramos Lilia, M. H., & Niño Katiushka, A. (n.d.). Estudio de las propiedades y biodegradabilidad de plásticos (Cast-films) elaborados a partir de cáscara de naranja, pectina y alcohol polivinílico. (PVOH).
- Norma Técnica Ecuatoriana Conservas vegetales determinación de acidez titulable método potenciométrico de referencia., Pub. L. No. 12, 12 1 (1985).
- Jahan, F., Mathad, R. D., & Farheen, S. (2016). Effect of mechanical strength on chitosan-pva blend through ionic crosslinking for food packaging application. *Materials Today: Proceedings*, 3(10), 3689–3696. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2016.11.014>
- Judawisastra, H., R Sitohang, R. D., & Marta, L. (2016). Water absorption and its effect on the tensile properties of tapioca starch/polyvinyl alcohol bioplastics. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/223/1/012066>
- Kanatt, S. R., & Makwana, S. H. (2020a). Development of active, water-resistant carboxymethyl cellulose-poly vinyl alcohol-Aloe vera packaging film. *Carbohydrate Polymers*, 227, 115303. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2019.115303>
- Kanatt, S. R., & Makwana, S. H. (2020b). Development of active, water-resistant carboxymethyl cellulose-poly vinyl alcohol-Aloe vera packaging film. *Carbohydrate Polymers*, 227, 115303. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2019.115303>
- Kanatt, S. R., Rao, M. S., Chawla, S. P., & Sharma, A. (2012a). Active chitosan–polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 290–297. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2012.03.005>
- Kanatt, S. R., Rao, M. S., Chawla, S. P., & Sharma, A. (2012b). Active chitosan–polyvinyl alcohol films with natural extracts. *Food Hydrocolloids*, 29(2), 290–297. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2012.03.005>
- Kochkina, N. E., & Lukin, N. D. (2020). Structure and properties of biodegradable maize starch/chitosan composite films as affected by PVA additions. *International Journal of*

Biological Macromolecules, 157, 377–384.
<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.04.154>

Lárez Velásquez, C. (2006). Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro. *Avances En Química*, 1(2), 15–21. www.saber.ula.ve/avancesenquimica

Li, B. B., Smith, B., & Hossain, M. M. (2006). Extraction of phenolics from citrus peels: I. Solvent extraction method. *Separation and Purification Technology*, 48(2), 182–188.
<https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2005.07.005>

Machuca, J. C. (2022). Determinación de la capacidad antioxidante y fenoles totales obtenidos a partir de subproductos.

Mahato, N., Sinha, M., Sharma, K., Koteswararao, R., & Cho, M. H. (2019). Modern Extraction and Purification Techniques for Obtaining High Purity Food-Grade Bioactive Compounds and Value-Added Co-Products from Citrus Wastes. *Foods* 2019, Vol. 8, Page 523, 8(11), 523. <https://doi.org/10.3390/FOODS8110523>

Makni, M., Jemai, R., Kriaa, W., Chtourou, Y., & Fetoui, H. (2018). Citrus limon from Tunisia: Phytochemical and Physicochemical Properties and Biological Activities.
<https://doi.org/10.1155/2018/6251546>

Martínez Morales, E. (2016). Calidad fenólica de los subproductos de mango. 1–98.

Medina-Jaramillo, C., Ochoa-Yepes, O., Bernal, C., & Famá, L. (2017). Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. *Carbohydrate Polymers*, 176, 187–194. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2017.08.079>

Mei, J., Yuan, Y., Wu, Y., & Li, Y. (2013). Characterization of edible starch–chitosan film and its application in the storage of Mongolian cheese. *International Journal of Biological Macromolecules*, 57, 17–21. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2013.03.003>

Meneses, M. A., Caputo, G., Scognamiglio, M., Reverchon, E., & Adami, R. (2015). Antioxidant phenolic compounds recovery from *Mangifera indica* L. by-products by supercritical antisolvent extraction. *Journal of Food Engineering*, 163, 45–53.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.04.025>

- Mero, K. (2020). Análisis de la producción y comercialización del limón. (*Citrus aurantifolia*) en la zona de Cerecita-Guayas. Universidad Agraria del Ecuador.
- Multari, S., Licciardello, C., Caruso, M., & Martens, S. (2020). Monitoring the changes in phenolic compounds and carotenoids occurring during fruit development in the tissues of four citrus fruits. *Food Research International*, 134, 109228. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109228>
- Ortiz Flores, K. Y. (2018). "Caracterización físico-química del jugo del limón sutil conservado mediante congelación rápida por aire reforzado y un análisis comparativo con el jugo de limón sutil en fresco." Universidad Nacional de Piura.
- Parzanese, M. (n.d.). Vegetales mínimamente procesados. Retrieved July 9, 2022, from http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/revista/ediciones/55/productos/R55_vegetales.pdf
- Pereda, M., Del, M., Moreira, R., Roura, S. I., Marcovich, N., & Aranguren, M. I. (2014). Bio-Películas para el envasado de alimentos: Proteínas y Carbohidratos. 1–16. https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/7796/CONICET_Digital_Nro.6729_A.pdf?sequence=11&isAllowed=y
- Pereda, M., Moreira, M., Roura, S., Marcovich, N., & Aranguren, M. (2014). Bio-películas para el envasado de alimentos: Proteínas y Carbohidratos. *Intema - Conicet*, 1–16.
- Piñeros-Hernandez, D., Medina-Jaramillo, C., López-Córdoba, A., & Goyanes, S. (2017). Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 63, 488–495. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2016.09.034>
- Piovesana, S., Cavaliere, C., Cerrato, A., Montone, C. M., Laganà, A., & Capriotti, A. L. (2020a). Developments and pitfalls in the characterization of phenolic compounds in food: From targeted analysis to metabolomics-based approaches. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 133, 116083. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2020.116083>
- Piovesana, S., Cavaliere, C., Cerrato, A., Montone, C. M., Laganà, A., & Capriotti, A. L. (2020b). Developments and pitfalls in the characterization of phenolic compounds in food:

- From targeted analysis to metabolomics-based approaches. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 133, 116083. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2020.116083>
- Puente, C. J. (2006). Determinación de las características físicas y químicas del limón sutil. (*Citrus aurantifolia* Swingle). 1–142.
- Quiroz-Reyes, C. N., Aguilar-Méndez, M. A., Ramírez-Ortíz, M. E., & Ronquillo- De Jesus, E. (2013). Comparative study of ultrasound and maceration techniques for the extraction of polyphenols from cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12, 11–18. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382013000100002
- Quirumbay, J. (2021). “Determinación de las propiedades físicas y relaciones matemáticas de limón sutil (*Citrus aurantifolia* Swingle) cultivado en la comuna Febres Cordero” [Universidad Estatal Península de Santa Elena]. <https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/6423/1/UPSE-TIA-2021-0117.pdf>
- Retting, M., & Hen, A. (2014). El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro Sur*, 57–66. <http://revistas.uach.cl/pdf/agrosur/v42n2/art07.pdf>
- Rodríguez, J. J., & Rodríguez, M. C. (2007). Alimentos mínimamente procesados | Consumer. Alimentos Mínimamente Procesados. <https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/alimentos-minimamente-procesados.html>
- Rodríguez-Arzave, J. A., Florido-Aguilar, A. L., & Hernández-Torres¹, M. A. (2020). Determinación de parámetros fisicoquímicos en jugos de frutas cítricas. Departamento de Química, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de Los Garza., 5, 233–238.
- Román, M., Rivera, C., Cardona, L., Muñoz, L., Gómez, D., Carvalho, C., & Quiceno, J. (2016). Guía de extracción por Fluidos Supercríticos: Fundamentos y aplicaciones.
- Sánchez-Camargo, A. P., Mendiola, J. A., Valdés, A., Castro-Puyana, M., García-Cañas, V., Cifuentes, A., Herrero, M., & Ibáñez, E. (2016). Supercritical antisolvent fractionation of rosemary extracts obtained by pressurized liquid extraction to enhance their

- antiproliferative activity. *The Journal of Supercritical Fluids*, 107, 581–589.
<https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2015.07.019>
- Sotomayor, M. (2015). Valoración de la actividad antioxidante de los subproductos de naranja. 1–80.
- Souza, V. G. L., Fernando, A. L., Pires, J. R. A., Rodrigues, P. F., Lopes, A. A. S., & Fernandes, F. M. B. (2017a). Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. *Industrial Crops and Products*, 107, 565–572.
<https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2017.04.056>
- Souza, V. G. L., Fernando, A. L., Pires, J. R. A., Rodrigues, P. F., Lopes, A. A. S., & Fernandes, F. M. B. (2017b). Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. *Industrial Crops and Products*, 107, 565–572.
<https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2017.04.056>
- Souza, V. G. L., Fernando, A. L., Pires, J. R. A., Rodrigues, P. F., Lopes, A. A. S., & Fernandes, F. M. B. (2017c). Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. *Industrial Crops and Products*, 107, 565–572.
<https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2017.04.056>
- Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, P. K. (2009). Physicochemical and bioactivity of cross-linked chitosan–PVA film for food packaging applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 45(4), 372–376.
<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2009.07.006>
- Tundis, R., Loizzo, M. R., Bonesi, M., Menichini, F., Mastellone, V., Colica, C., & Menichini, F. (2012). Comparative study on the antioxidant capacity and cholinesterase inhibitory activity of *Citrus aurantifolia* Swingle, *C. aurantium* L., and *C. bergamia* Risso and Poit. peel essential oils. *Journal of Food Science*, 77(1). <https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2011.02511.X>
- Vegas, U., & Narrea, M. (2011). Manejo integrado del cultivo de limón. 1–43.
- Vieira, J. M., Flores-López, M. L., de Rodríguez, D. J., Sousa, M. C., Vicente, A. A., & Martins, J. T. (2016). Effect of chitosan–Aloe vera coating on postharvest quality of blueberry

(*Vaccinium corymbosum*) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 116, 88–97.

<https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2016.01.011>

Vilela, C., Kurek, M., Hayouka, Z., Röcker, B., Yildirim, S., Antunes, M. D. C., Nilsen-Nygaard, J., Pettersen, M. K., & Freire, C. S. R. (2018). A concise guide to active agents for active food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 212–222. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2018.08.006>

Villareal, L., & Vanegas, M. (2014). Obtención de películas biodegradables a partir de mezclas de quitosano de cáscaras de camarón y agentes plastificantes. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/2872>

Wang, L., Dong, Y., Men, H., Tong, J., & Zhou, J. (2013). Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 35–41. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2012.11.034>