



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Instituto de Ciencias Agropecuarias
Maestría en Ciencia de los Alimentos

T E S I S

Elaboración y caracterización de una película biopolimérica con
potencial antioxidante a partir de la adición de extracto
hidroetanólico del fruto de *Randia monantha* Benth

Para obtener el grado de
Maestro en Ciencia de los Alimentos

P R E S E N T A

Ricardo Aguirre Vega

Director:

Dr. César Uriel López Palestina

Comité tutorial:

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández

Dr. Yair Olovaldo Santiago Saenz

Dr. Javier Piloni Martini

Tulancingo de Bravo, Hgo., México, Noviembre 2025



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

Institute of Agricultural Sciences

Área Académica de Ingeniería Agroindustrial e Ingeniería en Alimentos

Academic Area of Agroindustrial Engineering and Food Engineering

Asunto: Autorización de impresión de tesis

El Comité Tutorial de la **Tesis** titulada **"Elaboración y caracterización de una película biopolimérica con potencial antioxidante a partir de la adición de extracto hidroetanólico del fruto de *Randia monantha* Benth"**, realizada por el sustentante **Ricardo Aguirre Vega** con **número de cuenta 503404** perteneciente al programa de **Maestría en Ciencia de los Alimentos**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional, y de acuerdo con lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que el sustentante deberá cumplir los requisitos establecidos en el Reglamento de Estudios de Posgrado para la defensa oral en el examen de grado correspondiente.

Atentamente

"Amor, Orden y Progreso"

Tulancingo de Bravo, Hidalgo, a 7 de noviembre de 2025.

El Comité Tutorial

Dr. César Uriel López Palestina
Director

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes
Miembro del comité

Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández
Miembro del comité

Dr. Yair Olovelo Santiago Saenz
Miembro del comité

Dr. Javier Piloni Martini
Miembro del comité

"Amor, Orden y Progreso"



2025



Avenida Universidad #133, Col. San Miguel Huatengo,
Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero, Hidalgo,
Mexico. C.P. 43775
Teléfono 7717172000 Ext.42021
maestria_alimentos@uaeh.edu.mx
uaeh.edu.mx

Índice general

| | |
|---|------|
| Índice general | i |
| Índice de figuras y cuadros..... | iv |
| Agradecimientos..... | vi |
| Dedicatoria..... | vii |
| Resumen | viii |
| Abstract..... | ix |
| 1. Introducción..... | 1 |
| 2.1 Objetivo general | 4 |
| 2.2 Objetivos particulares | 4 |
| 3. Marco teórico..... | 5 |
| 3.1 Características de las películas biopoliméricas | 5 |
| 3.2 Aplicaciones de las películas a base de biopolímeros | 6 |
| 3.3 Nueva generación de películas bioactivas | 7 |
| 3.4 Películas antioxidantes con extractos vegetales | 7 |
| 3.5 El crucetillo (<i>Randia monantha</i> Benth) y sus propiedades | 8 |
| 4. Materiales y Métodos | 10 |
| 4.1 Colecta de material vegetal..... | 10 |
| 4.2 Preparación de material vegetal..... | 10 |
| 4.3 Preparación de los extractos | 10 |
| 4.4 Cuantificación de compuestos bioactivos de los extractos..... | 11 |
| 4.4.1 Contenido total de fenoles (CTF) y flavonoides totales (FT)..... | 11 |
| 4.5 Evaluación de actividad antioxidante in vitro de los extractos | 12 |

| | |
|--|----|
| 4.5.1 Ensayo de DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) | 12 |
| 4.5.2 Método de ABTS• ⁺ [2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)] | 12 |
| 4.5.3 Ensayo de poder antioxidante de reducción de hierro (FRAP) | 12 |
| 4.6. Análisis estadístico de datos de la caracterización antioxidante de los extractos | 12 |
| 4.7. Elaboración de películas biopoliméricas | 13 |
| 4.8. Caracterización fisicoquímica de la película biopolimérica | 13 |
| 4.8.1 Color/Propiedades ópticas | 13 |
| 4.8.2 Contenido de humedad % (WC)..... | 14 |
| 4.8.3 Capacidad de hinchamiento (%) (SD) | 14 |
| 4.8.4 Solubilidad en agua (WS) (%)..... | 14 |
| 4.8.5 Permeabilidad al vapor de agua (PVA) y tasa de transferencia de vapor de agua (TTVA) | 15 |
| 4.8.6 Propiedades mecánicas | 15 |
| 4.8.7 Cuantificación de compuestos bioactivos y evaluación de la actividad antioxidante in vitro de las biopelículas | 16 |
| 4.9. Análisis estadístico de los resultados de la caracterización de las películas | 16 |
| 5. Resultados y discusión..... | 17 |
| 5.1 Cuantificación de compuestos bioactivos y evaluación antioxidante de los extractos | 17 |
| 5.1.1 Cuantificación de fenoles totales de los extractos | 17 |
| 5.1.2 Cuantificación de flavonoides totales..... | 18 |
| 5.1.3 Actividad antioxidante in vitro de los extractos | 20 |
| 5.2 Caracterización fisicoquímica y antioxidante de la película biopolimérica | 22 |
| 5.2.1 Propiedades ópticas de las películas..... | 22 |
| 5.2.2 Contenido de humedad, capacidad de hinchamiento (SD) y solubilidad en agua (WS)..... | 26 |

| | |
|---|----|
| 5.2.3 Permeabilidad y tasa de transmisión al vapor de agua (PVA y TTVA) | 31 |
| 5.2.4 Propiedades mecánicas de las películas..... | 34 |
| 5.2.5 Contenido total de fenoles y flavonoides de las películas | 38 |
| 5.2.6 Actividad antioxidante in vitro de las películas | 41 |
| 6. Conclusiones..... | 43 |
| 7. Referencias | 45 |

Índice de figuras y cuadros

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Concentraciones de solvente (etanol:agua) utilizadas para la extracción..... | 11 |
| Cuadro 2. Diseño de tratamientos de la película comestible | 13 |
| Figura 1. Cuantificación de fenoles totales de los extractos evaluados. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$)..... | 17 |
| Figura 2. Contenido de flavonoides totales de los extractos obtenidos. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$)..... | 19 |
| Cuadro 3. Actividad antioxidante in vitro de los extractos hidroetanólicos del fruto de <i>R. monantha</i> Benth, expresada en mg ET/g ES. | 20 |
| Cuadro 4. Actividad antioxidante in vitro de los extractos hidroetanólicos de <i>R. monantha</i> en los ensayos ABTS ^{•+} y DPPH [•] expresada en IC ₅₀ | 21 |
| Cuadro 5. Parámetros de color de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> | 23 |
| Figura 3. Croma y °hue de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> | 23 |
| Figura 4. Transmitancia de luz (%T) de las películas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> | 24 |
| Figura 5. Opacidad de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$). | 25 |
| Figura 6. Contenido de humedad de las películas adicionadas con diferentes concentraciones de extracto. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$). .. | 27 |
| Figura 7. Capacidad de hinchamiento de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$) | 28 |
| Figura 8. Solubilidad en agua de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> . . Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$)..... | 30 |

| | |
|--|----|
| Figura 9. PVA de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> . . Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$). .. | 32 |
| Figura 10. TTVA de las películas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$). | 33 |
| Figura 11. Resistencia a la tracción de las películas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$). | 34 |
| Figura 12. Elongación a la ruptura de las películas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$). | 35 |
| Figura 13. Módulo de Young de las películas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$). | 37 |
| Figura 14. Contenido de fenoles totales de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$). | 39 |
| Figura 15. Contenido de flavonoides de las películas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> . Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$). | 39 |
| Figura 16. Actividad antioxidante in vitro de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de <i>R. monantha</i> . Letras diferentes entre columnas del mismo color indican diferencias significativas según Tukey ($p < 0.05$). | 42 |

Agradecimientos

El presente proyecto se llevó a cabo en el laboratorio de Postcosecha del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del estado de Hidalgo bajo la dirección del Dr. César Uriel López Palestina.

Agradezco a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca que se me otorgó para la realizar mis estudios de posgrado (CVU 1318668).

Agradezco al Dr. Rubén Jiménez Alvarado por acceder a apoyar este proyecto mediante el préstamo de su sonicador para la elaboración de las películas de gelatina de este proyecto.

Agradezco a la Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández por su apoyo para la realización del análisis de las propiedades mecánicas de las películas experimentales de este proyecto.

Por último, agradezco especialmente a mis compañeras y compañeros del laboratorio de Postcosecha por el apoyo que me brindaron durante la realización de este proyecto en particular durante la fase experimental.

Dedicatoria

A mi familia

*Por todo su amor y apoyo incondicional a lo largo de mis 29 años de vida y a quienes doy gracias por ayudarme a llegar ser quien soy. **A mi mamá Pilar Vega** por todo el esfuerzo que has hecho para sacarnos adelante como familia, a ayudarme a estar donde estoy y brindarme todo lo necesario para salir adelante, eres una maravilla mamá y no podría haber tenido a nadie mejor que tu como madre. **A mi papá Jorge Aguirre** por todo lo que me enseñaste y motivaste a seguir adelante con mis metas y aunque ya no estes presente en casa sé que junto con **mi abuelita Margarita Fragoso** estarán siempre con mamá, mis hermanos y conmigo, los extraño mucho y los amo con todo mi ser. **A mi hermano Rodrigo Seemann** por siempre alentarme a seguir adelante y apoyar siempre positivamente a cumplir con las metas que me he puesto.*

A mi pequeña Zafira

Por tu compañía a lo largo de tantos años llenos de hermosos recuerdos y que, aunque tenga más de un año que ya no estas sigo viéndote y escuchando en los pasillos de la casa, te extraño mucho mi pequeña y siempre tendrás un lugar especial en mi corazón y mis memorias junto con mi familia.

A mi mejor amigo

***Gabo** por todos los años que llevamos riendo y sufriendo juntos, por nunca haberme dicho que me ponía metas imposibles y alentarme a cumplirlas y seguir adelante. Aunque el paso del tiempo no nos ha tratado del todo bien y a pesar que soy pésimo expresando mis pensamientos y emociones te agradezco de todo corazón que estes aquí y que ojalá vengan tiempos mejores para los dos. Mil gracias mi hermano de otra madre.*

Resumen

La degradación de alimentos postcosecha por prácticas inadecuadas para su conservación es un problema de gran importancia a nivel mundial. En ese sentido se han desarrollado películas biopoliméricas para proteger a los alimentos del daño físico, microbiológico y cambios bioquímicos, adicionalmente, estas pueden funcionar como medios acarreadores de compuestos bioactivos. *Randia monantha* Benth es una planta cuyo fruto es rico en compuestos bioactivos con potencial antioxidante por lo que se ha utilizado como remedio en la medicina tradicional en el Estado de Veracruz, estos mismos compuestos se pueden utilizar para prolongar la vida de anaquel de diversos alimentos. Por lo anterior, el objetivo de este proyecto fue la producción y caracterización de una película biopolimérica adicionada con extracto hidroetanólico del fruto de *R. monantha* con potencial antioxidante. Para ello, se obtuvieron ocho extractos de cáscara y de la mezcla de la pulpa+semilla del fruto utilizando mezclas etanol:agua en proporción 0:100, 20:80, 50:50 y 80:20 como solventes, en los cuales se cuantificaron los fenoles totales y flavonoides y la actividad antioxidante *in vitro* mediante los ensayos ABTS⁺, DPPH[•] y FRAP. Posteriormente el extracto con mayor actividad antioxidante de acuerdo a los análisis anteriores se añadió en concentraciones 0.5 %, 1%, 1.5% y 2 % *p/v* a películas de gelatina y se les evaluaron las propiedades ópticas, solubilidad en agua, contenido de humedad, capacidad de hinchamiento, permeabilidad al vapor de agua, tasa de transmisión de vapor de agua, propiedades mecánicas, fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante *in vitro*. De los extractos obtenidos, el de cáscara etanol:agua 80:20 presentó el mayor contenido de fenoles y flavonoides, así como la mejor actividad antioxidante *in vitro*. La adición de este extracto a las películas de gelatina modificó sus propiedades en función de la concentración añadida. El extracto otorgó una tonalidad amarilla a las películas, aumentó la opacidad hasta 2.55 veces y redujo la transmitancia de luz hasta en 10.9% en referencia al control, asimismo, redujo la permeabilidad al vapor de agua (1.24×10^{-10} - 4.95×10^{-11} g·m/Pa·s·m²) y tasa de transmisión de vapor de agua (2.85×10^{-10} - 1.94×10^{-10} g/s), y no tuvo efecto sobre el contenido de humedad de las películas. Sin embargo, causó un aumento de la solubilidad hasta un 13%, además, se observó un aumento de la elongación a la ruptura de hasta 70% junto con una reducción de la resistencia a la tracción (15.99 – 9.52 MPa) de las películas en función de la concentración de extracto añadido. Por otro lado, el contenido de fenoles, flavonoides y la actividad antioxidante *in vitro* de la película aumentó de forma proporcional al contenido de extracto. Se concluyó que el extracto hidrotetanólico 80:20 de cáscara de *R. monantha* presentó las mejores propiedades antioxidantes y al incorporarse en 2% *p/v* en películas a base de gelatina, mejoró sus propiedades fisicoquímicas y antioxidantes.

Abstract

Postharvest food spoilage due to inadequate conservation practices is a problem of worldwide importance. In that sense, biopolymer films have been developed to protect food from physical and microbiological damage, as well as biochemical changes. Additionally, they can function as media for transporting bioactive compounds. *Randia monantha* Benth is a plant whose fruit is rich in bioactive compounds with antioxidant potential and to this day, is used as a traditional remedy in the state of Veracruz, it is also worth noting that these compounds can be used to extend the shelf life of various food products. Because of this, the goal of this project was the production and characterization of a biopolymer film with antioxidant potential by adding hydroethanolic extract obtained from *R. monantha* fruit. To achieve this, a total of eight extracts were obtained from the fruit shells, and a mix of the pulp and seeds using ethanol:water mixes as extraction solvents in proportions 0:100, 20:80, 50:50 & 80:20, whose total phenolic content and flavonoid content were quantified along with the evaluation of their *in vitro* antioxidant activity via the ABTS⁺, DPPH[•] & FRAP assays. After that, the obtained extract with the best antioxidant activity was added to gelatin-based films in concentrations of 0.5%, 1%, 1.5% and 2% w/v, and their optical properties, water content, water solubility, swelling capacity, water vapor permeability, water vapor transmission rate, mechanical properties, phenolic content, flavonoid content and *in vitro* antioxidant activity of the resulting films were evaluated. Of the evaluated extracts, the shell extract obtained with ethanol:water 80:20 had the highest phenol and flavonoid content as well as the highest *in vitro* antioxidant activity. The addition of this extract to the gelatin films modified their properties in function with the added concentration. The extract caused the films to have a yellow hue, made them 2.55 times more opaque, and reduced their light transmittance by up to 10.9% in reference to the control film. Also, a decrease of the films's water vapor permeability (1.24×10^{-10} - 4.95×10^{-11} g·m/Pa·s·m²) and water vapor transmission rate (2.85×10^{-10} - 1.94×10^{-10} g/s) was observed. The water content of the films was not affected by the addition of the extract; however, their water solubility increased up to 13% along with an increase of up to 70% in their elongation at break and a decrease in their tensile strength (15.99 – 9.52 MPa) in function of the added extract concentration. On the other hand, the phenolic and flavonoid content as well as the *in vitro* antioxidant activity of the films increased proportionally to the increase in the added extract concentration. It was concluded that the 80:20 hydroethanolic extract obtained from *R. monantha* fruit shell had the best antioxidant properties and that incorporating this extract at a 2% w/v concentration on gelatin-based films improved their physicochemical and antioxidant properties.

1. Introducción

A nivel global, en la cadena de suministros de alimentos la degradación de alimentos y las pérdidas postcosecha son un problema con importancia significativa. Particularmente, en México la descomposición de alimentos por prácticas de conservación inadecuadas es un tema de alta prioridad, ya que, estas pérdidas corresponden al 34-50% de la producción nacional de alimentos y que en su mayoría ocurre dentro de los hogares mexicanos (Albalade-Ramírez et al., 2024; Angeles-Segoviano & Hernández-Vázquez, 2023; Mohamed, 2017).

Para enfrentarse a estas situaciones, en los últimos años se ha resaltado la importancia del estudio de las características y procesos postcosecha con la finalidad de minimizar las pérdidas de alimentos por prácticas de conservación de alimentos inadecuadas que culminan en la pudrición, pérdida de calidad y deterioro nutricional de los mismos (Kumar & Kalita, 2017). Recientemente se ha enfatizado en la implementación de las tecnologías de barreras, las cuales son consideradas como una posible solución a este problema gracias a que consisten en la aplicación de diferentes factores de conservación para mejorar la seguridad, estabilidad y duración de los alimentos (Porat et al., 2018; Pundhir & Murtaza, 2015).

Dentro de este tipo de aplicaciones tecnológicas han tomado relevancia el uso de películas y recubrimientos biopoliméricos para la conservación de alimentos, ya que, presentan la capacidad de proteger del daño mecánico, extender la vida de anaquel de los productos alimenticios a través de su habilidad para proteger contra los rayos UV, transportar solutos como sales o pigmentos, y regulando la disponibilidad de gases como el oxígeno o el etileno a través de la modificación de la atmósfera interna generada entre la película y el alimento y, por lo tanto, mejorando la calidad y apariencia de los alimentos (Díaz-Montes & Castro-Muñoz, 2021). Además de su potencial para la conservación, se ha descrito que las películas y recubrimientos a base de biopolímeros pueden cubrir otras necesidades como la adición de propiedades nutricionales a los alimentos y la protección contra microorganismos. Otra ventaja adicional es que son amigables con el medio ambiente debido a que son elaboradas con polímeros naturales los cuales les dan una naturaleza biodegradable y renovable (Falguera et al., 2011; Guimarães et al., 2020).

Adicionalmente existen las llamadas películas bioactivas, a las cuales, se les han agregado compuestos bioactivos buscando mejorar sus propiedades, mecanismos antimicrobianos y su actividad antioxidante, por ejemplo, enriqueciéndolas con compuestos fenólicos, probióticos, nutraceuticos y vitaminas obtenidas de diversas fuentes (Benbettaieb, et al., 2019; Pedreiro et al., 2021).

Las películas adicionadas con extractos vegetales han estado en constante investigación en años recientes buscando reforzar su funcionalidad a través de las interacciones químicas entre los polímeros naturales que las forman y las moléculas activas adicionadas provenientes de los extractos vegetales, además de, enfatizar en la mejora de sus propiedades antioxidantes mediante la adición de extractos ricos en compuestos fenólicos y en la optimización de las proporciones de sus constituyentes para adecuarlas a aplicaciones específicas en los sistemas alimenticios (Avramescu et al., 2020; Pedreiro et al., 2021; Salgado et al., 2015; Xie et al., 2023).

Por ejemplo, López-Palestina et al. (2018) adicionaron a una película comestible a base de gelatina con extractos oleosos de jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) y midieron su efecto sobre la vida útil en frutos de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Los autores reportaron que la adición de estos extractos logró retrasar la pérdida de peso de los frutos y los cambios en el contenido de sólidos solubles totales, acidez titulable y pH durante el almacenamiento a 5 °C, además, reportaron un mayor contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante en los frutos recubiertos con películas adicionadas con extracto a una concentración del 3% v/v.

Aunado a esto, la búsqueda de especies vegetales ricas en compuestos fenólicos y con alta capacidad antioxidante ha sido un tema de investigación relevante en las últimas décadas. De estos casos resaltan los estudios en plantas medicinales y plantas silvestres en los que se discute sobre la alta capacidad antioxidante y potencial nutricional que tienen las plantas silvestres comestibles, por ejemplo, *Eucalyptus robusta*, *Eurya nitida*, *Canna indica* (Fierascu et al., 2018; Fu et al., 2010; Omar, 2009; Özen, 2010).

En el estado de Veracruz, una de las plantas silvestres utilizadas en el ámbito de la medicina tradicional es *Randia monantha* Benth llamada comúnmente crucetillo o papache peludo, la cual, se consume principalmente como un remedio medicinal para contrarrestar los efectos de las mordidas y piquetes de animales ponzoñosos, en particular la serpiente conocida como “Nauyaca” (*Bothrops asper*) en esta zona del país (Medel et al., 2023).

Hasta la fecha existe poca información publicada sobre el crucetillo (*R. monantha* Benth), utilizando como ejemplo la base de datos de Science Direct, sin considerar los artículos de inventarios florísticos en los que aparece esta especie, existen solo tres publicaciones relacionadas a la caracterización de propiedades y sus aplicaciones exploradas, lo cual indica una oportunidad para aportar al conocimiento científico sobre esta planta y sus posibles aplicaciones fuera de la medicina tradicional.

Una de ellas, es la investigación de Juárez-Trujillo et al. (2018) quienes realizaron una caracterización fisicoquímica y determinaron el perfil fenólico de la pulpa y las semillas del fruto maduro de *Randia monantha* Benth, a través de Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento (UPLC), identificando un total de 14 compuestos bioactivos, la mayoría clasificados dentro de los ácidos fenólicos, entre los cuales se encuentran compuestos con actividad antioxidante como: ácido clorogénico, ácido cafeico, y ácido gálico además de otros compuestos con actividad antioxidante como: quercetina y rutina. De acuerdo con los autores algunos de los compuestos identificados son de interés debido a que presentan un amplio rango de bioactividad como es el caso del ácido clorogénico, el cual, puede inhibir las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa lo cual tiene un efecto benéfico para el control de condiciones médicas como el estrés oxidativo causado por hiperglicemia en pacientes con diabetes tipo 2, de forma similar, el ácido cafeico puede actuar como un agente antidiabético a través de la reducción de la producción de la glucosa en el hígado.

Asimismo, Vilchis-Gómez et al. (2024) optimizaron las condiciones de extracción de compuestos bioactivos del fruto maduro de *R. monantha* Benth mediante el uso de una mezcla etanol:agua 80:20 como solvente, además, utilizaron ultrasonido para facilitar la obtención de los compuestos de interés y reportaron como condiciones óptimas de extracción una relación 1g de muestra por cada 30 mL de solvente y aplicando ultrasonido por 10 minutos con una amplitud de onda del 60%.

Con base en lo anterior, en este proyecto consistió en desarrollar y caracterizar una película biopolimérica con la adición de extracto hidroetanólico obtenido de los frutos de *R. monantha* Benth, con el fin de incrementar la capacidad antioxidante de las mismas.

2.1 Objetivo general

Elaborar y caracterizar una película biopolimérica a base de gelatina adicionada con extracto hidroetanólico de frutos de *Randia monantha* Benth las con el fin de mejorar sus propiedades fisicoquímicas y antioxidantes.

2.2 Objetivos particulares

- Evaluar la concentración de fenoles totales y flavonoides, así como la actividad antioxidante *in vitro* mediante los ensayos de DPPH[•], ABTS^{•+} y FRAP de los extractos etanol:agua en diferentes proporciones obtenidos a partir de la cáscara y de mezcla de la pulpa con semilla del fruto de *R. monantha* Benth.
- Caracterizar las propiedades fisicoquímicas y evaluar la concentración de compuestos bioactivos y actividad antioxidante *in vitro* de la película biopolimérica adicionada con extracto hidroetanólico de mayor capacidad antioxidante del fruto de *R. monantha* Benth.

3. Marco teórico

3.1 Características de las películas biopoliméricas

El término “película biopolimérica” se utiliza para referirse a una capa preformada a partir de polímeros de origen biológico, como proteínas, polisacáridos o lípidos, que se utiliza para envolver alimentos o que se coloca en el espacio entre los mismos con la finalidad de prolongar su vida de anaquel y protegerlos del daño funcionando como una barrera mecánica además de presentar ventajas como su biodegradabilidad (Chettri et al., 2023).

Recientemente la producción de películas para la conservación de alimentos se ha estado llevando a cabo a partir de biopolímeros tanto de origen vegetal como de origen animal, por ejemplo, polisacáridos, proteínas, lípidos o la combinación de estos, por lo cual, sus propiedades varían ampliamente dependiendo de su composición. Por ejemplo, las películas a base de polisacáridos pueden actuar como barreras contra el oxígeno gracias a su naturaleza hidrofílica que obtienen de la red de puentes de hidrógenos que se forma entre sus moléculas, por otro lado, esa misma naturaleza no les permite funcionar como barreras contra el vapor, a pesar de ello, pueden ser utilizadas como barreras desechables para retrasar la pérdida de humedad en los alimentos. Entre los polisacáridos más comúnmente utilizados en estos recubrimientos se encuentran el quitosano, carboximetilcelulosa, almidones y algunas gomas (Bajaj et al., 2023; Chettri et al., 2023).

En cuanto a las películas a base de lípidos los materiales más utilizados suelen ser ceras, ácidos grasos y acilglicéridos; entre sus mayores ventajas esta la minimización de la tasa de respiración de los productos y la prevención de la pérdida de humedad gracias a su naturaleza no polar e hidrofóbica (Bajaj et al., 2023; Chettri et al., 2023; Pratap Singh & Packirisamy, 2022).

Por otra parte, las películas y recubrimientos a base de proteínas tienen características y comportamientos muy variados, ya que, sus propiedades dependen de la secuencia de aminoácidos que componen sus estructuras, sin embargo, dada la presencia de cadenas laterales en su estructura son altamente susceptibles a ser modificadas para conferirles propiedades específicas de interés. La producción de estas películas suele llevarse a cabo comúnmente con gelatina, proteínas de suero lácteo, zeína o gluten de trigo (Bajaj et al., 2023; Chettri et al., 2023; Pratap Singh & Packirisamy, 2022).

3.2 Aplicaciones de las películas a base de biopolímeros

La investigación sobre las películas biopoliméricas se ha convertido en un tema relevante para el empaquetamiento de alimentos, en particular en la última década, con la finalidad de producir recubrimientos, películas y empaques biodegradables que sustituyan a los polímeros plásticos derivados del petróleo a partir de fuentes naturales que sean de bajo impacto ambiental, inocuos para el ser humano y que sean de costo accesible para los productores y las industrias de alimentos (Bajaj et al., 2023; Salgado et al., 2015).

La función principal de las películas a base de biopolímeros es actuar como barrera mecánica entre el producto que envuelve y el ambiente, sin embargo, su uso no está limitado exclusivamente a la conservación de alimentos, ya que, también se han utilizado como medios de distribución y en algunos casos para la publicidad de productos alimenticios (Chel-Guerrero et al., 2024; Chettri et al., 2023).

Además de proteger los productos de daño mecánico, este tipo de películas, pueden ayudar a regular procesos bioquímicos de importancia como la oxidación, la tasa de respiración de frutas y verduras e inclusive pueden funcionar como medios acarreadores de sustancias bioactivas de carácter antioxidante o antimicrobiano, entre otros, para aumentar la vida de anaquel de alimentos tanto vegetales como de origen animal (Bodana et al., 2024; Chel-Guerrero et al., 2024; Chettri et al., 2023).

Como ejemplo Sekarina et al. (2023), desarrollaron un recubrimiento comestible compuesto a partir de gelatina de atún y quitosano al que agregaron diferentes concentraciones de té negro para conservar las características fisicoquímicas y nutrimentales de frutos de papaya (*Carica papaya*) mínimamente procesados. Por un lado, reportaron como resultados que la adición de este extracto logró reducir la pérdida de peso de la papaya durante su almacenamiento, en particular, la adición de extracto de té negro al 15% condujo a una menor pérdida de peso en comparación con el tratamiento control, con 1.91% y 4.61% menos respectivamente a los días 4 y 10 de almacenamiento, mientras que, el control perdió 1.88% y 6.02% de su peso respectivamente en los mismos tiempos. Por otro lado, se reportó que las muestras tratadas con extracto de té negro al 15% presentaron un aumento de actividad antioxidante del 59.26% a 72.62% desde el día 1 hasta el día 10 de almacenaje respectivamente. Por su parte, Erceg et al. (2023) elaboraron un recubrimiento comestible a base de quitosano y gelatina adicionado con un complejo a base de β -ciclodextrina/aceite esencial de té limón (*Cymbopogon citratus*), del cual, caracterizaron sus parámetros fisicoquímicos, además, evaluaron la actividad antimicrobiana contra *Penicillium aurantiogriseum*, a partir de lo cual, reportaron como principal resultado el aumento de la vida de anaquel de tomates Cherry tratados con aceite esencial de té limón

al 7% y con una mezcla del recubrimiento y el aceite esencial al 7% (*Solanum lycopersicum* L. var. *cerasiforme*) hasta 20 días a comparación de sus muestras control las cuales presentaron daño y señales de contaminación a partir del día 5 y 10 durante su almacenamiento a 8 °C.

3.3 Nueva generación de películas bioactivas

A nivel mundial la industria del empaquetamiento representa más del 2% del Producto Interno Bruto de países desarrollados, del cual, el empaquetamiento de alimentos corresponde a la mitad de esta cifra. A lo largo del tiempo se han implementado diferentes materiales para empaacar como el vidrio y los plásticos a base de polímeros sintéticos, sin embargo, estos últimos han causado grandes impactos negativos al medio ambiente debido a su naturaleza no biodegradable y que se producen a partir de recursos no renovables, lo cual, ha llevado a la búsqueda de alternativas que puedan mitigar o evitar estos efectos negativos sin comprometer la calidad de los productos empaquetados, cómo se ha demostrado con los biopolímeros (Abdullah et al., 2022).

Las películas a base de biopolímeros, como gelatina y quitosano, tienen propiedades que las convierten en recursos de alto interés como su capacidad para reforzar o en algunos casos sustituir las capas naturales de los alimentos limitando y controlando la entrada de gases, por ejemplo, oxígeno y etileno, partículas sólidas y humedad, además de sus propiedades barrera, las propiedades bioactivas como la capacidad antioxidante, la cual, cumple con la finalidad de reducir la cantidad de aditivos necesarios para mantener la estabilidad de los alimentos y reducir su oxidación, han ganado relevancia en empaques a base de este tipo de materiales (Melo et al., 2019).

Por ejemplo Zhang et al. (2020) lograron aumentar la actividad antioxidante de películas a base de quitosano a través de la adición de extractos de diferentes plantas, de las cuales, reportaron una inhibición máxima del 43.5% del radical DPPH[•] en las películas adicionadas con extracto de hoja de jujubo seguida de una inhibición del 30% del radical con las películas con extracto de cáscara de cacahuate a comparación de su control el cual presento una inhibición del 10%.

3.4 Películas antioxidantes con extractos vegetales

La actividad antioxidante es una propiedad de las películas a base de biopolímeros que ha ganado relevancia en años recientes debido a que tienen la capacidad de proteger a los alimentos de la oxidación, lo cual, permite extender su vida de anaquel. Esto se lleva a cabo mediante un proceso de liberación gradual de los compuestos bioactivos contenidos en las películas (Benbettaieb, et al., 2019a).

Lee et al. (2016) desarrollaron una película a base de carboximetilcelulosa adicionada con extracto de cáscara de manzana (*Malus domestica* Borkh), la cual, presento un incremento en su actividad

antioxidante a lo largo de un periodo de 12 horas de evaluación. Además, los autores reportaron que la comparación de la actividad antioxidante entre tratamientos mostró que a la hora 12 ocurrió la liberación del 90% de los compuestos contenidos en la matriz polimérica de la película.

En otro estudio, Yan et al. (2023) produjeron una película comestible a base de gelatina con quitosano a la que adicionaron flavonoides extraídos de hojas de *Cyclocarya paliurus*, obteniendo como resultado un recubrimiento de color oscuro con la capacidad de actuar como barrera contra el vapor de agua y con estabilidad térmica. Adicionalmente, se reportó que la adición del extracto confirió propiedades bioactivas a los recubrimientos, en particular, una actividad antioxidante mayor a comparación del tratamiento control, evaluada mediante los ensayos de los radicales ABTS^{•+} y DPPH[•] y actividad antimicrobiana contra las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y *Pseudomonas aeruginosa* lo cual se vio reflejado en un aumento del halo de inhibición de crecimiento de las colonias bacterianas conforme incremento la concentración de extracto añadida al recubrimiento.

3.5 El crucetillo (*Randia monantha* Benth) y sus propiedades

Randia monantha conocida comúnmente como crucetillo es una planta de habito arbóreo clasificada en la familia *Rubiaceae* y que se le puede encontrar desde el sur de México, en particular en el estado de Veracruz, y Panamá. De forma tradicional en varias localidades de Veracruz esta planta se utiliza como un remedio medicinal para el tratamiento de dolor, inflamación, diabetes, y cáncer, sin embargo, su uso más común es para contrarrestar los efectos de la mordedura de animales ponzoñosos, particularmente de la serpiente comúnmente conocida como nauyaca o serpiente terciopelo (*Bothrops asper*), a través de una bebida preparada macerando el fruto con destilados alcohólicos como aguardiente de caña, etanol, brandy o vino de jerez (Juárez-Trujillo et al., 2018, 2022; Medel et al., 2023).

En la literatura disponible se muestra que *R. monantha* aun no existen reportes de aplicaciones de esta planta en el sector alimenticio, sin embargo, la información disponible muestra que esta especie tiene potencial para la industria de alimentos debido a sus propiedades. Méndez & Hernández (2009) realizaron una evaluación de la toxicidad del fruto replicando las condiciones de uso tradicional de la planta y a través de un ensayo con *Artemia salina*, sus resultados mostraron que el fruto del curcetillo es seguro para consumo humano. En otro estudio Juárez-Trujillo et al. (2022) evaluaron la toxicidad aguda del extracto acuoso obtenido de pulpa de *R. monantha* mediante pruebas histológicas en ratas Wistar y cuyos resultados concluyeron en que el extracto acuoso de pulpa no es tóxico y se encuentra en la categoría 5 de la clasificación de toxicidad de la Organización para la cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD).

Por otro lado, Juárez-Trujillo et al. (2018) realizaron estudios sobre la caracterización, perfil fenólico y capacidad antioxidante no enzimática de extractos de la pulpa y las semillas de *R. monantha* donde concluyeron que estos presentan un alto potencial antioxidante, en particular en la pulpa, gracias a su contenido de compuestos fenólicos como ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido cumárico y rutina que podría ser aprovechado por las industrias de alimentos, farmacéutica y cosmetidos. De forma similar, Vilchis-Gómez et al. (2024) llevaron a cabo una optimización para la obtención de extractos ricos en compuestos biológicos de alto valor de esta especie mediante ultrasonido, además de realizar pruebas de capacidad antioxidante no enzimática y determinar actividad antifúngica contra *Colletotrichum gloeosporioides* y *Penicillium digitatum*, concluyendo que, estos presentaron actividad contra los hongos evaluados logrando inhibir su crecimiento *in vitro* en un 50% con concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) de 17.65 y 20.51 mg/mL de extracto respectivamente que atribuyeron al contenido de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante.

4. Materiales y Métodos

4.1 Colecta de material vegetal

Se colectaron frutos de *Randia monantha* Benth en Tlatelela, Veracruz (19°19'00"N 96°54'00"O), durante los meses enero-marzo 2024, los cuales, para replicar las condiciones de uso tradicional se secaron a la sombra (13-30 °C, 0-10 % humedad) por 14 días antes de ser transportados al laboratorio de Tecnología Postcosecha del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo en Tulancingo, Hidalgo donde se mantuvieron en oscuridad y a temperatura ambiente hasta su uso.

4.2 Preparación de material vegetal

Los frutos colectados fueron desinfectados mediante una solución de hipoclorito de sodio 0.01% por un máximo de 5 min de acuerdo con el Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA), (2020) y posteriormente lavados con agua destilada para remover el exceso de hipoclorito de sodio y evitar que interfiera en las mediciones posteriores. Después, siguiendo el método empleado por López-Palestina et al. (2018) se separaron los frutos en dos partes, cáscara y pulpa con semillas. Posteriormente mediante un molino de cuchillas (Grindomix, Retsch GM 200, Haan, Alemania) se molió por separado cada una de las fracciones durante 1 min hasta obtener un polvo fino de cada una de ellas, los cuales, se utilizaron como fuente de compuestos bioactivos durante el proceso de extracción.

4.3 Preparación de los extractos

Se obtuvieron extractos de las fracciones de cáscara (C) y pulpa con semillas (PS) del fruto maduro de *R. monantha* Benth con mezclas de etanol y agua (v/v) como solventes asistiendo la extracción con ultrasonido de acuerdo a lo descrito por Vilchis-Gómez et al. (2024) con modificaciones y por López-Palestina et al. (2018). Para ello 1 g de muestra se mezcló con 30 mL de solvente en diferentes proporciones de etanol:agua (v/v) (Cuadro 1), posteriormente fueron sometidas a ultrasonido a una frecuencia de 40Khz por 10 min en un baño ultrasónico (Mod. 32V118A, Freeport, IL, USA). Después, se dejó macerar los extractos por 24 h en refrigeración a 4 °C. Una vez cumplido el tiempo de maceración, se filtraron los extractos utilizando papel filtro Ahlstrom grado 54, luego, con un rotavapor (Büchi R-215, Suecia) conectado a una bomba de vacío (Büchi V850, Suecia) se removió el exceso de solvente a una temperatura de 40 °C en baño maría, a una velocidad de 120 rpm y a una presión reducida de 120-40 mbar. Una vez concentrados, los extractos, fueron secados en una deshidratadora a 35 °C (Venvor, modelo SS-06^a, China) hasta peso constante y se conservaron en bolsas plásticas oscuras de cierre hermético dentro de un contenedor que se colocó en refrigeración

(4 °C) hasta su uso. Los extractos etanol:agua (v/v) de las fracciones del fruto maduro de *R. monantha* Benth se presentan a continuación en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Concentraciones de solvente (etanol:agua) utilizadas para la extracción.

| Parte del fruto | Solvente (etanol:agua) | Tratamiento | Abreviatura |
|---------------------------------|------------------------|-------------|-------------|
| Cáscara (C) | 0:100 | T1 | C-Aq |
| | 20:80 | T2 | C-Et20 |
| | 50:50 | T3 | C-Et50 |
| | 80:20 | T4 | C-Et80 |
| Pulpa + semilla (PS) | 0:100 | T4 | PS-Aq |
| | 20:80 | T6 | PS-Et20 |
| | 50:50 | T7 | PS-Et50 |
| | 80:20 | T8 | PS-ET80 |

4.4 Cuantificación de compuestos bioactivos de los extractos

4.4.1 Contenido total de fenoles (CTF) y flavonoides totales (FT)

El contenido total de fenoles se determinó a partir de espectrofotometría mediante el uso del reactivo Folin-Ciocalteau (FC) siguiendo el método descrito por Singleton et al. (1999). Una cantidad conocida de extracto se mezcló con reactivo FC (50% v/v en agua destilada), carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 2% p/v y agua destilada en proporciones conocidas, luego, la mezcla se mantuvo en oscuridad por 60 min y posteriormente, se midió la absorbancia a 725 nm con un espectrofotómetro (modelo 6715 UV/Vis, Jenway, Techne Inc., Staffordshire, UK). Los resultados obtenidos de expresaron en mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por g de extracto seco (ES).

El contenido de flavonoides se obtuvo empleando el método de Chang et al. (2002). Se mezcló una cantidad conocida de los extractos con agua destilada y nitrito de sodio (NaNO_2) (5% p/v) en proporciones conocidas. Luego, se dejó reposar la mezcla por 5 min, a continuación, se les añadió un volumen conocido de solución AlCl_3 (10% p/v), después, la mezcla se dejó en reposo por 5 minutos a temperatura ambiente, en seguida, se adicionó una solución de hidróxido de sodio (NaOH) a 1M. Por último, la mezcla se colocó en reposo por 15 min en oscuridad y con un espectrofotómetro se

midió la absorbancia a 415 nm. Los resultados obtenidos se expresaron en mg de equivalentes de quercetina (EQ) por g de ES.

4.5 Evaluación de actividad antioxidante *in vitro* de los extractos

4.5.1 Ensayo de DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

Se determinó la actividad antioxidante *in vitro* por medio del ensayo del radical DPPH• siguiendo la metodología de Blois (1958). A un volumen conocido de extracto se le añadió una solución fría de metanol con DPPH• (6×10^{-5} M); la mezcla se incubó en oscuridad a 4 °C por 60 min y posteriormente se midió la absorbancia de las muestras a 517 nm. Los resultados se expresaron en mg de equivalentes de Trolox (ET) por g de ES y en concentración inhibitoria media (IC_{50} mg/mL).

4.5.2 Método de ABTS•⁺ [2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)]

La actividad antioxidante *in vitro* mediante el ensayo del radical ABTS•⁺, se determinó en base al método descrito por Re et al. (1999). El radical ABTS•⁺ se obtuvo de la reacción entre ABTS (7 mM) y persulfato de potasio (2.45 mM) incubando la mezcla a temperatura ambiente (25 ± 2 °C) en oscuridad por 16 h, una vez formada la solución del radical ABTS•⁺, esta se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia de $0.7 (\pm 0.001)$ a 734 nm, posteriormente, se mezclaron el extracto con la solución diluida de ABTS•⁺; inmediatamente la mezcla se resguardó en oscuridad a temperatura ambiente por 6 min y posteriormente se midió la absorbancia a 734 nm. Los resultados fueron expresados en mg ET por g de ES y en IC_{50} (mg/mL).

4.5.3 Ensayo de poder antioxidante de reducción de hierro (FRAP)

La evaluación de actividad antioxidante *in vitro* mediante el ensayo FRAP se llevó a cabo siguiendo el método empleado por Benzie & Strain (1996). Se preparó reactivo el reactivo FRAP mezclando buffer de acetatos (0.3M pH 3.6) con una solución de 10 mM de TPTZ (2, 4, 6 tripiridil-s-triacina) en 40 mM de HCl y adicionando una solución 20 mM de FeCl₃ en proporción 10:1:1 y manteniéndola a temperatura ambiente. Para el ensayo, se mezclaron un volumen conocido de reactivo FRAP con un volumen conocido de los extractos, luego, las muestras se incubaron en un horno de secado (VWR, Pensilvania, USA) a 37 °C en oscuridad por 30 min, por último, se midió la absorbancia a 593 nm. Los resultados se expresaron en mg ET por gramo de ES.

4.6. Análisis estadístico de datos de la caracterización antioxidante de los extractos

Los resultados se analizaron mediante un diseño completamente al azar, con un total de ocho tratamientos (Cuadro 1) con 3 repeticiones cada uno, a través de un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con prueba de rangos múltiples de Tukey ($p \leq 0.05$) para determinar el tratamiento con mayor cantidad de compuestos bioactivos y mejor actividad antioxidante *in vitro*.

4.7. Elaboración de películas biopoliméricas

Las películas biopoliméricas se elaboraron siguiendo la técnica empleada por López-Palestina et al. (2018) con modificaciones. Se preparó una solución de gelatina con agua destilada, la cual, fue activada a 80 °C por 15 min, luego, a la solución de gelatina se le añadió sorbitol y glicerol como agentes plastificantes, posteriormente, a la solución resultante se agregó extracto de *R. monantha* Benth etanol:agua (80:20) que fue el que presentó las mejores propiedades antioxidantes de la primera parte de la experimentación en proporciones de 0%, 0.5%, 1%, 1.5% y 2% *p/v* (Cuadro 2.). Después, la mezcla fue homogenizada con ultrasonido utilizando un sonicador (Sonics Materials, VCX-130-220, USA) a una amplitud del 80% por 80 s en intervalos de 40 s de sonicación con 20 s de reposo. Por último, la solución filmogénica se vertió en cajas Petri de plástico de 10 cm de diámetro y se llevó a secar en horno de secado a 35 °C por 48 h. A continuación, se presenta el arreglo de los tratamientos en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Diseño de tratamientos de la película comestible

| Concentración de extracto (p/v) | Tratamiento |
|---------------------------------|-------------|
| 0% | Control |
| 0.5% | T1 |
| 1% | T2 |
| 1.5% | T3 |
| 2% | T4 |

4.8. Caracterización fisicoquímica de la película biopolimérica

4.8.1 Color/Propiedades ópticas

Las propiedades de color se midieron siguiendo la técnica utilizada por Sekarina et al. (2023) con modificaciones, mediante el uso de un colorímetro HunterLab (Minolta, CM508d, Minolta Camera. Co., Ltd, Osaka, Japón) se midieron los valores *L* (luminosidad), *a* (rojo-verde) y *b* (amarillo-azul) en las películas por triplicado, a partir de estos valores, se calcularon los valores de *C* (croma) y del ángulo hue (°h). Adicionalmente se determinó la transmitancia de luz y opacidad de las películas a partir de un barrido espectrofotométrico desde los $\lambda = 200 - 1000$ nm.

4.8.2 Contenido de humedad % (WC)

La determinación del contenido de humedad de las películas se llevó a cabo siguiendo la metodología empleada por Zhang et al. (2020). Las películas se cortaron en dimensiones de 20 mm x 25 mm, luego, se colocaron en bandejas de aluminio previamente secadas a peso constante y se registró su peso inicial (M_0), posteriormente, se colocaron en un horno de secado (VWR) a 105 °C por 24 h y se pesaron de nuevo (M_1) para obtener el contenido de humedad a partir de la ecuación (1).

$$WC (\%) = ((M_0 - M_1) / M_0) \times 100 \quad (1)$$

4.8.3 Capacidad de hinchamiento (%) (SD)

Para determinar la capacidad de hinchamiento se siguió la metodología empleada por Zhang et al. (2020). Las películas se recortaron en dimensiones de 20 mm x 25 mm, y se llevaron a peso constante en un horno de secado a 105 °C (M_0), posteriormente se sumergieron en 30 mL de agua destilada a 25 °C por 24 h, una vez pasado el tiempo de inmersión, se recuperaron las muestras y se secaron parcialmente con papel filtro para remover el exceso de agua y se midió su peso (M_1). La SD se calculó mediante la ecuación (2).

$$SD (\%) = ((M_1 - M_0) / M_0) \times 100 \quad (2)$$

4.8.4 Solubilidad en agua (WS) (%)

La determinación de la solubilidad en agua de las películas se evaluó a partir del método empleado por Zhang et al. (2020), la película se cortó en dimensiones de 25 mm x 20 mm y se secaron a 105 °C hasta peso constante (M_0) en un horno de secado. Después, las películas se sumergieron en 30 mL de agua destilada y se colocaron en agitación por 24 h a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo, se recuperaron los restos sólidos de la película mediante filtración y se secaron nuevamente a 110 ± 2 °C hasta peso constante (M_1). Se calculó el porcentaje de solubilidad en agua a través de la ecuación (3).

$$WS (\%) = ((M_0 - M_1) / M_0) \times 100 \quad (3)$$

Donde M_0 corresponde al peso seco inicial de los cortes de la película y M_1 al peso seco de los restos de la película después del periodo de inmersión en agua.

4.8.5 Permeabilidad al vapor de agua (PVA) y tasa de transferencia de vapor de agua (TTVA)

La permeabilidad al vapor de agua se evaluó en base al método estandarizado E96 de la Sociedad Estadounidense para las Pruebas y Materiales (ASTM) con las modificaciones aplicadas por López-Palestina et al. (2019). Las películas se colocaron en una celda de aluminio circular sellada con una abertura circular de área conocida, a la que se le añadió gel de silica con indicador (0% HR), posteriormente, se almacenaron en un desecador a 25 °C con solución de NaCl para mantener un gradiente de humedad relativo de 75% alrededor de la película. El transporte del vapor de agua se determinó a partir del aumento del peso de la celda. Una vez transcurridas 2 h de reposo para alcanzar condiciones estables, se midió cada hora el aumento de peso durante 8 h consecutivas. Los cambios de peso se graficaron contra el tiempo, se calculó la pendiente de la recta mediante regresión lineal ($r^2 > 0.98$) y la tasa de transmisión de vapor de agua se determinó dividiendo la pendiente de la recta (g/s) entre el área de la celda (m²). Posteriormente, se calculó la PVA (g·m/Pa·s·m²) con la ecuación (4):

$$PVA = [(w * x) / (t * A * \Delta P)] * 100 \quad (4)$$

Donde w es la ganancia de peso (kg), x corresponde al grosor de la película (m), t corresponde al tiempo (s) en el que ocurrió la ganancia de peso, A corresponde al área de permeación (m²) y ΔP a la diferencia parcial de presión de vapor de agua entre la atmosfera seca y el agua pura (2.642 kPa a 22 °C)

Por último, la TTVA (g/s) se calculó mediante la ecuación (5):

$$TTVA = \Delta P / [\Delta Z / PVA * A] \quad (5)$$

Donde ΔP corresponde a la diferencia parcial de presión de vapor de agua entre la atmosfera seca y el agua pura (2.642 Pa a 22 °C), ΔZ corresponde al grosor de la película (m), PVA corresponde a la permeabilidad al vapor de agua de la película (g·m/Pa·s·m²) y A corresponde al área de la película (m²)

4.8.6 Propiedades mecánicas

La evaluación de las propiedades mecánicas de las películas se realizó siguiendo el método estandarizado D882 de la ASTM con las modificaciones aplicadas por Calderón-Aguirre et al. (2015). Las diferentes muestras de las películas se cortaron en rectángulos con dimensiones de 7 cm x 1.5 cm, los cuales, se acondicionaron durante un mínimo de 48 h a $50 \pm 5\%$ HR en un desecador utilizando una solución saturada de nitrato de magnesio [Mg (NO₃)₂] a una temperatura de 25 °C. Posteriormente, las muestras acondicionadas se llevaron a un equipo de pruebas universales (Instron,

modelo 5943) y se colocaron en pinzas de agarre manteniendo una separación de 5 cm entre las pinzas. A continuación, las muestras fueron estiradas a 60 mm/min hasta su ruptura. Se evaluaron varias repeticiones de cada tratamiento descartando las muestras que fallaron el punto de contacto del agarre de las pinzas y/o cuya ruptura fue prematura o no centrada hasta obtener al menos cinco valores por tratamiento. Después se calculó la curva de tensión-deformación a través de los datos obtenidos. Por último, se calculó la resistencia a la tracción (RT) a través de la ecuación (6), la Elongación a la ruptura (Eb) utilizando la ecuación (7) y el Módulo de Young calculando la pendiente de la región lineal de las curvas de Ft - Eb .

$$RT = Fmax/(t) * (w) \quad (6)$$

Donde $Fmax$ corresponde a la fuerza máxima (N) soportada por la película antes de su ruptura, t corresponde al grosor de la película (m) y w corresponde al ancho del recorte de la película (m)

$$Eb\% = [(L_f - L_0)/L_0] * 100 \quad (7)$$

Donde L_f corresponde a la longitud final de la película (cm) y L_0 corresponde a la longitud inicial de la película (7 cm)

4.8.7 Cuantificación de compuestos bioactivos y evaluación de la actividad antioxidante in vitro de las biopelículas

Se determinó el contenido de compuestos bioactivos y las propiedades antioxidantes de las películas a partir de los ensayos previamente descritos de CTE, FT, DPPH•, ABTS•⁺ y FRAP con las modificaciones empleadas por López-Palestina et al. (2019) utilizando como muestra 1 g de película disuelta en 10 mL de etanol. Los resultados se expresaron en mg EAG, EQ por g ES y μ moles ET por mL de extracto respectivamente.

4.9. Análisis estadístico de los resultados de la caracterización de las películas

Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con prueba de rangos múltiples de Tukey con intervalo confianza del 95% ($p \leq 0.05$) a través del software IBM SPSS 25 (SPSS Inc., IBM SPSS Statistics, Chicago, IL, USA).

5. Resultados y discusión

5.1 Cuantificación de compuestos bioactivos y evaluación antioxidante de los extractos

5.1.1 Cuantificación de fenoles totales de los extractos

En este trabajo de investigación se evaluó el contenido de fenoles totales de ocho extractos obtenidos de las fracciones del fruto de *R. monantha* Benth cáscara (C) y pulpa-semillas (PS). El análisis del contenido de fenoles totales (Figura 1) mostró que existen diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) entre los extractos evaluados, de los cuales, los extractos de cáscara presentaron un mayor contenido de fenoles que los extractos obtenidos de la pulpa con semilla, en particular resaltan los extractos obtenidos de la cáscara con mezclas etanol:agua 50:50 (C-Et50) y 80:20 (C-Et80), ya que, fueron los que presentaron la mayor cantidad de mg EAG/g ES; obteniendo 15.83 ± 0.11 y 15.60 ± 0.11 mg EAG/g ES respectivamente.

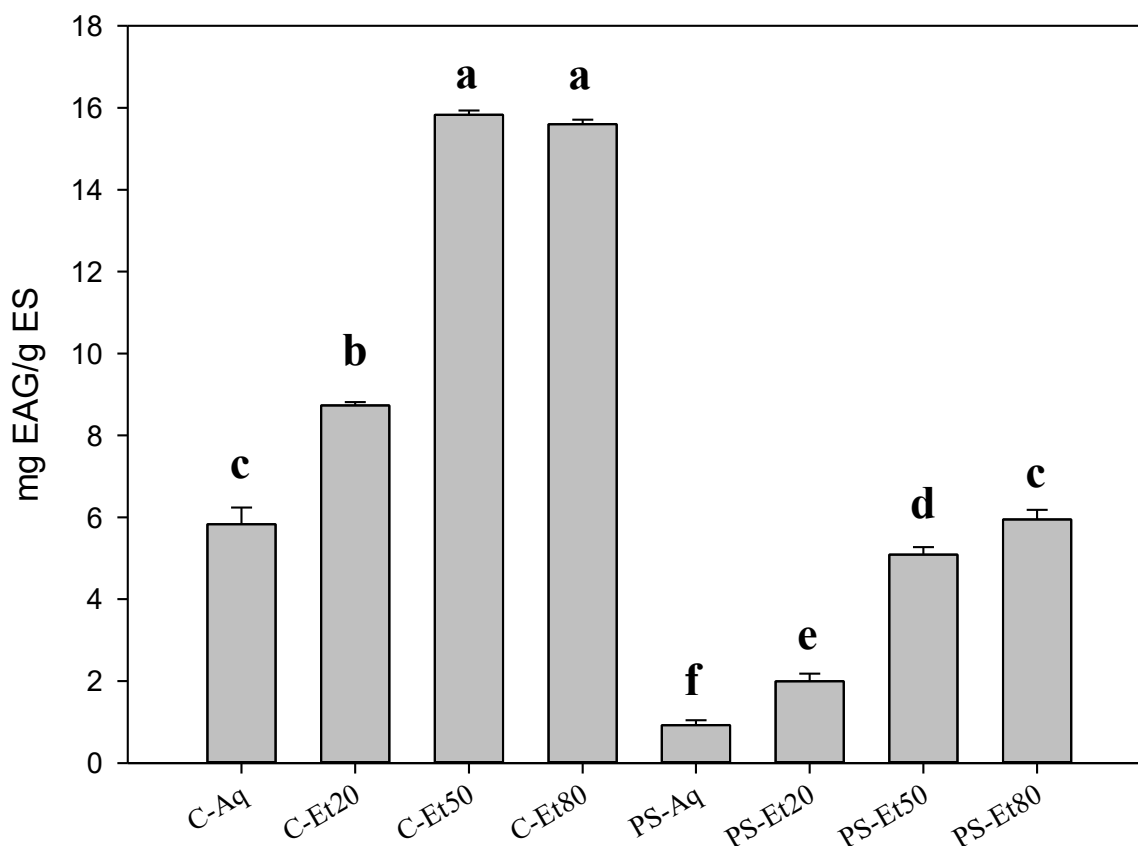


Figura 1. Cuantificación de fenoles totales de los extractos evaluados. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$); EAG: Equivalentes de ácido gálico; ES: Extracto seco.

Sin embargo, los valores obtenidos son menores a lo reportado en investigaciones previas sobre el contenido de fenoles del fruto de *Randia monantha* Benth. En el caso de Juárez-Trujillo et al. (2018) reportaron, un contenido de fenoles totales de 57.19 mg EAG/g en extracto etanol: agua 20:1 y 413.43 mg EAG/g en extracto acuoso de la pulpa del fruto. Por otro lado, en extractos de las semillas del fruto con los mismos solventes reportaron un contenido de 268.47 y 276.44 mg EAG/g ES respectivamente. Vilchis-Gómez et al. (2024) reportaron un contenido de 38.46 mg EAG/g ES en extracto obtenido del fruto completo de *R. monantha* Benth utilizando etanol:agua (80:20) como solvente. Esto muestra que existe una diferencia considerable entre los resultados publicados por estos autores y los obtenidos en este proyecto, la cual, puede atribuirse a diferencias metodológicas, en particular el procesamiento del material vegetal previo al proceso de extracción, ya que, Juárez-Trujillo et al. (2018) utilizó un proceso de liofilización en la pulpa y la semilla a diferencia de Vilchis-Gómez et al. (2024) quienes aplicaron un proceso de secado en horno de convección a 60 °C por 24 horas, mientras que, en el presente proyecto el proceso de secado a la sombra se llevó a cabo por 15 días a temperatura ambiente. Además, de acuerdo con Yap et al. (2020), el proceso de secado a la sombra involucra una prolongada exposición al oxígeno, por consiguiente, puede haber ocasionado una degradación de los polifenoles de las muestras a través de reacciones enzimáticas, las cuales, involucran principalmente a tres enzimas: Las polifenol oxidasas (PPO), la lipooxigenasa (LOX) y la peroxidasa (POD) (McSweeney & Seetharaman, 2014).

5.1.2 Cuantificación de flavonoides totales

Respecto al contenido de flavonoides totales (Figura 2) se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p \leq 0.05$). Los extractos de C-Et50, C-Et80 y PS-Et80 fueron los que presentaron el mayor contenido de flavonoides con valores de 30.55 ± 0.21 , 27.95 ± 0.30 y 28.90 ± 0.030 mg EQ/g ES respectivamente. A partir de lo cual, se puede inferir que *R. monantha* produce una mayor concentración de flavonoides que de ácidos fenólicos en su fruto principalmente en la cáscara. Esto es similar a lo reportado por Juárez-Trujillo et al. (2018) quienes, cuantificaron mayor concentración de flavonoides totales en extractos de la pulpa y de la semilla de *R. monantha*. Sin embargo, a pesar que reportan un menor concentración de fenoles totales, existe una mayor variedad de ácidos fenólicos de acuerdo a su ensayo mediate UPLC. Cabe resaltar que a la fecha no existen reportes sobre la identificación y cuantificación de ácidos fenólicos y flavonoides exclusivamente de la cáscara del fruto de esta especie.

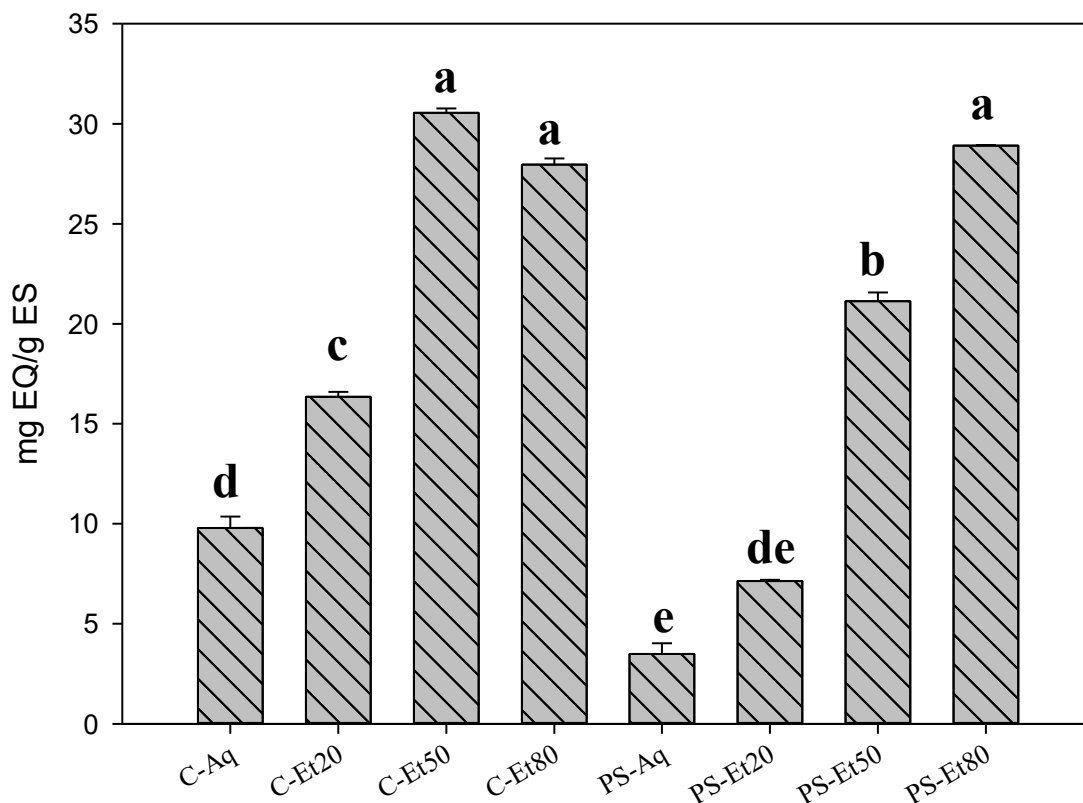


Figura 2. Contenido de flavonoides totales de los extractos obtenidos. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$); EQ: Equivalentes de quercetina; ES: Extracto seco.

La exploración bibliográfica ha mostrado que hasta la fecha no existen publicaciones relacionadas al contenido de flavonoides de *Randia monantha* Benth o de otras especies del género *Randia*, de modo que, este proyecto es la primera evaluación reportada del contenido de flavonoides de esta especie. Como puntos de comparación dado que *R. monantha* Benth se encuentra clasificada dentro de la familia *Rubiaceae*, se tomó como punto de referencia el contenido de flavonoides del cafeto (*Coffea arabica* y *Coffea canephora*). En función de esto, el contenido de flavonoides de los extractos obtenidos del fruto de *R. monantha* fue mayor a lo encontrado por Ngibad et al. (2023) en extractos etanólicos del fruto completo de *C. arabica* y *C. canephora*, los cuales, presentaron 9.16 y 7.98 mg EQ/g ES respectivamente, asimismo, los resultados obtenidos son mayores a lo reportado por Silva et al. (2021) en extractos etanólico, acuoso y etanol:agua 50:50 de la cáscara de *C. arabica* reportando 5.16, 4.61 y 15.69 mg EQ/g ES respectivamente. Esto tiene coherencia, ya que, *R. monantha* es una planta silvestre que crece en condiciones no controladas, mientras que, *C. arabica* y *C. canephora* son plantas domesticadas y cultivadas en condiciones más controladas.

Por consiguiente, teniendo en cuenta la función natural de los fenoles y flavonoides, los cuales, son metabolitos secundarios producidos por las plantas en respuesta al estrés oxidativo ocasionado por las condiciones ambientales en las que se desarrollan y que involucran factores abióticos, como, la exposición a los rayos UV (Dhaniaputri et al., 2022) y temperatura (Wei et al., 2024) y factores bióticos como la depredación por animales herbívoros (Massei & Hartley, 2000), así como, hongos, bacterias y nemátodos (Dhaniaputri et al., 2022)

5.1.3 Actividad antioxidante *in vitro* de los extractos

La actividad antioxidante *in vitro* presentó un comportamiento similar al contenido de fenoles y flavonoides totales. Los extractos de C-Et80 y C-Et50 presentaron el mayor contenido de fenoles y flavonoides y en correlación la mejor actividad antioxidante mediante los ensayos DPPH•, ABTS•+ y FRAP (Cuadro 3) en función de los valores obtenidos de mg ET/g que representan la capacidad de los extractos para estabilizar las moléculas radicales de cada ensayo, mediante la donación de átomos de hidrogeno o electrones respectivamente según el mecanismo evaluado por cada ensayo y utilizando como punto de comparación el Trolox (vitamina E). En particular, el extracto C-Et80 presentó la mayor actividad antioxidante *in vitro* en los tres ensayos con valores de 30.55 ± 0.10 , 81.91 ± 2.87 y 73.31 ± 0.64 mg ET/g ES respectivamente, seguido del extracto C-Et50 en el ensayo FRAP con 72.20 ± 0.24 mg ET/g ES.

Cuadro 3. Actividad antioxidante *in vitro* de los extractos hidroetanólicos del fruto de *R. monantha* Benth, expresada en mg ET/g ES.

| Extracto | mg ET/g ES | | |
|-----------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | ABTS•+ | DPPH• | FRAP |
| C-Aq | 46.01 ± 2.81^c | 28.02 ± 0.71^b | 39.05 ± 0.34^c |
| C-Et 20% | 56.55 ± 5.37^b | 28.27 ± 0.44^b | 52.45 ± 0.26^b |
| C-Et 50% | 63.35 ± 6.49^b | 28.14 ± 0.70^b | 72.20 ± 0.24^a |
| C-Et 80% | 81.91 ± 2.87^a | 30.55 ± 0.10^a | 73.31 ± 0.64^a |
| PS-Aq | 21.88 ± 2.21^d | 18.81 ± 0.26^e | 21.95 ± 0.18^f |
| PS-Et 20% | 22.09 ± 0.31^d | 22.69 ± 0.14^d | 24.62 ± 0.72^e |
| PS-Et 50% | 29.29 ± 2.74^d | 26.24 ± 0.50^c | 36.73 ± 0.22^d |
| PS-Et 80% | 29.81 ± 0.92^d | 27.75 ± 0.84^b | 36.46 ± 0.22^d |

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$). Datos expresados como promedio \pm desviación estándar ($n=3$); ET: Equivalentes de Trolox; ES: Extracto seco; C: Extracto de cáscara; PS: Extracto de pulpa con semilla.

Por un lado, los valores encontrados en el ensayo del radical ABTS^{•+} para los extractos de cáscara son muy similares a lo reportado por Juárez-Trujillo et al. (2018) en extractos acuoso y extractos etanol:agua 20:1 de pulpa y semilla de *R. monantha* Benth, pero no así los resultados obtenidos en los extractos de pulpa-semilla ya que son menores a lo reportado por el mismo autor. Por otro lado, los resultados de actividad antioxidante en este estudio son menores a lo observado por Vilchis-Gómez et al. (2024), lo cual, puede estar relacionado a la posible degradación de los fenoles de la pulpa y las semillas durante el proceso de secado a la sombra como lo reporta Yap et al. (2020).

Los resultados de la actividad antioxidante de acuerdo al ensayo de DPPH[•] de los extractos fruto de *R. monantha* Benth de este estudio son mayores a lo reportado por Kieu Tran et al. (2020) en extractos de otros frutos de la misma familia botánica (Rubiaceae) como *C. canephora* donde se encontró 2.0 mg ET/g en extractos de la pulpa metanol:agua 50:50. Asimismo, Pua et al. (2021) reportaron en extracto acuoso de la pulpa de *C. arabica* menor actividad antioxidante con valores 35.8 mg ET/g.

Los datos de actividad antioxidante mediante el ensayo de FRAP para los extractos C-Et80 y C-Et50 son similares a lo reportado por Juárez-Trujillo et al. (2018) de 55.29 – 166.68 mg ET/g. Adicionalmente, se calculó la concentración inhibitoria media (IC₅₀) para los ensayos DPPH[•] y ABTS^{•+}, las cuales tuvieron correspondencia con los resultados de la Cuadro 3, ya que, nuevamente los extractos de C-Et80 y C-Et50 que presentaron mayor actividad antioxidante, presentan las IC₅₀ más bajas para estos ensayos, esto quiere decir mayor poder de inhibición con menor concentración de extracto (Cuadro 4).

Cuadro 4. Actividad antioxidante in vitro de los extractos hidroetanólicos de R. monantha en los ensayos ABTS^{•+} y DPPH[•] expresada en IC₅₀.

| Extracto | IC ₅₀ (mg/mL) | |
|----------|-----------------------------|-----------------------------|
| | ABTS ^{•+} | DPPH [•] |
| C-Aq | 0.220 ± 0.018 ^b | 0.089 ± 0.001 ^d |
| C-Et20 | 0.185 ± 0.012 ^{ab} | 0.076 ± 0.0008 ^c |
| C-Et50 | 0.106 ± 0.002 ^a | 0.048 ± 0.001 ^b |
| C-Et80 | 0.112 ± 0.001 ^a | 0.041 ± 0.001 ^a |
| PS-Aq | 0.441 ± 0.038 ^{de} | 0.137 ± 0.001 ^g |
| PS-Et20 | 0.491 ± 0.070 ^e | 0.115 ± 0.001 ^f |
| PS-Et50 | 0.350 ± 0.026 ^{cd} | 0.099 ± 0.003 ^e |
| PS-Et80 | 0.327 ± 0.030 ^c | 0.092 ± 0.001 ^d |

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$). Datos expresados como promedio ± desviación estándar (n=3); IC₅₀: Concentración inhibitoria media; C: Extracto de cáscara; PS: Extracto de pulpa con semilla.

Al comparar las IC_{50} obtenidas se observó que son mayores a la IC_{50} del Trolox, las cuales, fue calculada mediante una curva de calibración para ambos ensayos, en el caso del ABTS^{•+} fue de 0.0105 mg/mL, y en el caso del DPPH[•] fue de 0.0109 mg/mL. De igual forma, las IC_{50} calculadas en ambos ensayos fueron mayores a lo reportado por Martínez-Ceja et al. (2022) en extractos metanólicos de hojas y callo de *Randia aculeata* en los cuales obtuvieron IC_{50} de 14.37 μ g/mL y 16.49 μ g/mL respectivamente para el ensayo ABTS^{•+}; mientras que para el ensayo de DPPH[•] para hoja y tallo presentan valores de 92.92 μ g/mL y 226.66 μ g/mL respectivamente. Por otro lado, las IC_{50} calculadas para los extractos C-Et80 y C-Et50 son menores a las reportadas por Duangjai et al. (2016) en *C. arabica*. Por consiguiente, con los resultados obtenidos de la actividad antioxidante *in vitro* se puede inferir que los extractos de C-Et80 y C-Et50 presentan una actividad antioxidante similar a la de *C. arabica* y *C. canephora*, pero menor a la del Trolox, la cual, se puede asociar con su contenido de polifenoles.

5.2 Caracterización fisicoquímica y antioxidante de la película biopolimérica

5.2.1 Propiedades ópticas de las películas

Las propiedades ópticas de las películas son factores de vital importancia para determinar si son viables para ser aplicadas en alimentos, en particular, la opacidad y la transparencia son factores íntimamente relacionados con la aceptación por parte de los consumidores, debido a que, pueden alterar la apariencia de los productos sobre los cuales fueron aplicadas (Abdullah et al., 2022; Homez-Jara et al., 2018; López-Palestina et al., 2019).

Los parámetros de color se muestran en el Cuadro 5 y Figura 3, en general la película control (0%) mostró una apariencia luminosa, con una tonalidad ($^{\circ}h$) ligeramente amarilla con un $^{\circ}h = 81.545$ y una saturación (Croma) de 2.553, mientras que, las películas con extracto añadido presentaron apariencias con menor luminosidad siendo la película con extracto al 2% *p/v* la que presentó el valor más bajo de 80.582, mientras que las películas con extracto al 0.5% y 1% *p/v* presentaron una tonalidad ligeramente mayor con valores de $^{\circ}h = 103.149$ y 101.573 respectivamente. Por otro lado, las películas con extracto al 1.5% y 2% *p/v* mostraron una saturación mayor que el resto de los tratamientos con valores de 97.901 y 97.490 respectivamente.

Estos resultados se pueden atribuir a los flavonoides presentes en el extracto añadido; de acuerdo con Stavenga et al. (2021) los flavonoles, como el kaempferol y la quercetina, producen coloraciones amarillas debido a que virtualmente absorben exclusivamente luz UV.

Cuadro 5. Parámetros de color de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*.

| Tratamiento | L | a | b | Croma | ° hue |
|--------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Control (0%) | 84.75 ± 1.88 ^a | -0.27 ± 0.19 ^a | -2.52 ± 0.93 ^c | 2.55 ± 0.89 ^c | 81.54 ± 8.68 ^b |
| 0.5% | 81.38 ± 1.23 ^{ab} | -1.61 ± 0.19 ^b | 6.98 ± 1.36 ^b | 7.17 ± 1.37 ^b | 103.14 ± 1.16 ^a |
| 1% | 82.52 ± 3.70 ^b | -1.63 ± 0.33 ^b | 8.82 ± 3.56 ^b | 8.98 ± 3.56 ^b | 101.57 ± 3.28 ^a |
| 1.5% | 81.06 ± 2.02 ^b | -1.98 ± 0.10 ^c | 14.58 ± 2.48 ^a | 14.71 ± 2.46 ^a | 97.90 ± 1.08 ^a |
| 2% | 80.58 ± 2.57 ^b | -1.95 ± 0.14 ^c | 15.48 ± 3.82 ^a | 15.60 ± 3.80 ^a | 97.49 ± 1.52 ^a |

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$). Datos expresados como el promedio ± desviación estándar (n=9).

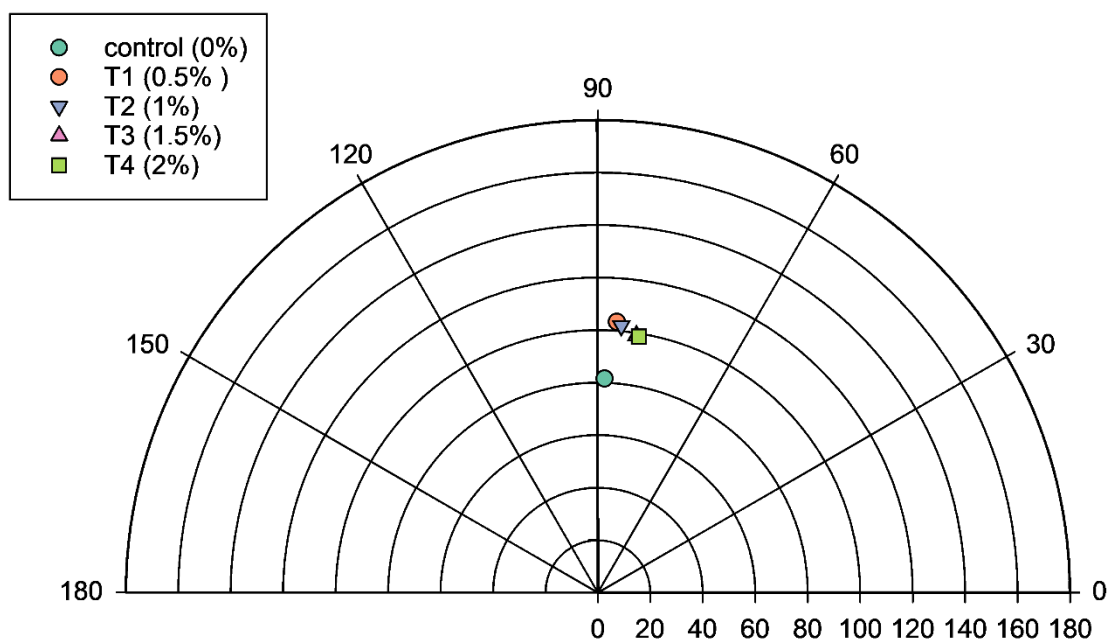


Figura 3. Croma y °hue de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*

Los valores de luminosidad obtenidos en este estudio son, por un lado, similares a los obtenidos por Yan et al. (2023) en su estudio con películas de gelatina y quitosano adicionadas con flavonoides de *Cyclocaria paliurus*, por otro lado, los valores de a y b son menores con referencia a los valores reportados en el mismo estudio.

Las Figuras 4 y 5 muestran cómo cambia la transmitancia de luz y opacidad con el aumento de la concentración del extracto en las películas biopoliméricas. En general, se observó una disminución de la transmitancia de luz con el aumento en la concentración del extracto, en particular, a una longitud de onda (λ) de 600 nm se observó una disminución del 10.9% de la transmitancia de la película con 2% *p/v* de extracto en referencia con el control, esto, indica una disminución en la transparencia de las películas, lo cual, de acuerdo con Homez-Jara et al. (2018) es un factor importante a tener en cuenta, ya que, la transparencia es uno de los principales factores que afectan la aceptación por parte de los consumidores de productos empaquetados con este tipo de materiales.

Además, se observó una disminución de la transmitancia de luz a λ de 200-400 nm, por lo que, de acuerdo con lo reportado por Guo et al. (2023) se puede interpretar como una mejora de las propiedades barrera de las películas evaluadas contra la luz ultravioleta (UV).

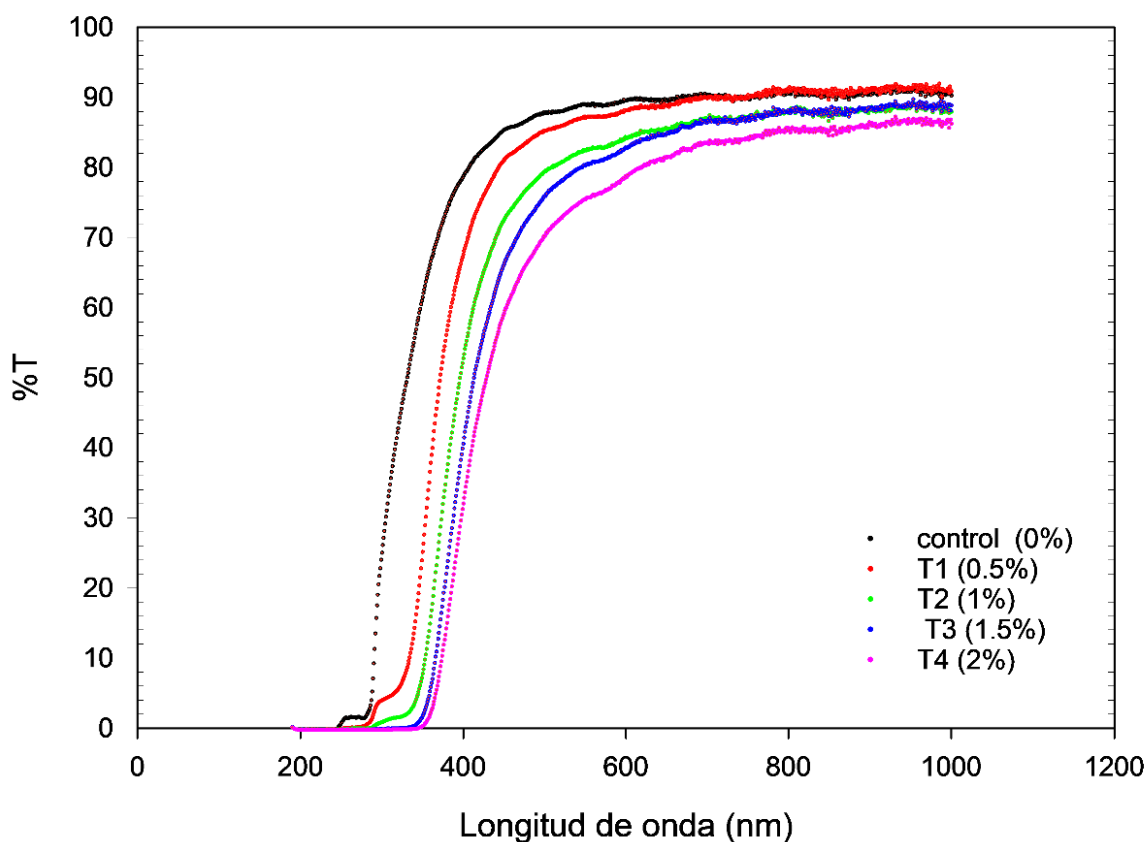


Figura 4. Transmitancia de luz (%T) de las películas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*

En cuanto a la opacidad se observó un aumento significativo ($p \leq 0.05$) de este parámetro en los tratamientos con respecto al control, siendo la película con extracto al 2% *p/v* la que presentó el mayor aumento de opacidad, lo cual, coincide con Homez-Jara et al. (2018), quienes mencionan que la opacidad es una medida con comportamiento inverso al de la transparencia, es decir, cuando la opacidad aumenta la transparencia disminuye y viceversa.

Asimismo, Yan et al. (2023) mencionan que esto ocurre debido a la formación de agregados a partir del exceso de los materiales añadidos que no se integraron a la matriz polimérica, que, para el caso de este proyecto podrían ser los flavonoides, lo cual, podría explicar el aumento significativo ($p \leq 0.05$) con respecto al control de la saturación de las películas adicionadas con extracto al 1.5% y 2% *p/v*, las cuales, podrían evitar o disminuir la ocurrencia de la oxidación lipídica y pérdida del color de los alimentos al reducir su exposición a la luz.

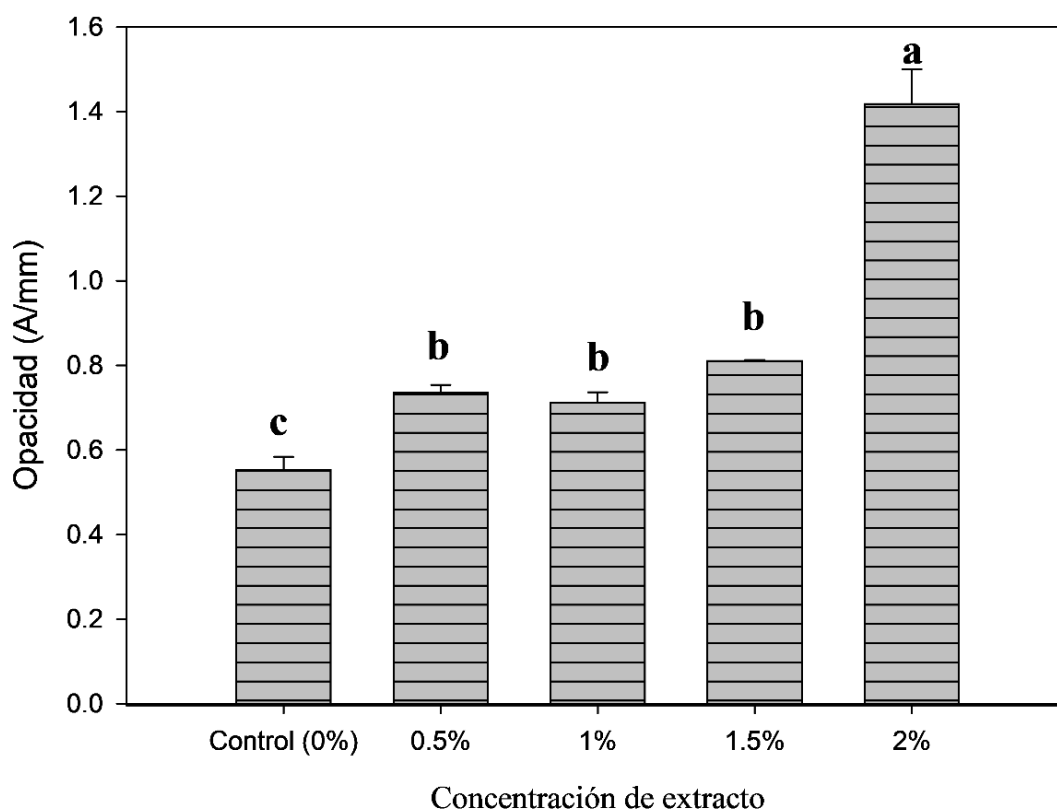


Figura 5. Opacidad de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

5.2.2 Contenido de humedad, capacidad de hinchamiento (SD) y solubilidad en agua (WS)

El contenido de humedad junto con la solubilidad en agua son propiedades de fundamental importancia ya que reflejan la resistencia al agua de las películas biopoliméricas, la cual, es un factor que determina las limitaciones de sus aplicaciones. El contenido de humedad junto con la resistencia al agua está relacionado con la prevención de reacciones degradativas de los alimentos, ya que reflejan la proporción de moléculas de agua integradas en la película y su habilidad de captación de humedad y, por lo tanto, afectan la vida de anaquel de los alimentos durante el almacenamiento y su procesamiento.

En la Figura 6 se observan los resultados obtenidos para el contenido de humedad, resaltando, que la adición del extracto en las concentraciones utilizadas no altero significativamente el contenido de humedad de las películas ($p \leq 0.05$).

Los resultados obtenidos muestran un comportamiento diferente al reportado por Zhang et al. (2020), quienes describen una reducción en el contenido de humedad de películas a base de quitosano adicionadas con extractos de cáscara de nuez de pino, cáscara de cacahuete y de hoja de jujube. Yan et al. (2023) reportan un comportamiento similar con la adición de extracto de flavonoides de *C. palyurus* a películas de gelatina y quitosano, el cual atribuyen a la naturaleza hidrofóbica del extracto que utilizaron.

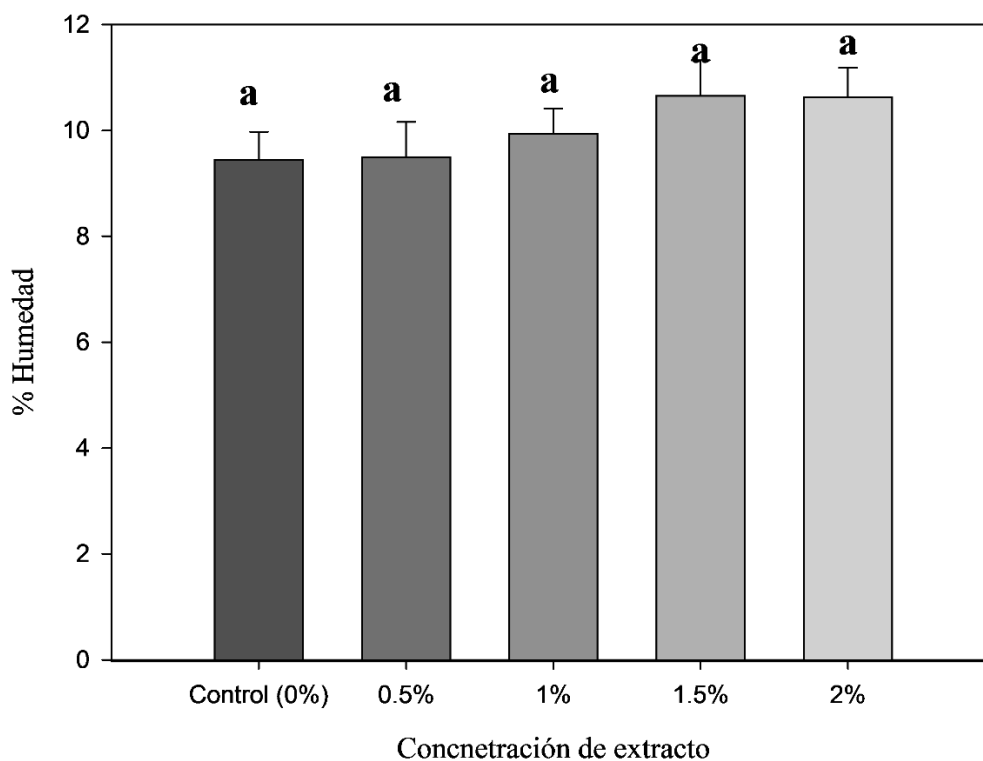


Figura 6. Contenido de humedad de las películas adicionadas con diferentes concentraciones de extracto. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

La capacidad de hinchamiento (SD) es una propiedad que hace referencia a la cantidad de agua que puede ser absorbida por un material, la cual, se ve directamente afectada por el grado de porosidad del mismo (Wikandari et al., 2016).

En la Figura 7 se muestran los resultados obtenidos para la prueba de capacidad de hinchamiento. Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos entre los cuales resaltan las películas con extracto al 0.5% y 2.0% al presentar los menores valores de SD obtenidos.

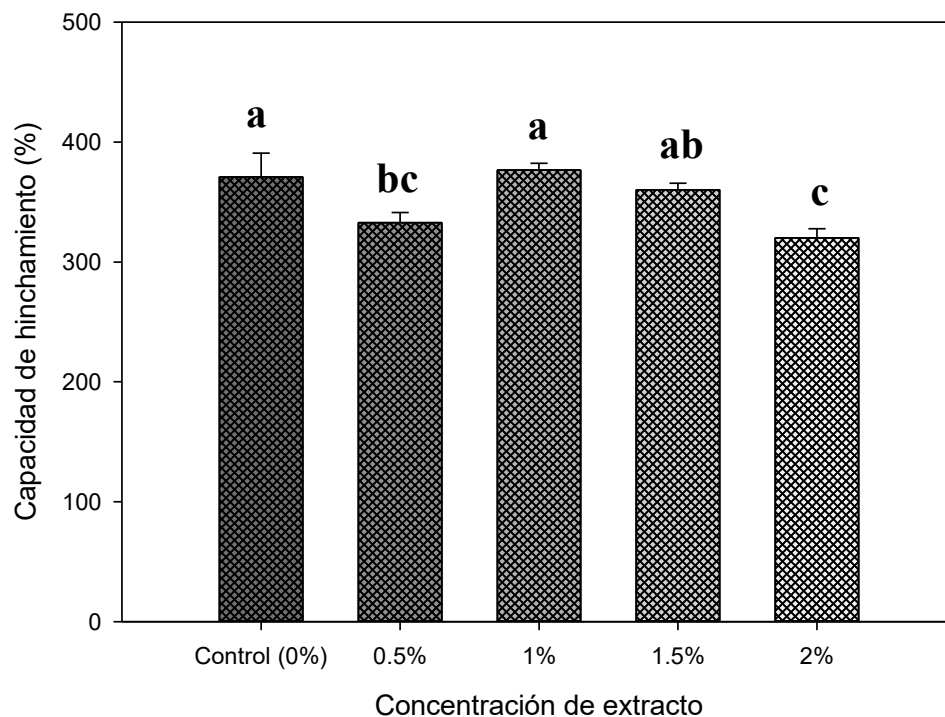


Figura 7. Capacidad de hinchamiento de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$)

De los tratamientos evaluados, la película con extracto al 0.5% *p/v* mostro una menor SD con respecto al control y a los tratamientos con extracto al 1% y 1.5%. La reducción de la SD en la película con extracto al 0.5% *p/v* podría haber ocurrido debido a una estructura más ordenada y menos porosa, producto del uso del ultrasonido y de un entrecruzamiento entre la baja concentración de extracto con la gelatina. Wikandari et al. (2016), menciona que una película con mayor capacidad de hinchamiento se debe a una mayor porosidad. Adicionalmente, Udoetok et al. (2018), mencionan que la sonicación puede favorecer la producción de una estructura más ordenada a partir de favorecer el entrecruzamiento (cross-linking) molecular y el transporte masa, por lo que, un mayor entrecruzamiento puede resultar en un menor volumen disponible para el hinchamiento de la matriz biopolimérica.

Esto se puede correlacionar con lo reportado por Haroun & El Toumy (2010) quienes observaron una reducción en la SD de películas de gelatina adicionadas con extracto de *Acacia nilotica*, la cual, atribuyeron a un aumento en el entrecruzamiento del polímero con el extracto ocasionando una reducción de la combinación del agua y la gelatina.

Asimismo, el aumento en la concentración de extracto podría ocasionar una estructura menos organizada y de mayor porosidad debido a la variada estructura molecular y a una mayor disponibilidad de polifenoles para formar puentes de hidrogeno con los grupos carbonilo de las proteínas (Benbettaieb, et al., 2019b), lo cual, podría explicar el aumento de la SD en los tratamientos con extracto al 1% y 1.5% hasta alcanzar nuevamente una estructura más uniforme con la adición del extracto a una concentración del 2% *p/v*.

La tendencia de reducción en la SD observada en las películas adicionadas con 1%, 1.5% y 2% *p/v* coincide con el comportamiento reportado en otros estudios con películas similares. Por ejemplo, Peña et al. (2010) observaron una disminución de hasta 52% de la SD en películas de gelatina a las que añadieron taninos hidrolizables de castaño. Otro caso es el de Haroun & El Toumy (2010), quienes, reportaron un porcentaje de SD hasta 20 veces menor al adicionar películas de gelatina con extracto apolar de la corteza de *A. nilotica*.

Además, existe variación en los valores reportados en la literatura para la SD de películas de gelatina. Por un lado, Šuput D. et al. (2017) reportó una capacidad de hinchamiento del 90.9% en películas de gelatina. Por otro lado, Bigi et al. (2002) reportó valores de entre 150% y 300% en películas de gelatina adicionadas con genipina en diferentes concentraciones.

Lo cual indica que la SD en este tipo de películas se ve afectada por su composición. De acuerdo a lo reportado por Ji et al. (2022), el tipo de gelatina empleado influye en la capacidad de hinchamiento de las películas, en este caso, los autores reportan una menor capacidad de hinchamiento en películas producidas con gelatina extraída mediante una vía enzimática a comparación de las películas de gelatina obtenida mediante extracción alcalina.

Por otro lado, la adición de plastificantes como el glicerol y el sorbitol puede ocasionar un aumento en la SD (Wannaphatchaiyong et al., 2017), dado que, estos son compuestos hidrofílicos facilitando la interacción y retención de agua en la matriz polimérica debido a la presencia de grupos hidroxilo (Homez-Jara et al., 2018). Asimismo, la adición de extractos a

la matriz polimérica también puede tener efecto sobre esta propiedad en función de la naturaleza de los mismos y de los compuestos que los componen como lo demuestran algunos otros estudios (Guo et al. 2023; Haroun & El Toumy, 2010; Kolli & Kolli, 2021; Peña et al., 2010; Zhang et al., 2020)

En la Figura 8 se presentan los resultados obtenidos de la determinación de la solubilidad en agua de las películas evaluadas. Contrario a lo esperado, se observó un aumento significativo ($p \leq 0.05$) en la solubilidad en agua (%) de las películas adicionadas con extracto respecto a la película control conforme aumentó la concentración de extracto, aumentando hasta un 7% en las películas adicionadas con extracto hidroetanólico al 2% *p/v*.

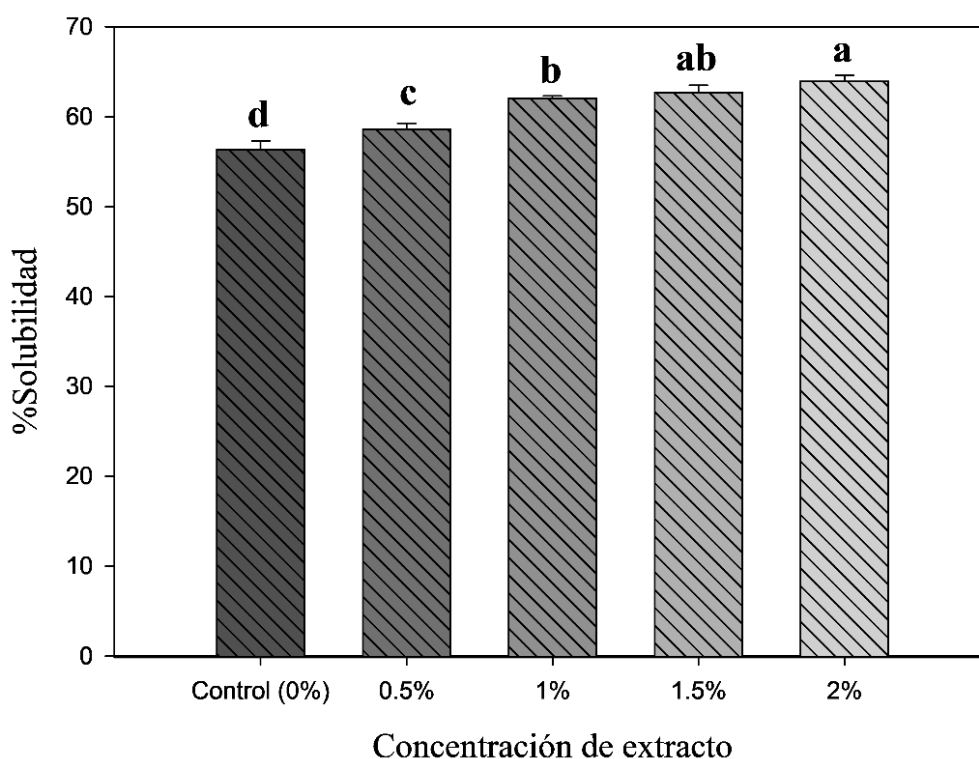


Figura 8. Solubilidad en agua de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*. . Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

Por un lado, este comportamiento contrasta con lo reportado por Yan et al. (2023) y López-Palestina et al. (2019), quienes observaron una disminución en la solubilidad de sus películas adicionadas con extractos de naturaleza apolar. Por otro lado, Guo et al. (2023) observaron un comportamiento similar en el aumento de la solubilidad de películas compuestas de

gelatina-quitosano-alcohol polivinílico adicionadas con extracto de cáscara de lichi a comparación de las películas de la misma composición sin extracto añadido, el cual, atribuyeron al aumento en la abundancia de grupos OH^- disponibles para interaccionar con el agua.

La solubilidad sirve como un indicador de la degradabilidad, propiedades de barrera y de la hidrofobicidad de las películas ya que un exceso de solubilidad puede causar su ruptura y nulificar la protección del alimento sobre el que se aplicaron (Abdullah et al., 2022; Homez-Jara et al., 2018; Yan et al., 2023). En este proyecto la adición del extracto causó mayor solubilidad en las películas de gelatina.

5.2.3 Permeabilidad y tasa de transmisión al vapor de agua (PVA y TTVA)

La PVA y TTVA de las películas a base de biopolímeros son parámetros de gran importancia que influyen sobre la frescura, inocuidad y vida de anaquel de los alimentos (Marangoni Júnior et al., 2021; Sängerlaub et al., 2018; Yan et al., 2023). De acuerdo con Marangoni Júnior et al. (2021) al aplicar películas elaboradas a partir de biopolímeros para empaquetar alimentos es de gran interés reducir la PVA y TTVA, debido a que, estos materiales son generalmente compuestos de alta afinidad al agua, por lo que, para extender la vida de anaquel y frescura de los alimentos se desea minimizar el intercambio de humedad entre estos con el ambiente y viceversa.

Los datos obtenidos de la PVA se muestran en la Figura 9. Se observaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las películas adicionadas con extracto respecto al control, en general, se observó una disminución significativa de la permeabilidad, la cual, se ve expresada en la reducción de la PVA de 1.24×10^{-10} ($\text{g}\cdot\text{m}/\text{Pa}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^2$) en la película control a 4.95×10^{-11} y 5.50×10^{-11} ($\text{g}\cdot\text{m}/\text{Pa}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^2$) en las películas adicionadas con extracto al 2% y 1.5% *p/v* respectivamente.

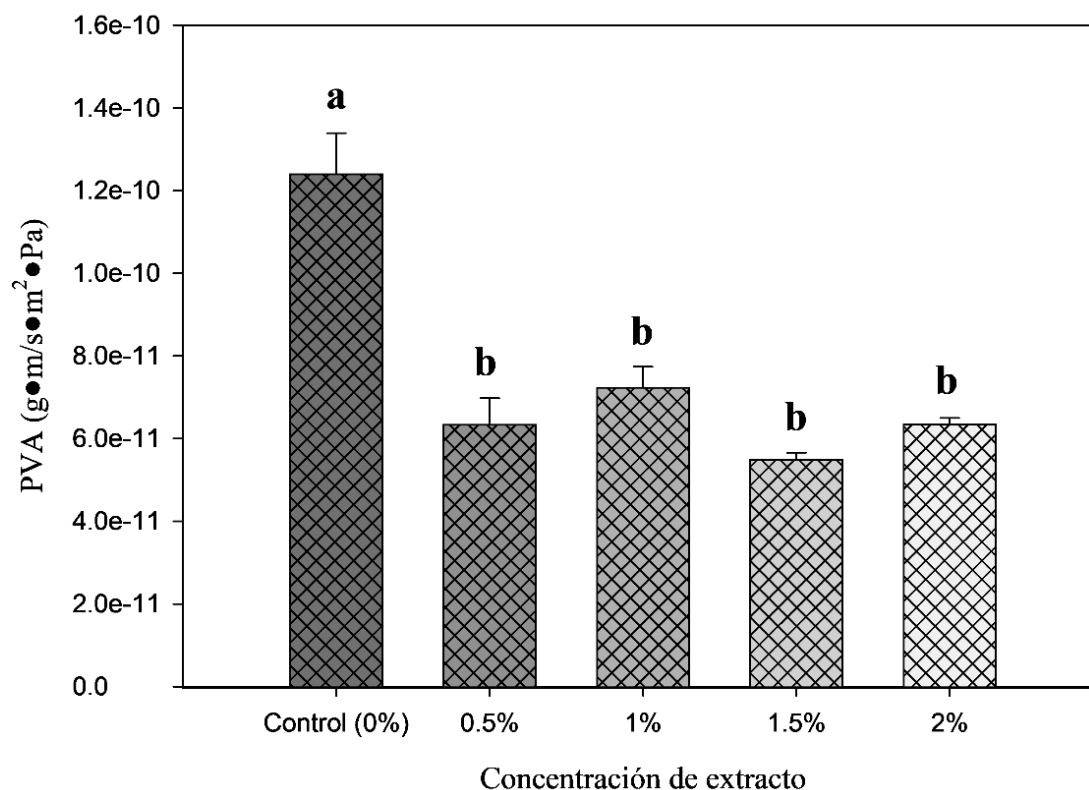


Figura 9. PVA de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*. . Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

Los resultados obtenidos contrastan con lo reportado por Guo et al. (2023), quienes observaron un aumento de la permeabilidad de sus películas a base de gelatina-quitosano-alcohol polivinílico con el aumento de los componentes de la matriz y con la adición de extracto de cáscara de lichi. Por otro lado, Yan et al. (2023) reportaron un comportamiento similar al de las películas evaluadas en este proyecto, el cual, atribuyeron a la presencia de los flavonoides en el extracto adicionado, ya que, estos compuestos son capaces de mejorar la estructura de la matriz polimérica a través de la formación de puentes de hidrogeno entre los grupos hidroxilo de los flavonoides y los grupos amino de las proteínas.

Asimismo, los valores de PVA obtenidos son similares a Homez-Jara et al. (2018) y López-Palestina et al. (2019) quienes reportan una disminución de PVA de hasta 1.14×10^{-10} y 0.63×10^{-10} (g·m/Pa·s·m²) en sus investigaciones. Sin embargo, cabe resaltar que la PVA obtenida sigue siendo considerablemente mayor a comparación de las películas más

impermeables las cuales se producen a partir de polietileno y que de acuerdo lo reportado por Bastarrachea et al. (2011) presentan valores de PVA de 6.67×10^{-14} y 1.74×10^{-14} ($\text{g}\cdot\text{m}/\text{Pa}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^2$) en películas de polietileno de baja densidad y de alta densidad respectivamente.

En cuanto a la TTVA, el análisis de datos mostro diferencias significativas ($p \leq 0.05$) de las películas adicionadas con extracto al 1.5% y 2% p/v con el resto de los tratamientos y con la película control (Figura 10), obteniendo como resultado una TTVA de 1.94×10^{-10} g/s para las películas con extracto al 1.5% y 2%, mientras que, se obtuvo una TTVA con valor de 2.67×10^{-10} en la película control, así como un valor de TTVA de 2.59×10^{-10} y 2.85×10^{-10} g/s en las películas con extracto al 0.5% y 1% p/v respectivamente.

A partir de los datos obtenidos se puede inferir que la adición del extracto obtenido con etanol:agua 80:20 de la cáscara del fruto del crucetillo resulto en la producción de una película con un mayor potencial para actuar como barrera contra la humedad, esto, en función de la reducción de la PVA y la TTVA, es decir, la reducción de la cantidad de agua que logra pasar a través de la película y la velocidad a la cual esta pasa a través de la matriz polimérica.

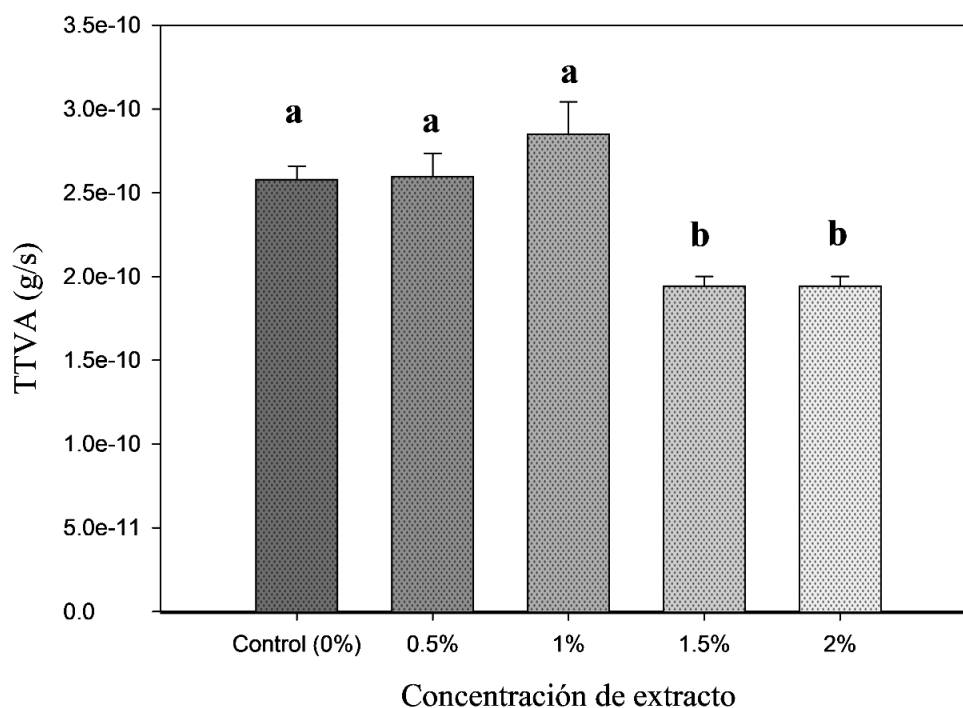


Figura 10. TTVA de las películas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

5.2.4 Propiedades mecánicas de las películas

Las propiedades mecánicas de un material, las cuales dependen de sus componentes, permiten estudiar el comportamiento de sus características mecánicas, por ejemplo, su elasticidad, dureza o plasticidad, al ser expuestos a una variedad de condiciones y aplicarles fuerzas externas (Saleh, 2022). Durante este proyecto se evaluó la resistencia a la tracción (*RT*), elongación a la ruptura (*Eb*) y se determinó el Módulo de Young de las películas experimentales.

De acuerdo con Liu et al. (2024) la resistencia a la tracción nos indica la resistencia de un material a la ruptura ocasionada por la aplicación de una fuerza. En una prueba de estrés-deformación la resistencia a la tracción se considera como el estrés o fuerza en el que la muestra se fractura o rompe, mientras que, la elongación a la ruptura se refiere a la deformación en la que ocurre la ruptura de la muestra Remanan et al. (2021).

A continuación, en las Figura 11 y 12 se muestra, respectivamente, el comportamiento de la resistencia a la tracción y elongación a la ruptura de las películas.

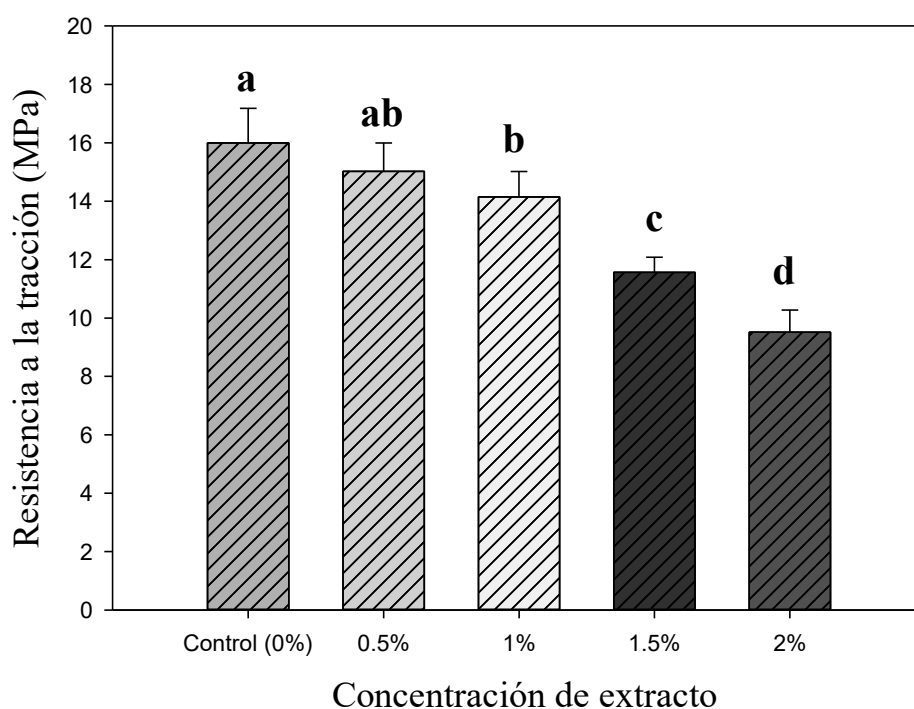


Figura 11. Resistencia a la tracción de las películas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

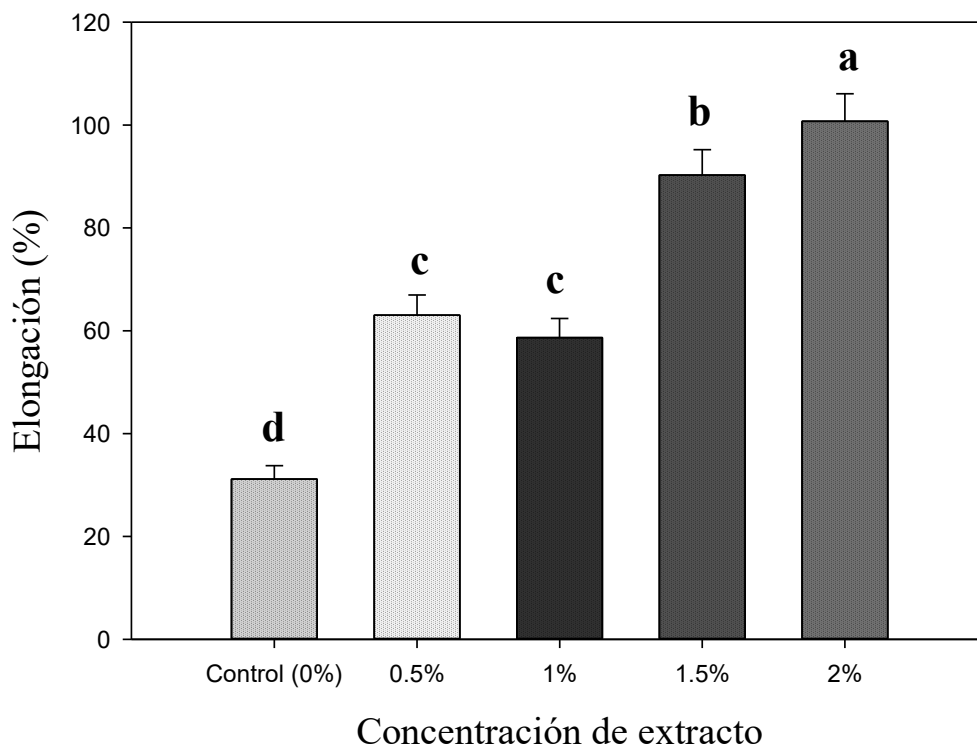


Figura 12. Elongación a la ruptura de las películas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

Por un lado, se observó una disminución estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$) de la *RT* entre los tratamientos con el aumento de la concentración de extracto en las películas siendo la película con extracto al 2% la que presentó la menor *RT* con un valor de 9.52 MPa con respecto al control cuya *RT* fue de 15.99 MPa, mientras que, las películas con 0.5% y 1% de extracto tuvieron la *RT* más cercana al control con valores de 15.02 MPa y 14.14 MPa respectivamente, sin embargo, se observó un comportamiento opuesto en la *Eb* de los tratamientos, la cual, aumento de forma significativa ($p \leq 0.05$) con el aumento de la concentración de extracto destacando la película control con una *Eb* del 31% a comparación del resto de los tratamientos, lo cuales, alcanzaron valores de *Eb* de 58.69%, 63.04% y 90.28% en las película con extracto al 1%, 0.5% y 1.5% respectivamente y resaltando la película con extracto al 2% al presentar el valor más elevado de *Eb* del 100.73%.

Por lo que, se puede inferir que la adición del extracto de etanol:agua 80:20 a las películas tuvo un efecto similar al de los agentes plastificantes sobre las mismas aumentando su elasticidad, pero reduciendo la fuerza máxima que pueden soportar antes de su ruptura.

Cabe resaltar que la adición del extracto desde una concentración al 0.5% *p/v* tuvo un efecto positivo significativo ($p \leq 0.05$) sobre la *Eb* de las películas sin reducir drásticamente su *RT* con respecto a las películas control. El comportamiento observado de la *RT* y la *Eb* en las películas de este proyecto coincide parcialmente con los reportes en la literatura, ya que, se asemeja más al efecto reportado de la adición de aceites esenciales que al de extractos hidroetanólicos.

En general, existe una variedad de tendencias observadas en estas variables por otros autores al añadir polifenoles a películas a base de gelatina, las cuales, varían dependiendo de la fuente de estos compuestos ya sea en forma de extractos vegetales o de aceites esenciales. Por ejemplo Ameer et al. (2025) reportó que la adición de los polifenoles presentes en extracto de *Pituranthos scoparius* a películas de gelatina-alginato disminuyeron la *RT* y *Eb* de sus películas, mientras que, la adición de aceite esencial de la misma especie aumento ambas propiedades logrando una mejora de la flexibilidad y resistencia mecánica del material. De forma similar, Bertan et al. (2025) observaron un aumento de la *RT* sin afectar la *Eb* de películas de gelatina adicionadas con extracto hidroetanólico de hojas de *Mikania glomerata* Sprengel. Asimismo, Fahim et al. (2024) reportaron que añadir aceite esencial de *Oliveria decumbens* Vent a películas de gelatina-quitano no afectó la *RT*, pero logro una mejora considerable de la elongación de las mismas.

A pesar de que en la literatura reciente no existe una explicación detallada para este comportamiento se especula que los efectos que tienen los compuestos fenólicos en extractos y aceites esenciales sobre las películas a base de gelatina pueden deberse, en el caso de extractos vegetales, a que ocurre una interacción química entre los polifenoles y los péptidos de la gelatina ya sea mediante un proceso de entrecruzamiento/reticulación (cross-linking) o la formación de puentes de hidrogeno con los grupos funcionales de los aminoácidos presentes en la gelatina como la lisina (Bertan et al., 2025), mientras que, en el caso de los aceites esenciales estos pueden actuar como plastificantes facilitando el movimiento de las cadenas poliméricas (Ameer et al., 2025) al evitar la formación de uniones intermoleculares

y con ello reduciendo las fuerzas entre cadenas de polímeros lo cual se refleja en una disminución de su rigidez (Fahim et al., 2024).

Además, el comportamiento observado en este estudio se puede corroborar con los resultados del cálculo del Módulo de Young presentados en la Figura 13.

El Módulo de Young es un parámetro clave que funciona como indicador de la elasticidad (Yang & Mai, 2014) y de la fuerza mecánica de un material (Akram et al., 2024). En otras palabras, describe la capacidad de un material para resistir la deformación (Long et al., 2022).

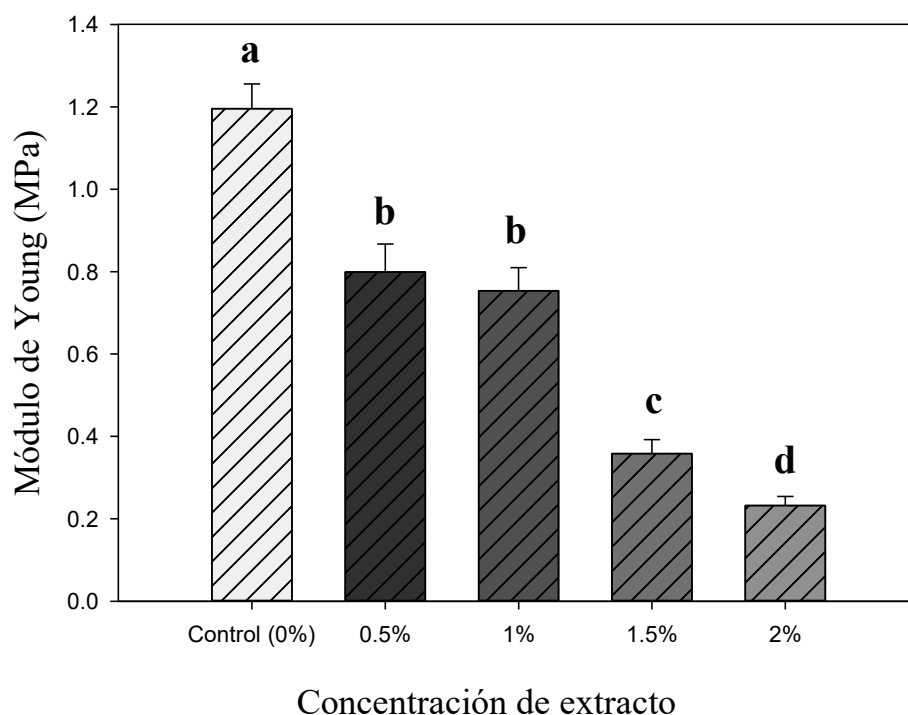


Figura 13. Módulo de Young de las películas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

Los datos obtenidos del cálculo de este parámetro complementan los resultados de la *RT* y la *Eb*. De acuerdo con Long et al. (2022) a menor Módulo de Young menor es la capacidad de un material para resistir la deformación. Esto corrobora los resultados obtenidos, siendo las películas con extracto al 1.5% y 2% las que presentaron los menores valores de Módulo de Young con 0.35 MPa y 0.23 MPa respectivamente, ya que, los mismos tratamientos presentaron los mayores valores de *Eb* y menores *RT*.

Esto coincide con lo reportado por Song et al. (2023) quienes obtuvieron observaron una tendencia similar en películas de gelatina-pectina adicionadas con cristales de almidón alcalinizado, en particular, reportaron una disminución en el Módulo de Young con el aumento de la concentración de cristales añadidos, lo cual, se vio reflejado en la disminución de la resistencia a la tracción y el aumento de la elongación a la ruptura de sus películas.

En contraste, Bertan et al. (2025) reportaron un aumento en los valores del Módulo de Young en películas de gelatina adicionadas con extracto de *M. glomerata* Sprengel, lo cual, corroboró el aumento de la *RT* y la reducción de la *Eb* en sus películas con el aumento de la concentración de extracto.

5.2.5 Contenido total de fenoles y flavonoides de las películas

Los contenidos de fenoles y flavonoides en las películas se pueden observar en la Figuras 14 y 15 respectivamente. Se observó la presencia de estos compuestos con el aumento respectivo de la concentración de extracto añadida a las películas, lo cual, se esperaba para aumentar las propiedades antioxidantes de las películas mediante la adición de estos compuestos. En el caso de los fenoles totales, se cuantificó un aumento de hasta 2.36 veces el contenido de fenoles entre las película con extracto al 0.5% y 2% con valores de 0.2596 y 0.6140 mg EAG/g respectivamente. Asimismo, en cuanto a los flavonoides totales se observó la misma tendencia en los tratamientos resaltando que hubo un aumento de hasta 4.31 veces en el contenido de flavonoides entre las películas con extracto al 0.5% y 2% con valores de 0.1065 y 0.4596 mg EQ/g respectivamente.

Sin embargo, los valores obtenidos son considerablemente bajos a comparación de los resultados obtenidos del contenido de fenoles (Figura 2) y flavonoides (Figura 3) de los extractos de la cáscara del fruto de *R. monantha* a las mismas concentraciones que las añadidas a las películas.

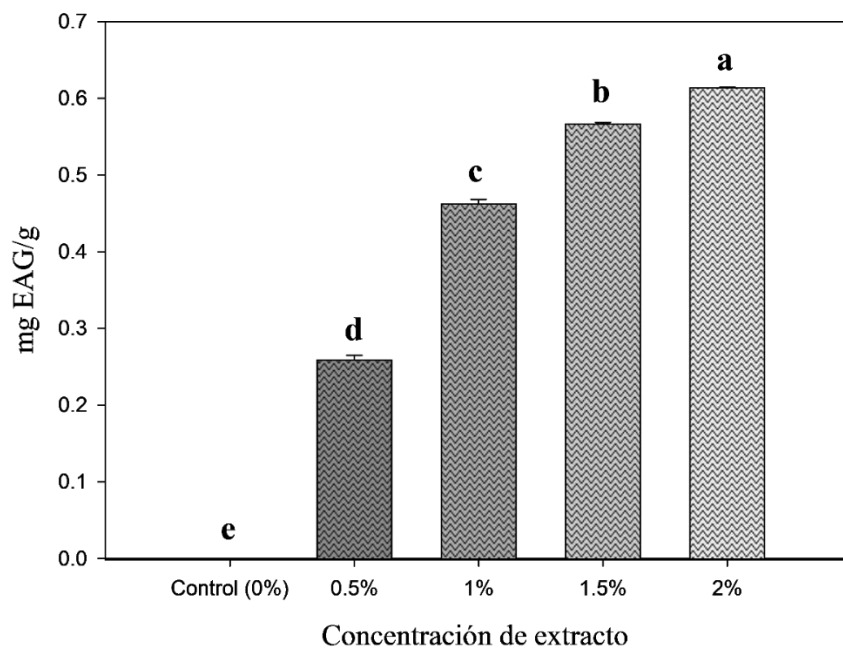


Figura 14. Contenido de fenoles totales de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

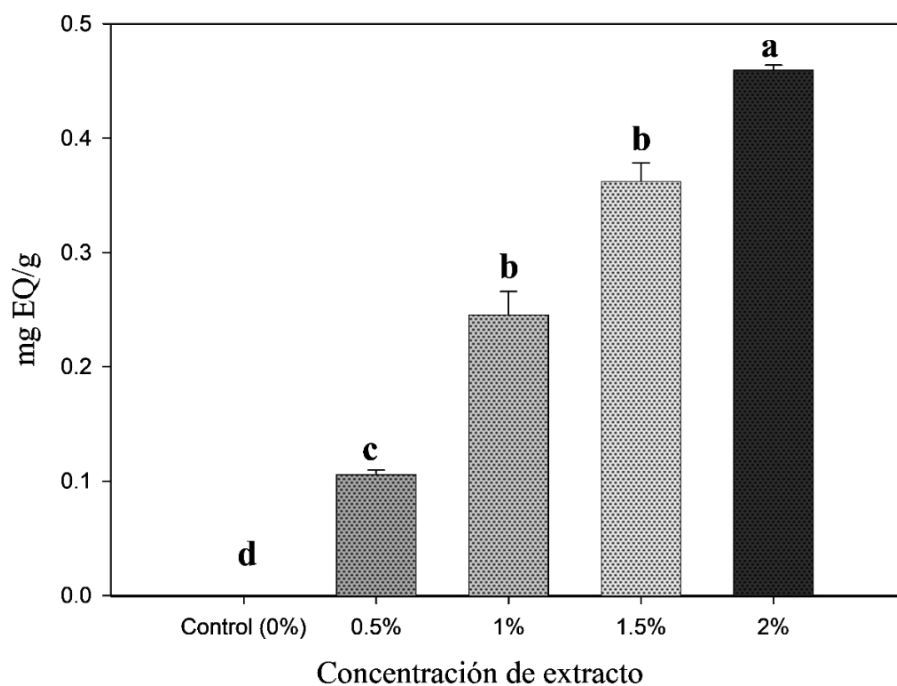


Figura 15. Contenido de flavonoides de las películas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*. Letras diferentes indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

A pesar de esta diferencia es probable que estas mediciones no reflejen el contenido total de fenoles y flavonoides presente en las películas evaluadas , dado que, el método empleado para determinar estos compuestos implica una medición a lo largo de un solo tiempo y de acuerdo con Abdullah et al. (2022) las película biopoliméricas poseen la capacidad de actuar como reservorios o medios encapsulantes de los compuestos bioactivos junto con la característica de poder liberarlos de forma controlada a través del tiempo.

Asimismo, según lo reportado por Astakhov & Gubanova (2023) el uso de ultrasonido para la homogenización de la solución filmogénica puede haber mejorado la uniformidad estructural de la matriz polimérica reduciendo el tamaño de las partículas y promoviendo la dispersión e integración de los compuestos bioactivos a la matriz.

En base a esto, es posible que los compuestos cuantificados correspondan solo a los compuestos no integrados en la matriz polimérica, por lo que, para evaluar el contenido real se requeriría evaluar la concentración de estos compuestos a lo largo de diferentes periodos de tiempo.

El contenido de fenoles y flavonoides influye sobre la actividad antioxidante en las películas biopoliméricas, la cual, es importante para extender la vida de anaquel de alimentos, ya que, los radicales libres pueden ocasionar la pérdida de nutrientes en los alimentos o incluso desencadenar la descomposición de los mismos (Kola & Carvalho, 2023). En la literatura existe evidencia de que la aplicación de películas biopoliméricas cargadas con compuestos bioactivos, extractos vegetales o aceites esenciales puede extender la vida de anaquel de los alimentos, en particular de frutas, ayudando a que conserven sus propiedades, por ejemplo, Peretto et al. (2014) lograron reducir la degradación, mantener la firmeza, brillo y aumentar el contenido de fenoles y actividad antioxidante de frutos de fresas (*Fragaria x ananassa*) al aplicar un recubrimiento a base de un puré de fresas cargado con carvacrol y cinamato de metilo.

De forma similar, Bodana et al. (2024) reportaron la reducción de pérdida de peso, color y firmeza en uvas blancas tratadas con películas de almidón adicionadas con extracto de cáscara de granada. Asimismo, Eranda et al. (2024) describió un aumento en la vida de anaquel de atún (*Thunnus obesus*) de hasta 12 días al aplicar un recubrimiento de gelatina con extracto de *Fucus vesiculosus*, la cual, fue atribuida al efecto de mitigación de los compuestos antioxidantes del extracto sobre la oxidación lipídica del pescado.

5.2.6 Actividad antioxidante *in vitro* de las películas

El comportamiento de la actividad antioxidante *in vitro* por lo general se ve relacionado a la abundancia de los compuestos bioactivos que tiene la capacidad de neutralizar o reducir el estrés oxidativo, por lo general, una mayor abundancia de fenoles y flavonoides se expresa en forma de una alta actividad antioxidante (Imtiaz et al., 2025; Zhang et al., 2020).

Los resultados obtenidos de los ensayos de actividad antioxidante *in vitro* se observan en la Figura 16. De estos valores, se puede observar un aumento significativo ($p \leq 0.05$) de la actividad antioxidante con el aumento de la concentración de extracto en las películas evaluadas con respecto a la película control. En particular, la película con extracto al 2 % *p/v* mostró la mayor actividad antioxidante en los tres ensayos realizados, presentando, la mayor cantidad de $\mu\text{moles ET/mL}$ en el ensayo ABTS $^{\bullet+}$ seguido del ensayo FRAP y DPPH $^{\bullet}$ con valores de 8.0978, 6.2786 y 1.6429 $\mu\text{moles ET/mL}$ respectivamente, mientras que, la película control presento los valores más bajos en los mismos ensayos con 0.8827, 0.0451 y 0.0775 $\mu\text{moles ET/mL}$, consiguientemente, confirmando que la adición del extracto a las películas aumentó su actividad antioxidante *in vitro*.

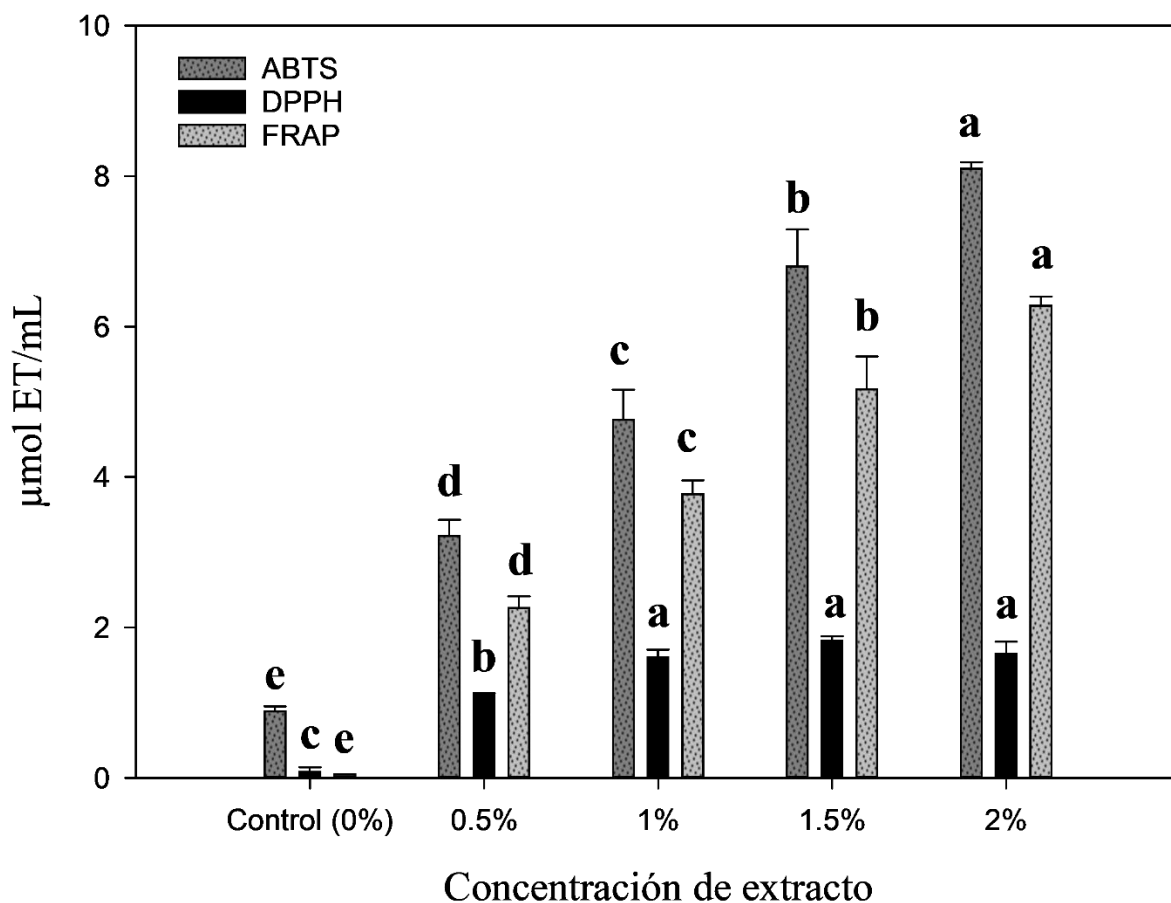


Figura 16. Actividad antioxidante *in vitro* de las películas biopoliméricas adicionadas con extracto hidroetanólico de *R. monantha*. Letras diferentes entre columnas del mismo color indican diferencias significativas según Tukey ($p \leq 0.05$).

Los resultados obtenidos presentan un comportamiento similar al reportado por Guo et al. (2023) y López-Palestina et al. (2019), quienes, observaron un aumento en la actividad antioxidante *in vitro* de sus películas adicionadas con extracto en comparación de sus películas control. Además, de acuerdo con Yan et al. (2023) el aumento de la actividad antioxidante puede servir como indicador del aumento de la resistencia de las películas contra la oxidación, lo cual, puede tener un efecto positivo al reducir la tasa de oxidación de los alimentos que podrían ser empaquetados en ellas.

6. Conclusiones

Se obtuvieron 8 extractos hidroetanólicos del fruto de *R. monantha* Benth de cáscara y pulpa+semilla entre los cuales los extractos de cáscara obtenidos con etanol:agua 80:20 y 50:50 presentaron el mayor contenido de fenoles y flavonoides lo cual se vio reflejado en su actividad antioxidante *in vitro* de acuerdo con los ensayos ABTS⁺, DPPH[•] y FRAP. En correspondencia con estos extractos se necesitaron menores concentraciones para inhibir los radicales de acuerdo con el IC₅₀.

La adición del extracto de la cáscara fruto del crucetillo 80:20 (etanol:agua) tuvo un efecto sobre las propiedades de las películas a base de gelatina en función de la concentración de extracto añadido. A mayor concentración de extracto las películas presentaron una tonalidad más amarilla y saturada, presentaron un aumento su opacidad y se mejoró la absorción de luz UV, mejorando así las propiedades ópticas de la película. Adicionalmente el extracto de crucetillo redujo la permeabilidad al paso de vapor de agua y la tasa de transporte de vapor de agua en las películas, lo cual indica una mejora en su propiedad de barrera contra el agua.

El extracto también afectó las propiedades mecánicas de las películas causando una reducción de la resistencia a la tracción y un aumento de su elongación a la ruptura, lo cual, se corroboró con la reducción de los valores del Módulo de Young. Sin embargo, el extracto afectó la solubilidad de la película por lo que limita su aplicación en condiciones de alta humedad relativa.

Por último, la película adicionada con extracto al 2% *p/v* presentó la mayor actividad antioxidante *in vitro* de acuerdo con los ensayos ABTS⁺, DPPH[•] y FRAP debido a un mayor contenido de fenoles y flavonoides. Entre las formulaciones evaluadas, la película con 2% *p/v* de extracto mostró la mayor capacidad antioxidante *in vitro*, atribuida a su mayor contenido de compuestos fenólicos y flavonoides. En conjunto, estos resultados demuestran que el extracto hidroetanólico 80:20 de cáscara de *R. monantha* Benth es un aditivo natural eficaz para mejorar las propiedades funcionales de películas biopoliméricas a base de gelatina.

Por lo tanto, la incorporación de extractos naturales de *R. monantha* representa una alternativa viable y sostenible para el desarrollo de materiales biodegradables activos, con potencial aplicación en el envasado de alimentos sensibles a la oxidación. A futuro, sería

recomendable evaluar la estabilidad, biodegradabilidad y comportamiento antimicrobiano de estas películas en condiciones reales de almacenamiento en productos de origen vegetal y animal con el fin de optimizar su formulación en cuanto a la concentración del extracto y ampliar su uso en sistemas de empaques ecológicos y funcionales.

7. Referencias

- Abdullah, Cai, J., Hafeez, M. A., Wang, Q., Farooq, S., Huang, Q., Tian, W., & Xiao, J. (2022). Biopolymer-based functional films for packaging applications: A review. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1000116>
- Akram, T., Arshad, L., Ahmed, T., Saleem, A., Ammar, M., & Yusaf, A. (2024). Insight into two-dimensional black phosphorus: An emerging energy storage material. *Materials Science and Engineering: B*, 299. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2023.117002>
- Albalade-Ramírez, A., Rueda-Avellaneda, J. F., López-Hernández, B. N., Alcalá-Rodríguez, M. M., García-Balandrán, E. E., Evrard, D., & Rivas-García, P. (2024). Geographic life cycle assessment of food loss and waste management in Mexico: The reality of distribution and retail centers. *Sustainable Production and Consumption*, 48, 289–300. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2024.05.028>
- Ameur, I., Baali, S., Farid, A. M., Khaldoun, B., Pintado, M. E., Silva, S., Benatallah, L., Kaya, M., & Boughellout, H. (2025). Antioxidant and antibacterial properties of Pituranthos scoparius extracts in alginate/gelatin matrix for pumpkin preservation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 318. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.144946>
- Angeles-Segoviano, M., & Hernández-Vázquez, B. (2023). Differentiation of food preservation methods to avoid waste. *Horticulture International Journal*, 7(1), 1–4. <https://doi.org/10.15406/hij.2023.07.00267>
- Astakhov, V. A., & Gubanova, M. I. (2023). Investigation of the effect of ultrasonic exposure on polymer solutions in the production of biodegradable packaging materials. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 85(3), 180–186. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2023-3-180-186>
- Avramescu, S. M., Butean, C., Popa, C. V., Ortan, A., Moraru, I., & Temocico, G. (2020). Edible and Functionalized Films/Coatings—Performances and Perspectives. *Coatings*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/coatings10070687>
- Bajaj, K., Adhikary, T., Gill, P. P. S., & Kumar, A. (2023). Edible coatings enriched with plant-based extracts preserve postharvest quality of fruits: A review. *Progress in Organic Coatings*, 182, 107669. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2023.107669>

- Bastarrachea, L., Dhawan, S., & Sablani, S. S. (2011). Engineering Properties of Polymeric-Based Antimicrobial Films for Food Packaging. En *Food Engineering Reviews* (Vol. 3, Número 2, pp. 79–93). <https://doi.org/10.1007/s12393-011-9034-8>
- Benbettaieb, N., Debeaufort, F., & Karbowiak, T. (2019a). Bioactive edible films for food applications: mechanisms of antimicrobial and antioxidant activity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(21), 3431–3455. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1494132>
- Benbettaieb, N., Karbowiak, T., & Debeaufort, F. (2019b). Bioactive edible films for food applications: Influence of the bioactive compounds on film structure and properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(7), 1137–1153. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1393384>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76. <https://doi.org/DOI: 10.1006/abio.1996.0292>
- Bertan, D. W., da Silva Lima, L. R., Benoso, P., Lourenço, R. V., Bittante, A. M. Q. B., Gomes, A., Moraes, I. C. F., Ferreira, M. S. L., & do Amaral Sobral, P. J. (2025). Impact of hydroethanolic extracts from Guaco leaves (*Mikania glomerata* Sprengel) on mechanical properties and bioactivities of gelatin-based bioactive films. *Food and Bioproducts Processing*, 151, 355–371. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2025.04.007>
- Bigi, A., Cojazzi, G., Panzavolta, S., Roveri, N., & Rubini, K. (2002). Stabilization of gelatin films by crosslinking with genipin. *Biomaterials*, 23, 4827–4832.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*, 181, 1199–1200. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1038/1811199a0>
- Bodana, V., Swer, T. L., Kumar, N., Singh, A., Samtiya, M., Sari, T. P., & Babar, O. A. (2024). Development and characterization of pomegranate peel extract-functionalized jackfruit seed starch-based edible films and coatings for prolonging the shelf life of white grapes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254, 127234. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127234>
- Calderón-Aguirre, Á. G., Chavarría-Hernández, N., Mendoza-Mendoza, B., Vargas-Torres, A., García-Hernández, E., & Rodríguez-Hernández, A. I. (2015). Antilisterial activity and physical-mechanical properties of bioactive caseinate films. *CYTA - Journal of Food*, 13(4), 483–490. <https://doi.org/10.1080/19476337.2014.1003200>

- Chang, C., Yang, M., Wen, J., & Chern, J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182. <https://doi.org/https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Chel-Guerrero, L., Betancur-Ancona, D., Aguilar-Vega, M., & Rodríguez-Canto, W. (2024). Films properties of QPM corn starch with Delonix regia seed galactomannan as an edible coating material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 255, 128408. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128408>
- Chettri, S., Sharma, N., & Mohite, A. M. (2023). Edible coatings and films for shelf-life extension of fruit and vegetables. *Biomaterials Advances*, 154. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213632>
- Dhaniaputri, R., Suwono, H., Amin, M., & Lukiati, B. (2022). *Introduction to Plant Metabolism, Secondary Metabolites Biosynthetic Pathway, and In-Silico Molecular Docking for Determination of Plant Medicinal Compounds: An Overview*.
- Díaz-Montes, E., & Castro-Muñoz, R. (2021). Edible Films and Coatings as Food-Quality Preservers: An Overview. *Foods*, 10(2), 249. <https://doi.org/10.3390/foods10020249>
- Duangjai, A., Suphrom, N., Wungrath, J., Ontawong, A., Nuengchamnong, N., & Yosboonruang, A. (2016). Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integrative Medicine Research*, 5(4), 324–331. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.09.001>
- Eranda, D. H. U., Chaijan, M., Panpipat, W., Karnjanapratum, S., Cerqueira, M. A., & Castro-Muñoz, R. (2024). Gelatin-chitosan interactions in edible films and coatings doped with plant extracts for biopreservation of fresh tuna fish products: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 280. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135661>
- Erceg, T., Šovljanski, O., Stupar, A., Ugarković, J., Aćimović, M., Pezo, L., Tomić, A., & Todosijević, M. (2023). A comprehensive approach to chitosan-gelatine edible coating with β -cyclodextrin/lemongrass essential oil inclusion complex — Characterization and food application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 228, 400–410. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.132>
- Fahim, H., Bagheri, H., Motamedzadegan, A., Mirarab Razi, S., & Rashidinejad, A. (2024). Fabrication and characterization of active gelatin-based films integrated with nanocellulose-stabilized Pickering emulsion containing *Oliveria Decumbens* Vent. essential oil. *LWT*, 209. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116725>

- Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., & Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 292–303. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.02.004>
- Fierascu, R. C., Ortan, A., Fierascu, I. C., & Fierascu, I. (2018). In vitro and in vivo evaluation of antioxidant properties of wild-growing plants. A short review. *Current Opinion in Food Science*, 24, 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.08.006>
- Fu, L., Xu, B.-T., Xu, X.-R., Qin, X.-S., Gan, R.-Y., & Li, H.-B. (2010). Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents of 56 Wild Fruits from South China. *Molecules*, 15(12), 8602–8617. <https://doi.org/10.3390/molecules15128602>
- Guimarães, M. C., Motta, J. F. G., Madella, D. K. S. F., Moura, L. de A. G., Teodoro, C. E. de S., & Melo, N. R. de. (2020). Edible coatings used for conservation of minimally processed vegetables: a review. *Research, Society and Development*, 9(8), e756986018. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i8.6018>
- Guo, H., Shao, C., Ma, Y., Zhang, Y., & Lu, P. (2023). Development of active and intelligent pH food packaging composite films incorporated with litchi shell extract as an indicator. *International Journal of Biological Macromolecules*, 226, 77–89. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.11.325>
- Haroun, A. A., & El Toumy, S. A. (2010). Effect of natural polyphenols on physicochemical properties of crosslinked gelatin-based polymeric biocomposite. *Journal of Applied Polymer Science*, 116(5), 2825–2832. <https://doi.org/10.1002/app.31736>
- Homez-Jara, A., Daza, L. D., Aguirre, D. M., Muñoz, J. A., Solanilla, J. F., & Váquiro, H. A. (2018). Characterization of chitosan edible films obtained with various polymer concentrations and drying temperatures. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113, 1233–1240. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.057>
- Imtiaz, F., Ahmed, D., Mohammed, O. A., Younas, U., & Iqbal, M. (2025). Optimized recovery of phenolic and flavonoid compounds from medicinal plant extracts for enhanced antioxidant activity: A mixture design approach. *Results in Chemistry*, 13. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2024.101960>
- Ji, F., Zhou, W., Zhang, Z., & Zhang, B. (2022). Effects of Relative Molecular Weight Distribution and Isoelectric Point on the Swelling Behavior of Gelatin Films. *Frontiers in Chemistry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.857976>

- Juárez-Trujillo, N., Monribot-Villanueva, J. L., Alvarado-Olivarez, M., Luna-Solano, G., Guerrero-Analco, J. A., & Jiménez-Fernández, M. (2018). Phenolic profile and antioxidative properties of pulp and seeds of *Randia monantha* Benth. *Industrial Crops and Products*, 124, 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.052>
- Juárez-Trujillo, N., Tapia-Hernández, F. E., Alvarado-Olivarez, M., Beristain-Guevara, C. I., Pascual-Pineda, L. A., & Jiménez-Fernández, M. (2022). Antibacterial activity and acute toxicity study of standardized aqueous extract of *Randia monantha* Benth fruit Estudio de actividad antibacteriana y toxicidad aguda de extracto acuoso estandarizado de fruto de *Randia monantha* Benth. *Biotecnia*, 24(1), 38–45. <https://doi.org/DOI:https://doi.org/10.18633/biotecnia.v24i1.1516>
- Kieu Tran, T. M., Kirkman, T., Nguyen, M., & Van Vuong, Q. (2020). Effects of drying on physical properties, phenolic compounds and antioxidant capacity of Robusta wet coffee pulp (*Coffea canephora*). *Heliyon*, 6(7). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04498>
- Kola, V., & Carvalho, I. S. (2023). Plant extracts as additives in biodegradable films and coatings in active food packaging. *Food Bioscience*, 54. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102860>
- Kolli, H. El, & Kolli, M. El. (2021). Preparation and Characterization of Gelatin-Based Films Cross-Linked by Two Essential Oils at Different Concentrations and Plasticized with Glycerol. *Technology & Applied Science Research*, 11(4), 7489–7494. www.etasr.com
- Kumar, D., & Kalita, P. (2017). Reducing Postharvest Losses during Storage of Grain Crops to Strengthen Food Security in Developing Countries. *Foods*, 6(1), 8. <https://doi.org/10.3390/foods6010008>
- Lee, S. E., Han, J. H., & Han, J. (2016). Development and Evaluation of Apple Peel- and Carboxymethylcellulose-Based Biodegradable Films with Antioxidant and Antimicrobial Properties. *Journal of Food Safety*, 36(3), 317–324. <https://doi.org/10.1111/jfs.12246>
- Liu, W., Chen, L., Julian McClements, D., Peng, X., Xu, Z., & Jin, Z. (2024). Development of starch film to realize the value-added utilization of starch in food and biomedicine. *Food Bioscience*, 57. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103521>
- Long, H., Lin, H. fei, Li, S. gang, Bai, Y., Qin, L., Xiao, T., & Qin, A. li. (2022). Nanomechanical properties of CH₄-containing coal during CO₂ storage under different injection pressures based on molecule dynamics. En *Applied Surface Science* (Vol. 590). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2022.153126>

- López-Palestina, C. U., Aguirre-Mancilla, C. L., Raya-Pérez, J. C., Ramírez-Pimentel, J. G., Gutiérrez-Tlahque, J., & Hernández-Fuentes, A. D. (2018). The effect of an edible coating with tomato oily extract on the physicochemical and antioxidant properties of garambullo (*myrtillocactus geometrizans*) fruits. *Agronomy*, 8(11). <https://doi.org/10.3390/agronomy8110248>
- López-Palestina, C. U., Aguirre-Mancilla, C. L., Raya-Pérez, J. C., Ramirez-Pimentel, J. G., Vargas-Torres, A., & Hernández-Fuentes, A. D. (2019). Physicochemical and antioxidant properties of gelatin-based films containing oily tomato extract (*Solanum lycopersicum* L.). *CYTA - Journal of Food*, 17(1), 142–150. <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1564793>
- Marangoni Júnior, L., Silva, R. G. da, Vieira, R. P., & Alves, R. M. V. (2021). Water vapor sorption and permeability of sustainable alginate/collagen/SiO₂ composite films. *LWT*, 152. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112261>
- Martínez-Ceja, A., Romero-Estrada, A., Columba-Palomares, M. C., Hurtado-Díaz, I., Alvarez, L., Teta-Talixtacta, R., Sánchez-Ramos, M., Cruz-Sosa, F., & Bernabé-Antonio, A. (2022). Anti-inflammatory, antibacterial and antioxidant activity of leaf and cell cultures extracts of *Randia aculeata* L. and its chemical components by GC-MS. *South African Journal of Botany*, 144, 206–218. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.08.036>
- Massei, G., & Hartley, S. E. (2000). Disarmed by domestication? Induced responses to browsing in wild and cultivated olive. *Oecologia*, 122, 225–231.
- McSweeney, M., & Seetharaman, K. (2014). State of Polyphenols in the Drying Process of Fruits and Vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(5), 660–669. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.670673>
- Medel, Ma. del R. H., Tirado, A. de los Á. A., & Ventura, L. M. M. (2023). Estudio químico de *Randia monantha* Benth. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 6(1), 835–847. <https://doi.org/10.34188/bjaerv6n1-074>
- Melo, P. E. F., Silva, A. P. M., Marques, F. P., Ribeiro, P. R. V., Souza Filho, M. de sá M., Brito, E. S., Lima, J. R., & Azeredo, H. M. C. (2019). Antioxidant films from mango kernel components. *Food Hydrocolloids*, 95, 487–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.04.061>
- Méndez, V., & Hernández, M. (2009). Evaluación de la toxicidad del fruto de *Randia monantha* Benth. Toxicity evaluation of *Randia monantha* Benth fruit. *Rev Med UV*, 9(1), 42–45. www.dgepi.salud.gob.mx/

- Mohamed, M. T. M. (2017). *Postharvest: an unsung solution for food security*. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:169363721>
- Ngibad, K., Yusmiati, S. N. H., Merlina, D. M., Rini, Y. P., Valenata, V., & Jannah, E. F. (2023). Comparison of Total Flavonoid, Phenolic Levels, and Antioxidant Activity between Robusta and Arabica Coffee. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 9(3), 241–249. <https://doi.org/10.22487/kovalen.2023.v9.i3.16506>
- Omar, M. (2009). The Antioxidant Activity and Polyphenolic Content of Different Plant Seeds Extracts. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12(15), 1063–1068. <https://doi.org/DOI:10.3923/pjbs.2009.1063.1068>
- Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria [ORISA]. (2020). *Guía para uso de cloro como desinfectante en establecimientos* 23.06.2020.
- Özen, T. (2010). Antioxidant activity of wild edible plants in the Black Sea Region of Turkey. *Grasas y Aceites*, 61(1), 86–94. <https://doi.org/10.3989/gya.075509>
- Pedreiro, S., Figueirinha, A., Silva, A. S., & Ramos, F. (2021). Bioactive Edible Films and Coatings Based in Gums and Starch: Phenolic Enrichment and Food Application. *Coatings*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/coatings11111393>
- Peña, C., de la Caba, K., Eceiza, A., Ruseckaite, R., & Mondragon, I. (2010). Enhancing water repellence and mechanical properties of gelatin films by tannin addition. *Bioresource Technology*, 101(17), 6836–6842. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.03.112>
- Peretto, G., Du, W. X., Avena-Bustillos, R. J., Sarreal, S. B. L., Hua, S. S. T., Sambo, P., & McHugh, T. H. (2014). Increasing strawberry shelf-life with carvacrol and methyl cinnamate antimicrobial vapors released from edible films. *Postharvest Biology and Technology*, 89, 11–18. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.11.003>
- Porat, R., Lichter, A., Terry, L. A., Harker, R., & Buzby, J. C. (2018). Postharvest losses of fruit and vegetables during retail and in consumers' homes: Quantifications, causes, and means of prevention. *Postharvest Biology and Technology*, 139, 135–149. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2017.11.019>
- Pratap Singh, D., & Packirisamy, G. (2022). Biopolymer based edible coating for enhancing the shelf life of horticulture products. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 4. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2022.100085>

- Pua, A., Choo, W. X. D., Goh, R. M. V., Liu, S. Q., Cornuz, M., Ee, K. H., Sun, J., Lassabliere, B., & Yu, B. (2021). A systematic study of key odourants, non-volatile compounds, and antioxidant capacity of cascara (dried *Coffea arabica* pulp). *LWT*, 138. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110630>
- Pundhir, A., & Murtaza, N. (2015). Hurdle Technology-An Approach towards Food Preservation. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 4(7), 802–809. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:168210354>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Original Contribution Antioxidant Activity Applying An Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Remanan, S., Das, T. K., & Das, N. C. (2021). Graphene as a reinforcement in thermoset resins. En *Polymer Nanocomposites Containing Graphene: Preparation, Properties, and Applications* (pp. 317–341). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821639-2.00012-4>
- Saleh, T. A. (2022). Properties of nanoadsorbents and adsorption mechanisms. En *Interface Science and Technology* (Vol. 34, pp. 233–263). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-849876-7.00010-5>
- Salgado, P. R., Ortiz, C. M., Musso, Y. S., Di Giorgio, L., & Mauri, A. N. (2015). Edible films and coatings containing bioactives. *Current Opinion in Food Science*, 5, 86–92. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.09.004>
- Sängerlaub, S., Schmid, M., & Müller, K. (2018). Comparison of water vapour transmission rates of monolayer films determined by water vapour sorption and permeation experiments. *Food Packaging and Shelf Life*, 17, 80–84. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.06.004>
- Sekarina, A. S., Supriyadi, Munawaroh, H. S. H., Susanto, E., Show, P. L., & Ningrum, A. (2023). Effects of edible coatings of chitosan - fish skin gelatine containing black tea extract on quality of minimally processed papaya during refrigerated storage. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 5, 100287. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carpta.2023.100287>
- Silva, M. de O., Honfoga, J. N. B., de Medeiros, L. L., Madruga, M. S., & Bezerra, T. K. A. (2021). Obtaining Bioactive Compounds from the Coffee Husk (*Coffea arabica* L.) Using Different Extraction Methods. *Molecules*, 26(1). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26010046>

- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Song, Y., Zhang, F., Yu, R., Zheng, H., & Wang, P. (2023). Acylated pectin/gelatin-based films incorporated with alkylated starch crystals: Characterization, antioxidant and antibacterial activities, and coating preservation effects on golden pomfret. *International Journal of Biological Macromolecules*, 241. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124532>
- Stavenga, D. G., Leertouwer, H. L., Dudek, B., & van der Kooi, C. J. (2021). Coloration of Flowers by Flavonoids and Consequences of pH Dependent Absorption. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.600124>
- Šuput D., Lazić V., Popović S., Hromiš N., & Bulut S. (2017). Biopolymer Films Synthesis And Characterisation Sinteza I Karakterizacija Biopolimernih Filmova. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 21(1), 9–12.
- Udoetok, I. A., Wilson, L. D., & Headley, J. V. (2018). Ultra-sonication assisted cross-linking of cellulose polymers. *Ultrasonics Sonochemistry*, 42, 567–576. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.12.017>
- Vilchis-Gómez, D. S., Calderón-Santoyo, M., Barros-Castillo, J. C., Zamora-Gasga, V. M., & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2024). Ultrasound assisted extraction of polyphenols from *Randia monantha*: Optimization, characterization and antifungal activity. *Industrial Crops and Products*, 209. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117932>
- Wannaphatchaiyong, S., Boonme, P., & Pichayakorn, W. (2017). Gelatin films and its pregelatinized starch blends: Effect of plasticizers. *Key Engineering Materials*, 751 KEM, 230–235. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.751.230>
- Wei, X., Chang, Q. Y., Liu, Y., Hua, H. N., Liu, Y. N., Tang, Z. H., & Mu, L. Q. (2024). Influence of Wild and Cultivated Environments on the Antioxidant and Medicinal Components of *Rhodiola sachalinensis* A. Boriss. *Plants*, 13(24). <https://doi.org/10.3390/plants13243544>
- Wikandari, R., Millati, R., & Taherzadeh, M. J. (2016). Pretreatment of Lignocelluloses With Solvent N-Methylmorpholine N-oxide. En *Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery* (pp. 255–280). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802323-5.00012-8>

- Xie, Q., Liu, G., Zhang, Y., Yu, J., Wang, Y., & Ma, X. (2023). Active edible films with plant extracts: a updated review of their types, preparations, reinforcing properties, and applications in muscle foods packaging and preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(32), 11425–11447. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2092058>
- Yan, J., He, S., Chen, L., Chen, H., & Wang, W. (2023). Characterization, antioxidant and antibacterial activities of gelatin-chitosan edible coated films added with Cyclocarya paliurus flavonoids. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127664. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127664>
- Yang, C. C., & Mai, Y. W. (2014). Thermodynamics at the nanoscale: A new approach to the investigation of unique physicochemical properties of nanomaterials. *Materials Science and Engineering R: Reports*, 79(1), 1–40. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2014.02.001>
- Yap, J. Y., Hii, C. L., Ong, S. P., Lim, K. H., Abas, F., & Pin, K. Y. (2020). Effects of drying on total polyphenols content and antioxidant properties of Carica papaya leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(7), 2932–2937. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10320>
- Zhang, X., Lian, H., Shi, J., Meng, W., & Peng, Y. (2020). Plant extracts such as pine nut shell, peanut shell and jujube leaf improved the antioxidant ability and gas permeability of chitosan films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 1242–1250. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.108>