

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**TESIS PARA OBTENER
EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERA AGROINDUSTRIAL**

**CARACTERIZACIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES
DE PIELES DE CÍTRICOS EXTRAÍDOS CON
SOLVENTES VERDES**

Autora: Bach. Katheryn Leydi Vasquez Gomez

Asesores: Ms. Diner Mori Mestanza

MsC. Segundo Grimaldo Chavez Quintana

Registro: (... ..)

CHACHAPOYAS – PERÚ

2023

AUTORIZACIÓN DE LA PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM



ANEXO 3-H

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM

1. Datos de autor 1

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): Vasquez Gomez Kathryn Leydi
DNI N°: 73873969
Correo electrónico: 73873969@untrm.edu.pe
Facultad: Ingeniería y Ciencias Agrarias
Escuela Profesional: Ingeniería Agroindustrial

Datos de autor 2

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): _____
DNI N°: _____
Correo electrónico: _____
Facultad: _____
Escuela Profesional: _____

2. Título de la tesis para obtener el Título Profesional

Caracterización de los aceites esenciales de pieles de cítricos extraídos con solventes verdes

3. Datos de asesor 1

Apellidos y nombres: Mori Mestanza Diner
DNI, Pasaporte, C.E N°: 45817906
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>) 0000-0003-3692-4080

Datos de asesor 2

Apellidos y nombres: Chavez Quintana Segundo Grimaldo
DNI, Pasaporte, C.E N°: 4401631
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>) 0000-0002-0946-3445

4. Campo del conocimiento según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos- OCDE (ejemplo: Ciencias médicas, Ciencias de la Salud-Medicina básica-Immunología)

https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html
2.11.00 - otras ingenierías, otras tecnologías, 2.11.01 - Alimentos y bebidas

5. Originalidad del Trabajo

Con la presentación de esta ficha, el(la) autor(a) o autores(as) señalan expresamente que la obra es original, ya que sus contenidos son producto de su directa contribución intelectual. Se reconoce también que todos los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal.

6. Autorización de publicación

El(los) titular(es) de los derechos de autor otorga a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), la autorización para la publicación del documento indicado en el punto 2, bajo la *Licencia creative commons* de tipo BY-NC. Licencia que permite distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial por lo que la Universidad deberá publicar la obra poniéndola en acceso libre en el repositorio institucional de la UNTRM y a su vez en el Registro Nacional de Trabajos de Investigación-RENATI, dejando constancia que el archivo digital que se está entregando, contiene la versión final del documento sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador.

Chachapoyas, 04 de Enero de 2024


Firma del autor 1

Firma del Asesor 1


Firma del autor 2

Firma del Asesor 2

DEDICATORIA

Esta tesis es dedicada especialmente para mis padres, Eder Vásquez Yomona y Julie Diana Gómez Calderón, quienes han sido mi soporte en mi formación profesional, por estar siempre apoyándome cuando más los he necesitado, por brindarme su confianza, consejos, oportunidades, por haberme forjado a ser una mejor persona cada día con valores y principios que me caracterizan como persona y así lograr con éxito mi carrera profesional.

A mis hermanos quienes son mi motivo principal para poder salir adelante ante cualquier circunstancia de la vida y a todos mis familiares quienes me brindaron apoyo moral durante la ejecución de mi tesis.

AGRADECIMIENTO

Primero agradecer a Dios por las oportunidades que me brindó en el camino, por no dejarme desvanecer a pesar de las dificultades de la vida, por darme la fuerza de seguir adelante y así poder llegar hasta donde estoy ahora.

A mis padres por estar siempre pendiente de mí durante todas las etapas de mi vida, por guiarme y enseñarme a valorar la vida y que a pesar de mis errores siguen depositando su confianza en mí.

Mi más sincero agradecimiento al Ing. Ms. Diner Mori Mestanza y al Ing. Msc. Segundo Chavez Quintana por su apoyo y orientación en la ejecución de mi tesis, por darme la oportunidad de poder formar parte de su equipo técnico como tesista en la ejecución del proyecto “Nanoencapsulado de aceites esenciales de piel de cítricos extraídos con solventes verdes para desarrollar chocolates finos de aroma potencialmente funcionales”.

A la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, por haberme acogido en sus aulas durante 5 años de formación profesional, a mis profesores quienes han contribuido con su enseñanza; y también agradecer a la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias y a la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial.

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ
DE MENDOZA DE AMAZONAS**

**PhD. JORGE LUIS MAICELO QUINTANA
RECTOR**

**Dr. OSCAR ANDRÉS GAMARRA TORRES
VICERRECTOR ACADÉMICO**

**Dra. MARÍA NELLY LUJÁN ESPINOZA
VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN**

**Dr. ERICK ALDO AUQUIÑIVIN SILVA
DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS**

VISTO BUENO DEL ASESOR DE LA TESIS



ANEXO 3-L

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (x)/Profesional externo (), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada Caracterización de los aceites esenciales de pieles de cítricos extraídos con solventes Verdes del egresado Katheryn Lexdi Vasquez Gomez de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de esta Casa Superior de Estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, 29 de Noviembre de 2023

Firma y nombre completo del Asesor
Ing. Ms. DINER MORI MESTANZA

VISTO BUENO DEL ASESOR DE LA TESIS



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-L

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM ()/Profesional externo (), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada Caracterización de los aceites esenciales de pieles de cítricos extraídos con solventes Verdes del egresado Katheryn Leydi Vasquez Gomez de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de esta Casa Superior de Estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.



Chachapoyas, 29 de Noviembre de 2023

Firma y nombre completo del Asesor
Ing. MSc SEGUNDO GRIMALDO CHAVEZ QUINTANA

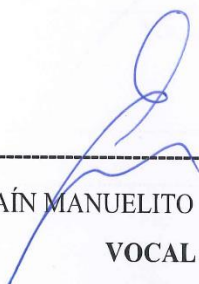
JURADO EVALUADOR DE LA TESIS



Ing. Ms. ROBERT JAVIER CRUZALEGUI FERNANDEZ
PRESIDENTE



Dr. ERICK ALDO AUQUÍNIVIN SILVA
SECRETARIO



Dr. EFRAÍN MANUELITO CASTRO ALAYA
VOCAL

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS



ANEXO 3-Q

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

Caracterización de los aceites esenciales de pides de cítricos extraídos con solventes verdes

presentada por el estudiante ()/egresado (x) Katheryn Leydi Vasquez Gomez

de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial

con correo electrónico institucional 7387396982@untrm.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:

- La citada Tesis tiene 24 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (x) / igual () al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- La citada Tesis tiene _____ % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.



Chachapoyas, 14 de Diciembre del 2023


SECRETARIO


PRESIDENTE


VOCAL

OBSERVACIONES:

.....
.....

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS



ANEXO 3-5

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 21 de Diciembre del año 2023, siendo las 11 horas, el aspirante: Katheryn Leydi Vasquez Gomez, asesorado por Ing. Ms. Diner Mori Mestanza defiende en sesión pública presencial () / a distancia () la Tesis titulada: "Caracterización de los aceites esenciales de pieles de cítricos extraídos con solventes verdes", para obtener el Título Profesional de Ingeniera Agroindustrial, a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: Robert Javier Cruzalegui Fernandez
Secretario: Erick Aldo Aguiñivín Silva
Vocal: Efraín Manuelito Castro Alayo.



Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado () por Unanimidad () / Mayoría () Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 11:50 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.


SECRETARIO


VOCAL


PRESIDENTE

OBSERVACIONES:
.....

ÍNDICE

AUTORIZACIÓN DE LA PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM.....	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO	iv
VISTO BUENO DEL ASESOR DE LA TESIS	vi
VISTO BUENO DEL ASESOR DE LA TESIS	vii
JURADO EVALUADOR DE LA TESIS.....	viii
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS.....	ix
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS.....	x
INDICE	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
RESUMEN	xvi
ABSTRACT.....	xvii
I. INTRODUCCIÓN.....	18
II. MATERIAL Y MÉTODOS	20
2.1. Material vegetal.....	20
2.2. Reactivos químicos	20
2.3. Obtención de aceite esencial mediante el método de hidrodestilación	20
2.4. Análisis de propiedades químicas	21
2.4.1. Capacidad antioxidante de aceites esenciales mediante el método DPPH (radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	21
2.4.2. Capacidad antioxidante de aceites esenciales con el método ABTS ⁺	21
2.4.3. Determinación de contenido total de polifenoles	22
2.4.4. Determinación del contenido total de flavonoides	22
2.4.5. Mapeo Raman	23
2.4.6. Preparación de estándares y muestras de aceites esenciales en cromatografía de gases	23
2.4.7. Caracterización de los compuestos volátiles en GC-MS	23
2.4.8. Caracterización de los compuestos fenólicos en UHPLC	24
2.5. Análisis de propiedades físicas.....	24
2.5.1. Medición del índice de refracción y densidad	24
2.6. Análisis de propiedades térmicas.....	25

2.6.1.	Propiedades térmicas de los aceites esenciales de pieles de cítricos	25
III.	RESULTADOS	26
3.1.	Rendimiento de aceites esenciales de pieles de cítricos.....	26
3.2.	Capacidad antioxidante de los aceites esenciales mediante el método DPPH y ABTS⁺	26
3.3.	Contenido total de polifenoles y flavonoides.....	27
3.4.	Espectros Picos Raman de los aceites esenciales de pieles de cítricos	28
3.5.	Identificación de los compuestos volátiles de los aceites esenciales en GC-MS	30
3.6.	Cuantificación de compuestos fenólicos en UHPLC	32
3.7.	Índice de Refracción y Densidad	34
3.8.	Calorímetro diferencial de barrido (DSC).....	34
IV.	DISCUSIÓN	37
V.	CONCLUSIONES	41
VI.	REFERENCIAS BIBLIGRÁFICAS.....	42
ANEXOS		47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rendimiento de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos.....	26
Tabla 2. Picos Raman de los aceites esenciales de pieles de cítricos	29
Tabla 3. Contenido de compuestos volátiles de los aceites esenciales extraídos de pieles de cuatro cítricos (ng/ml).....	31
Tabla 4. Contenido de principales compuestos fenólicos de aceites esenciales extraídos de pieles de cuatro cítricos (mg/ml).....	33
Tabla 5. Valores del índice de refracción y densidad de los cuatro tipos de aceites esenciales de pieles de cítricos.....	34
Tabla 6. Datos de calorimetría diferencial de barrido de los aceites esenciales de pieles de cítricos	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Actividad antioxidante de aceites esenciales de cuatro cítricos mediante DPPH y ABTS	27
Figura 2. Contenido fenólico total de cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos ...	28
Figura 3. Espectros de los aceites esenciales de pieles de cítricos	30
Figura 4. Concentración de D-Limoneno en los aceites esenciales de aceites de cítricos identificados por GC-MS.....	32
Figura 5. Perfiles de cromatografía líquida de los aceites esenciales de cítricos de cuatro especies: A aceite esencial de <i>C. sinensis</i> , B aceite esencial de <i>C. reticulata</i> , C aceite esencial de <i>C. limetta</i> Risso y D aceite esencial de <i>C. limetta</i> sp.	33
Figura 6. Entalpías de cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos	35
Figura 7. Propiedades térmicas de los aceites esenciales determinados mediante DSC	36
Figura 8. Ubicación y recolección de muestra de las pieles de cuatro cítricos	47
Figura 9. Recolección de muestra de Lima (<i>C. limetta</i> Risso), limón dulce (<i>C. limetta</i> sp.) y mandarina (<i>C. reticulata</i>)	48
Figura 10. Proceso de extracción de las pieles de los cuatro cítricos	49
Figura 11. Separación de aceite esencial de los cuatro cítricos mediante jeringas.....	50
Figura 12. Actividad antioxidante de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos mediante el método DPPH y ABTS en aceites esenciales.....	51
Figura 13. Actividad antioxidante mediante DPPH y ABTS en el equipo espectrofotómetro	52
Figura 14. Contenido fenólico total de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos mediante el método de Folin-Ciocalteu	53
Figura 15. Contenido total de flavonoides de los aceites esenciales de pieles de cítricos	54
Figura 16. Índice de refracción de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos..	55
Figura 17. Capacidad calorífica específica de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos.....	56
Figura 18. Capacidad calorífica específica de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos en el equipo DSC	57
Figura 19. Solventes filtrados para la cuantificación de fenoles de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos por UHPLC	58

Figura 20. Cuantificación de fenoles de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos por UHPLC	59
Figura 21. Cuantificación de fenoles de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos por GC-MS	60
Figura 22. Curva de calibración con estándar de Trolox a 734 nm.....	61
Figura 23. Curva de calibración con estándar de ácido gálico (10mg/100ml) a 764 nm	62
Figura 24. Curva de calibración con estándar de quercetina (2.5mg/50ml) a 415 nm ..	63
Figura 25. Curva de calibración con estándar de cumarina a 280 nm.....	64
Figura 26. Curva de calibración con estándar de Psoraleno a 280 nm	65
Figura 27. Curva de calibración con estándar de ácido p-cumárico a 280 nm	66

RESUMEN

En este trabajo de investigación se logró la caracterización de las propiedades fisicoquímicas y los principales compuestos fenólicos de los aceites esenciales (AE) extraídos de las pieles de cuatro cítricos cultivados en la Región Amazonas, Perú: lima (*Citrus limetta* Risso), limón dulce (*Citrus limetta* sp.), mandarina o tangerina (*Citrus reticulata*) y naranja (*Citrus sinensis*). La extracción de los AE se realizó mediante hidrodestilación haciendo del solvente verde para luego ser evaluados en cuanto a su capacidad antioxidante mediante ácido 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS); contenido fenólico total utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu. Los flavonoides totales, el índice de refracción, la densidad, propiedades térmicas, el mapeo Raman y los principales compuestos identificados mediante cromatografía líquida (UHPLC-DAD) y de gases acoplada a un detector de masas (GC-MS). Se encontró que los AE de limón dulce y mandarina presentan mayor capacidad antioxidante mediante DPPH (89,63%; 72,92%) y ABTS (1592,38 $\mu\text{mol TE/g}$; 1216,13 $\mu\text{mol TE/g}$). En cuanto a los resultados de contenido fenólico total (680,78 mg AGE/g) y flavonoides (23,18 mg QE/g) el AE de limón dulce fue el que predominó su potencial en comparación a los demás aceites esenciales. El contenido del principal compuesto volátil D-limoneno y compuestos fenólicos de cumarinas, psoraleno y ácido p-cumárico son indicadores del potencial antioxidante de estos AE. Por lo tanto, se consideran de gran interés en la industria alimentaria para el desarrollo de alimentos funcionales y también para ser utilizados como saborizantes o aditivos para compuestos de uso médico y cosmético.

Palabras claves

Cítricos, Antioxidantes, Propiedades térmicas, Raman, Cromatografía de aceites esenciales.

ABSTRACT

In this research work, the characterization of the physicochemical properties and the main phenolic compounds of the essential oils (EO) extracted from the skins of four citrus fruits grown in the Amazon Region, Peru was achieved: lime (*Citrus limetta* Risso), sweet lemon (*Citrus limetta* sp.), mandarin or tangerine (*Citrus reticulata*) and orange (*Citrus sinensis*). The extraction of the EOs was carried out by hydrodistillation making the solvent green and then evaluated for their antioxidant capacity using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl acid (DPPH) and 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS); total phenolic content using the Folin-Ciocalteu reagent. Total flavonoids, refractive index, density, thermal properties, Raman mapping and the main compounds identified by liquid chromatography (UHPLC-DAD) and gas chromatography coupled to a mass detector (GC-MS). It was found that sweet lemon and mandarin EOs present greater antioxidant capacity through DPPH (89.63%; 72.92%) and ABTS (1592.38 $\mu\text{mol TE/g}$; 1216.13 $\mu\text{mol TE/g}$). Regarding the results of total phenolic content (680.78 mg AGE/g) and flavonoids (23.18 mg QE/g), sweet lemon EO was the one whose potential predominated compared to the other essential oils. The content of the main volatile compound D-limonene and phenolic compounds of coumarins, psoralen and p-coumaric acid are indicators of the antioxidant potential of these EOs. Therefore, they are considered of great interest in the food industry for the development of functional foods and also to be used as flavorings or additives for compounds for medical and cosmetic use.

Keywords

Citrus, Antioxidants, Thermal properties, Raman, Chromatography of essential oils.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, los frutos cítricos representan una gran demanda en la industria alimentaria mundial. Su consumo es distribuido en casi todo el mundo y frecuentemente es consumido como fruta fresca. Durante su procesamiento se empieza a generar residuos sólidos, como son las pieles, aquellas que representan aproximadamente el 55-60 % del total de la fruta y además tienen un gran potencial antioxidante por la presencia de diferentes compuestos bioactivos en su estructura, sin embargo, estos residuos orgánicos no son aprovechados eficientemente y muchas veces por la falta de infraestructura y conocimiento para su correcto manejo. En varios estudios han demostrado mediante las técnicas de extracción efectivas la presencia de polifenoles, fibras dietéticas, carotenoides y aceites esenciales lo que indica que los cítricos son frutas que promueven grandes beneficios para la salud (Brahmi et al., 2021; Rafiq et al., 2018; Gómez-Mejía et al., 2019). Por lo tanto la forma más factible de aprovechar este recurso es extrayendo sus aceites esenciales que contienen un aroma fuerte y agradable con una sensación refrescante, y además es utilizado como saborizante en diversos alimentos, bebidas y productos farmacéuticos (Shaw et al., 2023). Existen diferentes técnicas de extracción de AE, las tradicionales como maceración, hidrodestilación, soxhlet, calentamiento-reflujo que presentan ciertas desventajas y por otro lado se encuentran técnicas prometedoras como las asistidas por ultrasonido (EAU), fluidos supercríticos (EAFS) y microondas (EAM) que tienen una estrecha relación con la química verde, teniendo como principal ventaja altos rendimientos de extracción de compuestos bioactivos presentes en las pieles de cítricos, optimizando el tiempo de extracción y la aplicación de solventes verdes (Yingngam et al., 2021; Dao et al., 2022).

Algunos de los compuestos bioactivos que presenta la piel de los cítricos son los flavonoides, alcaloides, cumarinas, limonoides, carotenoides, ácidos fenólicos y aceites esenciales con importantes propiedades antioxidantes (Ademosun, 2022; Panwar et al., 2021; Z. Wang et al., 2023). Los flavonoides son aquellos compuestos que presentan un bajo peso molecular y son responsables del color vivo de las pieles. La temperatura y el tiempo de extracción son específicos para diferentes tipos de flavonoides (Koolaji et al., 2020). Los aceites esenciales se extraen principalmente mediante técnicas convencionales que utilizan solventes tóxicos y bastante energía. Por ello la naturaleza de los solventes juega un papel importante en la extracción de los aceites esenciales por lo que se debe

evitar el uso de solventes tóxicos y aplicar técnicas de extracción que utilicen solventes verdes ya que tienen una tendencia creciente para extraer compuestos fenólicos de las plantas teniendo en cuenta aspectos ambientales (Cvjetko et al., 2018).

Durante el proceso de extracción los parámetros más importantes que influyen en la hidrodestilación son la energía, la proporción de agua material y el tiempo de extracción. Dao et al. 2021 demostraron que el poder de extracción afecta el rendimiento del proceso, logrando determinar los parámetros eficientes en cuanto a potencia (204 W), agua y material (3: 1 mL/g) y tiempo de extracción (70 min) fueron los parámetros más óptimos para extraer completamente los aceites esenciales con un mayor rendimiento. Cabe resaltar que el rendimiento de la piel de cítricos está en función al total de sólidos que represente cada especie, ya que no todas presentan las mismas características. Por ejemplo, Teigiserova et al. (2021) extrajeron aceites esenciales de diferentes cítricos como la lima con un rendimiento de 21 %, mandarina 25–30 %, limón 29–32 %, pomelo 34–48 % y naranjas 42–52 %, lo cual demostraría que el rendimiento varía de acuerdo a la especie de cítrico y también por el tipo de extracción. Visakh et al. (2022) extrajeron aceites esenciales de cuatro cítricos por el método de hidrodestilación obteniendo un rango de 0,48 a 0,75% de rendimiento y demostraron que el D-limoneno era el compuesto mayoritario en *Citrus limetta*, *Citrus limon*, *Citrus reticulata* y *Citrus aurantifolia*.

Los aceites esenciales extraídos de cítricos consisten en complejas mezclas de un gran número de compuestos químicos, los cuales están divididos en volátiles y no volátiles. Los compuestos volátiles representan aproximadamente del 85 al 99%, incluyen principalmente a los monoterpenos hidrocarbonados y oxigenados, teniendo como principal componente al limoneno representando más del 90% del total del aceite esencial, mientras que en los no volátiles se tienen a compuestos heterocíclicos de oxígeno algunos de ellos son, cumarina; furocumarina y polimetoxiflavona (PMF) (Liu et al., 2022). Por lo tanto, en esta investigación se realizó la caracterización de las propiedades químicas, compuestos volátiles y no volátiles de los aceites esenciales de pieles de cítricos extraídos con solventes verdes, para más adelante poder aplicarlos en el desarrollo de chocolates funcionales.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal

La compra de material vegetal y de pieles de cítricos: Lima (*Citrus limetta* Risso), limón dulce (*Citrus limetta* sp.), mandarina (*Citrus reticulata*) y naranja (*Citrus sinensis*) fueron adquiridos de la provincia de Utcubamba y de la provincia de Rodríguez de Mendoza y centros de expendio de juguería de la ciudad de Chachapoyas, las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Ingeniería de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, para su desinfección y pretratamientos respectivos.

2.2. Reactivos químicos

Reactivo de fenol de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, EEUU), ácido gálico (Sigma Aldrich, China, $\geq 98\%$), carbonato de sodio (Na_2CO_3) (Spectrum Chemical Mfg. Corp, EEUU, 99.5%), metanol (CH_3OH) (J.T.Baker, EEUU, 99.98%), quercetina ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$), Acetato de sodio ($\text{C}_2\text{H}_3\text{Na}_2\text{O}_2$), cloruro de aluminio (AlCl_3), 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (Sigma Aldrich, EEUU), ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS+), persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), Coumarin 72609- 100 mg (Sigma aldrich, Suiza, 99.9%), Psoralen 89770-20mg (Sigma aldrich PhytoLab, Alemania, $\geq 98\%$), (R)-(+)-Limonene (Sigma Aldrich, EEUU $\geq 99.2\%$), Acetonitrilo CH_3CN (Scharlau), Acetato de etilo (Spectrum Chemical Mfg. Corp, EEUU).

2.3. Obtención de aceite esencial mediante el método de hidrodestilación

Para la extracción de los AE de piel de cítricos se empleó el método de Phat et al. (2021) que consiste en extraer los AE mediante la hidrodestilación, se utilizó un destilador por arrastre de vapor (TECNAL, TE-2761, Brasil) y como solvente verde al agua destilada a una temperatura de extracción de 80°C . Se inició agregando al destilador 300g de las muestras de pieles de cítricos en fresco (*C. sinensis*, *C. limetta* Risso, *C. limetta* sp. y *C. reticulata*) de manera individual para cada muestra y 500ml de agua destilada. El tiempo del proceso de extracción fue aproximadamente de 1 hora para cada 300g de muestra; luego del tiempo de extracción la mezcla de agua-aceite fueron colocados en refrigeración a 1°C para permitir la separación de las fases, los aceites esenciales purificados fueron almacenados en un vial de vidrio ámbar con tapa séptica hermética a una temperatura de

4 °C. El rendimiento de aceite esenciales de cítricos se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$Y \% = \frac{V}{W} * 100$$

Donde Y es el rendimiento de aceite esencial (% , v/w), V es el volumen de aceite esencial (ml) y W es la cantidad de pieles de cítricos (g).

2.4. Análisis de propiedades químicas

2.4.1. Capacidad antioxidante de aceites esenciales mediante el método DPPH (radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

La actividad de eliminación de radicales libres de DPPH se determinó siguiendo el procedimiento descrito por Guo et al. (2018) y Smeriglio et al. (2018) con algunas modificaciones. Se mezcló 1 ml de soluciones de aceite esencial (1 ml/9ml) con 1 ml de solución metanólica de DPPH 0,1 mM. La mezcla fue incubada en oscuridad a temperatura ambiente en un tiempo de 30 min y se utilizó un espectrofotómetro (EMC-11-UV SPECTROPHOTOMETER) para medir las absorbancias a 517 nm, las cuales se registraron como " $A_{muestra}$ ". Además de ello se realizó un experimento en blanco empleando el mismo procedimiento a una solución, pero sin aceite esencial y se registró a la absorbancia como " A_{blanco} ". Los experimentos se llevaron a cabo por cuadruplicado.

La actividad depuradora de DPPH fue determinada utilizando la siguiente ecuación.

$$(\%) = \left[\frac{(A_{blanco} - A_{muestra})}{A_{blanco}} \right] * 100$$

2.4.2. Capacidad antioxidante de aceites esenciales con el método ABTS^{·+}

La capacidad antioxidante se determinó por el método de Guo et al. (2018) con algunas modificaciones. El catión radical ABTS^{·+} se produjo haciendo reaccionar ABTS^{·+} acuoso 7 mM utilizando 88 µl de solución ABTS con 5ml de persulfato de potasio 2,45 mM. La mezcla fue incubada en oscuridad a temperatura ambiente en un tiempo de 12–16 h antes de ser utilizado. La solución ABTS^{·+} se diluyó con etanol (aproximadamente 1:80) hasta lograr una absorbancia de $0,700 \pm 0,02$ a 734 nm. Para medir la actividad antioxidante del AE, se añadió 30 µl de solución de AE a 3000 µl de ABTS^{·+} diluido y se procedió a

registrar la absorbancia como al tiempo cero y después de 30 min cuando la absorbancia se estabilice. Para cuantificar su capacidad antioxidante de los aceites esenciales se utilizó la ecuación $y = -0.0004x + 0.8502$ realizado con estándar trolox en concentraciones desde 0 hasta 2000 mM.

2.4.3. Determinación de contenido total de polifenoles

El contenido de polifenoles totales (CPT) se determinó mediante el procedimiento de Ndayishimiye et al. (2018) y Smeriglio et al. (2018) con modificaciones. Para la reacción se añadió 0,5 ml de aceite esencial extraído diluido (2.5 mg/0.5ml en etanol), 2.5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:10 agua ultrapura. Luego se añadió 2 ml de solución de carbonato de sodio (7.5%) a la mezcla agitando vigorosamente y luego se dejó reaccionar durante un tiempo de 60 min. Posteriormente se midió la absorbancia a 764 nm utilizando un espectrofotómetro (EMC-11-UV SPECTROPHOTOMETER). Para realizar la cuantificación del contenido de polifenoles totales se desarrolló la curva estándar de ácido gálico $y = 0.0004x + 0.0212$ y se expresó en mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/g de aceite esencial, fue realizado en concentraciones desde 0 hasta 2500 mM.

2.4.4. Determinación del contenido total de flavonoides

El método empleado por Ndayishimiye et al. (2018), se utilizó para determinar el contenido total de flavonoides (TFC) con algunas modificaciones. Se realizó una mezcla compuesta por 0,5 ml de aceite extraído diluido (0.5 mg/4.5ml en etanol), 0.5 ml de metanol, 50 μ l de $AlCl_3$ (10 %), 50 μ l de acetato de potasio 1 M y 1.4 ml de agua destilada, esta mezcla se dejó en reposo por 30 min a temperatura ambiente. Después, se dio lectura las absorbancias a 415 nm utilizando el mismo espectrofotómetro utilizado para PFT. La cuantificación de TFC se basó en la curva estándar de quercetina donde $y = 0.0001x + 0.0119$ y se expresó como mg de equivalente de quercetina (QE)/g de aceite esencial.

2.4.5. Mapeo Raman

Las muestras se mapearon utilizando un sistema de microscopio focal Raman (Horiba Scientific, XploRA plus, Montpellier, Francia). Los mapas químicos se obtuvieron mediante un láser de 532 nm como luz de excitación con un filtro del 50%. Las condiciones experimentales fueron las siguientes: ancho de rendija de 100 nm, orificio de 100 μm , objetivo de aire Vis-LWDx50/0,90 NA Vis-LWD y tiempo de adquisición de 1 s con 2 acumulaciones. La señal Raman se obtuvo utilizando una rejilla de 600 líneas/mm centrado entre 800 y 3100 cm^{-1} . Los espectros adquiridos se corrigieron en un rango de 1000 a 1800 cm^{-1} , se corrigieron utilizando el software LabSpec 6 Suite (Castro-Alayo et al., 2021).

2.4.6. Preparación de estándares y muestras de aceites esenciales en cromatografía de gases

Los estándares y los aceites esenciales fueron diluidos en solvente acetato de etilo ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$), el estándar n -alcanos C_8 - C_{20} fue diluido en acetato de etilo (1:3) ml para facilitar la identificación de los compuestos, su dilución fue de 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, el estándar (R)-(+)-Limonene en diferentes concentraciones (1000, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) y los aceites esenciales tienen una dilución de 12000 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

2.4.7. Caracterización de los compuestos volátiles en GC-MS

El análisis de los compuestos volátiles de las muestras de aceites esenciales se realizó a través de cromatografía de gases en un equipo Agilent, GC System modelo 7890B, acoplado al espectrómetro de masas cuadrupolo MSD 5977B. Las condiciones analíticas son columna capilar DB-5MS UI (60 m x 0,25 mm x 1,0 μm) y helio como gas portador (1 ml/min). La inyección se realizó en modo dividido (50:1), el volumen inyectado es de 1 μL (12000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de aceite esencial/ $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ v/v), y el inyector y la temperatura del detector es de 250 $^{\circ}\text{C}$ y 280 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. La temperatura del horno fue de 60 $^{\circ}\text{C}$ durante 6 min, luego se incrementó a 270 $^{\circ}\text{C}$ a 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y se mantiene a 270 $^{\circ}\text{C}$ durante 4 min. Se ajusta el voltaje de ionización a 70 eV, el multiplicador de electrones a 900 V y la temperatura de la fuente de iones a 230 $^{\circ}\text{C}$. Los datos de espectros de masas se obtienen en el modo de exploración en un rango de masa (m/z) de 45 a 450 amu. Los compuestos detectados fueron identificados mediante la comparación de los espectros de masas con la base de datos del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (Biblioteca

NIST 17), para la identificación de los compuestos fue confirmada mediante la inyección del estándar n-alcenos (C₈ -C₂₀) y la comparación de sus índices de retención (Smeriglio et al., 2018).

2.4.8. Caracterización de los compuestos fenólicos en UHPLC

Los aceites esenciales de los cuatro cítricos se diluyeron con metanol (1-2 ml de muestra en 1 ml de metanol) y se centrifugaron (30 min, 5000 rpm) antes de transferirlas a viales para su análisis. Para caracterizar los compuestos fenólicos (cumarinas y furanocumarinas) se realizó según el método utilizado por Cruz et al. (2015) con modificaciones. El volumen de inyección de cada solución de muestra fue de 10 µl las cuales fueron analizadas mediante un sistema UHPLC (Agilent Technologies 1290, modelo G7104A, Alemania) equipado con un inyector VI Flow y con una columna C₁₈ (100 mm × 4,6 mm, ODS-2,3 µm). La fase móvil consistió en un gradiente lineal con una combinación de solvente A: ácido acético al 2% en agua y solvente B: acetonitrilo, agua y ácido acético (400:90:10 v/v/v). Los compuestos se analizaron mediante un detector DAD ajustado a 280 nm. El tiempo de corrida fue de 22 min y la temperatura fue de 26°C. Todos los estándares utilizados para la determinación cuantitativa procedían de Sigma-Aldrich, St.Louis, MO. El programa de gradiente a utilizar fue el siguiente: 0-2 min, lineal 90% A y 10% B; 2-5 min, lineal de 88% A y 12%B; 5-8 min, lineal de 86 % A y 14%B, 8-10 min, 84% A y 16%B; 10-12 min, lineal de 82% A y 18%B; 12-22 min, 90 % A y 10%B. Para cuantificar los compuestos fenólicos de los aceites esenciales se utilizó la ecuación $y = 0.0000037x + 0.2154384$ realizado con estándar cumarina, $y = 0.0000111x + 0.4174412$ con estándar psoraleno y para el ácido p-cumárico $y = 0.00000518x + 0.07278492$ en concentraciones desde 0 hasta 10.

2.5. Análisis de propiedades físicas

2.5.1. Medición del índice de refracción y densidad

Los índices de refracción n_D de los aceites esenciales extraídos de pieles de cítricos (*C. sinensis*, *C. limetta* Risso, *C. limetta* sp. y *C. reticulata*) se midieron utilizando un refractómetro ABBE (Marca, 2WAJ, procedencia). El instrumento se limpió a fondo con agua destilada y etanol antes de cada medición. Los valores de n_D se midieron para calibrar el refractómetro y la precisión de n_D fue de $\pm 0,000$. Por otro lado se determinó

la densidad de los aceites esenciales mediante la fórmula de masa sobre volumen (Abedigamba et al., 2023; Mora-Zúñiga et al., 2022).

2.6. Análisis de propiedades térmicas

2.6.1. Propiedades térmicas de los aceites esenciales de pieles de cítricos

Las propiedades térmicas de los aceites esenciales de pieles de cítricos se midieron utilizando un calorímetro diferencial de barrido DSC (TA Instruments, Discovery DSC 2500, New Castle, EE.UU.), el equipo es capaz de operar desde $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta $700\text{ }^{\circ}\text{C}$. Las medidas se realizaron en atmósfera dinámica de nitrógeno (50 mL/min). Cada una de las muestras de aceite analizadas tenía una masa en un rango de 10 mg . Las muestras fueron calentadas entre $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $245\text{ }^{\circ}\text{C}$ a una velocidad de calentamiento de $10\text{ }^{\circ}\text{C/min}$. El control del instrumento y el análisis de los datos se llevó a cabo utilizando el software TRIOS de TA Instruments, que permitió calcular las temperaturas máximas y de inicio, entalpía y flujo de calor (Abedigamba et al., 2023).

2.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico que se empleó para cada una de las actividades realizadas con la finalidad de encontrar la diferencia significativa entre los resultados, fue la prueba paramétrica de Tukey al nivel de $p < 0.05$ de significancia utilizando el Software SPSS Statistics 22.

III. RESULTADOS

3.1. Rendimiento de aceites esenciales de pieles de cítricos

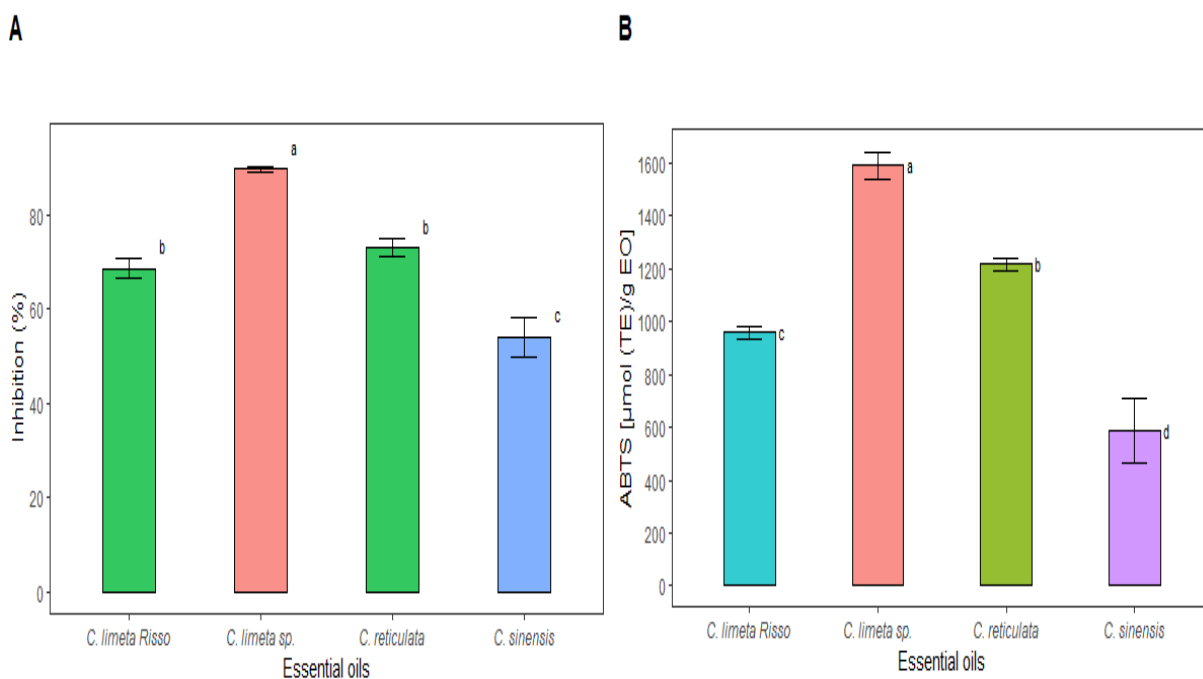
La tabla 1 muestra el rendimiento de los aceites esenciales de las cuatro especies de cítricos como *C. sinensis*, *C. limetta* Risso, *C. reticulata* y *C. limetta* sp.

Tabla 1. Rendimiento de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos

Muestra	Peso (g)	AE obtenido (ml)	Rendimiento
<i>C. sinensis</i>	300	3	1.00%
<i>C. limetta</i> Risso	300	2	0.67%
<i>C. reticulata</i>	300	1.5	0.50%
<i>C. limetta</i> sp.	300	0.5	0.17%

3.2. Capacidad antioxidante de los aceites esenciales mediante el método DPPH y ABTS⁺

La figura 1 muestra los gráficos A y B donde la capacidad antioxidante más alta en comparación a los demás aceites esenciales (AE), es el AE de *C. limetta* sp. con 89,63% seguido de *C. reticulata* (72,92%) con alto poder antioxidante. Se puede observar que en ambas técnicas existe una ligera diferencia, sin embargo, es muy notable la relación que existe en el orden de la capacidad antioxidante de los AE coincidiendo que el AE de *C. sinensis* (54%) presenta menor capacidad antioxidante ($p < 0.05$).

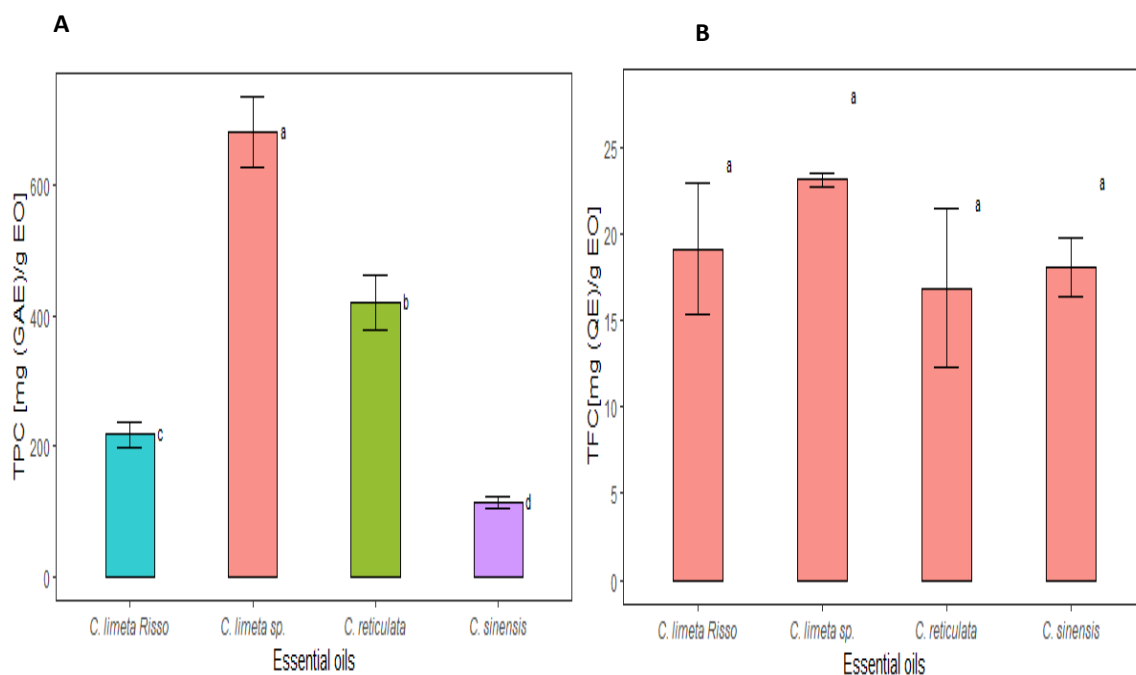


Nota: Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes entre tipos de aceite esencial con el test de Tukey (sig. \leq 0.05)

Figura 1. Actividad antioxidante de aceites esenciales de cuatro cítricos mediante DPPH y ABTS

3.3. Contenido total de polifenoles y flavonoides

En la figura 2 se observan dos gráficos A y B. El gráfico A muestra el contenido total de polifenoles la cual sigue la misma tendencia observada en la capacidad antioxidante (Figura 1) de los AE estudiados. El AE que predomina en cuanto a su contenido total fenólico es *C. limetta sp.* (680.78 mg AGE/g) seguido de *C. reticulata* (420.28 mg AGE/g), *C. limetta Risso* (217.78 mg AGE/g) y *C. sinensis* (112 mg AGE/g). También se puede observar que las distancias entre el contenido fenólico total de los aceites esenciales son mayores en comparación a la capacidad antioxidante, lo cual indica la presencia de otros compuestos no fenólicos en los AE. Mientras que en la figura B muestra el contenido total de flavonoides (TFC) de los aceites esenciales que oscilaron entre 18,12 a 23,18 mg QE/g, no se encontraron diferencias significativas entre ellos ($P < 0.05$). Estos aceites esenciales son muy similares en cuanto a su contenido de flavonoides. El TFC para el AE de *C. limetta sp.* es de 23,18 mg QE/g, *C. limetta Risso* con 19,17 mg QE/g, *C. sinensis* con 18,12 mg QE/g y *C. reticulata* con 16,92 mg QE/g



Nota: Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes entre tipos de aceite esencial con el test de Tukey (sig. ≤ 0.05)

Figura 2. Contenido fenólico total de cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos

3.4. Espectros Picos Raman de los aceites esenciales de pieles de cítricos

La tabla 2 muestra los datos de los espectros Raman de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos los cuales fueron analizados en la región entre 200 a 3200 cm^{-1} . En la figura 3 se observan los picos Raman de cada uno de los aceites esenciales que varían de acuerdo a la longitud de onda y así poder analizar sus componentes principales. La región de 800 -1200 cm^{-1} muestra siete picos Raman para el aceite esencial de *C. sinensis* (803.15, 893.32, 923.38, 1028.57, 1082.24, 1116.59, 1157.38 cm^{-1}), *C. limetta* Risso (805.30, 891.17, 923.38, 1019.98, 1084.39, 1118.74, 1161.67 cm^{-1}) y *C. limetta* sp. (809.59, 897.61, 931.96, 1035.01, 1084.39, 1127.32, 1165.97 cm^{-1}) mientras que para *C. reticulata* tan solo muestra seis picos Raman (808.33, 892.21, 1014.8, 1087.93, 1126.64, 1163.2 cm^{-1}), los cuales son característicos del esqueleto C-C. También es notable que los picos más fuertes de los aceites esenciales de *C. sinensis*, *C. limetta* Risso, *C. limetta* sp. y *C. reticulata* son (1442.91, 1447.2, 1444.95, 1445.06 cm^{-1}) entre la región 1400-1600 cm^{-1} . Los picos Raman de la región 2800-3200 cm^{-1} se logra observar en la figura 3, cuatro picos Raman, los cuales corresponden a la vibración de estiramiento C-H.

Tabla 2. Picos Raman de los aceites esenciales de pieles de cítricos

Tarea (Tipo de enlace)	AE de <i>C. sinensis</i>	AE de <i>C. limetta</i> sp.	AE de <i>C.</i> <i>reticulata</i>	AE de <i>C.</i> <i>limetta</i> Risso
				264.18
				283.54
	324.41	320.11		322.25
		343.73		343.76
	442.48	438.19		438.39
	496.16	468.25		481.41
	539.09			502.92
				548.08
		534.8		599.7
	646.43	639.99		647.02
	706.55	770.95		767.46
	766.66			766.66
C-C	803.15	809.59		808.33
C1-C2	893.32	897.61		892.21
$\delta(=C-H)$	923.38	931.96		923.38
C-C	1028.57	1035.01		1014.8
$\nu(C-C)$	1082.24	1084.39		1087.93
C-C	1116.59	1127.32		1126.64
C-C	1157.38	1165.97		1163.2
	1213.2			
	1245.4	1223.93		
C-H	1303.37	1311.95		1309.45
	1378.5	1384.95		1378.28
C-H	1442.91	1447.2		1444.95
C-H				1550.34
				1580.45
C=C	1651.15	1651.15		1651.43
C=C	1683.36	1683.36		1683.69
				2731.01
C-H	2887.73	2892.02		2883.82
C-H	2919.93	2922.08		2920.38
C-H	2969.31	2975.75		2974.15
=C-H				3014.39
				3088.14
				3089.53

Asignaciones según Akolade et al. (2020)

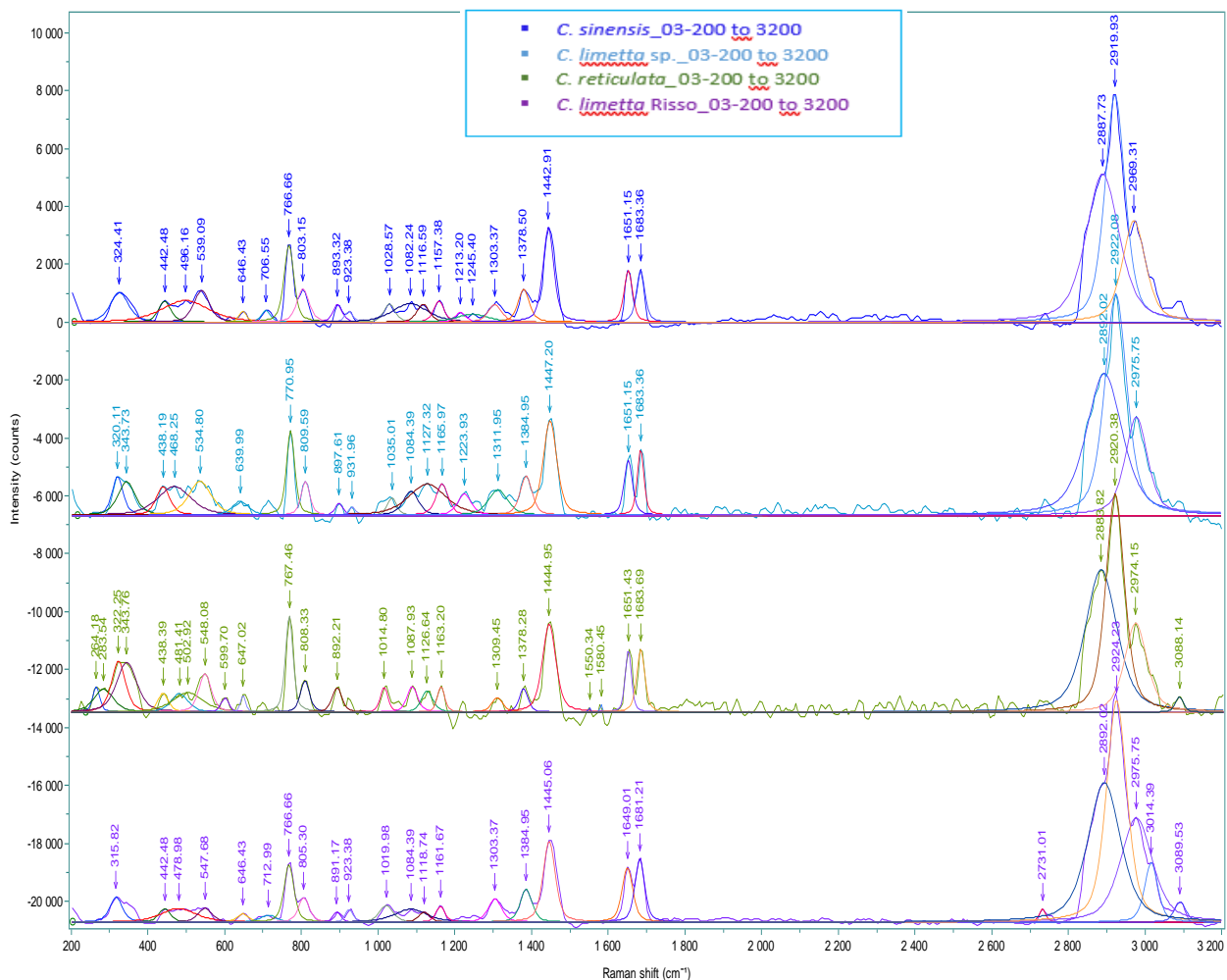


Figura 3. Espectros de los aceites esenciales de pieles de cítricos

3.5. Identificación de los compuestos volátiles de los aceites esenciales en GC-MS

La tabla 3, describe la composición química de los 32 compuestos volátiles identificados de los AE de *C. sinensis* (11), *C. limetta* Risso (12), *C. reticulata* (10) y *C. limetta* sp. (11). También se puede observar que el compuesto mayoritario identificado en los cuatro aceites esenciales es el D-limoneno (37,05 a 72,52%) acompañado de otros compuestos como Butano,1 etoxi- y oxetano, 2,2,4-trimetil- en niveles relativamente bajos. En la figura 4 se muestra al compuesto más abundante de los cuatro AE como el D-limoneno con un porcentaje (67,72%; 37,05%; 70,99% y 72.52%) respectivamente.

Tabla 3. Contenido de compuestos volátiles de los aceites esenciales extraídos de pieles de cuatro cítricos (ng/ml)

Tiempo de retención	Nombre de compuesto	Índice de retención calculado	índice de retención de biblioteca	<i>C. sinensis</i>	<i>C. limetta</i> Risso	<i>C. reticulata</i>	<i>C. limetta</i> sp.
9.17	trifluoruro de fósforo	706		1.91	ND	ND	ND
9.17	Acetilacetona	706	783	0.55	ND	ND	ND
9.17	Éter metilpropargílico	706	493	ND	2.42	ND	ND
9.17	isobutironitrilo	706	626	ND	0.49	ND	ND
9.17	Butanal, 3-hidroxi-	706	770	ND	3.67	ND	ND
9.17	CH ₃ NHCH ₂ CN	706	763	ND	ND	ND	1.65
9.17	Metacrilato de metilo	706	714	ND	ND	1.78	ND
9.18	2-Butanona	706	598	ND	1.15	ND	ND
9.18	5-Metiloxazolidina	706	795	ND	ND		1.95
9.18	1-butanamina, N-(1-metiletil)-	706	795	ND	2.79	ND	ND
9.54	Butano, 1-etoxi-	713	669	7.08	6.20	5.68	5.25
9.55	azetidina	713	625	ND	2.21	ND	ND
9.55	Oxetano, 2,2,4-trimetil-	713	664	6.60	6.09	5.32	5.00
9.56	Propano, 1,3-dimetoxi-	713	699	ND	ND	0.20	ND
10.96	5-Amino-2-metil-2H-tetrazol	741		ND	ND	ND	0.63
10.96	(hidroxiimino)(fenil)acetoneitrilo	741	933	0.49	ND	ND	ND
10.97	1,3-Butadien-1-ol, acetato	741	783	1.02	ND	ND	ND
10.97	Ciclopropano, propil-	741	609	ND	1.46	ND	ND
10.97	1H-1,2,3,4-Tetrazol-5-amina, 1-metil-	741		ND	ND	ND	1.30
10.97	Diazeno, bis(1,1-dimetiletil)-	741	817	ND	ND	2.82	ND
10.97	1-hexeno, 3,5,5-trimetil-	741	769	ND	ND	ND	3.47
10.97	Hexano, 2,5-dimetil-				4.48	4.19	3.80
10.97	Heptano, 3,5-dimetil-			ND	ND	4.62	3.34
10.97	2-Metil-1-nitropropano	741	736	2.62	ND	ND	ND
10.97	2-Azetidinona, 3,3-dimetil-	741		ND	ND	ND	1.08

10.98	3-penten-2-ona, 4-(metilamino)-	741	937	1.61	ND	ND	ND
26.90	Bromuro de cianógeno	1041		5.78	ND	ND	ND
26.91	Ciclobutano, 1,2-bis(1-metiletenil)-, trans-	1041	934	ND	31.99	ND	ND
26.91	D-limoneno	1041	1018	67.72	37.05	70.99	72.52
26.91	p-aminotolueno	1041	1072	ND	ND	4.93	ND
28.37	gamma-terpineno	1068	1060	ND	ND	2.24	ND
28.37	alfa-felandreno	1068	1005	ND	ND	1.83	ND

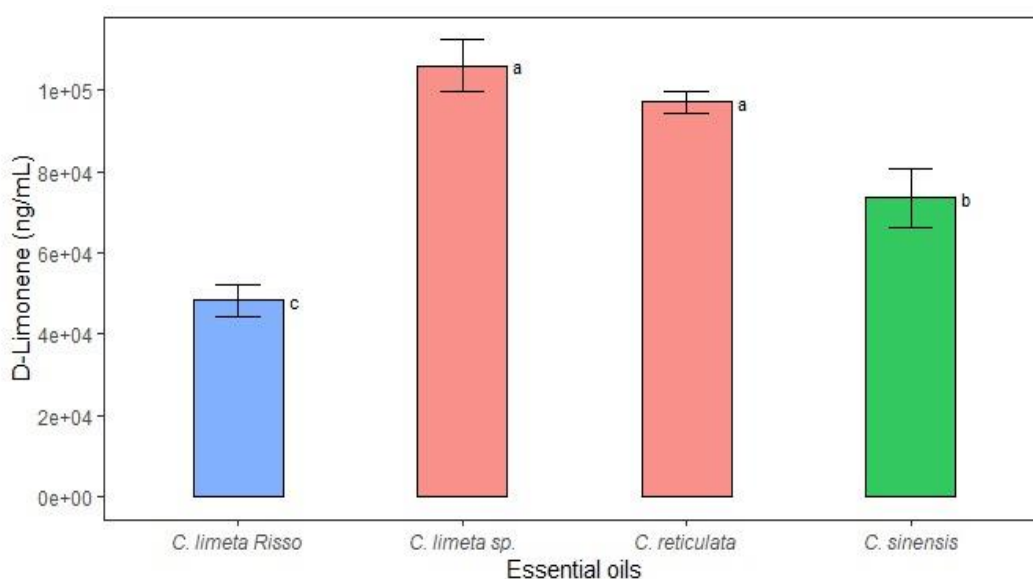


Figura 4. Concentración de D-Limoneno en los aceites esenciales de aceites de cítricos identificados por GC-MS

3.6. Cuantificación de compuestos fenólicos en UHPLC

La tabla 4, muestra la concentración de los compuestos fenólicos los cuales varían mucho entre las especies de cítricos. Las cuatro especies de cítricos presentaron cumarinas en concentraciones diferentes, donde el aceite esencial de *C. limetta* Risso, fue el que presentó mayor concentración de cumarinas. El psoraleno es un compuesto que forma parte del grupo de furanocumarinas, este compuesto fue encontrado solo en *C. limetta* Risso y *C. reticulata* mientras que el ácido p-cumárico solo fue encontrado en *C. reticulata*. Los perfiles de UHPLC de aceites esenciales de cítricos de cuatro especies (*C. sinensis*, *C. limetta* Risso, *C. limetta* sp. y *C. reticulata*) se muestran en la figura 5.

Tabla 4. Contenido de principales compuestos fenólicos de aceites esenciales extraídos de pieles de cuatro cítricos (mg/ml)

Tipo aceite esencial	Cumarina (TR: 11.14)	Psoraleno (TR: 16.63)	Ácido p-cumárico (TR: 3.88)
<i>C. limetta</i> sp.	0.28±0.00025 ^c	ND	ND
<i>C. sinensis</i>	0.37±0.00284 ^b	ND	ND
<i>C. limetta</i> Risso	0.40±0.00071 ^a	0.84±0.00033 ^a	ND
<i>C. reticulata</i>	0.29±0.00632 ^c	0.63±0.00042 ^b	0.073±0.000002 ^a

Nota: Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes entre tipos de aceite esencial con el test de Tukey (sig.≤0.05). ND: compuesto no detectado.

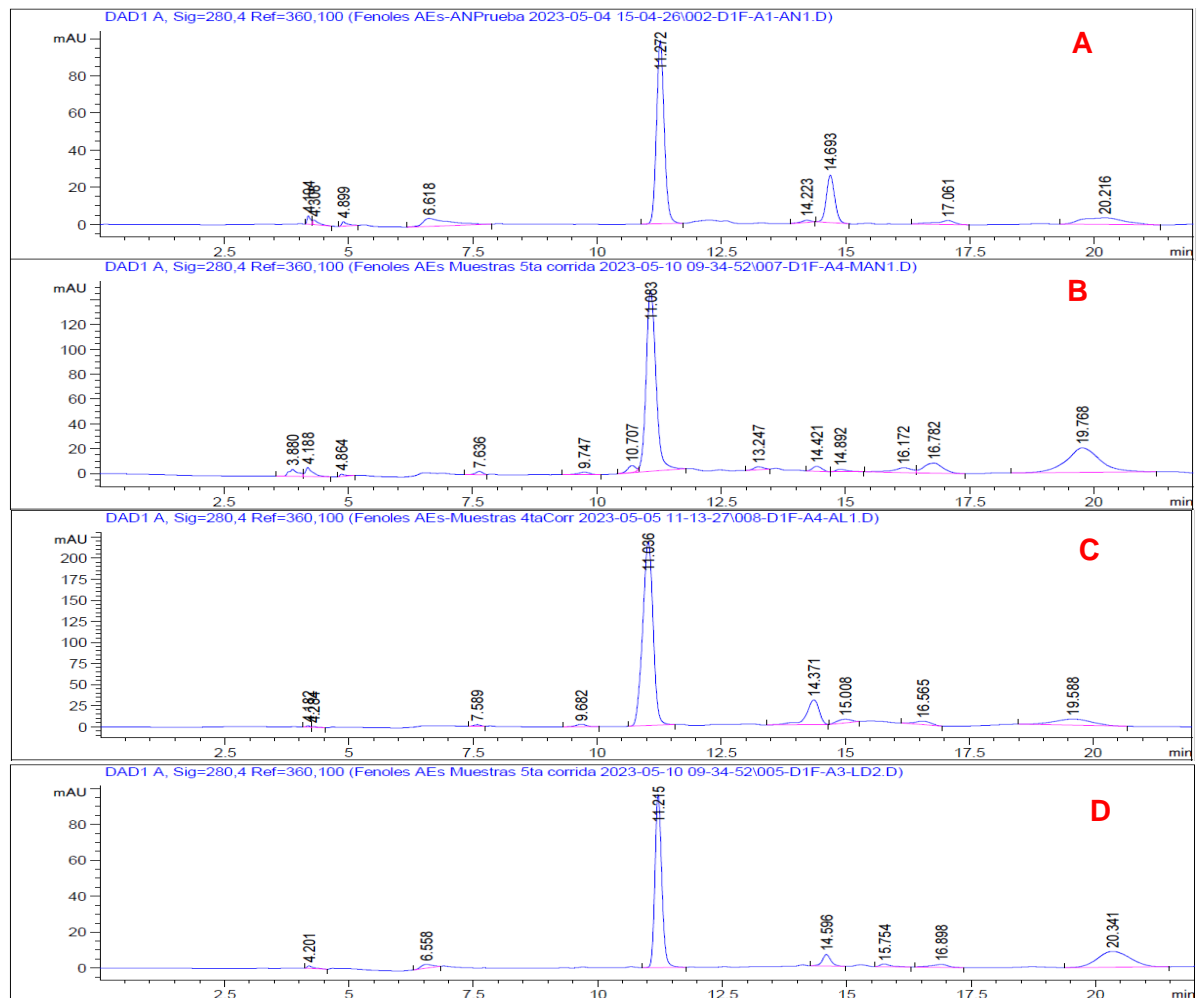


Figura 5. Perfiles de cromatografía líquida de los aceites esenciales de cítricos de cuatro especies: A aceite esencial de *C. sinensis*, B aceite esencial de *C. reticulata*, C aceite esencial de *C. limetta* Risso y D aceite esencial de *C. limetta* sp.

3.7. Índice de Refracción y Densidad

Se logró determinar el índice de refracción y la densidad de los aceites esenciales, obteniendo valores similares para los cuatro cítricos como se muestra en la tabla 5. El AE de piel de *C. sinensis*, mostró un mayor índice de refracción, mientras que la muestra con mayor densidad fue el AE extraído de *C. limetta* Risso.

Tabla 5. Valores del índice de refracción y densidad de los cuatro tipos de aceites esenciales de pieles de cítricos

MUESTRA	ÍNDICE DE REFRACCIÓN	DENSIDAD (g/ml)
<i>C. sinensis</i>	1.475	0.9854
<i>C. limetta</i> Risso	1.468	1.0022
<i>C. reticulata</i>	1.472	0.9932
<i>C. limetta</i> sp.	1.47	0.9972

3.8. Calorímetro diferencial de barrido (DSC)

En la tabla 6, se muestran los datos de calorimetría diferencial de barrido (DSC) de los cuatro aceites esenciales mientras que en la figura 7 muestra el comportamiento obtenido por el DSC para todas las muestras que fueron realizadas en las mismas condiciones como la velocidad de calentamiento de 10 °C/min en un rango de temperatura ya descrito anteriormente. Las cuatro gráficas muestran los picos de DSC curvas de los aceites esenciales en las que se exponen el flujo de calor suministrado y la temperatura. Según el flujo de calor, la entalpía (ΔH), inicio de temperatura (T_0) y el pico máximo de temperatura (T_p) que son parte del calor específico. El aceite esencial de piel de *C. sinensis* presentó mayor entalpía (153.05 J/g) en comparación a los otros tres aceites esenciales. Sin embargo, el aceite esencial de piel de *C. limetta* Risso, presenta una temperatura de inicio y temperatura máxima adecuada (58.38°C; 118.7°C respectivamente) en comparación a los demás aceites esenciales, por lo tanto, esta muestra presenta una mejor estabilidad térmica.

Tabla 6. Datos de calorimetría diferencial de barrido de los aceites esenciales de pieles de cítricos

Muestras	Flujo de calor (W/g)	Temperatura inicial (°C)	Temperatura máx (°C)	Entalpía (J/g)
<i>C. sinensis</i>	-0.798	49.44	94.97	153.05
<i>C. limetta</i> Risso	-0.485	58.38	118.7	130.78
<i>C. limetta</i> sp.	-0.287	38.80	94.18	87.507
<i>C. reticulata</i>	-0.015	26.19	91.67	5.4116

Nota: Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes entre tipos de aceite esencial con el test de Tukey (sig.≤0.05)

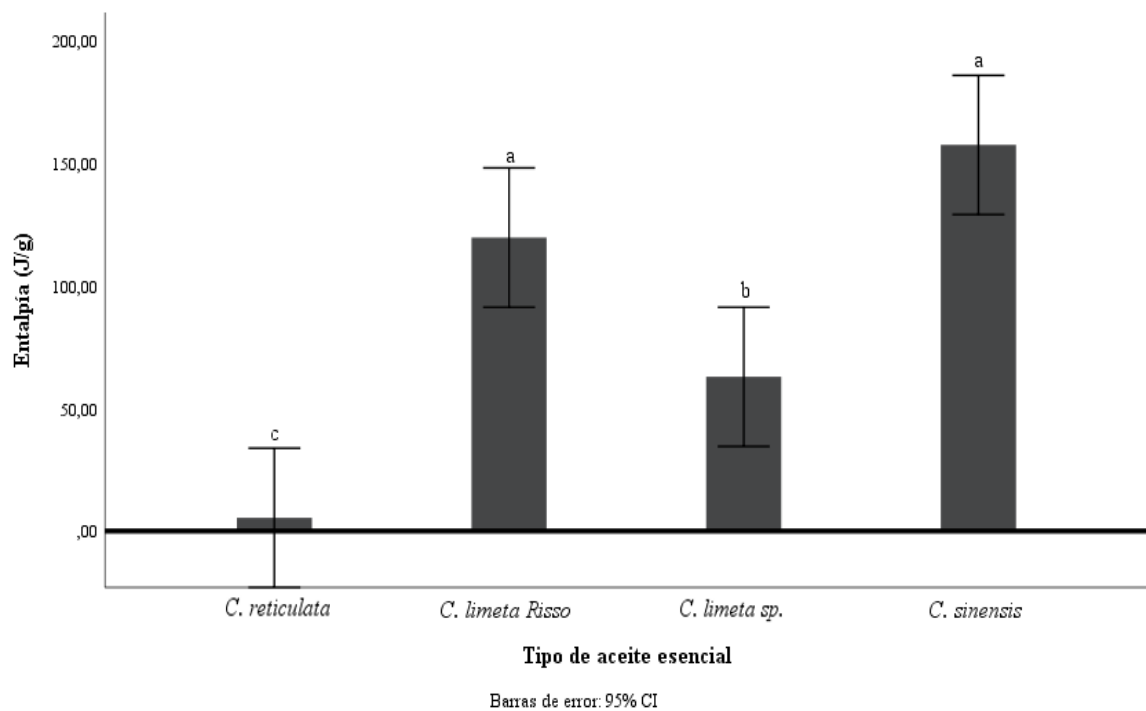


Figura 6. Entalpías de cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos

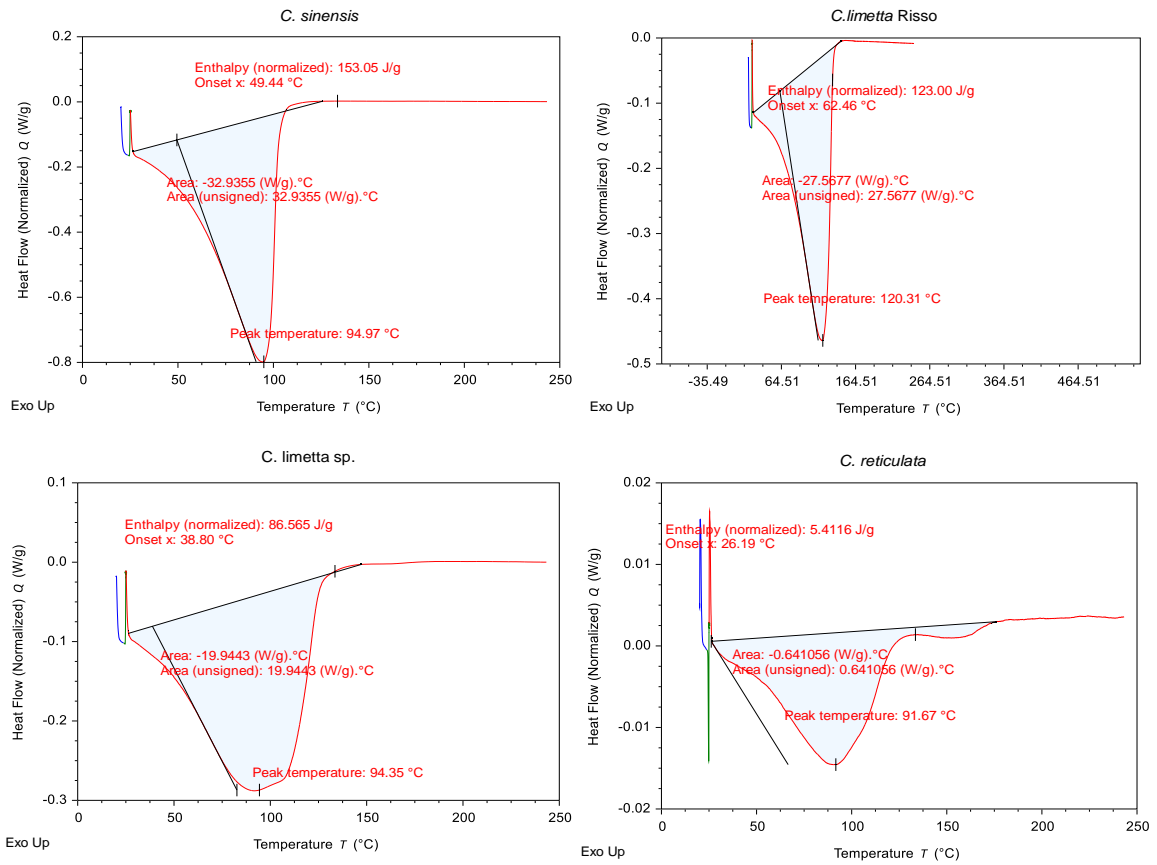


Figura 7. Propiedades térmicas de los aceites esenciales determinados mediante DSC

IV. DISCUSIÓN

La hidrodestilación es uno de los métodos más comunes para la extracción de aceites esenciales y a la vez permite el uso de solventes verdes para obtener un alto rendimiento de aceite esencial (Lubinska-szczygeł et al., 2023). Como se demuestra en los resultados, las pieles de los cítricos estudiados presentan diferentes rendimientos de aceite esencial (AE), para el AE de *C. sinensis* 1%, seguido de *C. limetta* Risso 0,67%, *C. reticulata* 0,50% y *C. limetta* sp. con 0,17%. Uno de los factores que hace que varíe el rendimiento de AE es el volumen de la piel de los cítricos. Singh et al. 2021 mencionan que los cítricos que contienen una alta concentración de AE, tienen la piel gruesa a diferencia de las especies de cítricos que tienen la piel más fina. Los rendimientos de AE fueron similares a los reportados por otros investigadores, como el AE de *Citrus lumia* Risso con 1,75% de rendimiento (Smeriglio et al., 2018), *C. sinensis* con 4.3% al igual que *C. lemon* y para *C. clementina* 5,95% (Brahmi et al., 2021). Las condiciones de extracción, recolección, periodo de almacenamiento, su origen y las condiciones climáticas influyen en el rendimiento según las investigaciones publicadas.

Los antioxidantes se consideran trampas químicas que actúan como inhibidores hacia la oxidación, principalmente aquellos que se utilizan para evitar el deterioro de los productos alimenticios almacenados. Existen numerosos antioxidantes se encuentran disponibles comercialmente para su uso en alimentos; sin embargo, es mejor utilizar antioxidantes naturales que sintéticos debido a su seguridad, propiedades funcionales y sensoriales (Napoli et al., 2023). Los datos obtenidos con valores más altos de capacidad antioxidante en ambos métodos como DPPH y ABTS⁺ fueron del AE extraído de piel de *C. limetta* sp. con 89,63% y 1592.38 ($\mu\text{mol TE/g}$ de AE) respectivamente. Las diferencias observadas en ambas técnicas se deben al mecanismo de acción diferente que proporciona cada ensayo (Raspo et al., 2020). Mediante el método de DPPH el AE extraído de piel de *C. limetta* Risso fue de 68,63% y 54% de *C. sinensis*, mientras que en el método ABTS⁺ se logró obtener los mismos resultados siendo el AE de piel de *C. limetta* Risso (959.25 $\mu\text{mol TE/g}$) el que contiene mejor capacidad antioxidante en comparación al AE de la piel de naranja (586.75 $\mu\text{mol TE/g}$). En las dos técnicas se puede observar que el AE extraído de la piel de *C. limetta* Risso mostró mayor actividad antioxidante a diferencia de la naranja, esto se debe a que presenta un mayor contenido de limoneno y linalol. Por otro lado, los datos obtenidos fueron superiores a los reportados en investigaciones

similares que midieron la capacidad antioxidante por DPPH del AE de la piel de Naranja Navel con 44,45% (Brahmi et al., 2021).

El contenido total de polifenoles (CPT) se obtuvieron datos cuantitativos de los aceites esenciales de cítricos. El AE de piel de *C. limetta* sp. presentó un mayor CPT (680.78 mg AGE/g) seguido de *C. reticulata* (420.28 mg AGE/g) a diferencia que el AE de piel de *C. limetta* Risso (217.78 mg AGE/g) y *C. sinensis* presentaron bajo contenido de CPT (112 mg AGE/g). Sin embargo, en investigaciones anteriores, reportaron valores inferiores en cuanto al contenido total de polifenoles de *C. reticulata* con 104,2–172,1 mg GAE/g (Ndayishimiye et al., 2018; Smeriglio et al., 2018). La presencia del alto contenido de fenoles y flavonoides en el AE esencial de piel de *C. limetta* sp. es la razón por la cual presenta mayor contenido de polifenoles y flavonoides (23.18 mg QE/g) (Maurya et al., 2018).

De acuerdo a los resultados obtenidos de los espectros de los aceites esenciales en la región de 800 -1200 cm^{-1} mostraron siete picos Raman para el aceite esencial de piel de naranja (803.15, 893.32, 923.38, 1028.57, 1082.24, 1116.59, 1157.38 cm^{-1}), seguido de la lima (805.30, 891.17, 923.38, 1019.98, 1084.39, 1118.74, 1161.67 cm^{-1}) y limón dulce (809.59, 897.61, 931.96, 1035.01, 1084.39, 1127.32, 1165.97 cm^{-1}) mientras que para mandarina tan solo mostraron seis picos Raman (808.33, 892.21, 1014.8, 1087.93, 1126.64, 1163.2 cm^{-1}), los cuales son característicos del esqueleto C-C. Los espectros en la región mencionada coinciden con algunas investigaciones anteriores, de aceite esencial de semilla de peonía, donde también evaluaron en la región de 800–1200 cm^{-1} pero mostraron cuatro picos Raman (872, 973, 1084, 1160 cm^{-1}) mencionando que estos pertenecían al esqueleto C-C (Wang et al., 2021). En otra investigación mencionaron que el limoneno representa la vibración de flexión de = CH a 886 cm^{-1} para el doble enlace disustituido, lo que indica que el aceite de cítricos es un quimiotipo de limoneno (Akolade et al., 2020). Entonces los picos Raman obtenidos de los cuatro aceites esenciales de *C. sinensis*, *C. limetta* Risso, *C. limetta* sp. y *C. reticulata* son indicativos de la presencia de este compuesto en los picos de 893.32, 897.61, 892.21, 891.17 cm^{-1} respectivamente.

Mahato et al. (2019), mencionaron que las cumarinas naturales y furanocumarinas, son bien conocidas por proteger a las plantas contra las infecciones por hongos. Según Fan et al. (2015), los aceites esenciales de las pieles de los cítricos contienen estos compuestos y en los resultados obtenidos, el AE de *C. limetta* Risso y *C. reticulata* presentaron

compuestos de cumarinas y el AE de *C. reticulata* se identificó y cuantificó el ácido p-cumárico. Esto indica que estos AE podrían utilizarse como agentes antimicóticos naturales.

El compuesto mayoritario identificado en los cuatro aceites esenciales de *C. sinensis* (67,72%), *C. limetta* Risso (37,05%), *C. reticulata* (70,99%) y *C. limetta* sp (72,52%) es el compuesto D-limoneno, se encuentra dentro del grupo de los monoterpenos y se puede utilizar como aroma en perfumes, jabones, cremas, lociones, detergentes y como saborizante en alimentos y bebidas (Wei et al., 2023). Los valores obtenidos de D-limoneno son similares con varias investigaciones que mostraron hallazgos similares, como por ejemplo, Visakh et al. (2022) determinaron el mismo compuesto (D-limoneno) que se encuentra con mayor abundancia en los aceites esenciales de cítricos de *C. limetta* (85,71%), *C. limon* (56,89%), *C. reticulata* (78,44%) y *C. aurantifolia* (32,43%).

El valor del índice de refracción depende mucho de la densidad y el tiempo de extracción, ya que ello indica el cambio en la composición de cada una de las muestras. Los aceites esenciales de pieles de cítricos presentaron un índice de refracción en un rango de 1.468 – 1.475. El AE extraído de la piel de lima presentó un menor índice de refracción (1.468) mientras que el AE de piel de naranja presentó un mayor índice de refracción (1.475). Se ha determinado que mientras menor es el índice de refracción la muestra contiene compuestos más ligeros como los terpenos y si el índice de refracción es mayor, es un indicador que presenta compuestos más pesados como los oxigenados (Padilla-De la Rosa et al., 2021).

El DSC es utilizado para identificar como el aceite esencial se evapora con mayor rapidez y cuanta es la energía requerida para que se pueda llevar a cabo dicho proceso. A partir de las curvas DSC se logró determinar la temperatura de inicio de cada una de las muestras, dicha temperatura es un indicador de la susceptibilidad oxidativa de los aceites esenciales. Si una muestra presenta una alta temperatura de inicio esto indica que presenta una estabilidad mucho mayor en comparación a las demás muestras que fueron realizadas en las mismas condiciones, pero presentan una baja temperatura de inicio (Mohammadi & Ostovar, 2022). El aceite esencial de piel de *C. limetta* Risso (58.38°C) presenta una estabilidad oxidativa mucho mayor por presentar una alta temperatura de inicio a diferencia de los aceites esenciales de piel de *C. sinensis* (49.44°C), *C. limetta* sp. (38.80°C) y *C. reticulata* (26.19°C). De la figura 4 se observa que en cada una de las

muestras de aceite esencial tienen una temperatura de inicio o de fusión y una temperatura final en el que sucede un proceso de fusión entre los valores de aquellas temperaturas. Este proceso causa una rápida absorción de calor y por consecuencia el incremento del calor específico, esto explica del porque el flujo de calor presenta picos negativos y el calor específico presenta picos positivos (Li et al., 2018). Además, se puede observar que a partir de la temperatura final se muestra un incremento constante del calor específico en función al aumento de la temperatura.

V. CONCLUSIONES

Se logró caracterizar los aceites esenciales de *C. sinensis*, *C. limetta* Risso, *C. reticulata* y *C. limetta* sp. encontrando diferencias significativas en cada una de sus propiedades. El rendimiento de los aceites esenciales varía debido a la variedad de los cítricos, condiciones del cultivo, manejo postcosecha y las condiciones de extracción. El aceite esencial de *C. limetta* sp. y *C. reticulata* presentan un gran potencial antioxidante según los resultados obtenidos en cuanto a su capacidad antioxidante mediante DPPH (89,63%; 72,92%) y ABTS⁺ (1592,38 $\mu\text{mol TE/g}$; 1216,13 $\mu\text{mol TE/g}$) y capacidad total de polifenoles (680.78 mg AGE/g; 420.28 mg AGE/g) respectivamente. Los tres compuestos fenólicos más representativos son cumarinas, psoraleno y ácido p-cumárico en los aceites esenciales así mismo el compuesto volátil del D-limoneno es el que caracteriza y predomina en los cítricos.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abedigamba, O., Mndeme, F., Mawire, A., & Bahadur, I. (2023). Thermo-physical properties and thermal energy storage performance of two vegetable oils. *Journal of Energy Storage*, 61(January), 106774. <https://doi.org/10.1016/j.est.2023.106774>
- Ademosun, A. (2022). Citrus peels odyssey: From the waste bin to the lab bench to the dining table. *Applied Food Research*, 2(1), 100083. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100083>
- Akolade, J. O., Nasir-Naeem, K. O., Swanepoel, A., Yusuf, A. A., Balogun, M., & Labuschagne, P. (2020). CO₂-assisted production of polyethylene glycol / lauric acid microparticles for extended release of Citrus aurantifolia essential oil. *Journal of CO₂ Utilization*, 38(March), 375–384. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2020.02.014>
- Brahmi, F., Mokhtari, O., Legssyer, B., Hamdani, I., Asehrou, A., Hasnaoui, I., Rokni, Y., Diass, K., Oualdi, I., & Tahani, A. (2021). Chemical and biological characterization of essential oils extracted from citrus fruits peels. *Materials Today: Proceedings*, 45(xxxx), 7794–7799. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.03.587>
- Castro-Alayo, E. M., Torrejón-Valqui, L., Cayo-Colca, I. S., & Cárdenas-Toro, F. P. (2021). Evaluation of the miscibility of novel cocoa butter equivalents by Raman mapping and multivariate curve resolution–alternating least squares. *Foods*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/foods10123101>
- Cruz, J. F. M., Leite, P. B., Soares, S. E., & Bispo, E. da S. (2015). Bioactive compounds in different cocoa (*Theobroma cacao*, L) cultivars during fermentation. *Food Science and Technology (Brazil)*, 35(2), 279–284. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6541>
- Cvjetko, M., Vidović, S., Radojčić, I., & Jokić, S. (2018). New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. *Food and Bioprocess Processing*, 109, 52–73. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.03.001>
- Dao, P., Tran, N. Y. T., Tran, Q., Bach, G., & Lam, T. (2022). Kinetics of pilot-scale essential oil extraction from pomelo (*Citrus maxima*) peels: Comparison between linear and nonlinear models. *Alexandria Engineering Journal*, 61(3), 2564–2572.

<https://doi.org/10.1016/j.aej.2021.07.002>

- Dao, T., Tran, N., Tran, T., & Lam, V. T. (2021). Assessing the kinetic model on extraction of essential oil and chemical composition from lemon peels (*Citrus aurantifolia*) by hydro-distillation process. *Materials Today: Proceedings*, 51, 172–177. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.05.069>
- Fan, H., Wu, Q., Simon, J. E., Lou, S. N., & Ho, C. T. (2015). Authenticity analysis of citrus essential oils by HPLC-UV-MS on oxygenated heterocyclic components. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(1), 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.05.008>
- Gómez-Mejía, E., Rosales-Conrado, N., León-González, M., & Madrid, Y. (2019). Citrus peels waste as a source of value-added compounds: Extraction and quantification of bioactive polyphenols. *Food Chemistry*, 295(November 2018), 289–299. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.136>
- Guo, J., Gao, Z., Xia, J., Ritenour, M., Li, G., & Shan, Y. (2018). Comparative analysis of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of citrus essential oils from the main cultivated varieties in China. *Lwt*, 97(July), 825–839. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.060>
- Hu, Y., Kou, G., Chen, Q., Li, Y., & Zhou, Z. (2019). Protection and delivery of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) peel extracts by encapsulation of whey protein concentrate nanoparticles. *Lwt*, 99(September 2018), 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.044>
- Koolaji, N., Shammugasamy, B., Schindeler, A., Dong, Q., Dehghani, F., & Valtchev, P. (2020). Citrus Peel Flavonoids as Potential Cancer Prevention Agents. *Current Developments in Nutrition*, 4(5), 4005008. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzaa025>
- Li, Y., Wu, C., Wu, T., Wang, L., Chen, S., Ding, T., & Hu, Y. (2018). Preparation and characterization of citrus essential oils loaded in chitosan microcapsules by using different emulsifiers. *Journal of Food Engineering*, 217, 108–114. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.08.026>

- Liu, S., Li, S., & Chi-Tang, H. (2022). Dietary bioactives and essential oils of lemon and lime fruits. *Food Science and Human Wellness*, 11(4), 753–764. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.03.001>
- Lubinska-szczygeł, M., Kuczy, A., Polkowska, Z., Katrich, E., & Gorinstein, S. (2023). Determination of the Major By-Products of Citrus hystrix Peel and Their Characteristics in the Context of Utilization in the Industry. *Molecules*, 28(6), 3. <https://doi.org/10.3390/molecules28062596>
- Mahato, N., Sinha, M., Sharma, K., Koteswararao, R., & Cho, M. H. (2019). Modern extraction and purification techniques for obtaining high purity food-grade bioactive compounds and value-added co-products from citrus wastes. *Foods*, 8(11), 1–81. <https://doi.org/10.3390/foods8110523>
- Maurya, A., Mohanty, S., Pal, A., Chanotiya, C., & Bawankule, D. (2018). The essential oil from Citrus limetta Risso peels alleviates skin inflammation: In-vitro and in-vivo study. *Journal of Ethnopharmacology*, 212(October 2017), 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.10.018>
- Mohammadi, N., & Ostovar, N. (2022). Essential oil composition of Polylophium Involucratum and evaluation of antioxidant capacity of seeds ethanolic extracts by DSC. *Food Chemistry Advances*, 1(April), 100066. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100066>
- Mora-Zúñiga, A. E., Treviño-Garza, M. Z., Amaya, C. A., Galindo, S. A., Castillo, S., Martínez-Rojas, E., Rodríguez-Rodríguez, J., & Báez-González, J. G. (2022). Comparison of Chemical Composition, Physicochemical Parameters, and Antioxidant and Antibacterial Activity of the Essential Oil of Cultivated and Wild Mexican Oregano *Poliomintha longiflora* Gray. *Plants*, 11(14). <https://doi.org/10.3390/plants11141785>
- Napoli, M. Di, Castagliuolo, G., Badalamenti, N., Maresca, V., Basile, A., Bruno, M., Varcamonti, M., & Zanfardino, A. (2023). Citrus aurantium ‘Crispifolia’ Essential Oil: A Promise for Nutraceutical Applications. *Molecules*, 3(1), 153–164. <https://doi.org/10.3390/nutraceuticals3010011>

- Ndayishimiye, J., Jum, D., & Soo, B. (2018). Antioxidant and antimicrobial activity of oils obtained from a mixture of citrus by-products using a modified supercritical carbon dioxide. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 57, 339–348. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.08.041>
- Padilla-De la Rosa, J. D., Manzano-Alfaro, M. D., Gómez-Huerta, J. R., Arriola-Guevara, E., Guatemala-Morales, G., Cardador-Martínez, A., & Estarrón-Espinosa, M. (2021). Innovation in a continuous system of distillation by steam to obtain essential oil from persian lime juice (*Citrus latifolia tanaka*). *Molecules*, 26(14). <https://doi.org/10.3390/molecules26144172>
- Panwar, D., Saini, A., Panesar, P., & Chopra, H. (2021). Unraveling the scientific perspectives of citrus by-products utilization: Progress towards circular economy. *Trends in Food Science and Technology*, 111(October 2020), 549–562. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.018>
- Phat, D., Quyen, N., Truc, T., & Tan, V. (2021). Assessing the kinetic model on extraction of essential oil and chemical composition from lemon peels (*Citrus aurantifolia*) by hydro-distillation process. *Materials Today: Proceedings*, 51(xxxx), 172–177. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.05.069>
- Rafiq, S., Kaul, R., Sofi, S., Bashir, N., Nazir, F., & Ahmad, G. (2018). Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(4), 351–358. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.07.006>
- Raspo, M., Vignola, M., Andreatta, A., & Juliani, H. (2020). Antioxidant and antimicrobial activities of citrus essential oils from Argentina and the United States. *Food Bioscience*, 36, 100651. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100651>
- Shaw, D., Dutt, A., Paul, V., & Agarwal, A. (2023). Valorization of essential oils from citrus peel powder using hydro- distillation. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 32(September 2022), 101036. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101036>
- Singh, B., Singh, J., Kaur, A., & Yadav, M. (2021). Insights into the chemical composition and bioactivities of citrus peel essential oils. *Food Research International*, 143(January), 110231. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110231>

- Smeriglio, A., Alloisio, S., Raimondo, F., Denaro, M., Xiao, J., Cornara, L., & Trombetta, D. (2018). Essential oil of *Citrus lumia* Risso: Phytochemical profile, antioxidant properties and activity on the central nervous system. *Food and Chemical Toxicology*, *119*(November 2017), 407–416. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.12.053>
- Teigiserova, D., Tiruta-Barna, L., Ahmadi, A., Hamelin, L., & Thomsen, M. (2021). A step closer to circular bioeconomy for citrus peel waste: A review of yields and technologies for sustainable management of essential oils. *Journal of Environmental Management*, *280*(December 2020), 111832. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111832>
- Visakh, N., Pathrose, B., Chellappan, M., Ranjith, M., Sindhu, P., & Mathew, D. (2022). Chemical characterisation, insecticidal and antioxidant activities of essential oils from four *Citrus* spp. fruit peel waste. *Food Bioscience*, *50*(PB), 102163. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102163>
- Wang, H., Xin, Y., Ma, H., Fang, P., Li, C., Wan, X., He, Z., Jia, J., & Ling, Z. (2021). Rapid detection of Chinese-specific peony seed oil by using confocal Raman spectroscopy and chemometrics. *Food Chemistry*, *362*(500), 130041. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130041>
- Wang, Z., Mei, X., Chen, X., Rao, S., Ju, T., Li, J., & Yang, Z. (2023). Extraction and recovery of bioactive soluble phenolic compounds from brocade orange (*Citrus sinensis*) peels: Effect of different extraction methods thereon. *Lwt*, *173*(November 2022), 114337. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114337>
- Wei, L., Yu, X., Li, H., Zhu, M., Pu, D., Lu, Q., Bao, Y., & Zu, Y. (2023). Optimization of solvent-free microwave extraction of essential oil from the fresh peel of *Citrus medica* L. var. *arcodactylis* Swingle by response surface methodology, chemical composition and activity characterization. *Scientia Horticulturae*, *309*(November 2022). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111663>
- Yingngam, B., Brantner, A., Treichler, M., Brugger, N., Navabhatra, A., & Nakonrat, P. (2021). Optimization of the eco-friendly solvent-free microwave extraction of *Limnophila aromatica* essential oil. *Industrial Crops and Products*, *165*(March), 113443. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113443>

ANEXOS



Figura 8. Ubicación y recolección de muestra de las pieles de cuatro cítricos



Figura 9. Recolección de muestra de Lima (*C. limetta* Risso), limón dulce (*C. limetta* sp.) y mandarina (*C. reticulata*)



Figura 10. Proceso de extracción de las pieles de los cuatro cítricos



Figura 11. Separación de aceite esencial de los cuatro cítricos mediante jeringas

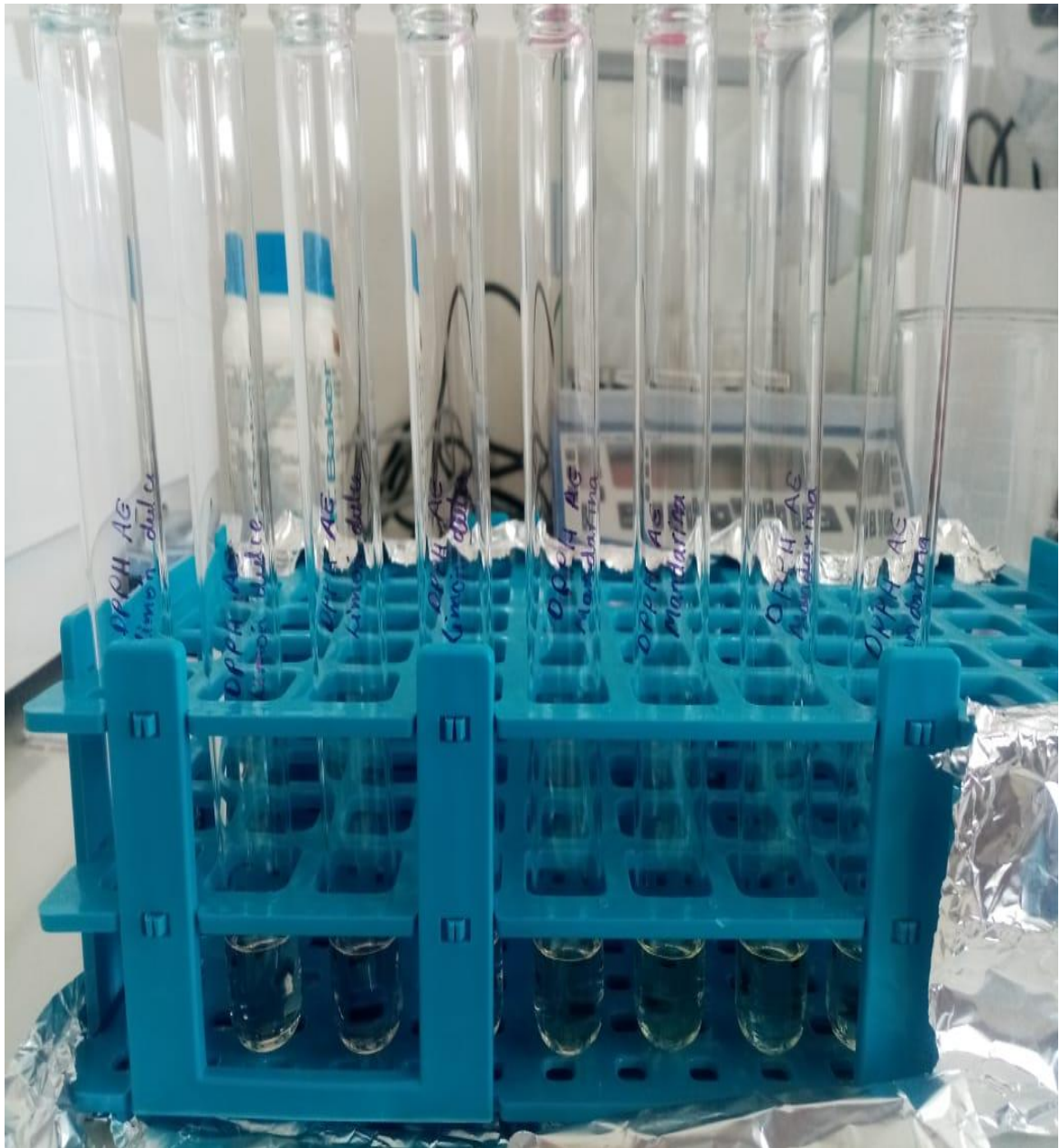


Figura 12. Actividad antioxidante de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos mediante el método DPPH y ABTS en aceites esenciales



Figura 13. Actividad antioxidante mediante DPPH y ABTS en el equipo espectrofotómetro



Figura 14. Contenido fenólico total de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos mediante el método de Folin-Ciocalteu



Figura 15. Contenido total de flavonoides de los aceites esenciales de pieles de cítricos



Figura 16. Índice de refracción de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos



Figura 17. Capacidad calorífica específica de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos



Figura 18. Capacidad calorífica específica de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos en el equipo DSC



Figura 19. Solventes filtrados para la cuantificación de fenoles de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos por UHPLC



Figura 20. Cuantificación de fenoles de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos por UHPLC



Figura 21. Cuantificación de fenoles de los cuatro aceites esenciales de pieles de cítricos por GC-MS

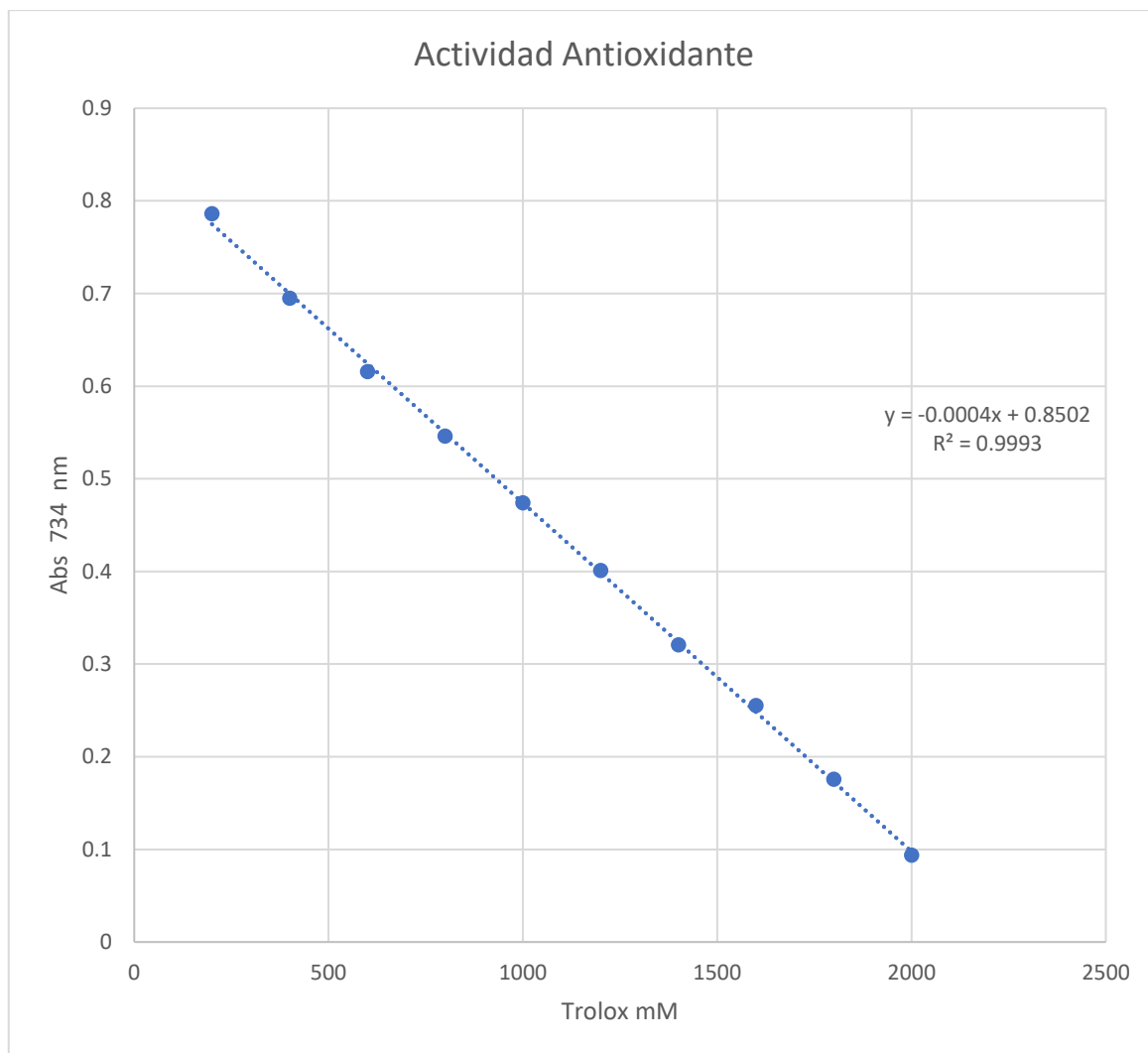


Figura 22. Curva de calibración con estándar de Trolox a 734 nm

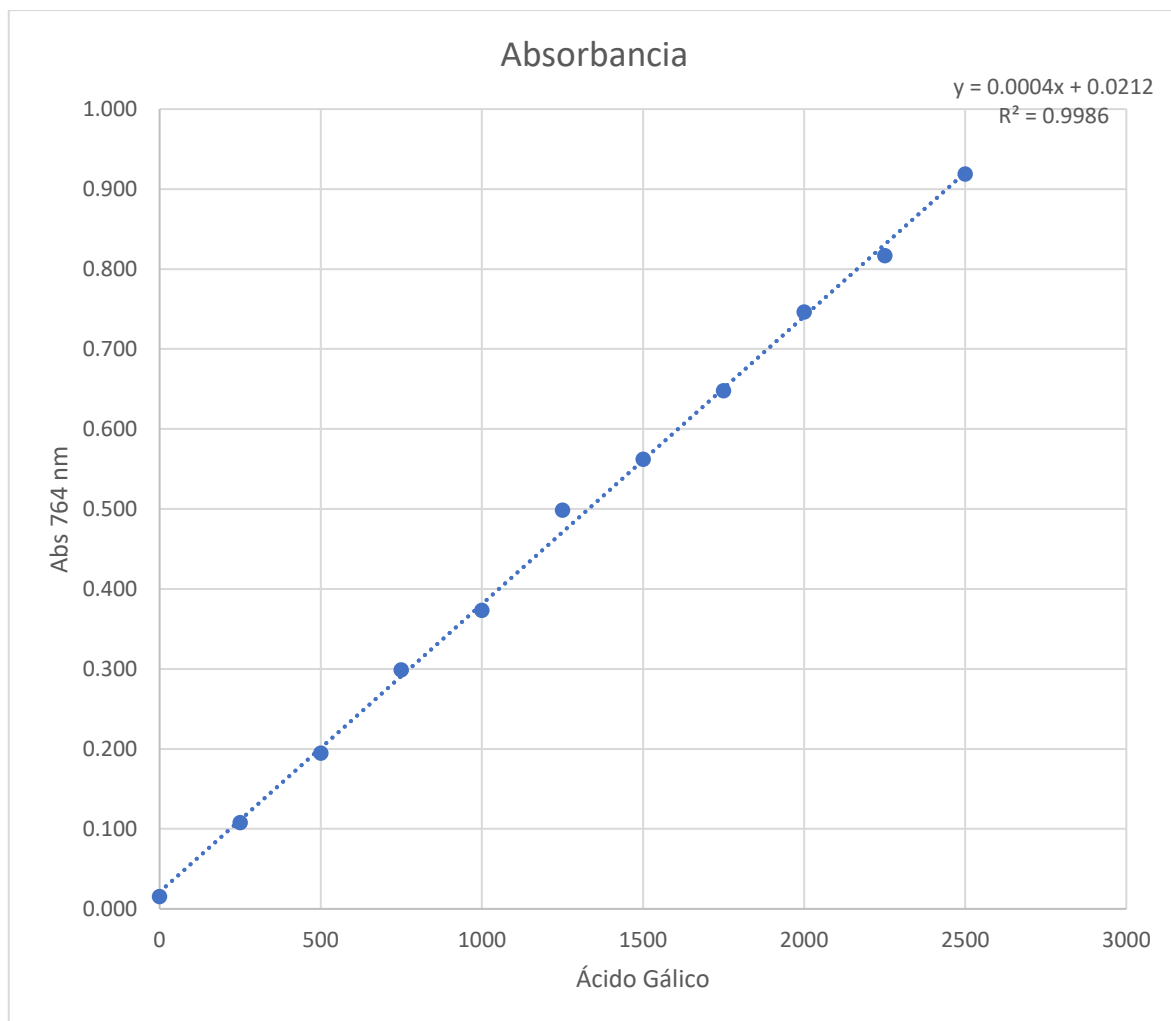


Figura 23. Curva de calibración con estándar de ácido gálico (10mg/100ml) a 764 nm

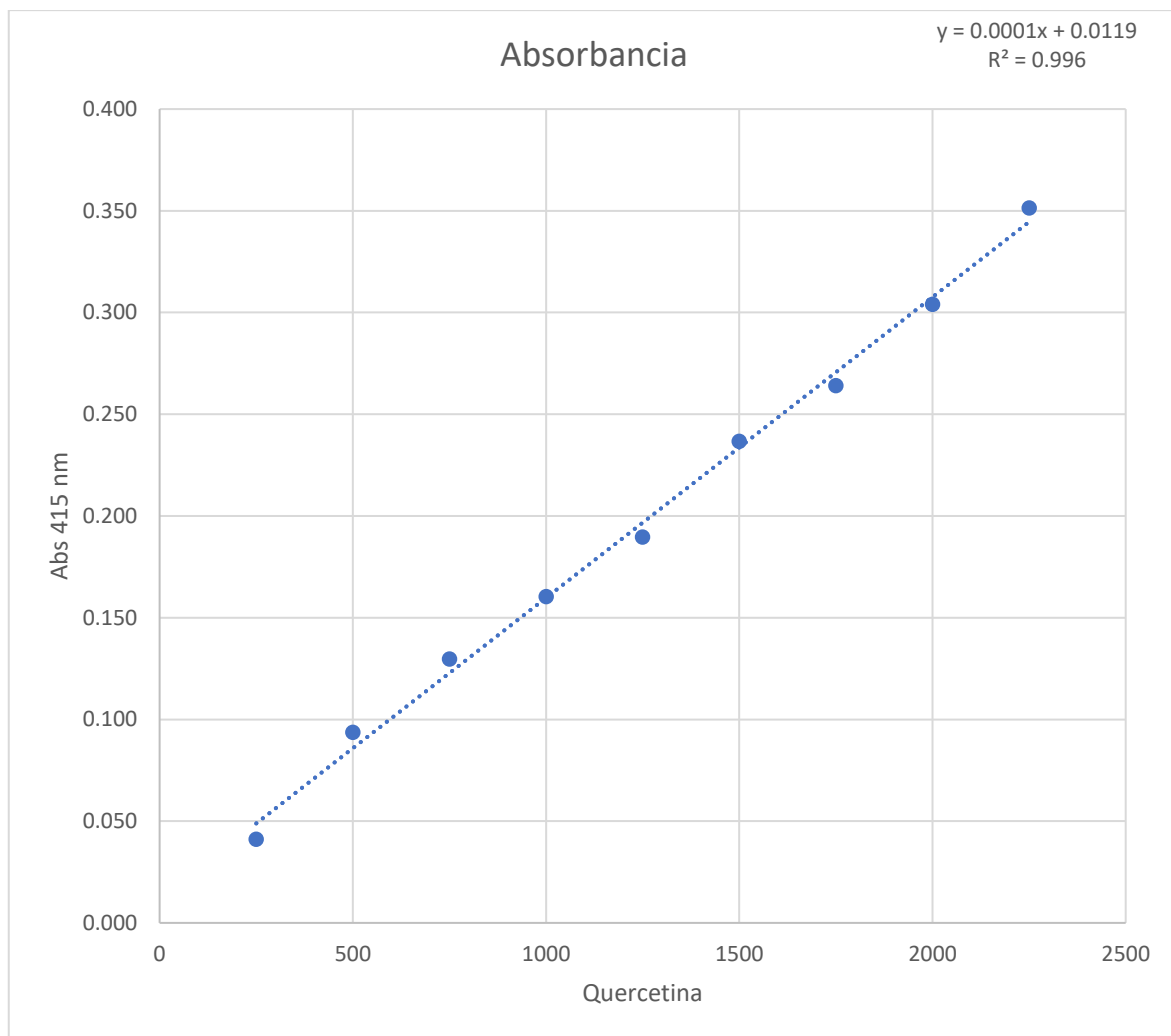


Figura 24. Curva de calibración con estándar de quercetina (2.5mg/50ml) a 415 nm

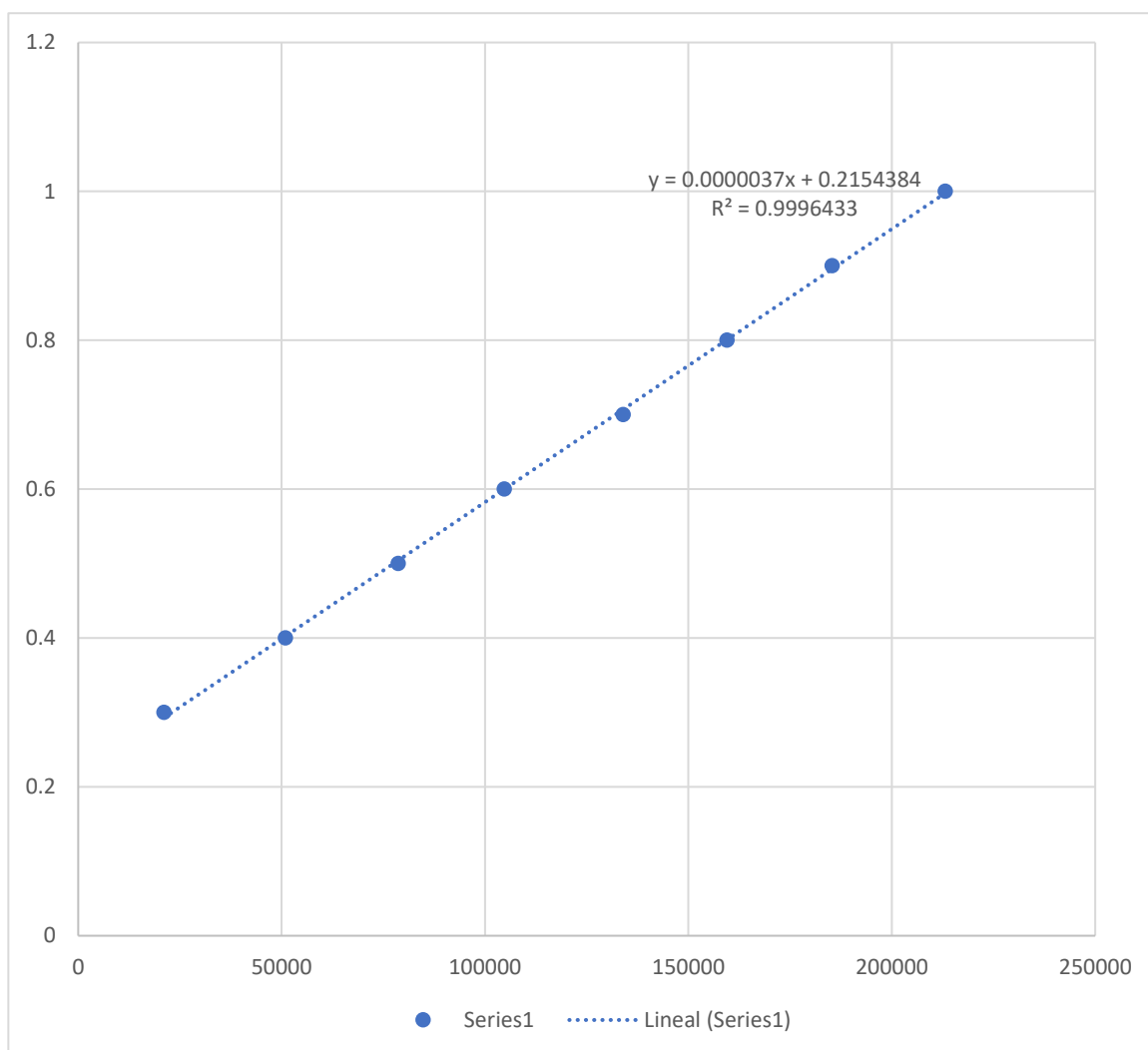


Figura 25. Curva de calibración con estándar de cumarina a 280 nm

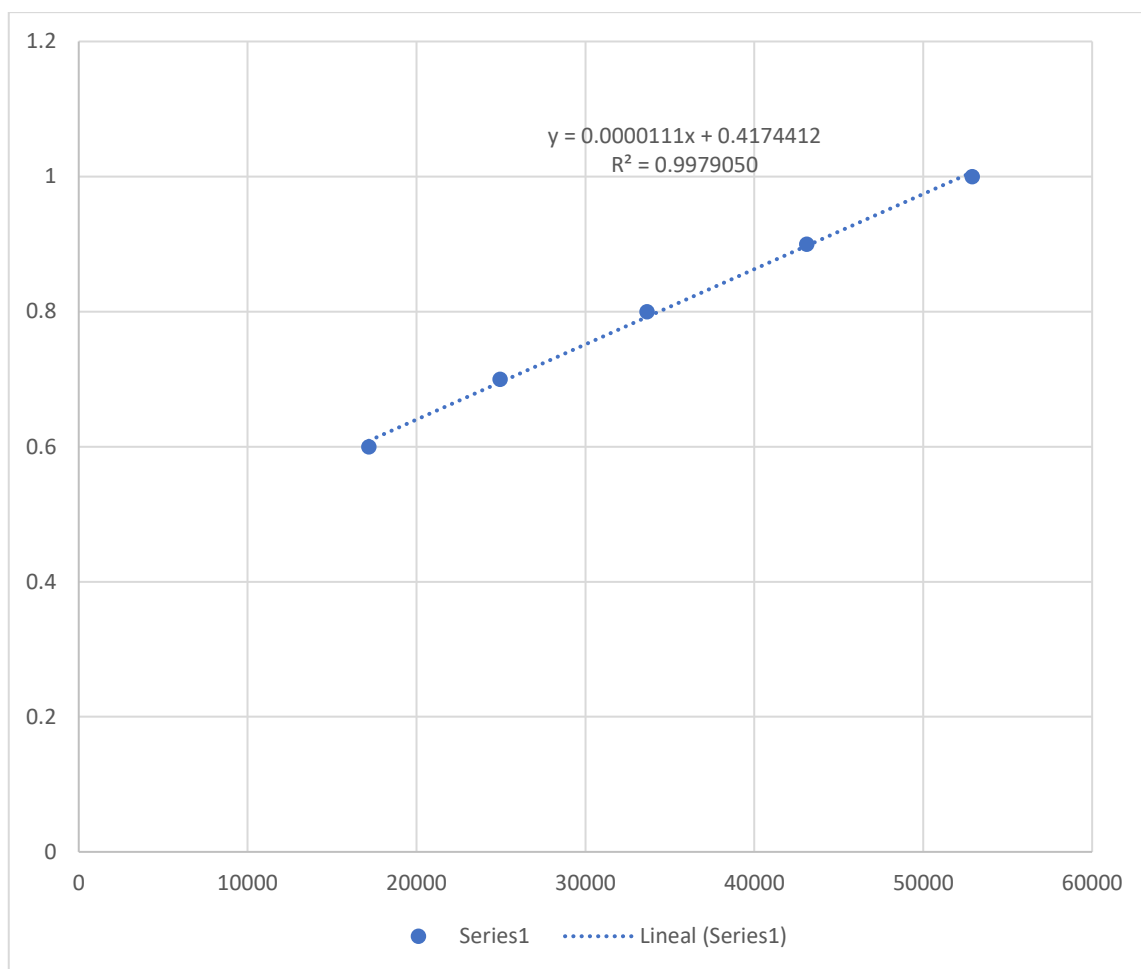


Figura 26. Curva de calibración con estándar de Psoraleno a 280 nm

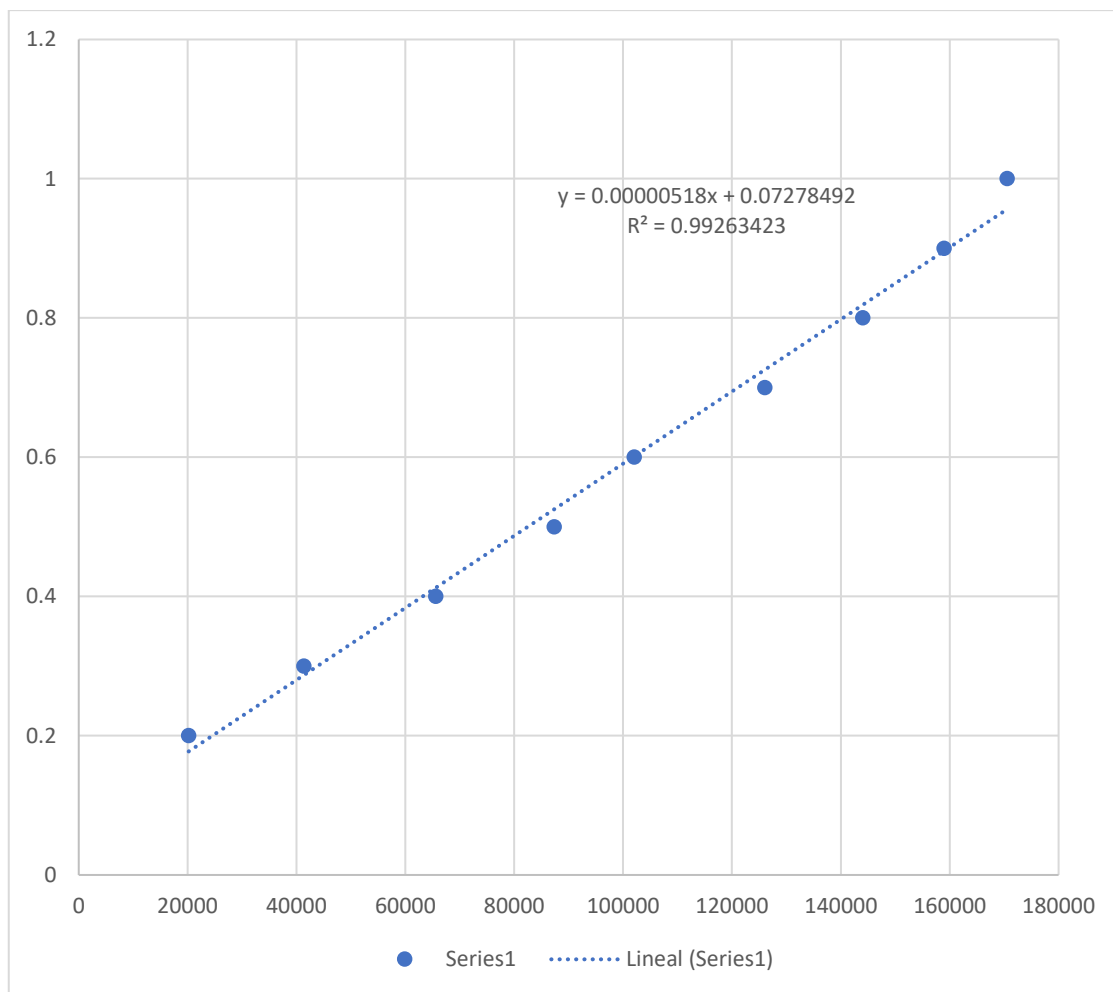


Figura 27. Curva de calibración con estándar de ácido p-cumárico a 280 nm