Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riiit.com.mx

Propiedades fisicoquímicas y bioactivas de películas orales a base de biopolímeros con jugo de granada y aceite esencial de menta

Physicochemical and bioactive properties of biopolymer-based oral films incorporating pomegranate juice and peppermint essential oil

Rosales-Celso, J.I.[a], Islas-Moreno, A.[a], Cenobio-Galindo, A.J.[a], León-López, A.[b], Leyva-López, R.[b], Aguirre-Álvarez, G.[a,c]*

[a] Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Av. Universidad No. 133. Col. San Miguel Huatengo. C. P. 43775. Santiago Tulantepec, Hidalgo. México. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2240-1134, https://orcid.org/0000-0002-1693-564X, https://orcid.org/0000-0003-3098-0487, https://orcid.org/0000-0001-7652-2647*.

[b] Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico Superior de Venustiano Carranza Av. Tecnológico S/N, Col. el Huasteco, Ciudad Lázaro Cárdenas, Puebla 73049, México. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9781-9423, https://orcid.org/0000-0002-0307-0325.

[c] Uni-Collagen S.A. de C.V., Arnulfo González No. 203, El Paraíso, Tulancingo C.P. 43684, Hidalgo, México. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7652-2647*.

jenniitzelr@gmail.com; asael_islas@uaeh.edu.mx; antonio_cenobio@uaeh.edu.mx; arely.leon@itsvc.edu.mx, roman.leyva@itsvc.edu.mx; aguirre@uaeh.edu.mx*.

Innovación tecnológica: Formulación de películas orales con alta capacidad antioxidante mediante la incorporación sinérgica de compuestos bioactivos naturales.

Área de aplicación industrial: Aplicable en la industria de alimentos funcionales y confitería saludable.

Recibido: 30 julio 2026
Aceptado: 21 agosto 2026

Abstract

Oral films (OFs) were developed using gelatin (2%), maltodextrin (1%), and Tween 80 (0.5%), incorporating pomegranate juice at three different concentrations—30% (OF1), 40% (OF2), and 50% (OF3)—along with peppermint essential oil (2%), to characterize their physicochemical (proximal analysis, pH, thickness, degradation time, and color) and functional (antioxidant activity) properties. The recorded thicknesses ranged from 0.04 to 0.05 mm, while the pH varied from 6.83 ± 0.26 to 3.56 ± 0.38, indicating thin films with an acidic character. Regarding the colorimetric analysis, the obtained parameters were: L* values between 87.52 ± 1.03 and 74.86 ± 1.42, a* values between 0.40 ± 0.18 and 14.61 ± 1.00, and b* values between 5.41 ± 0.24 and 1.25 ± 0.20, reflecting

luminous matrices with a reddish hue and a slight tendency toward yellow. The dissolution time ranged from 28.33 ± 3.51 to 52.33 ± 3.06 s, a behavior associated with the hydrophilic nature of the films. This trend was also reflected in the thermal analysis, where the glass transition temperature (T g) was 93.89 °C for formulation OF1 and decreased to 63.07 °C for OF3, suggesting lower polymeric matrix stability in the latter. Fourier-transform infrared (FTIR) spectra showed no significant variations among the evaluated formulations. Finally, the free radical inhibition capacity, determined through ABTS (89.70 ± 0.54%) and DPPH (68.14 ± 1.57%) assays for treatment OF3, revealed an antioxidant activity attributable to the presence of phenolic compounds, flavonoids, and anthocyanins.

Keywords: biopolymers, oral films, pomegranate, antioxidant activity.

Resumen

Se desarrollaron películas orales (OF) formuladas con gelatina (2%), maltodextrina (1%) y tween 80 (0.5%), a las que se incorporó jugo de granada en tres distintas proporciones: 30% (OF1), 40% (OF2) y 50% (OF3) junto con aceite esencial de menta (2%), con el fin de caracterizar sus propiedades fisicoquímicas (análisis proximal, espesor, pH, tiempo de desintegración y color) y funcionales (actividad antioxidante). Los espesores registrados se ubicaron entre 0.04 y 0.05 mm, mientras que el pH varió de 6.83±0.26 a 3.56±0.38, lo cual es indicativo de películas delgadas de carácter ácido. Respecto a la determinación colorimétrica, los parámetros obtenidos fueron: L entre 87.52±1.03 y 74.86±1.42, a* entre 0.40±0.18 y 14.61±1.00, y b* entre 5.41±0.24 y 1.25±0.20, valores que reflejan matrices luminosas con tonalidad rojiza y una leve inclinación hacia el amarillo. Por su parte, el tiempo de disolución fluctuó entre 28.33±3.51 y 52.33±3.06 s, comportamiento asociado al carácter hidrofílico de las películas, tendencia que también se manifestó en el análisis térmico: la temperatura de transición vítrea (Tg) fue de 93.89 °C en la formulación OF1 y descendió hasta 63.07 °C en OF3, lo que sugeriría una menor estabilidad de la matriz polimérica en esta última. Los espectros obtenidos mediante FTIR no evidenciaron variaciones significativas entre las distintas formulaciones evaluadas. Finalmente, la capacidad de inhibición de radicales libres, determinada mediante los ensayos de ABTS (89.70±0.54%) y DPPH (68.14±1.57%) en el tratamiento OF3, evidenció actividad antioxidante atribuible a la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas.

Palabras clave: biopolímeros, películas orales, granada, actividad antioxidante.

1. Introducción

Las películas de disolución oral también se reconocen en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP32-NF27) como láminas delgadas que se introducen en la boca y que pueden contener una o más capas de sustancias activas [1]. Estas láminas delgadas y flexibles surgieron a principios del año 2002 con un espesor de 5-150 µm y la cualidad de disolverse rápidamente (20-60 s) en presencia de la saliva [2, 3]. Gracias a su capacidad de desintegrarse rápidamente, las películas orales se introdujeron comercialmente como productos refrescantes

bucales destinados a atender casos de halitosis [4]. En la formulación de las películas orales intervienen diversos componentes, entre ellos polímeros, plastificantes, ingredientes activos, edulcorantes, agentes estimulantes de la salivación, saborizantes y colorantes [5, 6]. Dentro de los principales polímeros se encuentran aquellos de naturaleza hidrofílica, como la gelatina [2, 7, 8] que es obtenida a partir de la hidrólisis parcial del colágeno presente en huesos, tendones y pieles de animales (bovinos, porcinos, ovinos, aves y peces). La gelatina es una proteína ampliamente utilizada en la formulación de películas, gracias a propiedades como su biodegradabilidad, no toxicidad, solubilidad acuosa y biocompatibilidad [9, 10]. Sin embargo, suelen ser frágiles en condiciones específicas de temperatura (10 a 40 °C) y humedad (50 a 70 % HR). Además, suelen hincharse al estar en contacto con agua, es por ello que se ha reportado que la gelatina se ha combinado con otros polímeros, para mejorar las propiedades de estas [11, 12]. La maltodextrina, por ejemplo, es un carbohidrato que se obtiene mediante hidrólisis parcial del almidón ya sea por vía ácida o enzimática y está constituida por unidades de D-glucosa enlazadas mediante uniones glucosídicas α-1,4 [13, 14]. Diversos estudios han combinado la maltodextrina con otros polímeros para el desarrollo de películas orales, aprovechando su elevada solubilidad acuosa y su baja viscosidad, propiedades que contribuyen a acelerar su desintegración [15-17]. Debido a esta rápida disolución, las películas orales resultaron especialmente adecuadas para la administración de ingredientes farmacéuticos en pacientes pediátricos y geriátricos, poblaciones que con frecuencia presentan dificultades para deglutir tabletas, cápsulas o jarabes [18, 19]. Diversas investigaciones previas han incorporado productos farmacéuticos naturales en películas orales, confiriéndoles actividad antiinflamatoria, anticancerígena, anestésica, antibacteriana y antioxidante; dichos compuestos pueden obtenerse de distintas fuentes vegetales y frutales, entre ellas la granada (*Punica granatum L.*).

Entre las propiedades de la granada se encuentra su riqueza en vitaminas, minerales y compuestos bioactivos [20-22], destacando particularmente los polifenoles (antocianinas, flavonoles y taninos), a los cuales se atribuye principalmente su capacidad antioxidante [23-26]. Adicionalmente, las películas orales admiten la incorporación de otros ingredientes, entre ellos los aceites esenciales, siendo el de menta un ejemplo representativo. Este aceite se caracteriza por contener compuestos considerados bioactivos, tales como mentol y mentona. [27, 28].

Aunque diversas frutas han sido empleadas como fuente de compuestos bioactivos en el desarrollo de películas comestibles, la granada (*Punica granatum L.*) destaca por concentrar una de las mayores capacidades antioxidantes reportadas entre los frutos comúnmente estudiados, atribuible principalmente a los elagitaninos (punicalaginas) y antocianinas presentes en el arilo [18-21], además de constituir un cultivo de relevancia agroindustrial en regiones como Tasquillo, Hidalgo, lo que favorece su aprovechamiento como materia prima local. No obstante, la mayoría de los trabajos que han incorporado compuestos bioactivos de granada en películas comestibles han utilizado extractos o polvos obtenidos a partir de la cáscara [68, 70, 86], mediante procesos que habitualmente requieren solventes orgánicos y etapas adicionales de purificación y secado, lo que incrementa el costo y la complejidad del proceso. En contraste, el empleo directo del jugo de granada, obtenido únicamente mediante extracción mecánica y pasteurización, permite conservar la matriz natural del fruto, con sus azúcares, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos en su

proporción original, además de simplificar la obtención del ingrediente activo y de aportar potencialmente un efecto plastificante a la matriz polimérica. Esta aproximación ha sido documentada de forma parcial y únicamente en combinación con quitosano [76], por lo que, hasta donde se tiene conocimiento, no existen reportes de películas orales a base de gelatina y maltodextrina formuladas con jugo, y no extracto, de granada.

Por su parte, la incorporación del aceite esencial de menta responde a un doble criterio, funcional y sensorial: se ha reportado que el mentol y la mentona le confieren actividad antibacteriana y antibiofilm de interés para aplicaciones orales [22, 23], y su adición en películas a base de gelatina y quitosano ha mostrado efectos favorables sobre las propiedades de barrera y la capacidad antioxidante de la matriz [74, 82]. Adicionalmente, su carácter refrescante contribuye a atenuar la astringencia y acidez propias de los compuestos fenólicos de la granada, mejorando así la aceptabilidad sensorial del producto. Si bien la granada y la menta han sido incorporadas de manera independiente en distintos sistemas de películas comestibles, no se identificaron reportes que evalúen su combinación en una película oral a base de gelatina y maltodextrina, ni que caractericen de manera integral sus propiedades fisicoquímicas, térmicas y bioactivas. Este vacío en el conocimiento constituye la principal justificación del presente estudio.

En este contexto, esta investigación se propuso como objetivo la obtención y la caracterización, tanto fisicoquímica como de la actividad funcional, de una película oral formulada con gelatina, maltodextrina, incorporando jugo de granada (*Punica granatum L.*), aceite esencial de menta y tween como emulsionante.

2. Materiales y equipos

Se emplearon gelatina de piel de cerdo de 275° Bloom (Wilson Porcin Skin), maltodextrina (Mi Granero, México), tween 80 (Meyer, México) y aceite esencial de menta comestible (Naturaly, México), además de granadas de la variedad Wonderful, recolectadas para la obtención del jugo durante el periodo de junio a agosto del 2024 en el municipio de Tasquillo, Hidalgo, México.

3. Métodos experimentales

Obtención del jugo de granada

Las granadas se lavaron con agua destilada, se desinfectaron con hipoclorito de sodio a 200 ppm y se cortaron por la mitad para separar los arilos de la cáscara. El jugo se extrajo colocando manualmente los arilos en un extractor convencional, se pasteurizó a 65°C por 30 min y se almacenó en botellas ámbar a -8±2°C hasta su uso [29].

Caracterización del jugo de granada

El jugo de granada fue sometido a un análisis proximal que comprendió las siguientes determinaciones: °Brix (refractómetro digital), pH (método 981.12), humedad (método gravimétrico 925.45), proteína (método de Kjeldahl), grasa (extracción por Soxhlet), cenizas (método 940.26) y carbohidratos totales (cálculo por diferencia) [30].

Actividad antioxidante del jugo de Granada

Determinación de Fenoles totales

El contenido fenólico se determinó por el método de Folin-Ciocalteu [31]. Se mezclaron 500 µl de jugo con 2.5 ml de reactivo Folin-Ciocalteu diluido (1:10), dejando incubar 5 min; posteriormente se añadieron 2.5 ml de solución de Na_2CO_3 al 7.5% y se incubó 2 h en oscuridad a 25°C. La absorbancia se midió a 760 nm en un espectrofotómetro (JENWAY, Modelo 6705,

Dunmow, UK), con base en una curva de calibración de ácido gálico, reportando el contenido de fenoles totales en miligramos equivalentes de ácido gálico por litro de jugo (mg EAG/L).

Determinación de Flavonoides

Siguiendo la metodología de Arvouet-Grand, Vennat [32]. Se preparó una solución metanólica de $AlCl_3$ al 2%, mezclando 2 ml de jugo de granada diluido en agua destilada (1:10) con 2 ml de $AlCl_3$, y se dejó incubar 20 min en oscuridad a 25°C. La absorbancia se leyó a 415 nm en un espectrofotómetro (JENWAY, Modelo 6705, Dunmow, UK), con base en una curva de calibración de quercetina, expresando los resultados en mg EQ/L de jugo.

Determinación de Antocianinas

El contenido de antocianinas se determinó a través del método de diferencia de pH [33], para lo cual se prepararon dos buffers: uno a pH 1 (KCl 0.025 M) y otro a pH 4.5 ($C_2H_3NaO_2$ 4 M). Se tomaron alícuotas de 500 µl de jugo de granada, diluido previamente en agua (1:10), y se combinaron con 2 ml de cada buffer en tubos independientes. Después de agitar las muestras y dejarlas incubar por 15 min, se registró la absorbancia a 510 y 700 nm para ambos buffers. Con estos valores, se calculó la absorbancia final aplicando la Ec. (1):

$$A=(A_{510nm}-A_{700nm})_{pH1} - (A_{510nm}-A_{700nm})_{pH4.5} \quad \textbf{(Ec. 1)}$$

El contenido de antocianinas se expresó en mg/L mediante la **Ec. (2)**:

$$\text{Antocianina monomérica } \left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{A*PM*FD*100}{\varepsilon*1} \quad \textbf{(Ec. 2)}$$

Donde:
A= Diferencia de absorbancias pH 1- pH 4.5
PM= Peso molecular de Cianidina-3 (449.2 g/mol)
FD= Factor de dilución
ε= Absortividad molar (26,900 L/cm/mg)

Determinación de la actividad antioxidante por inhibición del radical 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS).

Siguiendo la metodología reportada por Re, Pellegrini [34], se evaluó la actividad antioxidante del jugo de granada. El procedimiento inició con la reacción entre el radical ABTS (7 µM) y persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$, 2.45 µM) en proporción 1:1, la cual se mantuvo protegida de la luz, con agitación constante, a temperatura ambiente y durante 16 h. El radical resultante fue posteriormente diluido con etanol al 20% hasta obtener una absorbancia de 0.7±0.02 a 734 nm, valor medido mediante espectrofotometría (JENWAY, Modelo 6705, Dunmow, UK). Para la determinación de la actividad antioxidante, se combinaron 2 ml de la solución del radical estabilizado con 200 µl de jugo de granada, permitiendo que la reacción se desarrollara en oscuridad durante 6 min a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo, se registró la absorbancia a 734 nm, y el porcentaje de inhibición del radical ABTS se calculó mediante la Ec. (3):

$$\% \text{ Inhibición} = \left(\frac{\text{Absorbancia inicial-Absorbancia final}}{\text{Absorbancia final}}\right) \text{ x } 100 \quad \textbf{(Ec. 3)}$$

Determinación de la actividad antioxidante por inhibición del radical 1,1 -difenil-2-picrilhidrazil (DPPH).

Siguiendo la metodología propuesta por Brand-Williams, Cuvelier [35], se determinó la actividad antioxidante mediante la preparación de una solución madre de DPPH ($6.1x10^{-5}$ M) diluida en metanol al 80%, ajustando la absorbancia a 0.7±0.02 a 515 nm de longitud de onda. Para el ensayo, se mezclaron 2.7 ml de la solución de DPPH estabilizada con 300 µl de jugo de granada, dejando reaccionar la mezcla por 30 min en condiciones de oscuridad. Finalmente, el porcentaje de inhibición del radical libre DPPH se determinó mediante la Ec. (4):

$$\% \text{ Inhibición} = \left(\frac{\text{Absorbancia inicial-Absorbancia final}}{\text{Absorbancia final}}\right) \text{x } 100 \qquad \textbf{(Ec. 4)}$$

Elaboración de las películas orales refrescantes

Las películas orales se elaboraron mediante el método de casting, con base en la metodología reportada por Borges, Silva [36] introduciendo algunas modificaciones. En primer lugar, se preparó la solución de gelatina y maltodextrina en agua destilada a 60°C por 10 min. De forma independiente, se preparó la solución de Tween 80 y aceite esencial de menta, disueltos en agua destilada con agitación constante a 40°C por 10 min. La cantidad de agua destilada usada para preparar ambas soluciones fue ajustada a la que se indicó en la tabla 1. Las soluciones se dejaron enfriar hasta 35°C, momento en el cual se mezclaron y se adicionó el jugo de granada manteniendo la agitación constante por 10 min a 35°C. La mezcla final se vació en cajas Petri de 9 cm de diámetro, dejándose secar a una temperatura de 25±2°C durante 24 h. Una vez finalizado el secado, las películas fueron despegadas de la placa y almacenadas en un desecador con sílica.

Tabla 1. Formulaciones de las películas orales.

Películas orales	Gelatina (%)	Maltodextrina (%)	Tween 80 (%)	Menta (%)	Jugo de granada (mL)	Agua destilada (mL)
Blanco	2	1	0.5	2	--	10
OF1	2	1	0.5	2	3	7
OF2	2	1	0.5	2	4	6
OF3	2	1	0.5	2	5	5

Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de las películas orales refrescantes

Análisis proximal de películas orales

Se llevó a cabo la determinación de humedad conforme al método 925.45, así como del contenido de proteína mediante el método de Kjeldahl, grasa a través de extracción por Soxhlet, cenizas siguiendo el método 940.26, y carbohidratos totales calculados por diferencia [30].

Espesor

Para la determinación del espesor, las películas se cortaron en tiras de 2x3 cm, midiéndose el grosor en seis puntos distintos con ayuda de un micrómetro digital (Mitutoyo, Japón), a partir de lo cual se

obtuvo el espesor promedio de 10 películas orales refrescantes por cada tratamiento [37].

pH de la película

La determinación del pH se realizó humedeciendo una muestra de película en 25 ml de agua destilada por un lapso de 2 min, para posteriormente poner en contacto el electrodo con la superficie humedecida y registrar la lectura. El procedimiento se efectuó por triplicado[38].

Color

Siguiendo la metodología propuesta por Himani, Kumar [39], el color se determinó con ayuda de un colorímetro CM-508d (Minolta, Tokio, Japón), evaluando los parámetros L (luminosidad), a* (positivo hacia el rojo, negativo hacia el verde) y b* (positivo hacia el amarillo, negativo hacia el azul) de cada muestra. Se realizaron tres mediciones por cada muestra analizada.

Tiempo de disolución de las películas orales refrescantes

Siguiendo la metodología de Himani, Kumar [39], a la cual se incorporaron algunas modificaciones. El ensayo requirió la preparación de un buffer de fosfato (2.38 g de Na_2HPO_4, 0.19 g de KH_2PO_4 y 8 g de NaCl por litro de agua destilada), ajustado a pH 6.8 con HCl. Fragmentos de película de 2x3 cm fueron sumergidos en 25 ml de dicho buffer, bajo agitación suave y a 37±0.5°C. El tiempo de disolución se determinó registrando el intervalo transcurrido entre el inicio de la ruptura de la película y su disolución completa.

Propiedades térmicas por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Para determinar la estabilidad térmica de las películas orales refrescantes, se utilizó un calorímetro diferencial de barrido (DSC) serie Q2000 con intercooler RCS 90 (TA Instruments; New Castle, Delaware, EE. UU.), operando bajo atmósfera de nitrógeno. Las muestras, de 5±0.1 mg, se analizaron con un flujo constante de nitrógeno de 10 ml/min, dentro de un rango térmico de 25 a 200 °C, a una velocidad de calentamiento de 10°C/min. El equipo se calibró previamente utilizando indio como metal de referencia (punto de fusión: 156.6°C; ΔH=28.5 J/g). A partir de la primera derivada de los termogramas se determinó la temperatura de transición vítrea (Tg), la cual corresponde a la línea base del termograma DSC durante la transición vítrea, específicamente en el punto medio de dicho tramo [40].

Análisis de Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

Para caracterizar espectralmente las películas orales delgadas, se utilizó un espectrofotómetro FTIR con accesorio de reflectancia total atenuada [41], que garantizó el contacto óptico necesario entre los componentes de la muestra. Se realizaron un total de 16 escaneos dentro del intervalo de 400 a 4000 cm^{-1}, empleando una resolución de 2 cm^{-1} y condiciones de temperatura ambiente [39].

Determinación de actividad antioxidante de las películas orales

Extracción de compuestos bioactivos de las películas orales

Siguiendo la metodología propuesta por Espino-Manzano, León-López [42], se llevó a cabo la extracción de compuestos bioactivos. Un gramo de película se disolvió en 10 ml de agua destilada y se sometió a baño ultrasónico (20°C, 30 min), seguido de centrifugación a 11,000 rpm a 4°C durante 20 min. El sobrenadante resultante se resguardó en un tubo de ensayo tapado y protegido de la luz, utilizándose posteriormente para la evaluación de su capacidad antioxidante a través de la determinación de fenoles [31], flavonoides [32], antocianinas [33] e

inhibición de radicales ABTS [34] y DPPH [35].

Análisis estadístico

Se empleó un diseño completamente al azar, considerando tres repeticiones por experimento. Para el análisis estadístico se aplicó un ANOVA, complementado con pruebas de Tukey ($p \leq 0.05$). El procesamiento de los datos se llevó a cabo mediante el software SPSS v25.

4. Resultados y discusiones

Caracterización químico proximal del jugo de granada

En la tabla 2 se presentan los resultados obtenidos del análisis químico proximal. Los valores registrados fueron: 90.63±2.28% de humedad, 0.42±0.12% de proteína, 0.18±0.01% de grasa, 0.20±0.0% de cenizas y 8.56±2.18% de carbohidratos. Estos resultados son consistentes con los reportados por Uzuner [24], quien encontró valores de 85.95% de humedad, 0.15% de proteína, 0.29% de grasa, 0.1% de fibra y 12.65% de carbohidratos al analizar fisicoquímicamente distintos cultivares de granada. Cabe señalar que el contenido de fibra no fue evaluado en este estudio, dado que el jugo se obtuvo exclusivamente a partir de los arilos de la granada; al respecto, diversas investigaciones señalan que la fibra en las frutas se concentra principalmente en la cáscara [43].

Por otra parte, el jugo de granada mostró un pH de 2.91±0.02 y 15.72±0.07 °Brix, valores ubicados dentro del intervalo de pH 2.8-3.6 y 13-16 °Brix reportado por Kandylis and Kokkinomagoulos [44] para la variedad Wonderful, aunque inferiores a los valores de pH 3.49 y 18.2 °Brix señalados por Labbe, Ulloa [45] para la misma variedad. Estas diferencias podrían atribuirse al grado de maduración de la fruta y al método de extracción empleado, factores que en conjunto influyen en las características finales del producto [46].

Tabla 2. Caracterización del jugo de granada.

Parámetro	Contenido
pH	2.91 ± 0.02
°Brix	15.72 ± 0.07
Humedad (%)	90.68 ± 2.28
Proteína (%)	0.42 ± 0.12
Grasa (%)	0.18 ± 0.01
Fibra (%)	N/D
Cenizas (%)	0.20 ± 0.03
Carbohidratos (%)	8.52 ± 2.36

Actividad antioxidante del jugo de granada

El jugo de granada destaca como fuente de compuestos bioactivos, entre ellos, ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas, cuyo aporte antioxidante ha impulsado el aumento en su consumo [47].

Los resultados de la actividad antioxidante del jugo de granada se muestran en la tabla 3, donde se observó una inhibición del radical ABTS de 99.10±0.33% y del radical DPPH de 90.58±2.98%. Ambos porcentajes fueron superiores a los reportados por Bopitiya and Madhujith [48] , cuyo rango de inhibición para ABTS osciló entre 72.73 y 93.1 %. Por su parte, Kaoutar, Loubna [49] registraron una inhibición del 53% para el radical DPPH en jugos obtenidos de arilos congelados correspondientes a las variedades "Sefri" y "Wonderful".

Dicha capacidad antioxidante puede atribuirse principalmente a compuestos fenólicos, entre los que se incluyen flavonoides, como los taninos hidrolizables y antocianinas [50].

Se registró un contenido de fenoles totales de 1117.33±5.00 mg EAG/L, valor que se ubica dentro del intervalo reportado por Gözlekçi, Saraçoğlu [51] quienes obtuvieron entre 784.4 y 1551.1 mg EAG/L en jugos de granada elaborados a partir de arilos. No

obstante, este resultado fue menor al señalado por Hmid, Elothmani [52] quienes al comparar el contenido de compuestos fenólicos entre diferentes cultivares de granada, reportaron valores de 1284 a 9476 mg EAG/L.

Respecto al contenido de flavonoides totales, se obtuvo un valor de 572.47±17.09 mg EQ/L, cifra que se asemeja al rango reportado por El Kar, Ferchichi [53], quienes registraron valores de 135 a 636 mg EQ/L en jugos de granada correspondientes a diversas variedades del Mediterráneo. No obstante, Habib, El-Gendi [54] documentaron valores más bajos, de 82.58 mg EQ/L, en concentrados de jugo de granada.

El jugo de granada analizado registró 177.92±7.14 mg C3G/L de antocianinas, cifra prácticamente equivalente a los 178.79 mg C3G/L descritos por Hmid, Elothmani [52] para la variedad Wonderful, lo que apunta a un perfil de antocianinas similar entre ambas muestras. En contraste, el valor obtenido fue considerablemente menor al documentado por Gil, Tomás-Barberán [55], quienes reportaron 387.4 mg C3G/L en jugos de esa misma variedad,

Labbe y colaboradores [45] señalan que la variedad, el grado de maduración y el método de extracción determinan las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes del jugo, pues el prensado del fruto completo extrae compuestos bioactivos de la cáscara [52], aumentando el contenido fenólico, como lo mencionan Gözlekçi, Saraçoğlu [51].

Tabla 3. Evaluación de actividad antioxidante del jugo de granada *(P. granatum)* obtenido por método de prensado manual.

Evaluación antioxidante	Contenido
Inhibición radical ABTS	99.10 ± 0.33%
Inhibición radical DPPH	90.58 ± 2.98%
Fenoles totales	1117.33 ± 5.00 (mg EAG/L)
Flavonoides totales	572.47 ± 17.09 (mg EQ/L)
Antocianinas totales	177.92 ± 7.14 (mg C3G/L)

Propiedades fisicoquímicas de las películas orales refrescantes

Análisis proximal en películas orales

El análisis proximal (Tabla 4) evidenció que la incorporación de jugo de granada modificó las propiedades de las películas obtenidas. En relación con el contenido de humedad, se identificaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los distintos tratamientos, registrándose el valor más alto en la formulación OF3, con 0.176±0.017%, en comparación con el blanco, que presentó 0.017±0.001%. Cabe resaltar que este parámetro tendió a incrementarse conforme aumentaba la proporción de jugo de granada en las formulaciones, comportamiento que podría asociarse a un mayor aporte de compuestos hidrofílicos en las mezclas [44].

Tabla 4. Análisis proximal en películas orales.

Películas orales	% Humedad	% Proteína	% Grasa	% Cenizas	% Carbohidratos
Blanco	0.017 ± 0.001^{d}	31.659 ± 0.498^{a}	1.661 ± 0.116^{a}	0.657 ± 0.003^{b}	66.007 ± 0.586^{c}
OF1	0.103 ± 0.009^{c}	13.955 ± 0.642^{b}	1.706 ± 0.117^{a}	1.222 ± 0.111^{a}	83.015 ± 0.809^{b}
OF2	0.144 ± 0.127^{b}	11.000 ± 0.191^{c}	1.856 ± 0.118^{a}	1.293 ± 0.096^{a}	85.707 ± 0.211^{a}
OF3	0.176 ± 0.017^{a}	10.134 ± 0.118^{c}	1.712 ± 0.119^{a}	1.232 ± 0.108^{a}	86.746 ± 0.260^{a}

$^{a, b, c, d}$ indican diferencias significativas por prueba Tukey ($p \leq 0.5$).

El análisis reveló diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el contenido proteico entre las distintas formulaciones. El tratamiento blanco registró la mayor concentración, con 31.66±0.50%, mientras que la formulación OF3 presentó el valor más bajo, con 10.13±0.2%. Esta tendencia resulta congruente con lo documentado por Aykin-Dinçer, Koç [56] , quienes reportaron un contenido de proteína de 88.45% en gelatina bovina comercial. Un aspecto destacable es que, a medida que se incrementó la proporción de jugo de granada en las formulaciones, el contenido proteico disminuyó progresivamente, fenómeno que podría atribuirse a un proceso de desnaturalización de las proteínas inducido por las condiciones ácidas del jugo [57].

El contenido lipídico no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos; los valores fluctuaron entre 1.66±0.12% en el blanco y 1.86±0.12% en OF2, posiblemente debido al aporte graso del jugo de granada, de 0.18%, y a los ácidos grasos del aceite esencial de menta.

El porcentaje de cenizas se mantuvo estadísticamente similar ($p > 0.05$) entre las formulaciones elaboradas con jugo de granada, diferenciándose únicamente del blanco, que registró el nivel más bajo, con 0.66±0.00%. Este patrón sugiere una asociación con el aporte mineral tanto del jugo de granada, con 0.20±0.03%, como de la gelatina incorporada en las mezclas.

El porcentaje de carbohidratos fue mayor en los tratamientos adicionados con jugo de granada en comparación con el blanco, alcanzando OF3 el valor más alto, con 86.75±0.26%, frente a 66.01±0.59% registrado por el blanco. Este incremento puede atribuirse a la presencia del jugo de granada y de la maltodextrina, esta última un carbohidrato compuesto por polímeros de glucosa derivados de la hidrólisis de almidones provenientes de fuentes como el maíz o el trigo [13]. Es pertinente discutir el posible riesgo cariogénico asociado al contenido de carbohidratos fermentables del jugo de granada (8.52%; 15.72°Brix, Tabla 2), dado que azúcares como la glucosa y la fructosa pueden ser metabolizados por bacterias cariogénicas (p. ej., *Streptococcus mutans*), generando ácidos orgánicos que favorecen la desmineralización del esmalte. No obstante, este riesgo podría verse parcialmente contrarrestado por la actividad antibacteriana del aceite esencial de menta frente a *S. mutans* [27, 28] y por el breve tiempo de disolución de la película (28.33-52.33 s), que limita el tiempo de exposición del esmalte al sustrato fermentable frente a productos de disolución prolongada.

Los resultados del análisis proximal obtenidos para las películas orales resultaron congruentes con lo reportado por Rodríguez, Sibaja [58], quienes, al caracterizar películas comestibles elaboradas con papaya, *Moringa oleífera* y ácido ascórbico, evidenciaron un notable valor nutricional asociado a la incorporación de compuestos antioxidantes, con contenidos de carbohidratos que oscilaron entre 71 y 85 %. De manera similar, Navas Guzmán and Espitia [59], en películas comestibles elaboradas a partir de frutas tropicales colombianas (papaya, maracuyá y piña), reportaron valores igualmente elevados de carbohidratos, situados entre 64.7 y 65.3 %.

Espesor

Los datos de espesor de las películas orales se muestran en la Figura 1, donde el análisis reveló diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre el blanco y las formulaciones con jugo de granada. Se registraron valores de 0.04±0.00 mm para el blanco y 0.05±0.00 mm para OF3, cifras que se enmarcan dentro del intervalo característico de las películas orales según Bala, Pawar [2], quienes

establecen un rango de 0.005 a 0.2 mm. Esto podría favorecer a una mayor penetración de moléculas de agua hacia el interior de la matriz polimérica, contribuyendo así a acelerar el proceso de desintegración de la película.

Las variaciones en el espesor asociadas a la incorporación de jugo de granada podrían explicarse por una alteración en los enlaces intermoleculares, provocada por los sólidos presentes en el jugo. Un comportamiento comparable fue reportado por Lim and Hadinoto [60] en películas a base de almidón adicionadas con distintas concentraciones de curcumina, quienes registraron espesores de 0.3 a 0.35 mm, atribuidos a la acumulación de curcumina dentro de las cadenas poliméricas de la película. En la misma línea, Garcia, Borges [61] reportaron espesores de 0.069 a 0.071 mm en películas orales elaboradas con gelatina y almidón pregelatinizado, incorporando distintas concentraciones de acerola.

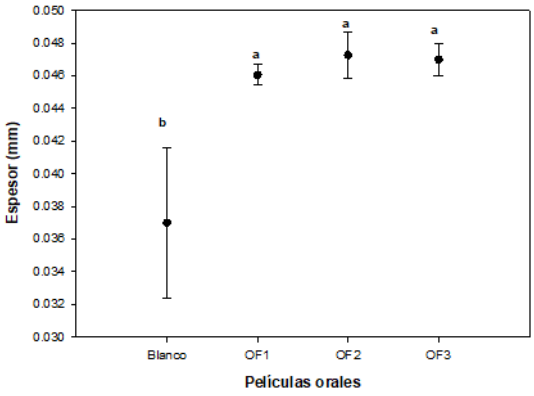


Figura 1. Espesor en películas orales.
[a, b] indican diferencias significativas por prueba Tukey (p≤0.5).

pH de películas orales

En relación con el pH, el blanco presentó un valor de 6.83±0.26, el cual disminuyó a 3.56±0.38 con la incorporación de jugo de granada, sin observarse diferencias significativas (p>0.05) entre los distintos tratamientos, tal como se muestra en la Figura 2. Esta reducción podría explicarse por el pH del jugo de granada, reportado en 2.91±0.02 [44]. Cabe discutir la implicación del pH ácido obtenido (hasta 3.56±0.38 en las formulaciones activas) sobre la salud del esmalte dental, dado que valores inferiores al pH crítico de 5.5 favorecen la desaturación salival respecto a la hidroxiapatita, promoviendo la desmineralización del esmalte. Si bien el reducido tiempo de contacto propio de una película de disgregación rápida (28.33-52.33 s) y la capacidad amortiguadora de la saliva podrían atenuar este efecto frente a una exposición prolongada, un uso frecuente o repetido del producto podría representar un riesgo erosivo acumulativo, de forma análoga a lo reportado para jugos cítricos y golosinas ácidas.

Neagu, Ghitea [62] en su estudio sobre películas orales elaboradas con extractos de diente de león y manzanilla, reportaron valores de pH cercanos a la neutralidad, resultado similar al obtenido por Bharti, Mittal [63] en películas con nanopartículas de buspirona. De acuerdo con estos autores, se recomienda que las películas orales presenten valores de pH próximos a la neutralidad, con el fin de evitar irritación en la mucosa bucal [2]. No obstante, Pimparade, Vo [64] documentaron valores de pH entre 2.9 y 3.4 en películas adicionadas con ácido cítrico, señalando que esta condición podría favorecer un mayor flujo salival y, con ello, una desintegración más rápida de las películas; adicionalmente, mediante análisis sensorial, no se identificaron molestias en el paladar por parte de los participantes.

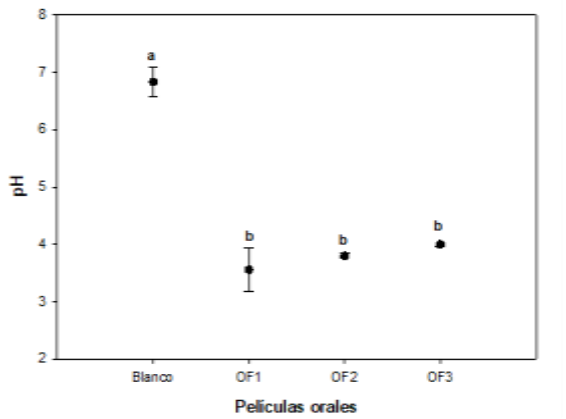


Figura 2. pH en películas orales.
[a, b] indican diferencias significativas por prueba Tukey (p≤0.5).

Tiempo de desintegración

Cuando las películas orales hacen contacto con la saliva, experimentan una hidratación y disolución acelerada, proceso mediante el cual se liberan los compuestos activos, que posteriormente son absorbidos por la mucosa oral [65]. Resulta fundamental que esta desintegración ocurra en periodos cortos, a fin de prevenir riesgos de asfixia y garantizar una adecuada sensación en boca [66]. La Figura 3 presenta los tiempos de disolución registrados para las diferentes formulaciones, donde se identificaron diferencias significativas (p≤0.05) entre ellas. La formulación OF3 mostró el menor tiempo de desintegración, con 28.333±3.512 s, mientras que el blanco presentó el mayor tiempo, con 52.333±3.055 s. Este parámetro puede estar influenciado tanto por el espesor de las películas como por su carácter hidrofílico [64]. Es importante señalar que, conforme se incrementó la concentración de jugo de granada, el tiempo de desintegración tendió a reducirse, lo cual podría atribuirse a un mayor aporte de compuestos hidrofílicos que favorecen la disolución de las películas [67]. Entre estos compuestos hidrofílicos aportados por el jugo de granada se encuentran principalmente los azúcares solubles (glucosa y fructosa), los ácidos orgánicos (p. ej., ácido cítrico) y los compuestos fenólicos hidrosolubles (antocianinas y taninos hidrolizables), los cuales, al incrementar la fracción de solutos hidrófilos de bajo peso molecular en la matriz, favorecen una mayor afinidad por el agua y una hidratación más rápida de la película.

Los tiempos aquí obtenidos resultaron inferiores a los descritos por Himani, Kumar [39], quienes trabajando con películas de maltodextrina, quitosano y pululano adicionadas con extracto acuoso de ajo, obtuvieron valores de 44 a 48 s. En cambio, Borges, Silva [36] en películas orales elaboradas con lecitina, gelatina y colágeno hidrolizado enriquecidas con extracto etanólico de propóleo, registraron tiempos de 18.9 a 25.3 s, cifras por debajo de las alcanzadas en el presente trabajo; dicho comportamiento fue atribuido por los autores a la naturaleza hidrófila y al bajo peso molecular del colágeno hidrolizado.

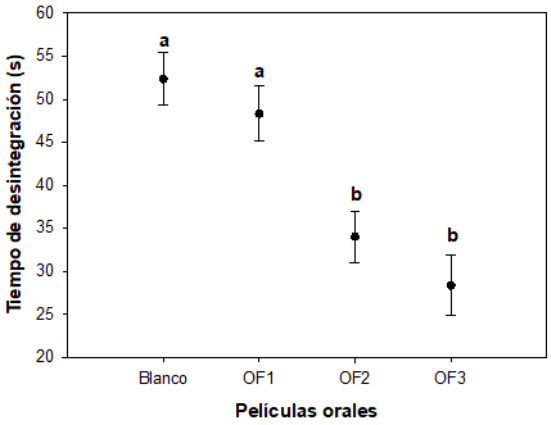


Figura 3. Tiempo de desintegración en películas orales.
[a, b] indican diferencias significativas por prueba Tukey (p≤0.5).

Color

El color representa una característica determinante en la evaluación de películas, dado su peso en la percepción del consumidor [8]. En la tabla 5 se resumen los valores colorimétricos obtenidos. El parámetro L es indicativo del nivel de luminosidad, donde

cifras cercanas a 100 corresponden a tonos más claros; en este estudio, el blanco alcanzó un valor de 87.52±1.03, mismo que fue decreciendo a medida que aumentaba la proporción de jugo de granada añadida. Respecto al parámetro a*, cuya escala abarca del verde al rojo, todas las muestras arrojaron cifras positivas, lo que denota predominancia del tono rojizo. En cuanto a b*, que representa la transición entre azul y amarillo, los valores positivos obtenidos sugieren una leve tendencia hacia tonalidades amarillas. Tal comportamiento se relaciona con la presencia de antocianinas en el jugo de granada, compuestos polifenólicos que confieren tonalidades naranja, púrpura y roja a diversas frutas y plantas [68-70]. Es posible destacar que las formulaciones obtenidas presentaron una coloración rosácea de tono casi translúcido, en concordancia con lo señalado por Kumar, Neeraj [71], en películas elaboradas con quitosano y pululano, adicionadas con cáscara y jugo de granada.

Tabla 5. Determinación de color en películas orales.

Películas orales	L*	a*	b*
Blanco	87.51 ± 1.03^{a}	0.40 ± 0.18^{d}	5.40 ± 0.24^{a}
OF1	83.29 ± 1.13^{b}	7.95 ± 1.31^{c}	4.24 ± 0.50^{b}
OF2	77.37 ± 0.97^{c}	10.13 ± 0.67^{b}	3.19 ± 0.50^{c}
OF3	74.85 ± 1.42^{d}	14.61 ± 1.00^{a}	1.25 ± 0.20^{d}

$^{a, b, c, d}$ indican diferencias significativas por prueba Tukey ($p \leq 0.5$).

Propiedades térmicas por Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El termograma de las películas orales se presenta en la figura 4, donde se observó una Tg de 93.89°C en el blanco, valor que disminuyó en las formulaciones con jugo de granada incorporado. Este parámetro es representativo del cambio de fase vítrea a gomosa en la estructura del material, relacionándose con el grado de amorfismo presente en la matriz polimérica. De igual manera, el blanco exhibió un pico endotérmico nítido, con temperatura de fusión de 101.95°C, mismo que se volvió menos evidente en presencia de jugo de granada. Este comportamiento podría explicarse por la pérdida de agua estructural, propia del carácter hidrofílico de las películas [72]. Los valores de ΔH obtenidos fueron de 5.17 J/g (blanco), 2.29 J/g (OF1), 1.63 J/g (OF2) y 0.29 J/g (OF3), lo cual apuntaría a que se precisa de menor energía para romper la estructura cristalina de la película, dada la mayor cantidad de compuestos hidrofílicos, lo que a su vez beneficia su solubilidad. Esto confirmaría, además, la fragmentación de enlaces no covalentes en las cadenas poliméricas, resultado del pH ácido del jugo [57]. Kumar, Pratibha [73] describieron un comportamiento similar en películas de quitosano con extracto de cáscara de granada, donde la disminución de la Tg tras incorporar el extracto sugiere que las cadenas poliméricas necesitan menos calor para pasar de un estado rígido a uno amorfo, optimizando así la solubilidad. En contraste, Alkahtani, Aodah [74] trabajando con películas de polivinilpirrolidona combinadas con escitalopram/quetiapina, no registraron picos endotérmicos marcados.

La disminución de la Tg con el incremento del jugo de granada incorporado tiene, además de la implicación positiva sobre la solubilidad ya señalada, una lectura relevante en términos de estabilidad física del material que conviene discutir. Los valores de Tg obtenidos para las formulaciones activas (58.06-63.07 °C) permanecen, en principio, por encima de la temperatura ambiente habitual de almacenamiento (20-25 °C), por

lo que las películas se mantendrían en estado vítreo bajo condiciones normales. No obstante, dado que los compuestos hidrofílicos del jugo (azúcares y ácidos orgánicos) actúan como plastificantes, un incremento en la humedad relativa del entorno de almacenamiento podría inducir una plastificación adicional por absorción de agua, desplazando la Tg efectiva hacia valores más cercanos, o incluso inferiores, a la temperatura ambiente. Este desplazamiento del material hacia un estado gomoso conllevaría un mayor riesgo de pegajosidad superficial (dificultando el manejo individual de las películas), una mayor tendencia a la absorción de humedad -que a su vez retroalimentaría el efecto plastificante- y una pérdida de rigidez estructural que podría comprometer su integridad durante el manejo, empaque y transporte. En este sentido, la reducción de la Tg observada en las formulaciones con mayor contenido de jugo, si bien favorece la disgregación rápida deseada para la aplicación oral, representa un compromiso tecnológico que debe monitorearse mediante estudios de estabilidad bajo condiciones controladas de humedad y temperatura, y que condiciona las recomendaciones de almacenamiento y empaque del producto final.

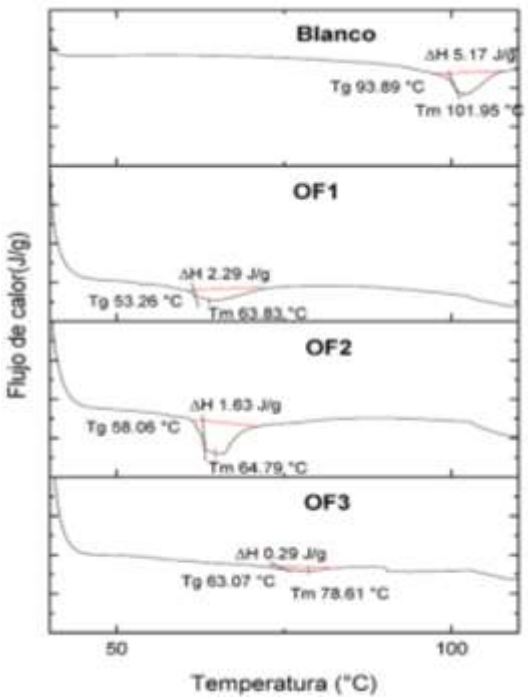


Figura 4. Propiedades térmicas por calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) en películas orales.

Análisis por FTIR

El análisis mediante FTIR de las películas orales se muestra en la Figura 5. Aunque no se registraron picos adicionales asociados a la formulación, sí se observaron variaciones en la intensidad de las bandas de absorción entre los distintos tratamientos, atribuibles a las diferentes concentraciones de jugo de granada empleadas [75]. Esto significa que la interacción real es de tipo no covalente (puentes de hidrógeno) entre los -OH fenólicos del jugo y los grupos -NH/C=O de la gelatina y -OH de la maltodextrina. Este tipo de interacción no crea nuevos grupos funcionales, así que no genera picos nuevos en cambio, desplaza, ensancha e intensifica las bandas ya existentes (amida A, amida I, región de carbohidratos). Es importante precisar que la ausencia de nuevas bandas de absorción no descarta la existencia de interacción entre los componentes de la película; por el contrario, corresponde al comportamiento esperado cuando dicha interacción ocurre mediante fuerzas no

covalentes, principalmente puentes de hidrógeno, entre los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos del jugo de granada y los grupos amino/carbonilo de la gelatina, así como los grupos hidroxilo de la maltodextrina [76, 77]. Este tipo de interacción no genera nuevos grupos funcionales y, por tanto, no produce nuevas bandas en el espectro; en cambio, modifica la posición, la anchura y la intensidad de las bandas ya existentes, tal como se observó en las regiones de amida A, amida I y de carbohidratos del presente estudio. Este comportamiento coincide con lo reportado en sistemas de películas proteicas enriquecidas con compuestos fenólicos, donde la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos –OH de los polifenoles y los grupos –NH/C=O de la matriz proteica se evidencia mediante desplazamientos y ensanchamientos de banda, y no mediante la aparición de picos adicionales. En este sentido, la interacción señalada en las conclusiones de este trabajo se refiere específicamente a este tipo de asociación física por puente de hidrógeno, y no a la formación de nuevos enlaces covalentes entre los componentes de la formulación.

Las cuatro formulaciones evidenciaron las bandas típicas de la gelatina. La región de 3269 a 3275 cm^{-1} se vinculó al estiramiento del grupo amino (-NH) de la amida A; la de 2927 a 2932 cm^{-1}, al estiramiento de CH y NH_3; la de 1636 a 1647 cm^{-1}, a las vibraciones del grupo carbonilo C=O de la amida I; la de 1544 a 1554 cm^{-1}, a la flexión de grupos N-H junto con el estiramiento de C-N de la amida II; y la de 1239 a 1244 cm^{-1}, a vibraciones de C-N, N-H, o del grupo CH_2 de la glicina, correspondientes a la amida III. Estos resultados guardan concordancia con los obtenidos por Bhatia, Al-Harrasi [78] en películas de gelatina de origen porcino y bovino con aceites esenciales, donde se ubicaron picos comparables en 3292 cm^{-1} (amida A), 3070 cm^{-1} (amida B), 1640 cm^{-1} (amida I), 1549 cm^{-1} (amida II) y 1239 cm^{-1} (amida III).

En cuanto a la región comprendida entre 1200 y 900 cm^{-1}, esta reveló bandas propias de carbohidratos, con los picos de mayor intensidad situados entre 1022 y 1030 cm^{-1}, asociados al estiramiento del enlace C-O en el grupo C-OH, así como al enlace C-C de la glucosa y fructosa aportadas por la maltodextrina y el jugo de granada. Consistente con esto Matwijczuk, Budziak-Wieczorek [79] identificaron, mediante FTIR aplicado a portadores como la maltodextrina, picos en una posición cercana (1027 cm^{-1}), relacionándolos con la estructura de los carbohidratos. Por su parte, López-Diaz y colaboradores [80] en películas de quitosano combinadas con jugo de granada, reportaron picos entre 1034 y 1080 cm^{-1}, en 1063 cm^{-1}, y entre 1055 y 1138 cm^{-1}, correspondientes a azúcares como glucosa, fructosa y sacarosa presentes en el jugo.

Por último, la región entre 1337 y 1449 cm^{-1} mostró picos atribuibles al grupo $=CH_2$, presente en terpenos del aceite esencial de menta, en concordancia con lo señalado por Agatonovic-Kustrin, Ristivojevic [81], quienes, al evaluar la calidad y pureza de aceites esenciales mediante FTIR, situaron sus componentes entre 1330 y 1410 cm^{-1}. Del mismo modo, los picos ubicados entre 2927 y 2932 cm^{-1} podrían reflejar la presencia de compuestos propios de la menta, en virtud del estiramiento característico de C-H y CH_2 en dichos aceites.

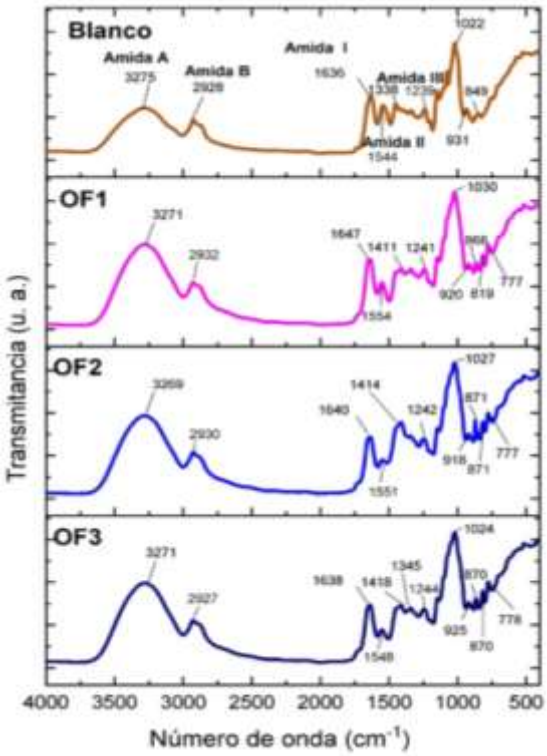


Figura 5. Análisis FTIR en películas orales.

Actividad antioxidante en películas orales

La capacidad antioxidante de las películas orales desarrolladas en esta investigación se evaluó mediante ensayos de inhibición de los radicales ABTS y DPPH. Según se ilustra en la figura 6, el porcentaje de inhibición del radical ABTS mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre el tratamiento blanco y aquellos con jugo de granada. La incorporación de jugo de granada incrementó significativamente la actividad antioxidante respecto al blanco; sin embargo, no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las concentraciones de 30, 40 y 50%.

El blanco reportó un 30.29±1.01%, en tanto que OF3 alcanzó un 89.70±0.54%, incremento que podría explicarse por el aporte antioxidante propio del jugo incorporado. Los compuestos fenólicos mayoritarios (elagitaninos, ácido elágico, antocianinas) neutralizan los radicales ABTS/DPPH principalmente por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y, en menor medida, transferencia de electrón seguida de pérdida de protón (SET-PT). El grupo -OH fenólico cede un H (o electrón) al radical, generando un radical fenoxilo estabilizado por resonancia aromática. La ausencia de diferencias significativas en la actividad antioxidante determinada mediante ABTS entre los tratamientos de jugo de granada, a pesar de utilizar diferentes concentraciones de jugo, puede atribuirse a que los compuestos antioxidantes presentes alcanzaron una respuesta cercana a la saturación del radical ABTS•+. En estas condiciones, el incremento en la concentración de jugo no necesariamente produce un aumento proporcional en la capacidad de neutralización del radical. Además, la matriz de la película oral puede limitar la disponibilidad o difusión de los compuestos fenólicos y otros antioxidantes hacia el radical ABTS•+, generando un efecto de concentración aparente. También es posible que las concentraciones evaluadas contengan cantidades suficientes de compuestos antioxidantes para alcanzar valores similares de inhibición, reduciendo la capacidad del ensayo para discriminar entre tratamientos.

Estos valores superaron los reportados por Hanani, Yee [69], quienes, en películas de gelatina con diferentes proporciones de cáscara de granada, obtuvieron una inhibición del radical ABTS entre 32.01 y 80.02 %. Asimismo, fueron más altos que los descritos por Bhatia, Al-Harrasi [78] en películas de quitosano y alginato de sodio adicionadas con extracto de *Ficus*, cuyos valores oscilaron entre 13.43 y 59.59 %.

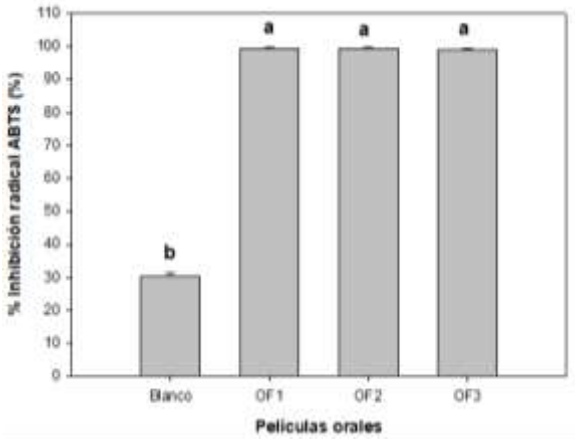


Figura 6. Actividad antioxidante de las películas orales por porcentaje de inhibición del radical ABTS. [a, b] indican diferencias significativas por prueba Tukey ($p \leq 0.5$).

El porcentaje de inhibición frente al radical DPPH también evidenció diferencias notables ($p \leq 0.05$) entre las cuatro formulaciones analizadas (figura 7), fluctuando entre 10.65±0.54% para el blanco y 68.14±1.57% para OF3. Este patrón resulta congruente con lo descrito por Kumar, Pratibha [73], quienes, trabajando con películas de quitosano y extracto de cáscara a diversas concentraciones, obtuvieron actividad antioxidante para DPPH entre 23.13 y 76.84 %. En contraste, Bhatia, Al-Harrasi [78] reportaron cifras más bajas, de 9.12 a 36.02 %, en películas de quitosano y alginato de sodio con diferentes concentraciones de *Ficus*.

La capacidad antioxidante de las películas orales se relaciona principalmente con los compuestos fenólicos aportados por el jugo de granada, entre ellos taninos hidrolizables y flavonoides [82]. No obstante, el tratamiento blanco también mostró actividad antioxidante, comportamiento vinculado a la presencia del aceite esencial de menta y de la gelatina en su formulación. Según, dicha actividad en el aceite esencial de menta se debe a monoterpenoides como el mentol, la carvona y el 1,8-cineol. En este sentido, Liu, Wang [83] , al trabajar con películas activas de quitosano incorporadas con aceites esenciales, reportaron para el aceite de menta una inhibición del radical DPPH del 66.79%. Por su parte, la gelatina podría contribuir a esta actividad gracias a péptidos bioactivos, cuya acción se asocia con su composición de aminoácidos, particularmente glicina y prolina [84].

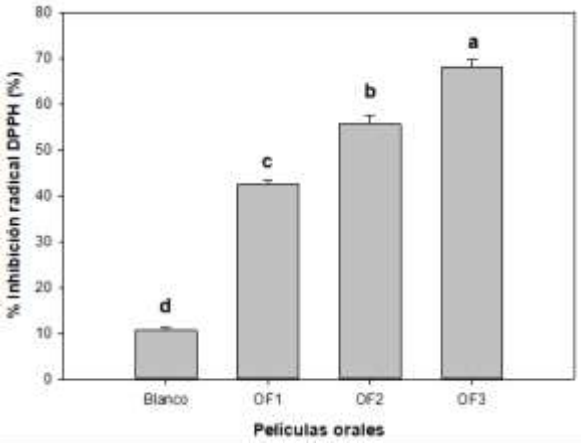


Figura 7. Actividad antioxidante de las películas orales por porcentaje de inhibición del radical DPPH. [a, b] indican diferencias significativas por prueba Tukey ($p \leq 0.5$).

En la figura 8 se presenta el contenido de fenoles totales de las películas orales, donde se identificaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los distintos tratamientos. Los resultados oscilaron entre 4.9±0.67 mg GAE/g para el blanco y 43.46±1.26 mg GAE/g de película para OF3. El hecho de que el blanco también presentara compuestos fenólicos podría deberse a los terpenoides y fenilpropanoides de carácter fenólico presentes en el aceite esencial de menta [41]. En comparación, Borges and De Carvalho [85] reportaron, en películas orales elaboradas con colágeno hidrolizado y extracto etanólico de propóleo, valores de entre 41.5 y 62.5 mg GAE/g de película.

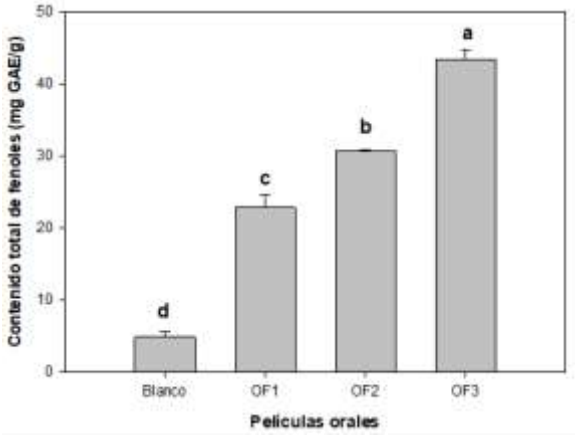


Figura 8. Contenido total de fenoles en películas orales.
[a, b, c, d] indican diferencias significativas por prueba Tukey (p≤0.5).

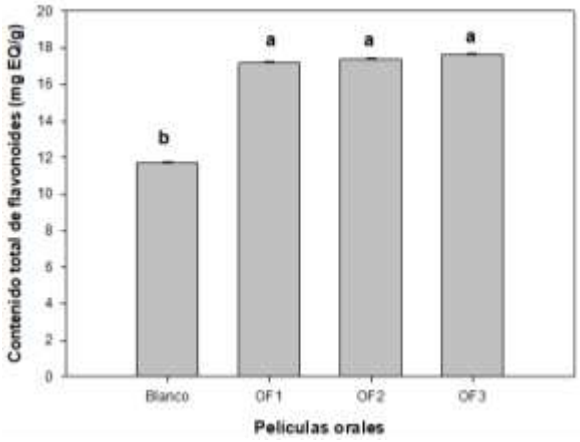


Figura 9. Contenido total de flavonoides en películas orales.
[a, b] indican diferencias significativas por prueba Tukey (p≤0.5).

Si bien el contenido de fenoles ofrece una referencia sobre la capacidad antioxidante de una fuente natural, es necesario complementar dicha información con la cuantificación de compuestos como flavonoides y antocianinas. Los resultados del contenido de flavonoides se presentan en la figura 9, donde se observaron diferencias significativas (p≤0.05) entre el blanco y las formulaciones con jugo de granada, siendo estas últimas las que presentaron mayor contenido. Este hallazgo confirma la presencia de metabolitos secundarios como catequina, epicatequina, kaempferol, quercetina, luteolina, rutina y antocianinas [82]. Aun así, el blanco también exhibió cierto contenido de flavonoides, lo cual concuerda con lo señalado por quienes identificaron eriodictiol, luteolina, apigenina y sus glucósidos como componentes del aceite esencial de menta. Por su parte, Mabrouk, Shaltout [86] documentaron valores de entre 23.1 y 28.8 mg EQ/g para el contenido total de flavonoides en películas de pectina adicionadas con extracto de cáscara y semilla de granada.

Los resultados relativos al contenido de antocianinas se presentan en la figura 10, donde se identificaron diferencias significativas (p≤0.05) entre los tratamientos con jugo de granada, con valores que oscilaron entre 9.95±0.87 y 13.24±0.18 mg C3G/g para OF1 y OF3, respectivamente; cabe destacar que en el blanco no se detectó contenido alguno de antocianinas. Estos compuestos son responsables del característico color rojo del jugo de granada y de sus semillas, además de contribuir a la actividad antioxidante junto con los taninos hidrolizables y el ácido elágico [55, 82]. Los valores obtenidos en este trabajo resultaron inferiores a los reportados por Otálora González, Schelegueda [87] quienes registraron un contenido de antocianinas de 37.9 mg C3G/g en películas de almidón de yuca con col morada.

Cabe precisar que la técnica de Folin-Ciocalteu, empleada para la determinación de fenoles totales, no es específica para compuestos fenólicos y puede reaccionar también con otros agentes reductores presentes en la matriz, entre ellos los azúcares reductores [88]; esta consideración es particularmente relevante en el presente estudio dado el elevado contenido de carbohidratos del jugo de granada

incorporado (8.52% y 15.72 °Brix, Tabla 2). En consecuencia, los valores de fenoles totales reportados en la Figura 8 deben interpretarse como un índice de la capacidad reductora global de la matriz, y no como una cuantificación específica y exclusiva de compuestos fenólicos. De manera similar, dado que las antocianinas son compuestos termosensibles y fotosensibles [89], y considerando que la elaboración de las películas incluyó una etapa de mezclado a 35°C y un secado de 24 h a temperatura ambiente sin protección explícita frente a la luz, es probable que el contenido de antocianinas cuantificado en la Figura 10 represente una fracción residual, inferior al contenido inicial presente en el jugo fresco (Tabla 3), como consecuencia de una degradación parcial de estos compuestos durante el procesamiento.

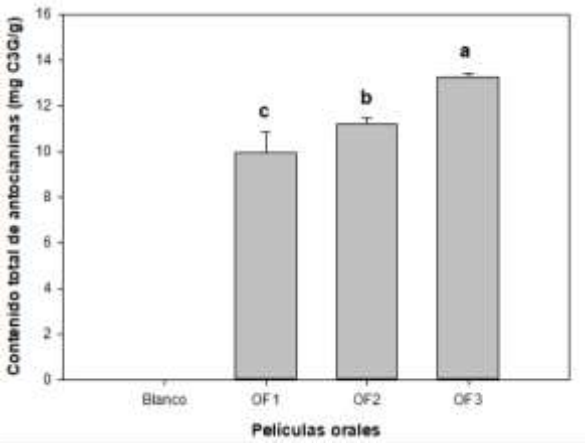


Figura 10. Contenido total de antocianinas en películas orales.
[a, b, c] indican diferencias significativas por prueba Tukey ($p \leq 0.5$).

5. Conclusiones

La determinación de las propiedades fisicoquímicas de las películas orales mostró que variables como el pH, el espesor y el aporte de compuestos hidrofílicos, incluyendo gelatina, maltodextrina y jugo de granada, inciden de manera directa en su tiempo de desintegración, lo cual se vio respaldado por el estudio de las propiedades térmicas, que confirmó una estructura de tipo amorfo. Adicionalmente, el análisis FTIR evidenció la interacción entre los distintos componentes que constituyen la película oral, reflejando la presencia de compuestos bioactivos. En lo referente a la actividad antioxidante, la formulación OF3 obtuvo el mejor resultado lo cual se asocia con el contenido de compuestos fenólicos presentes en el jugo de granada y el aceite esencial de menta. El aporte principal de este trabajo radica en presentar, hasta donde se tiene conocimiento, el primer reporte de una película oral a base de gelatina y maltodextrina formulada con jugo (no extracto) de granada en combinación con aceite esencial de menta, lo que representa una alternativa de valorización de esta fruta como ingrediente activo natural, evitando el uso de solventes orgánicos propios de los procesos de extracción convencionales. Asimismo, los resultados obtenidos amplían el conocimiento disponible sobre el efecto de la incorporación de compuestos bioactivos de origen frutal en las propiedades fisicoquímicas, térmicas y antioxidantes de películas orales de disgregación rápida, aportando información de utilidad para el desarrollo de productos funcionales de bajo costo y proceso simplificado.

Como líneas de trabajo futuro, se recomienda complementar la caracterización con ensayos mecánicos, de capacidad de hinchamiento y microscopía SEM, así como evaluar la actividad antimicrobiana frente a microorganismos de relevancia oral (p. ej., *Streptococcus mutans*) y realizar estudios de estabilidad y aceptabilidad sensorial. Asimismo, resultaría de interés aplicar un diseño experimental de superficie de respuesta que permita optimizar la concentración de jugo de granada y de aceite esencial de menta en función de las propiedades deseadas, así como explorar el escalamiento del proceso de producción. Desde el punto de vista de la aplicación, la película oral desarrollada podría explorarse

como un producto funcional de higiene bucal, de carácter refrescante y antioxidante, o como plataforma tecnológica para la incorporación de otros jugos de frutas ricos en compuestos bioactivos, ampliando su potencial dentro de la industria de alimentos funcionales y nutracéuticos.

6. Agradecimientos

La primera autora agradece a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo brindado con la beca de posgrado No. 203967.

7. Referencias

1. Li, Y., et al., *Advances in oral dissolving film research in the food field.* Food Production, Processing and Nutrition, 2025. **7**(1): p. 9.

2. Bala, R., et al., *Orally dissolving strips: A new approach to oral drug delivery system.* International journal of pharmaceutical investigation, 2013. **3**(2): p. 67-76.

3. Himani, et al., *Edible and Oral Thin Films: Formulation, Properties, Functions, and Application in Food Packaging and Pharmaceutical Industry*, in *Edible Food Packaging : Applications, Innovations and Sustainability*, A. Poonia and T. Dhewa, Editors. 2022, Springer: Singapore. p. 411-432.

4. Xu, G., et al., *Breath freshening film, C.P. Co.*, Editor. 2002, Colgate Palmolive Co.: New York, US.

5. Jain, A., H.T. Ahirwar, S. , and P. Mohanty, *Fast dissolving oral films: a tabular update. Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 2018. **8(4)**: p. 10-19.

6. Park, C.-H., C. Ganbat, and J.-A. Han, *Hydrocolloid-specific performance of orally disintegrating films: physicochemical, dissolution, and sensory insights.* Food Science and Biotechnology, 2026. **35**(4): p. 895-905.

7. Dahiya, M., S. Saha, and F.A. Shahiwala, *A Review on Mouth Dissolving Films.* Current Drug Delivery, 2009. **6**(5): p. 469-476.

8. Sevinç Özakar, R. and E. Özakar, *Current Overview of Oral Thin Films.* Turkish journal of pharmaceutical sciences, 2021. **18**(1): p. 111-121.

9. Calixto, S., et al., *Gelatin as a Photosensitive Material.* Molecules (Basel, Switzerland), 2018. **23**(8): p. 2064.

10. Shaikh, S., M. Yaqoob, and P. Aggarwal, *An overview of biodegradable packaging in food industry.* Current research in food science, 2021. **4**: p. 503-520.

11. Lu, Y., et al., *Application of Gelatin in Food Packaging: A Review.* Polymers, 2022. **14**(3): p. 436.

12. Sharma, D., et al., *Fast Dissolving Oral Films Technology: A Recent Trend For An Innovative Oral Drug Delivery System.* International Journal of Drug Delivery, 2015. **7**: p. 60-75.

13. Hofman, D.L., V.J. van Buul, and F.J. Brouns, *Nutrition, Health, and Regulatory Aspects of Digestible Maltodextrins. Critical reviews in food science and nutrition*, 2016. **56**(12): p. 2091-100.

14. Takeiti, C.Y., T.G. Kieckbusch, and F.P. Collares-Queiroz,

Morphological and Physicochemical Characterization of Commercial Maltodextrins with Different Degrees of Dextrose-Equivalent. International Journal of Food Properties, 2010. **13**(2): p. 411-425.

15. Cupone, I.E., et al. *Orodispersible Film (ODF) Platform Based on Maltodextrin for Therapeutical Applications*. Pharmaceutics, 2022. **14**, DOI: 10.3390/pharmaceutics14102011.

16. Olechno, K., A. Basa, and K. Winnicka, *"Success Depends on Your Backbone"—About the Use of Polymers as Essential Materials Forming Orodispersible Films.* Materials, 2021. **14**(17).

17. Shah, K.A., et al., *Development and Characterizations of Pullulan and Maltodextrin-Based Oral Fast-Dissolving Films Employing a Box-Behnken Experimental Design.* Materials (Basel), 2022. **15**(10).

18. Karki, S., et al., *Thin films as an emerging platform for drug delivery.* Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2016. **11**(5): p. 559-574.

19. Tian, Y., et al., *Recent progress in orodispersible films-mediated therapeutic applications: A review.* MedComm – Biomaterials and Applications, 2023. **2**(2): p. e34.

20. Fawole, O.A., U.L. Opara, and K.I. Theron, *Chemical and Phytochemical Properties and Antioxidant Activities of Three Pomegranate Cultivars Grown in South Africa.* Food and Bioprocess Technology, 2012. **5**(7): p. 2934-2940.

21. Jamróz, E. and P. Kopel, *Polysaccharide and Protein Films with Antimicrobial/Antioxidant Activity in the Food Industry: A Review.* Polymers, 2020. **12**(6): p. 1289.

22. Zhang, M., et al., *Pomegranate: A Comprehensive Review of Functional Components, Health Benefits, Processing, Food Applications, and Food Safety.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2025. **73**(10): p. 5649-5665.

23. Ferrazzano, G.F., et al., *In Vitro Antibacterial Activity of Pomegranate Juice and Peel Extracts on Cariogenic Bacteria.* BioMed research international, 2017. **2017**: p. 2152749-2152749.

24. Uzuner, S., *Pomegranate*, in *Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables*, A.K. Jaiswal, Editor. 2020, Academic Press: Bolu, Turkey. p. 549-563.

25. Nabeel Ahmad, H., et al., *Development of novel carboxymethyl cellulose/gelatin-based edible films with pomegranate peel extract as antibacterial/antioxidant agents for beef preservation.* Food Chem, 2024. **443**: p. 138511.

26. Valdés-Miramontes, E.H., et al., *Potencial antioxidante de tres subproductos de granada (Punica granatum L.).* Archivos latinoamericanos de nutrición, 2024. **74**(3): p. 155-164.

27. Chaemsanit, S., N. Matan, and N. Matan, *Effect of peppermint oil on the shelf-life of dragon fruit during*

storage. Food Control, 2018. **90**: p. 172-179.

28. Kang, J., et al., *Antibacterial and anti-biofilm activities of peppermint essential oil against Staphylococcus aureus.* LWT, 2019. **101**: p. 639-645.

29. Khaksar, G., K. Assatarakul, and S. Sirikantaramas, *Effect of cold-pressed and normal centrifugal juicing on quality attributes of fresh juices: do cold-pressed juices harbor a superior nutritional quality and antioxidant capacity?* Heliyon, 2019. **5**(6): p. e01917.

30. AOAC, *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 18 ed. 2005, MD, USA.

31. Singleton, V.L., R. Orthofer, and R.M. Lamuela-Raventós, *[14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent*, in *Methods in Enzymology*. 1999, Academic Press. p. 152-178.

32. Arvouet-Grand, A., et al., *[Standardization of propolis extract and identification of principal constituents]*. Journal de pharmacie de Belgique., 1994. **49**(6): p. 462-8.

33. Giusti, M.M. and R.E. Wrolstad, *Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy*. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, 2001. **00**(1): p. F1.2.1-F1.2.13.

34. Re, R., et al., *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*. Free Radical Biology and Medicine, 1999. **26**(9): p. 1231-1237.

35. Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier, and C. Berset, *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.* LWT - Food Science and Technology, 1995. **28**(1): p. 25-30.

36. Borges, J.G., et al., *Lecithin, gelatin and hydrolyzed collagen orally disintegrating films: functional properties.* International Journal of Biological Macromolecules, 2016. **86**: p. 907-916.

37. Cilurzo, F., et al., *Fast dissolving films made of maltodextrins.* Eur J Pharm Biopharm, 2008. **70**(3): p. 895-900.

38. Irfan, M., et al., *Orally disintegrating films: A modern expansion in drug delivery system.* Saudi Pharmaceutical Journal, 2016. **24**(5): p. 537-546.

39. Himani, et al., *Physical, Mechanical, Functional, and Thermal Characterization of Chitosan: Maltodextrin Blends Edible Oral Film Incorporated with Aqueous Clove Extract.* Starch - Stärke, 2021. **73**(1-2): p. 1900220.

40. Nair, A.B., et al., *In vitro techniques to evaluate buccal films.* Journal of Controlled Release, 2013. **166**(1): p. 10-21.

41. Wu, Z., et al., *Chemical Composition and Antioxidant Properties of Essential Oils from Peppermint, Native Spearmint and Scotch Spearmint.* Molecules, 2019. **24**(15): p. 2825.

42. Espino-Manzano, S.O., et al., *Application of Nanoemulsions (W/O) of Extract of Opuntia oligacantha C.F. Först and Orange Oil in*

Gelatine Films. Molecules, 2020. **25**(15).

43. Berdeja, M., et al., *Caracterización bromatológica y microbiológica de la cáscara de granada (Punica granatum L.) como fuente de ingredientes funcionales. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2019. **4**: p. 799-804.

44. Kandylis, P. and E. Kokkinomagoulos, *Food Applications and Potential Health Benefits of Pomegranate and its Derivatives.* Foods, 2020. **9**(2): p. 122.

45. Labbe, M., et al., *Characterization of chemical compositions and bioactive compounds in juices from pomegranates (’Wonderful’, ’Chaca’ and ’Codpa’) at different maturity stages.* Chilean journal of agricultural research, 2016. **76**: p. 479-486.

46. Ejjilani, A., et al., *Pomegranate morpho-chemodiversity: computational investigations based on in-vivo and in-vitro screening.* Heliyon, 2022. **8**(5): p. e09345.

47. Catania, P., et al., *Effects of the Extraction Technology on Pomegranate Juice Quality.* Agronomy, 2020. **10**(10): p. 1483.

48. Bopitiya, D. and T. Madhujith, *Antioxidant Potential of Pomegranate (Punica granatum L.) Cultivars Grown in Sri Lanka.* Tropical Agricultural Research, 2015. **24(1)**: p. 71–81.

49. Kaoutar, E., et al., *Quality attributes, chemical properties, and selected bioactive compounds of pomegranate juice (Punica granatum L.) processed from arils after freezing storage. African & Mediterranean Agricultural Journal*, 2022: p. 236-255.

50. Fernandes, L., et al., *Physicochemical composition and antioxidant activity of several pomegranate (Punica granatum L.) cultivars grown in Spain.* European Food Research and Technology, 2017. **243**.

51. Gözlekçi, S., et al., *Total phenolic distribution of juice, peel, and seed extracts of four pomegranate cultivars. Pharmacognosy Magazine*, 2011. **7**(26): p. 161-4.

52. Hmid, I., et al., *Comparative study of phenolic compounds and their antioxidant attributes of eighteen pomegranate (Punica granatum L.) cultivars grown in Morocco.* Arabian Journal of Chemistry, 2017. **10**: p. S2675-S2684.

53. El Kar, C., et al., *Pomegranate (Punica granatum) juices: chemical composition, micronutrient cations, and antioxidant capacity. Journal of food science*, 2011. **76**(6): p. C795-800.

54. Habib, H.M., et al., *Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antimicrobial, and Anticancer Activities of Pomegranate Juice Concentrate.* Nutrients, 2023. **15**(12).

55. Gil, M.I., et al., *Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Its Relationship with Phenolic Composition and Processing.* Journal

of Agricultural and Food Chemistry, 2000. **48**(10): p. 4581-4589.

56. Aykin-Dinçer, E., A. Koç, and M. Erbas, *Extraction and physicochemical characterization of broiler (Gallus gallus domesticus) skin gelatin compared to commercial bovine gelatin. Poultry science*, 2017. **96**(11): p. 4124-4131.

57. Kishore, D., S. Kundu, and A.M. Kayastha, *Thermal, chemical and pH induced denaturation of a multimeric β-galactosidase reveals multiple unfolding pathways.* PLoS One, 2012. **7**(11): p. e50380.

58. Rodríguez, G.M., et al., *Antioxidant active packaging based on papaya edible films incorporated with Moringa oleifera and ascorbic acid for food preservation.* Food Hydrocolloids, 2020. **103**: p. 105630.

59. Navas Guzmán, N. and P. Espitia, *Development and characterization of edible films based on colombian tropicall fruits.* . Italian Journal of Food Science, 2019. **31**: p. 61-68.

60. Lim, L.M. and K. Hadinoto, *High-Payload Buccal Delivery System of Amorphous Curcumin–Chitosan Nanoparticle Complex in Hydroxypropyl Methylcellulose and Starch Films.* International Journal of Molecular Sciences, 2021. **22**(17).

61. Garcia, V.A.d.S., et al., *Orally disintegrating films based on gelatin and pregelatinized starch: new carriers of active compounds from acerola.* Food Hydrocolloids, 2020. **101**: p. 105518.

62. Neagu, O.M., et al., *Formulation and Characterization of Mucoadhesive Polymeric Films Containing Extracts of Taraxaci Folium and Matricariae Flos.* Molecules, 2023. **28**(10): p. 4002.

63. Bharti, K., P. Mittal, and B. Mishra, *Formulation and characterization of fast dissolving oral films containing buspirone hydrochloride nanoparticles using design of experiment.* Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2019. **49**: p. 420-432.

64. Pimparade, M.B., et al., *Development and evaluation of an oral fast disintegrating anti-allergic film using hot-melt extrusion technology.* European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V., 2017. **119**: p. 81-90.

65. Speer, I., et al., *Comparative study on disintegration methods for oral film preparations.* European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2018. **132**: p. 50-61.

66. Low, A., et al., *A New Test Unit for Disintegration End-Point Determination of Orodispersible Films.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 2015. **104**(11): p. 3893-3903.

67. Dixit, R.P. and S.P. Puthli, *Oral strip technology: overview and future potential.* J Control Release, 2009. **139**(2): p. 94-107.

68. Chen, L., et al., *Effect of Anthocyanins on Colorimetric Indicator Film Properties.* Coatings, 2023. **13**(10).

69. Hanani, Z.A.N., F.C. Yee, and M.A.R. Nor-Khaizura, *Effect of pomegranate (Punica granatum L.) peel powder on the antioxidant and antimicrobial properties of fish gelatin films as active packaging.* Food Hydrocolloids, 2019. **89**: p. 253-259.

70. Welch, C.R., Q. Wu, and J.E. Simon, *Recent Advances in Anthocyanin Analysis and Characterization. Current analytical chemistry*, 2008. **4**(2): p. 75-101.

71. Kumar, N., et al., *Preparation and characterization of chitosan - pullulan blended edible films enrich with pomegranate peel extract.* Reactive and Functional Polymers, 2019. **144**: p. 104350.

72. Panraksa, P., et al., *Formulation of Orally Disintegrating Films as an Amorphous Solid Solution of a Poorly Water-Soluble Drug.* Membranes, 2020. **10**(12): p. 376.

73. Kumar, N., et al., *Chitosan Edible Films Enhanced with Pomegranate Peel Extract: Study on Physical, Biological, Thermal, and Barrier Properties.* Materials (Basel), 2021. **14**(12).

74. Alkahtani, M.E., et al., *Fabrication and Characterization of Fast-Dissolving Films Containing Escitalopram/Quetiapine for the Treatment of Major Depressive Disorder*. Pharmaceutics, 2021. **13**(6): p. 891.

75. Bodini, R.B., et al., *Antioxidant and anti-inflammatory properties of orally disintegrating films based on starch and hydroxypropyl methylcellulose incorporated with Cordia verbenacea (erva baleeira) extract.* International Journal of Biological Macromolecules, 2020. **159**: p. 714-724.

76. Le, T., et al., *Influence of Various Phenolic Compounds on Properties of Gelatin Film Prepared from Horse Mackerel Trachurus japonicus Scales.* J Food Sci, 2018. **83**(7): p. 1888-1895.

77. Grzebieniarz, W., et al., *Multifunctional Biopolymer Films Based on Gelatin and Chitosan Enriched with Plant Extracts: From Functional Characterisation to Food Application and Environmental Impact.* Materials, 2026. **19**(10): p. 2009.

78. Bhatia, S., et al., *A Comparative Study of the Properties of Gelatin (Porcine and Bovine)-Based Edible Films Loaded with Spearmint Essential Oil.* Biomimetics, 2023. **8**(2): p. 172.

79. Matwijczuk, A., et al., *Classification of Honey Powder Composition by FTIR Spectroscopy Coupled with Chemometric Analysis.* Molecules, 2022. **27**(12).

80. López-Díaz, A.S., et al., *Effect of short wave ultraviolet radiation on selected properties of edible films formulated with pomegranate juice and chitosan.* Revista Mexicana de Ingeniería Química, 2018. **17**(1): p. 63-73.

81. Agatonovic-Kustrin, S., et al., *Essential Oil Quality and Purity Evaluation via FT-IR Spectroscopy and Pattern Recognition Techniques.* Applied Sciences, 2020. **10**(20).

82. Melgarejo-Sánchez, P., et al., *Pomegranate variety and pomegranate plant part, relevance from bioactive point of view: a review.* Bioresources and Bioprocessing, 2021. **8**(1): p. 2.

83. Liu, T., et al., *Development and Characterization of Novel Active Chitosan Films Containing Fennel and Peppermint Essential Oils.* Coatings, 2020. **10**(10): p. 936.

84. Gómez-Guillén, M.C., et al., *Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review.* Food Hydrocolloids, 2011. **25**(8): p. 1813-1827.

85. Borges, J.G. and R.A. De Carvalho, *Orally Disintegrating Films Containing Propolis: Properties and Release Profile.* Journal of Pharmaceutical Sciences, 2015. **104**(4): p. 1431-1439.

86. Mabrouk, O., et al., *Evaluation of Bioactive Compounds in Pomegranate Fruit Parts as an Attempt for Their Application as an Active Edible Film.* Journal of Biomaterials, 2019. **3**: p. 7-17.

87. Otálora González, C.M., et al., *Cassava Starch Films with Anthocyanins and Betalains from Agroindustrial by-Products: Their Use for Intelligent Label Development.* Foods, 2022. **11**(21).

88. Sánchez-Rangel, J.C., et al., *The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination.* Analytical Methods, 2013. **5**(21): p. 5990-5999.

89. Enaru, B., et al., *Anthocyanins: Factors Affecting Their Stability and Degradation.* Antioxidants, 2021. **10**(12): p. 1967.