

ARTÍCULO

ÁREA TEMÁTICA: FORMACIÓN E INNOVACIÓN EN INGENIERÍA

Revalorización de subproductos cítricos. Determinación de flavonoides por cromatografía líquida

Valorization of citrus by-products. Determination of
flavonoids by liquid chromatography

Carlos Andres Fernandez¹ | Contacto: carlosandres.fernandez@uner.edu.ar

 <https://orcid.org/0009-0007-1442-054X>

Lucas Matías Page¹, Julieta Bélen Maldonado¹, Martín Sebastián Munitz¹, Maria Belen Medina¹ | ¹Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de Entre Ríos (ICTAER). Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Facultad de Ciencias de la Alimentación – Universidad Nacional de Entre Ríos, Concordia, Argentina.

RESUMEN

Se desarrolló una metodología analítica para la determinación de flavonoides en extractos de cáscaras de cítricos, mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector de longitud de onda múltiple. Para superar la principal limitación del detector, la imposibilidad de brindar espectros para cada uno de los picos cromatográficos, se implementó la estrategia de reconstrucción de espectros de absorción, la cual dotó al sistema de capacidades similares a las de un detector de arreglo de diodos. Se determinó el solvente más adecuado para la separación cromatográfica y, para resolver la coelución derivada de la complejidad química de las matrices, se procedió al reajuste del gradiente de elución, garantizando una separación satisfactoria con una resolución cromatográfica adecuada ($R_s > 1.5$). La idoneidad y confiabilidad del método fueron confirmadas mediante los parámetros de linealidad ($R^2 > 0.99$), precisión (%RSD < 2%), y exactitud (97.5% - 101.8%), asegurando el cumplimiento de las directrices del Consejo Internacional para la Armonización (ICH). La aplicación de la metodología permitió la identificación

Recibido: 25/03/2026 | Aceptado: 20/08/2026 | Publicado: 25/08/2026

DOI: <https://doi.org/10.64876/radi.v28.4>

Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).



y cuantificación de hesperidina, naringina y neohesperidina, así como la categorización de picos no identificados dentro de la familia de las flavanonas. En conclusión, se obtuvo una herramienta analítica robusta y accesible, orientada a la revalorización de residuos cítricos como fuente de compuestos bioactivos.

ABSTRACT

An analytical methodology was developed for the determination of flavonoids in citrus peel extracts using high-performance liquid chromatography coupled with a multiple-wavelength detector. To overcome the detector's main limitation—the inability to provide spectra for each chromatographic peak—an absorption spectrum reconstruction strategy was implemented, which provided the system with capabilities similar to those of a diode array detector. The most suitable solvent for chromatographic separation was determined, and to resolve the coelution derived from the chemical complexity of the matrices, the elution gradient was readjusted, ensuring satisfactory separation with adequate chromatographic resolution ($R_s > 1.5$). The suitability and reliability of the method were confirmed through the parameters of linearity ($R^2 > 0.99$), precision (%RSD < 2%), and accuracy (97.5% - 101.8%), ensuring compliance with the International Council for Harmonization (ICH) guidelines. The application of the methodology allowed the identification and quantification of hesperidin, naringin, and neohesperidin, as well as the categorization of unidentified peaks within the flavanone family in orange, mandarin, and grapefruit extracts. In conclusion, a robust and accessible analytical tool was obtained, aimed at the valorization of citrus residues as a source of bioactive compounds.

Palabras clave: Cromatografía *líquida*, flavanonas, hesperidina, residuos cítricos.

Keywords: Liquid chromatography, Flavanones, Hesperidin, Citrus residues.

INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores desafíos a los que se enfrentan las industrias actualmente es la sostenibilidad de su producción. En este sentido, el número de empresas que se encuentran en transición hacia sistemas de producción sostenibles o que proyectan hacerlo en un futuro cercano es cada vez mayor (Siracusa y Ruberto, 2019).

El sistema de producción circular al cual apuntan es aquel que cuenta con mayor capacidad de regenerarse, donde la utilización de recursos, la generación de desperdicios y emisiones se minimizan, lo que permite generar ciclos de materia y energía más estrechos. Además, los sistemas de producción circular promueven la adopción de tecnologías más limpias (Andersen, 2007).

Realizar una transición hacia un sistema de producción circular implica que las empresas cambien su visión sobre los residuos que generan y la forma en que los gestionan, donde deben pasar de considerarlos un material sin valor a considerarlos un potencial recurso con valor agregado (Oldfield et al., 2018).

Este nuevo paradigma introducido por los lineamientos de los sistemas de producción circular, ha volcado el interés de los investigadores al estudio de la composición de los residuos generados, con el objetivo de poder revalorizarlos. Para el caso de la industria agroalimentaria, por ejemplo, a través de la obtención de compuestos de alto valor biológico. Es importante destacar que la adopción de este tipo de estrategias produce no solo un beneficio ambiental, sino que, además, produce un beneficio económico adicional en las empresas, ya que disminuye la cantidad de residuos generados y los costos de gestión asociados, sumado a la generación de un nuevo coproducto de alto valor agregado que contribuirá con los ingresos de la empresa.

La industria de alimentos y bebidas comprende uno de los sectores productivos más grandes a nivel mundial, motivo por el cual, la gestión de los residuos que genera es de gran interés y preocupación para las áreas de protección ambiental y sostenibilidad (Matei et al., 2021).

A pesar de que actualmente los residuos de la industria agroalimentaria no son adecuadamente aprovechados, estos representan una fuente accesible de biomoléculas valiosas. En relación a esto, existen numerosas investigaciones que dan cuenta de que los residuos agroindustriales son una excelente fuente natural de compuestos bioactivos con potencialidad para ser utilizados en la generación de productos valiosos para las industrias alimenticia y farmacéutica, como lo son los compuestos nutraceuticos (Barros et al., 2017; Majerska et al., 2019; Matharu et al., 2016).

Los compuestos obtenidos a partir de matrices de origen vegetal presentan una mayor aceptabilidad por parte de los consumidores que su contraparte sintética; esto ha aumentado significativamente el interés por parte de las industrias alimenticia y farmacéutica sobre compuestos obtenidos a partir de residuos generados durante la producción de alimentos (Kowalska et al., 2017).

Los residuos generados por las industrias agroalimentarias que procesan materias primas de origen vegetal, presentan en su composición una gran variedad de compuestos de alto valor biológico, principalmente metabolitos secundarios, los cuales se caracterizan por poseer una gran diversidad química. Una clasificación comúnmente utilizada los agrupa según la ruta biosintética que les da origen, dividiéndolos en terpenos y terpenoides, sustancias fenólicas y alcaloides (Yonekura-Sakakibara y Saito, 2009). Dentro de este gran grupo que forman los metabolitos secundarios, en el último tiempo los compuestos fenólicos han cobrado una gran relevancia, dentro del cual, los flavonoides son el grupo de mayor importancia debido a sus múltiples propiedades funcionales.

Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en los alimentos vegetales, principalmente en frutas y verduras, encontrándose presentes en toda su estructura. Por lo cual, los residuos generados por estas materias primas, luego de su procesamiento presentan igual o incluso una mayor concentración de flavonoides que la fracción extraída, lo que los convierte en una excelente fuente de estas biomoléculas (Wijngaard et al., 2012).

Numerosas investigaciones han asociado el consumo de flavonoides con múltiples

efectos beneficiosos para la salud, entre otras, estos compuestos presentan propiedades antialérgicas, antivirales, antiinflamatorias, vasodilatadoras, antioxidantes, anticancerígenas, antidiabéticas, antivirales y antibacterianas; y actúan como agentes de prevención de enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares (Lejeune et al., 2015; Munir et al., 2024; Panche et al., 2016). Adicionalmente, estos compuestos son de interés tecnológico en la fabricación de alimentos debido a sus propiedades antioxidantes, antifúngicas y antimicrobianas; propiedades que ayudan a mantener la calidad de los alimentos y aumentar su vida útil.

Los cítricos son una de las frutas más cultivadas y consumidas en el mundo, y su producción aumenta año a año debido a un aumento sostenido de la demanda por parte de los consumidores (Gómez-Mejía et al., 2019). Esta tendencia se basa en los beneficios para la salud que aporta la incorporación de frutas cítricas a la dieta. En el año 2022 Argentina se ubicó octava en la producción mundial de frutas cítricas frescas con 3880 miles de toneladas, y se posicionó tercera a nivel mundial como industrializadora de frutas cítricas con 1619 miles de toneladas (*Federcitrus*, 2023), lo que denota la importancia de esta actividad en el país, donde el 42% de la fruta producida se destina a su industrialización.

Dentro de su composición, los cítricos contienen importantes cantidades de compuestos de alto valor biológico como son los flavonoides, carotenoides, ácido ascórbico, fibra alimentaria y oligoelementos; muchos de estos compuestos se encuentran en mayor concentración en las partes de la fruta que luego del procesamiento formarán parte de los residuos, como la cáscara (Ademosun et al., 2018). De aquí el gran valor económico que pueden tener estos residuos si se los aprovecha adecuadamente.

La mayoría de las industrias de procesamiento de frutas, generan una fracción de materiales de descarte muy elevada (Banerjee et al., 2017). Los cítricos en particular son una de las frutas que mayor proporción de desechos generan, ya que el residuo obtenido luego de su procesamiento representa en torno al 50% del peso de la fruta fresca (Sharma et al., 2017). Por lo que, las industrias que procesan cítricos son importantes generadoras de residuos agroindustriales.

Los principales residuos generados en el procesamiento de cítricos son pulpa, cáscara y semillas. Dentro de la cáscara, el flavedo es rico en aceites esenciales y carotenoides, y el albedo es rico en pectina y polifenoles. Gorinstein et al. (2001) encontraron que la concentración de polifenoles y ácido ascórbico en la cáscara de las frutas cítricas es significativamente superior al de la fruta pelada, lo que evidencia el gran potencial que tiene su residuo como generador de este tipo de compuestos bioactivos.

Dentro de los flavonoides, las flavonas y las flavanonas son los grupos principales presentes en la cáscara de las frutas cítricas. Donde las flavanonas más frecuentemente encontradas son derivados glicosilados de hesperetina (hesperidina, neohesperidina) y naringenina (naringina, narirutina) (Munir et al., 2024).

Los efectos beneficiosos de los compuestos bioactivos presentes en los cítricos no solo han impulsado el consumo de la fruta fresca, sino que, además, han aumentado significativamente el interés de la industria alimenticia por incorporarlos en la formu-

lación de sus productos, lo que busca satisfacer la preferencia de los consumidores por compuestos naturales que reemplacen los aditivos y conservantes sintéticos (Sharma et al., 2017) o para la generación de alimentos funcionales. Las industrias farmacéuticas y cosméticas comparten el interés por estos compuestos, ya que estas biomoléculas reducen el deterioro celular oxidativo (Ademosun, 2022).

Múltiples investigaciones han incorporado exitosamente tanto extractos fenólicos como harinas de cáscaras de cítricos a las formulaciones de una diversidad de alimentos (Ademosun, Oboh, et al., 2021; Ademosun, Odanye, et al., 2021; Jalilzadeh-Afshari y Fadaei, 2021; Rani et al., 2020); donde obtuvieron mejoras significativas en el valor nutricional, en la conservación de nutrientes y en la vida útil de los alimentos desarrollados.

A causa del gran interés que han generado los flavonoides en el último tiempo, las técnicas analíticas para su identificación y cuantificación han cobrado una gran relevancia. Las determinaciones analíticas de flavonoides en frutas, verduras y matrices derivadas de su procesamiento tienen varios objetivos, como la determinación del perfil polifenólico de los productos frescos para determinar su valor nutricional; su cuantificación en productos derivados industrializados y su evolución durante la vida útil; la caracterización de los residuos generados durante el procesamiento de productos vegetales para determinar su potencialidad como fuente de estos compuestos bioactivos; entre otras múltiples aplicaciones. Adicionalmente, el análisis de los perfiles polifenólicos se utilizan como marcadores quimiotaxonómicos naturales para la comprobación de la autenticidad de los alimentos y la prevención de fraude (Pardo-Mates et al., 2017).

La gran diversidad estructural que presentan los flavonoides, sumado a la diversidad y complejidad de las matrices que los contienen; convierten su identificación y cuantificación en un desafío analítico complejo. Se requiere de técnicas analíticas sofisticadas para lograr una identificación y cuantificación confiables de estos compuestos. La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a detectores UV-visible es la técnica analítica más utilizada para la identificación y cuantificación de flavonoides (De Villiers et al., 2016; Pyrzynska y Sentkowska, 2015; Szultka et al., 2013).

Comúnmente se utiliza cromatografía líquida en fase reversa (RP), donde la columna más utilizada para tal fin es la de C18. La elución isocrática resulta muy limitada para la determinación de flavonoides debido a la gran variabilidad estructural que presenta este grupo de compuestos; para resolver esto, se han aplicado eluciones en gradiente mediante el empleo múltiples fases móviles, donde los sistemas binarios son los más comúnmente utilizados, comprendidos generalmente por una fase acuosa y un solvente orgánico de menor polaridad (Biesaga et al., 2009). Es recomendable mantener la acidez constante de la fase móvil durante la elución, para ello se agrega un ácido a cada una de las fases móviles (ácido acético, fórmico o fosfórico).

El acetonitrilo y el metanol son los solventes orgánicos más utilizados en RP-HPLC, ya que presentan propiedades favorables para esta aplicación, como la miscibilidad en agua, valores de viscosidad relativamente bajos, bajas absorbancias en un amplio rango y baja reactividad química, tanto con las superficies de los equipos como con la mayoría de los compuestos químicos presentes en las muestras (Yabré et al., 2018).

Abad-García et al., (2007) señalan que los detectores de arreglos de diodos (DAD) son una herramienta fundamental para la identificación de las estructuras de las familias fenólicas. En su trabajo, estos autores realizaron la identificación de estructuras fenólicas a través de la comparación de los tiempos de retención y de los espectros de absorción UV-visible de los estándares con los obtenidos de las inyecciones de las muestras en iguales condiciones; adicionalmente, para los picos cromatográficos de compuestos cuyos estándares no poseían, pudieron identificar la familia polifenólica a la que pertenecen mediante la comparación de los espectros UV-visible de los estándares disponibles e información bibliográfica. Esto es posible ya que diferentes compuestos de una misma familia de flavonoides presentarán diferentes tiempos de retención, pero compartirán un espectro de absorción prácticamente idéntico. Más aún, realizaron la cuantificación de los picos desconocidos luego de la identificación de su familia, mediante la utilización de las áreas de integración obtenidas en la curva de calibrado del estándar de la familia a la cual pertenecen, esto es, por ejemplo, los compuestos desconocidos pertenecientes a las familias de las flavanonas se cuantificaron como naringenina-7-O-rutinósido.

El gran potencial de los residuos cítricos como fuente de compuestos bioactivos ha sido ampliamente documentado (Maqbool et al., 2023; Posadino et al., 2024; Saini et al., 2022; Sales et al., 2026; Suri et al., 2022), y ha generado un creciente interés por parte de las empresas por aprovecharlos para generar coproductos de alto valor agregado. Sin embargo, aquellas industrias que implementen su revalorización a través de la extracción de compuestos bioactivos deberán enfrentarse a la determinación rutinaria de los flavonoides recuperados en los extractos obtenidos.

Actualmente, las técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas (LC-MS/MS) poseen la capacidad de determinar de manera simultánea decenas de compuestos, las cuales ofrecen, además, una alta selectividad y sensibilidad (Tsagkaris et al., 2021). Sin embargo, presentan un elevado costo de adquisición, de funcionamiento y mantenimiento, sumado a la necesidad de personal altamente capacitado (Pérez-Magariño et al., 2024), todo esto imposibilita su implementación en laboratorios industriales para controles de calidad de rutina (Patil et al., 2025). Los equipos de HPLC-UV en cambio, presentan una mayor simplicidad, requieren de un menor costo inicial y bajos costos de mantenimiento (Kaewpradit et al., 2024), y pueden ser operados por técnicos de laboratorio luego de una breve capacitación inicial.

Actualmente gran parte de los laboratorios de control de calidad de las industrias cítricas poseen equipos de baja complejidad para sus controles diarios, en general cuentan con espectrofotómetros para determinar el contenido total de polifenoles (TPC) a través del ensayo de Folin-Ciocalteu, o sistemas HPLC con detectores de UV-Vis de longitud de onda variable (VWD) o detectores de longitud de onda múltiples (MWD), principalmente para el control de hesperidina en sus jugos, mediante la utilización del estándar de referencia correspondiente.

Sin embargo, estas técnicas presentan ciertas limitaciones, por un lado, el ensayo de Folin-Ciocalteu puede producir sobreestimaciones del TPC debido al aporte de compuestos antioxidantes no fenólicos presentes en la muestra (Munteanu & Apetrei, 2021), y no

brinda ninguna información estructural sobre los compuestos que componen el extracto (Pérez et al., 2023). En el caso de los equipos HPLC UV-Vis, estos enfrentan una limitación importante, solo pueden medir una (VWD) a cinco longitudes de onda en simultaneo (MWD), por lo que presentan la imposibilidad de adquirir espectros de absorción de cada uno de los picos obtenidos, y la adquisición de los estándares analíticos para los principales flavonoides potencialmente presentes en la matriz representa un elevado costo (Duan et al., 2022).

Las metodologías analíticas desarrolladas hasta el momento contemplan técnicas cromatográficas con detectores de complejidad media y alta, como detectores de arreglo de diodos (DAD) (Chen et al., 2021; dos Santos Lima et al., 2024) o espectrómetros de masas (LC-MS/MS) (Lin et al., 2025; Nurzaman et al., 2026; Yang et al., 2022), equipamiento con el que no cuentan las empresas de la región y cuya adquisición representaría una inversión inicial demasiado elevada. Mientras que los trabajos que utilizan detectores UV básicos requieren contar con todos los estándares de referencia de los analitos que se desean determinar (Al-Rimawi & Odeh, 2015; Kaur et al., 2024).

Ante esta situación, existe la necesidad de desarrollar metodologías robustas, accesibles y rápidas basadas en detectores ópticos básicos (como VWD o MWD), comúnmente encontrados en los laboratorios de control de calidad de las industrias procesadoras de cítricos, que permitan lograr obtener información espectral similar a la de los detectores de arreglo de diodos (DAD). La capacidad de esta estrategia para reconstruir espectros de absorción UV-Vis permitirá aprovechar los equipos existentes en la industria, para lograr realizar una caracterización de flavonoides de extractos del bagazo generado, sin la necesidad de adquirir nuevos equipamientos de mayor complejidad y, evitando el alto costo de tener que contar con la totalidad de los estándares de referencia, ofreciendo una solución técnica económicamente viable para la transición hacia la economía circular.

Esta estrategia permite cuantificar la concentración total de una familia de polifenoles sin la necesidad de tener los estándares individuales de todos los compuestos pertenecientes a dicha familia.

Este trabajo tiene como objetivo desarrollar una metodología analítica que permita identificar y cuantificar los principales compuestos flavonoides presentes en los bagazos obtenidos del procesamiento de frutas cítricas, mediante cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC) con un detector de longitud de onda múltiple (MWD), establecer cuál es el solvente orgánico y las condiciones de elución que maximicen la separación y la respuesta cromatográfica de los analitos en estudio.

METODOLOGÍA

Estándares y reactivos

Los estándares de naringina (Nar), hesperidina (Hesp), neohesperidina (Neoh), prunina (Prun) y quercetina (Quer) fueron provistos por Sigma-Aldrich (Seelze, Alemania). Las soluciones madre (1000 mg/L) se prepararon mediante la disolución de los estándares en

metanol grado HPLC (pureza 99.9%) y se almacenaron en refrigeración a 4 °C en botellas color caramelo con tapón de PTFE. Las soluciones de trabajo (20 mg/L) se prepararon en metanol grado HPLC.

Todos los solventes utilizados en las pruebas fueron de grado HPLC (Pureza 99.9%). El acetonitrilo y el metanol fueron provistos por Sintorgan (Buenos Aires, Argentina).

Determinación de espectros de absorción

Se obtuvieron los espectros de absorción de cada uno de los estándares de flavonoides a través del espectrofotómetro Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis en el rango de 200 a 350 nm, mediante la función de barrido espectral del equipo. A partir de los espectros obtenidos, se identificó la longitud de onda de máxima absorción para cada compuesto. Dichos valores se emplearon para configurar el detector MWD con el fin de maximizar la respuesta cromatográfica.

Optimización de la técnica cromatográfica

Las determinaciones por cromatografía líquida de ultra alta resolución en fase reversa (RP-UHPLC) se llevaron a cabo en un equipo Agilent Technologies 1260 Infinity equipado con un detector MWD Hewlett Packard G1365A. La separación se realizó mediante una columna C18 (50 mm x 2.1 mm de diámetro interno y tamaño de partícula de 1.8 µm).

La fase móvil consistió en una fase acuosa de agua ultrapura (AUP) acidificada con ácido fórmico al 0.1% v/v y una fase orgánica. Con el fin de seleccionar el modificador orgánico más adecuado, se compararon acetonitrilo y metanol. Para ello se realizaron ensayos en condiciones isocráticas a diferentes velocidades de flujo (0.1; 0.2; 0.3; 0.4 y 0.45 mL/min) y a distintas proporciones de la fase orgánica (10, 15, 20, 25%).

Una vez establecidas las condiciones de flujo y composición que proporcionaron la mejor separación y resolución de los compuestos individuales para cada solvente, se realizó el análisis de una solución multiestándar en dichas condiciones, para evaluar el efecto de la interacción entre los analitos. Finalmente, se optimizó el método mediante gradientes de elución para mejorar tanto la separación como la resolución de los picos obtenidos. Se realizó un análisis comparativo de los resultados para cada uno de los solventes, para decidir cuál es el más adecuado.

Validación del método

Los parámetros de idoneidad y validación del método cromatográfico se determinaron siguiendo los lineamientos de la directriz Q2 del Consejo Internacional para la Armonización (ICH) (Almpañi et al., 2025). Para asegurar la confiabilidad del método, se evaluaron parámetros de idoneidad del sistema, determinando la resolución cromatográfica (Rs), la linealidad, precisión (repetibilidad) y exactitud del método mediante ensayos de recuperación. Estos parámetros se determinaron para naringina, hesperidina y neohesperidina, ya que estos fueron los analitos encontrados en los extractos.

La linealidad del método se estableció evaluando seis niveles de concentración de los estándares, 0,5; 1; 5; 10; 25 y 50 mg/L. El ajuste del modelo se determinó mediante el cálculo del coeficiente de correlación (R^2).

La repetibilidad del método se evaluó a partir de preparaciones independientes en tres niveles de concentración (5, 25 y 50 mg/L) para los flavonoides de interés, se analizaron tres réplicas por cada nivel de concentración. Los resultados se expresaron mediante el cálculo de la desviación estándar relativa porcentual (%RSD). Se consideró un umbral de RSD inferior al 2% para validar este parámetro.

La exactitud se evaluó mediante un ensayo de recuperación por adición de estándar. Las muestras fueron fortificadas con cantidades conocidas de los estándares de referencia en tres niveles de concentración (baja, media y alta), se analizaron tres réplicas independientes por cada nivel. La exactitud se expresó como el porcentaje de recuperación.

Los parámetros de idoneidad del método, tales como resolución cromatográfica (R_s), número de platos teóricos y la simetría de cada uno de los picos identificados fue calculado mediante el software de adquisición de datos del equipo, OpenLAB CDS ChemStation Edition (Agilent Technologies). Se estableció un valor de $R_s > 1,5$ como criterio de aceptación para confirmar una separación satisfactoria a la línea base.

Construcción de espectros de absorción a partir de datos cromatográficos

Si bien el detector MWD tiene la capacidad de medir cinco longitudes de onda simultáneamente durante toda la corrida cromatográfica, no tiene la capacidad de generar espectros de absorción como lo hacen los detectores de arreglos de diodos (DAD). No obstante, debido a la importancia que tienen los espectros de absorción en la identificación de flavonoides, se implementó una estrategia para construirlos a partir de los datos cromatográficos.

Esta estrategia se basa en aprovechar la capacidad del detector MWD de medir cinco longitudes de onda en simultaneo; donde a través de la repetición de la corrida cromatográfica de una misma muestra se pueden obtener los valores de absorción a diferentes longitudes de onda de cada uno de los picos resultantes, cuatro longitudes de onda diferentes por corrida, ya que una de ellas se mantuvo fija; esta última se utilizó como referencia para garantizar que las inyecciones sean comparables. De esta manera se pueden construir los espectros de absorción para cada uno de los compuestos. Las longitudes de onda utilizadas en cada una de las repeticiones fueron seleccionadas de manera estratégica para poder capturar las formas de los espectros (mínimos, máximos y puntos de inflexión), esta información fue obtenida de los espectros absorción determinados previamente.

Obtención de extractos de cáscaras de cítricos

Se obtuvieron muestras de naranja, mandarina y pomelo de 3 verdulerías de la ciudad de Concordia (Entre Ríos, Argentina). Se compraron 5 kg de cada variedad por comercio, lo que formó una muestra inicial de 15 kg, de la cual se separó una submuestra representativa de 1 kg para su procesamiento.

La superficie de la fruta se limpió con agua destilada para eliminar la suciedad, el polvo y la microflora, posteriormente se secó con papel absorbente. Se separó manualmente la cáscara (albedo y flavedo) de la pulpa de la fruta. Las cáscaras fueron secadas en estufa a 45°C por 24 h. El material seco se trituró con una licuadora doméstica hasta obtener un polvo fino, el cual se almacenó en recipientes herméticos bajo refrigeración hasta su uso.

Para la extracción de los compuestos bioactivos de la matriz vegetal seca se pesaron 0.2 g del polvo de cáscara y se agregaron 20 mL de la solución de extracción (etanol y AUP 75% v/v); La mezcla se sometió a extracción asistida por ultrasonido en baño ultrasónico a temperatura ambiente durante 40 min. El extracto crudo se centrifugó a 12000 rpm durante 10 min. Finalmente, el sobrenadante se filtró a través de filtro de jeringa de 0.45 μm y se realizó una dilución 1:10 para su posterior análisis cromatográfico, según las condiciones optimizadas descritas anteriormente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de los espectros de absorción

La Figura 1 presenta los espectros de absorción de cada uno de los estándares analizados. A partir de dichos espectros, se identificó la longitud de onda de máxima absorción para cada analito. Se observó que la prunina, naringina, hesperidina y neohesperidina exhibieron un máximo coincidente a 285 nm, mientras que la quercetina presentó su máximo a 256 nm. En consecuencia, se seleccionaron estos valores para la detección en el análisis cromatográfico.

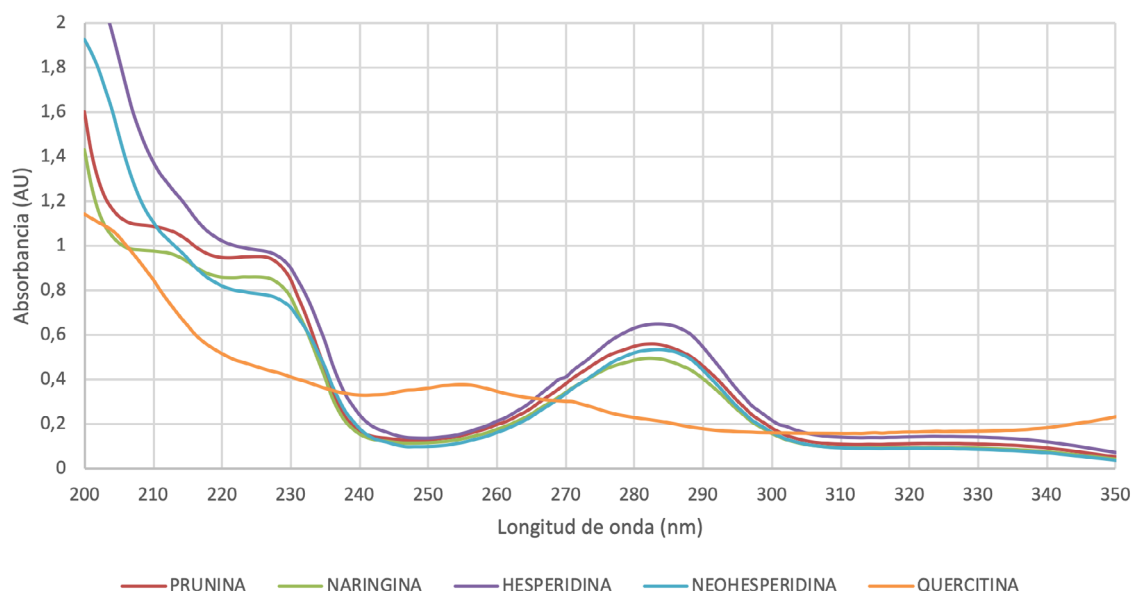


Figura 1: Espectros de absorción de los estándares de flavonoides a 20 ppm.

Se puede observar además que hay una gran similitud entre los espectros de absorción de estos primeros cuatro compuestos, esto se atribuye a su estructura química,

debido a que los mismos pertenecen a la misma familia de flavonoides, las flavanonas; mientras que la quercetina pertenece a la familia de los flavonoles.

Los espectros de absorción obtenidos coinciden con los encontrados en la literatura científica, donde diferentes trabajos de investigación describen que las flavanonas se caracterizan por poseer una banda de absorción en el rango de 260 a 295 nm (Banda II), asociada a las transiciones electrónicas del sistema benzoilo del anillo A; región donde encuentran su pico máximo de absorción (Mabry et al., 1970; Taniguchi et al., 2023).

Por lo tanto, el análisis de los espectros de absorción constituye una herramienta eficaz para agrupar diferentes compuestos dentro de una misma familia, o bien, diferenciar compuestos pertenecientes a diferentes familias de flavonoides.

Elección del solvente orgánico

La Tabla 1 detalla los gradientes de elución y las condiciones cromatográficas optimizadas tanto para el acetonitrilo como para el metanol.

Tabla 1: Gradientes de elución optimizados para acetonitrilo y metanol

ACETONITRILLO (FASE B)			METANOL (FASE B)			CONDICIONES DE ANÁLISIS		
Tiempo (min)	% FASE AUP	% FASE B	Tiempo (min)	% FASE AUP	% FASE B	Flujo (mL/min)	Temperatura (°C)	Presión Max. (bar)
0.00	90.0	10.0	0.00	85.0	15.0	0.45	40	400
7.00	90.0	10.0	7.00	85.0	15.0	0.45	40	400
7.10	87.0	13.0	7.10	70.0	30.0	0.45	40	400
8.00	80.0	20.0	17.0	70.0	30.0	0.45	40	400
15.00	80.0	20.0	18.0	80.0	20.0	0.45	40	400
18.00	90.0	10.0	20	85.0	15.0	0.45	40	400

La Tabla 2 presenta los tiempos de retención y las respuestas cromatográficas obtenidas con cada modificador orgánico bajo las condiciones optimizadas. Los resultados presentados corresponden a un promedio de corridas realizadas por triplicado.

Tabla 2: Respuestas cromatográficas de los compuestos analizados

Compuesto	Longitud de onda de detección (nm)	Acetonitrilo		Metanol	
		Tiempo de retención (min)	Altura de pico (mAU)	Tiempo de retención (min)	Altura de pico (mAU)
Prunina	285	9.92	6.60	10.62	17.55
Naringina	285	10.55	17.84	11.63	12.58
Hesperidina	285	10.96	21.41	12.41	14.05
Neohesperidina	285	11.25	21.29	13.18	13.30
Quercetina	256	12.48	9.72	15.35	5.18

El análisis de los tiempos de retención reveló que el orden de elución se mantuvo constante para ambos modificadores orgánicos: prunina, naringina, hesperidina, neo-hesperidina y quercetina. Los cromatogramas obtenidos para ambos solventes en las condiciones establecidas se pueden observar en la Figura 2.

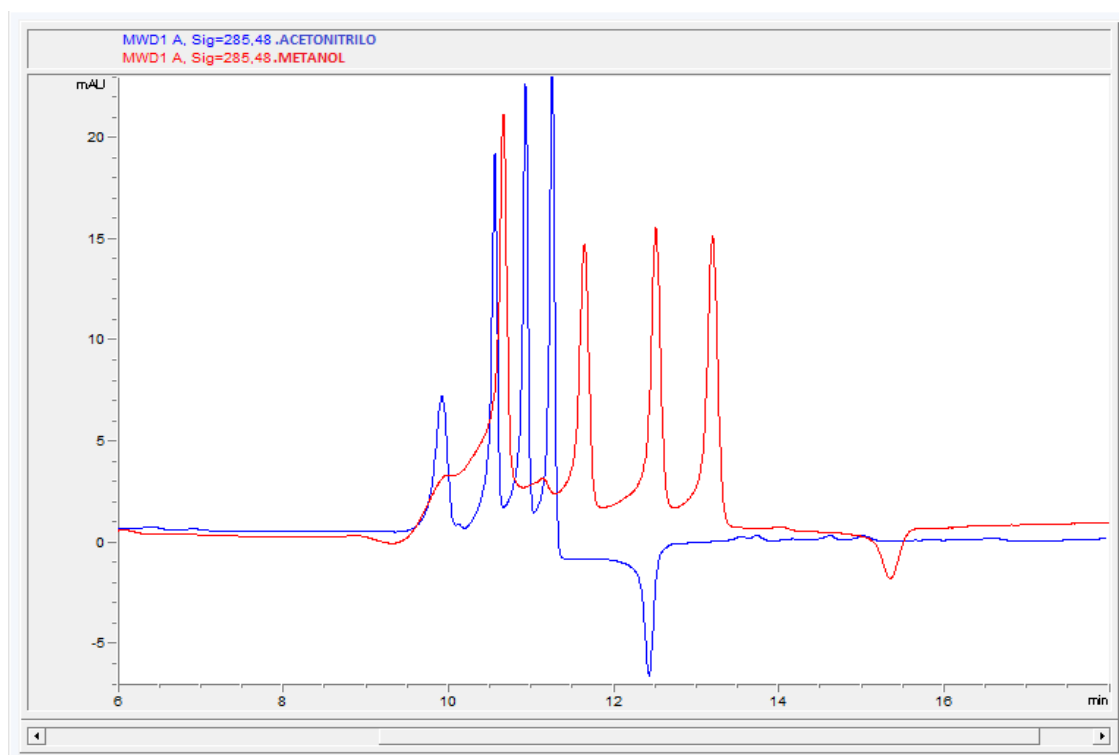


Figura 2: Comparación de cromatogramas con acetonitrilo y metanol como solventes orgánicos

Como se puede observar tanto en la Tabla 2 como en los perfiles cromatográficos de la Figura 2, el cromatograma obtenido con acetonitrilo como modificador orgánico presenta una menor respuesta cromatográfica para el pico correspondiente a la prunina, en relación al obtenido con metanol, pero presenta mejores respuestas para los 4 picos restantes. Más precisamente, el primer pico del cromatograma presenta una respuesta un 43.5% inferior en relación al pico con metanol, pero presenta respuestas un 30, 35, 38 y 47% superiores para los picos de naringina, hesperidina, neohesperidina y quercetina, respectivamente.

Adicionalmente, el cromatograma generado con acetonitrilo presentó una mejor resolución de los picos y menores tiempos de retención, lo que se traduce en un menor tiempo total de análisis; en el mismo sentido, su gradiente de elución requiere de menores proporciones del solvente orgánico que para metanol; todo esto implica un menor consumo de solvente al utilizar acetonitrilo como solvente orgánico en la fase móvil.

El comportamiento cromatográfico y los tiempos de retención observados están relacionados con las características estructurales de los analitos, particularmente con su

grado de glicosilación y con el número de grupos hidroxilo presentes en la molécula, los cuales determinan su interacción con la fase móvil y estacionaria (Buszewski et al., 2020). En el caso de hesperidina y la neohesperidina, isómeros estructurales que solo se diferencian en el enlace interglicosídico de sus disacáridos, rutinósido y neohesperidósido respectivamente, presentan tiempos de elución distintos debido a que la conformación espacial tridimensional del azúcar afecta el impedimento estérico y su solvatación. Finalmente, la quercetina, al ser una aglicona, carece de azúcares en su estructura, pero su polaridad y tiempo de elución intermedio se explican por la presencia de cinco grupos hidroxilo libres en su núcleo flavónico (Laganà Vinci et al., 2024).

Adicionalmente, los tiempos de retención y la resolución de picos están relacionados con la naturaleza fisicoquímica de los solventes, lo que determina, su interacción con la columna y con la estructura polihidroxilada de los flavonoides (Kumar, 2017). El metanol es un solvente prótico que compite fuertemente en la formación de puentes de hidrógeno tanto con los grupos hidroxilo de los flavonoides como con los silanoles residuales de la fase estacionaria, lo que a menudo ralentiza la cinética de desorción y ensancha los picos. Por el contrario, el acetonitrilo, es un solvente polar aprótico que no actúa como donador de puentes de hidrógeno, lo que impacta favorablemente la selectividad de la separación (Roy et al., 2013).

Desde el punto de vista cinético y de la mecánica de fluidos del sistema, las mezclas de acetonitrilo-agua poseen una viscosidad menor que las de metanol-agua, esta menor viscosidad incrementa el coeficiente de difusión de los analitos en la fase móvil, optimizando la transferencia de masa hacia y desde la fase estacionaria (Fekete et al., 2014). Como resultado, se obtienen picos más estrechos, separaciones más rápidas y una menor contrapresión en la columna (Welch et al., 2009), lo que justifica la selección del acetonitrilo como el solvente más eficiente y adecuado para este análisis.

En concordancia con los resultados obtenidos, diversas investigaciones han utilizado acetonitrilo como solvente orgánico en la fase móvil para la determinación de flavonoides (Choi et al., 2023; Jang et al., 2019; N. Li et al., 2025; Sammani et al., 2021).

Específicamente, Manchón et al. (2011) encontraron que el uso de acetonitrilo como modificador orgánico en la fase móvil logró separaciones más rápidas, mejor resolución, picos más estrechos y simétricos, y generó una menor contrapresión en la columna en relación al metanol. Esto lo atribuyen a la menor viscosidad del acetonitrilo, lo que facilita la transferencia de masa y reduce la presión del sistema, mejorando la eficiencia cromatográfica.

Validación del método

Los resultados correspondientes a la evaluación de la idoneidad y la validación del método analítico se encuentran en las tablas 3 y 4 respectivamente. Los parámetros que evalúan el desempeño cromatográfico, incluyendo la resolución (R_s), el número de platos teóricos (N) y la simetría de los picos para la naringina, hesperidina y neohesperidina, se detallan en la Tabla 4. Por otra parte, los parámetros de validación que comprenden la linealidad del modelo (R^2), la precisión (%RSD) y la exactitud del método expresada como porcentaje de recuperación, se presentan en la Tabla 5.

Tabla 3: Parámetros de idoneidad del método

Matriz	Analito	Resolución (Rs)	Número de platos teóricos (N)	Simetría
Extracto de Naranja	Compuesto 1	2.43	5841	1.39
	Compuesto 2	2.93	5347	0.85
	Naringina	47.54	72919	1.00
	Hesperidina	6.71	192345	0.91
	Compuesto 5	19.33	81314	1.07
Extracto de Mandarina	Compuesto 1	2.11	5291	0.89
	Compuesto 2	31.18	15294	0.91
	Naringina	3.38	141333	0.80
	Hesperidina	3.83	192924	0.91
	Compuesto 5	19.11	92090	0.91
Extracto de Pomelo	Compuesto 1	29.56	26335	0.96
	Naringina	3.04	77047	0.71
	Neohesperidina	6.07	195101	0.89
	Compuesto 4	7.38	157256	0.92
	Compuesto 5	14.12	70681	0.98

Tabla 4: Parámetros de validación del método

Analito	Matriz	Linealidad (R^2)	Repetibilidad (%RSD)	Exactitud (% Recuperación $\pm$ SD)
Naringina	Naranja	0.9962	0.9	99.4 $\pm$ 3.0
	Mandarina		1.0	101.8 $\pm$ 1.1
	Pomelo		1.0	99.6 $\pm$ 1.3
Hesperidina	Naranja	0.9991	0.7	98.5 $\pm$ 2.2
	Mandarina		0.7	98.7 $\pm$ 1.2
	Pomelo		0.8	100.9 $\pm$ 2.0
Neohesperidina	Naranja	0.9974	1.3	97.5 $\pm$ 2.2
	Mandarina		1.3	98.1 $\pm$ 2.0
	Pomelo		1.2	98.7 $\pm$ 2.6

Construcción de los espectros de absorción

Tras seleccionar el acetonitrilo como el modificador orgánico más adecuado, se procedió a construir los espectros de absorción a partir de tres corridas cromatográficas, donde cada una de ellas tuvo un valor de longitud de onda de detección constante y las cuatro restantes variaron para obtener los puntos necesarios para construir el espectro.

La Tabla 5 detalla las respuestas cromatográficas (altura y área de pico) obtenidas para cada compuesto a las diferentes longitudes de onda evaluadas. Estos valores se utilizaron para el trazado de las curvas de absorción.

Tabla 5: Respuestas cromatográficas de los flavonoides a diferentes longitudes de onda

Long onda de detección (nm)	Prunina		Naringina		Hesperidina		Neohesperidina		Quercetina	
	Altura de pico (mAU)	Área de pico (mAU*s)	Altura de pico (mAU)	Área de pico (mAU*s)	Altura de pico (mAU)	Área de pico (mAU*s)	Altura de pico (mAU)	Área de pico (mAU*s)	Altura de pico (mAU)	Área de pico (mAU*s)
210	12.70	174.06	41.53	199.26	73.29	338.33	72.33	296.46	34.52	252.38
215	12.55	166.26	42.47	195.02	57.52	263.23	56.59	229.29	21.30	143.94
220	13.85	158.41	42.11	184.06	50.41	225.62	50.28	202.36	13.74	95.65
230	11.49	144.32	34.81	164.82	39.64	190.16	38.22	151.75	4.44	32.70
240	4.52	43.86	11.81	54.85	15.85	69.43	15.97	47.64	1.45	19.12
250	0.61	4.84	1.80	7.96	1.86	7.73	1.93	7.24	8.11	51.31
260	2.39	21.15	6.17	29.69	6.39	31.64	6.26	25.57	9.72	52.63
270	5.38	62.00	15.32	70.53	17.54	85.19	17.21	71.68	6.98	21.11
285	7.17	73.17	17.14	86.90	21.05	97.66	21.17	88.80	5.88	41.30
285	6.95	75.39	17.84	92.14	21.41	105.42	21.30	92.87	5.96	43.68
285	7.16	77.62	17.80	88.09	21.29	104.32	21.29	104.32	6.02	46.80
300	4.81	59.68	13.53	63.98	15.90	76.31	15.66	65.24	9.28	36.67
305	3.40	40.16	8.77	45.19	10.45	51.85	10.41	45.88	9.93	38.23
315	1.30	13.67	3.58	16.80	4.31	19.52	4.21	16.54	8.84	39.47
320	1.09	10.73	3.08	14.67	3.67	16.81	3.65	14.61	7.48	32.03

La Figura 3 muestra uno de los ensayos realizados para la recolección de los datos espectrales. En ella se observan las respuestas cromatográficas de cinco longitudes de onda distintas durante una misma corrida. Aquí se puede ver claramente la dependencia de la intensidad de la señal respecto a la longitud de onda de detección para cada flavonoide.

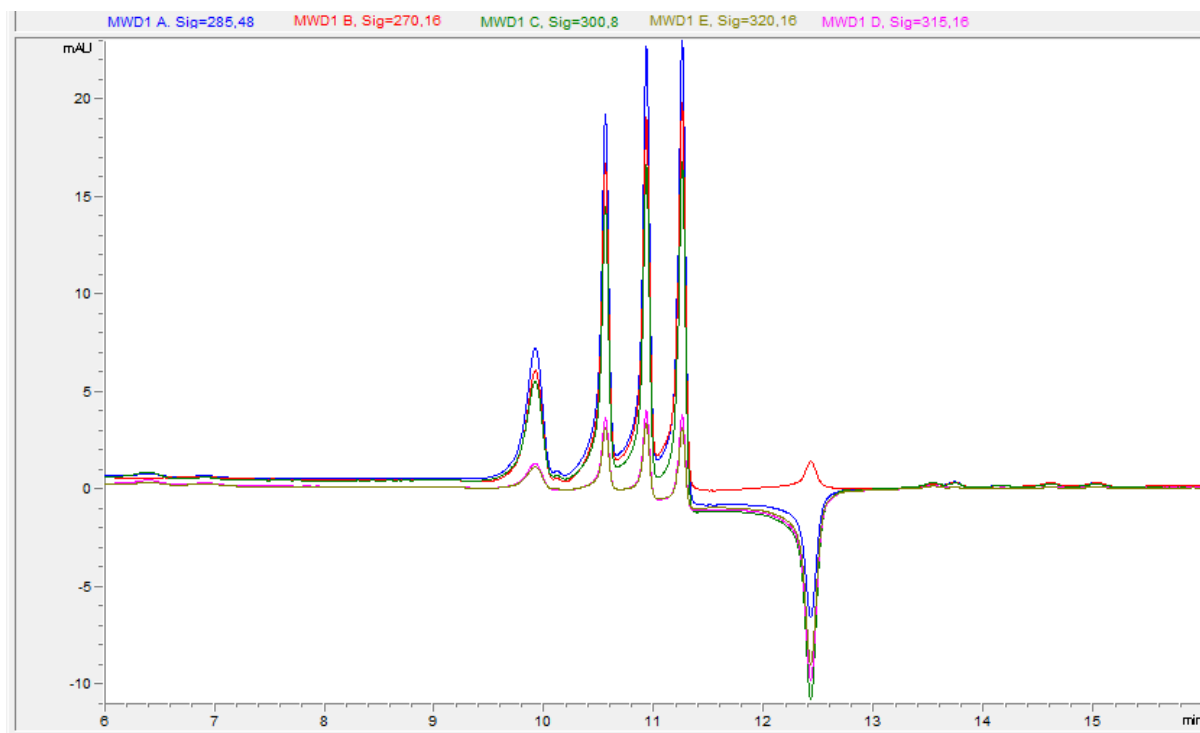


Figura 3: Respuestas cromatográficas obtenidas a diferentes longitudes de onda

A partir de los resultados obtenidos se construyeron los espectros de absorción correspondientes a cada uno de los flavonoides en estudio, los cuales se visualizan en la Figura 4.

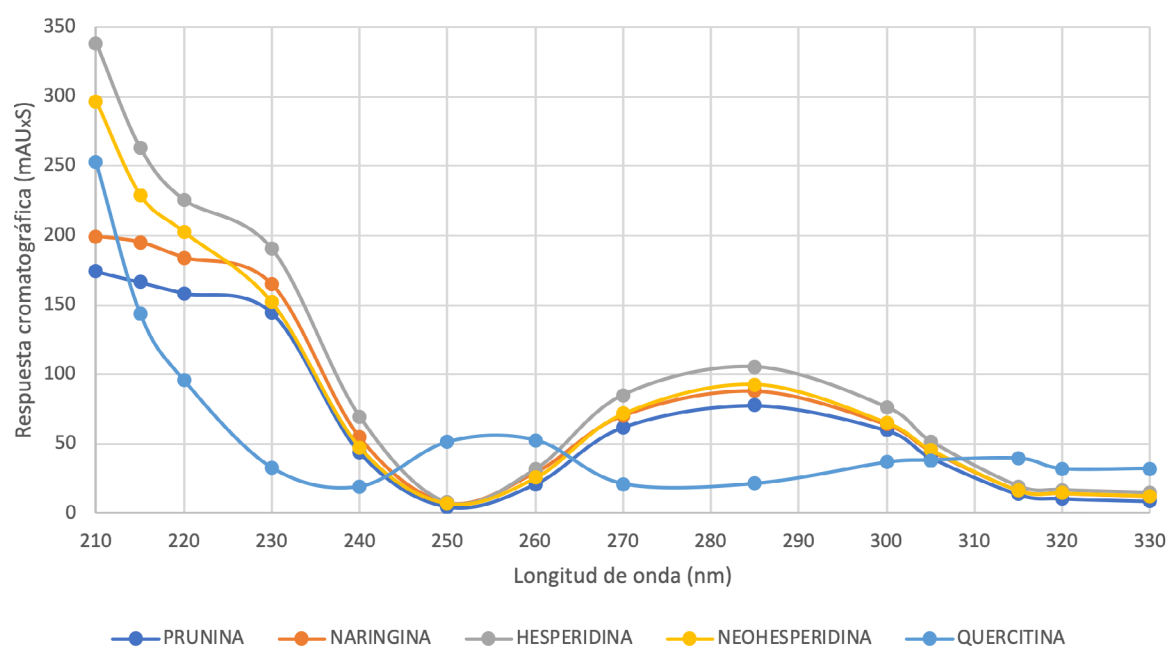


Figura 4: Espectros de absorción de flavonoides construidos a partir de datos cromatográficos

El análisis comparativo entre esta última figura y la Figura 1 permite observar que los espectros contruidos a partir de los resultados cromatográficos capturan muy bien la morfología espectral de los estándares. Esto demuestra que pese a las limitaciones del detector MWD, la estrategia aplicada permite compensarlas para obtener funcionalidades similares a los detectores DAD; es decir, que esta estrategia permitiría identificar la familia a la que pertenecen picos obtenidos para muestras de extractos de matrices cítricas, a pesar de no contar con sus estándares.

Más aún, si se observa la Figura 4 también se puede ver que prunina, naringina, hesperidina y neohesperidina, todas pertenecientes a la familia de las flavanonas, presentan respuestas muy similares en un amplio rango de longitudes de onda, incluida la región de sus máximos de absorción. Este comportamiento corrobora lo reportado por Abad-García et al., (2007), donde señalan que además de la identificación dentro de una familia de flavonoides, esta homogeneidad espectral permite también la cuantificación de compuestos empleando la curva de calibrado de un estándar representativo de la familia a la cual pertenecen.

Análisis cromatográfico de los extractos

La aplicación del método optimizado previamente a los extractos de naranja, mandarina y pomelo evidenció fenómenos de coelución en ciertas regiones del cromatograma. Esto se atribuyó a la complejidad de la matriz y a la presencia de flavonoides adicionales que no formaban parte de la solución multiestándar inicial. Para lograr la separación de todos los compuestos presentes en los extractos se realizaron modificaciones en el gradiente de elución.

Las Figuras 5, 6 y 7 exhiben los cromatogramas obtenidos para los extractos de naranja, mandarina y pomelo, respectivamente, tras la aplicación del gradiente de elución ajustado.

En estos cromatogramas se aprecia una buena separación de los constituyentes mayoritarios, con una resolución adecuada en las zonas donde previamente se observaba coelución. La identificación de los picos se realizó mediante la comparación de sus tiempos de retención con los de los estándares, sumado al análisis de coincidencia entre los espectros de absorción contruidos para cada pico y los espectros obtenidos para los estándares.

Adicionalmente a la asignación de los compuestos de referencia, se realizó la construcción de los espectros de absorción para los picos restantes detectados en los cromatogramas de las tres matrices cítricas. El objetivo fue caracterizar aquellos metabolitos presentes en los extractos para los cuales no se dispone de estándares, lo que permitió su clasificación dentro de una de las familias de flavonoides mediante la comparación de sus espectros de absorción.

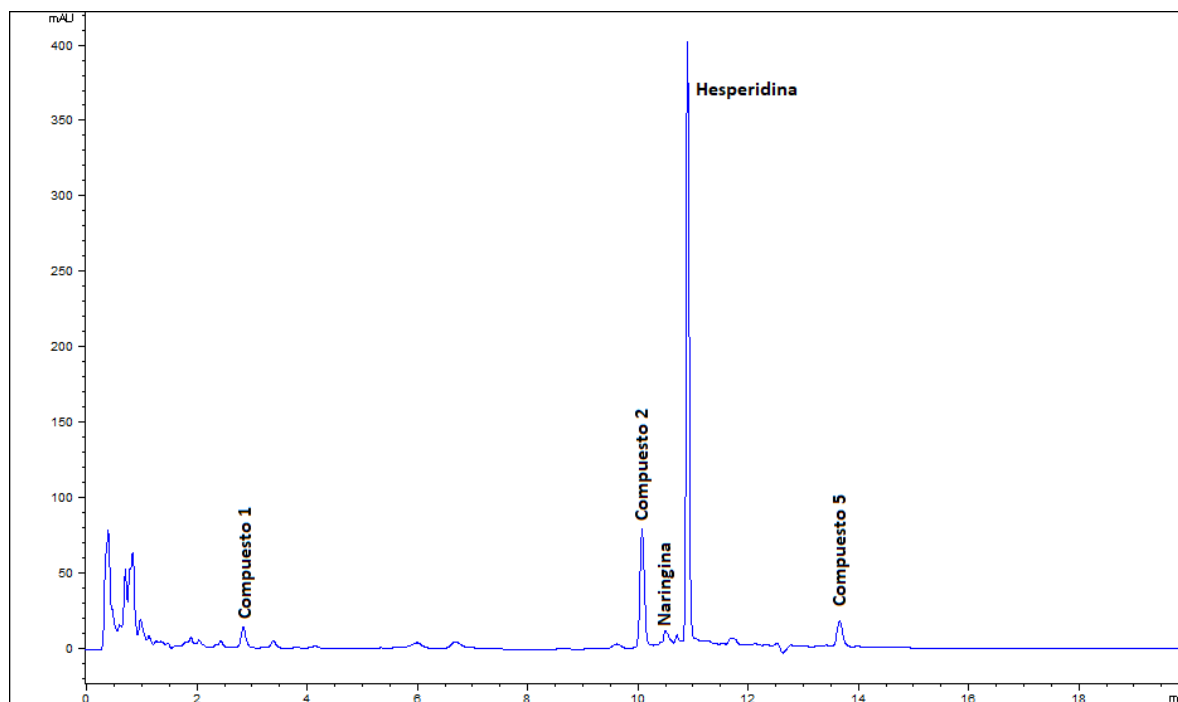


Figura 5: Cromatograma obtenido para el extracto de naranja

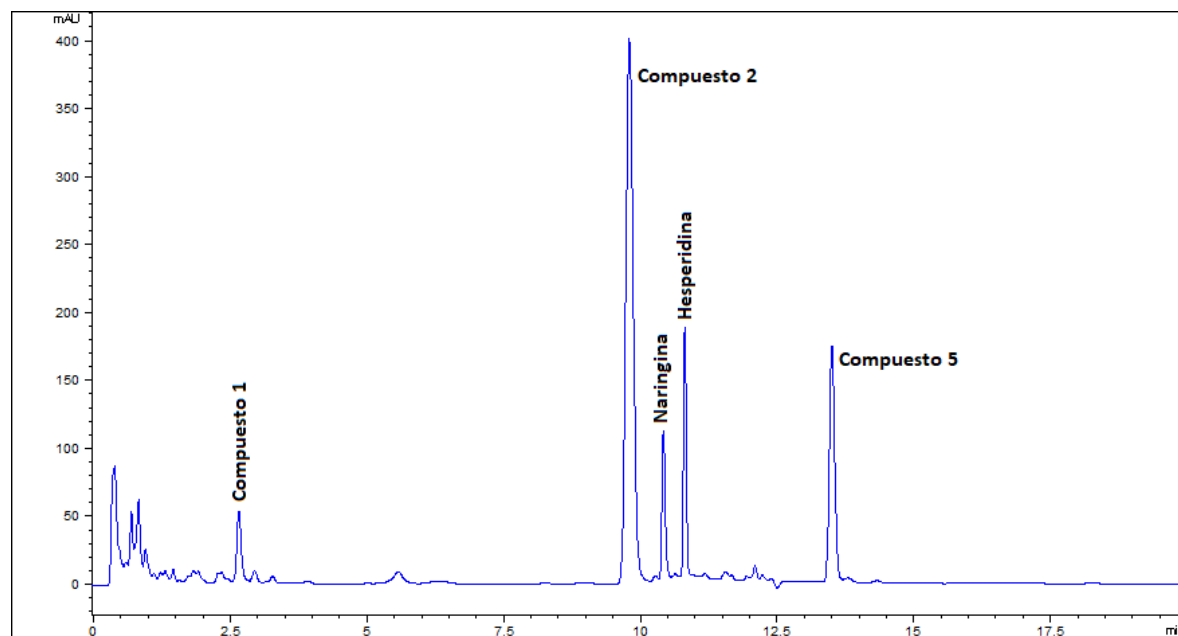


Figura 6: Cromatograma obtenido para el extracto de mandarina

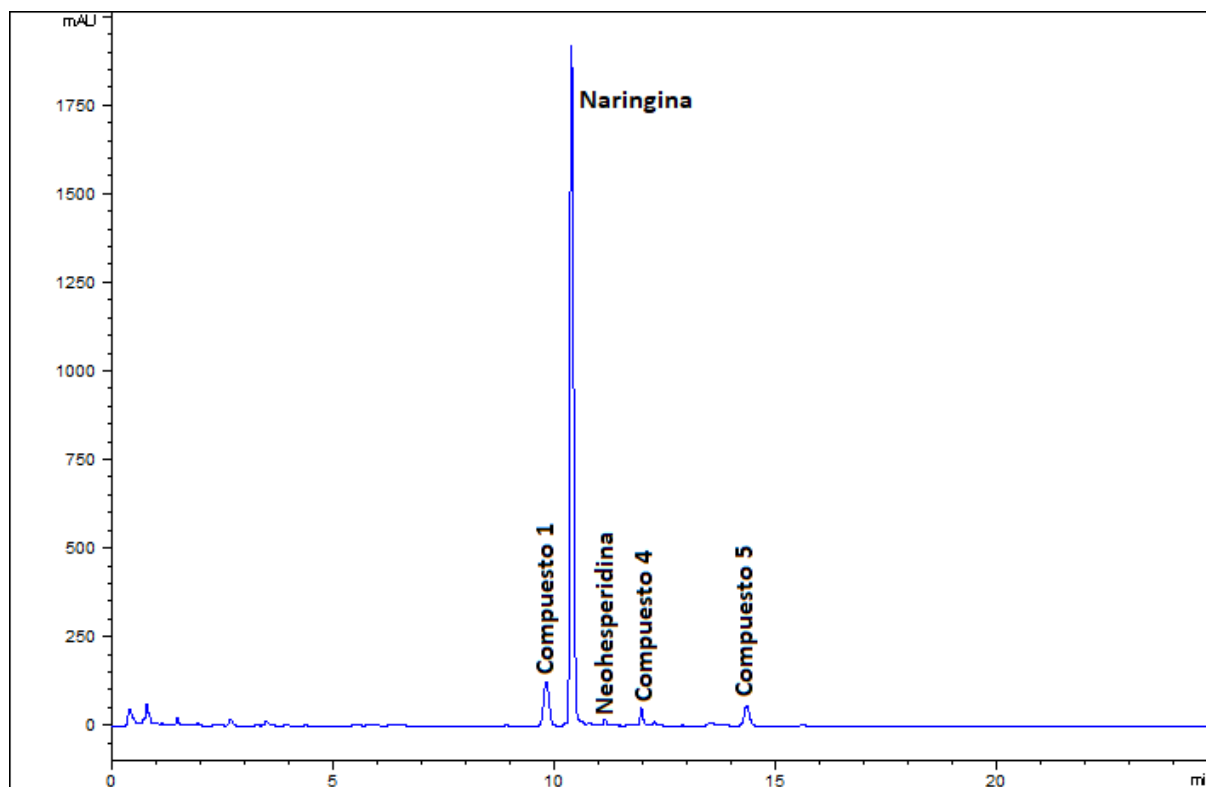


Figura 7: Cromatograma obtenido para el extracto de pomelo.

De esta manera se logró la identificación de naringina y hesperidina en el extracto de naranja, donde esta última se encontró en mayor concentración. Este resultado concuerda con diversos estudios previos que han identificado a la hesperidina como el flavonoide predominante en extractos de cáscara de naranja (Foudah et al., 2021; Gómez-Mejía et al., 2019; Lachos-Perez et al., 2018; Montero-Calderon et al., 2019). Por otro lado, el denominado “Compuesto 1” presentó un espectro de absorción característico de los ácidos fenólicos informados en la literatura científica, específicamente de la clase de los ácidos hidroxibenzoicos (Robbins, 2003). Adicionalmente, su tiempo de elución corto es característico de este tipo de compuestos debido a su mayor polaridad en relación al resto de familias de flavonoides (Afifi et al., 2023).

Mientras que los compuestos 2 y 5 mostraron los espectros de absorción característicos de las flavanonas, lo que sugiere su pertenencia a esta familia.

En cuanto al extracto de mandarina, el análisis mediante estándares confirmó la presencia de hesperidina y naringina. Respecto a los picos no asignados, se obtuvieron espectros de absorción característicos de los ácidos hidroxibenzoicos para el compuesto 1 y espectros característicos de las flavanonas para los compuestos 2 y 5.

Como se puede ver en la Figura 6, el compuesto 2, perteneciente a la familia de las flavanonas, presenta la señal de mayor intensidad, por encima de hesperidina. Si bien la mayoría de las investigaciones señalan a hesperidina como el flavonoide mayoritario en la cáscara de mandarina (Anticono et al., 2021, 2022; Martinidou et al., 2024), existen

estudios que reportan a narirutina como el componente principal. Específicamente, Liu et al. (2021) encontraron a narirutina como el flavonoide más abundante en su estudio de análisis de composición de polifenoles en extractos de mandarina, donde informaron concentraciones de $1643.60 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ y $2155.57 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ para hesperidina y narirutina, respectivamente. En consecuencia, dado su espectro correspondiente a una flavanona y su tiempo de retención menor en relación a hesperidina, resulta razonable inferir que el Compuesto 2 corresponde a la narirutina.

Finalmente, el análisis del cromatograma correspondiente al extracto de pomelo presentado en la Figura 7, permitió confirmar la presencia de neohesperidina y naringina mediante la comparación con los estándares. Los resultados revelaron que la naringina es el componente mayoritario en este extracto, la cual presentó una intensidad en la señal respuesta notablemente superior al resto de los picos en este extracto, e incluso a la de los compuestos predominantes en los extractos de naranja y mandarina.

Por otra parte, la construcción de los espectros de absorción para los picos no asignados (compuestos 1, 4 y 5) mostró perfiles característicos con máximos de absorción en el rango de los 280-290nm. Esta evidencia espectral sugiere que dichos compuestos pertenecen también a la familia de las flavanonas, lo que coincide con los perfiles fenólicos reportados por múltiples investigaciones para extractos de cáscara de pomelo (Castro-Vazquez et al., 2016; El Kantar et al., 2019; Garcia-Castello et al., 2015; P. Li et al., 2022).

Con respecto a quercetina y prunina, las cuales no fueron detectadas en los extractos evaluados, Gattuso et al. (2007) en su revisión sobre la composición de flavonoides en frutas cítricas, señalan que las agliconas (estructuras que carecen de la fracción glicosídica, como es el caso de quercetina) se presentan con muy baja frecuencia en estas matrices. Este comportamiento se atribuye a la naturaleza apolar de este tipo de moléculas y a su consecuente baja solubilidad en el medio acuoso celular; asimismo, dichos autores no reportan la presencia de prunina dentro de las flavanonas características de los cítricos.

Por otra parte, la ausencia de prunina (naringenina-7-O-glucósido) concuerda con diversas investigaciones, que muestran a este compuesto como un metabolito minoritario o ausente en frutas cítricas (Martinidou et al., 2024; Nogata et al., 2006; Sanches et al., 2022; Suleria et al., 2020). Su presencia suele asociarse a una etapa intermediaria de la biosíntesis o a un producto de la degradación enzimática de la naringina en frutos sobremaduros (Ribeiro, 2011). En consecuencia, el perfil de flavanonas en las matrices estudiadas se encuentra dominado por los diglicósidos característicos, tales como hesperidina, naringina y narirutina.

Finalmente se realizó la cuantificación de los componentes principales de cada uno de los extractos, a través de las curvas de calibración generadas para la validación del método, donde se encontró a hesperidina como el flavonoide predominante en naranja (79.6 mg/g de cáscara), mientras que en pomelo naringina fue el componente mayoritario (215.2 mg/g). En el extracto de mandarina se cuantificaron hesperidina (53.4 mg/g) y naringina (51.0 mg/g).

CONCLUSIÓN

Se desarrolló y optimizó una metodología analítica cromatográfica para la determinación simultánea de prunina, naringina, hesperidina, neohesperidina y quercetina.

La estrategia de construcción espectral implementada demostró ser eficaz para superar las limitaciones del detector de longitud de onda múltiple (MWD), esto le otorga al sistema capacidades de identificación cualitativa comparables a las de un detector de arreglo de diodos (DAD). Lo que posibilita la identificación y cuantificación de flavanonas y flavonoles totales en extractos de cáscaras de cítricos mediante el uso de estándares representativos de cada familia.

La aplicación de esta metodología permitió la identificación de hesperidina, naringina y neohesperidina en extractos de naranja, mandarina y pomelo. Adicionalmente, el análisis espectral posibilitó la clasificación del resto de los picos no identificados en los cromatogramas dentro de una familia de flavonoides específica, lo que permite determinar la concentración total de dichas familias en cada uno de los extractos sin la necesidad de contar con la totalidad de los estándares comerciales.

La metodología propuesta representa una valiosa herramienta que permitirá evaluar la potencialidad de los residuos agroindustriales del sector cítrico como fuentes de compuestos bioactivos de alto valor agregado.

REFERENCIAS

- Abad-García, B., Berrueta, L. A., López-Márquez, D. M., Crespo-Ferrer, I., Gallo, B., & Vicente, F. (2007). Optimization and validation of a methodology based on solvent extraction and liquid chromatography for the simultaneous determination of several polyphenolic families in fruit juices. *Journal of Chromatography A*, 1154(1–2), 87–96. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2007.03.023>
- Ademosun, A. O. (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>
- Ademosun, A. O., Oboh, G., & Ajeigbe, O. F. (2021). Antioxidant activities and glycemic indices of ice creams enriched with orange (*Citrus sinensis*) and shaddock (*Citrus maxima*) peels and effects on rat lipid profiles. *Journal of Food Biochemistry*, 45(7), e13813. <https://doi.org/10.1111/JFBC.13813>
- Ademosun, A. O., Oboh, G., Olasehinde, T. A., & Adeoyo, O. O. (2018). From folk medicine to functional food: a review on the bioactive components and pharmacological properties of citrus peels. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine* 2018 18:1, 18(1), 9–20. <https://doi.org/10.1007/S13596-017-0292-8>
- Ademosun, A. O., Odanye, O. S., & Oboh, G. (2021). Orange peel flavored unripe plantain noodles with low glycemic index improved antioxidant status and reduced blood glucose levels in diabetic rats. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(4), 3742–3751. <https://doi.org/10.1007/S11694-021-00953-3/METRICS>

- Afifi, S. M., Kabbash, E. M., Berger, R. G., Krings, U., & Esatbeyoglu, T. (2023). Comparative Untargeted Metabolic Profiling of Different Parts of Citrus sinensis Fruits via Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Coupled with Multivariate Data Analyses to Unravel Authenticity. *Foods*, 12(3), 579. <https://doi.org/10.3390/FOODS12030579/S1>
- Almpani, S., Agiannitou, P. I., Monou, P. K., Kamaris, G., & Markopoulou, C. K. (2025). Development of a Validated HPLC-UV Method for the Determination of Panthenol, Hesperidin, Rutin, and Allantoin in Pharmaceutical Gel-Permeability Study. *Separations*, 12(2), 19. <https://doi.org/10.3390/SEPARATIONS12020019/S1>
- Al-Rimawi, F., & Odeh, I. (2015). Development and Validation of an HPLC-UV Method for Determination of Eight Phenolic Compounds in Date Palms. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 98(5), 1335–1339. <https://doi.org/10.5740/JAOACINT.15-010>
- Andersen, M. S. (2007). An introductory note on the environmental economics of the circular economy. En *Sustainability Science* (Vol. 2, Número 1, pp. 133–140). <https://doi.org/10.1007/s11625-006-0013-6>
- Anticona, M., Lopez-Malo, D., Frigola, A., Esteve, M. J., & Blesa, J. (2021). Analysis of Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Hybrid Mandarin Peel. *Biology and Life Sciences Forum 2021*, Vol. 6, Page 25, 6(1), 25. <https://doi.org/10.3390/FOODS2021-11100>
- Anticona, M., Lopez-Malo, D., Frigola, A., Esteve, M. J., & Blesa, J. (2022). Comprehensive analysis of polyphenols from hybrid Mandarin peels by SPE and HPLC-UV. *LWT*, 165, 113770. <https://doi.org/10.1016/j.LWT.2022.113770>
- Banerjee, J., Singh, R., Vijayaraghavan, R., MacFarlane, D., Patti, A. F., & Arora, A. (2017). Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals. *Food Chemistry*, 225, 10–22. <https://doi.org/10.1016/j.FOODCHEM.2016.12.093>
- Barros, R. G. C., Andrade, J. K. S., Denadai, M., Nunes, M. L., & Narain, N. (2017). Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity in some Brazilian exotic fruit residues. *Food Research International*, 102, 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.FOODRES.2017.09.082>
- Buszewski, B., Žuvela, P., Sagandykova, G., Walczak-skierska, J., Pomastowski, P., David, J., & Wong, M. W. (2020). Mechanistic Chromatographic Column Characterization for the Analysis of Flavonoids Using Quantitative Structure-Retention Relationships Based on Density Functional Theory. *International Journal of Molecular Sciences 2020*, Vol. 21, 21(6). <https://doi.org/10.3390/IJMS21062053>
- Castro-Vazquez, L., Alañón, M. E., Rodríguez-Robledo, V., Pérez-Coello, M. S., Hermosín-Gutierrez, I., Díaz-Maroto, M. C., Jordán, J., Galindo, M. F., & Arroyo-Jiménez, M. D. M. (2016). Bioactive Flavonoids, Antioxidant Behaviour, and Cytoprotective Effects of Dried Grapefruit Peels (Citrus paradisi Macf.). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016(1), 8915729. <https://doi.org/10.1155/2016/8915729>
- Chen, Y., Pan, H., Hao, S., Pan, D., Wang, G., & Yu, W. (2021). Evaluation of phenolic composition and antioxidant properties of different varieties of Chinese citrus. *Food Chemistry*, 364, 130413. <https://doi.org/10.1016/j.FOODCHEM.2021.130413>

- Choi, D. M., He, S., & Row, K. H. (2023). Optimization of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Conditions for Isoflavones Using Deep Eutectic Solvents (DESs) as Mobile Phase Additives by the HCI Program. *Analytical Letters*, 57(1), 118–129. <https://doi.org/10.1080/00032719.2023.2197235;REQUESTEDJOURNAL:JOURNAL:LAN-L20;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER>
- De Villiers, A., Venter, P., & Pasch, H. (2016). Recent advances and trends in the liquid-chromatography–mass spectrometry analysis of flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1430, 16–78. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2015.11.077>
- dos Santos Lima, M., da Silva Monteiro, L. I., de Brito Araújo Carvalho, A. J., Bastos, D. C., Pimentel, T. C., & Magnani, M. (2024). A robust method for quantifying 42 phenolic compounds by RP-HPLC/DAD: Columns performance and characterization of Brazilian Citrus peels. *Food Chemistry*, 460, 140807. <https://doi.org/10.1016/J.FOOD-CHEM.2024.140807>
- Duan, W., Zhang, Z., Zhu, J., Zhang, D., Qian, D., Teng, F., Zhao, Y., Chen, F., Li, R., & Yang, J. (2022). Comparative Analysis of the Phenolic Profile of Lycium barbarum L. Fruits from Different Regions in China. *Molecules* 2022, Vol. 27, 27(18). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27185842>
- El Kantar, S., Rajha, H. N., Boussetta, N., Vorobiev, E., Maroun, R. G., & Louka, N. (2019). Green extraction of polyphenols from grapefruit peels using high voltage electrical discharges, deep eutectic solvents and aqueous glycerol. *Food Chemistry*, 295, 165–171. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.05.111>
- Federcitrus. (2023). <https://www.federcitrus.org/estadisticas/>
- Fekete, S., Schappler, J., Veuthey, J. L., & Guilleme, D. (2014). Current and future trends in UHPLC. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 63, 2–13. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2014.08.007>
- Foudah, A. I., Shakeel, F., Alam, P., Alqarni, M. H., Abdel-Kader, M. S., & Alshehri, S. (2021). A Sustainable Reversed-Phase HPTLC Method for the Quantitative Estimation of Hesperidin in Traditional and Ultrasound-Assisted Extracts of Different Varieties of Citrus Fruit Peels and Commercial Tablets. *Agronomy* 2021, Vol. 11, Page 1744, 11(9), 1744. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY11091744>
- Garcia-Castello, E. M., Rodriguez-Lopez, A. D., Mayor, L., Ballesteros, R., Conidi, C., & Casano, A. (2015). Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (Citrus paradisi L.) solid wastes. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 1114–1122. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.07.024>
- Gattuso, G., Barreca, D., Gargiulli, C., Leuzzi, U., & Caristi, C. (2007). Flavonoid Composition of Citrus Juices. *Molecules* 2007, Vol. 12, Pages 1641-1673, 12(8), 1641–1673. <https://doi.org/10.3390/12081641>
- Gómez-Mejía, E., Rosales-Conrado, N., León-González, M. E., & Madrid, Y. (2019). Citrus peels waste as a source of value-added compounds: Extraction and quantification of bioactive polyphenols. *Food Chemistry*, 295, 289–299. <https://doi.org/10.1016/J.FOOD-CHEM.2019.05.136>

- Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y. S., Haruenkit, R., Lojek, A., Íž, M., Caspi, A., Libman, I., & Trakhtenberg, S. (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chemistry*, 74(3), 309–315. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00157-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00157-1)
- Jalilzadeh-Afshari, A., & Fadaei, V. (2021). Characterization of flavored milk containing bitter orange peel extract and Gaz-angubin. *Food Science & Nutrition*, 9(1), 164–171. <https://doi.org/10.1002/FSN3.1975>
- Jang, D., Jung, Y. S., Kim, M. S., Oh, S. E., Nam, T. G., & Kim, D. O. (2019). Developing and Validating a Method for Separating Flavonoid Isomers in Common Buckwheat Sprouts Using HPLC-PDA. *Foods* 2019, Vol. 8, Page 549, 8(11), 549. <https://doi.org/10.3390/FOODS8110549>
- Kaewpradit, S., Yusakul, G., Rojsitthisak, P., & Jantararat, C. (2024). A simple and rapid HPLC-UV method for the determination of valproic acid in human plasma using microwave-assisted derivatization with phenylhydrazine hydrochloride. *Heliyon*, 10(6). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27875>
- Kaur, S., Singh, V., Chopra, H. K., & Panesar, P. S. (2024). Extraction and characterization of phenolic compounds from mandarin peels using conventional and green techniques: a comparative study. *Discover Food* 2024 4:1, 4(1), 60-. <https://doi.org/10.1007/S44187-024-00139-Y>
- Kowalska, H., Czajkowska, K., Cichowska, J., & Lenart, A. (2017). What's new in biopotential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 150–159. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2017.06.016>
- Kumar, B. R. (2017). Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs). *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7(6), 349–364. <https://doi.org/10.1016/J.JPHA.2017.06.005>
- Lachos-Perez, D., Baseggio, A. M., Mayanga-Torres, P. C., Maróstica, M. R., Rostagno, M. A., Martínez, J., & Forster-Carneiro, T. (2018). Subcritical water extraction of flavanones from defatted orange peel. *The Journal of Supercritical Fluids*, 138, 7–16. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2018.03.015>
- Laganà Vinci, R., Arena, K., Rigano, F., Cacciola, F., Dugo, P., & Mondello, L. (2024). Prediction of retention data of phenolic compounds by quantitative structure retention relationship models under reverse-phase liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1730, 465146. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2024.465146>
- Lejeune, T. M., Tsui, H. Y., Parsons, L. B., Miller, G. E., Whitted, C., Lynch, K. E., Ramsauer, R. E., Patel, J. U., Wyatt, J. E., Street, D. S., Adams, C. B., McPherson, B., Tsui, H. M., Evans, J. A., Livesay, C., Torrenegra, R. D., & Palau, V. E. (2015). Mechanism of Action of Two Flavone Isomers Targeting Cancer Cells with Varying Cell Differentiation Status. *PLOS ONE*, 10(11), e0142928. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0142928>
- Li, N., Yue, J., & Wang, R. (2025). Determination of Multiple Active Components in Mume Fructus by UPLC-MS/MS. *Metabolites*, 15(5), 312. <https://doi.org/10.3390/META-BO15050312/S1>

- Li, P., Yao, X., Zhou, Q., Meng, X., Zhou, T., & Gu, Q. (2022). Citrus Peel Flavonoid Extracts: Health-Beneficial Bioactivities and Regulation of Intestinal Microecology in vitro. *Frontiers in Nutrition*, 9, 888745. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2022.888745/TEXT>
- Lin, S., Hu, J., He, H., Yu, Y., Zhou, Z., & Zhou, L. (2025). Metabolomic profiling, antioxidant activity, and skin cell viability of citrus peel flavonoids extracted via ultrasonic-assisted aqueous two-phase system. *PLOS ONE*, 20(12), e0336325. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0336325>
- Liu, Y., Benohoud, M., Galani Yamdeu, J. H., Gong, Y. Y., & Orfila, C. (2021). Green extraction of polyphenols from citrus peel by-products and their antifungal activity against *Aspergillus flavus*. *Food Chemistry: X*, 12, 100144. <https://doi.org/10.1016/J.FOCHX.2021.100144>
- Mabry, T. J., Markham, K. R., & Thomas, M. B. (1970). The Systematic Identification of Flavonoids. *The Systematic Identification of Flavonoids*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-88458-0>
- Majerska, J., Michalska, A., & Figiel, A. (2019). A review of new directions in managing fruit and vegetable processing by-products. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 207–219. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.03.021>
- Manchón, N., D'Arrigo, M., García-Lafuente, A., Guillamón, E., Villares, A., Martínez, J. A., Ramos, A., & Rostagno, M. A. (2011). Comparison of different types of stationary phases for the analysis of soy isoflavones by HPLC. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2011 400:5, 400(5), 1251–1261. <https://doi.org/10.1007/S00216-011-4673-4>
- Maqbool, Z., Khalid, W., Atiq, H. T., Koraqi, H., Javaid, Z., Alhag, S. K., Al-Shuraym, L. A., Bader, D. M. D., Almarzuq, M., Afifi, M., & AL-Farga, A. (2023). Citrus Waste as Source of Bioactive Compounds: Extraction and Utilization in Health and Food Industry. *Molecules* 2023, Vol. 28, 28(4). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28041636>
- Martinidou, E., Michailidis, M., Ziogas, V., Masuero, D., Angeli, A., Moysiadis, T., Martens, S., Ganopoulos, I., Molassiotis, A., & Sarrou, E. (2024). Comparative Evaluation of Secondary Metabolite Chemodiversity of Citrus Genebank Collection in Greece: Can the Peel be More than Waste? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(16), 9019–9032. https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.4C00486/ASSET/IMAGES/LARGE/JF4C00486_0008.JPEG
- Matei, E., Râpă, M., Predescu, A. M., Andreea, A., Vidu, R., Predescu, C., Bobirica, C., Bobirica, L., & Orbeci, C. (2021). *materials Valorization of Agri-Food Wastes as Sustainable Eco-Materials for Wastewater Treatment: Current State and New Perspectives*. <https://doi.org/10.3390/ma14164581>
- Matharu, A. S., de Melo, E. M., & Houghton, J. A. (2016). Opportunity for high value-added chemicals from food supply chain wastes. *Bioresource Technology*, 215, 123–130. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2016.03.039>
- Montero-Calderon, A., Cortes, C., Zulueta, A., Frigola, A., & Esteve, M. J. (2019). Green solvents and Ultrasound-Assisted Extraction of bioactive orange (*Citrus sinensis*) peel compounds. *Scientific Reports* 2019 9:1, 9(1), 16120-. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52717-1>

- Munir, H., Yaqoob, S., Awan, K. A., Imtiaz, A., Naveed, H., Ahmad, N., Naeem, M., Sultan, W., & Ma, Y. (2024). Unveiling the Chemistry of Citrus Peel: Insights into Nutraceutical Potential and Therapeutic Applications. *Foods* 2024, Vol. 13, Page 1681, 13(11), 1681. <https://doi.org/10.3390/FOODS13111681>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, 22(7). <https://doi.org/10.3390/IJMS22073380>
- Nogata, Y., Sakamoto, K., Shiratsuchi, H., Ishii, T., Yano, M., & Ohta, H. (2006). Flavonoid Composition of Fruit Tissues of Citrus Species. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70(1), 178–192. <https://doi.org/10.1271/BBB.70.178>
- Nurzaman, M., Setiawati, T., Hasan, R., Akili, A. W. R., Permadi, N., & Julaeaha, E. (2026). LC-MS/MS profiling dataset of Indonesian Citrus peel extracts: extraction yield, antioxidant activity, and annotated compounds. *All Life*, 19(1). <https://doi.org/10.1080/26895293.2026.2688657>
- Oldfield, T. L., White, E., & Holden, N. M. (2018). The implications of stakeholder perspective for LCA of wasted food and green waste. *Journal of Cleaner Production*, 170, 1554–1564. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.09.239>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47. <https://doi.org/10.1017/JNS.2016.41>
- Pardo-Mates, N., Vera, A., Barbosa, S., Hidalgo-Serrano, M., Núñez, O., Saurina, J., Hernández-Cassou, S., & Puignou, L. (2017). Characterization, classification and authentication of fruit-based extracts by means of HPLC-UV chromatographic fingerprints, polyphenolic profiles and chemometric methods. *Food Chemistry*, 221, 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.033>
- Patil, N. D., Bains, A., Sridhar, K., Sharma, M., Dhull, S. B., Goksen, G., Chawla, P., & Inbaraj, B. S. (2025). Recent advances in the analytical methods for quantitative determination of antioxidants in food matrices. *Food Chemistry*, 463, 141348. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141348>
- Pérez, M., Dominguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). The Chemistry Behind the Folin-Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(46), 17543–17553. <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.3C04022>
- Pérez-Magariño, S., Bueno-Herrera, M., & Asensio-S.-Manzanera, M. C. (2024). Characterization of Bioactive Phenolic Compounds Extracted from Hydro-Distillation By-Products of Spanish Lamiaceae Plants. *Molecules* 2024, Vol. 29, 29(22). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES29225285>
- Posadino, A. M., Maccioccu, P., Eid, A. H., Giordo, R., Pintus, G., & Fenu, G. (2024). Citrus limon var. pompia Camarda var. nova: A Comprehensive Review of Its Botanical Characteristics, Traditional Uses, Phytochemical Profile, and Potential Health Benefits. *Nutrients* 2024, Vol. 16, 16(16). <https://doi.org/10.3390/NU16162619>
- Pyrzyska, K., & Sentkowska, A. (2015). Recent Developments in the HPLC Separation of Phenolic Food Compounds. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 45(1), 41–51. <https://doi.org/10.1080/10408347.2013.870027>

- Rani, V., Sangwan, V., Rani, V., & Malik, P. (2020). Orange Peel Powder: A Potent Source of Fiber and Antioxidants for Functional Biscuits. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(9), 1319–1325. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.909.167>
- Ribeiro, M. H. (2011). Naringinases: occurrence, characteristics, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2011 90:6, 90(6), 1883–1895. <https://doi.org/10.1007/S00253-011-3176-8>
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2866–2887. <https://doi.org/10.1021/JF026182T>
- Roy, D., Liu, S., Woods, B. L., Siler, A. R., Fourkas, J. T., Weeks, J. D., & Walker, R. A. (2013). Nonpolar Adsorption at the Silica/Methanol Interface: Surface Mediated Polarity and Solvent Density across a Strongly Associating Solid/Liquid Boundary. *Journal of Physical Chemistry C*, 117(51), 27052–27061. <https://doi.org/10.1021/JP410756G>
- Saini, R. K., Ranjit, A., Sharma, K., Prasad, P., Shang, X., Gowda, K. G. M., & Keum, Y. S. (2022). Bioactive Compounds of Citrus Fruits: A Review of Composition and Health Benefits of Carotenoids, Flavonoids, Limonoids, and Terpenes. *Antioxidants* 2022, Vol. 11, 11(2). <https://doi.org/10.3390/ANTIOX11020239>
- Sales, D., Finimundy, T. C., Ribeiro, J., Heleno, S., Mandim, F., Kostić, M., Soković, M., Barros, L., Caleja, C., & Pereira, E. (2026). Citrus Peel Flours: From Residues to Bioactive Ingredients for Food Applications. *Molecules* 2026, Vol. 31, 31(10). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES31101673>
- Sammani, S. M., Clavijo, S., Figuerola, A., & Cerdà, V. (2021). 3D printed structure coated with C18 particles in an online flow system coupled to HPLC-DAD for the determination of flavonoids in citrus external peel. *Microchemical Journal*, 168, 106421. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2021.106421>
- Sanches, V. L., Cunha, T. A., Viganó, J., de Souza Mesquita, L. M., Faccioli, L. H., Breitreitz, M. C., & Rostagno, M. A. (2022). Comprehensive analysis of phenolics compounds in citrus fruits peels by UPLC-PDA and UPLC-Q/TOF MS using a fused-core column. *Food Chemistry: X*, 14, 100262. <https://doi.org/10.1016/J.FOCHX.2022.100262>
- Sharma, K., Mahato, N., Cho, M. H., & Lee, Y. R. (2017). Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmentally friendly approaches. *Nutrition*, 34, 29–46. <https://doi.org/10.1016/J.NUT.2016.09.006>
- Siracusa, L., & Ruberto, G. (2019). Not Only What Is Food Is Good—Polyphenols From Edible and Nonedible Vegetable Waste. *Polyphenols in Plants*, 3–21. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813768-0.00001-3>
- Suleria, H. A. R., Barrow, C. J., & Dunshea, F. R. (2020). Screening and Characterization of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Capacity in Different Fruit Peels. *Foods* 2020, Vol. 9, Page 1206, 9(9), 1206. <https://doi.org/10.3390/FOODS9091206>
- Suri, S., Singh, A., & Nema, P. K. (2022). Current applications of citrus fruit processing waste: A scientific outlook. *Applied Food Research*, 2(1), 100050. <https://doi.org/10.1016/J.AFRES.2022.100050>

- Szultka, M., Buszewski, B., Papaj, K., Szeja, W., & Rusin, A. (2013). Determination of flavonoids and their metabolites by chromatographic techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 47, 47–67. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2013.02.008>
- Taniguchi, M., LaRocca, C. A., Bernat, J. D., & Lindsey, J. S. (2023). Digital Database of Absorption Spectra of Diverse Flavonoids Enables Structural Comparisons and Quantitative Evaluations. *Journal of Natural Products*, 86(4), 1087–1119. <https://doi.org/10.1021/ACS.JNATPROD.2C00720>
- Tsagkaris, A. S., Pulkrabova, J., & Hajslova, J. (2021). Optical Screening Methods for Pesticide Residue Detection in Food Matrices: Advances and Emerging Analytical Trends. *Foods* 2021, Vol. 10, 10(1). <https://doi.org/10.3390/FOODS10010088>
- Welch, C. J., Brkovic, T., Schafer, W., & Gong, X. (2009). Performance to burn? Re-evaluating the choice of acetonitrile as the platform solvent for analytical HPLC. *Green Chemistry*, 11(8), 1232–1238. <https://doi.org/10.1039/B906215G>
- Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., & Brunton, N. (2012). Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. *Food Research International*, 46(2), 505–513. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2011.09.027>
- Yabré, M., Ferey, L., Somé, I. T., & Gaudin, K. (2018). Greening Reversed-Phase Liquid Chromatography Methods Using Alternative Solvents for Pharmaceutical Analysis. *Molecules* 2018, Vol. 23, Page 1065, 23(5), 1065. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23051065>
- Yang, M., Jiang, Z., Wen, M., Wu, Z., Zha, M., Xu, W., & Zhang, L. (2022). Chemical Variation of Chenpi (Citrus Peels) and Corresponding Correlated Bioactive Compounds by LC-MS Metabolomics and Multibioassay Analysis. *Frontiers in Nutrition*, 9, 825381. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2022.825381/TEXT>
- Yonekura-Sakakibara, K., & Saito, K. (2009). Functional genomics for plant natural product biosynthesis. En *Natural Product Reports* (Vol. 26, Número 11, pp. 1466–1487). <https://doi.org/10.1039/b817077k>